

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

**Programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à
Oftalmologia**

**Área de concentração em Bases Moleculares e Fisiopatológicas de
Neoplasias**

Álvaro Percínio Costa

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PADRÕES DE MIRNAS COMO
PREDITORES DE RESPOSTA PATOLÓGICA EM PACIENTES COM
CÂNCER DE MAMA SUBMETIDOS À TERAPIA NEOADJUVANTE.**

Belo Horizonte

2025

Álvaro Percínio Costa

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PADRÕES DE MIRNAS COMO
PREDITORES DE RESPOSTA PATOLÓGICA EM PACIENTES COM
CÂNCER DE MAMA SUBMETIDOS À TERAPIA NEOADJUVANTE.**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bases Moleculares e Fisiopatológicas de Neoplasias.

Orientador:
Prof. Dr. Agnaldo Lopes da Silva Filho

Coorientador:
Dr. Fábio Ribeiro Queiroz

Belo Horizonte

2025

Costa, Álvaro Percínio.
C837a Avaliação do potencial de padrões de miRNAs como preditores de resposta patológica em pacientes com câncer de mama submetidos à terapia neoadjuvante [recurso eletrônico]. / Álvaro Percínio Costa. -- Belo Horizonte: 2025.
89f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Agnaldo Lopes da Silva Filho.
Coorientador (a): Fábio Ribeiro Queiroz.
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Neoplasias da Mama. 2. Neoplasias de Mama Triplo Negativas. 3. Terapia Neoadjuvante. 4. Vesículas Extracelulares. 5. MicroRNAs. 6. Resposta Patológica Completa. 7. Dissertação Acadêmica. I. Silva Filho, Agnaldo Lopes da. II. Queiroz, Fábio Ribeiro. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WP 900

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às dezesseis horas do dia treze de agosto de dois mil e vinte e cinco, através da Plataforma Google Meet, realizou-se a sessão pública para a defesa da Dissertação de **ÁLVARO PERCÍNIO COSTA**. A presidência da sessão coube ao professor Agnaldo Lopes da Silva Filho (Orientador) – UFMG. Inicialmente, o presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: Agnaldo Lopes da Silva Filho (Orientador) – UFMG, Matheus de Souza Gomes – UFU, Paulo Henrique Costa Diniz – UFMG e Renata Guerra de Sá Cota – UFOP. Em seguida, o candidato fez a apresentação do trabalho que constitui sua Dissertação de Mestrado, intitulada: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PADRÕES DE MIRNAS COMO PREDITORES DE RESPOSTA PATOLÓGICA EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA SUBMETIDOS À TERAPIA NEOADJUVANTE. Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença do candidato e do público e decidiu considerar aprovado a Dissertação de Mestrado. O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, se aprovada, será assinada pela Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 13 de agosto de 2025.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Matheus de Souza Gomes, Usuário Externo**, em 18/08/2025, às 17:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Agnaldo Lopes da Silva Filho, Membro de comissão**, em 18/08/2025, às 18:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Henrique Costa Diniz, Membro**, em 18/08/2025, às 23:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Guerra de Sá Cota, Usuário Externo**, em 19/08/2025, às 14:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4454428** e o código CRC **B553C6A7**.

Para Márcia, por ser minha paz.

AGRADECIMENTOS

Com muita alegria concluo minha jornada ao título de mestre. A realização deste trabalho só foi possível graças ao apoio e à orientação de muitas pessoas, às quais expresso minha sincera gratidão. Agradeço ao meu orientador, Dr. Agnaldo Lopes, e ao meu coorientador Dr. Fábio Ribeiro Queiroz pela dedicação, paciência e valiosos ensinamentos ao longo desta jornada. Agradeço à Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais por ter sido a casa para minha formação acadêmica de pós-graduação. Agradeço a todos os pacientes que contribuíram com essa pesquisa. E, por fim, à minha família, cujo amor e incentivo foram fundamentais para que eu pudesse concluir esse sonho.

RESUMO

A terapia neoadjuvante no câncer de mama (CM) permite a avaliação do grau de resposta patológica na peça cirúrgica, fornecendo informações prognósticas e preditivas para orientar os tratamentos subsequentes. A resposta patológica completa (RPC) é um fator prognóstico associado à sobrevida global e é comumente utilizada como desfecho substitutivo em estudos de neoadjuvância. Pequenos RNAs não codificantes, como os microRNAs (miRNAs), desempenham papéis cruciais em várias vias carcinogênicas e mostram potencial como preditores de RPC. A identificação de uma assinatura molecular de miRNAs extraídos de vesículas extracelulares (EVs) derivadas do tumor, presentes no sangue periférico, apresenta potencial como biomarcador. Essa abordagem pode otimizar os protocolos neoadjuvantes para aumentar as taxas de RPC e reduzir a toxicidade. O presente estudo tem como objetivo investigar a associação entre miRNAs derivados de EVs e a RPC em pacientes com CM submetidas à terapia neoadjuvante. Para isso, EVs circulantes foram isoladas a partir de amostras de sangue periférico coletadas antes do início do tratamento neoadjuvante de 48 pacientes com CM. Os RNAs totais presentes nessas vesículas foram extraídos utilizando coluna de sílica e sequenciados utilizando técnica de sequenciamento de nova geração. Os padrões de expressão de miRNAs foram relacionados com a presença de RPC por meio de análise bioinformática, a fim de obter informações prognósticas. Entre as 48 pacientes analisadas, observou-se um perfil de expressão diferencial em 12 pacientes com CM triplo negativo. A análise de bioinformática revelou superexpressão de mir-489-5p nas pacientes que alcançaram RPC, enquanto a superexpressão de mir-1237-3p e hsa-mir-600-5p foi observada naquelas que não apresentaram RPC. Esses achados sugerem que o hsa-mir-489-5p atua como supressor tumoral, enquanto o hsa-mir-1237-3p e o hsa-mir-600-5p devem funcionar como oncomiRs, demonstrando potencial preditivo da RPC usando uma assinatura de miRNAs identificada nos tumores. Esta assinatura pode representar uma nova ferramenta promissora para prever a resposta ao tratamento neoadjuvante, contribuindo para uma abordagem mais personalizada e menos invasiva no manejo do CM, através de biópsia líquida, uma vez que foi identificada em amostras de sangue.

Palavras-chave: câncer de mama, tumor triplo negativo, terapia neoadjuvante, vesículas extracelulares, microRNAs, resposta patológica completa.

ABSTRACT

Neoadjuvant therapy in breast cancer allows for the assessment of the degree of pathological response in the surgical specimen, providing prognostic and predictive information to guide subsequent treatments. Pathological complete response (PCR) is a prognostic factor widely associated with overall survival and is commonly used as a surrogate endpoint in neoadjuvant studies. Small non-coding RNAs, such as microRNAs (miRNAs), play crucial roles in various carcinogenic pathways and show promise as predictors of PCR. Developing a molecular signature of miRNAs extracted from tumor-derived extracellular vesicles (EVs) in peripheral blood holds potential for use as a biomarker. This approach could optimize neoadjuvant protocols to increase PCR rates and reduce toxicity. The present study aims to investigate the association between miRNAs derived from EVs and pathological complete response in patients with breast cancer undergoing neoadjuvant therapy. To this end, circulating EVs were isolated from peripheral blood samples collected before neoadjuvant treatment from 48 patients with breast cancer. Total RNAs contained in these vesicles were extracted using silica column-based methods and sequenced through next-generation sequencing (NGS). The miRNA expression patterns were correlated with PCR in surgical specimens through bioinformatics analysis, in order to obtain prognostic information. Among the 48 patients analyzed, a differential expression profile was noted in 12 patients with triple-negative breast cancer. Bioinformatics analysis revealed that overexpression of hsa-mir-489-5p was present in patients who achieved PCR, while overexpression of hsa-mir-1237-3p and hsa-mir-600-5p was observed in those without a complete pathological response. These findings suggest that hsa-mir-489-5p acts as a tumor suppressor, while hsa-mir-1237-3p and hsa-mir-600-5p function as oncomiRs, showing predictive potential for PCR. These miRNAs may represent a potential new tool for predicting response to neoadjuvant treatment, contributing to a more personalized and less invasive approach to breast cancer management.

Keywords: breast cancer, triple-negative tumor, neoadjuvant therapy, extracellular vesicles, microRNAs, pathological complete response.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Taxa de incidência de câncer de mama por idade em ambos os sexos em 2022 no mundo..	18
Figura 2: Taxa de mortalidade de câncer de mama por idade em ambos os sexos em 2022 no mundo..	19
Figura 3: IHQ dos subtipos moleculares de câncer de mama.	24
Figura 4: Representação esquemática das vesículas extracelulares.	32
Figura 5: Biogênese e conteúdo das MV.	34
Figura 6: Síntese e estrutura dos microRNAs.	36
Figura 7: Diagrama do bloqueio da tradução do mRNA.	38
Figura 8: Fluxograma de inclusão, divisão de subtipos moleculares e reposta patológica.	46
Figura 9: Morfologia do tecido mamário normal	48
Figura 10: Morfologia da resposta patológica do câncer de mama a quimioterapia neoadjuvante.	49
Figura 11: <i>Heatmap</i> demonstrando o perfil de expressão de miRNAs de pacientes com câncer de mama em relação ao controle.	56
Figura 12: <i>Heatmap</i> de todas as pacientes que fizeram neoadjuvância.	57
Figura 13: <i>Heatmap</i> de pacientes com RPC comparando expressão de HER2 versus TN.	58
Figura 14: <i>Heatmap</i> de pacientes NRPC comparando expressão de HER2 e TP versus TN.	59
Figura 15: <i>Heatmap</i> de pacientes com TN comparando expressão NRPC versus RPC.	60
Figura 16: <i>Heatmap</i> de pacientes com TN comparando expressão de NRPC versus RPC após filtro de contagem de expressão.	61
Figura 17: <i>Heatmap</i> de pacientes com TN comparando expressão NRPC versus RPC após filtro de contagem de expressão e de miRNAs relacionados ao câncer de mama e drogas utilizadas na neoadjuvância	62
Figura 18: Resultado da análise de aprendizado de máquina	64
Figura 19: <i>Heatmap</i> final	65
Figura 20: Análise de rede do miRNA-489-5p	66

Figura 21: Análise de rede do miRNA-1237-3p.....	67
Figura 22: <i>Hallmarks of cancer</i> impactados pelo miRNA-489-5p e miR-1237-3p	68
Figura 23: Curva de Kaplan-Meier de sobrevida	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Marcadores da IHQ e classificação molecular do câncer de mama.....	22
Tabela 2: Subtipos de tumores triplo negativos.....	25
Tabela 3: Dados clínicos de pacientes submetidas à neoadjuvância.....	53
Tabela 4: Dados clínicos de pacientes triplo negativas.....	54
Tabela 5: Perfil das <i>reads</i> obtidas no sequenciamento de pequenos RNAs.....	55
Tabela 6: Resultado da análise de <i>InfoGain</i> com 10 miRNAs que melhor classificam as pacientes com TN em RPC e NRPC..	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3'UTR	<i>3' Untranslated Region</i>
5'UTR	<i>5' Untranslated Region</i>
AC	Adriamicina e Ciclofosfamida
AC-T	Adriamicina, Ciclofosfamida E Paclitaxel
AC-TC	Adriamicina, Ciclofosfamida, Paclitaxel e Carboplatina
ACOSOG	<i>American College of Surgeons Oncology Group</i>
ADCs	<i>Antibody-Drug Conjugates</i>
ADP	Difosfato de Adenosina
AMAROS	<i>After Mapping of the Axilla: Radiotherapy or Surgery?</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
ARF6	Fator de Ribosilação-ADP
BCI	<i>Breast Cancer Index</i>
BL-IS	<i>Basal-like Immune Suppressed</i>
BRCA	<i>Breast Cancer Gene (1 E 2)</i>
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CD40	<i>Cluster of Differentiation 40</i>
CDI	Carcinoma Ductal Invasivo
CHRF	<i>Cardiac Hypertrophy-Related Factor</i>
CLI	Câncer Lobular Invasivo
CM	Câncer de Mama

CTLA4	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4</i>
DEmiRNA	MicroRNA Diferencialmente Expresso
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DGCR8	<i>Digeorge Syndrome Critical Region 8</i>
EBCTCG	<i>Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group</i>
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
EGFR	Receptor Do Fator De Crescimento Epitelial
ELD	Ducto Extralobar
EMMPRIN	Indutor de Metaloproteinase da Matriz Extracelular
EMT	Transição Epitélio-Mesenquimal
FGF7	<i>Fibroblast Growth Factor 7</i>
FISH	<i>Fluorescence In Situ Hybridization</i>
GP-P	Glicoproteína P
GSE1	<i>Genetic Suppressor Element 1</i>
HER2	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i>
HOXB13	<i>Homeobox B13</i>
IA	Inibidor de Aromatase
IBCSG 23-01	<i>International Breast Cancer Study Group Trial 23-01</i>
IDH	<i>Isocitrate Dehydrogenase</i>
IHQ	Imuno-histoquímica

IL17BR	Gene codificante da Interleucina 17 Receptor B
IL-6	Interleucina 6
IM	Imuno-Modulatório
INCA	Instituto Nacional de Câncer
INSEMA	<i>Intergroup-Sentinel-Mamma</i>
KI-67	Kiel-67
L	Lóbulos
LAR	<i>Luminal Androgen Receptor</i>
LEF1-AS1	<i>Lymphoid Enhancer Binding Factor 1 Antisense RNA 1</i>
LHRH	<i>Luteinizing Hormone-Releasing Hormone</i>
LOH	<i>Loss of Heterozygous</i>
LOOCV	<i>Leave-One-Out Cross Validation</i>
LNCRNA	<i>Long Non Coding RNA</i>
M	Mesenquimal
MAP	<i>Mitogen-Activated Protein</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinases</i>
METABRIC	<i>Molecular Taxonomy of Breast Cancer International Consortium</i>
MINDACT	<i>Microarray In Node-Negative And 1 To 3 Positive Lymph Node Disease May Avoid Chemotherapy</i>
MINT	<i>MammaPrint In Node-positive Disease Trial</i>
mRNA	RNA Mensageiro

miRNA	MicroRNA
mTOR	<i>Mechanistic Target Of Rapamycin</i>
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
MIR2Diseases	<i>microRNA to Diseases</i>
MV	Microvesículas
MVT	Microvesículas Tumorais
NRPC	Não Resposta Patológica Completa
NSABP	<i>National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project</i>
OncoMIRS	MicroRNA Precursor Tumoral
ORF	<i>Open Reading Frame</i>
PAM50	<i>Prediction Analysis of Microarray 50</i>
PARP	<i>Poly (ADP-ribose) Polymerase</i>
PDL1	<i>Programmed Death-Ligand 1</i>
PD1	<i>Programmed Cell Death protein 1</i>
PI3K	<i>Phosphoinositide 3-Kinase</i>
PIK3CA	<i>Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase Catalytic Subunit Alpha</i>
POLII	RNA Polimerase II
Pri-miRNA	miRNA Primário
PRONON	Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica
RAS	Família de genes (KRAS, NRAS, HRAS)
RCB	<i>Residual Cancer Burden</i>
RE	Receptor De Estrogênio

RISC	<i>RNA-Induced Silencing Complex</i>
RNA	Ácido Ribonucleico
RP	Receptor De Progesterona
RPC	Resposta Patológica Completa
RPS6KA4	Ribosomal Protein S6 Kinase A4
RT-PCR	<i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
RxPONDER	<i>Clinical Trial RX for Positive Node, Endocrine Responsive Breast Cancer</i>
SERD	<i>Selective Estrogen Receptor Degradar</i>
SM2MIR	<i>Small Molecule to microRNA</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SOUND	<i>Sentinel Node Vs Observation After Axillary Ultrasound</i>
SOX	<i>Sex-determining Region Y-box</i>
SHP2	<i>Sarcoma Homology 2 Domain-Containing Phosphatase 2</i>
SPIN1	Spindlin 1
TAILORx	<i>Trial Assigning Individualized Options for Treatment (Rx)</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TD	Ducto Terminal
TN	Triplo Negativo
TP	Triplo Positivo
TROP2	<i>Trophoblast Cell Surface Antigen 2</i>

TCGA	<i>The Cancer Genome Atlas</i>
TDM1	Trastuzumabe Entansina
TDXD	Trastuzumabe Deruxtecan
TRPC5	Potencial Receptor Transitório 5
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

1. SUMÁRIO

1. Sumário.....	18
2. Introdução	18
2.1. A epidemiologia do câncer de mama	18
2.2. Bases moleculares e subtipos do câncer de mama	20
2.3. Estratégias de tratamento do câncer de mama	25
2.4. O tratamento neoadjuvante do câncer de mama e a resposta patológica 30	
2.5. As vesículas extracelulares tumorais e os miRNAs.....	32
2.6. O uso de assinaturas genéticas no câncer de mama.....	39
3. Objetivo Geral.....	43
3.1. Objetivos específicos:.....	43
4. Justificativa	44
5. Metodologia	46
5.1 Obtenção das amostras	46
5.2 Extração do RNA total das vesículas e sequenciamento	47
5.3 Análise da resposta patológica.....	48
5.4 Análise de expressão diferencial e de aprendizado de máquina.....	50
6. Resultado.....	52
7. Discussão	70
8. Conclusão.....	74
9. Referências.....	75
ANEXO A - Parecer consubstanciado do comitê de ética em pesquisa.....	89
ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido	93

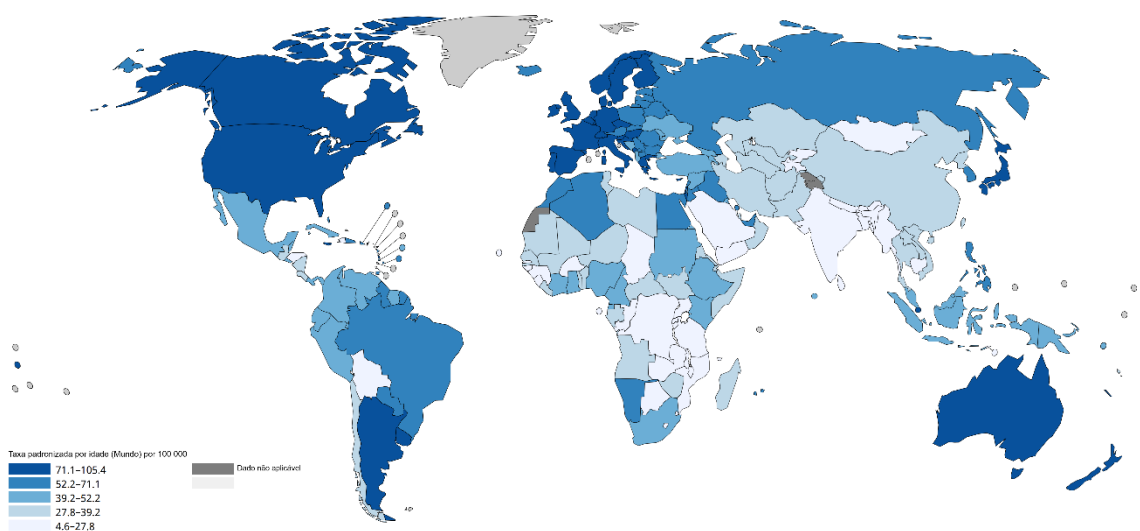
2. INTRODUÇÃO

2.1. A epidemiologia do câncer de mama

O câncer de mama (CM) é a neoplasia mais diagnosticada no mundo, correspondendo a quase dois milhões de novos casos por ano. É a quarta principal causa de morte por câncer na população mundial, correspondendo a 6,9%, e a principal causa de morte por câncer em mulheres, representando 13,3% (Globocan, 2022).

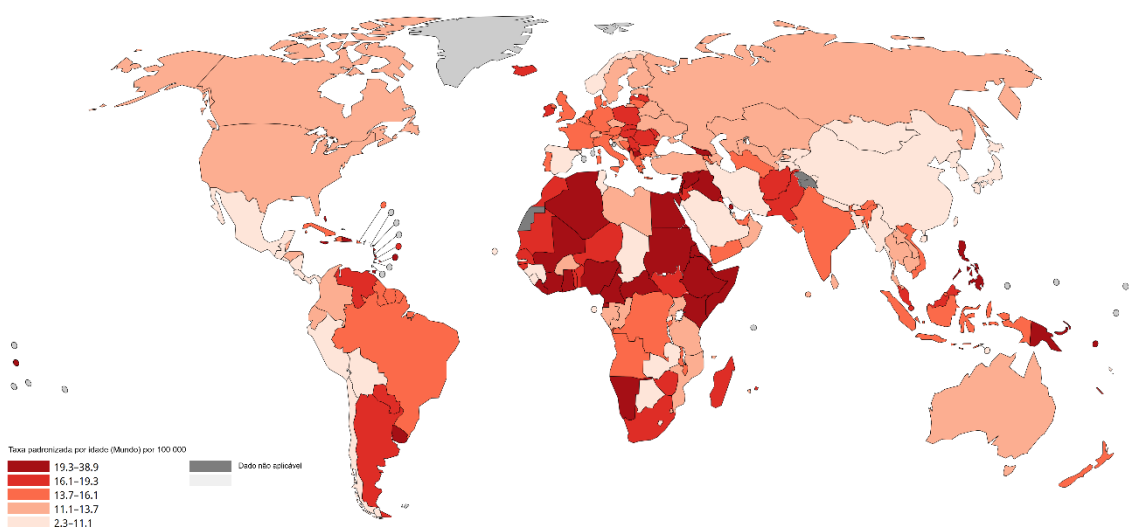
A incidência e a mortalidade de CM variam de acordo com o índice de desenvolvimento humano de cada país (IDH). As maiores taxas de incidência ocorrem na América do Norte, na Oceania e nos países do Oeste da Europa, que está relacionado à inversão da pirâmide etária dessas populações (Ferlay *et al.*, 2021; Sung *et al.*, 2021) (Figura 1). Os países de baixo e médio IDH estão experimentando aumento rápido nas taxas de incidência, tendência relacionada ao envelhecimento populacional, mudanças de comportamento, que levam a, por exemplo, aumento da obesidade e baixa natalidade, e ao aumento do diagnóstico com a difusão do rastreamento mamográfico (Migowski *et al.*, 2018; Sung *et al.*, 2021).

Figura 1: Taxa de incidência de câncer de mama por idade em ambos os sexos em 2022 no mundo.



Enquanto a taxa de mortalidade (Figura 2) por CM na população em geral nos países com alto IDH é de 1,4%, nos países com baixo IDH essa taxa é de 2,08%. Essa diferença está relacionada à baixa taxa de diagnóstico precoce e à dificuldade de acesso a tratamento eficaz nos países de baixo IDH (Globocan, 2022).

Figura 2: Taxa de mortalidade de câncer de mama por idade em ambos os sexos em 2022 no mundo.



Fonte: Adaptado de globocan, 2022.

Na América Latina e Caribe ocorrem mais de 220 mil novos casos de CM por ano, com uma prevalência de mais de 725 mil casos no último quinquênio. Sendo essa a principal causa de mortes por câncer na população feminina dessa região, correspondendo a quase 60 mil mortes por ano (Globocan, 2022).

No Brasil, para o triênio de 2023 a 2025, são estimados 73.610 novos casos de CM. Correspondendo a 66,54 casos novos a cada 100 mil mulheres. Desconsiderando os tumores de pele não melanoma, o CM feminino é o tumor mais incidente no país. Sendo a Região Sudeste a de maior incidência, com 84,46 por 100 mil mulheres, seguida pela região Sul e Centro-Oeste. A incidência é menor nas regiões Nordeste e Norte, sendo essa última a de menor índice, com 24,99 por 100 mil mulheres (Instituto Nacional do Câncer, 2022).

Em 2020 ocorreram 17.825 óbitos por CM feminina no Brasil, o que equivale a um risco de mortalidade de 16,47 mortes por 100 mil mulheres. (Instituto Nacional do Câncer, 2022). A taxa de mortalidade apresenta tendência histórica de elevação com aumento de 3,72 pontos na série histórica de 1979 a 2022. Essa elevação pode estar relacionada ao aumento da expectativa de vida e do acesso ao diagnóstico oncológico (Instituto Nacional do Câncer, Atlas On-line de Mortalidade, 2022).

Em Minas Gerais, para o triênio de 2023 a 2025, são estimados 7.670 novos casos de CM feminino, correspondendo a 69,8% das neoplasias, excluindo pele não melanoma. Desses, 1.450 correspondem a casos na capital Belo Horizonte (Instituto Nacional do Câncer, 2022). A taxa de mortalidade por CM no estado é de 8,32 para cada 100.000 habitantes (Instituto Nacional do Câncer, Atlas On-line de Mortalidade, 2022).

De acordo com Nelson et al. (2012), os fatores de risco associados ao CM são nuliparidade, gravidez tardia, menopausa precoce, menos tempo de amamentação, obesidade, sedentarismo, ingestão de bebidas alcoólicas, trabalho noturno e exposição à radiação ionizante. Portanto, deve-se estimular a amamentação, a realização de atividade física e a perda de peso (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002). O fator de risco mais importante é a idade maior que 50 anos. De 5 a 10% dos casos de CM relacionam-se com causa hereditária (Sung *et al.*, 2021; Wild; Weiderpass; Stewart, 2020).

2.2. Bases moleculares e subtipos do câncer de mama

Para Harris *et al.* (2012), o CM pode se apresentar com várias formas histológicas. A mais comum é o Carcinoma Invasivo de Tipo Não Especial, conhecido anteriormente como Carcinoma Ductal Invasivo (CDI) e corresponde a 70-80% dos casos.

O segundo tipo mais comum é o Carcinoma Lobular Invasivo (CLI) que corresponde de 5 a 10% dos casos. Quando comparado ao CDI, o CLI tende a ter melhor prognóstico, surgir em mulheres na pós-menopausa, ser mais

frequentemente multicêntrico e bilateral e metastatizar mais tardiamente para regiões não usuais, como trato digestivo, peritônio e meninges (Orvieto *et al.*, 2008).

Os outros subtipos menos comuns correspondem juntos a aproximadamente 5% dos casos. São eles os carcinomas medular, apócrino, mucinoso, neuroendócrino, metaplásico, tubular, túbulo lobular, micropapilar, adenoide cístico e secretório. Cada um apresenta prognóstico distinto, tendo, por exemplo, os carcinomas tubulares e o medular curso geralmente favorável e o micropapilar comportamento agressivo com disseminação precoce (Schnitt *et al.*, 2000).

O CM é dividido em subtipos moleculares com características preditivas e prognósticas diversas. Atualmente essa classificação é indispensável para a realização do tratamento. Os subtipos são classificados de acordo com a expressão por imuno-histoquímica (IHQ) ou hibridização *in situ* (FISH) dos receptores de estrogênio (RE) e de progesterona (RP), do fator de crescimento epidérmico 2 (HER2) e do marcador de proliferação celular Kiel-67(KI-67) (Tsang *et al.*, 2020).

Os tumores com expressão positiva para RE e/ou RP, com KI-67 menor que 14%, são considerados luminal A, enquanto aqueles com KI-67 maior ou igual a 15% são considerados luminal B, sendo aquele de melhor prognóstico que este (Tabela 1) (Hwang *et al.*, 2019). Os tumores luminais tendem a ocorrer na pós-menopausa, apresentam baixo índice mitótico e recidivam localmente e à distância, tardiamente (Guido; Gomez-Fernandez, 2020; Tsang *et al.*, 2020). O uso de terapia endócrina com bloqueadores do RE e inibidores da enzima aromatase é o principal tratamento sistêmico para esses tumores e a associação com drogas inibidoras de ciclina no cenário adjuvante e metastático constitui a incorporação de tecnologia que mais ampliou o desfecho de sobrevida no tempo recente (Prudence *et al.*, 2018; Hortobagyi *et al.*, 2022).

Tabela 1: Marcadores da IHQ e classificação molecular do câncer de mama.

Subtipo Molecular	RE	RP	HER2 IHQ/FISH	Ki-67
Luminal A	+	+	0, +1 ou +2/ FISH-	Baixo (<14-20%)
Luminal B	+	+	0, +1 ou +2/ FISH-	Alto (>14-20%)
HER2 hiperexpresso	-	-	+2/FISH + ou +++	Variável
Triplo negativo	-	-	0, +1 ou +2/FISH-	Geralmente alto
Triplo positivo	+	+	+2/FISH+ ou +++	Geralmente alto

Fonte: Autor.

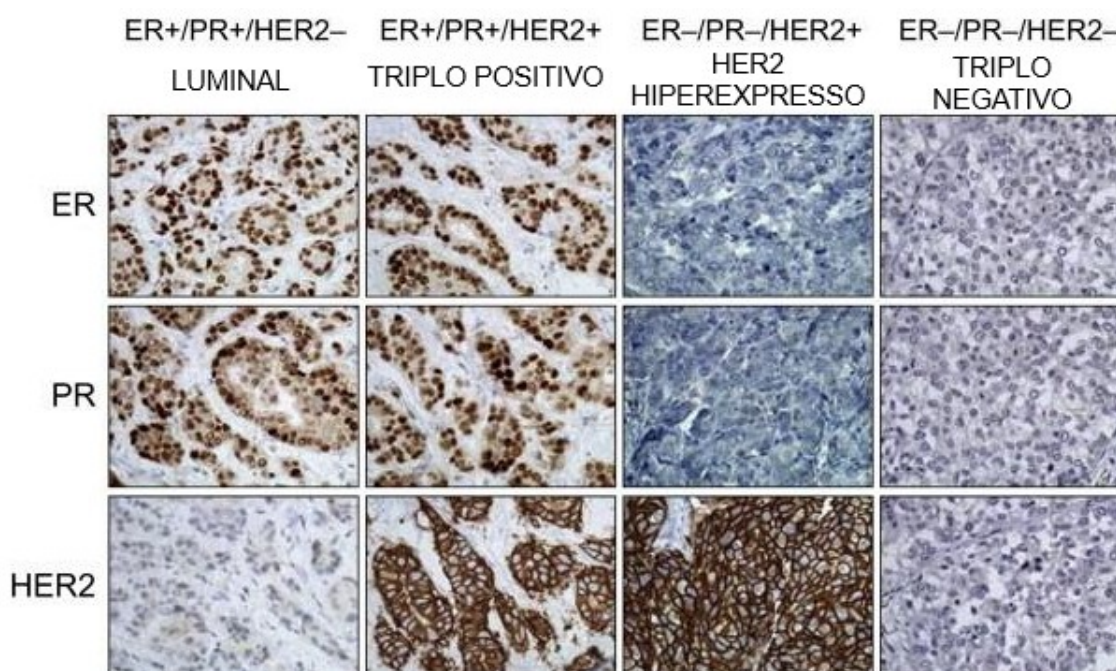
Os tumores com expressão negativa de RE e RP e com expressão positiva para HER2 são considerados HER2 hiperexpresso. Define-se expressão positiva para HER2 um resultado de 3+ na IHQ ou 2+ na IHQ com FISH positivo (Tabela 1) (Guido e Gomez-Fernandez, 2020). Atualmente, com o advento dos tratamentos com anticorpo droga conjugados (ADC) direcionados a proteína HER2, e sua atividade citotóxica comprovada em tumores classificados como HER2 negativo; foi necessário aprofundar essa classificação. Tumores considerados HER2 negativos, mas com alguma expressão de HER2, como os HER2 2+ com FISH negativo e HER2 1+ são considerados HER2 *low*. E os tumores HER2 0+ com menos de 10% das membranas celulares expressando HER2 são considerados HER2 *ultra low* (Tarantino *et al.*, 2023). Os tumores HER2 hiperexpresso tendem a apresentar alto índice mitótico, agressividade clínica e tropismo pelo sistema nervoso central (SNC), o que confere pior prognóstico quando comparado aos tumores luminais (Hwang *et al.*, 2019; Darlix *et al.*, 2019). Porém, esse cenário foi modificado com o advento das terapias anti-HER2 que melhoraram significativamente a sobrevida dessa população. Esse ganho evoluiu ao longo dos anos com o uso do duplo bloqueio anti-HER2 e, mais recentemente, com a utilização dos anticorpo-droga conjugados (ADCs):

trastuzumabe entansina e trastuzumabe deruxtecan (Von Minckwitz *et al.*, 2017; Verma *et al.*, 2012; Harbeck *et al.*, 2024.).

Os tumores que apresentam expressão positiva para RE e/ou RP e positiva para HER2 são considerados luminais híbridos ou triplo positivos. Apresentam resposta ao tratamento com hormonioterapia e com drogas anti-HER2 e têm prognóstico parecido ao dos tumores luminais (Hwang *et al.*, 2019).

Os tumores que não apresentam expressão de RE e de RP e que não apresentam critérios para positividade de HER2 são classificados como tumores triplo negativos (TN) (Figura 3). São comumente diagnosticados na população de pacientes pré-menopausa e relacionam-se mais com mutações dos genes do CM 1 e 2 (do inglês *Breast Cancer*, BRCA 1 e 2) (Daly *et al.*, 2021). Os tumores TN normalmente apresentam KI-67 elevado, o que se relaciona com agressividade local e tendência ao desenvolvimento precoce de doença metastática. Além disso, apresentam tropismo pelo SNC (Hwang *et al.*, 2019; Darlix *et al.*, 2019). Portanto, são os tumores de mama com pior prognóstico oncológico. Tradicionalmente são tratados com cirurgia, radioterapia e quimioterapia citotóxica. Recentemente, o uso de imunoterapia, drogas inibidoras da Poliadenosina Difosfato Ribose Polimerase (PARP) e ADCs que se ligam ao antígeno 2 da superfície celular trofoblástica (TROP2) e ao HER2 nos tumores TN HER2 *low* tornaram-se opções terapêuticas. Destaca-se o uso da imunoterapia no cenário neoadjuvante (Schmid *et al.*, 2020; Robson *et al.*, 2017; Bardia *et al.*, 2021; Modi *et al.*, 2022).

Figura 3: IHQ dos subtipos moleculares de câncer de mama.



Fonte: Adaptado de Diagnósticos do Brasil, 2020.

O grupo dos tumores TN é composto por perfis moleculares com características diversas. Utilizando expressão gênica e classificação imunohistoquímica, pode-se classificar os tumores TN em 4 grupos. Esses apresentam desfechos e respostas terapêuticas diversas. Eles são: *Basal like* imunossuprimido (BL-IS), imunomodulatório (IM), mesenquimal (M) e luminal com receptor androgênico (LAR). Os BL-IS apresentam enriquecimento de genes envolvidos na proliferação e dano ao DNA, com alta instabilidade genômica, e apresentam as melhores taxas de resposta à terapia neoadjuvante com quimioterapia. Os IM apresentam expressão do ligante de morte celular programada 1 (PDL1) $\geq 1\%$ e enriquecimento da via Notch, tendo como potencial terapia o uso de inibidores dessa via e de checkpoint imune. Os tumores LAR apresentam mutações nas vias PIK3CA (subunidade catalítica alfa de fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3-quinase) e têm potencial para tratamento com drogas que tenham como alvo essa via e a via androgênica. Os tumores M apresentam pior prognóstico, com menor sobrevida livre de doença e sobrevida global após tratamento neoadjuvante. Têm enriquecimento da via do vírus de sarcoma de ratos (RAS) o que sugere como possibilidade terapêutica futura os inibidores dessa via (Tabela 2) (Burstein *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2024; Jiang *et al.*, 2019).

Tabela 2: Subtipos de tumores triplo negativos.

Subtipo	Características Moleculares e Prognósticas	Potencial Terapêutico
Basal-like Imunossuprimido (BL-IS)	<ul style="list-style-type: none"> Enriquecimento de genes de proliferação <ul style="list-style-type: none"> Dano ao DNA Alta instabilidade genômica Boa resposta à neoadjuvância 	Quimioterapia neoadjuvante
Imunomodulatório (IM)	<ul style="list-style-type: none"> Enriquecimento da via Notch <ul style="list-style-type: none"> PD-L1 \geq 1% 	Inibidores da via Notch e de <i>checkpoint</i> imune
Mesenquimal (M)	<ul style="list-style-type: none"> Enriquecimento da via RAS <ul style="list-style-type: none"> Pior prognóstico 	Inibidores da via RAS
Luminal Androgênico (LAR)	<ul style="list-style-type: none"> Mutações em PIK3CA Ativação da via androgênica 	Inibidores da via PI3K Terapia antiandrogênica

Fonte: Autor.

2.3. Estratégias de tratamento do câncer de mama

A cirurgia é o tratamento mais eficaz para o CM e sua associação a outras terapias permitiu a diminuição da intensidade do procedimento, resultando em redução dos efeitos colaterais. Desde a publicação pivotal de Halsted no início do século XX, a exérese dos tumores da mama evoluiu da mastectomia radical estendida com esvaziamento axilar de rotina para a cirurgia conservadora da mama com a biópsia de linfonodo sentinela com omissão do estadiamento axilar. (Downs-Canner; Cody, 2022; Magnoni *et al.*, 2020). O uso da cirurgia conservadora da mama tornou-se disseminado a partir da década de 90 após a publicação da metanálise EBCTCG com 7 ensaios clínicos randomizados demonstrando ausência de diferença de sobrevida global e sobrevida livre de

recidiva dessa abordagem quando comparada à mastectomia (Veronesi *et al.*, 1999). O estudo NSABP B-18 demonstrou aumento da taxa de cirurgia conservadora da mama sem prejuízo de desfechos oncológicos com o uso da quimioterapia neoadjuvante (Fisher *et al.*, 2002).

O ACOSOG Z0011, estudo pivotal de descalonamento da abordagem axilar, comprovou que em pacientes com 1 a 2 linfonodos sentinela positivos o esvaziamento axilar poderia ser omitido sem prejuízo de desfecho oncológico. (Giuliano *et al.*, 2017). O mesmo se comprovou para pacientes com micrometástases axilares através do estudo IBCSG 23-01 (Galimberti *et al.*, 2013). O estudo AMAROS confirmou esses achados, demonstrando que a radioterapia axilar nessa população de pacientes tem os mesmos desfechos oncológicos com menor morbidade (Donker *et al.*, 2014). Os estudos SOUND e INSEMA demonstraram a não inferioridade, quanto a sobrevida livre de doença a distância e doença invasiva, da omissão da pesquisa de linfonodo sentinela nas pacientes com tumores iniciais (T1-T2) submetidas à cirurgia conservadora da mama com axila negativa pelo exame clínico e ultrassom (Gentilini *et al.*, 2023; Reimer *et al.*, 2025).

O desenvolvimento da cirurgia conservadora da mama e a omissão do esvaziamento axilar para casos selecionados só é possível devido à evolução das técnicas de radioterapia. A mudança do planejamento por radiografias bidimensionais para tomografias computadorizadas tridimensionais aumentou a precisão do campo de irradiação com melhora dos desfechos e menor toxicidade. (Fisher; Rabinovitch, 2014). Destacam-se como principais avanços o uso de regimes hipofracionados, com redução da duração tradicional do tratamento de 5 a 7 semanas para 3 a 4 semanas, regimes com irradiação parcial da mama e, mais recentemente, o uso da irradiação intraoperatória. Essas técnicas permitem redução do tempo de tratamento, minimizando custos, e melhora da razão terapêutica com redução das toxicidades agudas e crônicas com melhora do controle local (Chirag *et al.*, 2021).

A terapia sistêmica do CM evolui profundamente nos últimos 40 anos com salto exponencial na última década. Esse desenvolvimento permitiu ganhos de sobrevida global no cenário paliativo, maiores taxas de cura e de cirurgia conservadora da mama com o uso de regimes mais efetivos de tratamento

paliativo, adjuvante e neoadjuvante. Benefícios que ocorram graças ao uso de regimes de quimioterapia de terceira geração, o surgimento de moléculas para tratamento endócrino dos tumores luminais, o bloqueio do receptor HER2 e, mais recentemente, o uso de inibidores de checkpoint imunológico e de ADCs (Roskoski, 2024; Foulon *et al.*, 2020).

O tratamento sistêmico tradicional do CM, independentemente do subtipo, é a quimioterapia. São exemplos de moléculas utilizadas: Antraciclinas como a doxorrubicina; inibidores de microtúbulos como o paclitaxel, docetaxel e eribulina; antimetabólitos como a capecitabina e a gemcitabina; e agentes alquilantes como a ciclofosfamida, carboplatina e cisplatina (Roskoski, 2024). No cenário paliativo, essas drogas são geralmente utilizadas em monoterapia ou associadas a outra modalidade terapêutica como, por exemplo, as moléculas anti-HER2 exceto no cenário de crise visceral, quando se utilizam combinações de quimioterápicos. No cenário adjuvante e neoadjuvante, utilizam-se esquemas de quimioterapia com combinações de 2 a 4 quimioterápicos em regimes que podem ser sequenciais. (Moy *et al.*, 2021). Como modelo, pode-se citar o esquema AC-T em que são administrados doxorrubicina e ciclofosfamida (AC) a cada 21 dias por 4 ciclos seguidos por 1 infusão de paclitaxel (T) semanal por 12 semanas (*Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group*, 2012). Esse regime foi modificado através da infusão de AC em regime de dose densa a cada 14 dias, com auxílio de fator estimulador de colônia de granulócito para prevenção de neutropenia, seguido de 12 semanas de paclitaxel com carboplatina (TC). Essa modificação resultou em ganhos oncológicos exemplificando a evolução do tratamento quimioterápico (Schmid *et al.*, 2021).

O desenvolvimento de moléculas que bloqueiam a via estrogênica foi essencial para o tratamento dos tumores luminais. O tamoxifeno, um modulador seletivo do RE, foi a primeira molécula desenvolvida para tratamento específico dessa população (Sainsbury, 2013). Outra classe que atua nessa via é a dos inibidores de aromatase (IA), enzima responsável pela conversão de androgênios e estrogênio. São exemplos o anastrozol e o letrozol. (Francis *et al.*, 2018). Destaca-se ainda o fulvestranto que é um degradador seletivo do RE (SERD) e demonstrou desfechos oncológicos superiores aos da IA no cenário metastático (Robertson *et al.*, 2016). O uso dessas moléculas é normalmente

associado à castração das pacientes na pré-menopausa. Essa castração pode ser cirúrgica, actínica ou química com análogos do hormônio luteinizante (LHRH) (Gennari *et al.*, 2021).

A associação de moléculas inibidoras de ciclina como o palbociclibe, ribociclibe e abemaciclibe à terapia endócrina representou melhora dos desfechos oncológicos das pacientes luminais. Essa associação é aprovada para o cenário paliativo com ganho de sobrevida global (Hortobagyi *et al.*, 2016) e para a adjuvância de tumores luminais com alto risco de recidiva (Johnston *et al.*, 2023; Slamon *et al.*, 2024).

O trastuzumabe é um anticorpo que tem como alvo o receptor de tirosinoquinase HER2 e impede a sua dimerização e consequente ativação de cadeias de sinalização de crescimento celular, como as PI3K-mTOR e MAP quinase. O seu uso melhorou expressivamente o prognóstico das pacientes HER2 hiperexpresso em todos os cenários oncológicos. O uso do duplo bloqueio do receptor HER2 com a associação de trastuzumabe e pertuzumabe demonstrou ganhos na população HER2 hiperexpresso no cenário de primeira linha paliativa (Swain *et al.*, 2015), adjuvante (Piccart *et al.*, 2021) e neoadjuvante (Gianni *et al.*, 2016).

Anticorpos inibidores de checkpoint imunológico como os anti-PD1, anti-PDL1 e anti-CTLA4, também conhecidos como imunoterapia, levam a aumento da citotoxicidade imunológica no microambiente tumoral. Essas drogas, como, por exemplo, o pembrolizumabe, foram recentemente incorporadas ao arsenal terapêutico da oncologia mamária dos tumores TN. São utilizados tanto no cenário neoadjuvante quanto no cenário de 1ª linha paliativa. (Cortes *et al.*, 2022; Schmid *et al.*, 2020).

A utilização de tratamentos com ADCs é o passo mais recente da evolução dos tratamentos sistêmicos oncológicos. Trata-se da utilização de receptores de membrana como alvos de anticorpos que carregam quimioterápicos. O anticorpo bloqueia a via de sinalização de crescimento tumoral do receptor alvo. A carga citotóxica é endocitada, culminando na destruição da célula-alvo. E por fim, esse resto celular rico em substância quimioterápica atua por efeito *by stander* nas outras células tumorais que não expressam o antígeno alvo (Parit *et al.*, 2024).

A primeira droga utilizada na oncologia mamária com esse mecanismo de ação foi o trastuzumabe emtansina (T-DM1) que tem como alvo os receptores HER2 e como carga quimioterápica a mertansina que é um inibidor de microtúbulos. Essa droga tem aprovação no cenário de terceira linha paliativa dos tumores HER2 hiperexpressos (Krop *et al.*, 2017) que progrediram à quimioterapia com trastuzumabe e/ou pertuzumabe e ao trastuzumabe deruxtecan (T-Dxd). A outra indicação é para as pacientes HER2 hiperexpresso que não apresentaram RPC à terapia neoadjuvante com quimioterapia e bloqueio HER2 (Von Minckwitz *et al.*, 2019).

O T-Dxd é uma molécula que também tem como alvo os receptores HER2 e utiliza como carga quimioterápica o deruxtecan, que é um inibidor de topoisomerase I. Inicialmente ganhou aprovação para tratamento de pacientes metastáticas HER2 hiperexpresso politratadas. Rapidamente teve eficácia comprovada em linhas anteriores e hoje tem aprovação em 2^a e 3^a linha após progressão ao trastuzumabe e taxano ou ao T-DM1 (Cortés *et al.*, 2022; Fehm *et al.*, 2024). Apresenta também eficácia comprovada para tumores HER2 *low* e *ultralow*, sendo uma opção para tratamento de tumores TN e luminais com essa classificação (Bardia *et al.*, 2024).

O anti-TROP 2 sacituzumabe govitecan é outro ADC que tem como carga quimioterápica o composto SN-38. Esse é um metabólito ativo do irinotecano, com 1000 vezes mais atividade de inibição da topoisomerase I. O sacituzumabe govitecan tem aprovação para o tratamento de tumores TN e luminais em linhas tardias do tratamento paliativo (Rugo *et al.*, 2022; Bardia *et al.*, 2021).

As drogas inibidoras da PARP aproveitam a deficiência dos mecanismos de recombinação homóloga, presentes nas pacientes com mutações em BRCA, e, através do mecanismo da letalidade sintética, aumentam a taxa de apoptose. O olaparibe é um inibidor de PARP com aprovação para tratamento de tumores TN em pacientes com mutação germinativa de BRCA em segunda linha paliativa (Robson *et al.*, 2017). Além disso, tem aprovação para tratamento adjuvante de pacientes triplo-negativas e luminais, com mutação de BRCA, que não apresentaram RPC à neoadjuvância (Tutt *et al.*, 2021).

Por último destacam-se moléculas como o Alpelisibe que é um inibidor de PI3K utilizado junto ao fulvestranto em 2ª linha nas pacientes luminais com mutação do gene PIK3CA (André *et al.*, 2019).

2.4. O tratamento neoadjuvante do câncer de mama e a resposta patológica

O conceito de tratamento neoadjuvante do CM consiste na utilização de drogas antineoplásicas previamente à exérese tumoral. Estas drogas podem ser quimioterápicos, como no esquema AC-TC dose densa, anticorpos monoclonais, como o uso do pembrolizumabe nos tumores TN (Schmid *et al.*, 2020) e do duplo bloqueio com trastuzumabe e pertuzumabe nos HER2 hiperexpressos (Gianni *et al.*, 2016) ou hormonioterapia que geralmente é utilizada para pacientes com tumores luminais na pós menopausa e com capacidade funcional limítrofe (Korde *et al.*, 2021). A neoadjuvância tem como principal objetivo a redução do volume de doença na mama e nos linfonodos regionais. Isso resulta em maior frequência de cirurgias conservadoras da mama e, conseqüentemente, menor número de complicações pós-operatórias, como, por exemplo, o linfedema. Além de melhores resultados cirúrgicos cosméticos. Há ainda a possibilidade de avaliação da efetividade da terapia sistêmica *in vivo*, com a resposta clínica observada durante os ciclos de tratamento. Todos esses benefícios se somam aos que já eram alcançados com a terapia adjuvante como ganho de sobrevida livre de recidiva e ganho de sobrevida global (Gradishar *et al.*, 2024).

No âmbito da pesquisa clínica, a neoadjuvância permite acesso a dados precoces sobre vias de sensibilidade e resistência e a eficácia de novos tratamentos. Isso ocorre devido à oportunidade, que essa modalidade de tratamento permite, de acesso a estudos de imagem, de histologia e bioquímica antes, durante e após a cirurgia. A avaliação da resposta no espécime cirúrgico adianta informações sobre eficácia que demorariam a se definir com desfechos como o de sobrevida global. Isso resulta em aprovação precoce dos tratamentos, tornando-os mais rapidamente disponíveis para os pacientes (Gradishar *et al.*, 2024).

Após a exérese tumoral é possível a avaliação da resposta patológica à terapia prévia através da presença ou ausência de doença residual na peça cirúrgica. Sendo que a presença de doença residual após neoadjuvância é um importante fator prognóstico, principalmente nos tumores TN e HER2 hiperexpressos. Por isso, a RPC pode estar relacionada com desfechos como o de sobrevida global (Yau *et al.*, 2022). De maneira contrária, em alguns cenários, o uso de drogas adjuvantes se relaciona a benefício clínico quando não há RPC. Esse tratamento adjuvante pode ser feito com quimioterapia utilizando capecitabina (Masuda *et al.*, 2017), ADC como o T-DM1 (Von Minckwitz *et al.*, 2019) ou o uso de inibidores da PARP (Tutt *et al.*, 2021). Portanto, definir o grau de resposta patológica após neoadjuvância tem importância prognóstica e para definição terapêutica.

A ocorrência de RPC é mais comum no tratamento dos tumores TN e HER2 hiperexpresso. Esse é um evento infrequente para os tumores luminais, mas a intensidade da resposta à neoadjuvância, mesmo que incompleta, segue sendo fator prognóstico nessa população. O grau da resposta patológica ao tratamento neoadjuvante pode ser avaliado de maneira não dicotômica através de sistemas de classificação. Dentre os sistemas existentes, o testado em uma população maior e, portanto, o mais utilizado é o de Symmans, também chamado de “*residual cancer burden (RCB)*” (Symmans *et al.*, 2021). Este sistema utiliza quatro classes de resposta patológica. RCB 0 que é sinônimo de RPC. RCB 1, RCB 2 e RCB 3, que são respectivamente doenças residuais mínimas, moderadas e extensas. Idealmente, todo laudo anatomopatológico de exérese de CM após neoadjuvância deve fornecer essa informação (Symmans *et al.*, 2017).

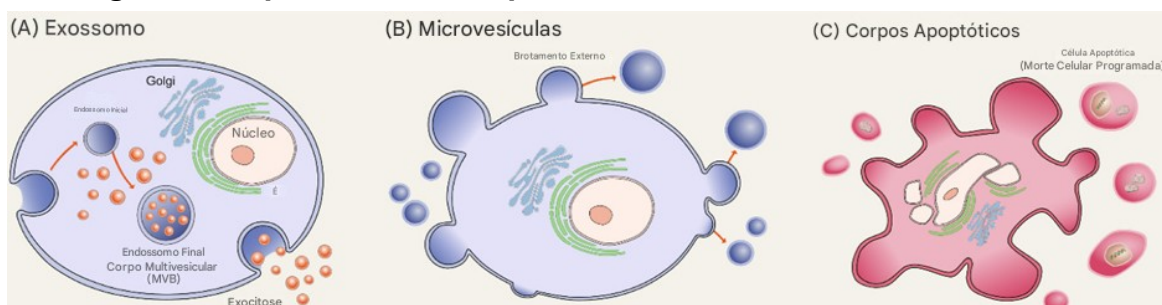
O fato de que o grau de resposta patológica é diretamente proporcional ao prognóstico clínico torna este o desfecho principal dos estudos clínicos de neoadjuvância. Atualmente, busca-se aprimorar os tratamentos neoadjuvantes para o alcance de taxas maiores de RPC. Este aprimoramento caminha junto ao uso de técnicas de medicina de precisão para melhor individualização terapêutica e equilíbrio entre eficácia e toxicidade. Estas técnicas são baseadas em análise genômica e/ou transcritômica tumoral para melhor estratificação prognóstica e preditiva através do fornecimento de informações classificatórias

que vão além do estadiamento e da análise imunohistoquímica. (Griguolo *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2023).

2.5. As vesículas extracelulares tumorais e os miRNAs

Biomarcadores preditores de RPC podem contribuir para a definição do tratamento neoadjuvante mais eficaz. Os miRNAs circulantes encontrados dentro das vesículas extracelulares tumorais têm potencial para a realização dessa função. As vesículas extracelulares constituem um grupo heterogêneo de estruturas membranosas derivadas de células. Podem ser classificadas em 4 tipos: exossomos, oncossomos, copos apoptóticos e as microvesículas (MV). Os exossomos, cujo tamanho varia de 40 a 160 nm, são formados por invaginação da membrana endossomal, formando vesículas intraluminais que se fundem à membrana plasmática e são liberadas no meio extracelular (Figura 4A). Corpos apoptóticos são formados pela membrana plasmática apoptótica e têm diâmetros que variam de 50-2000 nm (Figura 4C). Os oncossomos são derivados da membrana plasmática de células tumorais agressivas e são classificados em 2 tipos: oncossomos com diâmetro de 100 - 4000nm e grandes oncossomos diâmetro de 1 a 10 micrometros (Minciacchi; Freeman; Di Vizio, 2015).

Figura 4: Representação esquemática das vesículas extracelulares.



Fonte: Adaptado de Gurunathan *et al.*, 2019.

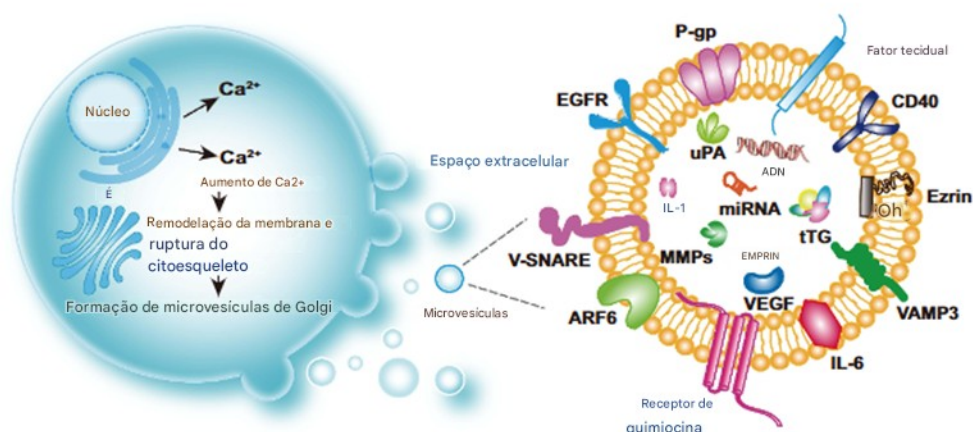
As MV, também conhecidas como ectossomos, são, como os oncossomos, derivadas da membrana plasmática. Mas se diferem desses pela faixa de diâmetro de 100-1000nm (Figura 4B) e por se originarem tanto de células malignas quanto benignas. (Yáñez-Mó *et al.*, 2015). As MV carregam

várias substâncias incluindo proteínas de membrana com o cluster de diferenciação 40 (CD40), o fator de ribosilação-ADP (ARF6) e o indutor de metaloproteinase da matriz extracelular (EMMPRIN). Essas proteínas são utilizadas para identificação e caracterização dessas estruturas (Stahl; Raposo, 2019). Além disso as MV apresentam expressões fenotípicas similares às da célula de origem permitindo a identificação de seu local de surgimento. A biogênese das MV tem origem no aumento de Ca^{2+} intracelular, através de influxo ou liberação pelo reticulo endoplasmático. O aumento do Ca^{2+} leva a despolimerização enzimática do citoesqueleto de actina e ao remodelamento da membrana plasmática através translocação de fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina para a sua parte externa promovendo a eliminação de MV (Figura 5). (Taylor; Bebawy, 2019).

As microvesículas tumorais (MVT) são as originadas de células cancerígenas e liberadas no microambiente tumoral. Além das proteínas de membrana já citadas, essas estruturas carregam em seu interior enzimas, fatores de crescimento, citocinas, metaloproteinases, lipídios, mRNA, DNA genômico e microRNAs (miRNA) (Couper *et al.*, 2010). Essas substâncias interagem com as próprias células tumorais, com células imunes e inflamatórias, com fibroblastos associados ao câncer, com o endotélio tumoral e com os componentes da matriz celular promovendo a homeostase do microambiente tumoral. Portanto, as MVT contribuem para a ocorrência de etapas fundamentais para o desenvolvimento e progressão tumoral como a imunossupressão, angiogênese, invasão e metastatização (Zhu *et al.*, 2021).

A imunossupressão ocorre, por exemplo, pelo estímulo a macrófagos M2 anti-inflamatórios pelas MVT (Vanaja; Rathinam, 2015). O transporte de metaloproteinases de matriz extracelular estimula a invasão tumoral (Inal *et al.*, 2012). A presença de EMMPRIN na membrana das MVT estimula a secreção de fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF) pelas células tumorais promovendo angiogênese (De Palma; Biziato; Petrova, 2017). Células tumorais podem utilizar moléculas de adesão absorvidas de MV originadas de plaquetas para promoção de metástase (Pap; Pállinger; Falus, 2011).

Figura 5: Biogênese e conteúdo das microvesículas.



As vesículas extracelulares incluem microvesículas (MVs), exossomos, oncosomos e corpos apoptóticos. As MVs são produzidas por brotamento da membrana plasmática e possuem diâmetros que variam de 100 a 1000 nm. O aumento do Ca^{2+} intracelular pode ativar enzimas dependentes de cálcio, levando à despolimerização do citoesqueleto de actina e ao remodelamento da membrana, promovendo a liberação das MVs. São exemplos de substâncias contidas nas MVs: miRNA, DNA, metaloproteinases, VEGF, EGFR, IL-6, receptores de quimiocinas. Fonte: Adaptado de Zhu *et al.*, 2021.

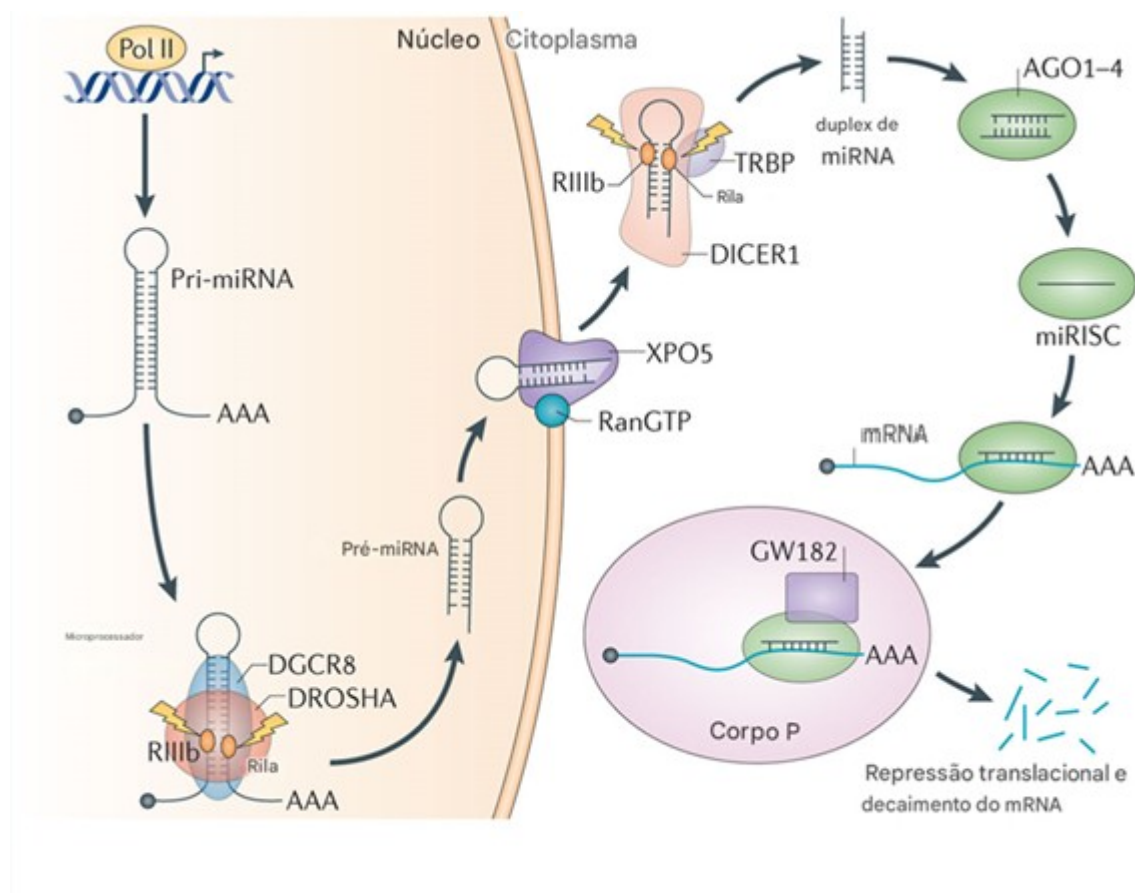
As MVT relacionam-se ao mecanismo de multirresistência a drogas antineoplásicas mediado pelo transportador de efluxo multidrogas da membrana plasmática, a glicoproteína P (gp-P). As MVT podem carrear substâncias que estimulam a expressão de gp-P nas células tumorais como, por exemplo, o canal de potencial receptor transitório 5 (TRPC5). Além disso, MVT originadas de células multirresistentes induzem resistência em células previamente sensíveis através da absorção do gp-P carregada por essas microvesículas (Namee; O'Driscoll, 2018).

Em contraste, as MV têm aplicações oncológicas diagnósticas e terapêuticas. O potencial imunogênico dos antígenos tumorais presentes nas MVT é investigado para o desenvolvimento de vacinas contra o câncer utilizando essas estruturas. (Parenky *et al.*, 2019). Consideradas com potencial terapêutico, as MV têm se mostrado como um sistema seguro e eficaz para carregamento direcionado ao microambiente tumoral de drogas antineoplásicas com quimioterápicos, adenovírus oncolíticos e anticorpos (Zhang *et al.*, 2020). As MVT e as moléculas que elas carregam podem ser detectadas no sangue, na urina e na saliva através da técnica de citometria de fluxo (Moreira *et al.*, 2025).

Essa detecção é utilizada como método não invasivo para obtenção de biomarcadores de diagnóstico oncológico, avaliação prognóstica e preditiva e de resistência tumoral. Dentre esses biomarcadores se destacam os miRNAs (Martins; Dias; Hainaut, 2023).

Os miRNAs são pequenas moléculas de RNA de fita única não codificantes. Em humanos, apresentam comprimento médio de 22 nucleotídeos podendo esse valor variar entre 19 e 25 (Figura 6) (Lee *et al.*, 2010). Atuam regulando a expressão de vários genes relacionados a processos biológicos como divisão celular, diferenciação celular, migração, angiogênese, apoptose e consequentemente na oncogênese. (Wen *et al.*, 2019). Os genes que codificam os miRNAs estão localizados nos íntrons e éxons de genes que codificam proteínas e em regiões intergênicas. Normalmente os genes que codificam miRNAs encontram-se em regiões cromossômicas frágeis, de alta instabilidade genética, com baixa amplificação, relacionadas a perda de heterozigose (LOH) e ao câncer. Isso resulta em maior chance de deleção, com perda de expressão do miRNA (Callin *et al.*, 2004).

Figura 6: Síntese e estrutura dos miRNAs.



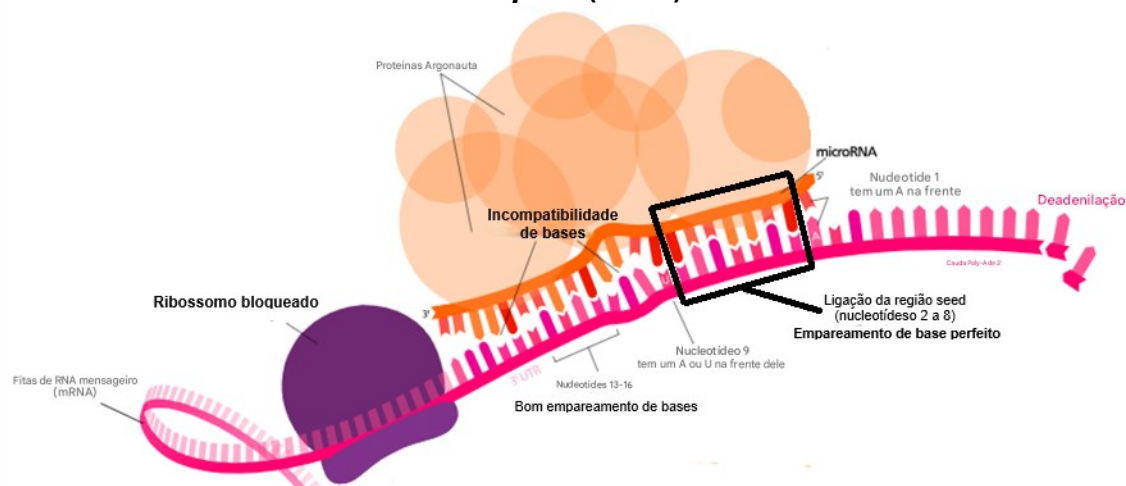
No núcleo, a RNA polimerase II (Pol II) transcreve os genes de miRNA, formando o pri-miRNA (miRNA primário). Esse pri-miRNA será processado pelo complexo Drosha-DGCR8 e dará origem a um precursor de miRNA em formato de grampo (pre-miRNA), que será exportado para o citoplasma através da ação de Exportina-5. No citoplasma, o pre-miRNA é processado por Dicer e se transforma em um RNA fita dupla. Este será incorporado ao complexo RISC e pela atuação de Argonata, selecionará uma fita de RNA que atuará como um miRNA maduro. Em humanos, os miRNAs se ligam à região 3' UTR do RNAm alvo, reprimindo o processo de tradução. Fonte: Adaptado de Zhu et al., 2016.

Estima-se que 60% dos genes humanos são regulados por miRNAs. (Liu; Li; Cairns, 2014). Essa regulação ocorre através da ligação do miRNA a região não traduzida 3' (3'UTR) do RNA mensageiro (mRNA) impedindo a sua tradução (Figura 7). Estima-se que 30% do mRNA humano é estritamente regulado por miRNA. Existem evidências de que essa regulação também ocorre, com menor frequência e efetividade, pela ligação a região não traduzida 5' (5'UTR) e a ligação a região de fase de leitura aberta (ORF) (Lytle; Yario.; Steitz, 2007). A complexidade desse mecanismo de regulação gênica é expressa pela grande

quantidade de miRNAs já descritos, aproximadamente 2300 miRNAs até 2019, e ao fato de que um miRNA pode regular vários mRNAs e um mRNA pode ser regulado por miRNAs diferentes (Alles *et al.*, 2019).

Os miRNAs oncogênicos são classificados com oncomirs e os que inibem a oncogênese são classificados como miRNAs supressores. Porém essa classificação é uma simplificação e um mesmo miRNAs pode atuar de maneiras antagônicas dependendo de quantidade total de mRNAs regulados (Smolarz, B. *et al.*, 2022.). A perda de expressão de miRNAs supressores relaciona-se, a já citada, fragilidade das regiões codificadoras dessas moléculas e a mecanismos epigenéticos como a metilação de regiões promotoras da transcrição de miRNAs. A superexpressão de oncomirs ocorre através da amplificação de genes codificadores de miRNAs, aumento da estabilidade das moléculas de miRNAs e aumento da biogênese por maior atividade das enzimas relacionadas à sua transcrição (Piao; Piao; Ryu, 2017).

Figura 7: Diagrama do bloqueio da tradução do mRNA pelo complexo de proteínas argonautas e miRNA que constituem o *RNA-Induced Silencing Complex (RISC)*.



O RISC ancora sobre a fita de RNA e bloqueia a tradução, além de acelerar o processo de degradação do RNA chamado deadenilação. Diferente das células vegetais, em células animais os miRNAs normalmente não pareiam perfeitamente aos mRNAs alvo. Fonte: Adaptado de MiRNA.svg, 2024.

A existência de miRNAs circulantes que podem ser detectados no plasma, na urina, na saliva e em amostras de tecido ocorre por três mecanismos teóricos distintos, não excludentes e provavelmente complementares. O primeiro é através da liberação resultante de lesão celular secundária à inflamação, apoptose e metastatização da carcinogênese. O segundo é um processo ativo de liberação através de MV. E o terceiro se constitui na secreção ativa e seletiva dos miRNAs em forma livre das MV em resposta a estímulos celulares. Os miRNAs excretados pelas células cancerígenas atuam de maneira exócrina em diversas partes do corpo (Chen *et al.*, 2008). Essas moléculas podem interferir no funcionamento de vias metabólicas levando ao favorecimento da propagação da neoplasia ou a uma resposta antineoplásica sistêmica mais efetiva (Kyoung Mi *et al.*, 2017). Os miRNAs circulantes têm como característica resistência às RNases endógenas e exógenas, além de estabilidade em condições variáveis de pH e temperatura. Essa estabilidade se mantém mesmo quando congelados -80°C . Característica que contribui para o uso clínico diagnóstico dessas moléculas (Fang *et al.*, 2012).

Terapias oncológicas que utilizam miRNAs estão em investigação. Podem ocorrer através da reposição de miRNAs supressores inibidos com moléculas de miRNAs artificiais ou através da inibição de oncomirs. Essa inibição pode ser realizada por tecnologia de DNA ou RNA sintéticos como antagomirs, esponjas de miRNAs, máscaras de miRNAs, oligonucleotídeos anti-miRNA, dentre outros. (Tay *et al.*, 2015; Nedaeinia *et al.*, 2016). O grande desafio dessas terapias é a introdução dessas moléculas sintéticas no microambiente tumoral sem que ocorra degradação na corrente sanguínea. Uma alternativa viável é a entrega ser realizada através do uso de nanocarregadores e de lipossomos (Xiao *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2014). Além disso, a expressão de miRNAs circulantes, por exemplo, no plasma e na saliva podem ser utilizadas para rastreamento de neoplasias, diagnóstico e avaliação prognóstica e preditiva através de assinaturas transcritômicas (Zhang *et al.*, 2021).

2.6. O uso de assinaturas genéticas no câncer de mama

As assinaturas genéticas têm papel bem definido para indicação de quimioterapia adjuvante dos carcinomas de mama luminais (Cardoso *et al.*, 2016; Joseph *et al.*, 2018; Kalinsky *et al.*, 2021). O *Oncotype DX*® é um teste que avalia a expressão de 21 genes através de RT-PCR que classifica as pacientes através de um escore de recorrência (*Recurrence Score* - RS) com valores de 0 a 100. (Paik *et al.*, 2014). O RS foi validado no estudo TAILORx para indicação de quimioterapia adjuvante nas pacientes com CM luminal com linfonodo negativo. Paciente com RS <11, entre 11 e 15 com menos de 50 anos e com < 26 com mais de 50 anos não se beneficiaram de quimioterapia adjuvante (Sparano *et al.*, 2018). O estudo RxPONDER validou o seu uso para indicação de quimioterapia adjuvante nas pacientes com 1 a 3 linfonodos positivos. Em pacientes na pós menopausa com RS menor ou igual a 25 não há benefício de quimioterapia adjuvante (Kalinsky *et al.*, 2021).

O *MammaPrint*® é uma assinatura de 70 genes utilizada para classificação dos tumores de mama em baixo e alto risco genômico (Van 'T Veer *et al.*, 2022). O estudo MINDACT investigou o benefício de quimioterapia

adjuvante para pacientes com alto risco clínico, mas com baixo risco genômico pela avaliação do *MammaPrint*®. O desfecho primário era recidiva à distância e não foi visto diferença estatisticamente significativa entre a população com e a sem quimioterapia adjuvante (95.9% versus 94.4% respectivamente HR 0.78, 95% CI 0.50-1.21). A maioria da população com intenção de tratar era linfonodo negativo, sendo que 20% tinham entre 1 e 3 linfonodos positivos (Piccart *et al.*, 2021).

O PAM50® é uma assinatura de 50 genes que classifica pacientes com RE positivo em baixo, médio e alto risco de recorrência (Nielsen *et al.*, 2010). O *Breast Cancer Index* (BCI)® avalia a expressão de 03 genes (HOXB13, IL17BR, EST A1240933) para predição de resposta a terapia endócrina e indicação de terapia estendida com tamoxifeno (Bartlett *et al.*, 2019). O *Endopredict*® é uma assinatura de 11 genes, baseada em RNA, que utiliza RT-PCR e que tem potencial para identificar paciente com tumores luminais com baixo risco de recidiva sem quimioterapia adjuvante (Buus *et al.*, 2016).

Há ausência de evidências robustas para o uso de assinaturas gênicas no cenário do tratamento neoadjuvante para modulação de intensidade de tratamento, mas existem estudos iniciais investigando esta abordagem (Casey *et al.*, 2016; Ohzawa *et al.*, 2017; García-vazquez *et al.*, 2017). Um exemplo é o estudo MINT que avaliou o uso do *MammaPrint*® em combinação com outro escore chamado *BluePrint*® para predição de RPC e negatização de axila (ypN0) com quimioterapia neoadjuvante com antraciclinas e taxanos. O *BluePrint*® é uma assinatura de 80 genes utilizada para classificação genômica dos tumores de mama em luminais (gluminal), HER2 (gHER2) e basais (gbasal). O estudo demonstrou que tumores com alto risco genômico pelo *MammaPrint*® e os gHER2 e gBasais apresentam maiores taxas de RPC e ypN0 quando comparados aos tumores de baixo risco genômico e gLuminais (Blumencranz *et al.*, 2023).

Estudos recentes mostraram que assinaturas de miRNAs podem ser utilizadas para auxílio no diagnóstico e predição de resposta a tratamentos oncológicos. Um exemplo é o *ThyraMIR test*®, que avalia a expressão de 10 miRNAs (miR-223-3p, miR-551b, miR-146b, miR-146b-5p, miR-375, miR-31-5p, miR-204-5p, miR-155-5p, miR-29b-1-5p, miR-138-1-3p) para

classificação de tumores de tireoide (Smolarz *et al.*, 2022). Outro teste chamado *miRpredX-31-3p*® é utilizado para avaliação preditiva de resposta a terapia anti-EGFR em tumores colorretais com KRAS selvagem (Sur *et al.*, 2019).

Tratando-se de oncologia mamária não há estudos robustos e positivos de combinação de miRNAs em assinaturas transcritômicas. Porém existem alguns dados com miRNAs individuais. Por exemplo foi demonstrado relação estatisticamente significativa entre valores elevados, pré neoadjuvância, dos miRNAs 148a-3p e 374a-5p com RPC em pacientes HER2 hiperexpresso (Di Cosimo *et al.*, 2020). O mesmo foi demonstrado para o miR-7 em meta-análise de 5 estudos com todos os subtipos de CM (Zhang *et al.*, 2022). Os miR-222, miR-20a, e miR-451 relacionam-se a quimiossensibilidade em tumores luminais sem hiperexpressão de HER2 (Zhu *et al.*, 2018). O miR-30c relaciona-se a sensibilidade ao paclitaxel e a doxorrubicina e o mir-200c relaciona-se a reversão da transição epitélio mesênquima em tumores TN promovendo anoikis (Kavya *et al.*, 2023). Por fim, uma assinatura de 4 miRNAs (miR-18b, miR-103, miR-107 e miR-652) que consegue prever recidiva tumoral e sobrevida global foi validada em uma coorte de 70 pacientes com tumores TN (Kristine *et al.*, 2015).

A predição da resposta patológica através de uma assinatura de miRNAs, obtidos por biópsia líquida pré neoadjuvância poderia auxiliar na definição do melhor tratamento, no aumento da taxa de cirurgias conservadoras da mama e na abordagem axilar menos invasiva, resultando em melhores desfechos oncológicos e redução de toxicidade (Chen, 2023). Este estudo teve como objetivo identificar miRNAs circulantes associados a vesículas extracelulares, mensurados antes do início da quimioterapia neoadjuvante, capazes de prever RPC em CM. Para isso, foi realizado o isolamento padronizado de vesículas extracelulares a partir de plasma, o sequenciamento de miRNAs e a construção de bibliotecas através do processamento com filtros de qualidade e normalização. Após foi aplicada metodologia de aprendizado de máquina para relacionar os miRNAs encontrados com o desfecho primário de RPC. Essas relações foram submetidas a validação cruzada e a exploração de análise de alvos e vias. Esse processo resultou em uma assinatura de miRNAs com desempenho promissor e no delineamento da metodologia necessária para validação externa e futura aplicabilidade translacional.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a relação entre padrões de expressão de miRNAs derivados de vesículas extracelulares e resposta patológica em pacientes femininas com CM a fim de identificar uma assinatura transcritômica preditiva RPC.

3.1. Objetivos específicos:

1) Identificar, através de amostras de sangue coletadas no pré-tratamento (biópsia líquida), padrões de expressão de miRNAs exossomais derivados de vesículas extracelulares em uma população de mulheres com CM que serão submetidas à terapia neoadjuvante;

2) Identificar as pacientes com RPC.

3) Relacionar os padrões de miRNAs encontrados com os dados clínicos e imunohistoquímicos utilizando técnicas de inteligência artificial baseada em aprendizado de máquina;

4) Propor, utilizando bioinformática, uma assinatura transcritômica com potencial preditor de RPC.

5) Avaliar a associação da assinatura de miRNA identificada sobre a sobrevida de pacientes com CM.

4. JUSTIFICATIVA

O CM é um grande problema de saúde pública no mundo com aumento progressivo das taxas de incidência. Na população brasileira apresenta aumento da taxa de mortalidade e se tornou a principal causa de morte por câncer na população feminina. O CM TN é o subtipo mais agressivo, ocorre comumente em mulheres jovens e tem tendência a metastatizar para o pulmão e o cérebro. Pela ausência de expressão de RE, RP e HER2, a quimioterapia continua sendo o tratamento neoadjuvante de escolha para esse subtipo molecular, principalmente na Sistema de Único de Saúde (SUS), onde as pacientes não têm acesso a associação com imunoterapia. Com essa estratégia de tratamento as taxas de RPC chegam a apenas 45%, com risco de recidiva e morte em 5 anos de 26 e 23% respectivamente (Liedtke *et al.*, 2007).

Portanto, é urgente a pesquisa por biomarcadores que tenham valor prognóstico e preditivo que possam auxiliar na escolha de tratamentos personalizados mais eficazes, na minimização dos efeitos colaterais e na elucidação de novos alvos e modalidades de terapias. A capacidade de prever RPC pode melhorar a classificação de risco das pacientes com tumores TN em tratamento neoadjuvante resultando em tratamentos mais precisos. A possibilidade de modulação da intensidade de tratamento pode refletir em melhora de prognóstico para as doenças mais agressivas e redução de toxicidade para as doenças mais indolentes, o que implica em importante ganho clínico para as pacientes.

Esse estudo foi desenhado para investigar como os miRNAs desempenham esse papel de biomarcador auxiliando no tratamento neoadjuvante das pacientes com tumores TN. Esses dados são relevantes para a literatura médica, pois o estudo das vias de sinalização de miRNAs relacionadas à oncogênese é alvo recente de pesquisas, com lacunas de conhecimento a serem preenchidas, principalmente no âmbito da pesquisa translacional. A definição destas relações pode estimular trabalhos para validação das mesmas em, por exemplo, culturas celulares. E, por sua vez, a

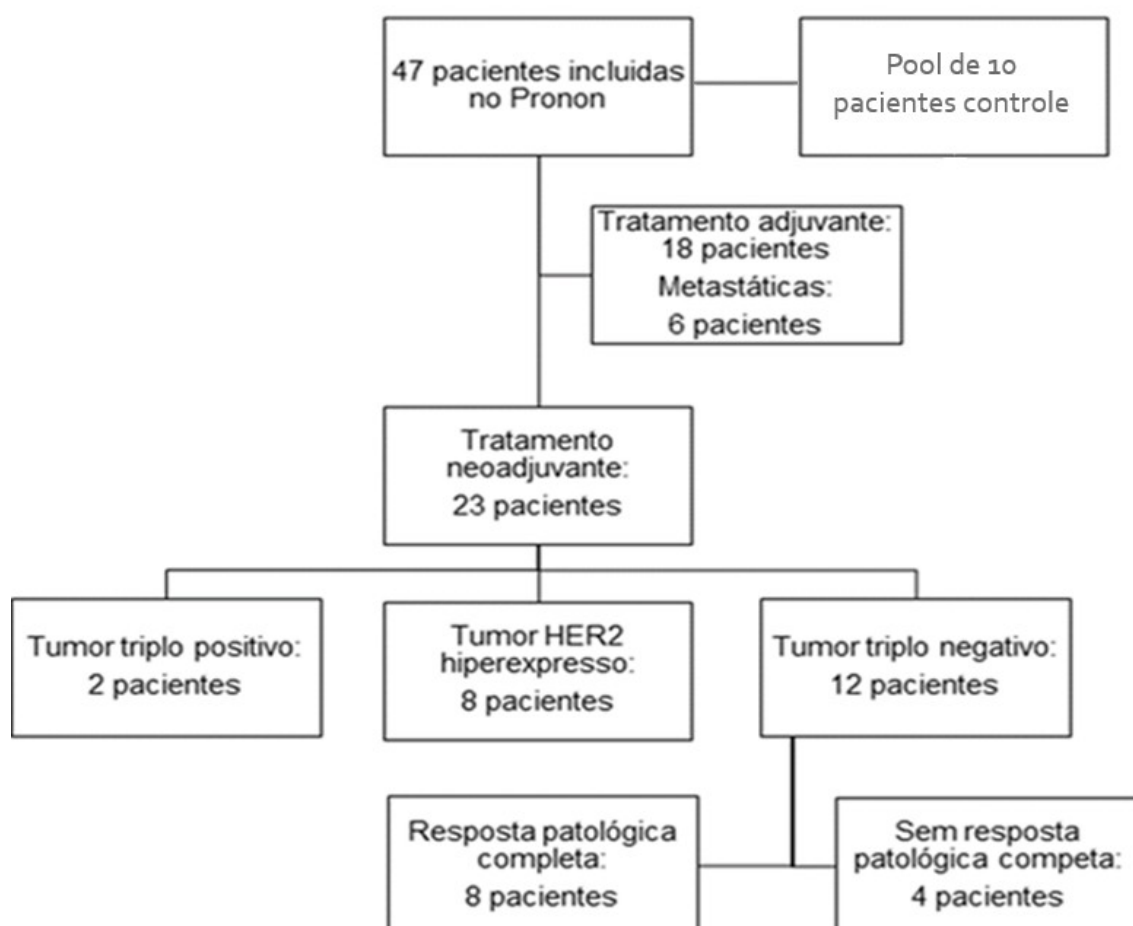
confirmação da importância e o melhor entendimento destas vias pode estabelecer novos alvos terapêuticos e estimular ensaios clínicos.

5. METODOLOGIA

5.1 Obtenção das amostras

Foram elegíveis para este estudo, pacientes do sexo feminino com diagnóstico de CM, virgens de tratamento oncológico e com proposta de realização de quimioterapia neoadjuvante (Figura 8). As amostras foram obtidas de pacientes incluídas no projeto Biobanco do Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica (PRONON), realizado em um centro oncológico de grande porte da cidade de Belo Horizonte, em Minas Gerais, no Brasil. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa institucional, sob o código de registro (CAAE - 82703418.8.0000.5121).

Figura 8: Fluxograma de inclusão, divisão de subtipos moleculares e resposta patológica.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Após orientação das pacientes sobre a pesquisa e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), as amostras de sangue periférico foram coletadas em tubos contendo anticoagulante ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA). A coleta das amostras foi realizada antes do início do tratamento oncológico. Imediatamente após a colheita, as amostras foram processadas por centrifugação por 15 minutos a 3500 rpm em temperatura ambiente. O soro foi transferido para criotubos, em alíquotas de 1 ml, e armazenados a -80°C até o uso para análise.

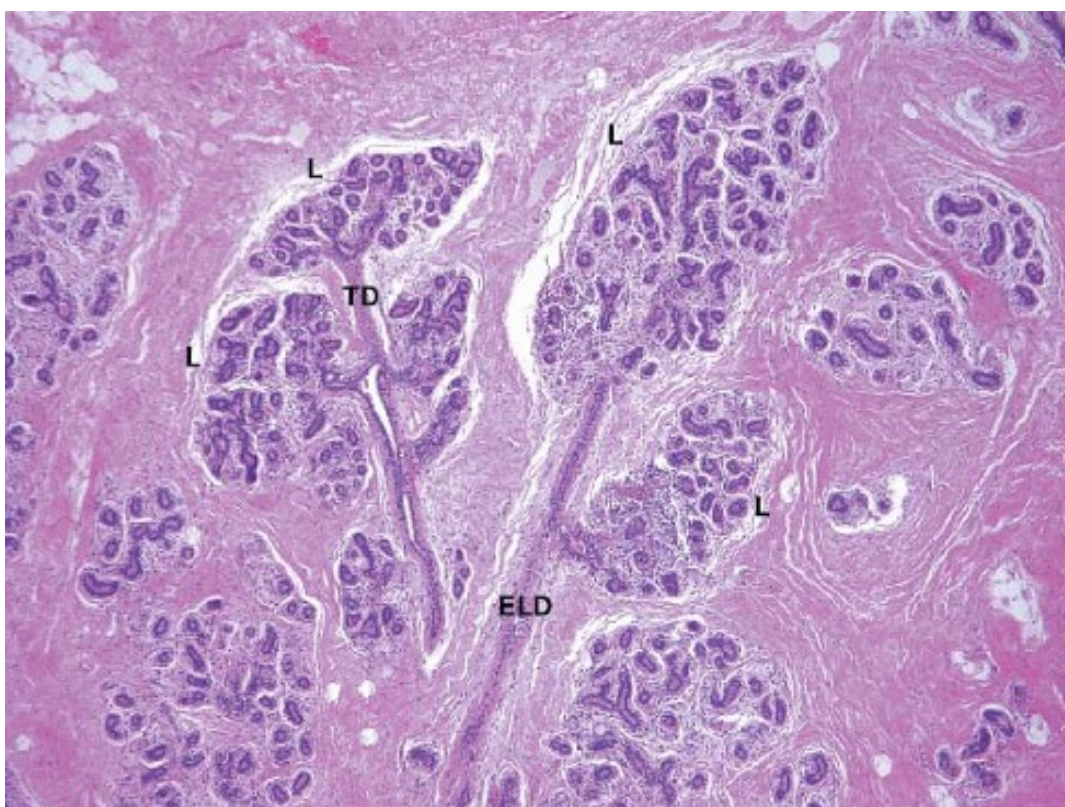
5.2 Extração do RNA total das vesículas e sequenciamento

Para isolamento das vesículas extracelulares, o soro/plasma foi descongelado em temperatura ambiente e centrifugado por 15 minutos a 3000 xg a 4°C. O sobrenadante foi capturado gentilmente e armazenado em um novo microtubo. Esta etapa tem como objetivo a eliminação de restos celulares disponíveis no soro/plasma. Em seguida, utilizando o kit *microRNeasy* (Qiagen™), as vesículas foram capturadas e submetidas à extração do RNA total, conforme instruções do fabricante. Os RNAs obtidos foram utilizados para a preparação das bibliotecas de sequenciamento utilizando o kit *QIAseq® miRNA Library* (Qiagen™), conforme instruções do fabricante. A concentração das bibliotecas foi aferida utilizando o kit *Qubit™ RNA High Sensitivity* (Invitrogen™) e lida no equipamento *Qubit 3.0®* (ThermoFischer™). A qualidade das bibliotecas foi analisada utilizando *TapeStation 4150* (Agilent™). As bibliotecas foram desnaturadas e sequenciadas no equipamento *NEXTseq 550* (Illumina™) utilizando o kit *High Output* de 75 ciclos (Illumina™), conforme instruções do fabricante. A identificação dos miRNAs sequenciados e suas quantidades foram realizadas utilizando o software UNITAS® 1.8 (Gebert et al., 2017). Apenas sequências com pelo menos 15 nucleotídeos e score de qualidade igual ou superior a Phred 30 foram consideradas.

5.3 Análise da resposta patológica

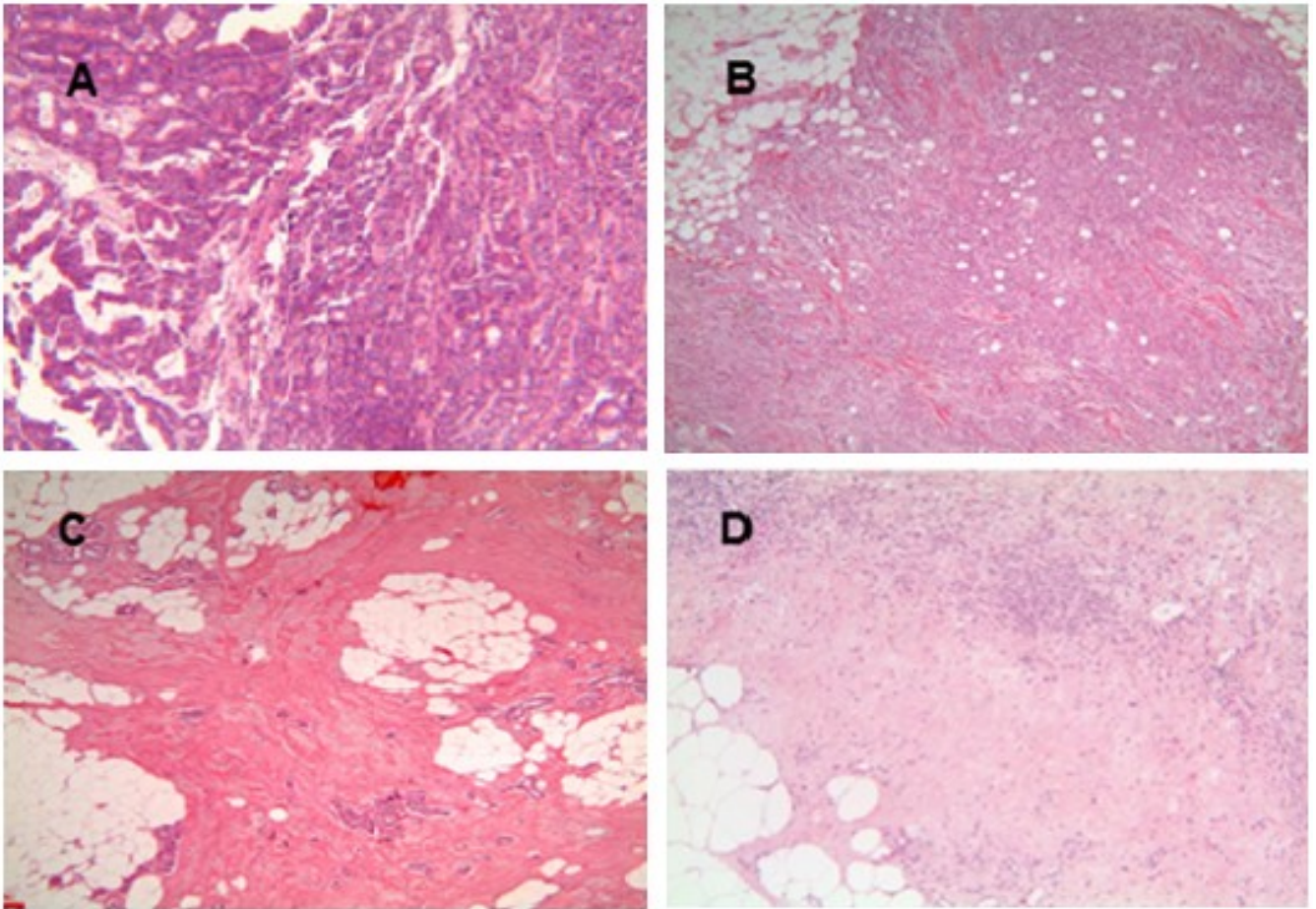
Após o término da neoadjuvância, as pacientes foram submetidas à exérese tumoral e foi definido o grau de resposta patológica através de análise histopatológica (Figuras 9 e 10) (Symmans *et al.*, 2017; Symmans *et al.*, 2021). Em relação à resposta patológica, as pacientes foram divididas em dois grupos: Resposta patológica completa (RPC) e não resposta patológica completa (NRPC). Em relação aos subtipos moleculares de CM, as pacientes foram divididas em HER2 hiperexpresso e TN.

Figura 9: Morfologia do tecido mamário normal.



ELD: Ducto extralobar. TD: Ducto terminal. L:Lobulos. Fonte: Adaptado de Oncohemakey, 2025

Figura 10: Morfologia da resposta patológica do câncer de mama a quimioterapia neoadjuvante.



A: Carcinoma de mama prévio a neoadjuvância B: Carcinoma de mama com resposta patológica insignificante C: Carcinoma de mama com resposta patológica parcial D: Carcinoma de mama com RPC. Fonte: Adaptado de Pinder et al., 2007.

5.4 Análise de expressão diferencial e de aprendizado de máquina

O perfil de expressão diferencial dos miRNAs entre os subtipos de CM e entre os grupos RPC e NRPC foi avaliado, com parâmetros ajustados, através do software DESeq2 (Love, et al., 2014) com ajustes da normalização de expressão diferencial utilizando o software Gemma® (Tang et al., 2023).

Os dados patológicos, moleculares e de expressão dos miRNAs foram processados através de aprendizado de máquina para encontrar os miRNAs que melhor apresentavam expressão diferencial entre as pacientes RPC e NRPC, portanto, com melhor chance de predição desse desfecho. Para isso, foi utilizada a análise de *InfoGain* que avalia o quanto um miRNA tem potencial em reduzir o grau de incerteza (entropia) na classificação de dois grupos. O máximo possível de *InfoGain* é 1.0 quando ocorre separação perfeita. Valores próximos a isso indicam miRNAs relevantes para classificação. Também foi utilizada a ferramenta de aprendizado de máquina do tipo árvore de decisão que selecionou os melhores DemiRNAs (miRNAs diferencialmente expressos) que distinguem as pacientes com RPC e NRPC. Em seguida, foi realizada a validação cruzada do modelo obtido pelo método *Leave One Out Cross Validation* (LOOCV). Este método analisa a capacidade dos miRNAs diferencialmente expressos de distinguir RPC e NRPC em um grupo aleatório diferente da população do estudo.

O software IPA (*Ingenuity Pathway Analysis*) foi utilizado para análise de rede correlacionando os DemiRNAs de interesse encontrados com alvos conhecidos relacionados em vários bancos de dados de miRNAs e mutações tumorais. Como exemplo, foram utilizados *miRBase*, *TargetScan*, *TarBase*, relacionados à predição de alvos de miRNAs e o TCGA e COSMIC relacionados a mutações tumorais. Além disso, foi considerada literatura obtida diretamente pela *Ingenuity Knowledge Base* (IKB) que considera artigos revisados por pares do *PubMed* (Qiagen™, 2025). A análise do impacto da assinatura de miRNAs e seus potenciais nos *hallmarks* do câncer foi realizada utilizando a ferramenta *Hallmark Enrichment Plot* (Menyhart et al., 2025), disponível em: <https://cancerhallmarks.com>. Por fim, foi utilizada a ferramenta *Kaplan-Meier*

Plotter (Györfy, 2021) para associação de dados de sobrevida de pacientes com CM e os miRNAs de interesse nos bancos de dados METABRIC e TCGA.

6. RESULTADO

A coorte foi composta por 23 pacientes com CM submetidas à quimioterapia neoadjuvante, sendo que 17 (73,9%) são RPC) e 6 (26,1%) NRPC. A maioria das pacientes tinha mais de 50 anos, a histologia mais frequente foi o CDI, com prevalência de tumores moderadamente diferenciados (G2). A coorte tinha predominância de tumores T3 e T4 com mais de 4 linfonodos axilares comprometidos. O subtipo molecular mais comum foi o TN. O esquema de quimioterapia mais utilizado foi o AC-T com inclusão de trastuzumabe para as HER2 hiperexpresso. Não ocorreu correlação estatística dessas variáveis com a resposta patológica. A realização de cirurgia conservadora da mama (setorectomia) e a omissão do esvaziamento axilar com biópsia de linfonodo sentinela (BLS) foram maiores nas pacientes RPC, sendo esse achado estatisticamente significativo com $p: 0,018$ para ambas as variáveis.

Dentre as pacientes com tumores TN, 8 apresentaram RPC (66,7%) e 4 não (33,3%). Seis pacientes tinham idade inferior a 50 anos, enquanto os demais seis apresentavam idade superior. A histologia predominante foi CDI com prevalência de tumores G3. Os tumores T3 e T4 foram os mais comuns, com 6 pacientes apresentando 1 a 3 linfonodos axilares positivos e 6 pacientes com 4 ou mais linfonodos acometidos. O esquema de quimioterapia mais realizado foi o AC-T, sendo que apenas uma paciente recebeu carboplatina na neoadjuvância (AC-TC). Nenhuma dessas variáveis apresentou correlação estatística com a resposta patológica. As pacientes com RPC foram submetidas a maior preservação axilar, com significância estatística ($p:0,010$), e tendência a maior realização de cirurgia conservadora da mama ($p:0,067$).

Tabela 3: Dados clínicos de pacientes submetidas à neoadjuvância.

	Com resposta patológica completa (RPC)	Não resposta patológica completa (NRPC)	p valor
Idade			0,179
≥50	8	5	
<50	9	1	
Subtipo histológico			1,000
CDI	15	6	
Carcinoma apócrino	1	0	
Carcinoma medular	1	0	
Grau histológico			0,164
G2	8	3	
G3	8	1	
GX	1	2	
Estadiamento T			0,058
T1	2	0	
T2	6	0	
T3	5	3	
T4	4	3	
Linfonodos axilares positivos			0,621
1-3	5	3	
≥4	12	3	
Subtipo molecular			0,374
Triplo Negativo	8	4	
HER 2 hiperexpresso	8	1	
Triplo positivo	1	1	
Quimioterapia			0,202
AC-T	8	3	
AC-TC	0	1	
AC-TH	9	2	
Abordagem da mama			0,018
Setorectomia	13	1	
Mastectomia	4	5	
Abordagem da axila			0,018
Biópsia de linfonodo sentinela	13	1	
Esvaziamento axilar	4	5	

Fonte: Autor.

Tabela 4: Dados clínicos de pacientes triplo negativas.

Tumores triplo negativos	Com resposta patológica completa (RPC)	Não resposta patológica completa (NRPC)	p valor
Idade			0,545
≥50	3	3	
<50	5	1	
Subtipo histológico			1,000
CDI	7	4	
Carcinoma medular	1	0	
Grau histológico			0,087
G2	3	1	
G3	5	1	
GX	0	2	
Estadiamento T			0,515
T1	1	0	
T2	1	0	
T3	4	2	
T4	2	2	
Linfonodos axilares positivos			1,000
1-3	4	2	
≥4	4	2	
Quimioterapia			0,333
AC-T	8	3	
AC-TC	0	1	
Abordagem da mama			0,067
Setorectomia	7	1	
Mastectomia	1	3	
Abordagem da axila			0,010
Biópsia de linfonodo sentinela	7	0	
Esvaziamento axilar	1	4	

Fonte: Autor.

Com o intuito de avaliar o perfil de qualidade do sequenciamento, bem como seu aproveitamento geral de miRNAs, foi analisado o número de *reads* geradas, processadas e anotadas (Tabela 5). Todas as amostras sequenciadas geraram aproximadamente 60% de miRNAs sobre as *reads* aproveitáveis, o que demonstra a riqueza dessas moléculas nas vesículas extracelulares.

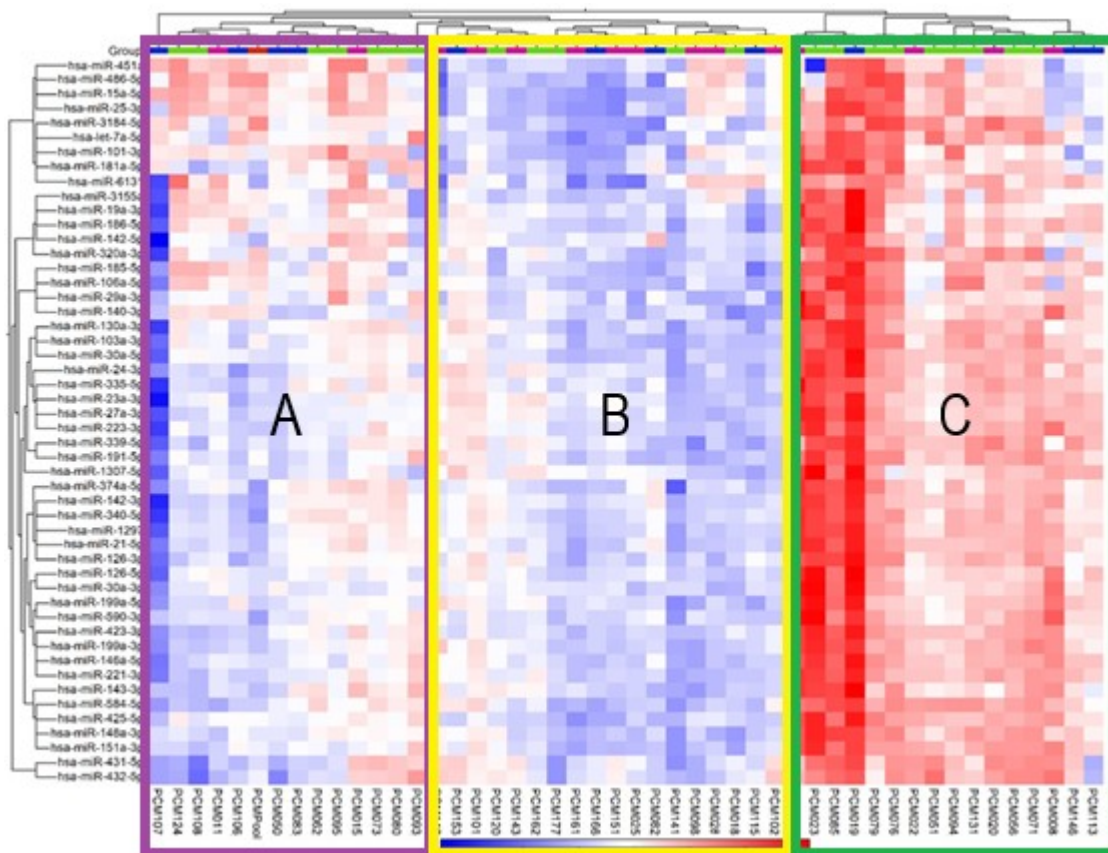
Tabela 5: Perfil das reads obtidas no sequenciamento de pequenos RNAs.

Amostra	Leitura Bruta	Leitura Limpa	% Uso	Contagens de miRNAs anotadas	% miRNAs
PCM_Ctrl	2881244	1768280	61,4	617157	34,9
PCM008	17780388	9368238	52,7	2952335	31,5
PCM011	13816387	6654820	48,2	2346961	35,3
PCM015	8419082	2840056	33,7	915642	32,2
PCM018	13271412	9095252	68,5	2608998	28,7
PCM019	13958829	12948222	92,8	5412935	41,8
PCM020	9281507	3630620	39,1	1237049	34,1
PCM022	13301994	9427170	70,9	2852649	30,3
PCM023	12562285	11318366	90,1	4319712	38,2
PCM025	12753105	6082804	47,7	2111885	34,7
PCM028	7718747	5680662	73,6	1660758	29,2
PCM050	10065034	5696796	56,6	1682046	29,5
PCM051	32142005	17745302	55,2	5984943	33,7
PCM056	10142176	6350044	62,6	2135127	33,6
PCM061	11890284	8671948	72,9	3379773	39,0
PCM062	10199641	6059488	59,4	1851896	30,6
PCM071	12964926	11467892	88,5	3988688	34,8
PCM073	8749085	5207776	59,5	1650296	31,7
PCM076	14209913	13278978	93,4	5060246	38,1
PCM079	12767788	7841156	61,4	2862522	36,5
PCM080	12158646	7343598	60,4	1922783	26,2
PCM082	9195532	1580190	17,2	479045	30,3
PCM083	11454347	4015180	35,1	1272305	31,7
PCM085	11382689	9073080	79,7	3633538	40,0
PCM093	8172654	5887206	72,0	1804020	30,6
PCM094	15441933	6926128	44,9	2455712	35,5
PCM095	12416951	4936280	39,8	1691300	34,3
PCM098	13172378	4927274	37,4	1605064	32,6
PCM101	12305799	6677270	54,3	2353059	35,2
PCM102	14240967	6448060	45,3	2050097	31,8
PCM106	11561302	6791520	58,7	2252795	33,2
PCM107	12169106	13146492	108,0	3603152	27,4
PCM108	12439573	6361666	51,1	2259820	35,5
PCM113	12042186	5136554	42,7	1796085	35,0
PCM115	9639066	5737826	59,5	1662664	29,0
PCM120	10321952	4830060	46,8	1623852	33,6
PCM124	14274006	8889176	62,3	3308761	37,2
PCM131	13134416	8724824	66,4	3190063	36,6
PCM140	4426902	2857568	64,6	950107	33,2
PCM141	6977768	3897468	55,9	1251064	32,1
PCM143	14177633	7485624	52,8	2532346	33,8
PCM146	15665927	8659028	55,3	2953228	34,1
PCM151	14119590	7453020	52,8	2422380	32,5
PCM153	14354396	6709104	46,7	2197837	32,8
PCM161	9442485	5937064	62,9	1907445	32,1
PCM162	13160274	7510034	57,1	2797816	37,3
PCM166	14682671	7304554	49,7	2599537	35,6
PCM177	12369801	6480436	52,4	2234976	34,5

Fonte: Autor

Após a anotação dos pequenos RNAs e quantificação dos miRNAs identificados, foi realizada a análise de expressão utilizando as sequências das 47 pacientes com diagnóstico de CM em relação ao *pool* controle. Esta análise incluiu todos os estadiamentos, modalidades de tratamento e subtipos moleculares. Apesar dessa heterogeneidade, essa primeira análise demonstrou a existência de três grupos com expressão diferencial demarcada (Figura 11).

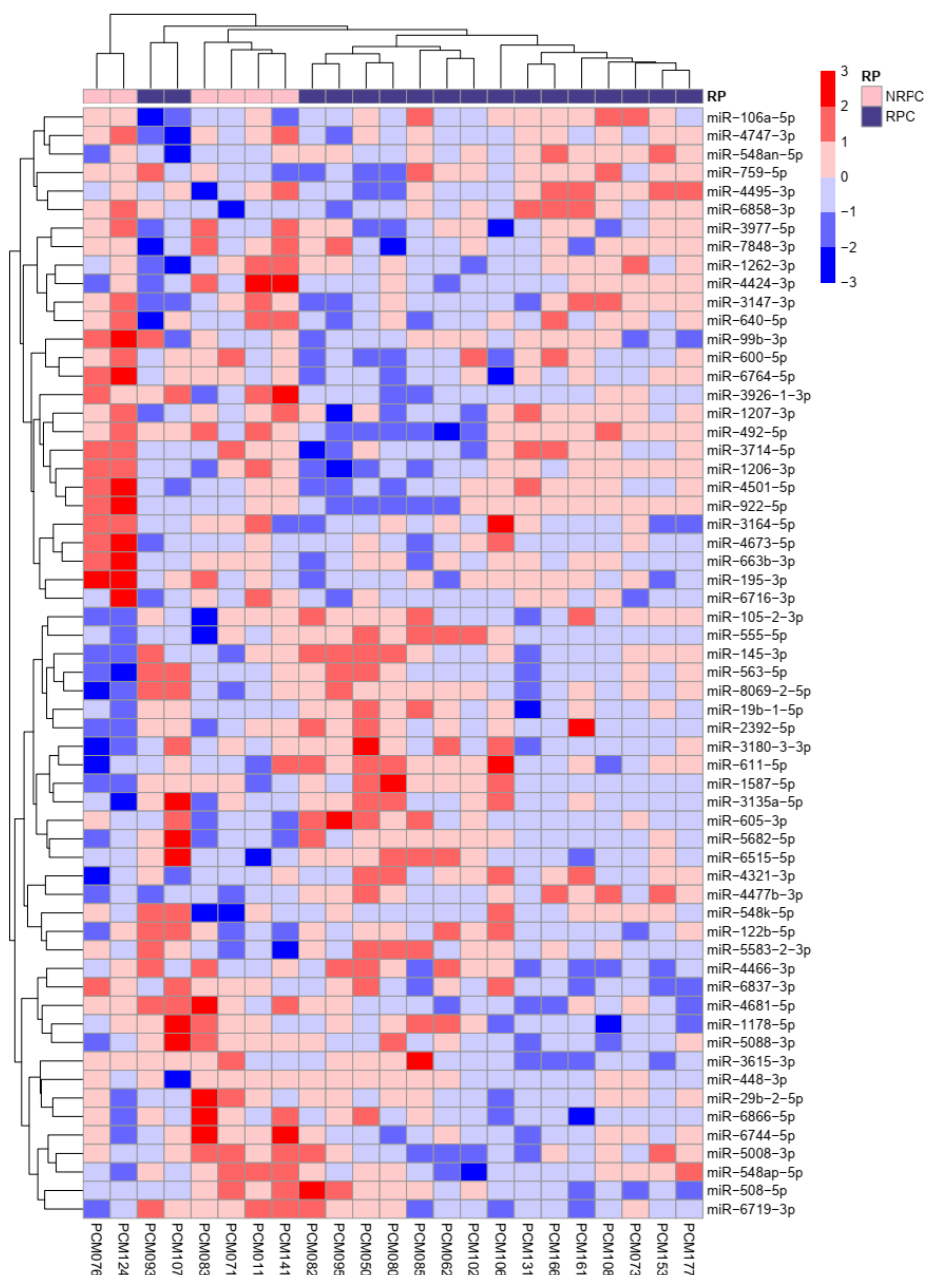
Figura 11: *Heatmap* demonstrando o perfil de expressão de miRNAs de pacientes com câncer de mama em relação ao controle.



São mostrados no *heatmap* o top 50 DEmiRNAs identificados. Demarcam-se três grupo (A, B e C) com sugestão de expressão diferencial. Fonte: Autor.

Em seguida, foi avaliada a expressão de miRNAs em relação ao perfil das pacientes com RPC versus NRPC. Foram identificados 3148 miRNAs ao todo. Destes, 60 miRNAs se mostraram diferencialmente expressos (Figura 12).

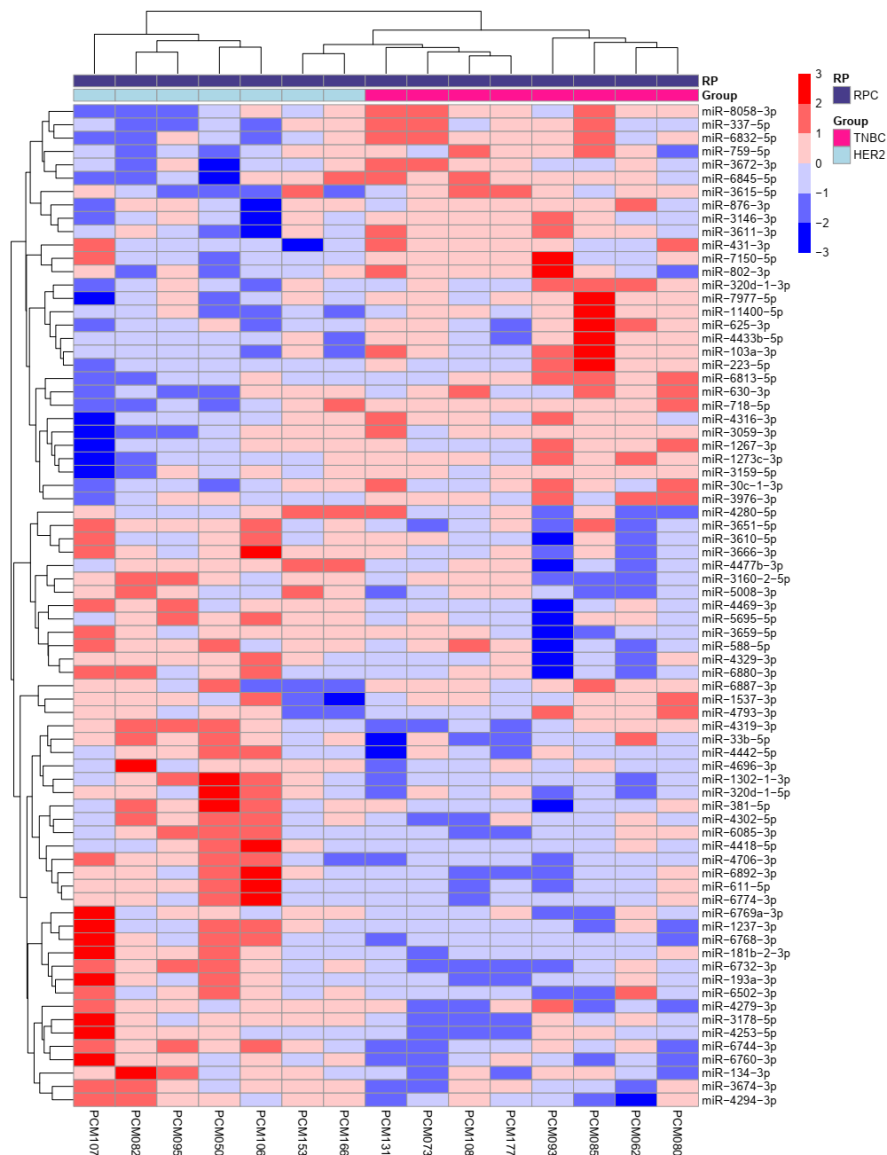
Figura 12: Heatmap de todas as pacientes que fizeram neoadjuvância.



Subtipos moleculares HER2 hiperexpresso (HER2), triplo positivo (TP) e triplo negativo (TN). *Heatmap* demonstrando o top 60 DE miRNAs. Fonte: Autor.

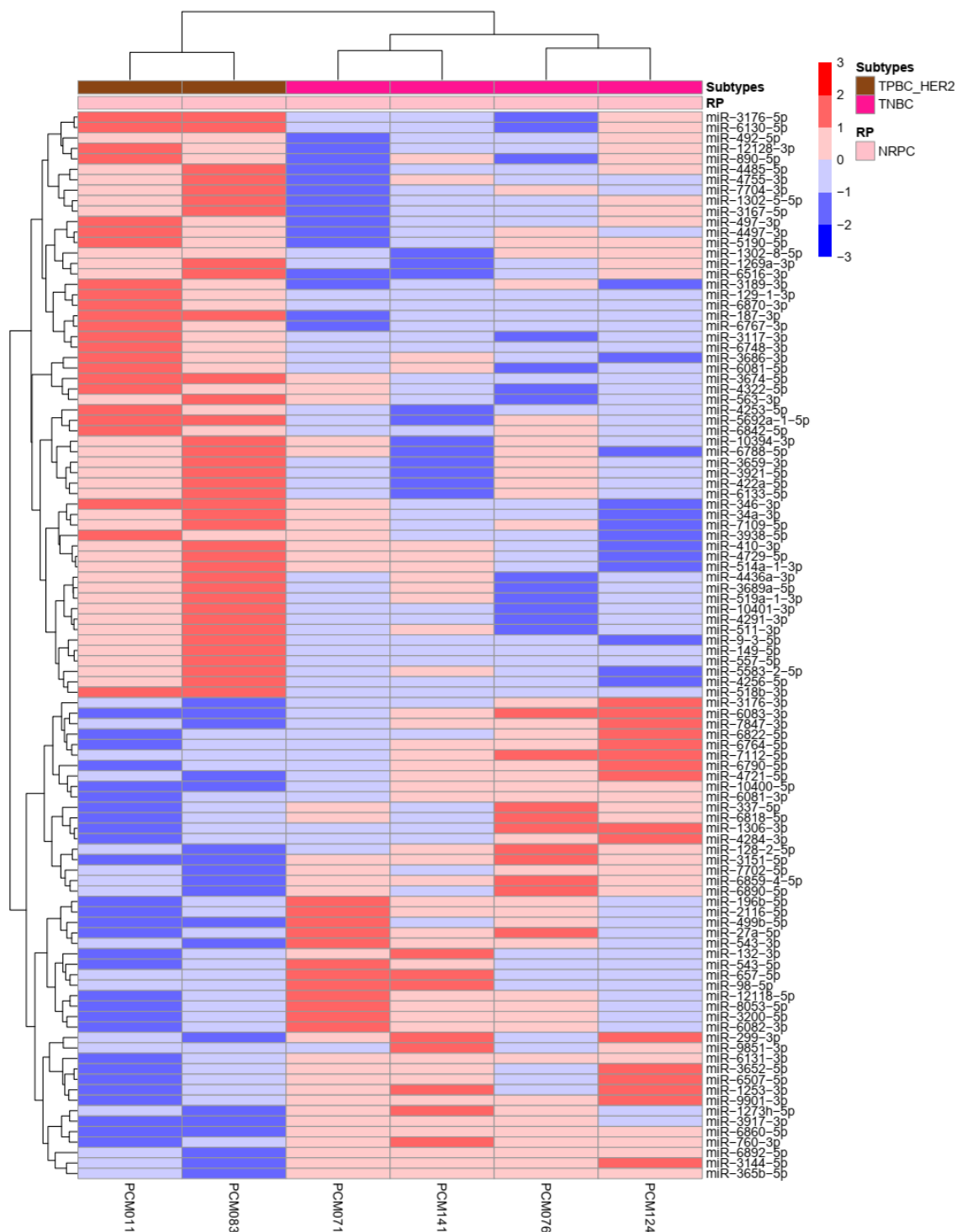
Para definir se há diferença de expressão de miRNAs entre os subtipos moleculares, foi feita a comparação da expressão dos tumores HER2 hiperexpresso com a dos tumores TN tanto nas pacientes com RPC quanto nas NRPC. Em ambos os casos, ocorreu expressão diferencial entre os dois subtipos moleculares, sendo que, nas pacientes RPC, foram encontrados 70 DE miRNAs (Figura 13) e nas NRPC 102 DE miRNAs (Figura 14). A diferença de expressão entre os subtipos estimulou o seguimento da análise com foco em um único subtipo molecular para alcançar resultados com maior especificidade.

Figura 13: Heatmap de pacientes com RPC comparando expressão de HER2 versus TN.



Fonte: Autor.

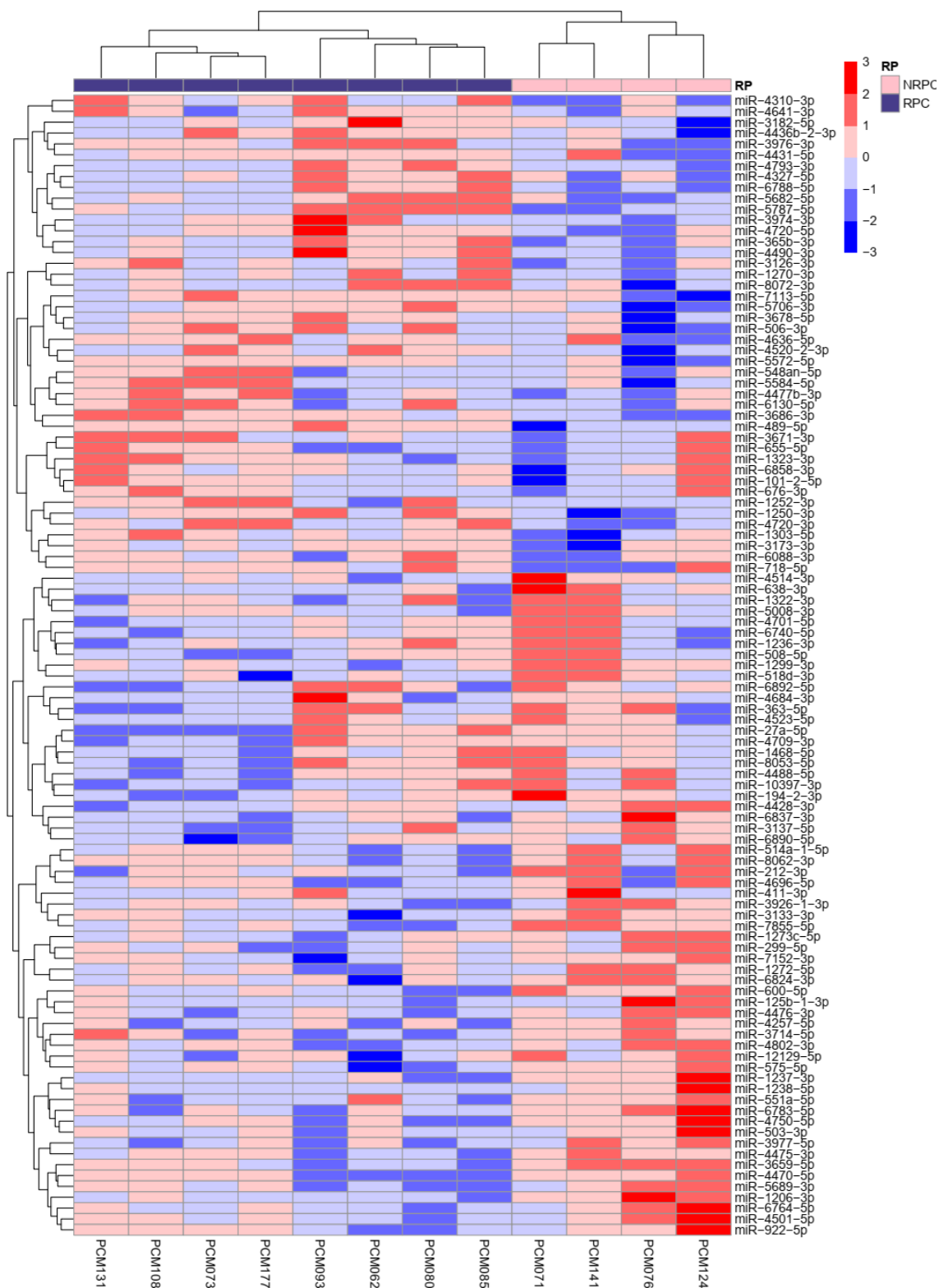
Figura 14: Heatmap de pacientes NRPC comparando expressão de HER2 e TP versus TN.



Fonte: Autor.

Foi realizada a análise do perfil de expressão das amostras RPC versus NRPC no grupo das pacientes com tumores TN (Figura 15).

Figura 15: Heatmap de pacientes com tumores TN comparando expressão NRPC versus RPC.

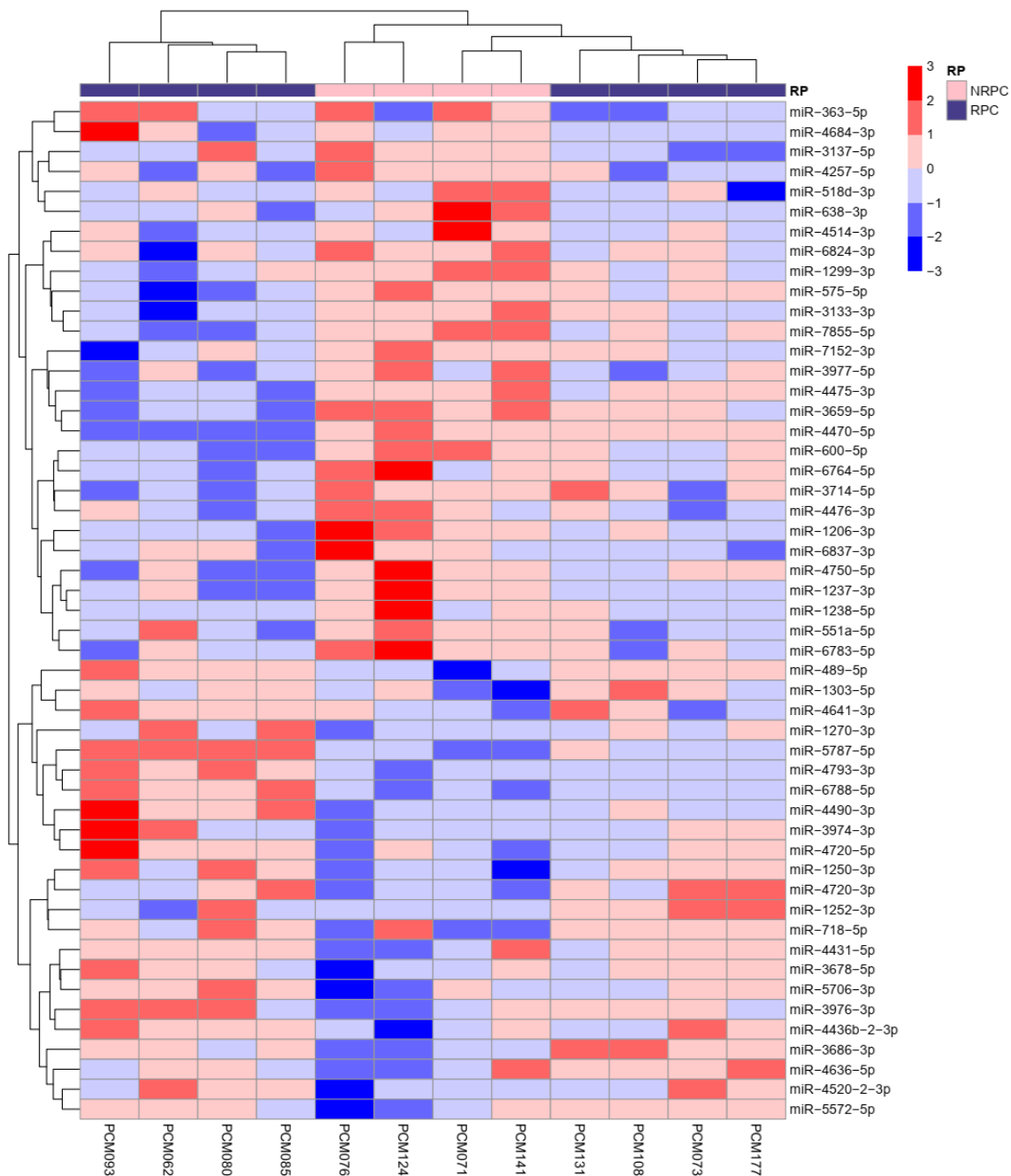


Fonte: Autor.

A análise inicial do perfil de expressão para resposta patológica em pacientes TN mostrou diferença significativa entre as pacientes RPC e NRPC,

com 105 DEmiRNAs. Destes, 61 DEmiRNAs apresentaram um perfil mais significativamente relevante, detectados após filtragem da contagem de expressão (Figura 16).

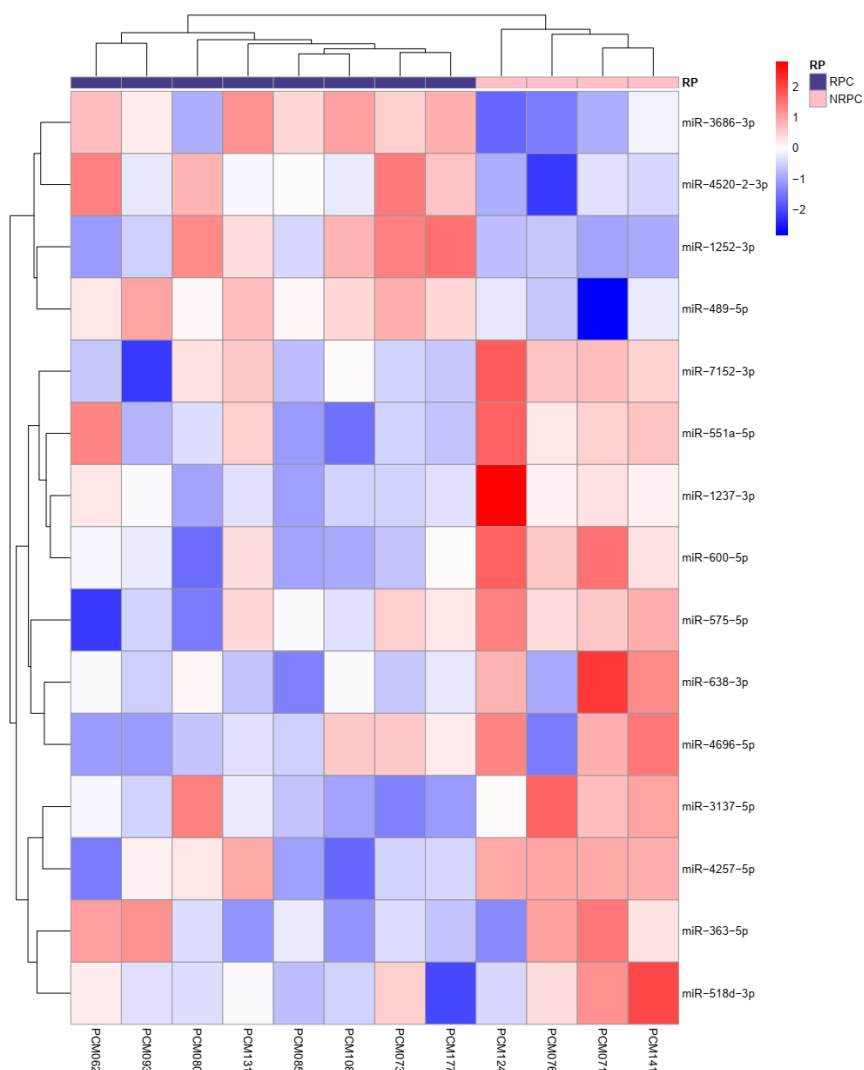
Figura 16: Heatmap de pacientes com tumores TN comparando expressão de NRPC versus RPC após filtro de contagem de expressão.



Fonte: Autor.

Após o uso dos filtros de expressão, os resultados foram submetidos a três metodologias diferentes de análise utilizando inteligência artificial e seus resultados foram comparados para definir os miRNAs que melhor diferenciavam pacientes TN em RPC e NRPC. A primeira análise foi uma filtragem para miRNAs que estavam relacionados ao CM e às drogas utilizadas no tratamento neoadjuvante. Essas informações foram obtidas do SM2MIR (Liu *et al.*, 2013) e MIR2Diseases (Jiang *et al.*, 2009) que são bancos de dados de informações de miRNAs. Essa análise resultou em 15 DE miRNAs (Figura 17).

Figura 17: Heatmap de pacientes com tumores TN comparando expressão NRPC versus RPC após filtro de contagem de expressão e de miRNAs relacionados ao câncer de mama e drogas utilizadas na neoadjuvância de acordo com os bancos de dados SM2MIR e MIR2Diseases.



Fonte: Autor

A segunda análise realizada foi a de *InfoGain* que selecionou, dentre os 61 DEmiRNAs, os 10 miRNAs que melhor classificam as pacientes com tumores TN em RPC e NRPC. Essa análise avalia o quanto um miRNA tem potencial em reduzir o grau de incerteza (entropia) na classificação de dois grupos. O máximo possível de *InfoGain* é 1.0 quando ocorre separação perfeita. Valores próximos a isso indicam miRNAs relevantes para classificação. Esses estão listados na tabela 6:

Tabela 6: Resultado da análise de *InfoGain* com 10 miRNAs que melhor classificam as pacientes com tumores TN em RPC e NRPC.

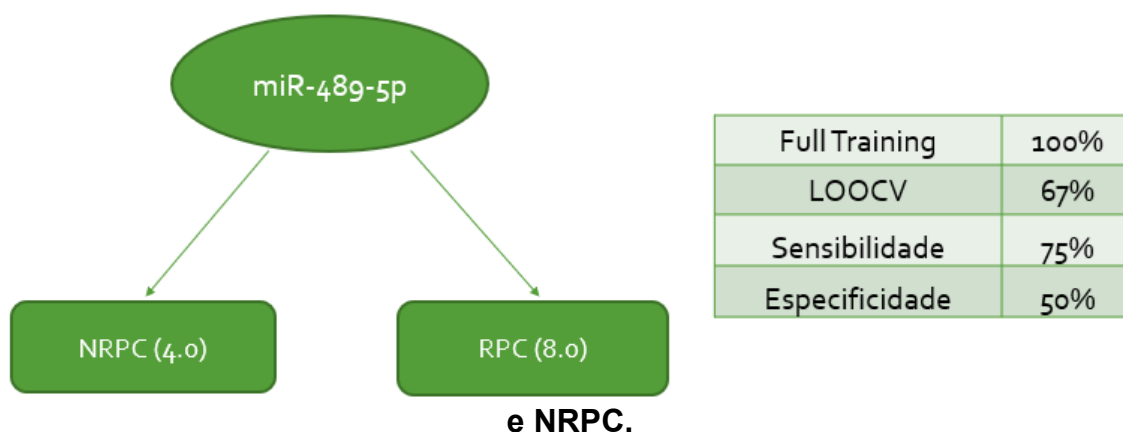
miRNA	Escore
miR.489.5P	0,918
miR.4520.2.3P	0,918
miR.4696.5P	0,918
miR.1252.3P	0,918
miR.3686.3P	0,617
miR.4257.5P	0,617
miR.600.5P	0,617
miR.7152.3P	0,617
miR.1237.3P	0,617

Fonte: Autor.

Também foi realizada a análise por aprendizado de máquina que selecionou, dentre os 61 DEmiRNAs, um único miRNA que tem perfil de expressão capaz de classificar as pacientes com tumores TN em RPC e NRPC. O miRNA encontrado pela análise foi o miR-489-5p (Figura 18). Na análise de *Full Training*, na qual o miRNA é testado no grupo de pacientes como um todo, o acerto do miR-489-5p foi de 100%. Se realizou a análise de *Leave One Out Cross Validation*, onde o miRNA é treinado no grupo N-1 de pacientes, sendo N a amostra total, e depois testado no paciente deixado de fora. Esse processo se

repete N vezes para todos os pacientes e é determinada a porcentagem de acerto do miRNA. Nessa análise, o miR-489-5p apresentou acurácia de 66.66%.

Figura 18: Resultado da análise de aprendizado de máquina, sendo do miR-489-5P o que melhor classifica as pacientes com tumores TN em RPC e NRPC.

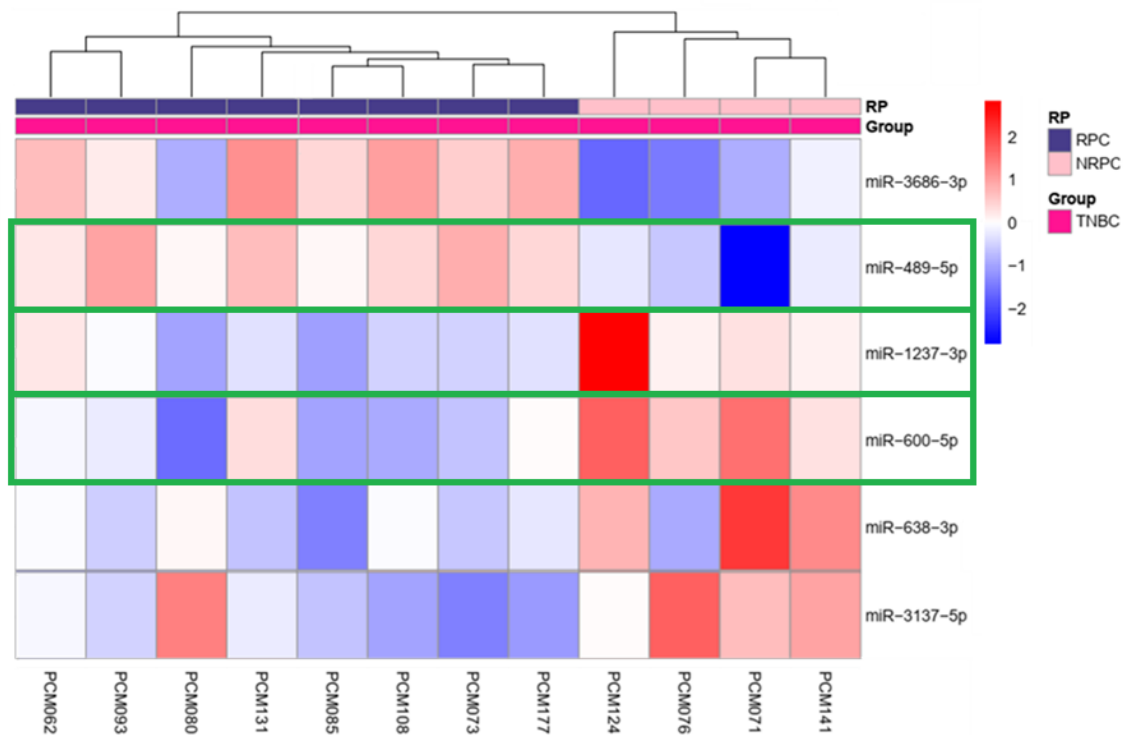


LOOCV: Leave One Out Cross Validation Fonte: Autor.

Após o término de todas as filtragens, análises de aprendizado de máquina e avaliação pelos pesquisadores do perfil de expressão no *heatmap* final, destacaram-se como os melhores DEmiRNAs o miR-489-5p, o miR-1237-3p e o miR-600-5p (Figura 19). O miR-489-5p apresentou alta capacidade de discriminar as pacientes com RPC e NRPC e se comportou como um supressor tumoral por estar superexpresso nas pacientes com RPC. Esse miRNA foi escolhido pelo método árvore de decisão com *FullTraining* de 100% e *Leave One Out* de 67% e está entre os 4 miRNAs com melhor *InfoGain* (0.918).

O miR-1237-3p mostrou-se superexpresso em todas as pacientes NRPC e subexpresso em 7 das 8 pacientes RPC. Além disso, está presente no grupo da análise de *InfoGain* com valor de 0.617. O miR-600-5p mostrou-se superexpresso no grupo de pacientes NRPC, enquanto nas 8 pacientes RPC apresenta-se subexpresso em 6. Corroborando com seu potencial como biomarcador, esse miRNA está presente no grupo da análise de *InfoGain* com valor de 0.617. Por fim, destaca-se que o miR-1237-3p e o miR-600-5p, que tendem a ser subexpressos em pacientes com RPC e, por isso, se comportam como oncoMIRs, o que faz contraponto ao miR-489-5p.

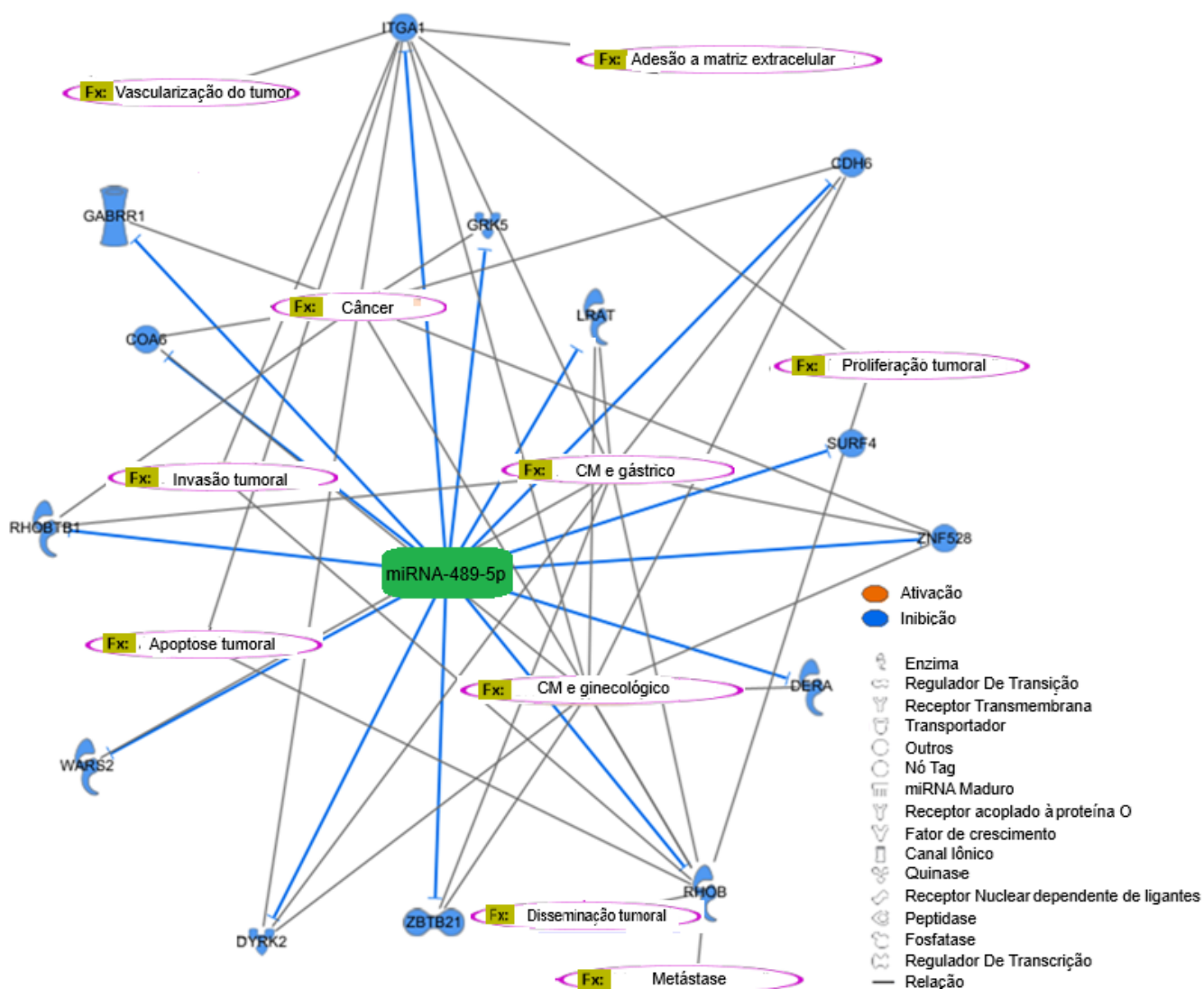
Figura 19: Heatmap final, após aplicação de todos os filtros e escolha dos miRNAs com melhor perfil de expressão diferencial pelos pesquisadores.



Destacam-se o miR-489-5p, miRNA supressor tumoral, e o miR-1237-3p e miR-600-5p, oncoMIRs, pela homogeneidade de comportamento nos dois subgrupos. Fonte: Autor

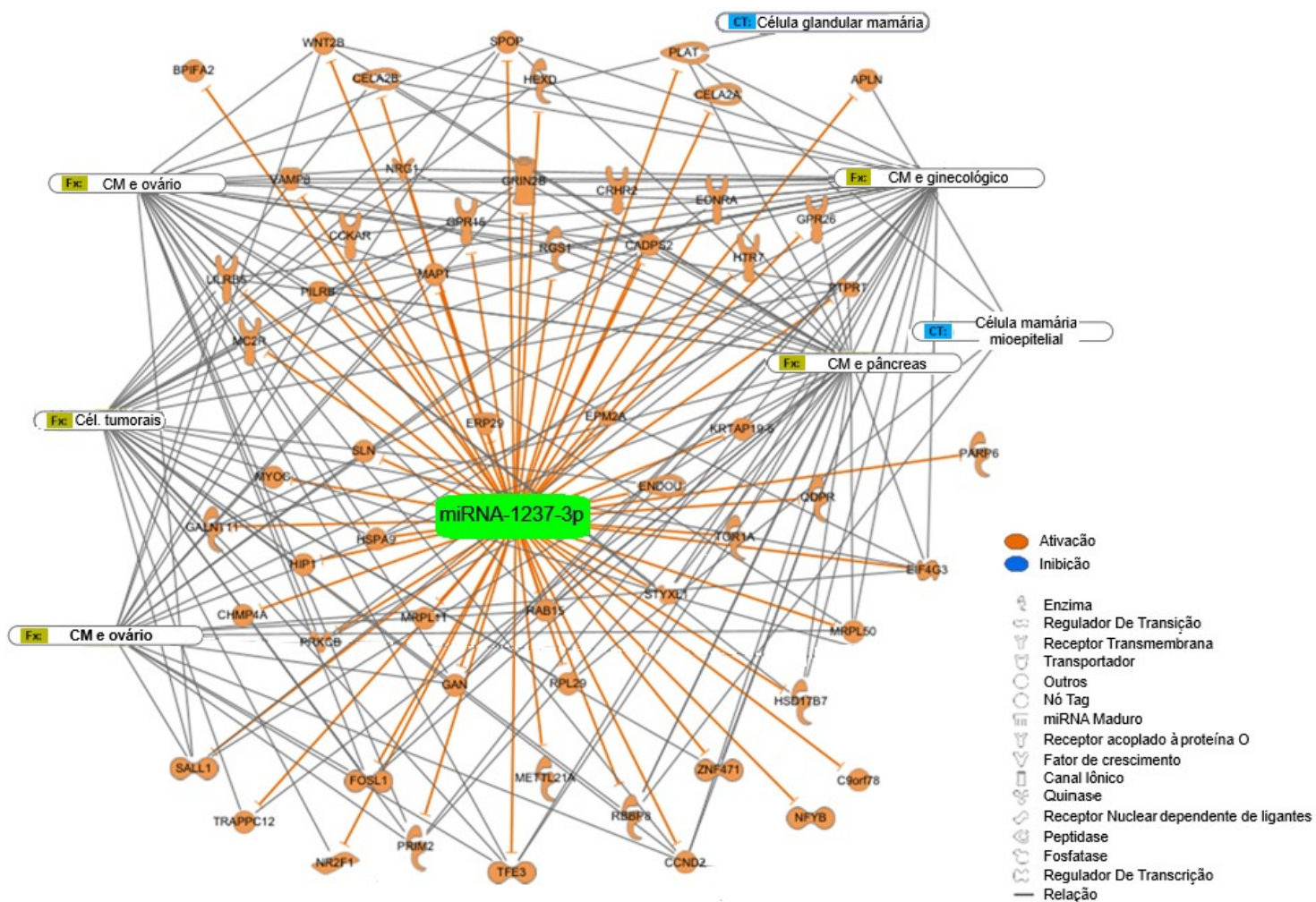
Foi realizada análise de rede de interações entre os miRNAs selecionados e seus potenciais alvos utilizando para o miR-489-5p e o miR-1237-3p. Foram encontrados 14 alvos potencialmente inibidos pelo miR-489-5p quando este encontra-se superexpresso (Figura 20). A inibição desses alvos relaciona-se à inativação da oncogênese. Dentre essas funções inibidas destacam-se angiogênese, proliferação celular, invasão e disseminação. Além disso, foram encontradas 3 vias que relacionam o miR-489-5p com inibição de tumores específicos, sendo duas dessas ligadas ao CM.

Figura 20: Análise de rede do miRNA-489-5p mostrando 14 alvos potencialmente inibidos.



O miR-1237-3p foi relacionado a 58 alvos que são ativados quando esse miRNA está subexpresso (Figura 21). Foram encontradas duas vias que ligam essa ativação às linhas celulares mamárias glandular e mioepitelial. A subexpressão do miR-1237-3p têm potencial para levar à ativação de 5 vias oncogênicas, sendo 4 específicas para a neoplasia mamária.

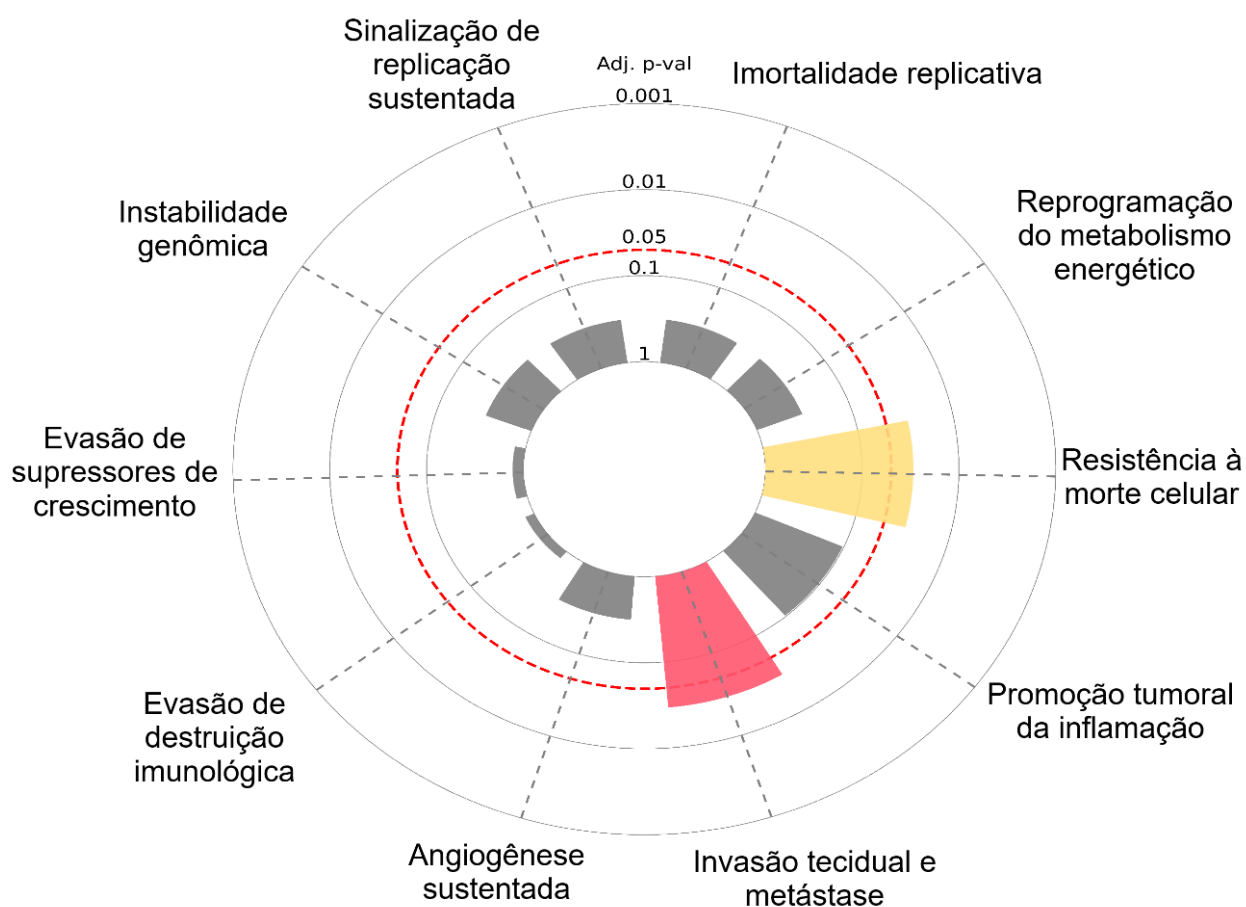
Figura 21: Análise de rede do miRNA-1237-3p mostrando 58 alvos potencialmente ativados.



Fonte: Autor.

A avaliação do impacto desta assinatura de miRNAs nos *hallmarks* do câncer demonstrou, com significância estatística, que o miR-489-5p e o miR-1237-3p atuam diretamente em vias de invasão tecidual e metástase e resistência à morte celular (Figura 22).

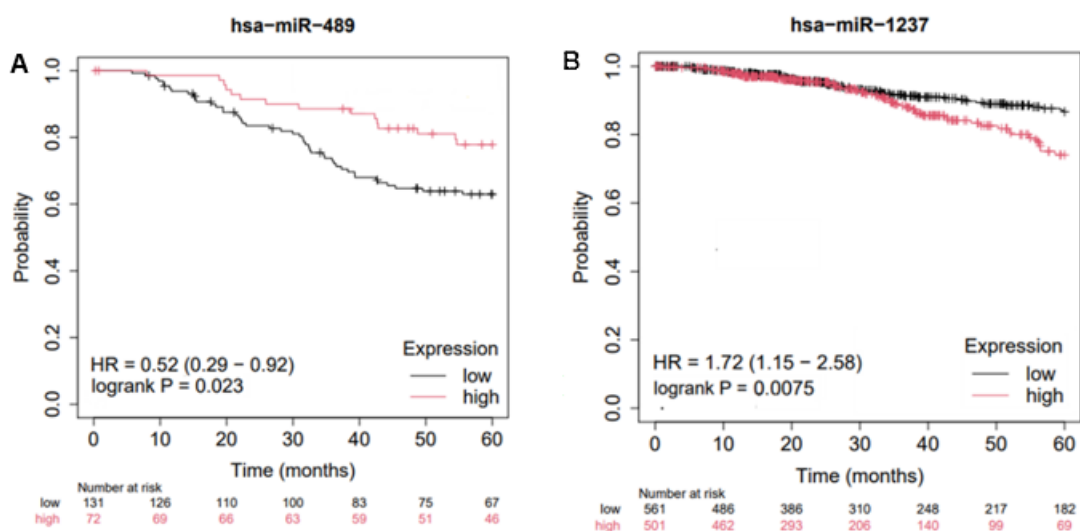
Figura 22: *Hallmarks of cancer* impactados pelo miRNA-489-5p e miR-1237-3p com destaque para invasão tecidual e metástase e resistência à morte celular



Fonte: Autor

A ferramenta *Kaplan-Meier Plotter* foi utilizada para avaliar a associação de dados de sobrevida de pacientes com CM e os miRNAs de interesse (Figura 23) em um grupo de 1262 pacientes do banco de dados METABRIC e 1078 do banco TCGA (Györffy, 2021). As pacientes com superexpressão do miR-489 apresentaram maior sobrevida em 5 anos com *hazard ratio* (HR) de 0,52 (intervalo de confiança (IC) 0.29-0.92, $p = 0.023$). As pacientes com superexpressão do miR-1237 apresentaram pior sobrevida em 5 anos com HR 1,72 (IC 1.15-2.58, $p = 0.0075$). Os achados foram consistentes com o perfil supressor tumoral do miR-489 e de oncomir do miR-1237. Não foi possível avaliação do miR-600 devido à baixa presença de pacientes com superexpressão desse miRNA nos bancos de dados consultados.

Figura 23: miR-489 comporta-se como miRNA supressor tumoral (A) e miR-1237 comporta-se como oncomir (B) na população METABRIC e TCGA.



Fonte: Györffy, 2021.

7. DISCUSSÃO

A resposta à terapia neoadjuvante tem influência direta nas decisões relacionadas ao tratamento das pacientes com CM. Quanto aos tumores TN, a ausência de RPC indica a realização de quimioterapia adjuvante com capecitabina (Masuda *et al.*, 2017) ou uso de olaparibe nas pacientes mutação de BRCA (Tutt *et al.*, 2021). Por outro lado, é aceito que a presença de RPC representa menor risco de recidiva e morte (Yau *et al.*, 2022). E, como exemplificado pelas pacientes desse estudo, maior frequência de cirurgias conservadoras da mama (Fisher *et al.*, 2002). Por isso, a terapia neoadjuvante dos tumores TN se direcionou para a intensificação com o uso preferencial de antraciclinas, uso de esquema em dose densa, associação com carboplatina e imunoterapia (Schmid *et al.*, 2021). Apesar dessa evolução, ainda faltam biomarcadores que discriminem os pacientes respondedores dos não respondedores e que, precocemente, em uma abordagem de medicina de precisão, auxiliem na decisão de intensificar, quando necessário, o tratamento e a prevenir toxicidades de tratamentos ineficazes.

A relação entre expressão de miRNAs e resposta ao tratamento neoadjuvante de tumores de mama foi investigada em uma meta-análise de 2022. Nos 53 estudos analisados, com um total de 123 miRNAs avaliados, foram encontrados 60 miRNAs com potencial para predição de resposta ao tratamento neoadjuvante. Neste estudo não houve discriminação por subtipo molecular. Ao todo, 8 miRNAs apresentaram correlação estatisticamente significativa e comportamento homogêneo nos estudos em que foram incluídos. Níveis elevados de miR-125b, miR-21, miR-222, miR-145b e miR-221 relacionaram-se a pior resposta ao tratamento neoadjuvante, enquanto níveis elevados de let-7a, miR-451 e miR-7 relacionaram-se a melhor resposta oncológica. O miR-489-5p está incluído na lista dos 60 miRNAs com potencial de predição de resposta (Zhang, 2022).

Li e colaboradores (2020) demonstraram que a expressão do miR-489-5p é significativamente menor em amostras de sangue de 62 pacientes com CM quando comparadas a amostras de 27 mulheres saudáveis. Dentre as pacientes

com CM, 35 tinham baixa expressão e 24 tinham alta expressão do miR-489. A sobrevida em 3 anos foi de 54,55% para o grupo de baixa expressão e 80,77% para o grupo de alta expressão, com $p=0,035$. Esses dados indicam que a supressão do miR-489-5p relaciona-se a carcinogênese mamária a um pior prognóstico (Li, 2020). Esses dados são concordantes com nosso estudo no qual a superexpressão de miR-489-5p relacionou-se a RPC e, portanto, a melhor prognóstico.

O miR-489-5p é descrito como miRNA supressor tumoral não somente no CM, mas também no câncer de pulmão, de bexiga, colorretal, gliomas, dentre outros. Nesses tumores, o miR-489-5p regula negativamente vias de crescimento tumoral como PI3KA-AKT e SOX e vias que favorecem a invasão e metástase, como a TWIST1-EMT e WNT/ β -catenina. A supressão do miR-489-5p por RNAs longos não codificantes (LncRNA) como CHRF e LEF1-AS1 mostrou levar a progressão tumoral (Paskeh *et al.*, 2021).

Especificamente no CM foram demonstrados alguns mecanismos de atuação do miR-489-5p. A superexpressão do gene GSE1 estimula a proliferação, invasão e migração no CM. O miR-489-5p regula negativamente esse gene e em células em que sua expressão é forçadamente aumentada ocorre inibição da carcinogênese, o que demonstra ser um importante mecanismo pelo qual esse miRNA exerce efeito supressor. (Chai *et al.*, 2016). Também foi demonstrado que a inibição do miR-489-5p pelo LncRNA Linc00460 leva à ativação da via FGF7/AKT relacionada à progressão tumoral e à sobrevivência celular. Reforçando o papel desse miRNA como inibidor de vias oncogênicas (Zhu *et al.*, 2019). Em relação aos tumores HER2 hiperexpressos, foi demonstrado que o miR-489-5p inibe a via de proliferação tumoral HER2-SHP2-MAPK. Em modelos animais, a indução da expressão do miR-489-5p bloqueia essa via ativada por HER2 inibindo o crescimento tumoral e a metástase pulmonar (Patel *et al.*, 2016). Em resumo, todos esses mecanismos relacionam a superexpressão do miR-489-5p a um fenótipo menos agressivo de CM e, de acordo com os dados do nosso estudo, preditivo de resposta à quimioterapia neoadjuvante.

Existem dados que corroboram a relação entre superexpressão do miR-489-5p e sensibilidade à quimioterapia do CM. Um exemplo é a inibição do gene SPIN1 por esse miRNA que leva à supressão da ativação da via PI3K/AKT que está relacionada à resistência à doxorrubicina. Em culturas celulares, ocorre reversão dessa resistência com a suplementação de miR-489-5p (Chen *et al.*, 2016). O mecanismo de autofagia está correlacionado à sobrevivência celular sob estresse quimioterápico e, portanto, à resistência a múltiplas drogas. Foi demonstrado, em modelos animais, que a superexpressão do miR-489-5p inibe a autofagia e aumenta a sensibilidade à doxorrubicina (Soni *et al.*, 2018). A expressão reduzida do miR-489-5p leva ao aumento da expressão de marcadores relacionados à transição epitélio-mesenquimal como vimentina e N-caderina. Isso ativa vias pró-sobrevivência celular e resistência a quimioterápicos. Em modelos animais, esse processo está relacionado à resistência à doxorrubicina. Essa resistência é revertida com o aumento de expressão do miR-489 (Jiang *et al.*, 2014). A doxorrubicina é um dos principais quimioterápicos utilizados no tratamento neoadjuvante dos tumores TN e foi utilizada por todas as pacientes do nosso estudo. Em nosso estudo, a ocorrência de RPC se relacionou com a superexpressão do miR-489-5p. Essa maior taxa de resposta à quimioterapia pode se justificar pelo aumento da sensibilidade à doxorrubicina em células tumorais que superexpressam esse miRNA. Essa indução de sensibilidade às antraciclinas se reflete em um potencial papel terapêutico para o miR-489-5p.

A modulação da resistência à quimioterapia pelo miR-489-5p também tem implicações no cenário da adjuvância após neoadjuvância por se relacionar à atividade de fluoropirimidinas e inibidores de PARP. A superexpressão desse miRNA suprime a expressão de XIAP, um inibidor da apoptose, e aumentou a eficácia do tratamento com 5-fluorouracil em culturas de células-tronco (Wang *et al.*, 2017). Em culturas de células de tumores TN, a associação do miR-489-5p ao olaparibe, droga inibidora da PARP, aumentou a atividade citotóxica. Esse aumento ocorreu independentemente do status mutacional de BRCA1/2 (Soung *et al.*, 2023).

São escassos os dados da literatura que relacionam a atividade dos miRNAs 1237-3p e 600-5p com o CM. Evidências relacionadas a outras

neoplasias são mais comuns. A subexpressão do miR-1237-5p por hipermetilação do seu gene RPS6KA4/MIR1237 relaciona-se a carcinogênese do tumor de Wilms (Pereira *et al.*, 2018). Também se relaciona com a pior sobrevida em pacientes com cordoma espinhal (Zou *et al.*, 2015), promove crescimento e proliferação de tumores gástricos (Bae *et al.*, 2015) e disseminação de tumores da nasofaringe (Tang *et al.*, 2020). Foi demonstrado, em cultura de células de CM HER2 hiperexpresso, que o miR-1237-3p aumentou a atividade do trastuzumabe e lapatinibe, drogas anti-HER2 (Normann *et al.*, 2021). Os dados encontrados sobre o miR-600-5p se referem principalmente ao contexto da neoplasia colorretal. Sua supressão pelo RNA circulante circ_0001821 relaciona-se à progressão e invasão tumoral em culturas celulares e modelos animais de câncer colorretal. (Li *et al.*, 2023). Foi demonstrado *in vitro* que o miR-600-5p inibe os mecanismos de carcinogênese dos tumores colorretais através da regulação negativa de p53 (Zhang *et al.*, 2017). Em todos esses estudos, os miRNAs 1237-3p e 600-5p atuaram como miRNAs supressores tumorais. Contrariamente à atividade neste estudo para as pacientes com tumores TN com RPC, que apresentam subexpressão desses miRNAs que, portanto, atuaram como oncoMIRs.

A principal limitação desse estudo está relacionada ao número de pacientes incluídas. Procurou-se mitigar essa limitação por meio do uso de ferramentas de inteligência artificial para validação dos resultados, como o teste de *Leave One Out Cross Validation*. Além disso, o resultado é consistente, principalmente em relação ao miR-489-5p, em todas as metodologias de análise usadas e está em consonância com os dados da literatura que confirmam a participação desse miRNA na regulação do CM, como exemplificado pela análise de rede realizada. Adicionalmente, os dados de sobrevida extraídos do banco de dados METABRIC e TCGA também mostram o papel do miR-489-5p como supressor tumoral e do miR-1237-3p como um oncomir, conferindo mais uma forma de validação dos nossos achados.

8. CONCLUSÃO

Esse trabalho demonstrou que a superexpressão do miRNA 489-5p e a subexpressão dos miRNAs 1237-5p e 600-5p correlacionam-se à RPC em pacientes com CM triplo negativo submetidas a tratamento neoadjuvante.

9. REFERÊNCIAS

ALLES, Julia et al. An estimate of the total number of true human miRNAs. **Nucleic acids research**, v. 47, n. 7, p. 3353-3364, 2019.

ANDERSEN, Gitte Brinch; TOST, Jörg. Circulating miRNAs as biomarker in cancer. **Tumor liquid biopsies**, p. 277-298, 2019.

ANDRÉ, Fabrice et al. Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor–positive advanced breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 380, n. 20, p. 1929-1940, 2019.

ANILKUMAR, Kavya et al. miRNAs in the prognosis of triple-negative breast cancer: A review. **Life Sciences**, v. 333, 2023.

BAE, Jin-Han et al. Epigenetically silenced microRNAs in gastric cancer: Functional analysis and identification of their target genes. **Oncology Reports**, v. 34, n. 2, p. 1017-1026, 2015.

BARDIA, Aditya et al. Trastuzumab deruxtecan after endocrine therapy in metastatic breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 391, n. 22, p. 2110-2122, 2024.

BARDIA, Aditya et al. Sacituzumab Govitecan in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 16, p. 1529–1541, 2021.

BARTENEVA, Natasha S. et al. Circulating microparticles: square the circle. **BMC cell biology**, v. 14, p. 1-21, 2013.

BARTLETT, Jhon et al. Breast Cancer Index and prediction of benefit from extended endocrine therapy in breast cancer patients treated in the Adjuvant Tamoxifen—To Offer More? (aTTom) trial. **Annals of Oncology**, v. 30, n. 11, p. 1776-1783, 2019.

BLUM, Joanne L. et al. Anthracyclines in early breast cancer: The abc trials—usor 06-090, nsabp b-46-i/usor 07132, and nsabp b-49 (nrg oncology). **Journal of clinical oncology**, v. 35, n. 23, p. 2647-2655, 2017.

BLUMENCRANZ, Peter et al. The predictive utility of MammaPrint and BluePrint in identifying patients with locally advanced breast cancer who are most likely to have nodal downstaging and a pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy. **Annals of surgical oncology**, v. 30, n. 13, p. 8353-8361, 2023..

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

BUUS, Richard et al. Comparison of EndoPredict and EPclin with oncotype DX recurrence score for prediction of risk of distant recurrence after endocrine therapy. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 108, n. 11, p. djw149, 2016.

CALIN, George Adrian et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 9, p. 2999-3004, 2004.

CARDOSO, Fatima et al. 70-gene signature as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 8, p. 717-729, 2016.

CASEY, Máire-Caitlín et al. Exploring circulating micro-RNA in the neoadjuvant treatment of breast cancer. **International journal of cancer**, v. 139, n. 1, p. 12-22, 2016.

CHAI, Peng et al. GSE1 negative regulation by miR-489-5p promotes breast cancer cell proliferation and invasion. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 471, n. 1, p. 123-128, 2016.

CHEN, Hexin. microRNA-Based Cancer Diagnosis and Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 1, p. 230, 2023.

CHEN, Xi et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. **Cell research**, v. 18, n. 10, p. 997-1006, 2008.

CHEN, Xu et al. Suppression of SPIN1-mediated PI3K–Akt pathway by miR-489 increases chemosensitivity in breast cancer. **The Journal of pathology**, v. 239, n. 4, p. 459-472, 2016.

COLLABORATIVE GROUP ON HORMONAL FACTORS IN BREAST CANCER. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50 302 women with breast cancer and 96 973 women without the disease. **The lancet**, v. 360, n. 9328, p. 187-195, 2002.

CONTI, Ilaria et al. miRNAs as influencers of cell–cell communication in tumor microenvironment. **Cells**, v. 9, n. 1, p. 220, 2020.

CORTES, Javier et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, v. 387, n. 3, p. 217–226, 2022.

CORTÉS, Javier et al. Trastuzumab deruxtecan versus trastuzumab emtansine for breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 386, n. 12, p. 1143-1154, 2022.

DI COSIMO, Serena. et al. Early Modulation of Circulating MicroRNAs Levels in HER2-Positive Breast Cancer Patients Treated with Trastuzumab-Based Neoadjuvant Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1386, 2020.

COUPER, Kevin N. et al. Parasite-derived plasma microparticles contribute significantly to malaria infection-induced inflammation through potent macrophage stimulation. **PLoS pathogens**, v. 6, n. 1, p. e1000744, 2010.

DALY, Mary et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 19, n. 1, p. 77–102, 2021.

DARLIX, Amélie et al. Impact of breast cancer molecular subtypes on the incidence, kinetics and prognosis of central nervous system metastases in a large multicentre real-life cohort. **British Journal of Cancer**, v. 121, n. 12, p. 991–1000, 2019.

DE PALMA, Michele; BIZIATO, Daniela; PETROVA, Tatiana V. Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. **Nature Reviews Cancer**, v. 17, n. 8, p. 457-474, 2017.

DEVITA, Vincent; LAWRENCE, Theodore; ROSENBERG, Steven. (Ed.). **DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology**. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

DIAGNÓSTICOS DO BRASIL. **88-1588269423.jpg** 2020. Disponível em: <https://www.diagnosticodobrasil.com.br/uploads/images/2020/04/88-1588269423.jpg>. Acesso em: 02 jun. 2025.

DONKER, Mila et al. Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. **The Lancet Oncology**, v. 15, n. 12, p. 1303–1310, 2014.

DOWNS-CANNER, Stephanie; CODY III, Hiram S. Five decades of progress in surgical oncology: Breast. **Journal of surgical oncology**, v. 126, n. 5, p. 852-859, 2022.

EARLY BREAST CANCER TRIALISTS' COLLABORATIVE GROUP. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials. **The Lancet**, v. 379, n. 9814, p. 432-444, 2012.

FANG, Cheng et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers for diffuse large B cell lymphoma. **Annals of hematology**, v. 91, p. 553-559, 2012.

FEHM, Tanja et al. Trastuzumab deruxtecan versus treatment of physician's choice in patients with HER2-positive metastatic breast cancer (DESTINY-

Breast02): patient-reported outcomes from a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. **The Lancet Oncology**, v. 25, n. 5, p. 614–625, 2024.

FERLAY, Jacques et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. **International journal of cancer**, v. 149, n. 4, p. 778-789, 2021.

FISHER, Bernard et al. Twenty-Five-Year Follow-up of a Randomized Trial Comparing Radical Mastectomy, Total Mastectomy, and Total Mastectomy Followed by Irradiation. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 8, p. 567–575, 2002.

FISHER, Christine; RABINOVITCH, Rachel. Frontiers in radiotherapy for early-stage invasive breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 32, n. 26, p. 2894-2901, 2014.

FOULON, Arthur et al. Beyond chemotherapies: recent strategies in breast cancer treatment. **Cancers**, v. 12, n. 9, p. 2634, 2020.

FRANCIS, Prudence et al. Tailoring adjuvant endocrine therapy for premenopausal breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 2, p. 122-137, 2018.

GALIMBERTI, Viviana et al. Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with sentinel-node micrometastases (IBCSG 23–01): a phase 3 randomised controlled trial. **The lancet oncology**, v. 14, n. 4, p. 297-305, 2013.

GARCÍA-VAZQUEZ, Raúl et al. A microRNA signature associated with pathological complete response to novel neoadjuvant therapy regimen in triple-negative breast cancer. **Tumor Biology**, v. 39, n. 6, p. 1010428317702899, 2017.

GEBERT, Daniel; HEWEL, Charlotte; ROSENKRANZ, David. unitas: the universal tool for annotation of small RNAs. **Bmc Genomics**, v. 18, p. 1-14, 2017.

GENNARI, Alessandra et al. ESMO Clinical Practice Guideline for the diagnosis, staging and treatment of patients with metastatic breast cancer☆. **Annals of oncology**, v. 32, n. 12, p. 1475-1495, 2021.

GENTILINI, Oreste Davide et al. Sentinel lymph node biopsy vs no axillary surgery in patients with small breast cancer and negative results on ultrasonography of axillary lymph nodes: the SOUND randomized clinical trial. **JAMA oncology**, v. 9, n. 11, p. 1557-1564, 2023.

GEORGE, James. et al. Isolation of human platelet membrane microparticles from plasma and serum. **Blood**, v. 60, n. 4, p. 834-840, 1982.

GIANNI, Luca et al. 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a multicentre, open-label, phase 2 randomised trial. **The lancet oncology**, v. 17, n. 6, p. 791-800, 2016.

GIANNI, Luca et al. 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a multicentre, open-label, phase 2 randomised trial. **The lancet oncology**, v. 17, n. 6, p. 791-800, 2016.

GIANNI, Luca et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. **The lancet oncology**, v. 13, n. 1, p. 25-32, 2012.

GIULIANO, Armando E. et al. Effect of axillary dissection vs no axillary dissection on 10-year overall survival among women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: the ACOSOG Z0011 (Alliance) randomized clinical trial. **Jama**, v. 318, n. 10, p. 918-926, 2017.

GRADISHAR, William J. et al. Breast cancer, version 3.2024, NCCN clinical practice guidelines in oncology. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 22, n. 5, p. 331-357, 2024.

GRIGUOLO, Gaia et al. Gene-expression signatures to inform neoadjuvant treatment decision in HR+/HER2- breast cancer: Available evidence and clinical implications. **Cancer treatment reviews**, v. 102, p. 102323, 2022.

GUIDO, Luiz Paulo; GOMEZ-FERNANDEZ, Carmen. Advances in the molecular taxonomy of breast cancer. **Archives of medical research**, v. 51, n. 8, p. 777-783, 2020.

GURUNATHAN, Sangiliyandi et al. Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. **Cells** v. 8, n. 307, 2019.

GYÓRFFY, Balázs. Survival analysis across the entire transcriptome identifies biomarkers with the highest prognostic power in breast cancer, Computational and **Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 4101-4109, 2021.

HARBECK, Nadia et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-positive advanced breast cancer with or without brain metastases: a phase 3b/4 trial. **Nature medicine**, v. 30, n. 12, p. 3717-3727, 2024.

HARRIS, Jay R. et al. **Diseases of the Breast**. Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

HORTOBAGYI, Gabriel. Ribociclib as first-line therapy for HR-positive, advanced breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 26, p. 2582-2582, 2018.

HWANG, Ki-Tae et al. Impact of breast cancer subtypes on prognosis of women with operable invasive breast cancer: a population-based study using SEER database. **Clinical Cancer Research**, v. 25, n. 6, p. 1970-1979, 2019.

INAL, Jameel M. et al. Microvesicles in health and disease. **Archivum immunologiae et therapiae experimentalis**, v. 60, p. 107-121, 2012.

JIANG, Li et al. MiR-489 regulates chemoresistance in breast cancer via epithelial mesenchymal transition pathway. **FEBS letters**, v. 588, n. 11, p. 2009-2015, 2014.

JIANG, Qinghua et al. miR2Disease: a manually curated database for microRNA deregulation in human disease. **Nucleic Acids** v. 37, p 98-104, 2009

JIANG, Yi-Zhou et al. Genomic and transcriptomic landscape of triple-negative breast cancers: subtypes and treatment strategies. **Cancer cell**, v. 35, n. 3, p. 428-440. e5, 2019.

JOHNSTON, Stephen et al. Abemaciclib plus endocrine therapy for hormone receptor-positive, HER2-negative, node-positive, high-risk early breast cancer (monarchE): results from a preplanned interim analysis of a randomised, open-label, phase 3 trial. **The Lancet Oncology**, v. 24, n. 1, p. 77-90, 2023.

KALINSKY, Kevin et al. 21-gene assay to inform chemotherapy benefit in node-positive breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 385, n. 25, p. 2336-2347, 2021.

KOLDE, Raivo. Pretty Heatmaps, Package 'pheatmap'. versão 1.0.13. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/pheatmap/pheatmap.pdf>. Acesso em: 21 Jul. 2025.

KIM, Kyoung Mi et al. RNA in extracellular vesicles. **Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA**, v. 8, n. 4, p. e1413, 2017.

KORDE, Larissa A. et al. Neoadjuvant chemotherapy, endocrine therapy, and targeted therapy for breast cancer: ASCO guideline. **Journal of Clinical Oncology**, v. 39, n. 13, p. 1485-1505, 2021.

KROP, Ian E. et al. Trastuzumab emtansine versus treatment of physician's choice in patients with previously treated HER2-positive metastatic breast cancer (TH3RESA): final overall survival results from a randomised open-label phase 3 trial. **The Lancet Oncology**, v. 18, n. 6, p. 743-754, 2017.

LEE, Lik Wee et al. Complexity of the microRNA repertoire revealed by next-generation sequencing. **Rna**, v. 16, n. 11, p. 2170-2180, 2010.

LEE, Yong Sun; DUTTA, Anindya. MicroRNAs in cancer. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 4, n. 1, p. 199-227, 2009.

LI, Cheng et al. High expression of circ_0001821 promoted colorectal cancer progression through miR-600/ISOC1 axis. **Biochemical Genetics**, v. 61, n. 1, p. 410-427, 2023.

LIU, Xinyi et al. SM2miR: a database of the experimentally validated small molecules' effects on microRNA expression. **Bioinformatics**, v. 29, n.3, p. 409-411, 2013.

LI, Ruo Qi et al. Genomic characterization reveals distinct mutational landscapes and therapeutic implications between different molecular subtypes of triple-negative breast cancer. **Scientific reports**, v. 14, n. 1, p. 12386, 2024.

LIEDTKE, Cornelia et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. **J Clin Oncol**. 2008; v.26, n. 8, p. 1275-1281, 2007.

LIU, Bing; LI, Jiuyong; CAIRNS, Murray J. Identifying miRNAs, targets and functions. **Briefings in bioinformatics**, v. 15, n. 1, p. 1-19, 2014.

LOVE, Michael I.; HUBER, Wolfgang; ANDERS, Simon. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome biology**, v. 15, p. 1-21, 2014.

LYTLE, J. Robin; YARIO, Therese A.; STEITZ, Joan A. Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA-binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 23, p. 9667-9672, 2007.

MAGNONI, Francesca et al. Axillary surgery in breast cancer: an updated historical perspective. In: **Seminars in oncology**. WB Saunders, 2020. p. 341-352.

MARTINS, Vilma R.; DIAS, Marcos S.; HAINAUT, Pierre. Tumor-cell-derived microvesicles as carriers of molecular information in cancer. **Current opinion in oncology**, v. 25, n. 1, p. 66-75, 2013.

MASUDA, Norikazu et al. Adjuvant capecitabine for breast cancer after preoperative chemotherapy. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 22, p. 2147-2159, 2017.

MENYHART, Otília; KOTHALAWALA, William J.; GYORFFY, Balazs. A gene set enrichment analysis for cancer hallmarks. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v.15, n.5, 2025

MIGOWSKI, Arn et al. Diretrizes para detecção precoce do câncer de mama no Brasil. II-Novas recomendações nacionais, principais evidências e controvérsias. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 34, p. e00074817, 2018.

MINCIACCHI, Valentina R.; FREEMAN, Michael R.; DI VIZIO, Dolores. Extracellular vesicles in cancer: exosomes, microvesicles and the emerging role of large oncosomes. **Seminars in cell & developmental biology. Academic Press**, p. 41-51, 2015.

MODI, Shanu et al. Trastuzumab deruxtecan in previously treated HER2-low advanced breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 387, n. 1, p. 9-20, 2022.

MOREIRA, Thayse B. et al. Neutrophil- and Endothelial Cell-Derived Extracellular Microvesicles Are Promising Putative Biomarkers for Breast Cancer Diagnosis. **Biomedicines**, v. 13, n. 2, p. 1-15, 2025.

MOY, Beverly et al. Chemotherapy and targeted therapy for patients with human epidermal growth factor receptor 2–negative metastatic breast cancer that is either endocrine-pretreated or hormone receptor–negative: ASCO guideline update. **Journal of Clinical Oncology**, v. 39, n. 35, p. 3938-3958, 2021.

NAMEE, O’Driscoll et al. Extracellular vesicles and anti-cancer drug resistance. **Biochim Biophys Acta Rev Cancer**, v. 1870, n. 2, p. 123-136, 2018.

NEDAEINIA, Reza et al. Locked nucleic acid anti-miR-21 inhibits cell growth and invasive behaviors of a colorectal adenocarcinoma cell line: LNA-anti-miR as a novel approach. **Cancer gene therapy**, v. 23, n. 8, p. 246-253, 2016.

NELSON, Heidi. et al. Risk factors for breast cancer for women aged 40 to 49 years: a systematic review and meta-analysis. **Annals of internal medicine**, v. 156, n. 9, p. 635-648, 2012.

NIELSEN, Torsten et al. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor–positive breast cancer. **Clinical cancer research**, v. 16, n. 21, p. 5222-5232, 2010.

NORMANN, Lisa Svartdal et al. MicroRNA in combination with HER2-targeting drugs reduces breast cancer cell viability in vitro. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 10893, 2021.

ONCOHEMAKEY. **C1-FF2-5.gif** 2016. Disponível em: <https://oncohemakey.com/wp-content/uploads/2016/06/C1-FF2-5.gif>. Acesso em: 07 abr. 2025.

OHZAWA, Hideyuki et al. Usefulness of miRNA profiles for predicting pathological responses to neoadjuvant chemotherapy in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer. **Oncology letters**, v. 13, n. 3, p. 1731-1740, 2017.

ORVIETO, Enrico et al. Clinicopathologic characteristics of invasive lobular carcinoma of the breast: results of an analysis of 530 cases from a single institution. **Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society**, v. 113, n. 7, p. 1511-1520, 2008.

PAIK, Soonmyung et al. A Multigene Assay to Predict Recurrence of Tamoxifen-Treated, Node-Negative Breast Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 27, p. 2817–2826, 2004.

PAP, Erna; PÁLLINGER, Éva; FALUS, András. The role of membrane vesicles in tumorigenesis. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 79, n. 3, p. 213-223, 2011.

PARENKY, Ashwin et al. Harnessing T-cell activity against prostate cancer: A therapeutic microparticulate oral cancer vaccine. **Vaccine**, v. 37, n. 41, p. 6085-6092, 2019.

PARIT, Swapnali et al. Antibody-drug conjugates: a promising breakthrough in cancer therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 659, p. 124211, 2024.

PATEL, Yogin et al. A novel double-negative feedback loop between miR-489 and the HER2-SHP2-MAPK signaling axis regulates breast cancer cell proliferation and tumor growth. **Oncotarget**, v. 7, n. 14, p. 18295, 2016.

PEREIRA, Hanna Soares et al. RPS6KA4/MIR1237 and AURKC promoter are differentially methylated in Wilms' tumor. **Frontiers In Bioscience**, v.10, p.143-154, 2018.

PIAO, Yongjun; PIAO, Minghao; RYU, Keun Ho. Multiclass cancer classification using a feature subset-based ensemble from microRNA expression profiles. **Computers in biology and medicine**, v. 80, p. 39-44, 2017.

PICCART, Martine. et al. 70-gene signature as an aid for treatment decisions in early breast cancer: updated results of the phase 3 randomised MINDACT trial with an exploratory analysis by age. **The Lancet Oncology**, v. 22, n. 4, p. 476–488, 2021.

PICCART, Martine et al. Adjuvant pertuzumab and trastuzumab in early HER2-positive breast cancer in the APHINITY trial: 6 years' follow-up. **Journal of Clinical Oncology**, v. 39, n. 13, p. 1448-1457, 2021.

PINDER, Sarah et al. Laboratory handling and histology reporting of breast specimens from patients who have received neoadjuvant chemotherapy. **Histopathology**, v. 50, n. 4, p. 409-417, 2007.

QIAGEN. QIAGEN Ingenuity Pathway Analysis (IPA). Disponível em: <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/next-generation-sequencing/informatics-and-data/interpretation-content-databases/ingenuity-pathway-analysis?>. Acesso em: 07 jul. 2025.

REIMER, Toralf et al. Axillary surgery in breast cancer—primary results of the INSEMA trial. **New England Journal of Medicine**, v. 392, n. 11, p. 1051-1064, 2025.

ROBERTSON, John et al. Fulvestrant 500 mg versus anastrozole 1 mg for hormone receptor-positive advanced breast cancer (FALCON): an international,

randomised, double-blind, phase 3 trial. **The Lancet**, v. 388, n. 10063, p. 2997-3005, 2016.

ROBSON, Mark. et al.. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. **New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 6, p. 523–533, 2017.

ROSKOSKI, Robert. Targeted and cytotoxic inhibitors used in the treatment of breast cancer. **Pharmacological Research**, v. 210, p. 107534, 2024.

RUGO, Hope et al. Primary results from TROPiCS-02: a randomized phase 3 study of sacituzumab govitecan (SG) versus treatment of physician's choice (TPC) in patients (Pts) with hormone receptor–positive/HER2-negative (HR+/HER2-) advanced breast cancer. **Meeting Abstract: 2022 ASCO Annual Meeting II**, 2022.

SAINSBURY, Richard. The development of endocrine therapy for women with breast cancer. **Cancer treatment reviews**, v. 39, n. 5, p. 507-517, 2013.

SAHLBERG, Kristine et al. A serum microRNA signature predicts tumor relapse and survival in triple-negative breast cancer patients. **Clin Cancer Res**, v. 1, n. 21, p. 1207-1214, 2015.

SCHMID, Peter et al. VP7-2021: KEYNOTE-522: Phase III study of neoadjuvant pembrolizumab + chemotherapy vs. placebo+ chemotherapy, followed by adjuvant pembrolizumab vs. placebo for early-stage TNBC. **Annals of Oncology**, v. 32, n. 9, p. 1198-1200, 2021.

SCHMID, Peter et al. Pembrolizumab for early triple-negative breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 9, p. 810-821, 2020.

SHAH, Chirag; AL-HILLI, Zahraa; VICINI, Frank. Advances in breast cancer radiotherapy: implications for current and future practice. **JCO oncology practice**, v. 17, n. 12, p. 697-706, 2021.

SCHNITT, Stuart J. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. **Modern Pathology**, v. 23, n.2, p.60-64, 2010.

SLAMON, Dennis et al. Ribociclib plus endocrine therapy in early breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 390, n. 12, p. 1080-1091, 2024.

SMOLARZ, Beata et al. miRNAs in cancer (review of literature). **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 5, p. 2805, 2022.

SONI, Mithil et al. Autophagy, cell viability, and chemoresistance are regulated by miR-489 in breast cancer. **Molecular Cancer Research**, v. 16, n. 9, p. 1348-1360, 2018.

SOUNG, Young Hwa; JU, Jingfang; CHUNG, Jun. The Sensitization of Triple-Negative Breast Cancers to Poly ADP Ribose Polymerase Inhibition Independent of BRCA1/2 Mutation Status by Chemically Modified microRNA-489. **Cells**, v. 13, n. 1, p. 49, 2023.

SPARANO, Joseph A. et al. Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 2, p. 111-121, 2018.

SPRING, Laura M. et al. Neoadjuvant endocrine therapy for estrogen receptor-positive breast cancer: a systematic review and meta-analysis. **JAMA oncology**, v. 2, n. 11, p. 1477-1486, 2016.

STAHL, Philip D.; RAPOSO, Graca. Extracellular vesicles: exosomes and microvesicles, integrators of homeostasis. **Physiology**, v. 34, n. 3, p. 169-177, 2019.

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

SUR, Daniel et al. The role of miRNA -31-3p and miR-31-5p in the anti-EGFR treatment efficacy of wild-type K-RAS metastatic colorectal cancer. Is it really the next best thing in miRNAs. **JBUON**, v. 24, n.5, p. 1739-1746, 2019.

SWAIN, Sandra M. et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. **New England journal of medicine**, v. 372, n. 8, p. 724-734, 2015.

SYMMANS, W. Fraser et al. Assessment of residual cancer burden and event-free survival in neoadjuvant treatment for high-risk breast cancer: an analysis of data from the I-SPY2 randomized clinical trial. **JAMA oncology**, v. 7, n. 11, p. 1654-1663, 2021.

SYMMANS, W. Fraser et al. Long-term prognostic risk after neoadjuvant chemotherapy associated with residual cancer burden and breast cancer subtype. **Journal of Clinical Oncology**, v. 35, n. 10, p. 1049-1060, 2017.

TANG, Ting et al. LncRNA AATBC regulates Pinin to promote metastasis in nasopharyngeal carcinoma. **Molecular oncology**, v. 14, n. 9, p. 2251-2270, 2020.

TANG, Shizhen et al. Differential gene expression analysis based on linear mixed model corrects false positive inflation for studying quantitative traits. **Scientific Reports**, v. 13, n. 16570, 2023.

TARANTINO, Paolo et al. ESMO expert consensus statements (ECS) on the definition, diagnosis, and management of HER2-low breast cancer. **Annals of Oncology**, v. 34, n. 8, p. 645-659, 2023.

TAY, Felix Chang et al. Using artificial microRNA sponges to achieve microRNA loss-of-function in cancer cells. **Advanced drug delivery reviews**, v. 81, p. 117-127, 2015.

TAYLOR, Jack; BEBAWY, Mary. Proteins regulating microvesicle biogenesis and multidrug resistance in cancer. **Proteomics**, v. 19, n. 1-2, p. 1800165, 2019.

TOLANEY, Sara M. et al. Adjuvant paclitaxel and trastuzumab for node-negative, HER2-positive breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 2, p. 134-141, 2015.

TSANG, Julia YS; GARY, M. Tse. Molecular classification of breast cancer. **Advances in anatomic pathology**, v. 27, n. 1, p. 27-35, 2020.

TUTT, Andrew NJ et al. Adjuvant olaparib for patients with BRCA1-or BRCA2-mutated breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 25, p. 2394-2405, 2021.

VAN 'T VEER, Laura J. et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. **Nature**, v. 415, n. 6871, p. 530–536, 2002.

VANAJA, Sivapriya K.; RATHINAM, Vijay AK; FITZGERALD, Katherine A. Mechanisms of inflammasome activation: recent advances and novel insights. **Trends in cell biology**, v. 25, n. 5, p. 308-315, 2015.

VERMA, Sunil. et al. Trastuzumab Emtansine for HER2-Positive Advanced Breast Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 19, p. 1783–1791, 2012.

VERONESI, Umberto. et al. The dissection of internal mammary nodes does not improve the survival of breast cancer patients. 30-year results of a randomised trial. **European Journal of Cancer**, v. 35, n. 9, p. 1320-1325, 1999.

VON MINCKWITZ, Gunter et al. Trastuzumab emtansine for residual invasive HER2-positive breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 380, n. 7, p. 617-628, 2019.

VON MINCKWITZ, Gunter. et al.. Adjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Early HER2-Positive Breast Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 2, p. 122–131, 2017.

WANG, Dong-Yu et al. Molecular stratification within triple-negative breast cancer subtypes. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 19107, 2019.

WANG, Xuedong et al. Overexpression of miR-489 enhances efficacy of 5-fluorouracil-based treatment in breast cancer stem cells by targeting XIAP. **Oncotarget**, v. 8, n. 69, p. 113837, 2017.

WEN, Wen et al. Identification of two microRNA signatures in whole blood as novel biomarkers for diagnosis of nasopharyngeal carcinoma. **Journal of translational medicine**, v. 17, p. 1-13, 2019.

WIKIMEDIA. **File:MiRNA.svg**. 2024. Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:MiRNA.svg&oldid=898748771>. Acesso em: 15 mar. 2025.

WILD, Christopher P.; WEIDERPASS, Elisabete; STEWART, Bernard W. **World cancer report**. 2020.

XIAO, Jiening et al. Retracted: Novel approaches for gene-specific interference via manipulating actions of microRNAs: Examination on the pacemaker channel genes HCN2 and HCN4. **Journal of cellular physiology**, v. 212, n. 2, p. 285-292, 2007.

XU, Yan et al. Quantitation of physiological and biochemical barriers to siRNA liver delivery via lipid nanoparticle platform. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 5, p. 1424-1434, 2014.

YÁÑEZ-MÓ, María et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. **Journal of extracellular vesicles**, v. 4, n. 1, p. 27066, 2015.

YANG, T. et al. Genetic Testing Enhances the Precision Diagnosis and Treatment of Breast Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 23, p. 16607, 2023.

YAU, Christina et al. Residual cancer burden after neoadjuvant chemotherapy and long-term survival outcomes in breast cancer: a multicentre pooled analysis of 5161 patients. **The Lancet Oncology**, v. 23, n. 1, p. 149-160, 2022.

ZHANG, Ning et al. The role of miRNAs in colorectal cancer progression and chemoradiotherapy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 134, p. 111099, 2021.

ZHANG, Peili et al. miR-600 inhibits cell proliferation, migration and invasion by targeting p53 in mutant p53-expressing human colorectal cancer cell lines. **Oncology Letters**, v. 13, n. 3, p. 1789-1796, 2017.

ZHANG, Zhijie et al. Cellular microparticles for tumor targeting delivery: from bench to bedside. **Chemical Communications**, v. 56, n. 46, p. 6171-6188, 2020.

ZHANG, Zhuo et al. miRNAs as therapeutic predictors and prognostic biomarkers of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. **Breast cancer research and treatment**, v. 194, n. 3, p. 483-505, 2022.

ZHU, Kai et al. Developing miRNA therapeutics for cardiac repair in ischemic heart disease. **Journal of thoracic disease**, v. 8, n. 9, p. E918, 2016.

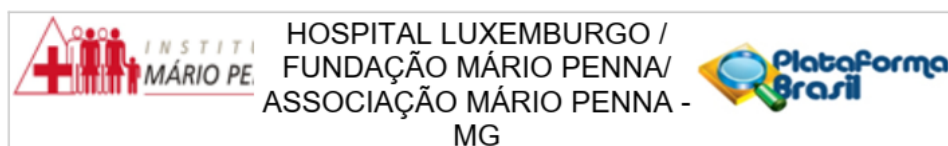
ZHU, Shuangli et al. Roles of Microvesicles in Tumor Progression and Clinical Applications. **International Journal of Nanomedicine**, v. 16, p. 7071–7090, 2021.

ZHU, Yong et al. Long noncoding RNA Linc00460 promotes breast cancer progression by regulating the miR-489-5p/FGF7/AKT axis. **Cancer Management and Research**, p. 5983-6001, 2019.

ZHU, Wenjie et al. Dynamics of Circulating MicroRNAs as a Novel Indicator of Clinical Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. **Cancer Med**, v. 7, p. 4420–4433, 2018.

ZOU, Ming-xiang et al. Reduced expression of miRNA-1237-3p associated with poor survival of spinal chordoma patients. **European Spine Journal**, v. 24, p. 1738-1746, 2015.

ANEXO A - Parecer consubstanciado do comitê de ética em pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: DESENVOLVIMENTO DE PAINÉIS DE BIOMARCADORES COMO INSTRUMENTOS PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO E RESPOSTA CLÍNICA AO TRATAMENTO DO CÂNCER DO COLO UTERINO, OVÁRIO E MAMA: ESTRATÉGIA PARA UMA ONCOLOGIA PERSONALIZADA

Pesquisador: PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES

Área Temática:

Versão: 7

CAAE: 82703418.8.0000.5121

Instituição Proponente: ASSOCIACAO MARIO PENNA

Patrocinador Principal: ASSOCIACAO MARIO PENNA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.914.054

Apresentação do Projeto:

DESENVOLVIMENTO DE PAINÉIS DE BIOMARCADORES COMO INSTRUMENTOS PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO E RESPOSTA CLÍNICA AO TRATAMENTO DO CÂNCER DO COLO UTERINO, OVÁRIO E MAMA: ESTRATÉGIA PARA UMA ONCOLOGIA PERSONALIZADA

Objetivo da Pesquisa:

Oos mesmos relatados no parecer consubstanciado de número 4.803.509, datado de 24/06/2021.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os mesmos relatados no parecer consubstanciado de número 4.803.509, datado de 24/06/2021.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

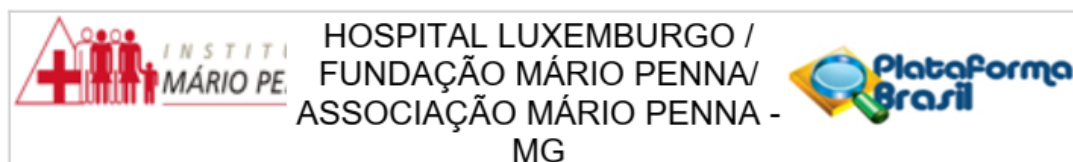
Os mesmos relatados no parecer consubstanciado de número 4.803.509, datado de 24/06/2021.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram adicionados à Plataforma Brasil os seguintes documentos aos já publicados anteriormente:

- 1) Projeto Básico adequado;
- 2) Emenda - Carta ao Parecerista;
- 3) Emenda PBMC_CEP.

Endereço: Rua Gentios, nº 1420
 Bairro: Luxemburgo CEP: 30.380-472
 UF: MG Município: BELO HORIZONTE
 Telefone: (31)3299-9980 Fax: (31)3299-9943 E-mail: comiteetica@mariopenna.org.br



Continuação do Parecer: 4.914.054

3) E

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), recomenda-se: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

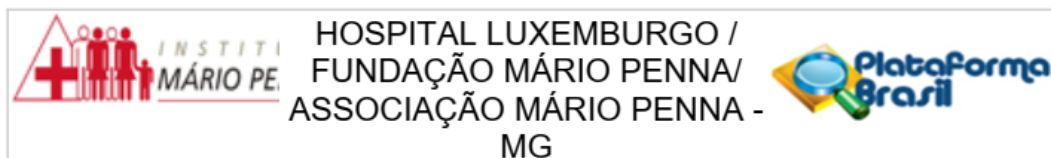
Diante do exposto, o CEP do Instituto Mario Penna, de acordo com as atribuições definidas na Resolução 466/12 e na Norma Operacional 001/2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da emenda ao projeto de pesquisa supracitado.

Recomendamos envio de relatórios semestrais a respeito do estudo ao CEP do IMP-HL.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1753240 E3.pdf	10/08/2021 11:00:29		Aceito
Outros	Emenda_CARTA_AO_PARECERISTA.pdf	10/08/2021 10:59:36	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
Brochura Pesquisa	Emenda_PBMC_CEP.pdf	10/08/2021 10:25:30	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_de_anuencia.pdf	25/05/2021 09:19:22	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto.pdf	25/05/2021 09:18:54	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_MAMA_e_OVARIO_PBMC.pdf	12/05/2021 15:23:01	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito

Endereço: Rua Gentios, nº 1420
 Bairro: Luxemburgo CEP: 30.380-472
 UF: MG Município: BELO HORIZONTE
 Telefone: (31)3299-9980 Fax: (31)3299-9943 E-mail: comiteetica@mariopenna.org.br



Continuação do Parecer: 4.914.054

Ausência	TCLE_MAMA_e_OVARIO_PBMC.pdf	12/05/2021 15:23:01	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Amostras_Controlo_PBMC.pdf	12/05/2021 15:22:39	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Amostras_Controlo.pdf	23/06/2020 15:25:32	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_2019.pdf	30/08/2019 07:56:08	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MAMA_e_OVARIO_Versao2_28Ago2019.pdf	28/08/2019 11:43:17	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MAMA_e_OVARIO_Versao2_28Ago2019.doc	28/08/2019 11:43:11	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CCU_Versao2_28Ago2019.pdf	28/08/2019 11:42:48	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CCU_Versao2_28Ago2019.doc	28/08/2019 11:42:38	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_compromisso.pdf	15/02/2018 13:03:32	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_compromisso_infraestrututra.pdf	15/02/2018 13:02:52	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLESubmissaoCEP.pdf	01/02/2018 15:14:40	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PRONON_12_2015.pdf	25/01/2018 16:40:15	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_Anuencia_SES.pdf	25/01/2018 16:34:31	PAULO GUILHERME DE OLIVEIRA SALLES	Aceito

Endereço: Rua Gentios, nº 1420

Bairro: Luxemburgo

CEP: 30.380-472

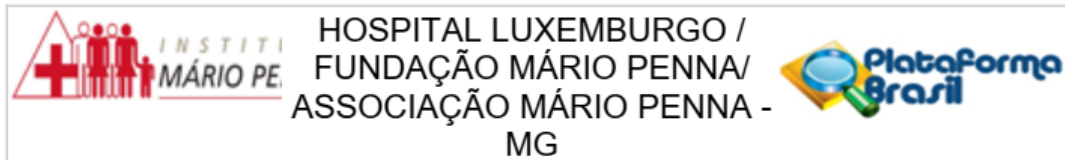
UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3299-9980

Fax: (31)3299-9943

E-mail: comiteetica@mariopenna.org.br



Continuação do Parecer: 4.914.054

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 18 de Agosto de 2021

Assinado por:
JONY MARQUES GERALDO
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Gentios, nº 1420
Bairro: Luxemburgo **CEP:** 30.380-472
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3299-9980 **Fax:** (31)3299-9943 **E-mail:** comiteetica@mariopenna.org.br

ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a participar, como voluntária, da pesquisa **“Desenvolvimento de painéis de biomarcadores como instrumentos preditivos de prognóstico e resposta clínica ao tratamento do câncer do colo uterino, ovário e mama: estratégia para uma oncologia personalizada”**. Neste estudo, pretendemos entender por que algumas mulheres com câncer de colo do útero, câncer de ovário ou câncer de mama respondem bem ao tratamento de quimioterapia e radioterapia, enquanto outras não respondem tão bem ao mesmo tratamento.

Para isso, estamos pedindo a sua autorização para que possamos utilizar nessa pesquisa, parte do material do tumor com o qual você foi diagnosticada (originado da biópsia ou cirurgia) além de amostra de sangue (quatro tubos de 4mL – equivalente a 1,5 colher de sopa).

Todas as amostras e informações do seu prontuário hospitalar serão utilizadas para um estudo científico detalhado, que tem como objetivo avaliar a resposta que você terá ao tratamento indicado pelo seu médico. O pesquisador (a pessoa que realizará os estudos) irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar deste projeto. Este estudo não acrescenta nenhum risco a mais com relação aos procedimentos que você realizaria para fazer o seu tratamento no Hospital.

Para participar deste estudo você não terá nenhum prejuízo ou benefício financeiro. A sua participação é voluntária e caso você não queira participar, isso não acarretará nenhum prejuízo ou modificação na forma em que você será atendida ou receberá seu tratamento pelo médico ou médica. Sempre que desejar, você será esclarecida sobre qualquer dúvida que tiver e estará livre para se recusar ou se retirar do estudo no momento em que desejar, sem nenhum prejuízo ao seu tratamento.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. O material biológico e os dados utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de cinco anos, e após esse tempo, serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você.

Qualquer dúvida sobre o projeto, por favor, entre em contato com:

Pesquisador Principal: Dr. Paulo Guilherme de Oliveira Salles

Telefone: 3299-9528

Endereço: Rua Gentios, nº 1.420 – 3º andar Bairro Conjunto Santa Maria – 30380-472 – Belo Horizonte/Minas Gerais

O Comitê de Ética em Pesquisa é um órgão institucional que tem por objetivo proteger o bem-estar dos participantes da pesquisa. Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um participante de pesquisa, pode entrar em contato com:

Comitê de Ética em Pesquisa Fundação Mário Penna/ Hospital Luxemburgo/MG – Associação Mário Penna

Telefone: 31 3299.9980

Endereço: Rua Gentios, nº 1.420 – 3º andar Bairro Conjunto Santa Maria – 30380-472 – Belo Horizonte/MG

Eu, _____, portadora do documento de Identidade _____ declaro que concordo em participar desse estudo, tendo sido informada dos objetivos de maneira clara e detalhada. Esclareci todas as minhas dúvidas e estou ciente de que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 2021.

Assinatura da participante ou responsável

Assinatura do Pesquisador Principal
Dr. Paulo Guilherme de Oliveira Salles
CRMMG-29376