

**Lara Nisa da Silva Soares**

**Impacto da Farmacogenómica na Terapia do Cancro da  
Mama**

Orientador: Professor Doutor João Guilherme Costa

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Lisboa**

**2018**

**Lara Nisa da Silva Soares**

**Impacto da Farmacogenómica na Terapia do Cancro da  
Mama**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, no Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 23/03/2018 perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação n.º: 57/2018, de 09 de Fevereiro de 2017, com a seguinte composição:  
Presidente: Professora Doutora Catarina Rosado  
Arguente: Professora Doutora Ana Fernandes  
Orientador: Professor Doutor João Guilherme Costa  
Vogal: Prof<sup>a</sup> Ana Mirco (Especialista ULHT)  
Vogal: Prof<sup>a</sup> Dulce Várzea (Especialista ULHT)

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Lisboa**

**2018**

## **Agradecimentos**

Finalmente o meu percurso académico chegou ao fim e por isso, quero agradecer do fundo do coração às pessoas que de uma maneira ou de outra tornaram isso possível.

Em primeiro lugar quero agradecer a meus pais, em especial a minha mãe, pelo apoio incondicional, pois sem eles a realização deste sonho não teria sido possível, não só em termos monetários, mas também pela confiança ao longo destes anos, pela paciência nos momentos mais stressantes e difíceis deste percurso e apesar de estarem longe graças a eles nunca me faltou nada.

À minha irmã por nos momentos mais tensos ter sempre palavras de apoio e motivação.

Ao meu orientador Professor Doutor João Guilherme Costa pela sua preciosa disponibilidade, orientação, bem como o rigor e espírito crítico ao longo deste processo.

Agradeço também ao Hospital Cuf Infante Santo pela oportunidade de estagiar e à Farmácia Apolo 70 que foram incansáveis em transmitir os seus conhecimentos, pela boa disposição, pelo excelente trabalho de equipa e por terem feito que por 3 meses eu me sentisse parte dessa equipa.

Por último, mas não menos importantes, quero agradecer aos meus colegas de curso que me acompanharam durante este percurso, principalmente à Inês Silva por trazer uma luz nos momentos mais sombrios.

## Resumo

As estratégias da medicina de precisão e a farmacogenómica estão a tornar-se cada vez mais prevalentes na investigação e desenvolvimento de novos fármacos e na prática clínica.

Na última década, os avanços na farmacogenética e na farmacogenómica revelaram gradualmente a base genética de algumas diferenças interindividuais na resposta aos fármacos. Uma grande parte destes avanços foi realizada no campo da terapêutica antitumoral. Apesar dos dois termos serem sinónimos para a grande maioria dos propósitos práticos, a farmacogenómica utiliza abordagens de sequenciação do genoma humano para elucidar a base hereditária das diferenças entre as pessoas na resposta aos fármacos. A variação genética influencia a resposta de um indivíduo aos tratamentos farmacológicos. A compreensão dessa variação tem o potencial de tornar a terapêutica mais eficaz e segura, sendo possível um tratamento personalizado.

Um diagnóstico precoce é fundamental para aumentar a probabilidade de sucesso no tratamento do cancro da mama. Após o diagnóstico, as características do tumor e a extensão da doença vão determinar o tipo de tratamento. Este pode ser um tratamento sistémico que inclui quimioterapia, terapêutica hormonal e terapêutica direcionada ou um tratamento local que inclui cirurgia ou radioterapia. É importante perceber que no tratamento do cancro da mama há sempre a remoção cirúrgica, acompanhada de quimioterapia, terapêutica hormonal ou terapêutica direcionada.

Apesar dos progressos significativos relacionados com a aplicação prática da farmacogenómica no cancro da mama, muitas questões permanecem ainda sem resposta e por isso, esta é ainda uma área de investigação considerada emergente, dependente também das novas opções terapêuticas que vão surgindo.

**Palavras-chave:** Farmacogenómica, Cancro da mama, Quimioterapia.

## **Abstract**

The strategies of precision medicine and pharmacogenomics are becoming increasingly prevalent in research and development of new drugs and in clinical practice.

In the last decade, advances in pharmacogenetics and pharmacogenomics have gradually revealed the genetic basis of some interindividual differences in drug response. A large part of these advances have been made in the field of anticancer therapy. Although the two terms are synonymous for the vast majority of practical purposes, pharmacogenomics uses human genome sequencing approaches to elucidate the hereditary basis of differences between people in the response to drugs. Genetic variation influences the response of an individual to pharmacological treatments. Understanding this variation has the potential to make therapy more effective and safer, with the possibility of a personalized treatment.

Early diagnosis is essential to increase the likelihood of successful breast cancer treatment. After the diagnosis, the characteristics of the tumor and the extent of the disease will determine the type of treatment. This can be a systemic treatment that includes chemotherapy, hormonal therapy and targeted therapy or a local treatment which includes surgery and radiation therapy. It is important to understand that in the treatment of breast cancer there is always surgical removal, accompanied by chemotherapy, hormonal therapy or targeted therapy.

Despite significant progresses related with the practical application of pharmacogenomics in breast cancer, many issues remain unanswered and therefore, this is still a field of investigation considered emerging, also dependent of the new therapeutic options that are arising.

**Keywords:** Pharmacogenomics, Breast cancer, Chemotherapy.

## **Lista de Abreviaturas**

**BI-RADS** - Sistematização Internacional para a Avaliação Mamária

**BRCA1** - Gene do cancro da mama 1

**BRCA2** - Gene do cancro da mama 2

**CA 15-3** - Antígeno 15-3 do cancro

**CDI** - Carcinoma Ductal Invasivo

**CDIS** - Carcinoma Ductal *in situ*

**CEA** - Antígeno Carcino-Embrionário

**CISH** - Técnica de Hibridação Cromogénica *in situ*

**CLI** - Carcinoma Lobular Invasivo

**CLIS** - Carcinoma Lobular *in situ*

**CMF** - Ciclosfosfamida/metotrexato/5-FU

**DC** - Doxorrubicina/ciclosfosfamida

**EGFR** - Fator de Crescimento Epidérmico

**FEC** - 5-FU/epirrubicina/ciclosfosfamida

**FISH** - Técnica de Hibridação Fluorescente *in situ*

**G6PD** - Glicose-6-fosfato desidrogenase

**HER2** - Recetor do Fator de Crescimento Epidérmico Humano tipo 2

**IHQ** - Imunohistoquímica

**Ki-67** - Antígeno Nuclear da Proliferação Celular

**MSRE** - Modulador Seletivo Recetores de Estrogénio

**OMS** - Organização Mundial de Saúde

**p53** - Proteína Citoplasmática 53

**PI3K** - Fosfatidilinositol-3-cinase

**QT** - Quimioterapia

**RA** - Recetor de Androgénio

**RE** - Recetor de Estrogénio

**RM** - Ressonância Magnética

**RP** - Recetor de Progesterona

**SNP** - Polimorfismo de Nucleotídeo Único

**THS** - Terapêutica Hormonal de Substituição

**TP53** - Gene Supressor Tumoral 53

**5-FU** - 5-Fluorouracilo

## Índice

1. Introdução.....	11
1.1 Farmacogenómica.....	13
1.1.1 Perspetiva Histórica .....	13
1.1.2 Medicina Personalizada .....	15
1.1.3 Benefícios .....	16
1.2 Cancro.....	19
1.3 Cancro da Mama.....	21
1.3.1 Tipos de Cancro da Mama .....	21
1.3.2 Fatores de Risco.....	23
1.3.3 Fisiopatologia.....	24
1.3.4 Diagnóstico .....	26
1.3.4.1 Diagnóstico Clínico.....	26
1.3.4.2 Diagnóstico Imagiológico .....	27
1.3.5 Estadiamento.....	29
1.3.6 Indicadores de Prognóstico .....	31
2. Tratamento do Cancro da Mama .....	34
2.1 Perspetiva Histórica.....	34
2.2 Tratamento .....	36
2.2.1 Tratamento Local.....	36
2.2.2 Tratamento Sistémico .....	38
2.3 Novas Abordagens Terapêuticas .....	44
3. A Farmacogenómica e o Cancro da Mama .....	46
3.1 Biomarcadores Emergentes .....	46
3.2 Aumento da Eficácia e da Segurança .....	49
3.3 Melhor Seguimento dos Doentes.....	51
4. Conclusão .....	52
5. Bibliografia.....	54



## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> - Bases Clínicas da Farmacogenética.....	15
<b>Figura 2</b> - Anatomia da mama.....	20
<b>Figura 3</b> - Carcinoma ductal <i>in situ</i> .....	21
<b>Figura 4</b> - Carcinoma lobular <i>in situ</i> .....	22
<b>Figura 5</b> - Mamograma de um Carcinoma Invasivo.....	23
<b>Figura 6</b> - Localização dos genes <i>BRCA1</i> e <i>BRCA2</i> .....	26
<b>Figura 7</b> - Determinação do status de HER2 em quatro amostras de cancro da mama..	33
<b>Figura 8</b> - Lumpectomia.....	37

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Fatores de Risco do Cancro da Mama.....	23
<b>Tabela 2</b> - Classificação BI-RADS da mamografia.....	28
<b>Tabela 3</b> - Estádios do cancro da mama. ....	30
<b>Tabela 4</b> - Fármacos citostáticos e as combinações disponíveis .....	38
<b>Tabela 5</b> - Tratamento Adjuvante e Neoadjuvante. ....	39
<b>Tabela 6</b> - Tratamento Adjuvante a Neoadjuvante em mulheres pré e pós-menopáusicas. ....	41
<b>Tabela 7</b> - Terapia direcionada HER2 aprovada para o tratamento de cancro da mama HER2-positivo. ....	42
<b>Tabela 8</b> - Tratamento para mulheres com cancro da mama HER2-positivo em estadio inicial.....	43
<b>Tabela 9</b> - Tratamento para mulheres com cancro da mama HER2-positivo com metástases. ....	43

## 1. Introdução

O cancro da mama continua a ser a principal doença maligna diagnosticada em mulheres na nossa sociedade (Wheeler, Maitland, Dolan, Cox, & Ratain, 2012).

O tratamento para o cancro da mama está em constante evolução/desenvolvimento com as novas tecnologias, agentes e novos avanços científicos. Avanços na deteção precoce e no tratamento adjuvante do cancro da mama já instigaram a uma redução significativa na recidiva e na morte relacionadas com a doença. No entanto, existe uma variação significativa na resposta aos fármacos e nos resultados de sobrevivência em indivíduos tratados com regimes terapêuticos equivalentes, incluindo agentes hormonais, agentes citotóxicos e novas terapias alvo (Nayak, Roth, & McGavern, 2014).

Tradicionalmente, têm sido utilizados fatores clínicos e histopatológicos para orientar a escolha da terapêutica. Estes fatores incluem o estadió do tumor, o tamanho, o estado nodal e intratumoral, características como o grau, expressão de recetores de estrogénio e progesterona e do recetor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2 (HER2). Estes fatores podem ser importantes no prognóstico, indicando a agressividade de um tumor e a probabilidade de recidiva, bem como a previsão da resposta a tratamentos farmacológicos específicos (Wheeler *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, tem havido avanços na tecnologia como o sequenciamento do genoma humano, desenvolvimento de análises de DNA de elevado rendimento e a divulgação da ideia da “medicina personalizada”. Deste modo, surgiu um interesse significativo em perceber como as diferenças da composição genética podem ser utilizadas para prever a segurança e a eficácia do tratamento. Houve um aumento no número de estudos que investigaram o propósito da farmacogenética no tratamento do cancro da mama, assim como em outros tipos de cancro (Nayak *et al.*, 2014).

A farmacogenética foi desenvolvida como o estudo da variabilidade na resposta dos fármacos devido à hereditariedade. Mais recentemente adicionou-se o sufixo “omica” nas áreas de pesquisa e assim, introduziu-se o termo “farmacogenómica” (Jorgenson, 2009). Assim, o termo farmacogenómica refere-se ao estudo da influência da composição genética no seu todo, isto é o estudo do genoma de um doente em resposta à terapêutica, incluindo a sua eficácia e segurança. Os avanços tecnológicos permitiram a rápida avaliação da expressão e função genética de genes. As variações

genéticas podem resultar de alterações no DNA incluindo repetições, inserções, deleções ou substituições de nucleotídeos (Scott, 2012). A alteração de apenas um nucleotídeo ou polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) pode levar a uma alteração da atividade proteica ou enzimática e conseqüentemente, a uma alteração da quantidade de fármaco disponível (farmacocinética) ou da própria resposta ao fármaco (farmacodinâmica). Assim, um dos principais objetivos dos estudos farmacogenómicos é identificar alterações genéticas como SNP que afetam consideravelmente a função ou expressão de proteínas envolvidas na farmacocinética ou farmacodinâmica de agentes terapêuticos (Wheeler, Maitland, Dolan, Cox, & Ratain, 2012). O objetivo primordial da seleção de um fármaco específico para um determinado doente com base na sua sequenciação genética é melhorar a sua eficácia e segurança (Wheeler *et al.*, 2012).

## 1.1 Farmacogenómica

### 1.1.1 Perspetiva Histórica

A distinção entre farmacogenética e farmacogenómica é algo arbitrária e ambos os termos podem ser utilizados de forma intercambiável (Jorgenson, 2009). Nos últimos tempos, tem surgido um grande número de publicações científicas na área da farmacogenómica. Isto deve-se ao facto da farmacogenómica ser vista como uma área muito importante para melhorar a ação dos fármacos e a sua prescrição. Se esta promessa será ou não cumprida só se tornará evidente com o tempo (Jorgenson, 2009).

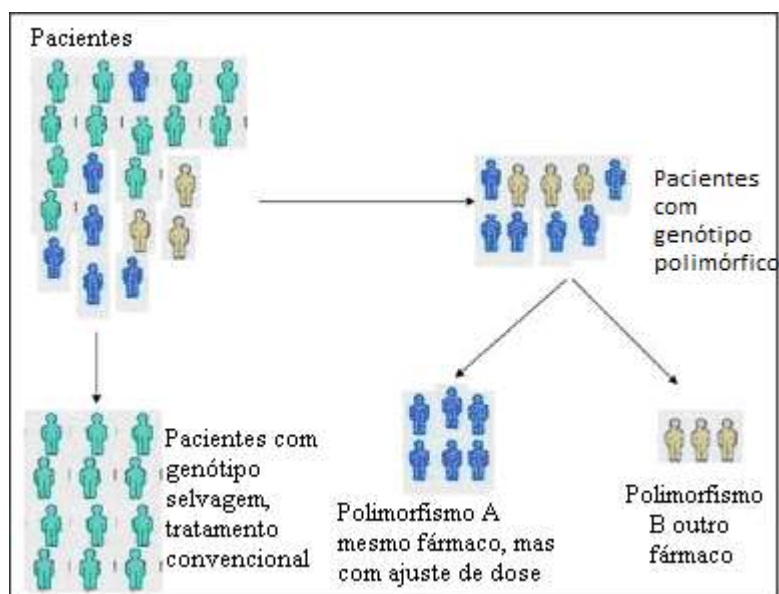
A história da farmacogenómica estende-se desde o ano de 510 a.c. quando Pitágoras se deu conta que a ingestão de favas dava origem a uma reação potencialmente fatal em alguns indivíduos, anemia hemolítica. Mais tarde, descobriu-se que esse facto se devia a uma deficiência hereditária na enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD Nayak, Roth, & Mcgavern, 2014). A vicina e a convicina são duas substâncias presentes nas favas em grandes quantidades, as quais podem causar hemólise pela sua ação oxidante, em indivíduos com deficiência em G6PD, enzima com um papel antioxidante. No entanto, alguns fármacos também causam stress oxidativo e os eritrócitos de indivíduos com deficiência em G6PD produzem NADPH insuficiente para proteger os danos oxidativos o que pode levar a hemólise e a metahemoglobinemia (Nayak *et al.*, 2014). A rasburicase é uma forma recombinante da enzima urato oxidase que é utilizada clinicamente com o objetivo de reduzir os níveis de ácido úrico no tratamento da síndrome de lise tumoral. O stress oxidativo causado pelo peróxido de hidrogénio, quando a enzima rasburicase cliva o ácido úrico, é mais propenso a causar anemia hemolítica em indivíduos que possuam uma deficiência hereditária em G6PD (Nayak, Roth, & Mcgavern, 2014).

Como na maioria das áreas de pesquisa genética, as descobertas farmacogenómicas foram aceleradas pelo projeto do genoma humano e pelos avanços tecnológicos e científicos, que introduziram novas ferramentas de pesquisa de variações genéticas. Desta forma, reduziu a linha temporal para algumas descobertas e permitiu a realização de estudos em todo o genoma de diferentes populações. Por exemplo, foram estudados grupos populacionais com diferentes respostas a fármacos em termos de eficácia e toxicidade ou segurança (Nayak *et al.*, 2014). Estas descobertas, levaram à identificação de variantes genéticas imprevistas estatisticamente associadas ao efeito

diferente de alguns fármacos observado em diferentes indivíduos. Estas estratégias de pesquisa do genoma ajudaram a introduzir a “farmacogenómica” no léxico (Nayak, Roth, & McGavern, 2014). Para melhor se compreender a terminologia utilizada na farmacogenómica é importante discutir os conceitos de genótipo e fenótipo (Figura 1). Genótipo refere-se à sequência de codificação de pares de bases de DNA para um gene específico, enquanto fenótipo relata uma característica resultante do produto proteico codificado por esse gene. O genótipo é formado por dois alelos (um materno e um paterno) e o alelo mais comum numa população é referido como alelo selvagem (figura 1). A frequência dos alelos pode variar muito em diferentes populações (Kitzmilller, Groen, Phelps, & Sadee, 2011).

Está a tornar-se cada vez mais evidente que muitos dos efeitos dos fármacos são influenciados por múltiplas variantes no mesmo gene, algumas das quais raras e/ou por variantes em múltiplos genes (Scott, 2012). Uma variação na sequência de DNA que ocorre na população com uma frequência de pelo menos 1% é denominada de polimorfismo. Os polimorfismos podem resultar de uma ou mais alterações de nucleotídeo, assim como outros tipos de mutações. O SNP já referido anteriormente ilustra o polimorfismo mais comum (Karki, Pandya, Elston, & Ferlini, 2015).

Embora haja uma série de diferentes tipos de marcadores polimórficos, as atenções centram-se nos SNP e no seu potencial para determinar o perfil individual da resposta aos fármacos (Jorgenson, 2009).



**Figura 1** - Bases Clínicas da Farmacogenética (Metzger, Souza-Costa, & Tanus-Santos, 2006).

### 1.1.2 Medicina Personalizada

Utilizando o perfil SNP é possível adaptar a prescrição de medicamentos e a dosagem de fármacos ao doente, maximizando assim a eficácia e minimizando a toxicidade (Jorgenson, 2009).

A promessa de medicamentos personalizados é de óbvio interesse e importância para a indústria farmacêutica, uma vez que pode permitir a racionalização do desenvolvimento de medicamentos, o processo de registo de fármacos, reduzindo o tempo desde a síntese química à introdução na prática clínica e, por conseguinte, o custo do processo de desenvolvimento de fármacos (Jorgenson, 2009).

O conceito de “medicina personalizada” foi antecipado no final do século XIX pelo médico canadiano William Osler. Este observou “a grande variabilidade entre os indivíduos”, no entanto, a definição mais moderna evoluiu para incorporar a informação genómica pessoal numa avaliação clínica, bem como a história familiar de um doente para orientar a gestão médica (Scott, 2012).

As principais áreas de investigação aplicadas neste domínio envolvem a identificação da base genética de doenças comuns, ao entender como os genes e o

ambiente interagem para causar doenças no Homem e usando biomarcadores farmacogenéticos para tornar a terapêutica mais eficaz. Ainda que a compreensão da contribuição genética para a doença humana esteja longe de estar completa, centenas de variantes de DNA foram já associadas a doenças (Scott, 2012).

A farmacogenética tornou-se numa das áreas líderes e com grande potencial na medicina personalizada, como evidenciado pelo aumento da disponibilidade de testes clínicos farmacogenéticos entre laboratórios referenciados (Scott, 2012).

### **1.1.3 Benefícios**

A farmacogenómica mantém a promessa de que os fármacos poderão um dia ser concebidos sob medida e adaptados à composição genética de cada indivíduo. Diferentes fatores podem influenciar a resposta de um indivíduo aos fármacos, tais como o meio ambiente, dieta, idade, estilo de vida e o estado de saúde. Mas entender a sua composição genética é a chave para o desenvolvimento de medicamentos personalizados com maior eficácia e segurança. A forma como uma pessoa responde a um determinado fármaco, isto inclui reações positivas e negativas, é uma característica complexa e influenciada por muitos genes distintos, para além do próprio impacto do ambiente em que se insere. No entanto, é possível destacar alguns dos benefícios da farmacogenómica:

- I. Fármacos direcionados: a indústria farmacêutica será capaz de desenvolver fármacos sustentados em enzimas, proteínas e moléculas de RNA associadas a genes e doenças. Vai facilitar a descoberta de fármacos e permitir que os fabricantes dos mesmos produzam uma terapêutica mais direcionada a doenças específicas. Para além de maximizar os efeitos terapêuticos vai também diminuir os danos nas células saudáveis (T P. Aneesh, 2009; Ventola, 2011);
  
- II. Fármacos mais eficazes e seguros: os médicos poderão analisar o perfil genético de um doente e prescrever a melhor terapêutica disponível desde o começo. Não só irá evitar a incógnita de encontrar o fármaco correto, como vai aumentar a segurança e acelerar o tempo de recuperação, assim como a probabilidade de eliminar algumas



reações adversas (T P. Aneesh, 2009; Kathleen M. Giacomini, Sook Wah Yee, Mark J. Ratain, Richard M. Weinshilboum, Naoyuki Kamatani, 2012);

- III. Métodos mais precisos para determinar as doses de fármaco mais apropriadas: os métodos atuais que baseiam as dosagens no peso e idade serão substituídos por dosagens apoiadas na genética de um indivíduo. Este processo abordará racionalmente as variações individuais na farmacocinética, isto é na absorção, distribuição, metabolismo e eliminação de fármacos, como foi demonstrado com sucesso na dosagem da varfarina. Isto maximizará a importância da terapêutica e diminuirá a probabilidade de sobredosagem (Sanish, 2014);
  
- IV. Monitorização de doenças: ao dominar o código genético de um indivíduo permitirá que este altere o seu estilo de vida ou a exposição ambiental a algumas substâncias numa idade precoce, deste modo poderá evitar ou diminuir a gravidade de uma doença genética transmissível. O conhecimento da suscetibilidade a determinada doença permitirá uma monitorização cuidadosa e os tratamentos podem ser introduzidos na fase mais apropriada para maximizar a terapêutica (T P. Aneesh, 2009; Ventola, 2011; Sanish, 2014);
  
- V. Vacinas mais eficazes: as vacinas que contêm material genético, seja DNA ou RNA, prometem ser mais seguras apresentando igualmente benefícios. Estas terão a capacidade de ativar o sistema imunológico, mas não poderão causar infeções. As vacinas serão estáveis, de baixo custo, fáceis de armazenar. Em particular, no campo das vacinas contra o cancro tem havido muitos progressos, como por exemplo no conceito de vacina personalizada com peptídeo (T P. Aneesh, 2009; Poland, Ovsyannikova, & Jacobson, 2009);
  
- VI. Melhorias no processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos: as empresas farmacêuticas poderão identificar alvos moleculares específicos que irão conduzir à identificação e otimização de potenciais estratégias terapêuticas utilizando informações clínicas e genéticas. O processo de aprovação do fármaco será

consideravelmente transformado quando o impacto dos procedimentos genéticos forem direcionados para grupos específicos da população (Sanish, 2014);

- VII. Diminuição dos custos gerais dos cuidados de saúde: ao diminuir a quantidade de reações adversas ou de toxicidade associadas ao fármaco, o tempo necessário para que um fármaco seja aprovado, o número de ensaios clínicos de fármacos sem sucesso, a duração do tratamento, a quantidade de fármacos que um doente deve tomar até encontrar a terapêutica eficaz, os efeitos da doença através da deteção precoce e um aumento na sucessão de possíveis alvos terapêuticos irá promover uma diminuição no custo dos cuidados de saúde (T P. Aneesh, 2009; Ventola, 2011; Saldivar *et al.*, 2016);

## 1.2 Cancro

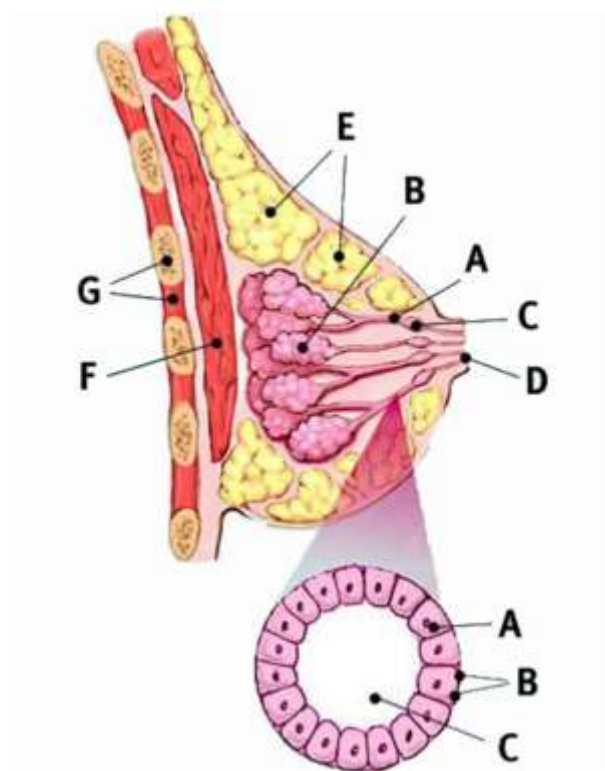
As células cancerosas são muito semelhantes às células do organismo a partir das quais estas se originam e têm DNA e RNA similares. É por essa razão que estas células muitas vezes não são detetadas pelo sistema imunitário, em particular quando este está comprometido (Reya, Morrison, Clarke, & Weissman, 2001). As células cancerosas são formadas a partir de células normais devido a uma modificação, mutação de DNA e ou RNA. As mutações podem ocorrer endogenamente de forma espontânea ou podem ser induzidas por fatores exógenos como radiação nuclear ou eletromagnética, radicais livres ou diferentes substâncias (Reya *et al.*, 2001).

Os tumores são mais do que massas insulares de células cancerosas em proliferação, são tecidos complexos compostos por múltiplos tipos de células distintas que participam entre si em interações heterotípicas (Hanahan & Weinberg, 2011). As células cancerosas possuem um conjunto de características ímpares e complementares que lhes permitem proliferar, migrar e invadir outros tecidos, originando metástases. Estas características envolvem sinalização proliferativa sustentável, capacidade de iludir supressores de crescimento, ativação invasiva e metástase, capacidade de replicação, indução da angiogénese e resistência à morte celular (Hanahan & Weinberg, 2011).

Geralmente, a denominação de cancro é atribuída à parte do corpo em que este se originou, desta forma, cancro da mama define-se pelo crescimento errático e proliferação de células com origem no tecido mamário (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). O cancro da mama é o tipo de cancro mais frequente na mulher, sendo raro no homem. Hoje em dia, a mortalidade tem vindo a diminuir e isto deve-se em grande parte à deteção precoce e aos novos tratamentos farmacológicos (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). O peito feminino é constituído por dois tipos de tecidos, o tecido glandular que é composto por lóbulos e ductos e o tecido adiposo (Figura 2). No tecido glandular, mais especificamente nos lóbulos é onde estão armazenadas as glândulas produtoras do leite que é transportado posteriormente pelos ductos até ao mamilo, enquanto o tecido adiposo é composto essencialmente por gordura. O peito é também constituído pelo sistema linfático que é integrado pelos vasos linfáticos, linfa e pelo tecido linfóide. O tecido linfóide inclui os nódulos linfáticos que se localizam na axila (Giuliano, 2011).

Existem vários tipos de tumores que se podem desenvolver em diferentes áreas da mama. A maioria dos tumores resulta de alterações benignas no interior da mama.

Por exemplo, a doença fibrocística da mama que é uma condição não cancerosa onde há a acumulação de fluidos com a denominação de cistos e fibrose, com formação aumentada de tecido conjuntivo (Giuliano, 2011). O cancro da mama inicia-se predominantemente nas células dos ductos, mas as células cancerosas podem disseminar do tumor principal, invadindo os tecidos circundantes através do sistema linfático ou através dos vasos sanguíneos que culmina na formação de metástases. As células cancerosas podem invadir os gânglios linfáticos, nomeadamente os que estão localizados na axila, os gânglios da base do pescoço e os gânglios da parede torácica (Giuliano, 2011).

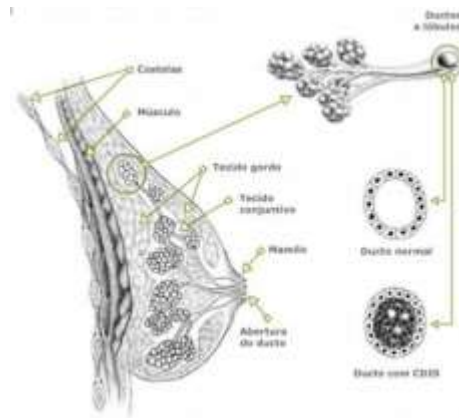


**Figura 2** - Anatomia da mama: A) Ductos, B) Lóbulos, C) Ductos lactíferos, D) Mamilo, E) Gordura, F) Músculo peitoral, G) Caixa torácica. Seção cortical de um ducto, A) Células ductais, B) Membrana basal, C) Lúmen (centro do ducto; adaptado de Noel Pérez Pérez, 2015).

## 1.3 Cancro da Mama

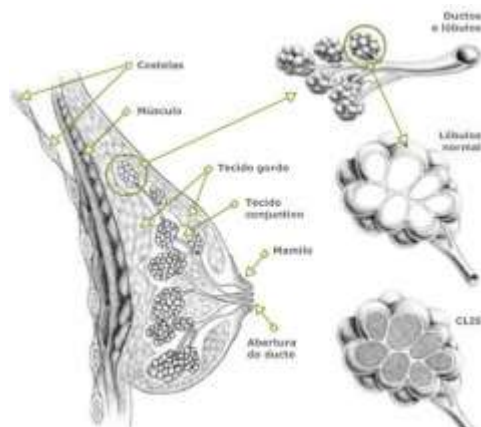
### 1.3.1 Tipos de Cancro da Mama

- **Carcinoma Ductal *in Situ* (CDIS):** é o cancro da mama mais frequente e não invasivo que está confinado nos ductos. O carcinoma ductal surge quando células atípicas se desenvolvem no interior dos ductos, no entanto está limitado até à proximidade do tecido exterior. Apesar das células atípicas não se disseminarem para os tecidos exteriores dos ductos, estas podem progredir e desenvolver cancro da mama invasivo (Figura 3; Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017; Merrill, 2016).



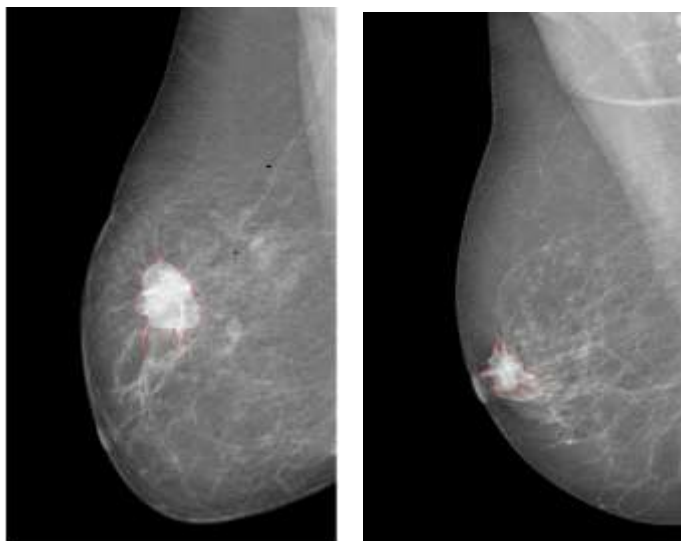
**Figura 3** - Carcinoma ductal *in situ* (Noel Pérez Pérez, 2015).

- **Carcinoma Lobular *in Situ* (CLIS):** este tipo de cancro desenvolve-se nos lóbulos mamários. É também geralmente identificado como um cancro não invasivo, pois como o carcinoma ductal, este também está confinado ao interior dos lóbulos (Figura 4; Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017).



**Figura 4** - Carcinoma lobular *in situ* (Noel Pérez Pérez, 2015).

- **Carcinoma Mamário Invasivo:** as células dos lóbulos ou dos ductos estão isoladas das restantes células mamárias pela membrana basal. Quando as células cancerosas para além de proliferarem de forma desorganizada, adquirem capacidade de disseminação e ultrapassam a membrana basal (Figura 5). Quando esta situação se origina, os carcinomas passam a ter a denominação de invasivo - **Carcinoma Ductal Invasivo (CDI)** ou **Carcinoma Lobular Invasivo (CLI)**. O cancro da mama invasivo que se estende para os diferentes órgãos do organismo, através do sistema linfático e circulatório, também é reconhecido como cancro da mama metastático. Os órgãos para os quais estas células se disseminam mais comumente são o cérebro, ossos, pulmões e fígado (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017).
- **Doença de Paget do Mamilo:** é um tipo de cancro da mama raro onde se manifestam mudanças visíveis no mamilo. Os sintomas são erupções cutâneas avermelhadas envolvendo o mamilo que posteriormente se pode espalhar até à aréola (Ling, Hu, Xu, Liu, & Shao, 2013).



**Figura 5** - Mamograma de um Carcinoma Invasivo (Noel Pérez Pérez, 2015).

### 1.3.2 Fatores de Risco

Os fatores de risco que estão associados a um aumento do risco de desenvolver cancro da mama na mulher são: a idade, sexo, história clínica e familiar com cancro da mama, predisposição genética, fatores ligados ao estilo de vida, alterações da mama, menarca precoce (antes dos 13 anos), etnia, densidade mamária ou terapêutica hormonal de substituição (THS; Tabela 1; Shah, 2014).

**Tabela 1** - Fatores de Risco do Cancro da Mama (Shah, 2014).

<b><u>Fatores de Risco</u></b>	<b><u>Descrição</u></b>
<b>Idade</b>	A incidência aumenta com a idade.
<b>Sexo</b>	Há uma maior prevalência no sexo feminino.
<b>História clínica e familiar com cancro da mama</b>	Risco aumentado para doentes com história clínica ou familiar com cancro da mama.
<b>Predisposição genética</b>	Alterações no cromossoma 17 onde se localiza o gene <i>HER2</i> e no cromossoma

	13 onde está localizado o gene do cancro da mama 1 ( <i>BRCA1</i> ).
<b>Fatores ligados ao estilo de vida</b>	Obesidade, estilo de vida sedentário, consumo de álcool.
<b>Alterações da mama</b>	Risco de cancro aumentado nas mulheres que apresentam células mamárias anormais como é o caso de hiperplasia atípica e carcinoma lobular <i>in situ</i> .
<b>Menarca precoce (antes dos 13 anos) e menopausa tardia</b>	Longo período de tempo com exposição a estrogénios o risco aumenta.
<b>Etnia</b>	Maior incidência em mulheres caucasianas.
<b>Densidade mamária</b>	Maior probabilidade de desenvolver cancro da mama nas mulheres que possuem tecido mamário denso.
<b>Terapêutica hormonal de substituição (THS)</b>	Risco aumentado na toma de THS durante cinco ou mais anos.

### 1.3.3 Fisiopatologia

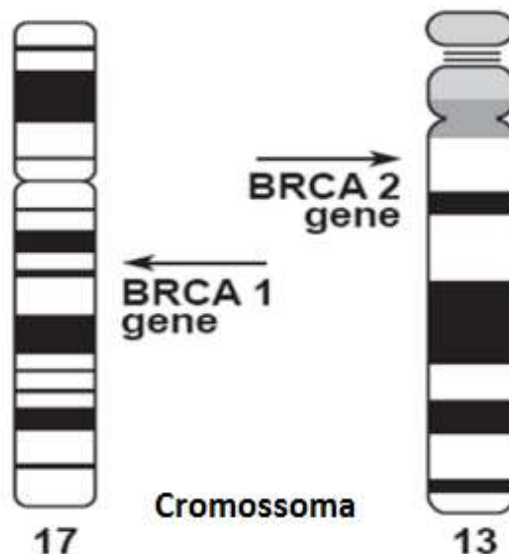
Os tecidos normais controlam a produção e a libertação de sinais que promovem o crescimento e que indicam a progressão através do ciclo de crescimento e divisão das células. Desta forma, garantem a homeostase e a manutenção e função normal dos tecidos (Hanahan & Weinberg, 2011). As células cancerosas crescem e dividem-se de forma descontrolada, podem invadir os tecidos e órgãos e eventualmente espalharem-se por todo o corpo por um processo denominado por metástases (Koutsogiannouli, Papavassiliou, & Papanikolaou, 2013). Para que este processo ocorra, há a separação do tumor primário, invasão através dos tecidos circundantes e membranas basais, entrada na circulação sanguínea, linfática e alojamento no órgão (Ha, Faraji, & Hunter, 2013). As células cancerosas ao invadirem a corrente sanguínea demonstram a capacidade de se poderem alojar nos capilares e extravasar com alta eficiência. Estas podem



permanecer latentes nos locais secundários por longos períodos de tempo, por vezes anos (Ha *et al.*, 2013). Estas etapas são realizadas enquanto as células tumorais evitam e sobrevivem aos sinais apoptóticos e às respostas imunológicas do hospedeiro (Ha *et al.*, 2013).

As alterações genéticas podem ocorrer a vários níveis. Pode haver um ganho ou perda de cromossomas inteiros ou uma única mutação pontual que afeta apenas um nucleotídeo de DNA (Shah, 2014; (Krakhmal, Zavyalova, Denisov, Vtorushin, & Perelmuter, 2015)

Existem duas grandes categorias de genes que são afetados por estas alterações, os oncogenes e os genes supressores de tumores. Os oncogenes são genes causadores de cancro que são expressos em níveis inadequadamente elevados em pacientes com cancro ou estes genes podem ser modificados ou alterados devido a uma mutação. Em ambos os casos, estes genes levam a alterações cancerosas nos tecidos. Os genes supressores de tumores estão envolvidos na regulação da integridade genómica e têm sido associados ao cancro da mama hereditário. As mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, genes supressores de tumores estão associados a um risco aumentado de desenvolver cancro da mama e do ovário (Lee & Muller, 2010). Os genes *BRCA1* e *BRCA2* são autossómicos dominantes e estão localizados no cromossoma 17 e 13 respetivamente (Figura 6). Até à data foram descobertas cerca de 2000 mutações nesses genes (Armstrong, 2014; Mehrgou & Akouchekian, 2016). Essas mutações são geralmente observadas em indivíduos com história familiar de cancro da mama. Além do risco aumentado de desenvolverem cancro da mama, os portadores que possuem a mutação nos genes *BRCA1* e *BRCA2* também têm um risco aumentado de desenvolver outros tipos de cancro (Mehrgou & Akouchekian, 2016).



**Figura 6** - Localização dos genes *BRCA1* e *BRCA2* (Mehrgou & Akouchekian, 2016).

### 1.3.4 Diagnóstico

#### 1.3.4.1 Diagnóstico Clínico

O cancro da mama é geralmente diagnosticado através do rastreio, sintomas e sinais clínicos, como dor ou uma massa palpável, que solicita a realização de exames complementares de diagnóstico (McDonald, Clark, Tchou, Zhang, & Freedman, 2016).

A história clínica tem como objetivo avaliar o risco de desenvolver cancro e avaliar precocemente a presença de sintomas e sinais indicativos de doença mamária. Deve incluir a idade da menarca, estado da menopausa, gravidez anterior e uso de contraceptivos ou de THS pós-menopausa. Além disso, uma história familiar de cancro da mama e/ou cancro do ovário num familiar de primeiro grau deve ser valorizada. Qualquer histórico de cancro da mama prévio deve ser igualmente valorizado, incluindo biópsias de mama anteriormente realizadas. Depois de determinado o risco estimado para o cancro da mama, o doente deve ser avaliado para sintomas específicos como dor no peito, descarga do mamilo, mal-estar, dor óssea e perda de peso (McDonald, Clark, Tchou, Zhang, & Freedman, 2016).

No cancro da mama, o antígeno carcino-embrionário (CEA) e o antígeno do cancro 15.3 (CA 15.3) são os dois biomarcadores tumorais séricos mais utilizados na

prática clínica (Shao, Sun, He, Liu, & Liu, 2015). O CEA é um marcador tumoral que é sintetizado na mucosa do feto e do embrião (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). O CA 15.3 é uma glicoproteína que está associada ao cancro. Este é sintetizado nas células do carcinoma da mama e em algumas células epiteliais. O CEA e o CA 15.3 são os marcadores tumorais de eleição para o cancro da mama e são detetados a partir de uma amostra de sangue. A combinação de ambos aumenta a sensibilidade do diagnóstico primário, sendo que níveis elevados destes marcadores são encontrados em doentes que estão no início do cancro da mama, assim como em doentes que apresentam um estadió avançado da doença. A monitorização da doença e a sua resposta à terapêutica são realizadas com estes marcadores isoladamente ou em conjunto (Akram *et al.*, 2017).

#### **1.3.4.2 Diagnóstico Imagiológico**

A imagiologia deve ser individualizada para cada paciente com base na idade e nas características das lesões. O diagnóstico imagiológico, incluindo imagens radiológicas que permitem avaliar o trajeto intralesional da agulha da biópsia ou da punção, desempenha um papel fundamental no diagnóstico, planeamento do tratamento e estadios de doentes com cancro da mama (Shah, 2014).

Existem maioritariamente duas abordagens diferentes para o rastreio do cancro da mama a prevenção da doença ao detetar e remover precursores pré-malignos do cancro e a deteção precoce em que o objetivo é tratar o cancro num estadió curável precoce (Løberg, Lousdal, Bretthauer, & Kalager, 2015).

A mamografia mantém-se como método de eleição da deteção imagiológica do cancro da mama. Esta fornece imagens de elevada qualidade a partir de doses baixas de radiação, ao contrário do que acontecia há alguns anos. Atualmente é o único método imagiológico de rotina amplamente aceite para o rastreio do cancro da mama. A mamografia é realizada em mulheres que possuem uma massa palpável ou outro sintoma da doença, história familiar de cancro da mama pelo menos nos últimos 5 anos, ou imagens adicionais de rastreio através de mamografia onde sejam visíveis alterações mamárias. No entanto, tem surgido alguma controvérsia sobre a utilização da mamografia no rastreio devido ao risco de obter resultados falso-positivos e por apresentar sensibilidade limitada na deteção de tumores em tecido mamário denso

(Kazarian *et al.*, 2017). A mamografia de diagnóstico fornece-nos imagens da área do tecido mamário ou a ampliação das mesmas através de raio-X. As imagens obtidas pelo raio-X permitem detetar tumores que não podem ser sentidos (Shah, 2014; Løberg *et al.*, 2015).

Foi projetado um sistema, denominado BI-RADS (Sistematização internacional para a avaliação mamária - *Breast Imaging Reporting and Data System*) que para além de classificar as imagens mamográficas também estrutura os relatórios através da descrição das lesões e da padronização das conclusões, incutindo orientações que devem ser tomadas, dependendo da classificação obtida (Tabela 2). Este sistema fornece também um acompanhamento completo e sistema de monitorização dos resultados que permite o despiste ao determinar resultados de desempenho, como o valor preditivo positivo e a percentagem de cancros negativos do nódulo (Roveda Junior *et al.*, 2007).

**Tabela 2** - Classificação BI-RADS da mamografia (Roveda Junior *et al.*, 2007).

<b>Categoria</b>	<b>Avaliação</b>	<b>Seguimento</b>
<b>0</b>	Inconclusivo	Avaliação adicional
<b>1</b>	Negativo/Normal	Rotina (mulheres com mais de 40 anos)
<b>2</b>	Alterações benignas	Rotina (mulheres com mais de 40 anos)
<b>3</b>	Exame provavelmente benigno	Controlo em 6 meses
<b>4</b>	Lesão suspeita	Encaminhamento/Biópsia
<b>5</b>	Lesão altamente suspeita	Encaminhamento/Biópsia
<b>6</b>	Lesão com diagnóstico de cancro, mas não tratado	Encaminhamento/Tratamento

A ecografia (ultrassonografia) é o exame de primeira linha para mulheres jovens e é utilizada sobretudo como complemento da mamografia. É uma opção viável para o despiste de mulheres de alto risco que não podem realizar ressonância magnética mamária, tais como as que apresentam uma mama densa (McDonald, Clark, Tchou, Zhang, & Freedman, 2016). Contudo, a ecografia mamária apresenta limitações devido

à elevada taxa de resultados falso-positivos e pelo facto de depender da experiência do operador (McDonald, Clark, Tchou, Zhang, & Freedman, 2016).

A ressonância magnética (RM) tornou-se parte integrante no diagnóstico do cancro da mama. As atuais indicações para a realização de uma RM mamária incluem doentes em que a avaliação mamográfica é limitada no caso de implantes de silicone e salinos, bem como injeções de silicone, pela extensão da doença desde o diagnóstico inicial de cancro da mama, avaliação inconclusiva dos resultados do exame clínico, mamografia e/ou ultra sonografia, rastreio da mama em doentes recentemente diagnosticados com cancro da mama e despiste assintomático de doentes com elevado risco de cancro da mama (Shah, 2014). A RM da mama inclui também a avaliação da resposta à quimioterapia neoadjuvante com a possibilidade de se obterem imagens antes, durante e após o tratamento, assim como a identificação da doença residual em doentes com margem positiva após lumpectomia (Shah, 2014).

A biópsia é um exame utilizado para confirmar ou descartar o diagnóstico de cancro da mama. Proceder-se à recolha de tecido ou líquido da mama das lesões suspeitas detetadas pela mamografia. Esta recolha pode ser realizada pela aspiração com agulha fina, biópsia cirúrgica ou biópsia por agulha grossa, em que esta última é a mais comum por ser menos invasiva, deixa apenas uma pequena marca e resulta numa recuperação mais rápida do doente. As células são removidas para avaliação histológica deixando o restante *in vivo* para ser removido mais tarde após um diagnóstico definitivo. Além de fazer a distinção de um cancro invasivo ou não invasivo, o tecido obtido através desta técnica pode ser utilizado para realizar análise de ácido nucleico, imunohistoquímica (IHQ) ou análise de biomarcadores de prognóstico. A biópsia é o único procedimento de diagnóstico que determina se a área suspeita é cancerosa (Loughran & Keeling, 2011; Mathenge *et al.*, 2014).

### **1.3.5 Estadiamento**

Após a confirmação do diagnóstico é primordial saber qual a extensão do tumor, nos gânglios regionais e noutros órgãos. A esta situação dá-se o nome de estadiamento (Tabela 3). O estadio do cancro é um dos fatores mais importantes para decidir como tratar o cancro e determinar o sucesso do tratamento. Quanto menos avançado for o

estadio melhor será o prognóstico (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). Para avaliar os riscos e o prognóstico é utilizado o sistema de estadiamento TNM, em que se considera o tamanho do tumor (T) e a invasão de tecidos vizinhos, o envolvimento dos gânglios linfáticos (N) e a metastização (M; Akram et al., 2017). Os números ou as letras que sucedem T, N e M facultam mais detalhes sobre estes fatores. Quando se obtêm números mais elevados, o cancro encontra-se numa etapa mais avançada (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017).

**Tabela 3** - Estádios do cancro da mama (Akram *et al.*, 2017).

<b>Estadio</b>	<b>Estadio patológico</b>
<b>Estadio 0</b>	As células atípicas encontram-se circunscritas no ducto onde surgiram.
<b>Estadio I</b>	O tumor tem um diâmetro inferior a 2 cm e podem ser vistos aglomerados de células cancerosas nos gânglios linfáticos. O estadio I divide-se em IA e IB.
<b>Estadio II</b>	O tumor ou tem um diâmetro inferior a 2 cm e espalhou-se pelos gânglios linfáticos na axila ou o tumor tem um diâmetro entre 2-5 cm, mas não se disseminou para os gânglios da axila. O estadio II divide-se em estadio IIA e IIB.
<b>Estadio III</b>	O tumor possui qualquer tamanho e: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Disseminou-se para a parede do tórax e/ou pele da mama;</li> <li>• Disseminou-se pelo menos por 10 gânglios linfáticos da axila ou estes estão aderentes entre eles ou a outras estruturas;</li> <li>• Disseminou-se para os gânglios linfáticos próximos do osso do tórax;</li> <li>• Disseminou-se para os gânglios</li> </ul>

	linfáticos na região da clavícula; O estadio III divide-se em IIIA, IIIB e IIIC.
<b>Estadio IV</b>	O cancro disseminou-se para outros órgãos, muito provavelmente para os ossos, pulmões, fígado e cérebro.

### 1.3.6 Indicadores de Prognóstico

- **Recetor de Estrogénio e Recetor de Progesterona**

O recetor de estrogénio (RE) e o recetor de progesterona (RP) representam fatores de prognósticos débeis para doentes com cancro de mama, no entanto estes recetores constituem o melhor indicador preditivo de resposta à terapêutica adjuvante endócrina com tamoxifeno em alguns casos de CDIS (Pattern, 2008). Os estudos do RE e RP devem ser realizados em todos os cancros da mama invasivos. Ambos são avaliados pela técnica de IHQ, utilizando cortes histológicos de amostras obtidas por biópsia. A técnica de IHQ foi incorporada na área de patologia cirúrgica como método de rotina e permite a utilização de anticorpos monoclonais específicos para o RE e RP através da análise de uma pequena quantidade de tecido mamário. Esta análise pode ser influenciada por três fatores importantes incluindo a fixação do tecido, a escolha do anticorpo anti-RE ou anti-RP e a interpretação dos resultados (Zaha, 2014). A interpretação positiva requer um resultado acima de 10 % das células cancerosas mostrando a coloração nuclear positiva a diferentes intensidades (Pattern, 2008). Cerca de 70-80% dos cancros da mama são RE-positivos (McDonald, Clark, Tchou, Zhang, & Freedman, 2016).

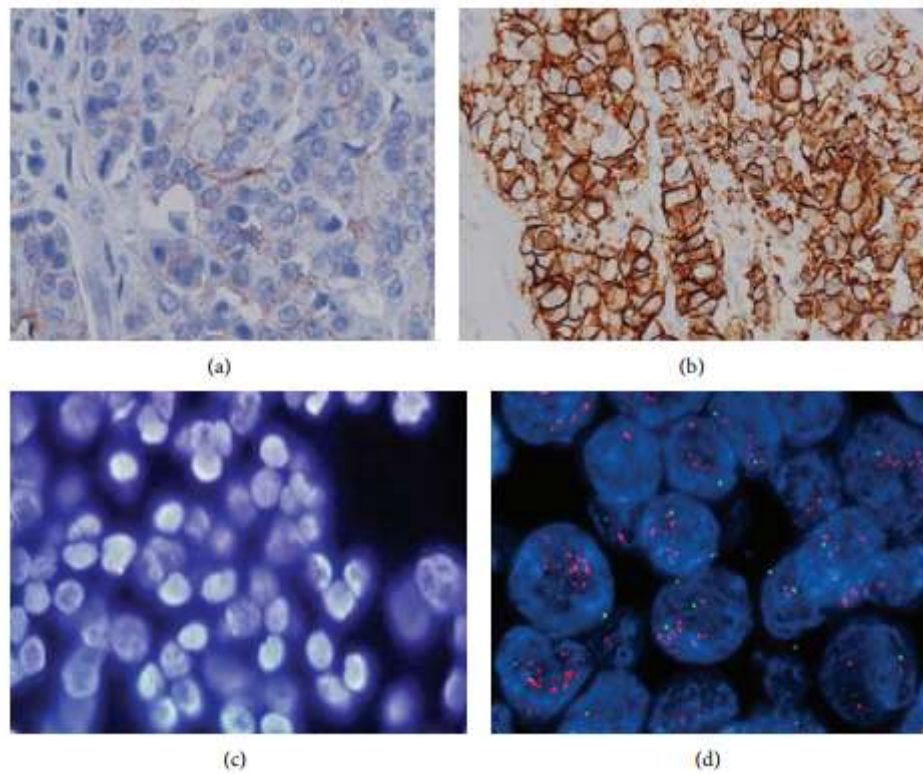
- **Expressão da proteína HER2 e amplificação de gene**

O *HER2/neu* (Recetor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2), também conhecido como ErbB2 é um proto-oncogene que está localizado no cromossoma 17. Este atua como um recetor do fator de crescimento e é composto pelos elementos EGFR/HER1, HER2, HER3 e HER4. Este proto-oncogene é um indicador tanto de prognóstico como preditivo do cancro da mama (Pattern, 2008; Iqbal, & Iqbal, 2014). O gene *HER2*-positivo é definido quando há evidências de sobre-expressão de

proteínas pela análise IHQ ou amplificação de genes, no caso das técnicas de hibridação fluorescente *in situ* (FISH) e hibridação cromogénica *in situ* (CISH; Ahmed, Sami, & Xiang, 2015). A sobre-expressão está associada ao aumento da agressividade do tumor, ao aumento das taxas de recorrência e ao aumento da mortalidade de pacientes com cancro positivo, enquanto a influência do cancro negativo é variável (Pattern, 2008). Os subtipos do cancro da mama com RE-negativo, RP-negativo e HER2-negativo são denominados de triplo-negativos (Nahed & Shaimaa, 2016). A expressão de HER2 tem sido valiosa na previsão de respostas ao tratamento com o anticorpo monoclonal trastuzumab, algumas terapêuticas endócrinas e quimioterapia, aumentando o seu papel como marcador preditivo da eficácia da terapêutica. Este assunto será abordado em pormenor mais à frente (Soerjomataram, Louwman, Ribot, Roukema, & Coebergh, 2008).

Apesar da técnica de IHQ ser a mais utilizada como procedimento de rotina, por ser fácil de executar e de baixo custo, o gene *HER2* também pode ser analisado pelas técnicas de FISH e CISH, como foi dito anteriormente, como procedimento alternativo (Figura 7). As técnicas FISH e CISH são mais sensíveis e específicas e por isso, são utilizadas quando surge um resultado equívoco. A técnica de FISH baseia-se no reconhecimento específico de sequências de DNA alvo desnaturadas por emparelhamento que são marcadas com sondas para examinar a presença ou ausência de sequências complementares em células ou tecidos fixos sob um microscópio fluorescente. Com esta técnica podemos detetar alterações genéticas, entre as quais, amplificação de genes, translocações, deleções e alterações no número de cópias cromossómicas. Esta tecnologia inclui vantagens como: alta sensibilidade e especificidade no reconhecimento de sequências de DNA ou RNA, aplicação direta tanto para cromossomas em metáfase quanto para núcleos interfásicos e visualização de sinais de hibridação a nível da célula. A técnica CISH é um acréscimo simples da FISH, com a vantagem de se poder detetar as alterações genéticas em conjunto com as observações de morfologia celular (Cui, Shu, & Li, 2016; García-Caballero *et al.*, 2010).





**Figura 7** - Determinação do status de HER2 em quatro amostras de cancro da mama (Iqbal, & Iqbal, 2014). As amostras a) e b) foram analisadas por IHQ e as amostras c) e d) foram analisadas por FISH.

A IHQ deteta a proteína e mostra um aumento da expressão dos recetores HER2 enquanto a FISH deteta a amplificação do gene. Amostra a) níveis normais da expressão proteica de HER2, a amostra c) cópia do gene HER2 normal, b) e d) níveis anormais.

## **2. Tratamento do Cancro da Mama**

### **2.1 Perspetiva Histórica**

A história do cancro da mama é uma rede complexa de tentativas de compreender a natureza instintiva da resposta hormonal e a vontade dos médicos de eliminar o cancro por remoção física (cirurgia), destruição celular (quimioterapia) ou terapêutica direcionada aos recetores celulares (biomodulação; Lakhtakia, 2014).

Após a anestesia ter sido introduzida em 1846, os cirurgiões Bilioth, Handley e Halsted realizaram as operações do cancro removendo todo o tumor junto com os gânglios linfáticos. Mais tarde, Paget, verificou que as células cancerosas se haviam disseminado do tumor primário para outros locais do corpo através da corrente sanguínea (metástase). A compreensão dos mecanismos de propagação do cancro tornou-se um elemento chave no reconhecimento das limitações da cirurgia do cancro (Sudhakar, 2009).

No início dos anos 70, o progresso em ultrassonografia, tomografia computadorizada, ressonância magnética e tomografia por emissão de positrões substituíram a maioria das operações exploratórias (Sudhakar, 2009).

Durante as últimas décadas do séc. XX, os cirurgiões desenvolveram novos métodos para o tratamento do cancro combinando cirurgia com quimioterapia e/ou radiação. Roentgen descobriu o raio-X 50 anos depois de a anestesia ter sido inventada. Mais tarde, médicos identificaram que a mostarda de nitrogénio podia matar células cancerosas do sistema linfático que proliferam rapidamente. Ao longo dos anos, a utilização de fármacos direcionados para a quimioterapia resultou no tratamento bem-sucedido de muitos tipos de cancro. Hoje em dia, têm vindo a ser estudadas novas abordagens para reduzir os efeitos adversos da quimioterapia, incluindo o uso de novas combinações de fármacos, terapêutica com anticorpos lipossómicos e monoclonais para direcionar fármacos especificamente para células cancerosas, agentes quimioprotetores, transplante de células-tronco hematopoiéticas e agentes que superam a resistência a múltiplos fármacos (Sudhakar, 2009; Sledge, Mamounas, Hortobagyi, & Burstein, 2014). Novas classes de fármacos estão a ser utilizadas na terapêutica hormonal para o tratamento do cancro da mama. A descoberta de como as hormonas influenciam o crescimento do cancro orientou o progresso no desenvolvimento de novos fármacos, além de reduzir o risco de cancro de mama (Lakhtakia, 2014). No início do séc. XX, os

investigadores descobriram que a radiação poderia causar cancro, bem como curá-lo, pois, embora a radiação seja direcionada para destruir as células tumorais, é inevitável que os tecidos normais não cancerosos também sejam danificados pela radiação. Assim sendo, a dose de radiação é administrada dentro de níveis muito controlados e com equipamento especializado (Baskar, Lee, Yeo, & Yeoh, 2012). O uso de agentes biológicos que mimetizam alguns dos sinais naturais que o corpo usa para controlar o crescimento do tumor é chamado de imunoterapia (Sudhakar, 2009). Estes agentes biológicos naturais podem agora ser produzidos em laboratório, incluindo interferões, interleucinas, citoquinas, angio-inibidores endógenos e antigénios (Sudhakar, 2009).

## 2.2 Tratamento

Grandes progressos foram feitos no desenvolvimento e tratamento do cancro da mama, porém este continua a ser um desafio no séc. XXI (Baskar, Lee, Yeo, & Yeoh, 2012). Devido à deteção precoce do cancro da mama muitos tipos de cancros tornaram-se curáveis (Baskar *et al.*, 2012). O objetivo primordial no tratamento do cancro da mama é preservar a qualidade de vida com expectativa de vida prolongada, para tal uma comunicação efetiva entre médicos e doentes desempenha um papel muito importante para melhorar o resultado clínico (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017). As estratégias de tratamento do cancro da mama diferem consoante a sua localização, evolução do cancro, a sua massa, se se estendeu a outros órgãos do corpo e a condição física do indivíduo (Akram *et al.*, 2017). Os fármacos geralmente podem proporcionar alívio temporário dos sintomas, prolongamento da vida e ocasionalmente cura da doença. Os taxanos e as antraciclina são grupo de fármacos de eleição no tratamento do cancro da mama na terapêutica adjuvante, neoadjuvante e metastática. Estes fármacos são também utilizados na terapêutica direcionada no cancro da mama HER2-positivo e na terapêutica hormonal. O tratamento sistémico no cancro da mama inclui a terapêutica direcionada, terapêutica hormonal, quimioterapia citotóxica e o tratamento local inclui a terapêutica de radiação e cirurgia (Michaels, Keraliya, Tirumani, Shinagare, & Ramaiya, 2016).

### 2.2.1 Tratamento Local

#### Cirurgia

É a principal estratégia de tratamento para pacientes cujo cancro não se disseminou para outras áreas do corpo e é também a principal escolha para estadios mais complexos da doença (McDonald, Clark, Tchou, Zhang, & Freedman, 2016).

- **Lumpectomia ou mastectomia parcial:** é uma cirurgia conservadora da mama e é um procedimento que remove o tumor juntamente com algum tecido e os gânglios linfáticos circundantes deixando a maior parte da mama intacta (Figura 8). Esta prática é realizada em mulheres que estão numa fase inicial do cancro (Piper, Peled, & Sbitany, 2015).



**Figura 8** - Lumpectomia (Piper *et al.*, 2015).

- **Mastectomia:** é realizada para diminuir o risco de desenvolvimento do cancro da mama. É uma cirurgia em que toda a mama é removida, incluindo todo o tecido mamário e por vezes outros tecidos circundantes. Existem vários tipos diferentes de mastectomias. Algumas mulheres podem realizar uma mastectomia dupla, na qual ambas as mamas são removidas. A mastectomia é considerada o método mais eficaz para lidar com um caso já difuso de cancro da mama (Al Troudy El Troudi *et al.*, 2017).

Estes procedimentos cirúrgicos são os mais comuns e são seguidos de radioterapia (Akram, Iqbal, Daniyal, & Khan, 2017).

## **Radioterapia**

Ensaio clínicos multinacionais demonstraram a eficácia da cirurgia de conservação da mama seguida de terapia de radiação para o cancro da mama invasivo precoce (Lin & Tripuraneni, 2011). A necessidade de radiação depende do tipo de cirurgia a que o paciente esteve sujeito, se o cancro se disseminou para os gânglios linfáticos ou outro local e, em alguns casos, a idade. Tumores de grandes dimensões ou que envolvem a pele também podem necessitar de radiação. A terapêutica de radiação é um tratamento realizado com raios de alta energia ou partículas que destroem as células

cancerosas (Baskar, Lee, Yeo, & Yeoh, 2012). Nem todas as mulheres com cancro da mama necessitam de radioterapia, mas pode ser utilizada após cirurgia de conservação da mama para diminuir as probabilidades de recidiva no peito ou nódulos linfáticos próximos, após a mastectomia especialmente se o cancro tiver um tamanho superior a 5 cm ou se este for encontrado nos gânglios linfáticos e se o cancro se disseminou para outras partes do corpo, como os ossos ou cérebro (Lin & Tripuraneni, 2011).

## 2.2.2 Tratamento Sistémico

### Quimioterapia

É o tratamento realizado com fármacos que destroem as células cancerosas que são administrados por via oral ou por via intravenosa. O tratamento pode ser realizado pela administração de fármacos individualmente ou em combinação dos mesmos (Tabela 4). A quimioterapia pode ser recomendada antes (quimioterapia neoadjuvante) ou depois (quimioterapia adjuvante) da cirurgia (Kreidieh, 2016). Vários ensaios clínicos demonstraram que a quimioterapia adjuvante sistémica, terapêutica hormonal e a terapêutica direcionada anti-HER2 reduziram o risco de recorrência e melhoraram a sobrevida a longo prazo quando combinados com o tratamento local (Anampa, Makower, & Sparano, 2015). A quimioterapia adjuvante tem como objetivo diminuir a incidência da disseminação do cancro e é iniciada após o tratamento principal, enquanto a quimioterapia neoadjuvante é utilizada para reduzir o tumor para facilitar a cirurgia de conservação da mama e orientar a quimioterapia pós-operatória (Tabela 5; Michaels, Keraliya, Tirumani, Shinagare, & Ramaiya, 2016). Os melhores candidatos para o tratamento de quimioterapia neoadjuvante são pacientes com RE-negativos ou HER2-positivos (Anampa, Makower, & Sparano, 2015).

**Tabela 4** - Fármacos citostáticos e as combinações disponíveis (Anampa *et al.*, 2015).

Fármacos citostáticos	Combinações
Capecitabina	5-FU/doxorrubicina/ciclofosfamida
Gemcitabina	FEC (5-FU/epirrubicina/ciclosfosfamida)
Vinorelbina (oral e I.V.)	DC (doxorrubicina/ciclosfosfamida)
Taxanos (Paclitaxel e Docetaxel)	CMF (ciclosfosfamida/metotrexato/5-FU)

5-Fluorouracilo (5-FU) (bólus ou contínuo)	Doxorrubicina/docetaxel ou paclitaxel
Metotrexato (oral e I.V.)	Capecitabina/docetaxel
Mitoxantrona	Gemcitabina/paclitaxel ou paclitaxel/bevacizumab
Platinas (Cisplatina e Carboplatina)	
Antraciclinas (Epirubicina, Doxorrubicina ou Doxorrubicina lipossómica)	

**Tabela 5** - Tratamento Adjuvante e Neoadjuvante (Anampa et al., 2015).

<b>Gânglios negativos</b>		
FEC 100 x 6 (21 dias)	CMF (dia 1 e dia 8) x 6 (28/28 dias)	Trastuzumab (21 em 21 dias durante quimioterapia (QT) e de 21 em 21 dias após a QT até 1 ano)
<b>Gânglios Positivos</b>		
FEC 100 x 3 seguido de docetaxel x 3 (21/21 dias)		
<b>Estadio II</b>		
<b>T &gt; 3cm para eventual lumpectomia</b>	<b>Neoplasias HER2 +</b>	<b>Neoplasias Triplo negativo</b>
FEC 100 (21/21 dias) x 6 depois cirurgia com resposta clínica. Sem resposta clínica, cirurgia de imediato ou docetaxel x 4	FEC 100 x 3, seguido Docetaxel x 3 + trastuzumab	FEC 100 x 3, seguido Docetaxel x 3
<b>Estadio III (Avançado)</b>		
DC x 4 (21/21 dias), seguido paclitaxel x 12 (7/7 dias) DC x 4 (21/21 dias), seguido docetaxel x 4 (21/21 dias)		

## **Terapêutica Hormonal**

Após a cirurgia, a hormonoterapia é frequentemente utilizada como terapêutica adjuvante. O cancro da mama é um tumor hormono-dependente e o estrogénio desempenha um papel importante na iniciação e progressão da doença (Chang, 2012). As ações biológicas do estrogénio são mediadas pelo RE e quase 70 % dos tumores mamários expressam o RE e o RP. Desta forma, ao direcionar a terapêutica para o RE com antiestrogénios, como o tamoxifeno, é uma medida terapêutica eficaz para todas as fases da doença em mulheres pré e pós-menopáusicas (Tabela 6; Chang, 2012).

- Tamoxifeno: é o tratamento de primeira linha para doentes pré-menopáusicas. É um modulador seletivo de recetores de estrogénio (MSRE) não esteróide. O tamoxifeno atua como um antagonista parcial, afetando a função do RE ao competir com o estrogénio para a ligação no recetor. O complexo RE ligado ao tamoxifeno impede que os genes sejam ativados pelo estrogénio, provocando a inibição dos efeitos do estrogénio, que é responsável pelo crescimento ou proliferação de células cancerígenas (Chang, 2012).
- Inibidores da Aromatase (anastrozole, letrozole e exemestano): vão impedir a formação de estrogénios ao bloquear a sua síntese (Chumsri, Howes, Boa, Sabnis, & Brodie, 2012). A aromatase é uma enzima do citocromo P450 localizada no cromossoma 15. É expressa nos ovários e outros tecidos periféricos por isso, a sua utilização é limitada a doentes sem ovários funcionais. O seu mecanismo de ação é converter os precursores androgénicos em produtos de estrogénio. Estes precursores de androgénio vão-se ligar competitivamente ao local de ligação do substrato da enzima e vão formar ligações covalentes irreversíveis que resultam na inativação enzimática (Schneider, Barakat, Pippen, & Osborne, 2011).

No tratamento de doentes pós-menopáusicas os fármacos de primeira linha são os inibidores da aromatase (Chumsri *et al.*, 2012). Para além destes fármacos são também utilizados o tamoxifeno e o fulvestranto (Chang, 2012). O fulvestranto é um antagonista dos recetores de estrogénio indicado no tratamento de mulheres pós-menopáusicas com cancro de mama localmente avançado ou metastático, RE-positivo, na doença recidiva ou após terapêutica hormonal adjuvante. Este fármaco exerce



regulação seletiva dos recetores do estrogénio, apresenta atividade antiproliferativa e é um indutor da apoptose (Ciruelos *et al.*, 2014).

**Tabela 6** - Tratamento Adjuvante e Neoadjuvante em mulheres pré e pós-menopáusicas (Chang, 2012; Chumsri *et al.*, 2012).

	Mulheres pré-menopáusicas	Mulheres pós-menopáusicas
<b>Tratamento Adjuvante</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tamoxifeno 20 mg/dia 5 anos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tamoxifeno 20 mg/dia 5 anos</li> <li>Inibidores da Aromatase</li> </ul>
<b>Tratamento Neoadjuvante</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Inibidores da Aromatase</li> <li>Tamoxifeno</li> </ul>

### Terapêutica Direcionada

Os cancros conhecidos como HER2-positivos tendem a proliferar e a disseminar-se de forma mais agressiva. Para estes tipos de cancro está indicado o tratamento com agentes anti-HER2, em associação com a terapêutica hormonal (Schramm, De Gregorio, Widschwendter, Fink, & Huober, 2015). Antes do desenvolvimento da terapêutica relacionada com HER2, o cancro da mama HER2-positivo era caracterizado como um mau fator de prognóstico, incluindo maior mortalidade na doença em estadio inicial, redução do tempo de recidiva e aumento da incidência de metástases (Ahmed, Sami, & Xiang, 2015). O aumento de HER2 foi validado não só como um fator de prognóstico como também um fator preditivo de resposta na terapêutica direcionada com HER2 (Weigel & Dowsett, 2010).

O desenvolvimento de terapêuticas direcionadas para o proto-oncogene HER2 revolucionou o tratamento de mulheres com cancro da mama HER2-positivo e melhorou significativamente os resultados. Ao longo da última década, um número substancial de agentes que visam o HER2 foram introduzidos na prática clínica (Tabela 7; Ahmed, Sami, & Xiang, 2015).

**Tabela 7** - Terapia direcionada HER2 aprovada para o tratamento de cancro da mama HER2-positivo (Ahmed *et al.*, 2015).

<b>Anticorpos Monoclonais</b>	
<b>Trastuzumab</b>	Anticorpo monoclonal IgG humanizado recombinante dirigido contra o domínio extracelular do recetor HER2 que previne a sinalização independente do ligando HER2.
<b>Pertuzumab</b>	Anticorpo monoclonal IgG humanizado que se liga ao domínio extracelular do HER2 e inibe a dimerização do HER2-HER3.
<b>Lapatinib</b>	Inibidor reversível da tirosinacina no domínio EGFR/ErbB2 oral que bloqueia tanto HER1 como HER2.
<b>Trastuzumab emtansina</b>	Conjugado fármaco-anticorpo em que o agente citotóxico está ligado ao trastuzumab.

- Trastuzumab: é um anticorpo monoclonal que se liga ao subdomínio extracelular IV de HER2. Este atua por diferentes mecanismos para inibir o crescimento celular, previne a dimerização do HER2, inibe a via PI3K, diminui a sinalização celular e inibe a angiogénese. Em combinação com a quimioterapia clássica este fármaco demonstrou aumentar a sobrevivência em doentes com sobre-expressão de HER2 no cancro da mama inicial e avançado (Luque-Cabal, García-Tejido, Fernández-Pérez, Sánchez-Lorenzo, & Palacio-Vázquez, 2016; Iqbal *et al.*, 2014).
- Pertuzumab: atua como um inibidor de dimerização HER2 por ligação ao domínio da dimerização extracelular. A heterodimerização com os outros membros da família HER2, como o HER3, está bloqueada evitando a sinalização intracelular iniciada pelo ligando, fazendo com que haja a paragem do ciclo celular de células com sobre-expressão de HER2. A combinação de trastuzumab e pertuzumab atua de forma sinérgica, com a inibição da sinalização HER2 ao bloquear a sinalização dependente e independente do ligando, bem como a homo e heterodimerização (Schramm, De Gregorio, Widschwendter, Fink, & Huober, 2015).

- Lapatinib: é utilizado quando há sobre-expressão de HER2. O lapatinib e o trastuzumab apresentam mecanismos de ação complementares e por isso, diminuem a probabilidade do desenvolvimento de células cancerosas resistentes. Este facto deve-se à existência de uma resistência adquirida pelo trastuzumab devido à degradação do recetor HER2. Como o lapatinib induz a estabilização do recetor, este vai ressensibilizar as células cancerosas HER2-positivo para a ação posterior do trastuzumab (Opdam *et al.*, 2012).

**Tabela 8** - Tratamento para mulheres com cancro da mama HER2-positivo em estadio inicial (Ahmed, Sami, & Xiang, 2015).

Cancro da Mama HER2-positivo	
Tratamento Adjuvante	Tratamento Neoadjuvante
Trastuzumab (1 ano) em combinação com/ou 4-6 ciclos QT.	Combinação de trastuzumab/pertuzumab ou trastuzumab com QT.

**Tabela 9** - Tratamento para mulheres com cancro da mama HER2-positivo com metástases (Ahmed *et al.*, 2015).

Cancro da Mama HER2-positivo		
1ª linha de tratamento	2ª linha de tratamento	3ª linha de tratamento
Trastuzumab	Trastuzumab emtansina	Trastuzumab e QT
Taxanos e trastuzumab/pertuzumab		Lapatinib e capecitabina
Trastuzumab/Terapia hormonal*		

\* Não é candidato a quimioterapia em monoterapia. Terapêutica hormonal para cancro da mama positivo RE / RP.

## 2.3 Novas Abordagens Terapêuticas

O palbociclib é um fármaco recente que tem como mecanismo de ação a inibição das cinases dependentes da ciclina (CDK), mais especificamente, a CDK4 e a CDK6 (Finn *et al.*, 2016). Alguns estudos pré-clínicos demonstram a capacidade do palbociclib inibir a proliferação celular do RE-positivo bloqueando a progressão de G1 para a fase S no ciclo celular (Lu, 2015). Recentemente foi realizado um estudo clínico de fase II com a denominação de PALOMA 1 em mulheres pós-menopáusicas com RE-positivo, HER2-negativo, cancro da mama avançado que não receberam tratamento sistémico para a doença (Lu, 2015). Os resultados deste estudo demonstraram um aumento da sobrevida significativamente superior com a combinação de palbociclib e letrozole do que apenas letrozole e por isso, foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) o uso combinado de palbociclib e letrozole para esta indicação (Finn *et al.*, 2016).

O estudo PALOMA 2 de fase III, mais completo que o anterior foi projetado para confirmar os resultados iniciais e avaliar a segurança e eficácia do palbociclib em combinação com o letrozole como terapêutica de primeira linha para mulheres pós-menopáusicas com RE-positivo e HER2-negativo em mulheres com cancro da mama avançado (Finn *et al.*, 2016). Este estudo para além de confirmar os resultados iniciais demonstrou também que o benefício clínico da combinação dos dois fármacos ocorreu independentemente da idade, do local da doença, da terapêutica hormonal e quimioterapia prévia, do intervalo de recidiva após tratamento adjuvante e do subtipo (Finn *et al.*, 2016).

Além do benefício do palbociclib na terapêutica hormonal, foi também realizado um estudo denominado PALOMA 3, onde se avaliou doentes com RE-positivo e cancro da mama HER2-negativo avançado que recaíram ou progrediram durante a terapêutica hormonal. Estas doentes receberam palbociclib e fulvestranto ou placebo e fulvestranto. Com este estudo concluiu-se que o palbociclib com fulvestranto resultou numa progressão de sobrevida maior e qualidade de vida relativamente maior do que com apenas fulvestranto independentemente do status da menopausa. PALOMA 3 oferece uma excelente terapêutica alternativa para pacientes pré e pós-menopausa que haviam progredido com a terapêutica hormonal prévia (Lu, 2015). Os resultados obtidos demonstraram uma incidência elevada de reações adversas no que respeita aos dados hematológicos com palbociclib, por induzir neutropenia moderada, mas apesar dessas

reações adversas este fármaco é bem tolerado no cancro da mama avançado com HER2-negativo e RE-positivo, pois demonstrou uma atividade antitumoral promissora (Finn *et al.*, 2016).

### 3. A Farmacogenómica e o Cancro da Mama

#### 3.1 Biomarcadores Emergentes

A necessidade de um diagnóstico precoce do cancro da mama através de métodos de imagem aprimorados e programas de triagem, destaca a necessidade de novos fatores e combinações de biomarcadores para quantificar o risco dos doentes e indicar estratégias de tratamento adicionais (Weigel & Dowsett, 2010). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) um biomarcador é qualquer substância, estrutura ou processo que pode ser medido no corpo ou seus produtos e influenciar ou prever a incidência de um resultado ou doença, ou seja, um biomarcador de cancro pode determinar o risco de desenvolver cancro num determinado tecido, o risco de progressão ou uma potencial resposta à terapêutica (Mishra & Verma, 2010). A resposta medida pode ser funcional e fisiológica, bioquímica a nível celular ou uma interação molecular (Strimbu & Tavel, 2011). Com o aparecimento de tecnologias de perfil genético e terapêuticas seletivas com alvo molecular, os biomarcadores desempenham um papel cada vez mais importante na terapêutica (Goossens *et al.*, 2015). Os biomarcadores de cancro podem ser categorizados em três tipos, biomarcador preditivo, de prognóstico e de diagnóstico (Goossens *et al.*, 2015). Os biomarcadores preditivos, tal como o nome indica, têm o objetivo de prever a resposta a intervenções terapêuticas específicas, assim como a positividade do gene HER2 em relação à resposta ao trastuzumab, como referido anteriormente. Os biomarcadores de prognóstico podem não estar diretamente ligados a decisões terapêuticas específicas, mas têm o intuito de informar os clínicos sobre o risco de resultados clínicos, como é o caso da recorrência ou progressão do cancro. Os biomarcadores de diagnóstico foram recentemente implementados para a vigilância do cancro colorretal (Goossens *et al.*, 2015).

#### **Ki-67**

Tal como o oncogene *HER2*, o antígeno nuclear da proliferação celular (*Ki-67*) é um marcador de proliferação, que também exibe tanto efeito de prognóstico como preditivo (Davis *et al.*, 2014). O *Ki-67* é uma proteína nuclear associada à proliferação celular, pois a sua expressão varia ao longo do ciclo celular, com pico de expressão durante a mitose. Foi originalmente identificada no século XIX (Weigel & Dowsett, 2010). O biomarcador *Ki-67* emergiu recentemente como um marcador importante

devido a várias aplicações na terapêutica neoadjuvante ou no resultado na quimioterapia adjuvante para tumores com RE-positivo no cancro da mama. Também tem sido utilizado em combinação com os marcadores RE, RP e *HER2* para classificar tumores mamários (Dai, Xiang, Li, & Bai, 2016). Apesar de dados consistentes sobre o *Ki-67* como marcador de prognóstico no cancro da mama precoce, o seu papel no tratamento do cancro da mama permanece incerto (Nahed & Shaimaa, 2016). A sua potencial utilização inclui resistência à quimioterapia ou terapêutica hormonal, prognóstico de responsividade relativa, estimativa do risco residual em pacientes com terapêutica padrão e como biomarcador dinâmico da eficácia do tratamento em amostras obtidas anteriormente, durante e após terapêutica neoadjuvante, em particular na terapêutica hormonal e neoadjuvante (Nahed & Shaimaa, 2016).

### **Recetor de Androgénio (RA)**

O recetor de androgénio (RA) é um marcador clínico comprovado no cancro da próstata. Estudos recentes indicam que também é um marcador hormonal emergente no cancro da mama com potencial clínico tanto nos tumores com RE-positivo, como RE-negativo (Rev, 2015). Quando comparado com o RE, o RA possui domínios funcionais com relevância no cancro da mama, pois, na sua grande maioria os tumores RE-positivos expressam o RA e, uma percentagem significativa de tumores RE-negativos pode beneficiar com a combinação direcionada do RA e do oncogene *ErbB2/HER2* (Rev, 2015). O RA representa um biomarcador de prognóstico emergente no cancro da mama e parece desempenhar um papel semelhante ao oncogene *HER* (Adamo *et al.*, 2017). É frequentemente expresso em tumores primários da mama dependendo do subtipo do cancro da mama. No entanto, ainda não se compreende se este atua como um gene supressor de tumores ou um oncogene (Dai *et al.*, 2016; Rev, 2015). O mecanismo de ação do RA é exercido através da sinalização genética, em que, este interage e controla diretamente a expressão de genes codificados no DNA pela sinalização não-genética, ou seja, qualquer ação que não influencia inicialmente e diretamente a expressão génica. Apesar desta via de sinalização não estar totalmente compreendida, sabe-se que está relacionada com fatores de crescimento e citocinas. A descoberta destes mecanismos é importante para compreender a função do RA no cancro da mama (Rev, 2015).

Alguns estudos demonstram que a associação do RA com a taxa de sobrevivência de doentes com cancro da mama depende da expressão do RE, principalmente em tumores RE-positivos. Os níveis de expressão do RA foram significativamente superiores em tumores responsivos endócrinos, incluindo os que não são triplo-negativo e uma percentagem inferior em doentes com tumores RE-negativo (Gasparini *et al.*, 2014; Rev, 2015).

### **Gene supressor tumoral (TP53)**

A proteína supressora de tumor (p53) é codificada pelo gene supressor de tumores (*TP53*) e localiza-se no cromossoma 17 (Pan, Yuan, Liu, & Wei, 2017). A proteína p53 é muito importante na regulação do ciclo celular, pois regula a multiplicação celular, o crescimento das células, promove a estabilidade cromossómica e regula a proliferação e a apoptose. Assim sendo, uma mutação no gene *TP53* pode levar à carcinogénese (Yadav, Chanana, & Jhamb, 2015). Muitos estudos reportaram que a ativação da proteína p53 está associada a uma forma mais agressiva de cancro, que é o caso do cancro triplo-negativo, e diminui significativamente a sobrevida dos doentes (Darb-esfahani *et al.*, 2016). O seu valor como biomarcador de prognóstico não é ainda claro, mas é uma nova abordagem com potencial para o tratamento de cancro da mama com mutação na proteína p53, incluindo o cancro da mama triplo-negativo (Pan *et al.*, 2017).



### 3.2 Aumento da Eficácia e da Segurança

Com os avanços na tecnologia de sequenciação e investigação do genoma humano, o foco da medicina de precisão tem sido no campo da genómica (Chambliss & Chan, 2016). A resposta de um doente a um fármaco, para além de variabilidade individual é também afetada por muitos fatores, tais como a adesão à terapêutica, a dose do fármaco e as interações farmacológicas. A variação genética nos genes que codificam enzimas metabolizadoras de fármacos e proteínas transportadoras, também desempenha um papel fundamental, pois pode afetar a farmacocinética dos fármacos através da modulação da sua absorção, distribuição, metabolismo ou eliminação (Chambliss & Chan, 2016).

A farmacogenómica é uma ferramenta fundamental na medicina de precisão pois, pode ser utilizada para selecionar a dosagem correta para os doentes, ou seja, identificar com uma maior precisão pacientes que irão responder a um tratamento e evitar situações de toxicidade relacionadas com os fármacos, aumentando assim a eficácia e a segurança dos mesmos (Schuck & Grillo, 2016). Além disso, os testes farmacogenómicos podem ser aplicados na prática clínica para identificar doentes com maior probabilidade de sofrerem efeitos adversos relacionados com o fármaco e prevenir o eventual uso nesses pacientes em que o perfil benefício-risco do fármaco não seja favorável (Schuck & Grillo, 2016).

Os estudos do perfil genético alteraram drasticamente o significado do cancro da mama e proporcionaram inúmeras oportunidades de pesquisa para melhorar as abordagens da terapêutica, diagnóstico e prognóstico desta doença (Lukong, 2017). Estes contribuíram para melhorar o resultado clínico dos doentes com a terapêutica direcionada contra HER2 que revolucionou o tratamento aquando da sobre-expressão do gene HER2 (Iqbal, & Iqbal, 2014). Para além da terapêutica direcionada para HER2, muitos estudos estão a ser conduzidos para superar a resistência hormonal de fármacos, no cancro da mama triplo-negativo e na imunoterapia em relação à inibição da angiogénese (Lukong, 2017).

Esta tecnologia oferece também um potencial considerável para permitir uma melhor identificação de subgrupos de pacientes que podem estar em risco de recorrência de cancro para justificar o tratamento sistémico (Wheeler, Maitland, Dolan, Cox, & Ratain, 2012). É importante compreender que o marcador farmacogenómico não pode

garantir que um doente experimente ou não uma reação adversa a um fármaco, mas pode notificar um médico sobre potenciais complicações e ajudar a tomar uma decisão mais informada sobre a melhor terapêutica a prescrever (Shaw, Amstutz, & Carleton, 2011). Ao compreender como esta informação genética deve ser utilizada na prática clínica, os fatores que necessitam de ser considerados são a disponibilidade de fármacos alternativos igualmente eficazes, a gravidade e as implicações das reações adversas a medicamentos e os riscos associados à alteração de um regime terapêutico que tenha demonstrado ser efetivo (Shaw *et al.*, 2011).

### 3.3 Melhor Seguimento dos Doentes

Uma das áreas mais promissoras em que a farmacogenómica pode ser aplicada é no desenvolvimento de fármacos antitumorais e em ensaios clínicos em estadios iniciais. Um exemplo desta aplicação é a genotipagem seletiva para alcançar um maior sucesso no tratamento em ensaios clínicos. Desta forma, é possível melhorar significativamente a eficácia de agentes quimioterapêuticos ao permitir a seleção racional de agentes de quimioterapia e otimização de regimes de dosagem para pacientes com cancro de forma personalizada e individualizada (Want, 2010). As opções terapêuticas para doentes com cancro da mama têm vindo a aumentar significativamente no séc. XXI, com esforços cada vez maiores no desenvolvimento de opções de seleção, diagnóstico e principalmente para garantir um tratamento mais eficiente (Lukong, 2017).

Não há uma forma simples de determinar como um paciente vai reagir a uma determinada medicação, por isso, a indústria farmacêutica estava limitada ao desenvolvimento de fármacos utilizando o sistema “one size fits all” (T P. Aneesh, 2009). Este sistema não se integra na realidade de hoje em dia, pois o que é necessário é entender o mecanismo das reações adversas a um determinado fármaco antes de estas acontecerem. No presente, existem testes que permitem individualizar tratamentos tomando uma decisão informada sobre se os benefícios da quimioterapia superam os riscos, bem como a probabilidade da recorrência do cancro da mama e a sobrevivência dos doentes dentro de dez anos de diagnóstico (Lukong, 2017). A solução está na farmacogenómica que fará com que o clínico tenha conhecimento prévio do perfil genético do doente e com esta informação ser possível prever a segurança, toxicidade e/ou eficácia dos fármacos nos diferentes doentes (Want, 2010). Várias outras estratégias terapêuticas estão a ser exploradas como a utilização de exossomas como potenciais transportadores de fármacos para as células tumorais ou de cadeias de RNA não codificante (Lukong, 2017).

No passado, a maioria dos fármacos foi projetada ao nível da população, mas para nos focarmos no melhor seguimento dos doentes é necessário um tratamento individualizado e a farmacogenómica tem como objetivo focar no tratamento com fármacos mais eficazes e menos tóxicos (Want, 2010). A integração de testes farmacogenómicos de rotina na prática clínica dependerá não só da aceitação do clínico, mas também da aceitação e compreensão dos doentes em relação aos riscos e benefícios (Patel, 2016).

## 4. Conclusão

O cancro da mama é uma das principais causas de morbilidade e mortalidade nos países desenvolvidos e por isso, a deteção precoce do cancro da mama é um dos indicadores de prognóstico mais importantes para a obtenção de um tratamento mais eficaz. O tratamento do cancro da mama está cada vez mais centrado na terapêutica individualizada, pois é evidente a conexão entre as características individuais do doente e o respetivo tumor.

A farmacogenómica tem vindo a ser implementada globalmente trazendo vários benefícios aos tratamentos de diversas patologias e contribuindo para uma mudança na saúde em geral. Um dos exemplos está relacionado com o anticorpo monoclonal, trastuzumab, que mudou o prognóstico da doença metastática HER2-positivo com um benefício de sobrevivência significativo.

Com a farmacogenómica e a medicina personalizada torna-se possível aumentar a eficácia e reduzir os riscos decorrentes da utilização de diferentes fármacos. Além disso, a farmacogenómica pode ser aplicada na investigação e desenvolvimento de novos fármacos para melhorar a probabilidade de sucesso de um potencial fármaco e reduzir substancialmente os custos globais e o tempo do seu desenvolvimento. Embora o benefício da informação genética seja evidente, o impacto global destes avanços junto dos doentes é ainda algo limitado. Apesar do aumento, até à data a introdução de informação relacionada com a farmacogenómica nos documentos que acompanham o medicamento, como o resumo das características do medicamento (RCM) ainda não é expressiva. Após a sequenciação do genoma humano, tem-se observado um aumento do estudo de novos genes e do desenvolvimento de novos fármacos, nomeadamente para o tratamento do cancro dirigidos a alvos específicos. A investigação na área da farmacogenómica sobre fármacos antitumorais é um campo de pesquisa ativo que tem demonstrado potencial para reduzir a toxicidade e melhorar a eficácia da terapêutica neoadjuvante. No futuro a aplicação prática da farmacogenómica irá aumentar, pois grandes avanços foram e estão a ser realizados para melhorar o diagnóstico e o tratamento dos doentes com cancro da mama. É fundamental educar todos os profissionais de saúde sobre o papel e a importância da farmacogenómica. É muito importante que os clínicos possam requisitar ou realizar testes genéticos e interpretá-los de forma a aplicar essa informação em prol do bem-estar do doente.

Com esta dissertação pretendeu-se evidenciar a importância da farmacogenómica em geral e mostrar os avanços e esforços que estão a ser realizados nesta área com constante evolução e em particular no cancro da mama.

## 5. Bibliografia

- Adamo, B., Rita Ricciardi, G. R., Ieni, A., Franchina, T., Fazzari, C., Sano, M. V., *et al* (2017). The prognostic significance of combined androgen receptor, E-Cadherin, Ki67 and CK5/6 expression in patients with triple negative breast cancer. *Oncotarget*, 8(44), 76974–76986.
- Ahmed, S., Sami, A., & Xiang, J. (2015). HER2-directed therapy: current treatment options for HER2-positive breast cancer. *Breast Cancer*, 22(2), 101–116.
- Akram, M., Iqbal, M., Daniyal, M., & Khan, A. U. (2017). Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biological Research*, 50(1), 33.
- Al Troudy El Troudi, M., Duque, L. V., Duque Ortiz, J. D., Angulo, B., Portilla, J., & Ramirez Daza, D. J. (2017). Mastectomía radical con reconstrucción inmediata en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, período junio 2012-abril 2015. *Revista Chilena de Cirugia*, 69(3), 234–246.
- Anampa, J., Makower, D., & Sparano, J. A. (2015). Progress in adjuvant chemotherapy for breast cancer : an overview. *BMC Medicine*, 1–13.
- Armstrong, K. (2014). The Role of Testing for BRCA1 and BRCA2 Mutations in Cancer Prevention. *JAMA Intern Med*, 174(7), 1023–1024.
- Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K.-W. (2012). Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9(3), 193–199.
- Chambliss, A. B., & Chan, D. W. (2016). Precision medicine: from pharmacogenomics to pharmacoproteomics. *Clinical Proteomics*, 13(1), 25.
- Chang, M. (2012). Tamoxifen resistance in breast cancer. *Biomolecules & Therapeutics*, 20(3), 256–67.
- Chumsri, S., Howes, T., Boa, T., Sabnis, G., & Brodie, A. (2012). Aromatase, Aromatase Inhibitors, and Breast Cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 125(410), 13–22.
- Ciruelos, E., Pascual, T., Arroyo Vozmediano, M. L., Blanco, M., Manso, L., Parrilla,

- L., *et al* (2014). The therapeutic role of fulvestrant in the management of patients with hormone receptor-positive breast cancer. *The Breast*, 23(3), 201–208.
- Cui, C., Shu, W., & Li, P. (2016). Fluorescence In situ Hybridization: Cell-Based Genetic Diagnostic and Research Applications. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4(September), 1–11.
- Dai, X., Xiang, L., Li, T., & Bai, Z. (2016). Cancer hallmarks, biomarkers and breast cancer molecular subtypes. *Journal of Cancer*, 7(10), 1281–1294.
- Darb-esfahani, S., Denkert, C., Stenzinger, A., Salat, C., Sinn, B., Schem, C., *et al* (2016). Role of TP53 mutations in triple negative and HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant anthracycline / taxane- based chemotherapy. *Oncotarget*, 7(42).
- Davis, N. M., Sokolosky, M., Stadelman, K., Abrams, S. L., Libra, M., Candido, S., *et al* (2014). Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: possibilities for therapeutic intervention. *Oncotarget*, 5(13), 4603–4650.
- Finn, R. S., Martin, M., Rugo, H. S., Jones, S., Im, S.-A., Gelmon, K., *et al* (2016). Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 375(20), 1925–1936.
- García-Caballero, T., Grabau, D., Green, A. R., Gregory, J., Schad, A., Kohlwes, E., *et al* (2010). Determination of HER2 amplification in primary breast cancer using dual-colour chromogenic in situ hybridization is comparable to fluorescence in situ hybridization: A European multicentre study involving 168 specimens. *Histopathology*, 56(4), 472–480.
- Gasparini, P., Fassan, M., Cascione, L., Guler, G., Balci, S., Irkkan, C., *et al* (2014). Androgen receptor status is a prognostic marker in non-basal triple negative breast cancers and determines novel therapeutic options. *PLoS ONE*, 9(2), 1–10.
- Giuliano, A. E. (2011). Axillary Dissection vs No Axillary Dissection in Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis. *Jama*, 305(6), 569.
- Goossens, N., Nakagawa, S., Sun, X., Hoshida, Y., Program, L. C., & Cancer, T. (2015). *HHS Public Access*, 4(3), 256–269.

- Ha, N. H., Faraji, F., & Hunter, K. W. (2013). Mechanisms of metastasis. *Cancer Targeted Drug Delivery: An Elusive Dream*, 435–458.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674.
- Iqbal, N., & Iqbal, N. (2014). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Molecular Biology International*, 2014, 1–9.
- Jorgenson, E. (2009). *Pharmacogenetics and Pharmacogenomics (Lecture 8)*, 345–347.
- Karki, R., Pandya, D., Elston, R. C., & Ferlini, C. (2015). Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics. *BMC Medical Genomics*, 8(1), 37.
- Kathleen M. Giacomini, Sook Wah Yee, Mark J. Ratain, Richard M. Weinshilboum, Naoyuki Kamatani, Y. N. (2012). *Pharmacogenomics and Patient Care: One Size Does Not Fit All*. *Sci Transl Med*, 4(153), 153.
- Kazarian, A., Blyuss, O., Metodieva, G., Gentry-Maharaj, A., Ryan, A., Kiseleva, E. M., *et al* (2017). Testing breast cancer serum biomarkers for early detection and prognosis in pre-diagnosis samples. *British Journal of Cancer*, 116(4), 501–508.
- Kitzmiller, J. P., Groen, D. K., Phelps, M. A., & Sadee, W. (2011). Pharmacogenomic testing: Relevance in medical practice: Why drugs work in some patients but not in others. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 78(4), 243–257.
- Koutsogiannouli, E., Papavassiliou, A. G., & Papanikolaou, N. a. (2013). Complexity in cancer biology: is systems biology the answer? *Cancer Medicine*, 2(2), 164–77. <https://doi.org/10.1002/cam4.62>
- Krakhmal, N. V., Zavyalova, M. V., Denisov, E. V., Vtorushin, S. V., & Perelmuter, V. M. (2015). Cancer invasion: Patterns and mechanisms. *Acta Naturae*, 7(2), 17–28.
- Kreidieh, F. Y. (2016). Overview, prevention and management of chemotherapy extravasation. *World Journal of Clinical Oncology*, 7(1), 87.
- Lakhtakia, R. (2014). A brief history of breast cancer: Part I: Surgical domination reinvented. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 14(2), 166–169.



- Lee, E. Y. H. P., & Muller, W. J. (2010). Oncogenes and tumor suppressor genes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(10), 1–18.
- Lin, R., & Tripuraneni, P. (2011). Radiation Therapy in Early-Stage Invasive Breast Cancer. *Indian Journal of Surgical Oncology*, 2(2), 101–111.
- Ling, H., Hu, X., Xu, X. L., Liu, Z. Bin, & Shao, Z. M. (2013). Patients with Nipple-Areola Paget's Disease and Underlying Invasive Breast Carcinoma Have Very Poor Survival: A Matched Cohort Study. *PLoS ONE*, 8(4), 2–6.
- Løberg, M., Lousdal, M. L., Bretthauer, M., & Kalager, M. (2015). Benefits and harms of mammography screening. *Breast Cancer Research*, 17(1), 1–12.
- Loughran, C. F., & Keeling, C. R. (2011). Seeding of tumour cells following breast biopsy: a literature review. *The British Journal of Radiology*, 84(1006), 869–74.
- Lu, J. (2015). Palbociclib: a first-in-class CDK4/CDK6 inhibitor for the treatment of hormone-receptor positive advanced breast cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, 8(1), 98.
- Lukong, K. E. (2017). Understanding breast cancer – The long and winding road. *BBA Clinical*, 7, 64–77.
- Luque-Cabal, M., García-Tejido, P., Fernández-Pérez, Y., Sánchez-Lorenzo, L., & Palacio-Vázquez, I. (2016). Mechanisms behind the resistance to trastuzumab in HER2-amplified breast cancer and strategies to overcome It. *Clinical Medicine Insights: Oncology*, 10, 21–30.
- Mathenge, E. G., Dean, C. A., Clements, D., Vaghar-Kashani, A., Photopoulos, S., Coyle, K. M., *et al* (2014). Core Needle Biopsy of Breast Cancer Tumors Increases Distant Metastases in a Mouse Model. *Neoplasia*, 16(11), 950–960.
- McDonald, E. S., Clark, A. S., Tchou, J., Zhang, P., & Freedman, G. M. (2016). Clinical Diagnosis and Management of Breast Cancer. *Journal of Nuclear Medicine*, 57(Supplement\_1), 9S–16S.
- Mehrgou, A., & Akouchekian, M. (2016). The importance of BRCA1 and BRCA2 genes mutations in breast cancer development. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran (MJIRI)*, 1–12.

- Merrill, A. L. (2016). Clinical Decisions Ductal Carcinoma In Situ Recommend Watchful Waiting with Close Observation Recommend Lumpectomy with or without Radiation, 390–392.
- Metzger, I. F., Souza-Costa, D. C., & Tanus-Santos, J. E. (2006). Farmacogenética: Princípios, aplicações e perspectivas. *Medicina*, 39(4), 515–521.
- Michaels, A. Y., Keraliya, A. R., Tirumani, S. H., Shinagare, A. B., & Ramaiya, N. H. (2016). Systemic treatment in breast cancer: a primer for radiologists. *Insights into Imaging*, 7(1), 131–144.
- Mishra, A., & Verma, M. (2010). Cancer Biomarkers: Are We Ready for the Prime Time?. 190–208.
- Nahed, A. S., & Shaimaa, M. Y. (2016). Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer molecular subtype. *Cancer Biology & Medicine*, 13(4), 496.
- Nayak, D., Roth, T. L., & McGavern, D. B. (2014). *HHS Public Access*, 526(2), 367–402.
- Noel Pérez Pérez. (2015), (March).
- Opdam, F. L., Guchelaar, H. J., Beijnen, J. H., Schellens, J. H., F.L., O., H.-J., G., *et al* (2012). Lapatinib for advanced or metastatic breast cancer. *The Oncologist*, 17(4), 536–542.
- Pan, Y., Yuan, Y., Liu, G., & Wei, Y. (2017). P53 and Ki-67 as prognostic markers in triplenegative breast cancer patients. *PLoS ONE*, 12(2), 1–13.
- Patel, J. N. (2016). Cancer pharmacogenomics, challenges in implementation, and patient-focused perspectives. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 9, 65–77.
- Pattern, C. M. (2008). *Oncologist*, (7), 1276–1284.
- Piper, M., Peled, A. W., & Sbitany, H. (2015). Oncoplastic breast surgery : current strategies, 4(2), 154–163.
- Poland, G. A., Ovsyannikova, I. G., & Jacobson, R. M. (2009). Application of pharmacogenomics to vaccines. *Pharmacogenomics*, 10(5), 837–852.

- Rev, O. (2015). HHS Public Access, 14(11), 871–882.
- Reya, T., Morrison, S. J., Clarke, M. F., & Weissman, I. L. (2001). Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414(6859), 105–11.
- Roveda Junior, D., Piato, S., Oliveira, V. M. De, Rinaldi, J. F., Ferreira, C. A. P., & Fleury, E. D. C. F. (2007). Valores preditivos das categorias 3, 4 e 5 do sistema BI-RADS em lesões mamárias nodulares não-palpáveis avaliadas por mamografia, ultra-sonografia e ressonância magnética. *Radiologia Brasileira*, 40(2), 93–98.
- Saldivar, J.-S., Taylor, D., Sugarman, E., Cullors, A., Garces, J., Oades, K., & Centeno, J. (2016). Initial assessment of the benefits of implementing pharmacogenetics into the medical management of patients in a long-term care facility. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 9, 1.
- Sanish. (2014). Pharmacogenomics and drug discovery and development. *Indian Journal of Human Genetics*, 20(5), S22–S23.
- Schneider, R., Barakat, A., Pippen, J., & Osborne, C. (2011). Aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer in post-menopausal female patients: an update. *Breast Cancer (Dove Medical Press)*, 3, 113–25.
- Schramm, A., De Gregorio, N., Widschwendter, P., Fink, V., & Huober, J. (2015). Targeted Therapies in HER2-Positive Breast Cancer - A Systematic Review. *Breast Care*, 10(3), 173–178.
- Schuck, R. N., & Grillo, J. A. (2016). Pharmacogenomic Biomarkers: an FDA Perspective on Utilization in Biological Product Labeling. *The AAPS Journal*, 18(3), 573–577.
- Scott, S. a. (2012). NIH Public Access. *Genetics*, 13(12), 987–995.
- Shah, R. (2014). Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(3), 283.
- Shao, Y., Sun, X., He, Y., Liu, C., & Liu, H. (2015). Elevated levels of serum tumor markers CEA and CA15-3 are prognostic parameters for different molecular subtypes of breast cancer. *PLoS ONE*, 10(7), 1–11.
- Shaw, K., Amstutz, U., & Carleton, B. C. (2011). Using pharmacogenetics to

- understand adverse drug reactions in children. *Paediatrics and Child Health*, 16(9), 537–538.
- Sledge, G. W., Mamounas, E. P., Hortobagyi, G. N., & Burstein, H. J. (2014). Past , Present , and Future Challenges in Breast Cancer Treatment. *J Clin Oncol*, 32(19), 1979–86.
- Soerjomataram, I., Louwman, M. W. J., Ribot, J. G., Roukema, J. A., & Coebergh, J. W. W. (2008). An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 107(3), 309–330.
- Strimbu, K., & Tavel, J. a. (2011). What are Biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*, 5(6), 463–466.
- Sudhakar, A. (2009). History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 1(2), i–iv.
- T P, A. (2009). Pharmacogenomics: The Right Drug to the Right Person. *Journal of Clinical Medicine Research*, 1(4), 191–194.
- Ventola, C. L. (2011). Pharmacogenomics in Clinical Practice Reality and Expectations, 36(7).
- Want, P. (2010). *O ncologist*, 15(suppl 1), 11–12.
- Weigel, M. T., & Dowsett, M. (2010). Current and emerging biomarkers in breast cancer: Prognosis and prediction. *Endocrine-Related Cancer*, 17(4).
- Wheeler, H. E., Maitland, M. L., Dolan, M. E., Cox, N. J., & Ratain, M. J. (2012). Cancer pharmacogenomics: strategies and challenges. *Nature Reviews Genetics*, 14(1), 23–34.
- Yadav, B. S., Chanana, P., & Jhamb, S. (2015). *World Journal of Clinical Oncology* © 2015, 252–264.
- Zaha, D. C. (2014). Significance of immunohistochemistry in breast cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(3), 382.