



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Faculdade de Medicina da Bahia
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



**ESTUDO DA VIA DE SINALIZAÇÃO SONIC HEDGEHOG EM
CARCINOMAS DE MAMA**

UMA REVISÃO

Alice Karoline de Oliveira

Salvador (Bahia), 2013

SIBI/Bibliotheca Gonçalo Moniz: Memória da Saúde Brasileira

Oliveira, Alice Karoline de
O48 Estudo da via de sinalização sonic hedgehog em carcinomas de mama: uma revisão /
Alice Karoline de Oliveira. Salvador : 2013.

41 p.: il.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Abensur Athanazio..
Monografia (Conclusão de Curso) Universidade Federal da Bahia, Faculdade
de Medicina da Bahia, Salvador, 2013.

1. Neoplasias - mamas. 2. Proteína Hedgehog. 3. Oncogenes I. Athanazio, Daniel Abensur II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da Bahia. III. Título.

CDU - 618.19-006



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Faculdade de Medicina da Bahia
Fundada em 18 de fevereiro de 1808



ESTUDO DA VIA DE SINALIZAÇÃO SONIC HEDGEHOG EM CARCINOMAS DE MAMA

UMA REVISÃO

Alice Karoline de Oliveira

Professor orientador: Daniel Abensur Athanzio

Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-B60, como pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina.

Salvador (Bahia), 2013

Monografia: *Estudo da via de sinalização Sonic Hedgehog em Carcinomas da mama*, de Alice Karoline de Oliveira

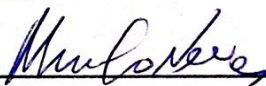
Professor orientador: **Daniel Abensur Athanazio**

COMISSÃO REVISORA

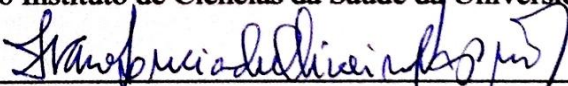
- **Daniel Abensur Athanazio** (Presidente), Professor Adjunto do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

Assinatura: 

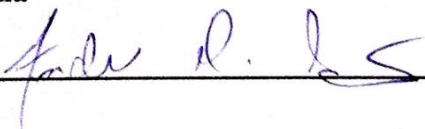
- **Murilo Pedreira Neves Junior**, Professor Adjunto do Departamento de Medicina Interna e de Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

Assinatura: 

- **Ivana Lúcia de Oliveira Nascimento**, Professor Associado do Departamento de Biointeração do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia

Assinatura: 

- **André Rodrigues Duraes**, Doutorando do Curso de Doutorado do Programa de Pós graduação em Medicina e Saúde da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia

Assinatura: 

Membro suplente

- **Marilda de Souza Gonçalves**, Professor Adjunto IV do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia

TERMO DE REGISTRO ACADÊMICO: Monografia avaliada pela Comissão Revisora, e julgada apta à apresentação pública no IV Seminário Estudantil de Pesquisa da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA, com posterior homologação do conceito final pela coordenação do Núcleo de Formação Científica e de MED-B60 (Monografia IV).
Salvador (Bahia), em ___ de _____ de 2013.

Dedico esta monografia à minha família, responsável por tudo que sou hoje. Ao meu pai, Júlio, por ter acreditado em mim e pelo excelente exemplo que me foi dado durante toda a vida; à minha mãe, Eliane, pelo carinho e suporte para a realização de tudo que tenho planejado e à minha irmã, Lorena, pelo estímulo, confiança e amizade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, **Dr. Daniel Athanazio**, pela paciência e por estar sempre disposto a me ajudar.

Ao professor **José Tavares-Neto**, pela solicitude ao esclarecer as dúvidas e dedicação aos alunos da graduação de medicina.

Agradeço às minhas **colegas de turma, Sabrina Figueiredo e Isabella Ferreira**, pelo auxílio em vários momentos da elaboração desta monografia.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	8
ÍNDICE DE QUADROS E FIGURAS.....	8
1 RESUMO	9
2 INTRODUÇÃO	10
3 JUSTIFICATIVA	12
4 OBJETIVOS	13
4.1 Geral	13
4.2 Específicos	13
5 METODOLOGIA.....	14
6 RESULTADOS	15
6.1 O câncer de mama	15
6.1.1 Epidemiologia	15
6.1.2 Fatores de Risco	16
6.1.3 Tipos histológicos	18
6.1.4 Fatores prognósticos	19
6.1.5 O câncer de mama triplo negativo	21
6.2 A via Sonic Hedgehog	23
6.3 A via Sonic Hedgehog no câncer de mama	25
6.3.1 Associação da via Sonic Hedgehog com crescimento estrógeno-independente de carcinoma da mama	25
6.3.2 Associação da via Sonic Hedgehog com parâmetros clinico-patológicos do carcinoma da mama.....	28
6.3.3 Modelos <i>in vitro</i> e modelos animais da via Sonic Hedgehog em carcinomas da mama.....	31
6.3.4 Mecanismos de regulação da via Sonic Hedgehog em carcinomas da mama	32
7 DISCUSSÃO	34
8 CONCLUSÃO	36
9 SUMMARY	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Incidência das principais neoplasias malignas no Brasil, por sexo	16
---	----

ÍNDICE DE QUADROS E FIGURAS

Quadro 1. Fatores prognósticos em câncer de mama	20
Figura 1. Via de sinalização da proteína Sonic Hedgehog	24
Figura 2. Possíveis cenários da ativação da via Sonic Hedgehog em carcinomas mamários	26
Figura 3. Via de Sinalização Sonic Hedgehog e parâmetros clínico-patológicos	30

1 RESUMO

De Oliveira, AK. **ESTUDO DA VIA DE SINALIZAÇÃO SONIC HEDGEHOG EM CARCINOMAS DE MAMA**. Salvador; 2013. Monografia do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

A via de sinalização Hedgehog (HH) desempenha papel importante no desenvolvimento embrionário influenciando, de forma autócrina e parácrina: a proliferação, diferenciação e morfologia das células. A ativação desta via tem sido implicada, mais recentemente, na patogênese de vários cânceres. No câncer de mama, a superexpressão de proteínas da via HH está associada a parâmetros clínico-patológicos de mau prognóstico. Enquanto isso, estudos *in vitro* e em modelos animais sugerem a inibição da via HH como potencial terapia, em especial, para as chamadas neoplasias “triplo negativas”, as quais são resistentes a tratamentos de bloqueio hormonal ou imunoterapia dirigida contra o oncogene *her-2/neu*. Este estudo tem por objetivo revisar, de forma sistemática, o tema da ativação da via SHH no câncer de mama buscando responder em especial as seguintes perguntas: 1) qual seu papel no surgimento e progressão do câncer de mama? e 2) a inibição desta via é uma alternativa viável para tratamento de tumores “triplo negativos”?

Palavras-chave: 1.Neoplasias da Mama; 2.Proteínas Hedgehog; 3.Oncogenes; 4.Genes Supressores de Tumor

2 INTRODUÇÃO

O câncer de mama é a neoplasia maligna mais incidente do sexo feminino e a principal causa de morte por neoplasia entre as mulheres, em todo o mundo. Dos cânceres femininos que são diagnosticados a cada ano, 23% são neoplasias malignas primárias da mama e, entre os óbitos por todas as causas, o câncer de mama representa mais de 1,6% das mortes no sexo feminino, o que equivale a, aproximadamente, 411.000 óbitos por ano(1). A maior incidência de câncer de mama ocorre em áreas urbanas das regiões mais desenvolvidas. Em 2008, a OMS contabilizou 715.000 novos casos diagnosticados nestes países (1), o que corresponde a 26,5% do total de cânceres em mulheres. Enquanto foram diagnosticados 577 000 novos casos em países menos desenvolvidos (18,8%). No Brasil, o Ministério da Saúde estimou 52.680 novos casos de carcinoma de mama, em 2012 (2).

Entre os fatores de risco bem estabelecidos para o câncer de mama estão a idade avançada, a história familiar e o histórico hormonal (menarca precoce, menopausa tardia, idade tardia da primeira gestação), incluindo o uso de hormônios exógenos (3).

O câncer de mama não é uma entidade única; ele representa um amplo espectro de neoplasias malignas que têm características histopatológicas diferentes, variabilidade genômica e, a partir disso, comportamento e prognóstico distintos. O tipo mais incidente é o carcinoma ductal invasivo ordinário (ou NOS, *not otherwise specified*) responsável por mais de 75% de todos os tumores da mama, seguido pelo carcinoma lobular, que corresponde a 5-10% dos tumores malignos da mama(3).

A ativação gênica diferenciada determina a expressão de receptores e biomarcadores que estarão presentes na membrana da célula neoplásica. Os receptores de estrogênio (RE), de progesterona (RP) e o receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2) são biomarcadores já bem conhecidos do câncer de mama: importantes para avaliação prognóstica e individualização do tratamento. Aproximadamente, 80% dos carcinomas mamários expressam RE e/ou RP(4). Existe, porém, um subgrupo de neoplasias malignas da mama que não expressam RE, RP e HER-2, sendo então denominados “triplo negativos” ou Carcinomas Mamários Triplo Negativos (CMTNs), que representam entre 10 e 20% dos carcinomas invasivos da mama (5). Destes, aproximadamente, 75% expressam marcadores basais, sendo

estes os denominados tumores basal-like (6). Estes tumores estão relacionados a um pior prognóstico, devido a ausência de alvo terapêutico (endócrino ou molecular) específico. Por conta disso, estudos recentes têm analisado a importância da sinalização Hedgehog (HH) no câncer de mama.

A via de sinalização HH desempenha um papel importante no desenvolvimento embrionário, através da secreção de proteínas que controlam, autócrina e paracrinamente, a proliferação, diferenciação e morfologia das células. No entanto, a desregulação dessa via tem sido implicada na patogênese de vários cânceres incluindo neoplasias malignas de cólon, pâncreas, próstata, pulmão e esôfago (7, 8).

3 JUSTIFICATIVA

A ativação da via Sonic Hedgehog (SHH) vem sendo associada recentemente com mau prognóstico em diversas neoplasias malignas humanas. Além disso, estudos *in vitro* e em modelo animal sugerem o potencial terapêutico da inibição de alvos moleculares desta via. Enquanto esta associação entre a ativação constitutiva da via e progressão neoplásica é bem documentada para tumores de outros sítios, existe ainda uma literatura restrita sobre o tema em carcinomas invasivos da mama. Este estudo tem por objetivo revisar de forma sistemática o tema da ativação da via SHH no câncer de mama buscando responder em especial as seguintes perguntas: 1) qual seu papel no surgimento e progressão do câncer de mama? e 2) a inibição desta via é uma alternativa viável para tratamento de tumores “triplo negativos”?

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Revisar a literatura científica sobre a associação entre ativação da via SHH e a progressão do carcinoma da mama.

4.2 Específicos

A revisão sistemática da literatura buscará responder as seguintes perguntas:

- 4.2.1.** A ativação da via SHH está associada ao crescimento estrógeno-independentes nos carcinomas da mama?
- 4.2.2.** A ativação da via SHH está associada com pior prognóstico de carcinomas da mama?
- 4.2.3.** Há potencial terapêutico no uso da via SHH como alvo de inibição?

5 METODOLOGIA

Esta revisão bibliográfica consistiu, inicialmente, na busca dos descritores no *Medical Subject Headings (MeSH)* da *U.S. National Library of Medicine (NLM)* (disponível no seguinte endereço eletrônico: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>), seguida da busca dos artigos científicos. Os descritores encontrados no *MeSH* utilizados como palavras-chave foram: “Breast cancer”, “Sonic Hedgehog”, “SHH pathway”, “Basal-like cancer”, “Triple Negative Breast Cancer”, “Neoplasias da mama”, “Proteínas Hedgehog”.

A partir dos descritores encontrados, foram buscados artigos originais e revisões sistemáticas, indexados nos seguintes bancos de dados eletrônicos: PubMed (Public Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), Scielo (Scientific Electronic Library Online) e Lilacs (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde); encontrando-se, no total, 11 artigos. Além disso, foram utilizados livros-texto especializados em câncer de mama.

Foram utilizados artigos em inglês e português. Foram excluídos os estudos publicados nos demais idiomas, mesmo com resumos em língua inglesa. Não foram utilizados como critérios de inclusão: idade e sexo dos pacientes e data de publicação do artigo.

O critério de exclusão utilizado foi para estudos não disponibilizados pelas bases de dados, mesmo quando solicitados via VPN/UFBA (Virtual Private Network – ferramenta de acesso a periódicos e bases de dados do portal de periódico CAPES).

Foi realizada uma combinação dos descritores utilizando-se os operadores “OR” e “AND”. O termo “OR” foi utilizado para combinar sinônimos de um mesmo conceito, enquanto que o termo “AND” foi utilizado para combinar descritores de conceitos diferentes. A busca em Inglês foi feita cruzando as palavras chave “Breast cancer” ou “Basal-like cancer” ou “Triple Negative Breast Cancer” com “Sonic Hedgehog” ou “SHH pathway”. A busca em Português foi feita cruzando as palavras chave “Neoplasias da mama” e “Proteínas Hedgehog”.

6 RESULTADOS

6.1 O câncer de mama

6.1.1 Epidemiologia

Conforme apontado na introdução, o câncer de mama é a neoplasia maligna mais incidente e associada à maior mortalidade em mulheres de todo o mundo (tabela 1)(1). Apesar de o câncer de mama ser mais incidente em países ricos, a maioria das mortes por câncer de mama ocorre em países em desenvolvimento (69% de todas as mortes por câncer de mama)(1). Isso se deve à diferença no acesso ao sistema de saúde com repercussão no diagnóstico precoce e tratamento adequado da doença (9).

A tendência é que a incidência e mortalidade global do câncer de mama aumentem cerca de 50% até 2020. Nos países em desenvolvimento, o aumento de 55% na incidência e de 58% na mortalidade nos próximos anos ocorrerá, principalmente, em decorrência do aumento da expectativa de vida e da alteração nos padrões reprodutivos e comportamentais associados ao risco de câncer de mama (1).

As taxas de incidência da doença variam entre as regiões do Brasil, com a maior incidência ocorrendo na região sudeste. Excluindo os tumores de pele não melanoma, a neoplasia de mama é a mais incidente na região Sudeste, com 73 casos novos por 100.000 mulheres, como também nas regiões Sul (71/100.000), Centro-Oeste (38/100.000) e Nordeste (27/100.000) (2).

TABELA 1. Localização primária de casos novos das principais neoplasias malignas no Brasil, distribuídos sexo dos portadores notificados, durante ano de 2011.

Localização primária ^(*)	Masculino		Feminino	
	Casos novos	%	Casos novos	%
Bexiga	6.210	3,2	-	-
Cavidade oral	9.990	5,1	-	-
Colo do útero	-	-	17.540	9,3
Colón e reto	14.180	7,3	15.960	8,4
Corpo do útero	-	-	4.520	2,4
Esôfago	7.770	4	-	-
Estômago	12.670	6,5	7.420	3,9
Glândula tireóide	-	-	10.590	5,6
Laringe	6.110	3,1	-	-
Linfoma não-Hodgkin	5.190	2,7	4.450	2,4
Mama (feminina)	-	-	52.680	27,9
Ovário	-	-	6.190	3,3
Próstata	60.180	30,8	-	-
Sistema Nervoso Central	4.820	2,5	4.450	2,4
Traquéia, brônquios e pulmão	17.210	8,8	10.110	5,3

^(*) exceto pele não melanoma.

Fonte: Brasil (2011).

6.1.2 Fatores de Risco

A etiologia do câncer de mama é multifatorial, resultado de interação entre fatores genéticos com hábitos de vida, comportamento reprodutivo e meio ambiente.

A idade avançada é um importante fator de risco para o desenvolvimento do câncer de mama (3). Além da idade, os hormônios endógenos estão entre os mais bem estabelecidos fatores de risco. O estradiol tem efeito mitogênico e antiapoptótico sobre as células epiteliais

da mama e a progesterona parece agir em sinergia. A menarca precoce e a menopausa tardia prolongam o tempo de exposição da mama a esses hormônios, aumentando, desta forma, o risco de câncer de mama (3).

Sobrepeso e obesidade ($IMC > 30 \text{ Kg/m}^2$) em mulheres na pós-menopausa, que não fazem uso de terapia de reposição hormonal (TRH), também têm sido associados com um aumento global de, aproximadamente, 50% no risco de câncer de mama. Essa associação também pode ser explicada pela exposição a níveis elevados de esteróides sexuais, produzidos pela aromatização de andrógenos nos tecidos adiposos. Importante salientar que essa associação não foi observada em mulheres na pré-menopausa (3).

Idade precoce na primeira gestação, número elevado de filhos e amamentação prolongada têm sido associadas com fator de proteção para câncer de mama. Em uma meta-análise de estudos de países nórdicos, ficou evidenciado que mulheres que tiveram seu primeiro filho antes dos 20 anos de idade tinham um risco 30% menor de câncer de mama do que aquelas tiveram o primeiro filho após os 35 anos; ainda, as mulheres que tiveram pelo menos uma gravidez a termo têm, em média, uma redução aproximada de 25% no risco de câncer de mama, comparada com as mulheres nulíparas (10).

As mulheres em uso de TRH têm um risco 66% maior de câncer de mama, em comparação às que não fazem uso dessa terapia. Porém, da mesma forma que os contraceptivos orais, o risco desaparece após a cessação do uso (3).

Apesar de a maioria das mulheres (85%) com a doença não terem uma história familiar positiva e, ainda, a maioria das mulheres (85%) com parentes afetados nunca desenvolvem câncer de mama a história familiar é o principal fator de risco. Uma mulher com um familiar de primeiro grau (mãe ou irmã) com a patologia tem, aproximadamente, o dobro do risco de desenvolver câncer de mama em relação a uma mulher sem história familiar da doença (11). Porém, um restrito grupo de mulheres, as que possuem mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, tem uma forte associação com a história familiar da doença e um risco estimado de 45-65% de desenvolver a afecção (12).

Os fatores genéticos que levam ao câncer de mama são decorrentes de erros na duplicação gênica e ocorrem devido à perda de ação de genes supressores ou ativação de proto-oncogenes. Os genes supressores mais importantes, além do *BRCA-1* e *2* são: p53,

ATM, CHEK-2 e PTEN (1). Os genes P53 e PTEN são responsáveis por síndromes multicânceres que incluem o câncer de mama. O primeiro causa a síndrome de Li-Fraumeni caracterizada por sarcomas infantis, câncer de mama precoce e tumores cerebrais; já o segundo foi descrito na síndrome Cowden, caracterizador por câncer de mama hereditário e lesões multicutâneas (13).

Além dos fatores supracitados, sedentarismo, dieta hiperlipídica, consumo de álcool, exposição à radiação ionizante, entre outros, também estão associados a risco elevado de desenvolvimento de câncer mamário.

6.1.3 Tipos histológicos

O câncer de mama não é uma entidade única; ele representa, na realidade, um conjunto de neoplasias malignas que têm características histopatológicas diferentes, variabilidade genômica e, a partir disso, comportamentos e prognósticos distintos. O tipo mais prevalente é o carcinoma ductal invasivo da mama (IDC), responsável por mais de 75% de todos os tumores malignos da mama. Este é um diagnóstico de exclusão e compreende adenocarcinomas que não apresentam características suficientes para justificar a sua classificação em um dos tipos especiais (NOS, *not otherwise specified*). São reconhecidos pela OMS, atualmente, 17 tipos especiais de câncer de mama que, por outro lado, correspondem a, aproximadamente, 25% dos cânceres mamários (3).

O carcinoma lobular invasivo da mama (CLIM) é o segundo tipo histológico mais prevalente (5-10%). De acordo com Li *et al*, a incidência desse tipo histológico está aumentando devido ao aumento do uso de TRH. A TRH foi associada a um aumento do risco de 2 a 4 vezes de desenvolver CLIM, enquanto tem pouco impacto sobre o tipo histológico mais comum, o IDC-NOS (14).

Além das diferenças morfológicas, o CLIM e o IDC-NOS exibem prognósticos e comportamentos biológicos diferentes. Os CLIMs são mais frequentemente associados à

bilateralidade e multicentricidade e melhor prognóstico quando comparados com os IDC-NOS (14).

Com o a inclusão do rastreamento mamográfico na rotina clínica de mulheres acima de 40 anos, a taxa de detecção de neoplasia *in situ* esta cada vez maior e, destas, aproximadamente 50% são carcinomas ductais *in situ* (CDIS). O CDIS é caracterizado por uma proliferação de células malignas no epitélio ductal que estão restritos à membrana basal e sem invasão do parênquima da mama normal. O CDIS engloba um espectro de lesões que variam de baixo grau a alto grau de malignidade e possuem um risco de 8 a 11 vezes maior para o desenvolvimento de carcinoma invasivo em relação a mama normal (15). Apesar de o CDIS não ser considerado como risco de vida, a cirurgia e a radioterapia muitas vezes estão indicados.

6.1.4 Fatores prognósticos

O curso clínico do câncer de mama e a sobrevida variam entre os pacientes e esta variação depende de fatores anatômicos, histológicos e biológicos do tumor. O conhecimento dos fatores prognósticos é de suma importância para instituição da terapêutica mais adequada para cada paciente e para determinar o risco de recorrência da doença.

O Colégio Americano de Patologistas em sua reunião de consenso, em 1999, classificou os fatores prognósticos conforme apresentados no quadro 1 (16).

A presença ou não de metástase para linfonodos axilares é o fator prognóstico mais importante no câncer de mama além de ser o indicador mais relevante de sobrevida livre da doença e sobrevida global (17). Apenas 20% a 30% dos pacientes com linfonodo negativo terá recidiva da doença no prazo de 10 anos; além disso, pacientes com quatro ou mais linfonodos acometidos têm um prognóstico pior do que aqueles com envolvimento de menos de quatro linfonodos (18).

O tamanho do tumor e o grau histológico estão entre os fatores mais importantes. Pacientes com tumores menores de 1,0 cm com linfonodos negativos têm uma sobrevida livre

de doença em 10 anos de 90% (17). Henson et al, 1991, descreveu que pacientes com tumores grau 1 e menor de 2 cm tinham uma sobrevida de 99% em 5 anos (19).

Quanto ao grau histológico, o CDIM, o tipo histológico mais incidente, apresenta normalmente um maior envolvimento linfático e um pior prognóstico quando comparado aos carcinomas menos freqüentes (20). O carcinoma de melhor prognóstico é o carcinoma mucinoso puro; enquanto no outro extremo, encontram-se o carcinoma inflamatório da mama, que é uma forma rara, caracterizado por rápida progressão, metástases locais e distantes e menor sobrevida global.

QUADRO 1. Fatores prognósticos em câncer de mama

Categoria	Fatores prognósticos
Categoria 1	-Estadiamento TNM -Tipo histológico -Grau histológico -Contagem de mitose -Estado de receptores hormonais
Categoria 2	-HER-2 -MIB-1 -Invasão vascular/ linfática -p53 -DNA fração S
Categoria 3	-Ploidia de DNA -Angiogenese tumoral -Receptor para fator de crescimento epidérmico -Fator de crescimento transformador α -BCL-2 -pS2 -Catepsina D

Quadro adaptado do Prognostic Factors in Breast Cancer do Colégio Americano de Patologistas, Fitzgibbons et al. 1999

Os receptores de estrogênio (RE), de progesterona (RP) e o receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER-2) são biomarcadores já bem conhecidos do câncer de mama. Aproximadamente, 80% dos carcinomas mamários expressam RE e/ou RP. Os tumores RP-positivos foram associados a outros indicadores de bom prognóstico como tamanho abaixo de 2 cm e baixo grau histológico; já a expressão de HER-2 foi associada a maior agressividade biológica do tumor (crescimento mais acelerado e maior recidiva) e a resistência a alguns tipos de tratamento. A superexpressão de HER-2 é o alvo molecular para terapias com anticorpos monoclonais, como trastuzumab (3).

Existe ainda um subtipo de câncer mamário que não apresenta RE, RP e HER-2, o chamado Carcinoma Mamário Triplo Negativo. Estes estão relacionados a um pior prognóstico, devido a ausência de alvo terapêutico (endócrino ou molecular) específico.

Outros marcadores tumorais já conhecidos apresentam-se como potenciais fatores prognósticos, como a ciclina D1, o p53 e o bcl-2. A ciclina D1 já está estabelecida como um oncogene importante em alguns cânceres humanos e, no câncer mamário, tem a capacidade de regular a proliferação das células responsivas a estrogênio (21); desta forma, a Ciclina D1 tem se mostrado como um fator prognóstico de melhor resultado, principalmente, entre os tumores RE-positivos (3). Ref trocar por 26 O p53, um gene supressor de tumor, está relacionado com um comportamento tumoral mais agressivo (recidiva ou metástase precoce) e um prognóstico desfavorável. Hou et al, 1996, encontram uma associação entre a expressão do p53 com RE-negativos e grau histológico (22). Por fim, a proteína bcl-2 é um marcador de bom prognóstico e indica uma boa resposta ao tamoxifeno (23).

6.1.5 O câncer de mama triplo negativo

Como já foi descrito acima, o câncer de mama é categorizado em 18 tipos diferentes de acordo com as características histo-morfológicas. Porém, essa classificação é insuficiente para avaliação de prognóstico e de possibilidades específicas de tratamento. Diante disso, Sorlie et al. (2001) descreveram uma nova abordagem para caracterizar tumores mamários

através de características moleculares, agrupando-os com base no perfil de expressão de genes semelhantes. Assim, os subtipos encontrados foram classificados como: luminal A, luminal B, basal-like, positividade para HER-2 e normal-like (24).

Os cânceres de mama que não possuem RE, RP e HER-2 são definidos como Carcinomas Mamários Triplos Negativos (CMTN). OS CMTN representam entre 10 e 20% dos carcinomas invasivos da mama (5). Destes, aproximadamente, 75% expressam marcadores basais, sendo estes os denominados tumores basal-like (25).

Os pacientes com CMTN não se beneficiam da terapia endócrina ou molecular, devido à falta de alvos apropriados para estes fármacos, sendo a quimioterapia citotóxica única modalidade sistêmica disponível (26). Ainda, este fenótipo tumoral está associado a um prognóstico pobre e a características clínicas mais agressivas. Os CMTNs tendem a se desenvolver em idades mais precoces e, em consequência, mais frequentemente em mulheres pré-menopáusicas (27). Ao diagnóstico, os CMTNs são geralmente de elevado grau mitótico, de maior tamanho e expressam marcadores de agressividade tumoral (p53 alto e Bcl-2 baixo) (28). Além disso, verificou-se uma maior taxa de recorrência em 2 anos em comparação aos não-TNBCs (13% vs 7%) (29). A interação desses fatores pode, então, representar uma menor sobrevida global dos pacientes CMTNs quando comparada aos tumores com positivities para os RE, RH e HER-2.

6.2 A via Sonic Hedgehog

O funcionamento da via Hedgehog (HH) foi, inicialmente, descrito em estudos com *Drosophila*, porém grande parte dos componentes desta via são preservados em humanos³⁵. A via Hedgehog (HH) desempenha um papel de destaque no desenvolvimento embrionário de invertebrados e vertebrados, através da secreção de proteínas que controlam autocrina e paracrinamente, a proliferação e diferenciação celular (36). Muitos defeitos embrionários e doenças resultam de mutações nesta via (37), de modo que a regulação temporal e espacial da sinalização SHH é a essencial para a organogênese adequada.

A família HH dos vertebrados é representada, principalmente, por 3 componentes, Desert Hedgehog (DHH), Indian hedgehog (IHH) e Sonic hedgehog (SHH), que são expressos em diferentes fases da ontogenia, em diferentes tecidos e podem ter funções biológicas distintas. Estes se ligam e inativam o receptor transmembrana Patched (PTCH). PTCH é uma proteína transmembrana de doze passagens que, em condições normais, inibe constitutivamente a proteína Smoothed (SMO). Quando o SHH se liga ao PTCH, as interações PTCH-SMO são alteradas de forma que o SMO deixa de ser reprimido, o que leva à ativação de um ou mais membros da família de fatores de transcrição GLI1, GLI2, GLI3. Após essa ativação, as proteínas Gli são translocadas para o núcleo onde irão controlar a transcrição de genes alvo (figura 1). GLI1 representa o principal ativador dos genes- alvos da via SHH; GLI3 atua, principalmente, como repressor; enquanto GLI2 pode exercer ambas funções³⁸. Diante do exposto, podemos caracterizar SHH, SMO e GLI1 como proto-oncogenes enquanto e PTC atua como supressor tumoral, no que se refere ao papel desta via na oncogênese.

As primeiras evidências de envolvimento da via SHH no desenvolvimento de tumores foi demonstrado em Carcinomas Basocelulares (CBC) esporádicos e associados a Síndrome do Carcinoma Basocelular Nevóide (SCBCN)³⁵. Desde então, a mutação da via HH tem sido relacionada com um número crescente de tumores humanos, como câncer de próstata, estômago, sistema nervoso, pulmão, cólon, esôfago e pâncreas⁸. Ainda pouco se sabe sobre o mecanismo pelo qual o ligante HH atua nas células cancerígenas, mas tem sido sugerido que a tem superexpressão de ligante HH também pode exercer papel relevante para a proliferação e sobrevivência do tumor e metástases.

Sabendo-se dessa participação da via SHH no desenvolvimento e progressão tumoral, muitos estudos, atualmente, analisam se o bloqueio desta via pode reduzir a proliferação das células tumorais.

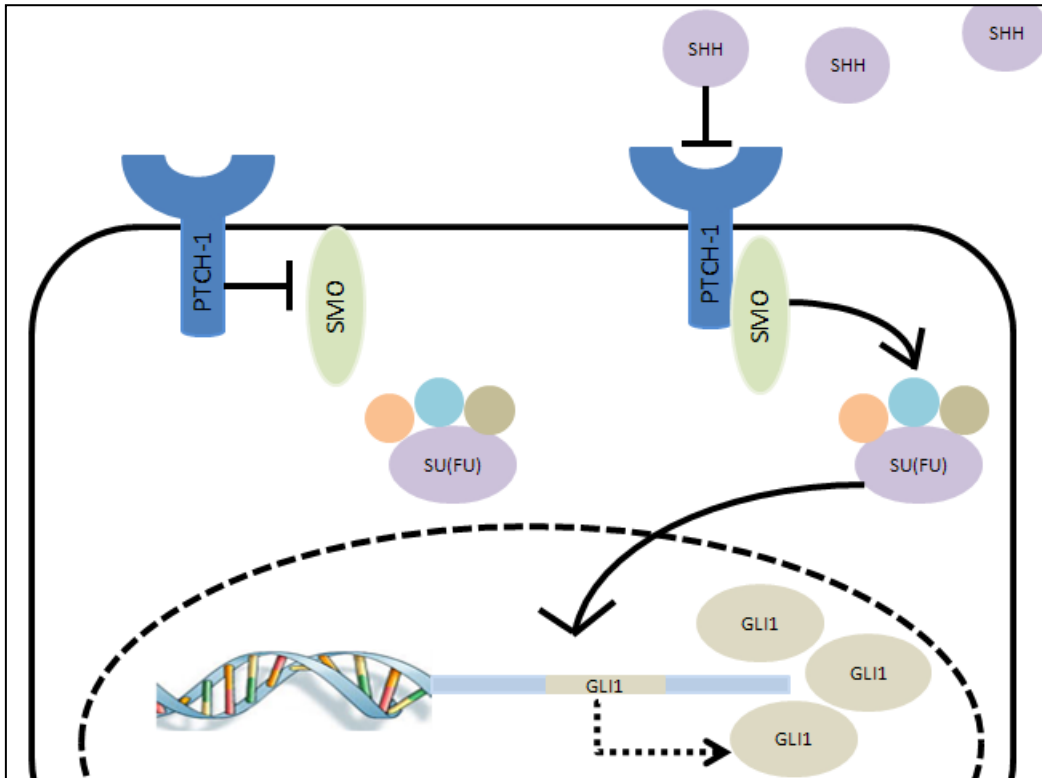


Figura 1. Via de sinalização da proteína Sonic Hedgehog. Funcionamento em células inativas e ativadas.

6.3 A via Sonic Hedgehog no câncer de mama

6.3.1 Associação da via Sonic Hedgehog com crescimento estrógeno-independente de carcinoma da mama

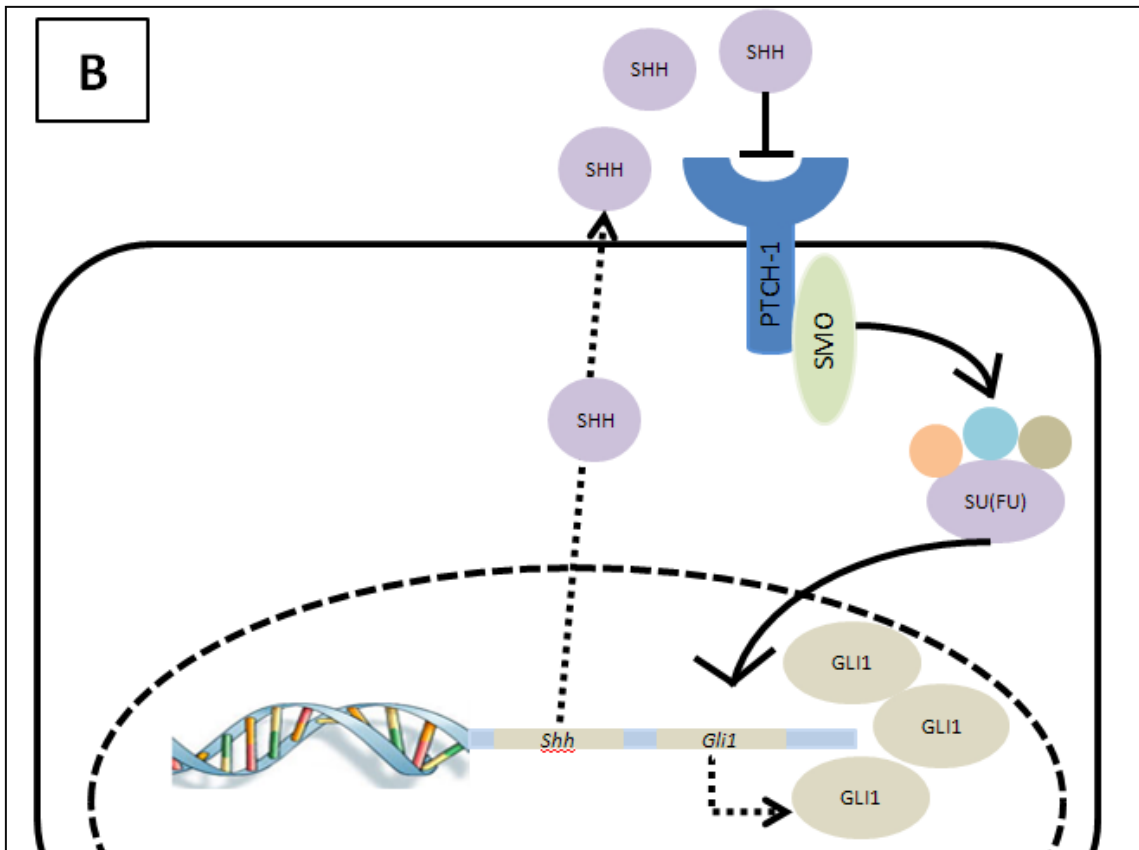
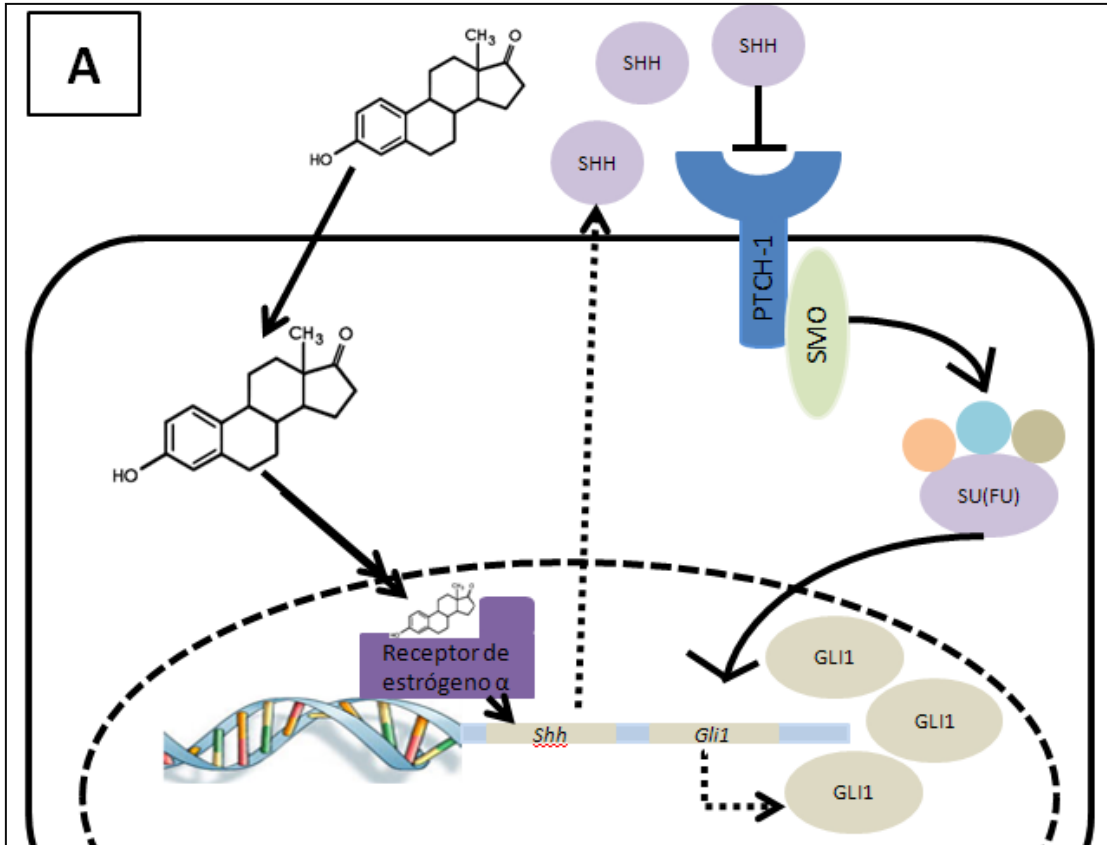
Um das justificativas para o interesse no estudo da via SHH em carcinomas da mama foram às observações iniciais de que ela estava ativada especialmente nos chamados tumores triplo negativos (ou seja, sem expressão de receptores de estrógeno e progesterona, e sem expressão do oncogene HER-2), como foi encontrado numa série de 123 casos; dos quais, 83 eram carcinomas primários da mama, 30 eram hiperplasias mamárias e 10 eram tecidos mamários normais (30). Dessa forma, o conhecimento da via SHH representa uma promessa de terapia guiada para os casos de neoplasias avançadas que não possuem como opção terapêutica o bloqueio hormonal e/ou a terapia com anticorpos monoclonais anti-HER-2.

Em grandes séries de mastectomias, no entanto, esta associação entre ativação da via SHH e fenótipo triplo negativo não é tão clara. Numa série de 292 carcinomas ductais invasivos, observou-se uma frequência menor de tumores que expressam receptores de progesterona entre aqueles com expressão alta do ligante HH: 46/96 (47%) vs 122/183 (61%). Notou-se ainda uma tendência para maior frequência de carcinomas sem expressão de receptores de estrógeno entre aqueles com expressão alta de HH: 58/96 (60%) vs 129/183 (70%). A expressão de HER-2 não diferiu entre carcinomas mamários em função da expressão alta ou baixa de SHH: 17/96 (18%) vs 34/183 (19%) (31). Numa outra série, agora comparando carcinomas invasivos (152 ductais, 14 lobulares e 18 de outras variantes) em função da expressão do fator nuclear GLI1, não se observou diferenças na expressão de receptores de estrógeno, receptores de progesterona e oncogene HER-2 (32). Em outra série incluindo 9 carcinomas intraductais e 75 invasores, também não foram observadas diferenças na expressão de receptores de estrógeno, receptores de progesterona e oncogene HER-2 em função da expressão do ligante HH (33). Um estudo que analisou 52 pacientes pós-ressecção cirúrgica, dos quais 46 eram carcinomas ductais invasivos, encontrou uma associação positiva entre a expressão nuclear de Gli1 e expressão do receptor de estrogênio (34). Koga *et al*, em 2008, sugeriram inclusive que a ativação da via SHH é geralmente desencadeada pela

sinalização via RE. Os autores demonstraram a associação entre expressão gênica de RE e SHH em 14 amostras de carcinomas da mama. Além disso, demonstram que células de linhagens de carcinoma mamário in vitro têm a ativação da via HH dependente da expressão de RE α (35).

De modo interessante, um estudo que avaliou polimorfismos do gene *PTCH* sugeriu uma influencia no risco de câncer de mama atribuível ao uso de estrógenos exógenos. Num primeiro estudo, não foram identificadas mutações nos genes *PTCH*, *SHH* e *SMO* associadas ao carcinoma mamário (36). Posteriormente, um grande estudo de caso-controle incluindo pacientes britânicas e alemãs (total de 1.750 pacientes com carcinoma da mama e 1.057 controles) não demonstrou associação entre polimorfismos do gene *PTCH* com o câncer da mama. No entanto, o polimorfismo Pro1315Leu esteve associado a uma atenuação do risco de câncer de mama nas pacientes que faziam uso de contraceptivos orais. Neste estudo, o *odds ratio* para desenvolvimento de câncer de mama nas pacientes com gene *PTCH* normal (Pro/Pro) foi de 1,7 (IC95%:1,1 a 2,6) naqueles que fizeram uso de contraceptivos orais em comparação com as que nunca usaram. Nas portadoras do polimorfismo Pro1315Leu, a OR foi 1,4 (IC95%: 0,9 a 2,2) para as que usaram contraceptivos orais. Essa diferença foi ainda mais pronunciada no estrato que fez uso por mais tempo (mais de onze anos): OR de 1,9 (IC95%: 1,1 a 3,0) nas portadoras do gene normal (Pro/Pro) e 1,2 (IC95%: 0,8 – 1,9) nas portadoras do polimorfismo Pro1315Leu. Como a alteração de sequência está na região codificante de um domínio regulatório da proteína *PTCH*, os autores sustentam que o polimorfismo pode estar associado a uma menor sensibilidade da *PTCH* aos efeitos do SHH resultando assim em menor ativação celular. Desta forma, o estímulo proliferativo do estrógeno por via da sinalização SHH estaria prejudicado e, assim, isso explicaria a atenuação do risco de carcinoma da mama nestes casos (37).

Os cenários em que pode ocorrer ativação da via SHH associados ou não com crescimento estrógeno-dependente nos carcinomas da mama estão resumidos na figura 2.



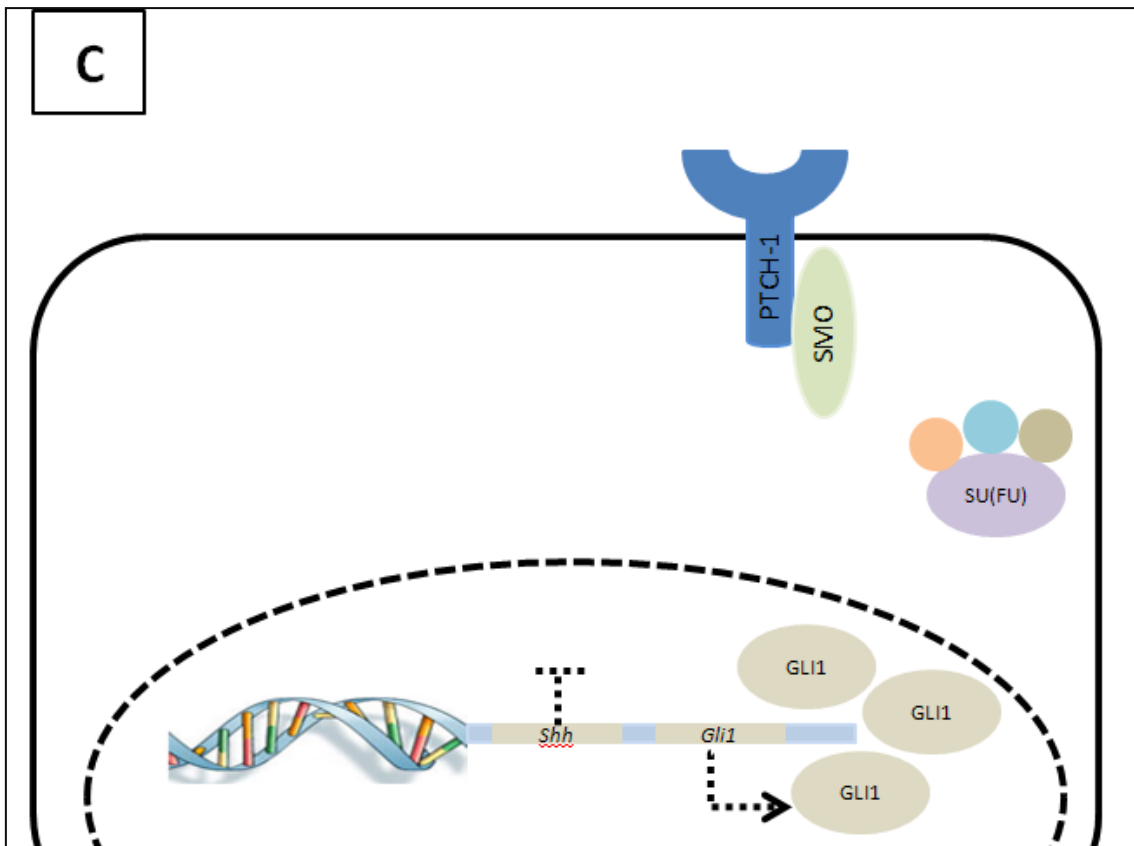


Figura 2. Possíveis cenários da ativação da via Sonic Hedgehog em carcinomas mamários. A) Expressão da proteína SHH e ativação da via como componente da sinalização de crescimento de receptores de estrógeno (ativação da via Sonic Hedgehog como componente de crescimento estrógeno-dependente). B) Expressão constitutiva do gene *Shh* na ausência de sinalização por estrógeno (exemplifica ativação da via Sonic Hedgehog como componente de crescimento estrógeno-independente com mecanismo a montante, *upstream*, à proteína Smoothened). C) Expressão constitutiva do gene do fator de transcrição *Gli-1* na ausência de sinalização por estrógeno (exemplifica ativação da via Sonic Hedgehog como componente de crescimento estrógeno-independente com mecanismo a jusante, *downstream*, à proteína Smoothened).

6.3.2 Associação da via Sonic Hedgehog com parâmetros clínico-patológicos do carcinoma da mama

Nas principais séries de mastectomias, os achados de associação entre a expressão de componentes da via SHH e parâmetros clínico-patológicos são variáveis. Na série de 292 carcinomas ductais invasivos relatada por O'Toole e colaboradores, observou-se que a

marcação citoplasmática do ligante HH pode ser detectada em quase todos os casos (275/279, 98%) sendo que 96/279 (34%) foram consideradas marcações fortes. A forte expressão do ligante HH foi associada à maior frequência de metástases e óbitos específicos por câncer de mama (OR 2,3 IC95%: 1,2 – 3,1). Além disso, alta expressão de HH está associada a tumores com alto grau, tumores maiores (> 2 cm) e com a expressão de marcador de proliferação celular (Ki-67) e outras proteínas expressas durante o ciclo celular: ciclina B1 e clicina E1 (31). Em consonância com esses achados, Tao, 2011, verificou que o SHH e o SMO estavam aumentados em tumores com alto grau histológico (30). A expressão do ligante HH em células estromais não teve associação com nenhum parâmetro clínico-patológico (31). A expressão do receptor PTCH-1 foi observada em 93% dos epitélios neoplásicos e 89% dos estromas dos tumores examinados. A expressão de PTCH-1 em células neoplásicas não teve associação com sobrevida, no entanto, observou-se tendência para maior frequência de óbitos específicos por câncer de mama nos tumores com expressão estromal de PTCH-1. A expressão do fator de transcrição GLI1 foi estudada em sua forma citoplasmática e nuclear, mas apenas a marcação citoplasmática em células estromais teve associação com óbitos específicos por câncer de mama (OR 2,4 IC95%: 1,3 – 4,1). Os autores decidiram identificar uma variável denominada “assinatura parácrina” que demonstravam a ativação da via em células estromais a partir da expressão em células neoplásicas. A assinatura parácrina foi definida como alta expressão de HH no epitélio neoplásico (escore 3) e alta expressão de GLI1 no estroma (>20% das células estromais). Numa análise multivariada, os fatores prognósticos independentes identificados foram metástase nodal, expressão de receptores de progesterona, expressão de HER-2 e a assim denominada assinatura parácrina da via HH. A assinatura parácrina atingiu significância para sobrevida global (OR 1,7 IC95%: 1,0 – 2,8) e apresentou tendência para associação com óbitos específicos por câncer de mama (31). Ainda na mesma série, os autores na análise de diferentes lesões da mama, a alta expressão de SHH progressivamente aumenta nas amostras de ductos normais, hiperplasia ductal, hiperplasia ductal atípica, carcinomas intraductais de baixo grau e carcinomas intraductais de alto grau (31). Estes achados sugerem um papel importante da via SHH nas alterações genéticas que se acumulam durante a carcinogênese mamária.

Numa outra série, estudou-se a expressão de GLI1 em carcinomas invasivos (152 ductais, 14 lobulares e 18 de outras variantes). Tanto a marcação citoplasmática quanto nuclear foi detectada sendo que a nuclear foi mais abundante e esta que foi estratificada para

as análises comparativas com parâmetros clínico-patológicos. Neste estudo, a alta expressão de GLI1 estava associado com metástase nodal, estadiamento avançado e menor sobrevida global (32). Em concordância com esses achados, Tao, 2011 verificou que 8, dos 9 pacientes com metástase para linfonodos (89%) superexpressavam GLI1; em contraste com 3 dos 14 pacientes sem metástase nodal (30).

Achados divergentes foram obtidos numa série incluindo 9 carcinomas intraductais e 75 invasores. Nesta séria, a alta expressão de HH foi observada mais frequentemente em carcinomas *in situ* quando comparados com invasivos, e também mostrou maior associação com neoplasias de estadiamento mais precoce (33).

As principais associações encontradas entre a alta expressão de proteínas da via SHH e principais parâmetros clínico-patológicos de prognóstico nos carcinomas da mama estão resumidos na figura 3.

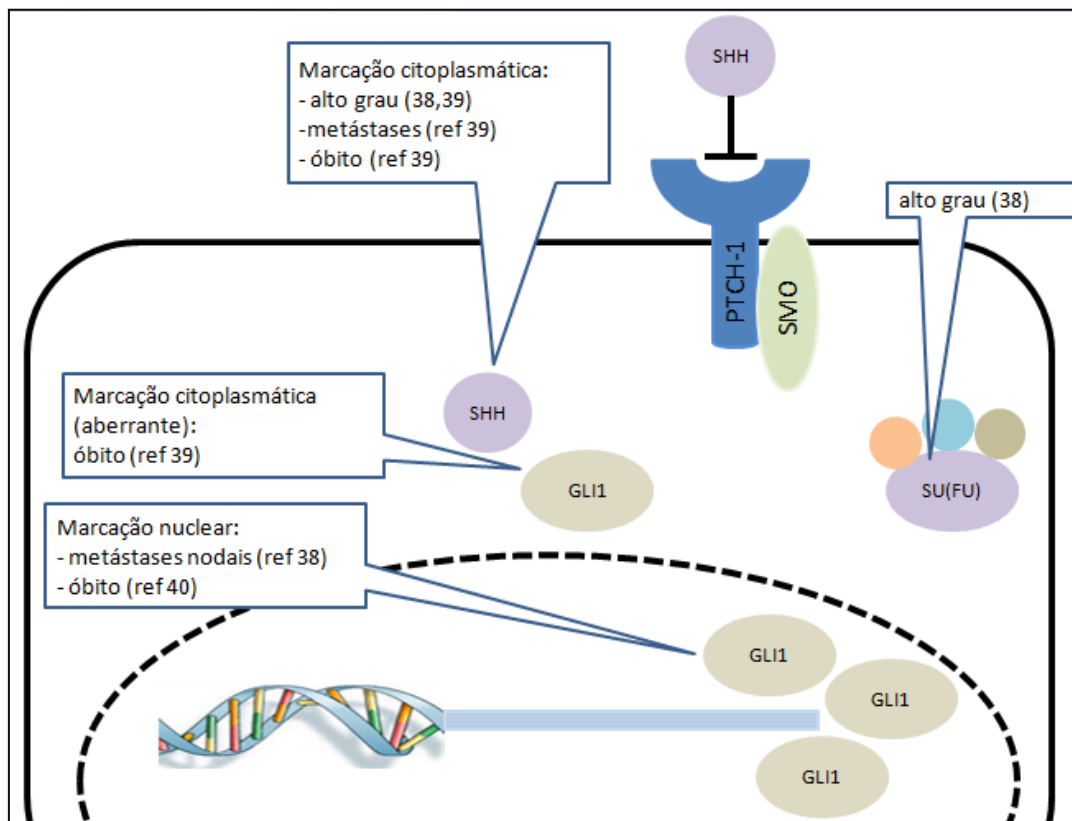


Figura 3. Via de Sinalização Sonic Hedgehog e parâmetros clínico-patológicos. Via de sinalização Sonic Hedgehog com principais associações encontradas na literatura entre alta expressão de proteínas e parâmetros clínico-patológicos em carcinomas da mama.

6.3.3 Modelos *in vitro* e modelos animais da via Sonic Hedgehog em carcinomas da mama

Em uma das grandes séries de mastectomias, os autores expandiram as observações para estudos *in vitro* e em modelos animais com a finalidade de comprovar a ativação da via em linhagens celulares de câncer de mama e testar os efeitos do uso de inibidores disponíveis da via HH. O'Toole e colaboradores usaram a camundongos C3(1)/Tag, que desenvolvem neoplasias de fenótipo basal, e transplantaram uma linhagem de carcinoma da mama (M6) com expressão forçada do gene *Shh* (M6-HH). Os enxertos de M6-HH resultam em tumores maiores, menos diferenciados, mais invasivos, maior contagem mitótica, mais infiltração de linfáticos e com menor sobrevida para os animais. O tratamento com anticorpo monoclonal anti-HH (5E1) foi avaliado em dois modelos murinos. No mesmo modelo M6-HH, o tratamento resultou em tumores menores e maior sobrevida. No modelo 4T1 (de tumores rapidamente metastáticos) em camundongos BALB/c, o tratamento não mudou o tamanho do tumor primário, entretanto, reduziu o tamanho das metástases (31).

Thomas et al (2011), em seu estudo com modelos de carcinomas inflamatórios (IBC), verificou que as linhagens deste grupo, rSUM149 e SUM149, expressavam, respectivamente, 19 e 29 vezes mais GLI1 em relação às células mamárias normais e a expressão de GLI1 foi significativamente mais elevada em comparação com a outras células não-IBC testadas. Os efeitos do bloqueio do GLI1 também foram avaliados através do uso de uma sequência de silenciamento, usando RNA de interferência (siRNA). Dessa forma, foi observada uma diminuição (de 46 a 50%) na proliferação celular em células tratadas com siRNA-GLI1 em comparação com o grupo não tratado. Além disso, a inibição de GLI1 induz apoptose e dificulta a migração de células inflamatórias do câncer de mama (38).

Em 2012, Chen *et al* utilizaram linhagens celulares com resistência a múltiplas drogas (MDR) para avaliar a reversão da MDR através do uso de Norcantharidin (NCTD), visando regulação da via SHH. A MDR é um fator desfavorável causando a falha de tratamentos contra as células cancerosas e um dos mecanismos envolvidos na MDR é o efluxo ativo de agentes quimioterapêuticos através transportadores de membrana. O tratamento com NCTD reverteu a redução do acúmulo intracelular de doxorubicina (DOX) em linhagens celulares resistentes: as proteínas de efluxo de drogas, que estava super-expressas nas linhagens resistentes, foram marcadamente inibidas pelo tratamento NCTD. Na linhagem resistente, o

SHH estava regulado positivamente, diferentemente do que ocorria com a linhagem sensível; porém, após o tratamento com NCTD, a expressão de *Shh* foi significativamente suprimida em ambas as linhagens celulares. Ainda, o estabelecimento de MDR nas células MCF-7 de células pode resultar na supra-regulação da sinalização *Shh* e supra-regulação subsequente de P-gp, porém o tratamento com NCTD poderia reverter a resistência a múltiplas drogas através da supressão desses eventos desfavoráveis moleculares (39).

Kubo et al, 2004, utilizou 4 linhagens de células humanas de carcinoma mamário, para analisar a via Hh como um alvo terapêutico. Todas as quatro linhagens celulares tinham expressões aumentadas de *Shh*, *Ptch1* e *Gli1*. A ciclopamina suprime a proliferação de 3 dessas linhagens, exceto da MCF-7, de uma maneira dose e tempo-dependentes; como também diminui a expressão de *Gli1* citoplasmático e nuclear (34). A via Hh é, portanto, um potencial alvo terapêutico para pacientes com carcinoma da mama.

6.3.4 Mecanismos de regulação da via Sonic Hedgehog em carcinomas da mama

Cui e colaboradores demonstraram que o estado de metilação do promotor do gene *Shh* é um importante fator para regulação de sua expressão. A metilação desta região é observada em 18/61 (30%) dos carcinomas da mama e em 14/15 (93%) das amostras de mama normal estudada. Entre os carcinomas, a metilação do promotor do gene *Shh* foi observada em 19/33 (58%) dos casos com alta expressão de SHH e em apenas 4/28 (14%) dos tumores com baixa expressão de SHH. Além disso, os autores investigaram a metilação do promotor em quatro linhagens de carcinoma mamário e observaram metilação completa em três delas (MDA-MB-231, MDA-MB-435, MCF-10A) e metilação parcial em uma (MCF-7). O uso de 5-Aza, um inibidor da DNA metiltransferase, bloqueia a metilação em culturas in vitro e resultou, neste estudo, em menor metilação do promotor do gene *Shh* e maior produção da proteína SHH pelas células de carcinoma mamário em cultura (33).

6.3.5 Associação da via Sonic Hedgehog com biologia de metástases dos carcinomas da mama

Micrometástases ósseas são cruciais para o prognóstico dos carcinomas da mama (40). A ativação da via SHH é implicada no fenótipo metastático para o osso. Apesar de inicialmente favorecer a maturação de osteoblastos com produção de matriz conjuntiva incluindo as proteínas BSP (sialoproteína do osso) e OPN (osteopontina), os osteoblastos rapidamente entram em apoptose. A OPN é parcialmente regulada pela via HH e representa a proteína não-colágena mais abundante da matriz óssea. Está na interface matriz-células e matriz-matriz sendo que sua presença favorece a maturação e migração de osteoclastos, bem como aumenta sua atividade de reabsorção de matriz mineralizada. A alta expressão de OPN é comumente observada em neoplasias malignas que metastatizam para o osso e aparentemente está relacionada com o fenótipo osteolítico que predomina nas neoplasias metastáticas para o osso (40).

7 DISCUSSÃO

Um dos motivos de interesse numa nova via molecular implicada na patogênese e progressão do câncer de mama é seu potencial uso como alvo terapêutico, em especial para tumores triplo negativos, ou seja, aqueles que não podem ser tratados com as alternativas de bloqueio hormonal ou imunoterapia anti-HER2. No entanto, a relação entre a ativação da via SHH e tumores triplos negativos, conforme sugerido por uma série chinesa de 123 mastectomias (30), não é consistente. Numa série de 292 carcinomas invasivos, a alta expressão de SHH foi observada em alta frequência tanto em tumores com (60%) e sem expressão de receptores de estrógenos (70%) (31). Outras séries de mastectomias não acharam associação entre a ativação da via SHH e o status hormonal ou expressão de HER-2 (32, 33). Uma série de 52 mastectomia inclusive observou uma associação positiva entre a expressão de GLI1 e receptores de estrógenos (34). Outros estudos incluindo amostras de pacientes e mesmo modelos *in vitro* sugeriram que a ativação da via SHH pode ser inclusive um dos efeitos da sinalização/ativação do receptor de estrógeno (35). Essa inversão de expectativa torna menos promissora como alvo terapêutico esta via nos tumores triplo negativos, no entanto, ajuda a compreender interações tais como a influencia de polimorfismos do gene PTCH no risco de câncer de mama atribuível ao uso de contraceptivos orais (37).

Mais consistente é a associação observada em diferentes estudos entre ativação aberrante da via SHH e parâmetros clinico-patológicos de pior prognóstico (figura 3). A série de 292 mastectomias descrita por O'Toole e colaboradores relacionou a alta expressão do ligante HH ao tamanho do tumor, marcadores de proliferação celular, alto grau histológico, presença de metástase e óbitos específicos por carcinoma da mama (31). Mesmo em estudos que não viram a associação entre a via SHH e a expressão de receptores de estrógenos, a expressão de um componente da via (GLI1) foi associado metástase nodal e pior sobrevida (32). Estes dados indicam que a ativação da via SHH é importante para a progressão do carcinoma da mama, independentemente de se sua ativação é mediada ou não por receptores hormonais (ver figura 2).

Estudos *in vitro* e em modelos animais sustentam que a via SHH pode ser bloqueada com resultados promissores para o controle de tumores. Camundongos com tumores M6 com expressão forçada de HH podem ser tratados com anticorpos anti-HH resultando em neoplasias menores e associadas a maior sobrevida. A linhagem 4T1 (rapidamente

metastática) pode reduzir o tamanho das metástases após tratamento com anticorpos anti-HH (31). Nos modelos *in vitro*, tanto o inibidor natural ciclopamina quanto RNA de interferência são capazes de bloquear e via e inibir o crescimento de linhagens de carcinoma mamário (34, 38). Em conjunto, estes dados apontam para o potencial prático de uso da via como alvo terapêutico em Oncologia.

8 CONCLUSÃO

Em conjunto, os dados atuais da literatura não sustentam que ativação da via SHH seja um alvo preferencial para novas terapias específicas para carcinomas mamários triplo negativos. No entanto, grandes séries independentes de mastectomias radicais indicam a associação da via SHH ativada com parâmetros de mau prognóstico. Estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que a inibição terapêutica da via SHH é uma alternativa viável, a médio prazo, para ser incluída às opções terapêuticas das pacientes portadoras de carcinoma da mama.

9 SUMMARY

De Oliveira, AK. **STUDY OF SONIC HEDGEHOG SIGNALING PATHWAY IN BREAST CANCER**. Salvador; 2013. Monograph of course of medicine at the Faculdade de Medicina da Bahia of Universidade Federal da Bahia.

The signaling pathway Hedgehog (HH) plays an important role in embryonic development influencing, in an autocrine and paracrine: proliferation, differentiation and cell morphology. The activation of this pathway has been implicated, more recently, in the pathogenesis of several cancers. In breast cancer, overexpression of HH pathway proteins is associated with clinico-pathological parameters of poor prognosis. Meanwhile, studies in vitro and in animal models suggest the HH pathway inhibition as a potential therapy particularly for neoplasms called "triple negative", which are resistant to blocking of hormonal treatments or immunotherapy directed against the HER-2/neu oncogene. This study aims to systematically review the topic of SHH pathway activation in breast cancer responded particularly seeking the following questions: 1) What is your role in the onset and progression of breast cancer? and 2) inhibition of this pathway is a viable alternative for treating tumors "triple negative"?

Key-words: 1.Breast Neoplasms; 2.Hedgehog Proteins; 3.Oncogenes; 4.Tumor Suppressor Genes

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. World Cancer Report 2008. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2008.
2. INCA. Estimativa 2012 – Incidência de Câncer no Brasil. 2011 2011.
3. Ellis IO, Schnit SJ, Sastre-Garau X, Bussolati G, Tavassoli FA, Eusebi V, et al. Invasive Breast Cancer. 2003. In: Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs [Internet]. Lyon: IARC.
4. Dowsett M, Houghton J, Iden C, Salter J, Farndon J, A'Hern R, et al. Benefit from adjuvant tamoxifen therapy in primary breast cancer patients according oestrogen receptor, progesterone receptor, EGF receptor and HER2 status. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2006 May;17(5):818-26.
5. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2004 Aug 15;10(16):5367-74.
6. Bertucci F, Cervera N, Birnbaum D. A gene signature in breast cancer. *The New England journal of medicine*. 2007 May 3;356(18):1887-8; author reply -8.
7. Ruiz i Altaba A. Hedgehog signaling and the Gli code in stem cells, cancer, and metastases. *Science signaling*. 2011;4(200):pt9.
8. Riobo NA, Lu K, Emerson CP, Jr. Hedgehog signal transduction: signal integration and cross talk in development and cancer. *Cell cycle*. 2006 Aug;5(15):1612-5.
9. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2893-917.
10. Adami HO. Aetiology of breast cancer: towards unifying concepts and primary prevention? *Annales chirurgiae et gynaecologiae*. 1990;79(1):3-5.
11. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast C. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet*. 2001 Oct 27;358(9291):1389-99.

12. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *American journal of human genetics*. 2003 May;72(5):1117-30.
13. Easton DF. How many more breast cancer predisposition genes are there? *Breast cancer research : BCR*. 1999;1(1):14-7.
14. Li CI, Anderson BO, Daling JR, Moe RE. Trends in incidence rates of invasive lobular and ductal breast carcinoma. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2003 Mar 19;289(11):1421-4.
15. Ernster VL, Barclay J, Kerlikowske K, Wilkie H, Ballard-Barbash R. Mortality among women with ductal carcinoma in situ of the breast in the population-based surveillance, epidemiology and end results program. *Archives of internal medicine*. 2000 Apr 10;160(7):953-8.
16. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2000 Jul;124(7):966-78.
17. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW. Survival and prognostic factors in node-negative breast cancer: results of long-term follow-up studies. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*. 1992 (11):159-62.
18. Fisher B. Contributions to the understanding and management of breast cancer. Steiner Award Lecture 1992. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 1993 Sep 9;55(2):179-80.
19. Henson DE, Ries L, Freedman LS, Carriaga M. Relationship among outcome, stage of disease, and histologic grade for 22,616 cases of breast cancer. The basis for a prognostic index. *Cancer*. 1991 Nov 15;68(10):2142-9.
20. Ketterhagen JP, Quackenbush SR, Haushalter RA. Tumor histology as a prognostic determinant in carcinoma of the breast. *Surgery, gynecology & obstetrics*. 1984 Feb;158(2):120-3.
21. Zwijnen RM, Klompaker R, Wientjens EB, Kristel PM, van der Burg B, Michalides RJ. Cyclin D1 triggers autonomous growth of breast cancer cells by governing cell cycle exit. *Molecular and cellular biology*. 1996 Jun;16(6):2554-60.

22. Hou MF, Huang TJ, Huang CJ, Huang YS, Hsieh JS, Lin SJ. Expression of P53 protein and its prognostic significance in breast cancer patients. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 1996 Aug;12(8):471-8.
23. Elledge RM, Green S, Howes L, Clark GM, Berardo M, Allred DC, et al. bcl-2, p53, and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1997 May;15(5):1916-22.
24. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001 Sep 11;98(19):10869-74.
25. Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Esterni B, Hermitte F, Viens P, et al. How basal are triple-negative breast cancers? *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2008 Jul 1;123(1):236-40.
26. Jeong JH, Jung SY, Park IH, Lee KS, Kang HS, Kim SW, et al. Predictive factors of pathologic complete response and clinical tumor progression after preoperative chemotherapy in patients with stage II and III breast cancer. *Investigational new drugs*. 2012 Feb;30(1):408-16.
27. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2006 Jun 7;295(21):2492-502.
28. Foulkes WD, Brunet JS, Stefansson IM, Straume O, Chappuis PO, Begin LR, et al. The prognostic implication of the basal-like (cyclin E high/p27 low/p53+/glomeruloid-microvascular-proliferation+) phenotype of BRCA1-related breast cancer. *Cancer research*. 2004 Feb 1;64(3):830-5.
29. Kaplan HG, Malmgren JA. Impact of triple negative phenotype on breast cancer prognosis. *The breast journal*. 2008 Sep-Oct;14(5):456-63.
30. Tao Y, Mao J, Zhang Q, Li L. Overexpression of Hedgehog signaling molecules and its involvement in triple-negative breast cancer. *Oncology letters*. 2011 Sep 1;2(5):995-1001.
31. O'Toole SA, Machalek DA, Shearer RF, Millar EK, Nair R, Schofield P, et al. Hedgehog overexpression is associated with stromal interactions and predicts for poor outcome in breast cancer. *Cancer research*. 2011 Jun 1;71(11):4002-14.

32. ten Haaf A, Bektas N, von Serenyi S, Losen I, Arweiler EC, Hartmann A, et al. Expression of the glioma-associated oncogene homolog (GLI) 1 in human breast cancer is associated with unfavourable overall survival. *BMC cancer*. 2009;9:298.
33. Cui W, Wang LH, Wen YY, Song M, Li BL, Chen XL, et al. Expression and regulation mechanisms of Sonic Hedgehog in breast cancer. *Cancer science*. 2010 Apr;101(4):927-33.
34. Kubo M, Nakamura M, Tasaki A, Yamanaka N, Nakashima H, Nomura M, et al. Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer. *Cancer research*. 2004 Sep 1;64(17):6071-4.
35. Koga K, Nakamura M, Nakashima H, Akiyoshi T, Kubo M, Sato N, et al. Novel link between estrogen receptor alpha and hedgehog pathway in breast cancer. *Anticancer research*. 2008 Mar-Apr;28(2A):731-40.
36. Vorechovsky I, Benediktsson KP, Toftgard R. The patched/hedgehog/smoothened signalling pathway in human breast cancer: no evidence for H133Y SHH, PTCH and SMO mutations. *European journal of cancer*. 1999 May;35(5):711-3.
37. Chang-Claude J, Dunning A, Schnitzbauer U, Galmbacher P, Tee L, Wjst M, et al. The patched polymorphism Pro1315Leu (C3944T) may modulate the association between use of oral contraceptives and breast cancer risk. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2003 Mar 1;103(6):779-83.
38. Thomas ZI, Gibson W, Sexton JZ, Aird KM, Ingram SM, Aldrich A, et al. Targeting GLI1 expression in human inflammatory breast cancer cells enhances apoptosis and attenuates migration. *British journal of cancer*. 2011 May 10;104(10):1575-86.
39. Chen YJ, Kuo CD, Chen SH, Chen WJ, Huang WC, Chao KS, et al. Small-molecule synthetic compound norcantharidin reverses multi-drug resistance by regulating Sonic hedgehog signaling in human breast cancer cells. *PloS one*. 2012;7(5):e37006.
40. Das S, Samant RS, Shevde LA. The hedgehog pathway conditions the bone microenvironment for osteolytic metastasis of breast cancer. *International journal of breast cancer*. 2012;2012:298623.