

## ***Genética do câncer de mama hereditário***

***Cleidemar Moura Marafon***<sup>1</sup>

### ***Resumo***

O câncer de mama é uma das neoplasias que apresentam crescente ocorrência nos países industrializados e também em países em desenvolvimento, como o Brasil. Estudos clínicos, epidemiológicos e genéticos têm identificado características biológicas e sociais como fatores de risco associados a essa neoplasia. Entre as principais causas da doença está a história familiar, idade, condição socioeconômica, radiação ionizante, e vários outros fatores metabólicos e hormonais, e, mais recentemente, os genes de suscetibilidade denominados BRCA. Esses genes, considerados supressores tumorais, codificam proteínas nucleares que estão relacionadas com várias funções no ciclo celular, e a sua inativação pode conduzir a instabilidade genômica, defeitos no reparo da dupla fita do DNA e, conseqüentemente, favorecer mutações adicionais em outros genes que estão envolvidos com o processo de multiplicação e diferenciação celular. O presente artigo faz uma revisão dos genes de suscetibilidade do câncer de mama BRCA-1 e BRCA-2, fundamentais no entendimento da predisposição genética dessa patologia.

***Palavras chave:*** câncer de mama hereditário; genes BRCA; BRCA.

### ***INTRODUÇÃO***

A evolução de uma célula normal para uma célula maligna envolve processos pelo quais genes envolvidos em mecanismos homeostáticos normais sofrem danos mutacionais, resultando na ativação de genes que estimulam a proliferação celular ou protegem contra a morte celular – os oncogenes, e a inativação de genes que normalmente inibem a proliferação celular – os genes supressores tumorais. Esses genes codificam proteínas cuja função é a regulação do crescimento e diferenciação celular (MICHOR et al., 2005).

O câncer surge como resultado de alterações genéticas que impactam sob a proliferação celular, promovendo a divisão ou inibindo a morte celular. Conseqüentemente, o resultado final desses erros genéticos acumulados são

células capazes de multiplicarem-se sem restrição, invadindo o tecido, e estabelecendo metástases distantes (RIEGER, 2004).

Os genes BRCA envolvidos com o câncer de mama hereditário comportam-se como genes supressores tumorais e, atualmente, são considerados genes “zeladores do genoma” (CIPOLLINI et al., 2004). A inativação de um gene “zelador” não promove a iniciação do tumor diretamente, mas conduz a uma instabilidade genética que resulta no acúmulo de mutações adicionais em vários outros genes. Esses genes “zeladores” incluem proteínas do reparo do DNA, reguladores dos checkpoints do ciclo celular e genes que mantêm a exata segregação dos cromossomos (LEVITT; HICKSON, 2002).

---

<sup>1</sup> Farmacêutica e Bioquímica. Pós-graduanda e professora da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

#### ***Correspondência para / Correspondence to:***

Cleidemar Moura Marafon  
Avenida Nilza de Oliveira Pipino 1438.  
85.440-000. Ubiratã - Paraná - Brasil.  
***E.mail:*** cleide@ubinet.com.br

### **GENES BRCA-1 E BRCA-2**

O primeiro gene para a suscetibilidade do câncer de mama, denominado BRCA-1, foi clonado por Miki e colaboradores (1994) no cromossomo 17 na posição 17q12-21. O gene BRCA-1 tem 24 éxons, dos quais 22 éxons codificam uma proteína com 1863 aminoácidos em humanos (MIKI et al., 1994). O segundo gene foi identificado por Wooster e colaboradores (1994), denominado BRCA-2, localizado no braço longo do cromossomo 13, na posição 13q12-13. O gene BRCA-2 tem 27 éxons e codifica uma proteína de 3418 aminoácidos em humanos (WOOSTER et al., 1994).

Apesar de diferentes nas seqüências e estruturas das proteínas, existem consideráveis evidências de que os genes BRCA têm funções biológicas comuns.

### **GENES BRCA E OS CHECKPOINTS DO CICLO CELULAR**

O câncer pode ser considerado uma doença do ciclo celular, sendo a sua desregulação uma das mais freqüentes alterações durante o desenvolvimento do tumor. A progressão do ciclo celular é extremamente regulada por múltiplos "checkpoints", que avaliam os sinais de crescimento extracelular, o tamanho da célula e a integridade do DNA (PARK; LEE, 2003).

A replicação do DNA, a transcrição, os mecanismos de reparo do DNA e os "checkpoints" do ciclo celular precisam estar sendo mantidos sob constante vigilância, para que ocorram de maneira correta e para que possam promover, juntos, a sobrevivência das células, em seguida aos danos ao DNA que inevitavelmente ocorrem, preservando, assim, a integridade dos cromossomos (LEVIT; HICKSON, 2002). Várias evidências sugerem que o gene BRCA-1 está envolvido no controle do ciclo celular que monitora a integridade física do DNA e coordena a transição do ciclo celular, que é essencial para a manutenção da integridade genômica (DENG, 2006)

Foi demonstrado por Aprelikova e colaboradores. (1999) que o gene BRCA-1 se liga à forma hipofosforilada da proteína RB, na transição da fase G1/S, interrompendo o ciclo celular. Essa proteína é um substrato para os complexos CDKs, ligando-se ao fator E2F e impedindo as células de entrarem na fase S do ciclo celular. As cinases dependentes de ciclinas (CDKs) são reguladores positivos, induzindo a progressão do ciclo celular (PARK; LEE, 2003). Essas cinases regulam a síntese do DNA e a mitose, e sua inatividade contribui para quinescência, diferenciação e envelhecimento celular.

O BRCA-1 pode interagir com a p53. Essa proteína controla o checkpoint G1/S através da ativação da proteína p21 (DENG; BRODIE, 2000). E a super expressão do BRCA-1 pode ativar o inibidor CDKs, denominado p21, que se liga ao complexo ciclinas CDKs, inibindo a atividade dessas cinases dependentes de ciclina, necessária para a transição entre a fase G1 e S do ciclo celular, conduzindo à interrupção da fase G1, o que indica o possível papel do gene BRCA-1 no checkpoint G1, mediado pela p53/p21 (LEVITT; HICKSON, 2002). A ausência do BRCA-1 pode diminuir a expressão do p21 e, conseqüentemente, prejudicar o checkpoint G1/S, conduzindo o DNA danificado para a próxima fase do ciclo celular (DENG, 2006).

O papel do BRCA-1 no checkpoint da fase G2/M do ciclo celular foi avaliado *in vitro* por Xu e colaboradores (1999), através de fibroblastos de camundongos embrionários (MEFs), que carregavam uma deleção homocigota no éxon 11 do gene BRCA-1 (BRCA-1 "11"/11). Os MEFs mutantes mantiveram o checkpoint G1/S intacto, porém, as células mutantes do BRCA-1 demonstraram-se defeituosas no checkpoint G2/M, acompanhadas de extensas aberrações cromossômicas.

Não há evidência de que o gene BRCA-2 participe diretamente na regulação do ciclo celular ou em funções dos checkpoints do ciclo celular. Ainda é prematuro concluir se o gene BRCA-2 está diretamente envolvido na progressão mitótica, visto que, até o momento, o gene

BRCA-2 teve maior envolvimento no reparo do DNA (YOSHIDA; MIKI, 2004).

Outras evidências sugerem que a instabilidade causada pela perda da função BRCA-2 poderia desencadear mutações em outros genes, como o Tp53. Conseqüentemente, disfunções no Tp53 conduziriam para um descontrole nos 'checkpoints' do ciclo celular, induzindo a proliferação descontrolada e o crescimento invasivo das células. Assim, essas observações indicam um papel mais indireto do gene BRCA-2 na regulação do ciclo celular (YOSHIDA; MIKI, 2004).

### ***O PAPEL DOS GENES BRCA NO REPARO DA DUPLA FITA DO DNA***

Quebras na dupla fita do DNA (DSBs) podem surgir espontaneamente, ou serem induzidas por agentes endógenos ou exógenos. Para combater essas ameaças recorrentes de instabilidade genômica, as células possuem duas grandes vias de reparo do DNA: a recombinação homóloga (HR) e a recombinação não homóloga (NHR). Diferentemente da recombinação homóloga, que repara alterações genéticas com um cromossomo homólogo, a NHR envolve simples união com uma seqüência homóloga ou não. O papel dos genes BRCA na recombinação homóloga e reparo do DNA é sugerido pela forte interação bioquímica desses genes com outras proteínas conhecidas por estarem envolvidas nesses processos (MOYNAHAN; CUI; JASIN, 2001).

As primeiras pistas de que os genes BRCA podem ser componentes das vias de respostas dos danos ao DNA vêm da associação deles com a proteína RAD51 humana (SCULLY; CHEN; OCHS, 1997). A RAD51 é conhecida por ser uma proteína homóloga humana à proteína da bactéria *Esherichia coli* – Rec A, uma proteína essencial na *E. coli* em reparar quebras na dupla fita do DNA. Essa proteína interage com os genes BRCA para formar um complexo estável durante a fase S e após danos ao DNA. Várias evidências apontam um papel do gene BRCA-1 na recombinação homóloga (ZHANG et al., 2004).

O modelo experimental desenvolvido por Moynahan, Cui e Jasin (2001) demonstrou que células-tronco embrionárias defectivas do gene BRCA-1, em camundongos, apresentaram reparo defeituoso do DNA por recombinação homóloga. Conseqüentemente, a incapacidade de as células repararem esses danos estimularia a instabilidade genética e, provavelmente, a tumorigênese.

Algumas evidências sugerem a participação do gene BRCA-1 em ambos os processos de recombinação, recombinação homóloga e NHEJ (Recombinação Não Homóloga). O envolvimento do BRCA-1 em ambos os processos é consistente com sua interação com o complexo Rad50/MRE11/NBS1, que é solicitado para os processos de recombinação do Dna (ZHANG et al., 2004).

O gene BRCA-2 é essencial para a recombinação homóloga, aparentemente em conjunção com a Rad51. A interrupção no desenvolvimento em embriões de camundongos deficientes do gene BRCA-2, a sensibilidade à radiação, e a associação com a RAD 51 indicam que o BRCA-2 pode ser um co-fator no reparo da quebra da dupla fita do DNA dependente da proteína Rad 51 (MOYNAHAN; CUI; JASIN, 2001).

Além disso, células deficientes de Rad51 exibem fenótipo similar às células deficientes de BRCA-2, o que fornece evidências genéticas das interações do gene BRCA-2 e Rad51, que são eventos fundamentais para a manutenção da divisão celular e da estrutura dos cromossomos (YOSHIDA; MIKI, 2004).

### ***RELAÇÃO ENTRE O GENE TP53 E OS GENES BRCA***

A proteína p53 é sintetizada a partir do gene TP53, localizado no cromossomo 17, e é conhecida como um fator de transcrição envolvido na apoptose e na interrupção do ciclo celular, mediada por 'checkpoints'. O gene TP53 é um gene supressor tumoral, particularmente importante na regulação da transição da fase G1, impedindo a entrada na fase S do ciclo celular em casos de danos no DNA.

A deficiência do p53 é altamente cooperativa com ambos os genes BRCA na promoção da tumorigênese (MOYNAHAN, 2002). O gene BRCA-1 e a proteína p53 interagem in vitro e in vivo, e o produto do BRCA-1 estimula a atividade transcricional do p53 (ZHANG et al., 1998). Juntos, induzem a apoptose das células cancerígenas. Tumores defectivos na p53 são considerados freqüentemente resistentes à apoptose (XU et al., 2001).

Xu e colaboradores (2001) estudaram o mecanismo entre p53 e BRCA-1, produzindo embriões de camundongos deficientes do gene BRCA-1. A maioria das fêmeas deficientes do BRCA-1 e heterozigotas para o Trp53 (Trp53 +/-) desenvolveu tumores mamários com perda do alelo selvagem entre 6-12 meses. Mutações heterozigotas Trp53 diminuíram os níveis da proteína p53, resultando em atenuada apoptose e no controle do 'checkpoint' G1/S, além de conduzir, segundo os autores, as células mutantes para a proliferação celular.

Houle e colaboradores (2005) avaliaram os efeitos individuais e combinados dos genes BRCA-2 e p53 sobre a proliferação celular e a apoptose, no desenvolvimento da glândula mamária em camundongos portadores de mutações expostos à radiação. As mutações combinadas nesses dois genes foram mais prejudiciais

para o desenvolvimento da carcinogênese mamária do que nas mutações isoladas nos genes BRCA-2 e p53. Confirmando essa interação, McAllister e colaboradores (2006) demonstraram, pelo seu modelo animal, que mutações germinativas BRCA-2 e p53 influenciam cooperativamente na sobrevivência, na suscetibilidade e no desenvolvimento inicial do tumor.

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Nas últimas décadas, os avanços na área da biologia molecular e da genética permitiram o estabelecimento de uma correlação direta entre a presença de mutações germinativas nos genes BRCA e o desenvolvimento de câncer de mama hereditário. Os conhecimentos adquiridos a partir das funções dos genes BRCA nos checkpoints do ciclo celular, na manutenção da integridade genômica, no reparo do DNA, e na evolução do câncer, torna o entendimento genético cada vez mais importante, na geração de subsídios para a formulação de hipóteses que poderão auxiliar, no futuro, os novos modelos de tratamento e as medidas preventivas para indivíduos que desenvolvem essa neoplasia.

## ***Genetics of the breast cancer hereditary***

### ***Abstract***

***The breast cancer is one of the neoplasms that present growing occurrence in the industrialized countries and also in developing countries, like Brazil. Clinical, epidemic and genetic studies have been identifying biological and social characteristics as risk factors associated with this neoplasm. Among the main causes of the disease it is the family history, age, condition economical partner, ionizing radiation, and several other metabolic factors and hormone, and more recently the susceptibility genes denominated BRCA. These genes, considered suppressor tumors, codify nuclear proteins that are related with several functions in the cellular cycle, and inactivate can drive to the instability genome, defects in the DNA double strand break repair, and, consequently, advantage additional mutations in other genes that are involved with the multiplication process and cellular differentiation. The present article makes a revision of the genes of susceptibility of the breast cancer BRCA-1 and BRCA-2, fundamental in the understanding of the genetic predisposition of this pathology.***

***Keywords: Breast cancer hereditary- Genes BRCA; BRCA.***

**REFERÊNCIAS**

- APRELIKOVA, O.N. et al. BRCA1: associated growth arrest is RB-dependent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Washington, DC, v.96, n.21, p.11866-11871, Oct.1999.
- CIPOLIINI, G. et al. Genetic alterations in hereditary breast cancer. *Ann. Oncol.*, London, v.15, p.7-13, 2004. Suppl. 1.
- DENG, C.X. BRCA-1: cell cycle checkpoint, genetic instability, DNA damage response and cancer evolution. *Nucleic Acids Res.*, Oxford, v.34, n.5, p.1416-1426, Mar. 2006.
- DENG, C.X.; BRODIE, S.G. Roles of BRCA1 and its interacting proteins. *Bioessays*, New York, v.22, n.8, p.728-737, 2000.
- HOULE, C.D. Mutant Brca2/p53 mice exhibit altered radiation responses in the developing mammary gland. *Exp Toxicol Pathol.*, Jena, v.57, n.2, p.105-115, Nov.2005.
- LEVITT, N.C.; HICKSON, I.D. Caretaker tumour suppressor genes that defend genome integrity. *Trends Mol. Med.*, Oxford, v.8, n.4, p.179-186, Apr. 2002.
- McALLISTER, K.A. Spontaneous and irradiation-induced tumor susceptibility in BRCA2 germline mutant mice and cooperative effects with a p53 germline mutation. *Toxicol. Pathol.*, Philadelphia, v.34, n.2, p.187-198, 2006.
- MICHOR, F. et al. Can chromosomal instability initiate tumorigenesis? *Semin. Cancer Biol.*, London, v.15, n.1, p.43-49, Feb. 2005.
- MIKI, Y. et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*, Washington, DC, v.266, n.5182, p.66-71, 1994.
- MOYNAHAN, M.E. The cancer connection : BRCA1 and BRCA2 tumor suppression in mice and humans. *Oncogene*, Basingstoke, v.21, n.58, p.8994-9007, Dec.2002.
- MOYNAHAN, M.E.; CUI, T.Y.; JASIN, M. Homology- directed DNA repair, mitomycin- C resistance, and chromosome stability is restored with correction of a Brca-1 mutation. *Cancer Res.*, Baltimore, v.61, p.4842-4850, June 2001.
- PARK, M.T.; LEE, S.J. Cell cycle and cancer. *J. Biochem. Mol. Biol.*, Seoul, v.36, n.1, p.60-65, Jan. 2003.
- RIEGER, P.T. The biology of cancer genetics. *Semin. Oncol. Nurs.*, Philadelphia, v.20, n.3, p.145-154, Aug. 2004.
- SCULLY, R.; CHEN, J.; OCHS, R.L. Dynamic changes of BRCA1 subnuclear location and phosphorylation state are initiated by DNA damage. *Cell*, Cambridge, UK, v.90, p.425-435, 1997.
- WOOSTER, R. et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q 12-13. *Science*, Washington, DC, v.265, p.2088-2090, 1994.
- XU, X. et al. Centrosome amplification and a defective G2-M cell cycle checkpoint induce genetic instability in BRCA1 exon 11 isoform-deficient cells. *Mol. Cell*, Cambridge, Mass., v.3, n.3, p.389-395, Mar. 1999.
- XU, X. et al. Genetic interactions between tumor suppressors BRCA1 and p53 in apoptosis, cell cycle and tumorigenesis. *Nat. Genet.*, New York, v.28, n.3, p.266-271, July 2001.
- YOSHIDA, K.; MIKI, Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci.*, Oxford, v.95, n.11, p.866-871, Nov.2004.
- ZHANG, H. et al. BRCA1 physically associates with p53 and stimulates its transcriptional activity. *Oncogene*, Basingstoke, n.16, p.1713-1721, 1998.
- ZHANG, J. et al. Chk2 phosphorylation of BRCA1 regulates DNA double-strand break repair. *Mol. Cell. Biol.*, Washington, DC, v.24, n.2, p.708-718, Jan. 2004.

Recebido em / **Received:** 21/06/2006  
 Aceito em / **Accepted:** 30/11/2006