

Resistência a Doxorubicina em Pacientes com Câncer de Mama: Revisão Integrativa da Literatura

Resistance to Doxorubicin in Patients with Breast Cancer: Integrative Literature Review

Resistencia a la Doxorubicina en Pacientes con Cáncer de Mama: Revisión Integrativa de la Literatura

Werbésom da Silva Oliveira¹; Mariana Ferreira Rodrigues de Souza²; Flávia Axelband²; Patrícia Ribeiro Portella de Araújo²; Claudia de Oliveira Passos²

RESUMO

Objetivo: Identificar, na literatura científica, os mecanismos celulares descritos e associados a resistência tumoral ao quimioterápico doxorubicina em pacientes portadores de câncer de mama. **Método:** Foi realizada uma revisão da literatura nas bases de dados PubMed e LILACS através dos descritores câncer de mama, antraciclina, doxorubicina e resistência, no período de 2014 a 2024, nos idiomas inglês e português, sem a utilização de filtros para o tipo de estudo. **Resultados:** Foram encontradas 67 publicações em inglês, somente. Destas, 9 foram incluídas como amostra final por atenderem aos critérios de seleção desta revisão integrativa. Dentre os mecanismos encontrados e que se relacionam com a temática pesquisada, destaca-se: a obesidade; a baixa expressão da enzima CPT1C; a regulação da expressão genética por miRNAs; o sequestro e bloqueio da citotoxicidade pelas proteínas *Prions*; o papel antiapoptótico da proteína TRAP1 e o desequilíbrio entre a proteína quinase MAPK e sua enzima MKP-1 fosfatase. **Conclusão:** O conhecimento dos mecanismos celulares de resistência é de grande importância para o desenvolvimento de novos fármacos para a reversão da resistência ou para a identificação de biomarcadores que permitam a escolha da melhor proposta terapêutica para pacientes com câncer de mama que tenham indicação de tratamento com a doxorubicina.

Palavras-chave: Câncer de mama; Antraciclina; Doxorubicina; Resistência.

¹Farmacêutico. Residente nos Moldes Fellow em Atenção ao Câncer. Instituto Nacional de Câncer. INCA. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Farmacêutica. Mestre. Instituto Nacional de Câncer. INCA. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Farmacêutica. Doutora. Instituto Nacional de Câncer. INCA. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Farmacêutica. Doutoranda. Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Farmacêutica. Doutora. Coordenadora da Divisão Técnico Assistencial do HCIII/INCA. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Endereço para correspondência: Werbéson da Silva Oliveira. Rua Capitão Ciro Estevão de Brito, 16. Casa 1 – Sargento Roncalli, Belford Roxo, RJ, Brasil CEP 26178-260. E-mail: bersonmed@gmail.com.

ABSTRACT

Objective: To identify, in the scientific literature, the cellular mechanisms described and associated with tumor resistance to the chemotherapy drug doxorubicin in patients with breast cancer. **Method:** A literature review was carried out in the PubMed and LILACS databases using the descriptors breast cancer, anthracycline, doxorubicin and resistance, from 2014 to 2024, in English and Portuguese, without using filters for the type of study. **Results:** A total of 67 publications were found in English only. Of these, 9 were included as the final sample because they met the selection criteria for this integrative review. Among the mechanisms found and related to the researched theme, we highlight: obesity; low expression of the enzyme CPT1C; regulation of gene expression by miRNAs; sequestration and blocking of cytotoxicity by Prion proteins; the antiapoptotic role of the TRAP1 protein and the imbalance between the protein kinase MAPK and its enzyme MKP-1 phosphatase. **Conclusion:** Knowledge of the cellular mechanisms of resistance is of great importance for the development of new drugs to break resistance or for the identification of biomarkers that allow the choice of the best therapeutic proposal for patients with breast cancer who are indicated for treatment with doxorubicin.

Keywords: Breast cancer; Anthracycline; Doxorubicin; Resistance

RESUMEN

Objetivo: Identificar en la literatura científica los mecanismos celulares descritos y asociados con la resistencia tumoral al fármaco quimioterapéutico doxorubicina en pacientes con cáncer de mama. **Método:** Se realizó una revisión de la literatura en las bases de datos PubMed y LILACS utilizando los descriptores cáncer de mama, antraciclina, doxorubicina y resistencia, de 2014 a 2024, en inglés y portugués, sin utilizar filtros por tipo de estudio. **Resultados:** Se encontraron 67 publicaciones únicamente en inglés. De ellos, 9 se incluyeron como muestra final porque cumplían con los criterios de selección para esta revisión integradora. Entre los mecanismos encontrados y relacionados con el tema investigado destacamos: obesidad; baja expresión de la enzima CPT1C; la regulación de la expresión génica por miARN; el secuestro y bloqueo de la citotoxicidad por proteínas Prion; el papel antiapoptótico de la proteína TRAP1 y el desequilibrio entre la proteína quinasa MAPK y su enzima MKP-1 fosfatasa. **Conclusión:** El conocimiento de los mecanismos celulares de resistencia es de gran importancia para el desarrollo de nuevos fármacos que rompan la resistencia o para la

identificación de biomarcadores que permitan la elección de la mejor propuesta terapéutica para pacientes con cáncer de mama que estén indicadas para tratamiento con doxorubicina.

Palabras clave: Câncer de mama; Antraciclina; Doxorubicina; Resistencia.

1 INTRODUÇÃO

A neoplasia de mama é um tipo de câncer que apresenta uma grande incidência em todo o mundo. Estima-se um aumento de 74 mil novos casos, no Brasil, até 2025.¹ Pesquisas apontam que cerca de 2 milhões de pacientes com câncer de mama necessitarão de quimioterapia até 2040.²

É fundamental, após o diagnóstico do câncer, o estadiamento através da realização de exames de imagem para verificação de linfonodos comprometidos ou cenário metastático já estabelecido. Além do estadiamento, a definição do grau de risco da doença é realizada através da averiguação de seu perfil histopatológico e imunohistoquímico onde, por meio da utilização de um painel de anticorpos específicos, biomarcadores moleculares são definidos direcionando possíveis abordagens terapêuticas e sugerindo prognóstico da doença.³

A escolha da modalidade de tratamento deve considerar as características tumorais e uma minuciosa avaliação clínica do paciente, observando idade, alergias, comorbidades, capacidade funcional e cognitiva, local de residência, preferência de esquema terapêutico, dentre outros fatores epidemiológicos e socioeconômicos. Quando diagnosticadas precocemente as neoplasias de mama são potencialmente curáveis. Entre as opções terapêuticas empregadas encontram-se a cirurgia, a quimioterapia, a radioterapia, o tratamento com medicamentos alvo-moleculares e/ou bloqueadores hormonais orais/injetáveis além da imunoterapia.^{4,5,6,7}

A doxorubicina (DOX), é um medicamento que compõe um dos principais protocolos de tratamento deste tipo de câncer, pertence à classe de antibióticos antitumorais naturais denominada de *antraciclinas*. O mecanismo de ação inclui a inibição da enzima topoisomerase II, fundamental para a proliferação celular e replicação do DNA. Os níveis de topoisomerase II aumentam progressivamente durante o ciclo celular, sendo um importante alvo para agentes antineoplásicos citotóxicos.⁸

A DOX é um agente ciclo-celular não específico cuja ação não se limita ao bloqueio da topoisomerase II na replicação do DNA, mas também forma ligações

interfilamentares com os ácidos nucleicos bloqueando a síntese do DNA e RNA. Além destes mecanismos, promove alterações na membrana celular alterando o transporte de íons e induz a formação de radicais livres de oxigênio com consequentes alterações fisiológicas e morte celular por necrose ou apoptose.⁹ Em associação com a ciclofosfamida para o aumento da citotoxicidade, com ou sem a adição do antimetabólito 5-fluorouracila, é um dos medicamentos mais comumente utilizados no tratamento de tumores de mama considerados de alto risco.^{7,10-13}

A quimioterapia frequentemente desencadeia eventos adversos que, em alguns casos, podem ser limitantes do tratamento proposto, com impacto negativo na evolução clínica esperada. Com relação a DOX, a cardiotoxicidade é um evento adverso que se manifesta de forma significativa, podendo levar a danos dose-dependentes irreversíveis ao sistema cardíaco. Os pacientes devem ser monitorados através de exames físicos e de imagem, antes do início e ao final do tratamento.¹⁴

Apesar de apresentar-se potencialmente cardiotóxica, no tratamento do câncer de mama, a DOX é de grande utilidade em razão da sua robusta ação citotóxica. No entanto, observa-se que vários pacientes, especialmente em tratamento neoadjuvante, apresentam baixa resposta e/ou resistência associada a este medicamento. Consequentemente, a falha terapêutica durante o curso dos ciclos é um dos principais obstáculos que pode ocasionar a progressão da doença favorecendo o surgimento de metástases. Nestas situações é comum a troca do protocolo de escolha por progressão da doença.¹⁵

Apesar dos avanços na quimioterapia intravenosa do câncer de mama com o desenvolvimento de novos fármacos alvo-moleculares e imunoterapias, a resistência aos medicamentos regularmente se desenvolve e é classificada em dois tipos: primária/ intrínseca e adquirida/ extrínseca. Na primeira, os fármacos são ineficazes nas células carcinogênicas sem que estas tenham sido previamente expostas a eles. Na segunda, as células tumorais tornam-se não-responsivas ao fármaco após exposições prévias em sucessivos ciclos ou protocolos anteriores.¹⁶

Nos subtipos de câncer de mama hormônio e HER-2 dependentes, a farmacologia tem evoluído com novos medicamentos e regimes terapêuticos enquanto que para o subtipo triplo-negativo (TN) a quimioterapia clássica, que faz uso de DOX, continua sendo a principal opção. É extremamente estabelecida a eficácia e importância do tratamento com a DOX no cenário de tratamento dos tumores malignos da mama; contudo, são muitas as dúvidas referentes aos mecanismos moleculares que levam à

resistência ao tratamento com este fármaco. O objetivo deste trabalho é identificar na literatura os eventos celulares conhecidos e que estão associados à resistência tumoral à DOX em pacientes portadores de câncer de mama.

2 MÉTODO

Trata-se de uma revisão integrativa de literatura elaborada através de um levantamento de trabalhos científicos publicados quanto aos mecanismos de resistência à DOX em células tumorais de câncer de mama.

Foi realizada busca nas bases de dados eletrônicas PubMed e LILACS abrangendo publicações de 2014 a 2024. Foram selecionadas para esta revisão, todas as publicações encontradas e sem a utilização de filtros para o tipo de estudo o que permitiu a inclusão de ensaios clínicos controlados e randomizados e meta análise, entre outros, disponíveis nos idiomas inglês e português. Foram excluídos os artigos cuja temática não demonstrou correlação pertinente com a questão norteadora da pesquisa.

Para definição dos termos de busca foram consultados os vocabulários controlados da área da saúde **DeCs** (Descritores em Ciências da Saúde) e **MeSH** (*Medical Subject Headings*): “breast cancer”, “anthracycline”, “doxorubicin” e “resistance” utilizando-se o operador booleano AND para um maior refinamento dos resultados.

A escolha da amostra final dos artigos foi realizada em duas etapas, sendo a primeira uma triagem analisando o título e resumo para a seleção. Após a leitura completa dos selecionados, foram incluídas, neste trabalho, as publicações cuja temática e a qualidade metodológica atenderam aos critérios desta revisão integrativa, de acordo com o método do PRISMA.¹⁷

O processo de elaboração das estratégias de busca atendeu as recomendações do **Manual JBI para Síntese de Evidências**.¹⁸

3 RESULTADOS

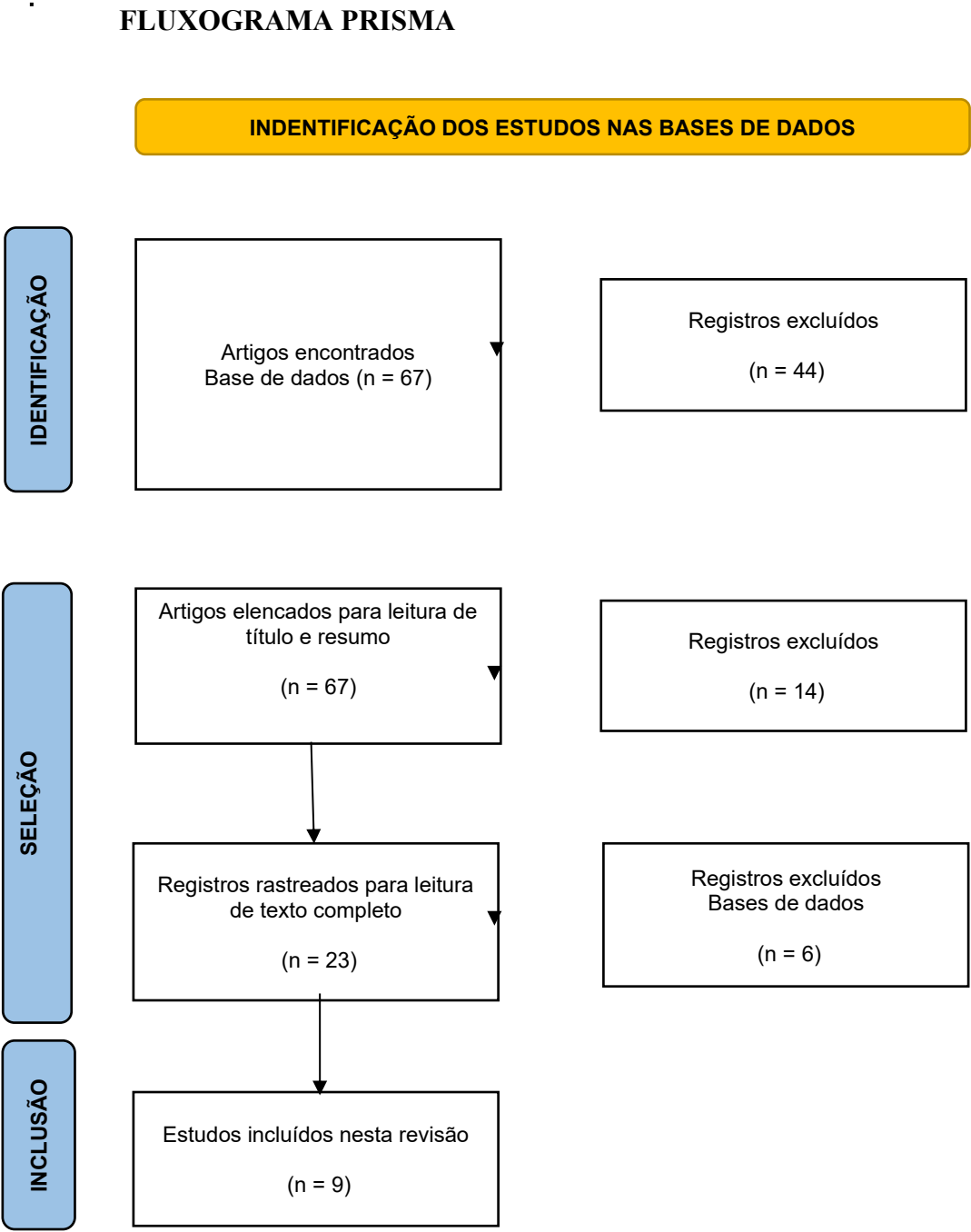
Como resultado da busca nas bases de dados foram identificados 67 registros, sendo 15 artigos no PubMed e 52 no LILACS, todos no idioma inglês. Os títulos e resumos que não apresentaram coerência com o tema foram excluídos (PubMed = 09, LILACS = 35). Foram selecionados 23 artigos. Nesta etapa foi realizada a leitura, na íntegra, para verificar a compatibilidade e especificidade com a questão levantada neste trabalho. Após a leitura completa foram excluídos 14 artigos. Aplicados os critérios de elegibilidade, 09 estudos foram selecionados, por revisores, como amostra final, para

inclusão nesta revisão integrativa, confirmada sua adequação com o objetivo proposto, conteúdo e pertinência. (Quadro 1)

A figura 1 mostra o fluxograma, baseado no método PRISMA, para a análise dos artigos incluídos neste estudo.

O quadro 1 traz a caracterização e síntese dos artigos analisados.

Figura 1:



Fonte: Elaborado pelos autores, 2024.

Quadro 1. Caracterização dos artigos analisados

Autores/ Ano	Título	Resumo	Idioma
Xiu Juan Li et al., 2015 ¹⁰	Mechanisms of breast cancer resistance to anthracyclines or taxanes: an overview of the proposed roles of noncoding RNA	A resistência as antraciclina pode ocorrer através do transporte alterado da membrana, mediado por membros da superfamília do cassete de ligação ao ATP(ABC). A glicoproteína-p (P-gp) e proteínas estão associadas à resistência a múltiplas drogas. A P-gp é induzido em Michigan Câncer Foundation-7 (MCF-7) resistência à DOX. Além disso, a atividade alterada da topoisomerase II onde foi implicado na resistência das antraciclina. Citotoxicidade induzida pelas antraciclina pode ser inibida por alterações na vias de sinalização apoptótica.	Inglês
Mentora et al., 2019 ¹⁵	Fatty acids: Adiposity and breast cancer chemotherapy, a bad synergy? Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids	O excesso de lipídios é armazenado em vários tipos de tumores como gotículas lipídicas, sendo agora considerada uma característica da agressividade do câncer. As células de câncer de mama MCF-7-doxorrubicina, a resistência a medicamentos transferiram microRNA via exossomos para células receptoras de câncer de mama sensíveis a medicamentos (MCF-7) e, assim, resultaram em resistência à DOX.	Inglês
Tőkés et al., 2022 ²¹	Tumor Glucose and Fatty Acid Metabolism in the Context of Anthracycline and Taxane-Based (Neo)Adjuvant Chemotherapy in Breast Carcinomas. Frontiers in Oncology	A presença das alterações nas vias metabólica da glicose e ácidos graxos está associado a quimioterapia aplicada a CA de mama. Assim como DOX que é um fármaco que induz a citotoxicidade através da inibição da topoisomerase II. Ocorre um problema multifatorial que envolve aos mecanismos de resistência tumoral. Que está relacionada ao metabolismo lipídico especialmente em mulher na pós-menopausa correlacionando uma baixa resposta terapêutica da doença.	Inglês
Muley et al., 2023 ²⁶	Cpt1c Downregulation Causes Plasma Membrane Remodelling and	A DOX é um dos medicamentos mais eficazes disponíveis, a quimioterapia pode falhar devido a diferentes mecanismos de quimiorresistência. A resistência da DOX e outras	Inglês

	Anthracycline Resistance in Breast Cancer. International Journal of Molecular Sciences	antraciclina são prejudicadas por o aumento da rigidez da membrana plasmática dificultando a entrada na célula através da difusão passiva. Com a depressão enzima carnitina palmitoiltransferase 1 (CPT1) aumenta a rigidez da membrana plasmática nas células silenciadas por CPT1C, aumentando a impermeabilidade à DOX.	
Jamialahmad i et al., 2021 ²⁷	The role of microRNAs on doxorubicin drug resistance in breast cancer. Journal of Pharmacy and Pharmacology,	O papel do mecanismo da DOX, tem demonstrado que os micro(RNAs) atuam em diversas vias celulares importantes, incluindo diferenciação celular, progressão do ciclo celular e apoptose. Portanto, os microRNAs podem servir como alvos alternativos no tratamento do câncer de mama, bem como a reversão da resistência aos medicamentos.	Inglês
Arfaoui et al., 2015 ²⁸	Role of p53 Codon72 SNP in breast cancer risk and anthracycline resistance	A proteína supressora de tumores p53 está envolvida em múltiplos processos celulares centrais, incluindo transcrição, reparo de DNA, estabilidade genômica, senescência, controle do ciclo celular e apoptose. Resposta à antraciclina foi avaliada após revelaram que, entre 400 pacientes, um quarto (24%) era resistente à quimioterapia à base de antraciclina	Inglês
Wiegman et al., 2019 ²⁹	Secreted cellular prion protein binds doxorubicin and correlates with anthracycline resistance in breast cancer	As antraciclina estão entre os quimioterápicos mais eficazes já desenvolvidos, Descobrimos que esses compostos podem ser sequestrados pela proteína príon celular secretada (PrPC), que bloqueia sua atividade citotóxica. A disseminação sistêmica de PrPC sérico pode criar regiões mediadas por PrPC com baixa biodisponibilidade de doxorubicina, contribuindo para sítios quimiorresistentes privilegiados, permitindo o enxerto de micrometástases. Os pacientes que apresentam altos níveis de expressão de PrPC celular ou solúvel representam um alto risco de quimiorresistência e requerem tratamento alterado.	Inglês
Raúl Rincón et al., 2016 ²⁹	c-Jun N-Terminal Kinase Inactivation by Mitogen-Activated	Há muito tempo é relatado que o MKP-1 atua como uma oncoproteína na mama progressão do câncer, induzindo também resposta antitumoral a vários quimioterápicos. MKP-1	Inglês

	Protein Kinase Phosphatase 1 Determines Resistance to Taxanes and Anthracyclines in Breast Cancer	superexpressa durante a transformação maligna da mama e prediz independentemente um mau prognóstico. A MKP-1 é reprimida pela DOX em muitas células mamárias humanas, demonstrando a superexpressão da MKP-1 pode ser um evento crucial no câncer de mama.	
Sisinni ET al., 2014 ³⁰	TRAP1 role in endoplasmic reticulum stress protection favors resistance to anthracyclins in breast carcinoma cells	A atividade protetora do estresse do reticulo endoplasmático da TRAP1 é relevante para a resistência das células câncer de mama à DOX. Uma regulação negativa da TRAP1 em ambas as linhas celulares resistentes à DOX, resultou no restabelecimento da sensibilidade à DOX. A TRAP1 associada ao reticulo endoplasmático é responsável pela citoproteção contra antraciclinas. Com isso a função antiapoptótica da proteína 1 depende do controle de qualidade em proteínas clientes antiapoptóticas mitocondriais específicas no reticulo endoplasmático.	Inglês

Fonte: Elaborado pelos autores, 2024

4 DISCUSSÃO

A resistência á fármacos de grande efetividade e extensa utilização no tratamento do câncer de mama, como a DOX, é um obstáculo que apresenta impacto no decorrer dos ciclos levando a um desfecho desfavorável com a falha do tratamento proposto. É de extrema importância que os mecanismos moleculares utilizados como escape para as células tumorais sejam profundamente investigados e elucidados.

É importante identificar os pacientes oncológicos mais vulneráveis e que apresentam fatores de riscos ou contraindicação para o uso, especialmente aqueles com distúrbio ventricular esquerdo. Um dos preditores mais utilizados na monitorização inicial da função cardíaca é a fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) que deve estar acima de 50%; caso contrário, outros parâmetros devem ser analisados e um acompanhamento com a cardiologia faz-se essencial. Em todos os casos será necessária a monitorização através de ecocardiogramas transtorácicos.¹⁹

Correlacionando a questão da pesquisa com os resultados encontrados na literatura, os principais mecanismos de resistência à DOX em células tumorais de pacientes com câncer de mama seguem descritos abaixo.

4.1 Resistência por alteração na via metabólica induzida pela obesidade

O excesso de tecido adiposo vem sendo cada vez mais reconhecido como fator de risco para o surgimento do câncer de mama, principalmente em mulheres na pós-menopausa, por ser um importante armazenador de ácidos graxos (AG). O papel dos AGs na progressão do câncer parece estar relacionado a alterações na das células tumorais bem como na biossíntese de biomoléculas sinalizadoras.^{20,21}

A obesidade leva ao aumento na síntese de biomoléculas estimuladoras da proliferação celular como hormônios sexuais (estrogênio e progesterona), fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF-1) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), além de citocinas pró inflamatórias que regulam as principais vias sinalizadoras, como a quinase ativada por mitogéno (MAPK), associada a resistência das células tumorais.²⁰

Estudos realizados por TÖKÉS et al (2022) e MENTOOR et al (2019) revelaram que o excesso de tecido adiposo favorece a quimioresistência, além de servir de esconderijo para as células tumorais que buscam escapar da ação citotóxica do tratamento. As alterações do metabolismo lipídico que mais se relacionam com a resistência são

superoxidação de AGs, elevada síntese de AGs, modulação das membranas celulares e acúmulo de gotículas lipídicas.^{20, 21}

Segundo TÖKÉS et al (2022) (apud GERMAIN, 2020; DRAGUET, 2021; MENTOOR, 2020; YAN, 2020) estudos apontam que a resistência aos danos múltiplos ao DNA, ocasionados por agentes como a DOX, ocorre, dando a alteração do metabolismo lipídico em obesos, pela redução da fluidez da membrana plasmática, o que dificulta a entrada da DOX, por difusão passiva, reduzindo o estresse oxidativo.²¹ Corroborando com este estudo um ensaio clínico com camundongos obesos demonstram redução na eficácia da DOX relacionada ao metabolismo lipídico.²⁴ Em outro estudo revelou o aumento do colesterol nas membranas de células de câncer de mama MCF-7 resistentes às antraciclinas.²⁵

Um estudo pré-clínico revelou que a inibição da alteração do metabolismo lipídico reverteu a resistência das células cancerígenas a DOX, o que sugere sua relevância na resistência à quimioterapia ao tratamento antitumoral.²² Draguet et al (2021) avaliaram o efeito de inibidores metabólicos em duas linhagens de células mamárias (MB-231 e MCF-7), com especial interesse na sua utilização em associação à DOX. Seus resultados foram estimulantes na medida em que todos os inibidores aumentaram a eficácia da DOX nas linhagens celulares.²³

Atualmente, são necessários maiores conhecimentos sobre a plasticidade metabólica na obesidade para que seja possível o desenvolvimento de novos fármacos direcionados a etapas específicas das vias metabólicas para serem associados ao tratamento com a DOX evitando mecanismo de resistência a este quimioterápico. A primeira geração desta classe inibidora, inclui o medicamento orlistate, que, entretanto demonstrou pouca seletividade e baixa estabilidade metabólica além de efeitos adversos como anorexia. A próxima geração busca apresentar menor toxicidade sistêmica em ensaios pré-clínicos, maior potencial antitumoral e maior especificidade no bloqueio da síntese de AGs.^{20,21}

4.2 O papel da regulação negativa da enzima CPT1C na resistência

A enzima carnitina palmitoiltransferase 1C (CPT1C) está relacionada à regulação do metabolismo lipídico. Sua baixa expressão é descrita como fator de aumento na rigidez da membrana plasmática resultando, conseqüentemente, na quimioresistência à DOX devido a uma entrada reduzida do fármaco no meio intracelular.²⁶

CPT1C está frequentemente menos expressa no câncer de mama e quanto menor sua expressão maior o aumento da gordura nas células tumorais com saturação lipídica da membrana plasmática, deixando-a com carga menos negativa, e ocasionando o bloqueio do influxo da DOX, que apresenta carga positiva no ambiente tumoral. Este fato foi verificado, *in vitro*, com células tumorais mamárias das linhagens MDA-MB-231, MCF-7, Hs578T, CAL-51 e BT-474. A baixa expressão da CPT1C pode levar não somente a remodelação da membrana plasmática como causar disfunção mitocondrial, parada do ciclo celular e prevenção da apoptose.²⁶

Um estudo utilizou a ferramenta “ROC plotter” para validação de biomarcadores preditivos no câncer de mama (www.rocplot.org; 2022). A ferramenta apontou para o pior prognóstico na sobrevida de pacientes com baixa expressão de CPT1C tratadas com DOX na neoadjuvância e com os subtipos HER2+ e TN, revelando, por fim, que a baixa expressão de CPT1C leva à resistência a DOX em pacientes com câncer de mama sendo um marcador de baixa sobrevida na quimioterapia neoadjuvante baseada em antraciclina. Logo, um mecanismo de maior expressão de CPT1C deve ser abordado como estratégia no bloqueio da quimioresistência e da proliferação celular.²⁶

4.3 Efeitos potenciais dos microRNAs (miRNAs) na regulação da expressão genética e sua relação com a resistência e sensibilidade à DOX

RNAs não codificantes (ncRNAs) são as principais moléculas reguladoras da expressão genética em humanos. Os ncRNAs controlam os níveis de expressão de diversos genes envolvidos em diferentes vias celulares. Estudos apontam sua importância na resistência adquirida aos quimioterápicos pela regulação genética da expressão de transportadores de efluxo, inibição da apoptose, autofagia e aumento do reparo aos danos causados ao DNA além de efeitos anti-apoptóticos.¹⁰

Entre os possíveis mecanismos de resistência à DOX no tratamento do câncer de mama estão o transporte alterado do fármaco através da membrana celular para o interior da célula, mas também a superexpressão de transportadores de membrana conhecidos como “bombas de efluxo” de medicamentos, representada especialmente pela superfamília de transportadores de membrana ABC (*ATP Binding Cassete*), principalmente pela glicoproteína-P (P-gp/ABCB1), proteína 1 associada a MDR (MRP1/ABCC1) e Proteína de Resistência ao Câncer de Mama (BCRP/ABCG2).^{10,27}

A expressão de ncRNAs em um tecido tumoral difere significativamente para um ambiente de tecido normal. Uma forma de ncRNA especialmente importantes para a

regulação da expressão genética positiva ou negativa nas células são os microRNAs (miRNA). Evidências apontam que os miRNAs estão envolvidos na resistência à DOX em diversos processos de regulação celular como os envolvidos no transporte, vias de sinalização, inibição do ciclo celular e autofagia.¹⁰

Por exemplo, regulação negativa (baixa expressão) dos miRNAs como miR-451, miR-298, miR-124-3p e miR-200c está associada a resistência adquirida à DOX. Ao contrário, os miR-132 e miR-212 estão superexpressos em células tumorais de mama MCF-7 resistentes à DOX.^{10,27}

A resistência relacionada à P-gp pode estar associada à sua superexpressão, que reduz as concentrações intracelulares do fármaco e é um fator preditivo de mal prognóstico. Verificou-se a relação inversamente proporcional entre a baixa expressão do miR-451 e o aumento da expressão nuclear de P-gp em células tumorais de mama MCF-7 resistentes à DOX. Ao contrário, estimulando a expressão de miR-451 verificou-se a regulação negativa da P-gp e a sensibilização das células à apoptose. Em outra linhagem de célula tumoral de mama (MDA-MB-231) resistente à DOX, o miR-298 e miR-200c também demonstraram sua ação direta sobre o transportador MDR-1/P-gp.^{10,27}

Os miRNAs estão relacionados a resistência à DOX não só pela sua ação sobre a P-gp e ABC, mas também na regulação de genes associados com a sobrevivência e multiplicação das células cancerígenas pela atividade alterada/superexpressão da topoisomerase II ou inibições nas vias de sinalização apoptóticas. A apoptose, objetivo principal de ação final da DOX, envolve vários genes, incluindo a p53, e oncogenes da família Bcl-2 e o supressor tumoral homólogo da fosfatase e tensina (PTEN).^{10,31} Mutações no PTEN resultam no desenvolvimento do câncer e resistência aos quimioterápicos. A superexpressão de miRNA-21 foi identificada na linhagem celular MCF-7 conferindo resistência à DOX por meio da regulação negativa do PTEN.²⁷

A proteína p53 está envolvida em diversos processos celulares como controle do ciclo celular, transcrição, reparo do DNA e apoptose. Além da inibição, mutações na p53 levam à proliferação celular descontrolada, perda da capacidade de reparo do DNA e inibição do ciclo. Células com p53 mutadas induzem a resistência aos quimioterápicos por interferência no processo apoptótico, e as mutações podem ser moduladas positivamente ou negativamente por diversos miRNAs. A superexpressão do miR-191-5p regula negativamente a expressão da p53 proporcionando o desenvolvimento da resistência à DOX.^{27,28}

Os oncogenes da família Bcl-2 aumentam a proliferação de células cancerígenas e inibem a apoptose. miRNAs cujo alvo são agentes dessa família alteram o seu nível de expressão. Evidências demonstram que a superexpressão do miR-34a pode levar à apoptose e aumentando oncogenes Bcl-2 levando a sensibilidade à ação da DOX em tumores Triplo Negativos (TN). Enquanto, a superexpressão do miR-181, regulamente da BAX (proteína apoptótica) podendo desencadear resistência à DOX em tumores superexpressores de HER2+. ²⁷

Maiores e melhores evidências são necessárias para o desenvolvimento, através da bioengenharia, de novos fármacos direcionados a miRNAs específicos como alvos terapêuticos em tumores resistentes à DOX, bem como a utilização de miRNAs como biomarcadores que apontem para melhores opções de tratamento em casos identificados de resistência.

4.4 Proteína príon no sequestro e bloqueio da citotoxicidade da DOX

Prions (PrP^c) são pequenas partículas proteicas presentes na parede externa da membrana celular ancoradas por moléculas de glicosilfosfatidilinositol (GPI), e estão associadas a divisão, diferenciação, sobrevivência e sinalização celulares. As PrP^c contêm uma região de octapeptídeos e se ligam à ions cobre, assim como a DOX. Essas proteínas podem ser secretadas no meio extracelular através da clivagem do GPI. Em linhagens de células tumorais mamárias a alta expressão de PrP^c tem sido relacionada a resistência à DOX, apesar do mecanismo e relevância clínica ainda não estarem completamente elucidados. ²⁹

Através de estudos clínicos *in vitro* verificou-se que a secreção da PrP^c retarda a atividade citotóxica da DOX prevenindo sua entrada no núcleo e intercalação com o DNA. Análises demonstraram que esta resistência pode ocorrer pelo sequestro da DOX por este componente, mediada pelos íons livres de cobre, aos quais ambos compostos se ligam. Fisiologicamente, em níveis basais, a função normal do complexo cobre-PrP^c seria a proteção das células contra o estresse oxidativo gerado pelo cobre livre. Assim, a proteína PrP^c atua como fator protetor na toxicidade à DOX e polimorfismos podem indicar maior susceptibilidade à cardiotoxicidade. Animais nocautes para PrP^c são mais sensíveis ao tratamento com DOX. ²⁹

No entanto, a alta expressão de PrP^c induz a resistência tanto no microambiente tumoral quanto sistematicamente, com a redução da biodisponibilidade do fármaco nos

fluidos corporais. Um estudo revelou que as linhagens celulares que mais secretaram PrP^c foram as que apresentaram maior resistência à DOX e que tanto a PrP^c livre ou a ancorada no GPI sequestram a DOX no microambiente tumoral revelando que a ausência de expressão de PrP^c causa uma maior sensibilidade à toxicidade da DOX enquanto sua superexpressão leva a uma alta resistência ao fármaco.²⁹

O conhecimento prévio da expressão e dos níveis livres de PrP^c pode ser um indicador para a escolha da utilização ou não da DOX na prática clínica, com tratamentos mais individualizados, considerando o perfil genético do paciente.²⁹

4.5 O papel antiapoptótico da TRAP1

O retículo endoplasmático (RE) é uma organela celular na qual proteínas secretoras e de membrana são sintetizadas e degradadas. O acúmulo de proteínas defeituosas no RE, geralmente em células envelhecidas ou danificadas, desencadeia uma resposta proteica desdobrada (UPR) para estabelecer a homeostase proteica e prevenir a apoptose. A proteína Bip/Grp78 do RE é a principal no controle da homeostase proteica. No entanto, um estresse crônico no RE pode levar a um processo apoptótico com morte celular ou a uma resposta adaptativa do RE ao estresse. As células tumorais, cronicamente expostas ao estresse, frequentemente desenvolvem respostas adaptativas, relacionadas a progressão tumoral e a resistência aos quimioterápicos.³⁰

A ativação da proteína 1 associada ao fator de necrose tumoral (TNF) mitocondrial (TRAP1), localizada no RE, foi identificada como um modulador mitocondrial, com grande impacto no crescimento neoplásico. A TRAP1, regulada positivamente, confere resposta ao estresse do RE exercendo função antiapoptótica por modular proteínas mitocondriais e do RE, levando a resistência aos inibidores da topoisomerase, como a DOX. A alta expressão de TRAP1 em associação com a alta expressão da chaperona Bip/Grp78 protege as células tumorais dos estímulos apoptóticos da DOX.³⁰

Efeitos apoptóticos podem ser alcançados com o silenciamento da TRAP1 associado a indução ao estresse do RE por agentes farmacológicos. Como estratégia, a modulação da TRAP1 pode desativar a via de sinalização cruzada entre o RE e as mitocôndrias, permitindo a ação citotóxica da DOX. Inibidores de TRAP1 estão sendo avaliados pré-clinicamente como agentes a serem utilizados de forma isolada ou em combinação com a quimioterapia, no futuro, em novos tratamentos contra o câncer.³⁰

4.6 A superexpressão MAPK fosfatase-1 (MKP-1) e inibição da via JNK na resistência à DOX no câncer de mama

A MAPK é uma proteína quinase citoplasmática que, quando ativada por mitógenos extracelulares (proteínas, peptídeos, hormônios, fatores de crescimento, dentre outros) via proteína transmembrana, desencadeia uma cascata de sinais direcionando para a divisão e proliferação celular.³¹

A ativação da MAPK tem sido descrita como um evento molecular fundamental na progressão do câncer de mama. sendo esta relação modulada pela desfosforilação realizada por suas fosfatases. A MAPK fosfatase (MKP-1) é uma enzima que remove os fosfatos das MAPKs ativadas tornando-as inativas e parando suas funções celulares. O equilíbrio entre MAPKs e MKP-1 é mandatório para que a célula possa regular suas atividades na presença de uma malignidade. A MKP-1 está superexpressa no câncer de mama e apresenta como substratos de eleição as isoformas MAPK p38 e quinase C-Jun N-terminal (JNK) e está relacionada à resistência aos quimioterápicos, incluindo a DOX.³¹

A DOX apresenta a capacidade de ativação da via MAPK por meio de MKP-1 para exercer sua atividade antitumoral. Ao contrário, MKP-1, conforme sua alta ou baixa expressão, modula diferentes respostas na terapia antitumoral. A desfosforilação da isoforma JNK, no câncer de mama, tem sido associada a progressão da doença e sobrevivência da célula tumoral em condições de estresse ou dano oxidativo.³¹

A superexpressão de MPK-1 desfosforila JNK1/2 resultando em maior crescimento tumoral e baixas taxas de apoptose em células malignas. Em um estudo utilizando as linhagens de células tumorais mamárias MDA-MB-231 e BT-474 para avaliar os efeitos da doxorrubicina na ativação da MAPK verificou-se uma *regulação para baixo* da MPK-1 como resultante do tratamento com a DOX e, consequentemente, uma maior quimiosensibilidade, com um maior nível de fosforilação de JNK1/2.³¹

As proteínas quinases estão envolvidas com diversas atividades celulares como proliferação, diferenciação, sobrevivência celular e apoptose sendo, portanto, importante alvo terapêutico uma vez que a maioria dos cânceres apresenta associação com distúrbios nessas proteínas, geralmente através de mutação genética que leva a uma superexpressão ou perda dos mecanismos de inibição endógenos. A inibição de etapas da via MAPK e da superexpressão de MPK-1 são estratégias potenciais para o desenvolvimento de novos fármacos no tratamento da resistência à DOX no câncer de mama.³¹

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os mecanismos moleculares de resistência aos quimioterápicos são um grande problema que impactam negativamente na sobrevida e é um dos maiores desafios atuais no tratamento das neoplasias malignas. A DOX, no tratamento do câncer de mama, continua sendo um fármaco considerado “padrão ouro” pela sua potente atividade antitumoral. No entanto, na prática clínica, verifica-se que parte dos pacientes apresentam apenas uma resposta parcial e, em alguns casos, até mesmo a progressão da doença.

Como limitações desta revisão pode-se observar o pequeno número de estudos encontrados com a temática específica sobre os mecanismos de resistência à DOX em células tumorais mamárias, considerando também o período avaliado (10 anos).

O amplo conhecimento dos mecanismos relacionados a resistência à DOX e das vias em que atuam no câncer de mama é de grande importância. No entanto, muitos mecanismos ainda não estão completamente elucidados. Novos e maiores estudos são necessários para que resultados robustos possam ser alcançados objetivando o desenho e desenvolvimento de novos compostos farmacêuticos que venham a permitir a reversão dessa resistência, seja em uso concomitante ou isolado, durante os ciclos com os protocolos contendo DOX.

Concomitantemente, o conhecimento de fatores que influenciam na resistência através de mutações que inibem genes supressores tumorais ou que estimulam a atividade de proto-oncogenes também contribui para que novos biomarcadores preditivos de resposta terapêutica sejam identificados. Assim, e considerando o perfil genético dos pacientes, busca-se encontrar uma melhor e mais individualizada proposta terapêutica para pacientes com câncer de mama que tenham indicação de tratamento com a doxorubicina, especialmente para aqueles não eletivos para as estratégias terapêuticas atualmente existentes como bloqueadores hormonais ou terapias alvo-moleculares.

REFERÊNCIAS

1. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER – INCA. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva [Internet]. 2023. [acesso 2024 jul 23]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>.
2. LIU Z, Gao J, Gu R, et al. Comprehensive Analysis of Transcriptomics and Genetic Alterations Identifies Potential Mechanisms Underlying Anthracycline Therapy

- Resistance in Breast Cancer. *Biomolecules*. 2022;12:1834–1834, 8 dez. 2022. doi: <https://doi.org/10.3390/biom12121834>
3. SCHIFFMAN JD, FISHER PG, GIBBS P. Early Detection of Cancer: Past, Present, and Future. *American Society of Clinical Oncology*, 2015;35(35):57–65, maio 2015. doi: https://doi.org/10.14694/EdBook_AM.2015.35.57
 4. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER – INCA. Estimativa 2022 Tratamento do câncer. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva [Internet]. 2024. [acesso 2024 jul 19]. Disponível em : <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-de-mama-acoas/tratamento>
 5. ALESSY SA, ALHAJJI M, RAWLINSON J, et al. Factors influencing cancer patients' experiences of care in the USA, United Kingdom, and Canada: A systematic review. *eClinicalMedicine*. 2022;47:2-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2022.101405>
 6. DREYER MS, NATTINGER AB, MCGINLEY EL et al. Socioeconomic status and breast cancer treatment. *Breast Cancer Res Treat*. 2018;167(1):1–8. doi: <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4490-3>
 7. BRASIL. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Câncer de Mama. Brasília: Ministério da Saúde [Internet]. 2024 [acesso 2024 jul 25]. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/ptbr/midias/consultas/relatorios/2024/RRPCDTCncer deMama_CP.pdf
 8. MCCLENDON AK, OSHEROFF N. DNA topoisomerrase II, Genotoxicity, and Cancer. *National Institutes of Health*. 2007;1;623(1-2):83–97. doi:10.1016/j.mrfmmm.2007.06.009.
 9. CRUZ, M; DUARTE-RODRIGUES; CAMPELO M. Cardiotoxicidade na terapêutica com antraciclina: estratégia de prevenção. *Revista de portuguesa de cardiologia*. 2016;35(6):359-371. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.repc.2015.12.004>
 10. XIU JUAN LI, QUAN BINZHAB, ZHAO JUN RENC et al. Mechanisms of breast cancer resistance to anthracyclines or taxanes: an overview of the proposed roles of noncoding RNA, 2015;27,6,457–465. doi: 10.1097/CCO.0000000000000235
 11. VUGER, AT; TISCOSKI K; APOLINARIO T et al. Anthracyclines in the treatment of early breast cancer friend or foe? *The Breast : Official Journal of the European Society of Mastology*, 2022;65,67–76. doi: 10.1016/j.breast.2022.06.007

12. SILVA CMPDC, PINTO GH, SANTOS MHH. Quimioterapia e Cardiotoxicidade. Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. 2017;27(4):266-73. Disponível em: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/08/879434/01_revistasocesv27_04.pdf
13. BRAYBROOK J; BRADLEY R, GRAYR et al. Anthracycline-containing and taxane-containing chemotherapy for early-stage operable breast cancer: a patient-level metanalysis of 100 000 women from 86 randomised trials. Lancet 2023;401:1277-92
14. PINTO DC; SILVA, CM; HENRIQUE PG; et al. Quimioterapia e Cardiotoxicidade. Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, 2017;27,(4):266–273. <http://dx.doi.org/10.29381/0103-8559/20172704266-73>
15. LIU Z, GAO J, GU R et al. Comprehensive Analysis of Transcriptomics and Genetic Alterations Identifies Potential Mechanisms Underlying Anthracycline Therapy Resistance in Breast Cancer. Biomolecules. 2022;12(12)1834–1834. doi: <https://doi.org/10.3390/biom1212183>
16. LEE YS, RYU SW, BAE SJ et al. Cross-platform meta-analysis of multiple gene expression profiles identifies novel expression signatures in acquired anthracycline-resistant breast cancer. Oncology Reports. 2015;33(4):1985–1993. doi: <https://doi.org/10.3892/or.2015.3810>
17. PAGE, M. J. et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. BMJ, London, v. 372, n. 31, p. 1-9, 2021.
18. AROMATARIS, E. et al. (org.). **JBIManual for Evidence Synthesis**. [S. l.]: JBI, 2024. Disponível em: <https://jbi-global-wiki.refined.site/space/MANUAL>. Acesso em: 29 ago. 2024.
19. HAJJAR LA, COSTA IBSS, LOPES MACQ, HOFF PMG et al. Diretriz Brasileira de Cardio-oncologia. Arq Bras Cardiol. 2020;115(5)1006-1043. doi: <https://doi.org/10.36660/abc.20201006>
20. MENTOOR, I.; ENGELBRECHT, A-M.; NELLÿ, T. Fatty acids: Adiposity and breast cancer chemotherapy, a bad synergy? Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, v. 140, p. 18–33, jan. 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.11.009>
21. TÓKÉS, A. M. et al. Tumor Glucose and Fatty Acid Metabolism in the Context of Anthracycline and Taxane-Based (Neo)Adjuvant Chemotherapy in Breast

- Carcinomas. *Frontiers in Oncology*, v. 12, 31 mar. 2022. doi: 10.3389/fonc.2022.850401
22. GERMAIN N, DHAYER M, BOILEAU M, FOVEZ Q, KLUZA J, MARCHETTI P. LIPID. Metabolism and Resistance to Anticancer Treatment. *Biol (Basel)*. (2020) 9 (12). doi: 10.3390/biology9120474
 23. DRAGUET A, TAGLIATTI V, COLET JM. Targeting Metabolic Reprogramming to Improve Breast Cancer Treatment: An in Vitro Evaluation of Selected Metabolic Inhibitors Using a Metabolomic Approach. *Metabolites* (2021) 11(8). doi: 10.3390/metabo11080556
 24. MENTOOR I, NELL T, EMJEDI Z, VAN JAARSVELD PJ, DE JAGER L, ENGELBRECHT AM. Decreased Efficacy of Doxorubicin Corresponds With Modifications in Lipid Metabolism Markers and Fatty Acid Profiles in Breast Tumors From Obese vs. Lean Mice *Front Oncol* (2020) 10:306. doi: 10.3389/fonc.2020.00306
 25. YAN A, JIA Z, QIAO C, WANG M, DING X. Cholesterol Metabolism in Drugresistant Cancer (Review). *Int J Oncol* (2020) 57(5):1103–15. doi: 10.3892/ijo.2020.5124
 26. MULEY H; VALÊNCIA K; CASAS J, et al. Cpt1c Downregulation Causes Plasma Membrane Remodelling and Anthracycline Resistance in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 2, p. 946–946, 4 jan. 2023. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms24020946>
 27. JAMIALAHMADI, K.; ZAHEDIPOUR, F.; KARIMI, G. The role of microRNAs on doxorubicin drug resistance in breast cancer. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 73, n. 8, p. 997–1006, 4 maio 2021. doi:10.1093/jpp/rgaa031
 28. ARFAOUI, A; DOUIK H; KABLOUTI G. et al. Role of p53 Codon72 SNP in breast cancer risk and anthracycline resistance. *Anticancer research*, v. 35, n. 3, p. 1763–9, mar. 2015. doi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25750340/>
 29. WIEGMANS, A. P; SAUNUS J M; HAM S, et al. Secreted cellular prion protein binds doxorubicin and correlates with anthracycline resistance in breast cancer. *JCI Insight*, 2019; 2019 Mar 21;4(6):e12409. doi:<https://doi.org/10.1172/jci.insight.124092>.
 30. SISINNI, L; MADDALENA F; LETTINI G, et al. TRAP1 role in endoplasmic reticulum stress protection favors resistance to anthracyclins in breast carcinoma

cells. *International Journal of Oncology*, v. 44, n. 2, p. 573–582, 29 nov. 2014. doi: 10.3892/ijo.2013.2199

31. RAÚL RINCÓN; ZAZO S; CHAMIZO C, et al. c-Jun N-Terminal Kinase Inactivation by Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase 1 Determines Resistance to Taxanes and Anthracyclines in Breast Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 15, n. 11, p. 2780–2790, 7 set. 2016. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0920