

## PROCESSO METILACIONAL DO DNA RELACIONADO AO CÂNCER DE MAMA

### METHYLATIONAL DNA PROCESS RELATED TO BREAST CANCER

Edmilson Pereira Barroso<sup>1\*</sup>, Hana Lis Paiva de Souza<sup>1</sup>, Adem Nagibe dos Santos Geber Filho<sup>2</sup>.

1. Biomedicina. Centro Universitário Uninorte. AC, Brasil.
2. Ciências Biológicas. Universidade Federal do Acre, AC, Brasil.

\***Autor correspondente:** epereirabarroso@gmail.com

#### RESUMO

**Introdução:** Epigenética é o ramo da ciência que estuda as modificações das funções de genes que são meioticamente e mitoticamente herdáveis sem que haja uma mudança na sequência das bases do DNA. Em vista disso, essas modificações desempenham um papel fundamental em diversos aspectos do desenvolvimento natural. Vários mecanismos fazem parte dessa maquinaria, sendo esses a metilação do DNA, as modificações das histonas e os microRNAs. Todavia, a metilação é o mecanismo que ocorre na molécula do DNA. O mesmo consiste em uma ligação de um grupo metil no carbono 5 da citosina no contexto da sequência nucleotídica CpG. **Objetivo:** O estudo busca descrever os aspectos metilacionais associados ao desenvolvimento do câncer de mama. **Método:** Foi realizada uma revisão sistemática de literatura de caráter descritivo tendo como base trabalhos acadêmicos, livros e artigos disponíveis nos bancos de dados NCBI, SciELO, Science, Direct-Elsevier e *Google Scholar*. O período considerado no estudo foi de 2000 a 2018. Os artigos foram selecionados considerando a acessibilidade e excluindo-se revisões que não abordassem sobre metilação de DNA, câncer de mama e fatores epigenéticos. **Resultados e Discussões:** Diante dos artigos pesquisados, os eventos epigenéticos estão envolvidos diretamente com o surgimento de cânceres. Dentre esses eventos epigenéticos, a metilação do DNA é a que mais ocasiona danos ao genoma humano, causando alterações nos padrões de expressão gênica. **Conclusão:** Com isso, pôde-se notar uma grande relevância em entender esses mecanismos e em especial a metilação do DNA, pois possui uma grande importância para um perfeito funcionamento do corpo, como também contribui de forma significativa para o desenvolvimento de neoplasias, inclusive o câncer de mama, através do silenciamento dos genes BRCA1 e BRCA2.

**Palavras-chave:** Câncer de mama. Epigenética. Genes BRCA1 e BRCA2. Metilação do DNA.

#### ABSTRACT

**Introduction:** Epigenetics is the branch of science that studies changes in the functions of genes that are meiotically and mitotically inheritable without a change in the sequence of the DNA bases. In view of this, these modifications play a fundamental role in several aspects of natural development. Several mechanisms are part of this machinery, namely, DNA methylation, histone modifications and microRNAs. However, methylation is the mechanism that occurs in the DNA molecule. It consists of a bond of a methyl group on carbon 5 of the cytosine in the context of the nucleotide sequence CpG. **Objective:** The study seeks to describe the methylation aspects associated with the development of breast cancer. **Method:** A systematic literature review of a descriptive nature was carried out,

based on academic papers, books and articles available in the NCBI, SciELO, Science, Direct-Elsevier and Google Scholar databases. The period considered in the study was from 2000 to 2018. Articles were selected considering accessibility and excluding reviews that did not address DNA methylation, breast cancer and epigenetic factors. **Results and Discussions:** In view of the researched articles, epigenetic events are directly involved with the appearance of cancers. Among these epigenetic events, DNA methylation is the most damaging to the human genome, causing changes in gene expression patterns. **Conclusion:** With this, it was possible to notice a great relevance in understanding these mechanisms and especially the methylation of DNA, since it has a great importance for a perfect functioning of the body, as well as it contributes significantly to the development of neoplasms, including the breast cancer by silencing the BRCA1 and BRCA2 genes.

**Keywords:** Breast cancer. Epigenetics. BRCA1 and BRCA2 genes. DNA methylation.

## INTRODUÇÃO

O câncer de mama é considerado hoje um relevante problema de saúde pública. Tem sido a neoplasia maligna mais incidente em mulheres na maior parte do mundo. Conforme as últimas estatísticas mundiais do Globocan 2018, foram estimados 2,1 milhões de casos novos de câncer e 627 mil óbitos pela doença. No Brasil, as estimativas de incidência de câncer de mama para o ano de 2019 são de 59.700 casos novos, o que representa 29,5% dos cânceres em mulheres; em 2016, ocorreram 16.069 mortes de mulheres por câncer de mama no país <sup>1</sup>.

Essa neoplasia é uma doença díspar, com diversas individualidades moleculares e celulares, com clínicas de maneiras variáveis, distintas taxas de sobrevivências, incidência e comportamento diferente à terapia. Assim como outras neoplasias malignas, é resultante de descontrole de células anormais, que ocorrem em função de alterações genéticas, sejam elas hereditárias ou adquiridas por fatores

externos ou fisiológicos. Posto isto, o câncer de mama, assim como outros tipos de neoplasia, tem sido considerado uma doença epigenética ao mesmo ponto em que é considerada uma doença genética <sup>1, 2, 3, 4, .</sup>

Em 1942 foi criado por Conrad Waddington o termo epigenética, usado para representar todos os mecanismos necessários para ocorrer o desdobramento do programa genético para o desenvolvimento do corpo humano <sup>5</sup>. C.H. Waddington descreveu a epigenética como “a relação fortuita entre genes e seus produtos, que trazem o fenótipo a realidade”. Todavia, com o progresso da biologia molecular, verificou-se uma modificação nessa definição e, recentemente, foi denominada como: “uma mudança na função do gene que são meioticamente e mitoticamente sucessivas e que não compromete mudanças na sequência das bases do DNA”<sup>6, 7</sup>.

Em suma, as modificações epigenéticas desempenham papel fundamental em

diversos aspectos do desenvolvimento natural, entre eles, na embriogênese, na qual o "código epigenético" fica quiescente nos primeiros momentos após a concepção, sendo então reprogramado; na diferenciação celular, na qual múltiplos tipos celulares divergem fisiologicamente de um mesmo código genético; no imprinting genômico; na inativação do cromossomo X; no silenciamento de transpósons e na variação fenotípica entre indivíduos geneticamente idênticos<sup>8</sup>.

Assim, vários mecanismos fazem parte da maquinaria epigenética: a metilação do DNA, as modificações das histonas e os microRNAs. No entanto, a metilação do DNA é o mecanismo epigenético mais intensivamente estudado<sup>8</sup>. Em síntese, a metilação do DNA é uma modificação química que se observa pela ligação de um grupo metil no carbono 5 da citosina no contexto da sequência nucleotídica CpG, formando a 5-metilcitosina (5mC). A ilha CpG é um intervalo de DNA, na qual há uma constância do segmento CpG bem maior do que em outros sítios. A metilação do DNA é mediada pela DNA-metiltransferases (DNMTs) que acelera a transição do grupo metil da S-adenosilmetionina (SAM) para a citosina no sítio CpG<sup>9,10</sup>.

Contudo, as alterações causadas por progressos epigenéticos são hereditárias durante as divisões celulares, fornecendo uma memória do molde da expressão dos

genes que é primordial para o avanço normal e assomar na diferenciação da célula no organismo, como também irá eliminar a expressão de genes virais que foram agregados ao genoma do hospedeiro no decorrer do tempo. Além disso, essas alterações irão acarretar o desenvolvimento de patologias, entre elas as neoplasias<sup>8,11</sup>.

Dessa forma, mecanismos epigenéticos que controlam a transcrição de genes envolvidos em células de diferenciação, proliferação e sobrevivência são frequentemente alvos de desregulação no desenvolvimento maligno. Um dos mecanismos que é alvo dessas desregulações é a metilação do DNA<sup>11,12</sup>.

Por via de consequência, o câncer de mama, que pode suceder-se de silenciamento de genes, é um tipo de neoplasia mais comum entre as mulheres em todo o mundo<sup>13</sup>. A incidência cresce progressivamente e isso se dá devido a fatores de risco comportamentais-ambientais, relacionados à obesidade, sedentarismo, consumo de bebidas alcoólicas e exposição frequente a radiações ionizantes como raios-X e fatores epigenético e genético hereditário relacionado ao histórico familiar<sup>14</sup>.

Portanto, associar os fenômenos da metilação do DNA com o surgimento do câncer de mama é o objetivo deste trabalho, buscando apresentar os fatores ligados a metilação que causam alterações nos

padrões de expressão gênica do genoma humano.

## MATERIAL E MÉTODO

O trabalho, trata-se de uma revisão sistemática de literatura de caráter descritivo, tendo como base dados secundários de livros, trabalhos acadêmicos e artigos disponíveis nos bancos de dados eletrônicos National Center for Biotechnology Information (NCBI), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e ScienceDirect-Elsevier e *Google Scholar* onde a pesquisa foi realizada por meio das seguintes palavras-chave: câncer de mama, epigenética, genes BRCA1 e BRCA2 e metilação do DNA.

Foram incluídos artigos de língua inglesa e portuguesa que dissertam sobre a metilação do DNA, câncer de mama e fatores epigenéticos, considerando o espaço temporal de 2000 a 2018. Durante a pesquisa, foram encontrados 50 artigos envolvidos com o tema abordado, sendo utilizados 25 para realização deste trabalho. Além desses, foram incluídas 12 referências, entre livros, dissertações e trabalhos acadêmicos. Foram excluídos os artigos que não dissertam sobre a metilação do DNA, câncer de mama e fatores epigenéticos.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Cada célula no corpo é geneticamente idêntica, ou seja, elas compartilham o

mesmo conjunto de genes, mas precisam se diferenciar fenotipicamente em diversos tipos de células e tecidos para suportar um funcionamento normal do corpo humano<sup>7</sup>. Essa diferenciação celular é um conjunto de processos que transformam uma célula indiferenciada em uma célula especializada resultado da atuação de uma série de controles de expressão, que tendem a definir as vias bioquímicas e morfológicas de uma célula, capacitando-a eficazmente para uma determinada função<sup>15</sup>.

A capacidade de crescer e de se reproduzir é atributo fundamental de todas as células. No caso das células eucariontes, o processo básico de gênese de novas células obedece a um padrão cíclico que começa com o crescimento celular, determinado por um aumento quantitativo coordenado dos milhares de tipos diferentes de moléculas que a célula tem, inclusive de seu material genético, e culmina com a partição de seu núcleo e citoplasma em duas células-filhas. As células originadas repetem o ciclo, e o número de células aumenta exponencialmente. Este processo é denominado ciclo de divisão celular ou, simplesmente, ciclo celular<sup>16</sup>.

O ciclo celular pode ser dividido em duas grandes etapas: A interfase, aquela compreendida entre duas divisões sucessivas, em que a célula cresce e se prepara para nova divisão; e a mitose, onde

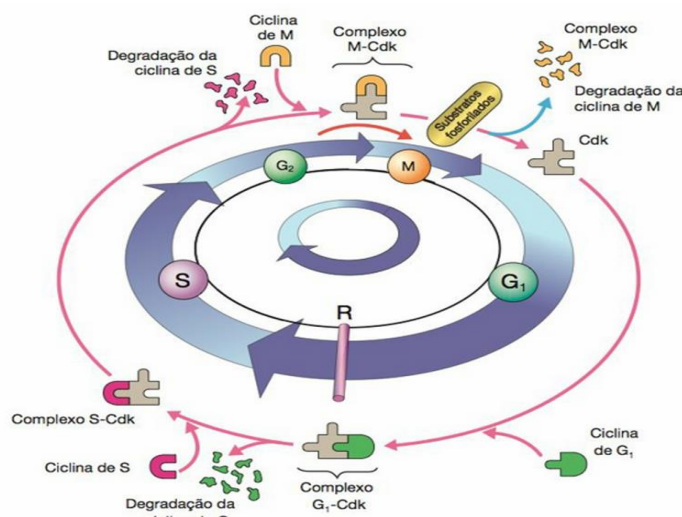
ocorre a divisão propriamente dita, pela qual se originam duas células-filhas<sup>16</sup>.

A etapa da interfase compreende 3 períodos, a fase G<sup>1</sup>, fase S e fase G<sup>2</sup>. Contudo, a fase G<sup>1</sup> é caracterizada pelo reinício da síntese de RNA e proteínas que estavam interrompidas durante a mitose. Mas grande relevância do período G<sup>1</sup> deve-se ao seu papel controlador de uma importante decisão celular: continuar proliferando ou retirar-se do ciclo e entrar em um estado quiescente (G<sup>0</sup>), estado onde se encontram as células altamente especializadas, como por exemplo, as células nervosas<sup>17</sup>.

Após passar pela fase G<sup>1</sup>, as células entram no período S, período esse onde acontece o início da síntese do DNA. Durante esse período, de uma maneira semiconservativa, a célula duplica seu

conteúdo de DNA com auxílio de enzimas (DNA polimerases), elaborando réplicas das moléculas, salvo processos estocásticos de mutações<sup>16</sup>.

No período G<sup>2</sup> ocorrem os preparativos necessários para as próximas fases, mas nem todas são conhecidas. Sabe-se, porém, que, antes de a célula passar pelo ponto de transição G<sup>2</sup>/M, é criticamente fundamental que a replicação tenha sido completada e que possíveis danos do DNA tenham sido completamente reparados. Para isso, existem mecanismos moleculares relacionados ao controle do ciclo celular, que estão associados principalmente às enzimas quinases de proteínas, denominadas quinases dependentes de ciclinas ou Cdk<sup>18</sup>. (figura 01)



**Figura 01:** Esquema dos mecanismos que controlam os eventos bioquímicos e celulares do ciclo celular<sup>16</sup>.

Apesar de todos os processos reparaos e modificações no DNA, existe a moleculares presentes nas células para susceptibilidade de algumas mudanças

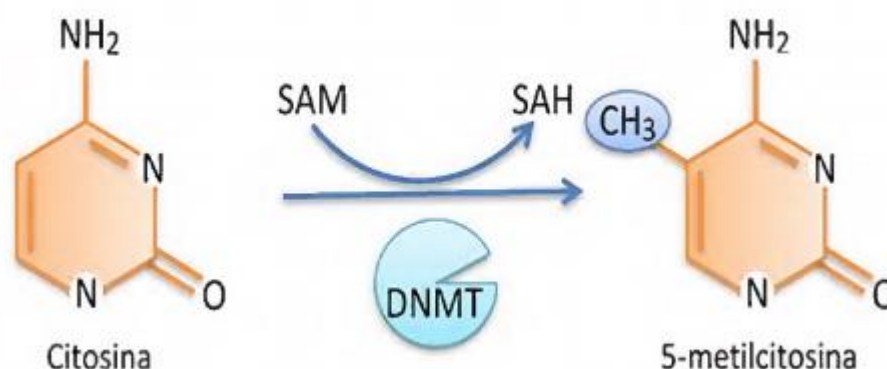


induzidas ou espontâneas, sendo mais conhecidas como mutações gênicas ou cromossômicas. Outra forma de variação da expressão gênica é a epigenética, onde apresenta uma série de mecanismos de regulação dessa expressão<sup>19</sup>.

Atualmente, os mecanismos epigenéticos mais estudados são: modificações das histonas, processo em que ocorre uma alteração nos resíduos de lisina ou arginina das histonas H3 e H4<sup>20</sup>. Com isso, o número de modificações e o local onde elas ocorrem proporcionam diferentes conformações da cromatina e, conseqüentemente, diferentes padrões de expressão gênica<sup>6</sup>. Também como mecanismo epigenético temos os RNAs não-codificantes ou MicroRNAs (miRNAs) que constituem uma classe de pequenos

RNAs endógenos que atuam como silenciadores pós-transcricionais, inibindo a tradução de RNAs mensageiros alvo. Diante desses mecanismos, o principal e o que afeta diretamente a expressão gênica no genoma é a metilação do DNA<sup>21</sup>.

A metilação do DNA é uma variação epigenética que pode levar à ativação ou inativação de genes. Equivale-se em uma alteração covalente do DNA onde um grupamento metil ( $\text{CH}_3$ ) é transmitido da S-adenosilmetionina para o carbono 5 de uma citosina (5-MeC) a qual regularmente precede a uma guanina (dinucleotídeo CpG), pela atividade de uma enzima que recebe o nome de DNA metiltransferase (DNMT)<sup>22</sup>, conforme ilustrado na figura 02.



**Figura 02:** Conformação química da citosina e representação da evolução da metilação alimentada por DNMT<sup>23</sup>.

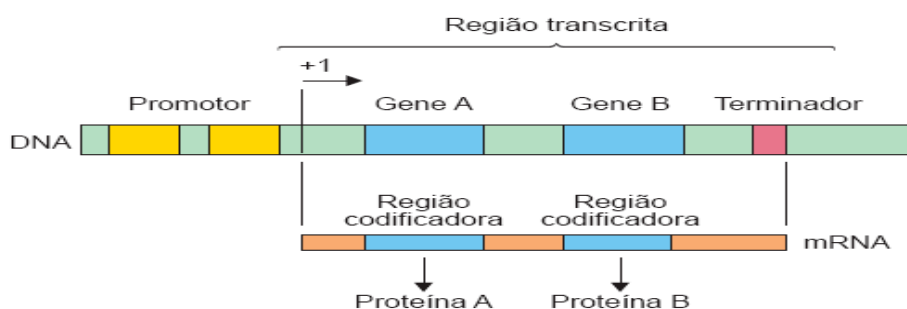
O processo de adição de um grupamento metil à citosina ocorre quase que

exclusivamente em citosinas localizadas à extremidade 5' de uma guanina, formando

um dinucleotídeo (CpG), os quais estão espalhados no genoma de forma relativamente escassa. No entanto, em determinadas áreas do genoma, ocorre uma concentração elevada de dinucleotídeos CpG, formando as “ilhas CpG” (CGIs), as quais são geralmente encontradas na região promotora de

diversos genes (cerca de 60% dos genes humanos)<sup>23</sup>.

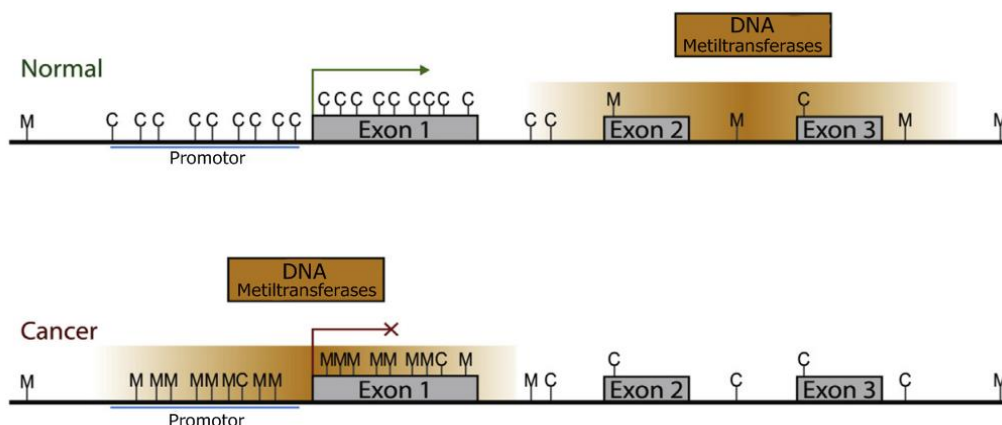
A região promotora é a grande responsável por sinalizar a partir de qual nucleotídeo irá iniciar a transcrição, qual fita do DNA será designada molde e em que direção a RNA polimerase irá se deslocar<sup>24</sup>. (Figura 03)



**Figura 03:** Regiões de uma unidade de transcrição normal sem metilação<sup>25</sup>.

Quando regiões promotoras de genes supressores de tumores como BRCA1 e BRCA2 que atuam no controle do ciclo celular, sofrem alterações, modificam as

vias bioquímicas e fisiológicas normais do organismo para via de angiogênese e carcinogênicas<sup>25</sup>. (Figura 04)

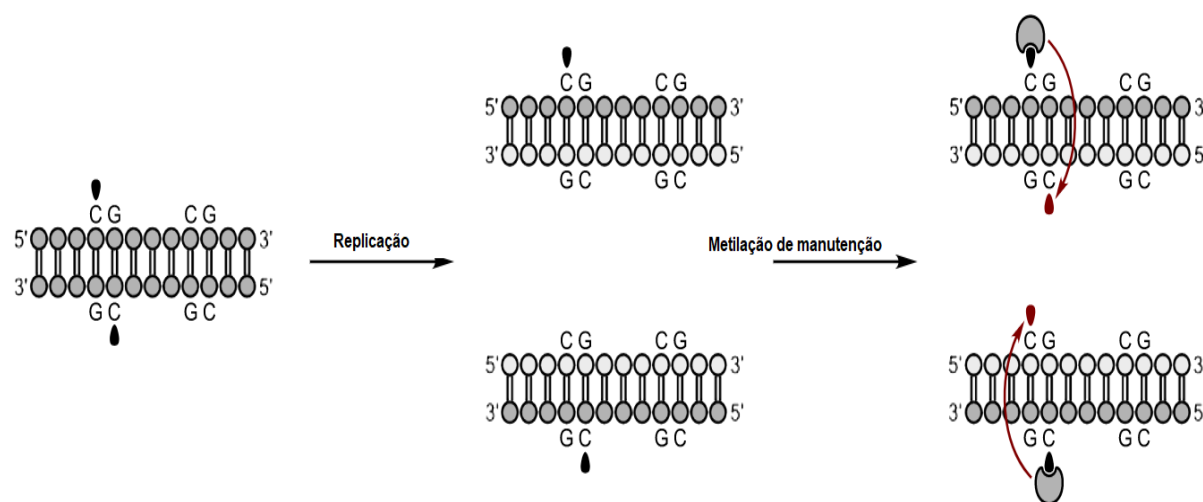


**Figura 04:** Metilação do DNA em células normais e cancerígenas<sup>26</sup>.

No entanto, quando essas regiões promotoras são metiladas, sofrem o

mecanismo de desregulação da expressão gênica que se caracterizam por serem

mitoticamente herdáveis, ou seja, passam da célula mãe para a célula filha durante o processo de mitose<sup>19</sup>. (Figura 05)



**Figura 05:** Esquema de metilação de manutenção de DNA por uma metiltransferase de manutenção das células molde para células-filhas<sup>27</sup>.

Vê-se, por conseguinte, que, nas células cancerígenas, as ilhas CpG de regiões promotoras normalmente não metiladas podem tornar-se metiladas, o que pode resultar no silenciamento de genes importantes, tais como genes supressores de tumores. Ao mesmo tempo, simultaneamente, os dinucleotídeos CpG em outras regiões podem se tornar não metilados, levando a uma repressão transcricional ruim de genes normalmente silenciados, como oncogenes<sup>12, 26</sup>.

A metilação do DNA envolve o silenciamento dos genes normais das células no processo de transcrição<sup>26</sup>, sendo essa delimitada por uma sequência no DNA chamada promotor, na qual se inicia a

transcrição, e uma sequência chamada terminador, na qual se encerra a transcrição<sup>25</sup>.

Existem algumas rotas principais as quais a metilação dos sítios CpG podem contribuir para a carcinogênese, sendo a hipometilação do genoma e hipermetilação da região, promotoras de genes supressores tumorais e mutagênese. A hipermetilação contribui com a tumorigênese por meio do silenciamento de genes supressores tumorais que estão envolvidos em processos celulares onde são importantes para o desenvolvimento e progressão do ciclo celular, diferente da hipometilação onde há uma falta de metilação ocasionado uma hiperexpressão

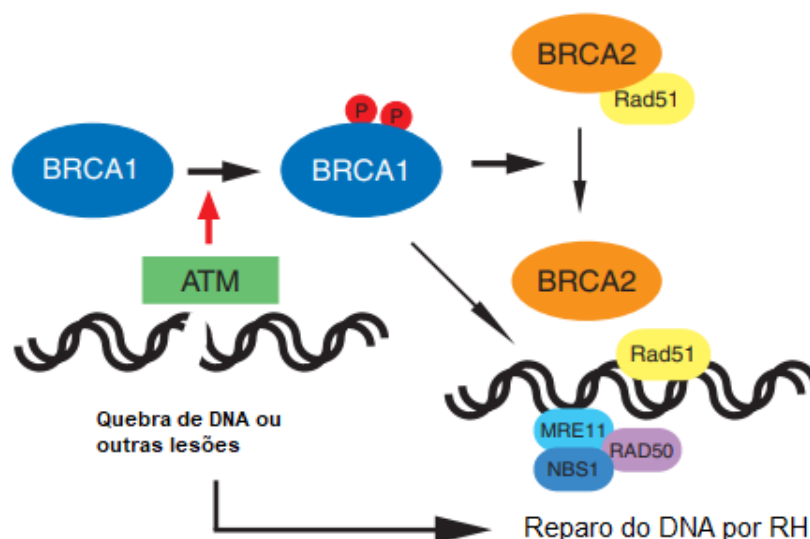


de genes ruins, como os oncogenes, portanto, o silenciamento epigenético ou a falta destes pode desencadear a iniciação tumoral<sup>28, 29, 30</sup>.

Entre os genes supressores tumorais, o gene BRCA1 foi o primeiro gene de susceptibilidade ao câncer de mama, estando no cromossomo 17q21. Subsequentemente, outro gene, o BRCA2, foi identificado. Ambos são genes supressores de tumor, e se encontram frequentemente inativados no desenvolvimento do câncer de mama, levando ao surgimento de instabilidade genômica, representada por translocações, duplicações e fusões aberrantes entre cromossomos não homólogos<sup>31</sup>.

Dentre as múltiplas funções do gene BRCA1, destacam-se atividade de reparo do DNA, regulação transcricional, progressão do ciclo celular e inativação meiótica de cromossomo sexual. Por sua vez, o gene BRCA2 funciona no reparo do DNA por recombinação homóloga<sup>32</sup>.

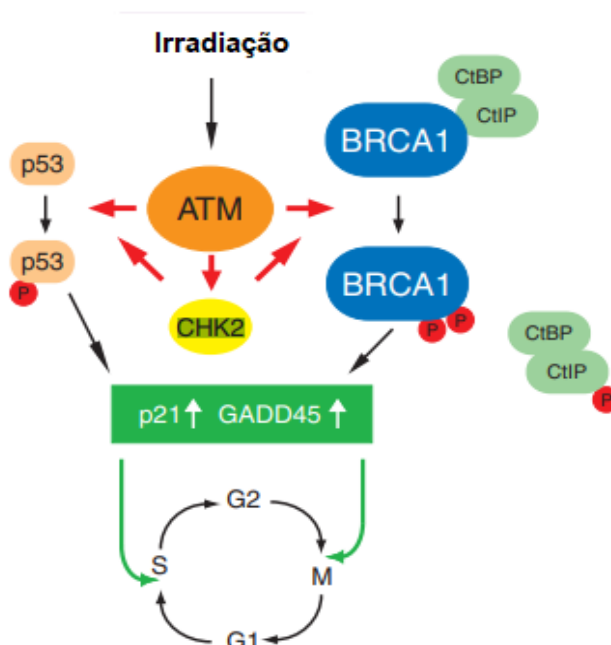
Quando danos ao DNA ocorrem, a BRCA1 se associa a múltiplas proteínas de reparo e reguladores de ciclo celular, sendo capaz de formar complexos que ativam o reparo na quebra da fita dupla de DNA e iniciam a recombinação homóloga (HR). Para que essa função ocorra, pequenas ligases modificadoras de ubiquitina são essenciais para a ligação de BRCA1 em locais de dano ao DNA<sup>33, 34</sup>. (Figura 06)



**Figura 06:** Um modelo para o papel das proteínas BRCA no reparo do DNA danificado<sup>35</sup>.

Os níveis de expressão de BRCA1, BRCA2 aumentam nas células quando estas entram na fase S do ciclo celular, indicando que essas proteínas são

necessárias durante e após a replicação do DNA. Isso significa que esses genes possuem uma função em comum: proteger a integridade do genoma e manter a estabilidade cromossômica<sup>36, 37</sup>. (Figura 07)



**Figura 07:** Papel do BRCA1 na regulação transcricional após exposição à radiação ionizante (IR)<sup>35</sup>.

Portanto, os genes supressores tumorais BRCA1 e BRCA2, além de outros, estão envolvidos em processos celulares que são importantes para o desenvolvimento e progressão do câncer de mama. Sendo assim, o silenciamento epigenético destes pode desencadear a iniciação tumoral. A hipermetilação, indiretamente, pode silenciar outras classes de genes por meio da inibição de fatores de transcrição e de genes responsáveis pelo reparo do DNA, possibilitando que as células tumorais adquiram outras alterações genéticas proporcionando rápida progressão neoplásica<sup>28, 29</sup>.

## CONCLUSÕES

Os eventos epigenéticos estão diretamente envolvidos com o surgimento de cânceres. Entre os eventos epigenéticos

estudados, a metilação do DNA é a que mais ocasiona danos ao genoma humano, sendo as modificações e alterações nos níveis de metilação dos promotores de ilhas CpGs, metilação de genes associada ao reparo do DNA, microRNAs, e proteínas histonas. Essa aparição se dá mediante o silenciamento dos genes supressores de tumores, entre eles, BRCA1 e BRCA2, que são responsáveis pelo controle do ciclo celular, na transcrição e no reparo de danos ao DNA.

Logo, tanto a hipermetilação quanto a hipometilação de sítios do DNA presumem estarem associadas à presença de câncer, sendo proposto que a hipermetilação favoreça a evolução do câncer ao silenciar genes supressores de tumores, instituindo que fenótipos cancerosos possuem menor resistência dos mecanismos de defesa

celulares intrínsecos e de maneira mais global, do sistema imunológico, em contrapartida, a hipometilação evitaria que genes oncogênicos fossem propriamente silenciados, possibilitando o avanço de quadros cancerosos.

Contudo, pôde-se verificar através da pesquisa a grande relevância em entender os mecanismos epigenéticos, tendo em vista a prevenção baseada no estilo de vida, pois se trata de uma mudança na função do gene que são meioticamente e mitoticamente herdáveis, ou seja, passa da célula mãe para a célula filha, sem ocorrerem mudanças na sequência das bases do DNA. E compreender que a metilação do DNA é importante, tanto em células normais para o perfeito funcionamento do organismo humano, quanto para o desenvolvimento de neoplasias, onde, através do silenciamento de genes supressores tumorais BRCA1 e BRCA2, promove um descontrole no ciclo celular ocasionando mudanças na expressão gênica e levando ao surgimento do câncer de mama.

## REFERÊNCIAS

1. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **A situação do câncer de mama no Brasil 2019**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/situacao-do-cancer-de-mama-no-brasil-sintese-de-dados-dos-sistemas-de-informacao>. Acesso em: 02 dez. 2019.
2. ABDEL-HAFIZ, H.A.; Horwitz, K. B. Post-translational modifications of the progesterone receptors. **The journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 140. p.80-89, 2014.
3. BERTOS, N. R.; Park, M. Review series Breast cancer — one term, many entities? **The Journal of Clinical Investigation**. v. 121, n. 10, p. 3789-3796, 2011.
4. ESTELLER, M.; Herman, J. G. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. **The Journal of pathology**. v. 196 n.1 p. 1-7, 2002.
5. ARAÚJO, Érica S. S. de. **Estabilidade do controle epigenético em células humanas normais e transformadas**. 2012. f. 81. Dissertação Mestrado em Ciência área Biologia/Genética-Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
6. DUPONT, C. *et al.* Epigenetics: Definition, Mechanisms and Clinical Perspective. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 27, n.5, p. 351-357, 2009.
7. BISWAS, S; MALLIKARJUNA R, C. Epigenetics in cancer. Fundamentals and Beyond, **PharmacolTher**, v. 173, p.118-134, 2017.
8. TABY, R; ISSA, P. J. Câncer Epigenetics. **CA: O Cancer Journal for Clinicians**, v. 60, n. 6, p. 376-392, 2010.
9. RAMSAHOYE, B. H. *et al.* Non-CpG methylation is prevalent in embryonic stem cells and may be mediated by DNA methyltransferase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 10, p. 5237-5242, 2000.

10. DE SMET, C. *et al.* Promoter-dependent mechanism leading to selective hypomethylation within the 5' region of gene MAGE-A1 in tumor cells. **Molecular and Cellular Biology**, v. 24, n. 11, p. 4781–4790, 2004.
11. KRISTENSEN, V. *et al.* Epigenetics of Breast Cancer. **Molecular Oncology**, v.4, n.3, p. 242-254, 2010.
12. KAWASAKI, H.; ABE, H. Epigenetics in cancer and inflammation, **Personalized Medicine Universe**, v. 1 n. 1, p.7-12, 2012.
13. HATZIAPOSTOULOU, M.; ILIOPOULOS, D.: Epigenetic aberrations during oncogenesis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 68, n. 10, p.1681-1702, 2011.
14. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Fatores de risco para o câncer de mama. 2019.** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/controlado-cancer-de-mama/fatores-de-risco>. Acesso em 02 de maio de 2019.
15. JUNQUEIRA, L. C. U; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 376 p.
16. PIRES, C. E. DE B. M; ALMEIDA, L. M. DE. **Biologia celular: estrutura e organização molecular**. 1. ed. São Paulo: ÉRICA, 2014. 120 p.
17. LODISH, H. *et al.* **Biologia Celular e Molecular**. 7. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2014. 1.210 p.
18. ZAHA, A.; FERREIRA, H. B.; PASSAGLIA, L. M. P. **Biologia molecular básica**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014, 416 p.
19. HARTWIG, F. P. **Aspectos genéticos e epigenéticos da amamentação**. 2018. 301 f. Dissertação Doutorado em Epidemiologia da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.
20. XU, X. *et al.* Genetic interactions between tumor suppressors BRCA1 and p53 in apoptosis, cell cycle and tumorigenesis. **Nature Genetics**, v.28, n.3, p.266-271, 2001.
21. ALMEIDA, M. I; REIS, R. M; CALIN, G. A. MicroRNA History: Discovery, Recent Apps, and Near Borders. **Mutation Research**, v. 717, p.1-8, 2011.
22. MORGAN H.D, *et al.* Activation-induced cytidine deaminase deaminates 5-methylcytosine in DNA and is expressed in pluripotent tissues: implications for epigenetic reprogramming. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n.50, p.52353–52360, 2004.
23. LEWANDOWSKA, J.; BARTOSZEK, A. (2011). DNA methylation in cancer development, diagnosis and therapy - multiple opportunities for genotoxic agents to act as methylome disruptors or remediators. **Mutagenesis**, v.26 n.4, p.475–87, 2011.
24. PIMENTEL, M.M.G; SANTOS-REBOUÇAS, C.B; GALLO, C.V.M. **Genética Essencial**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 312 p.
25. MENCK, C. F. M.; SLUYS, M. A. V. **Genética Molecular Básica**. Dos Genes aos Genomas. 1ª edição. Guanabara Koogan, 2017. 528 p.
26. KLAJIC, J.; KRISTENSEN, V. **Epigenetics of Breast Cancer: Mecanismos epigenéticos no câncer.**, v.3, capítulo 6, Academic press, 2018. 392 p.

27. KREBS, J. E.; GOLDSTEIN, E. S.; KILPATRICK, S. T. **Lewin's Genes XII** 12. ed.12. Jones & Bartlett learning, 2017. 838 p.
28. SHIKHAR, S.; KELLY, T. K.; JONES, P. A.: Epigenetics in cancer. **Carcinogenesis** v.31, n. 1, p.27-36, 2010.
29. HATZIAPOSTOLOU, M.; ILIOPOULOS, D.: Epigenetic aberrations during oncogenesis. **Cell. Mol. Life Sci** v.68, n.10, p.1681-1702, 2011.
30. FERREIRA, V. C. **Perfil de metilação e mutação do gene BRCA1 em tumores mamários caninos**. 2015. f. 53. Dissertação Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia área Saúde Animal/Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2015.
31. RAMALHO, E. A V. F. **Avaliação alterações nos genes p53, BRCA1 e BRCA2 em Carcinoma Ductal Invasivo de Mama (CDI)**. 2012. f. 48. Dissertação Mestrado em Biologia Aplicada à Saúde/Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.
32. BOULTON, S.J. Cellular functions of the BRCA tumour-suppressor proteins. **Biochemical Society Transactions**. v. 34, n.5 p. 633-645, 2006.
33. GALANTY, Y. *et al.* Mammalian SUMO E3-ligases PIAS1 and PIAS4 promote responses to DNA double-strand breaks. **Nature**. v. 462, n.7275, p.935-939, 2009.
34. FILIPPINI, S. E.; VEGA, A. Breast câncer genes: beyond BRCA1 and BRCA2. *Frontiers in* **Bioscience**. v. 18, n.4, p. 1358-1372, 2013.
35. YOSHIDA, K.; MIKI, Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. **Cancer Science**. v. 95, n.11, p. 866-871, 2004.
36. SCULLY, R.; LIVINGSTON, D.M.: In search of the tumour suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. **Nature**. v. 408, p.429-432, 2000.
37. VAN DER GROEP, R; VAN DER WALL, E.; VAN DIEST, R.J.: Pathology of hereditary breast câncer. **Cell Oncol**. v. 34, n. 2, p.71-88, 2011.