

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 23/02/2028.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

ROBERTA CARVALHO CESÁRIO

EFEITOS ANTITUMORAIS DA MELATONINA NO CÂNCER DE
MAMA: REPROGRAMAÇÃO METABÓLICA, REGULAÇÃO REDOX
E MODULAÇÃO DE REDES PROTEÔMICAS EM SUBTIPOS
LUMINAL E TRIPLO-NEGATIVO

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

EFEITOS ANTITUMORAIS DA MELATONINA NO CÂNCER DE
MAMA: REPROGRAMAÇÃO METABÓLICA, REGULAÇÃO REDOX
E MODULAÇÃO DE REDES PROTEÔMICAS EM SUBTIPOS
LUMINAL E TRIPLO-NEGATIVO

ROBERTA CARVALHO CESÁRIO

PROF. DR. LUIZ GUSTAVO DE ALMEIDA CHUFFA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional.

Prof. Dr. Luiz Gustavo de Almeida Chuffa

C421e

CESÁRIO, ROBERTA CARVALHO

Efeitos antitumorais da melatonina no câncer de mama:
reprogramação metabólica, regulação redox e modulação de redes
proteômicas em subtipos luminal e triplo-negativo / ROBERTA
CARVALHO CESÁRIO. -- Botucatu, 2026

41 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Biotecnologia, Botucatu

Orientador: Luiz Gustavo de Almeida Chuffa

1. Mamas Câncer. 2. Melatonina. 3. Análise dos Proteomas. 4.
Metabolismo energético. 5. Células Metabolismo. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE ROBERTA CARVALHO CESARIO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA GERAL E APLICADA, DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 23 de fevereiro de 2026, às 9h, no(a) Instituto de Biociências/Unesp, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de ROBERTA CARVALHO CESARIO, intitulada "Efeitos Antitumorais da Melatonina no Câncer de Mama: Reprogramação Metabólica, Regulação Redox e Modulação de Redes Proteômicas em Subtipos Luminal e Triplo-Negativo". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. LUIZ GUSTAVO DE ALMEIDA CHUFFA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / UNESP / Câmpus de Botucatu - IBB, Profa. Dra. DEBORA APARECIDA PIRES DE CAMPOS ZUCCARI (Participação Virtual) do(a) Laboratório de Investigação Molecular do Câncer - LIMC / Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto/FAMERP, Pesquisadora Científica LUCILENE DELAZARI DOS SANTOS (Participação Presencial) do(a) Coordenadoria Executiva - Instituto de Biotecnologia / UNESP / Reitoria - RUNESP, Pós-Doutorando MATHEUS NAIA FIORETTO (Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / UNESP / Câmpus de Botucatu - IBB, Profa. Dra. JUCIMARA COLOMBO (Participação Virtual) do(a) Departamento de Biologia Molecular / Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA _ _ _ _ . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. LUIZ GUSTAVO DE ALMEIDA CHUFFA

Impacto potencial desta pesquisa

Título da tese: Efeitos da melatonina sobre o perfil proteômico global de células de carcinoma mamário (linhagens MCF-7 e MDA-MB-468)

Este estudo apresenta impactos científicos, sociais e econômicos relevantes ao aprofundar a compreensão dos mecanismos moleculares e metabólicos associados à ação antitumoral da melatonina no câncer de mama. Do ponto de vista científico, a investigação integrada do perfil proteômico global e do metabolismo energético contribui para o avanço do conhecimento sobre a reprogramação metabólica tumoral e suas implicações na progressão e agressividade do câncer de mama. A identificação de proteínas e vias metabólicas moduladas pela melatonina aponta para potenciais alvos terapêuticos e biomarcadores prognósticos, ampliando as estratégias de abordagem personalizada para diferentes subtipos tumorais. Sob a perspectiva social, os achados deste trabalho podem contribuir para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas complementares mais eficazes e menos agressivas, atuando potencialmente como adjuvante terapêutico, especialmente relevantes para subtipos de pior prognóstico, como o câncer de mama triplo-negativo, podendo refletir positivamente a melhora da qualidade de vida e da sobrevida das pacientes. Do ponto de vista econômico, a elucidação de mecanismos associados a um agente de baixo custo, reduzida toxicidade, e ampla disponibilidade, como a melatonina, abre perspectivas para a racionalização de estratégias terapêuticas e de manejo da doença, com potencial impacto na redução de gastos relacionados a tratamentos oncológicos complexos e de alto custo, beneficiando os sistemas de saúde e a sociedade.

Potential Impact of This Research

Thesis title: Effects of melatonin on the global proteomic profile of breast carcinoma cells (MCF-7 and MDA-MB-468 cell lines)

This study presents relevant scientific, social, and economic impacts by deepening the understanding of the molecular and metabolic mechanisms associated with the antitumor actions of melatonin in breast cancer. From a scientific perspective, the integrated investigation of the global proteomic profile and energy metabolism contributes to advancing knowledge on tumor metabolic reprogramming and its implications for breast cancer progression and aggressiveness. The identification of melatonin-modulated proteins and metabolic pathways may provide new therapeutic targets and potential prognostic biomarkers, thereby expanding personalized treatment strategies for different tumor subtypes. From a social standpoint, the findings of this work may positively impact public health by contributing to the development of more effective and less aggressive therapeutic approaches, potentially acting as adjuvant and particularly relevant for poor-prognosis subtypes such as triple-negative breast cancer, ultimately improving patients' quality of life and survival. From an economic perspective, elucidating mechanisms associated with a low-cost and widely available agent such as melatonin may help reduce expenses related to complex and high-cost oncological treatments, while optimizing disease prevention and management strategies, generating direct benefits for healthcare systems and society.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família, em especial aos meus pais, Edna e Roberto, que sempre apoiaram cada um dos meus passos e me deram todo o suporte para que eu pudesse trilhar o caminho que escolhesse. Sem vocês, nada disso seria possível.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Gustavo de Almeida Chuffa, por me acolher e orientar durante toda a minha jornada na pós-graduação. Sou imensamente grata pela confiança depositada em mim, mesmo quando eu mesma duvidava, pelo conhecimento compartilhado, pela gentileza e pelo apoio nos momentos mais conturbados, sempre com palavras de incentivo. Levarei isso comigo para sempre.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro que tornou possível a execução desta pesquisa. Mais do que um investimento no meu trabalho, é um investimento no fortalecimento da ciência brasileira.

A todos os colegas que estiveram presentes nessa trajetória, em especial Letícia, Henrique e Maira, por todo o ensinamento, apoio e acolhimento dentro e fora da Universidade — vocês foram essenciais. À Karol, Victória e Joyce, pela ajuda científica e pelas conversas e desabafos que tornaram o processo mais leve.

À Beatriz, presença constante nos momentos de alegria e nas horas mais difíceis. Obrigada por vibrar comigo a cada conquista e por segurar minha mão nas incertezas.

Por fim, a todos os professores que, ao longo da minha vida acadêmica, estiveram sempre dispostos a transmitir seus conhecimentos, deixo meu profundo reconhecimento e gratidão.

Prólogo

A elaboração desta tese também proporcionou a oportunidade de desenvolver, além do projeto inicialmente proposto, atividades acadêmicas complementares que ampliaram o alcance desta pesquisa, incluindo experiências em docência, participação em eventos científicos, publicação de artigos, atuação em bancas acadêmicas, ações de extensão universitária e coorientação de trabalhos, contribuindo de forma significativa para minha formação científica e acadêmica.

Resumo das atividades acadêmicas desenvolvidas durante o doutorado:

Estágio docência

Programa institucional de Aperfeiçoamento e Apoio à Docência no Ensino Superior - PAADES – Disciplina “A célula doente” para o curso de Medicina.

Apresentação de trabalho

- Simpósio Anual do Programa de Pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada (2023, 2024 e 2025)
 - Apresentação de trabalho - “Efeitos da melatonina sobre o perfil proteômico global de células de carcinoma mamário (linhagens MCF-7 e MDA-MB-468)”.
- XXII Congresso Brasileiro de Biologia Celular – 11 a 13 de julho de 2024 – Apresentação de trabalho - Melatonin modulates cell survival and migration in mcf-7 breast cancer cells.
- XIII Congresso de Biociências (2024) – Apresentação de trabalho - Extratos De *Pyrostegia Venusta* (Ker Gawl.) Miers Apresentam Capacidade Antioxidante E Aumentam A Viabilidade De Células Hacat.
- XXXVI Congresso de Iniciação Científica da Unesp – Apresentação de trabalho - Extrato de bergamota (*Citrus Bergamia*) na cultura primária de osteossarcoma canino.
- XXXIX Encontro Annual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE) – Apresentação de Trabalho – “Role of melatonin in suppressing tumor progression in MCF-7 and MDA-MB-468 breast carcinoma cell lines”
- XXXIX Encontro Annual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE) – Apresentação de Trabalho – “Melatonin and cisplatin differentially modulate the expression of genes associated with energy metabolism in hepatocellular carcinoma cells”.
- Simpósio Anual do Programa de Pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada (2025) – Apresentação de trabalho - “Efeitos da melatonina sobre o perfil proteômico global de células de carcinoma mamário (linhagens MCF-7 e MDA-MB-468)”.

- XIV Congresso de Biociências – Apresentação de trabalho – “Melatonina modula viabilidade celular e metabolismo de aminas biogênicas em linhagens de câncer de mama (mcf7 e mda-mb-468).
- XIV Congresso de Biociências – Apresentação de trabalho – Avaliação da capacidade antioxidante, citotóxica e antimigratória de extratos hidroalcoólicos de *syzygium cumini* em células de carcinoma hepatocelular
- XXXVII Congresso de Iniciação Científica da Unesp - IB/Botucatu – Apresentação de Trabalho
- Investigação do tratamento com melatonina em células de câncer de ovário: avaliação dos filamentos de actina por fluorescência
- XXXVII Congresso de Iniciação Científica da Unesp - IB/Botucatu – Apresentação de Trabalho
- Investigação do tratamento com melatonina em células de câncer de ovário: avaliação das mitocôndrias por fluorescência.
- X WORKBIOTECH: Workshop da pós-graduação em biotecnologia – Apresentação de trabalho
- Atividade antioxidante, citotóxica e antimigratória de extratos da folha e semente de *Syzygium cumini* em linhagem celular HepG2.
- XIII Encontro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu – Apresentação de trabalho – Repercussões da aplicação da melatonina isolada ou associada ao 1-METILTRIPTOFANO sobre células de carcinoma ovariano humano (SKOV-3)
-
- **Artigos publicados**
- Silveira, H. S., Cesário, R. C., Vígaro, R. A., Gaiotte, L. B., Cuciello, M. S., Guimarães, F., Seiva, F. R. F., Zuccari, D. A. P. C., Reiter, R. J., & Chuffa, L. G. A. (2024). Melatonin changes energy metabolism and reduces oncogenic signaling in ovarian cancer cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 592, 112296. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2024.112296>
- Chuffa, L. G. A., Seiva, F. R. F., Silveira, H. S., Cesário, R. C., Tonon, K. D. S., Simão, V. A., Zuccari, D. A. P. C., & Reiter, R. J. (2024). Melatonin regulates endoplasmic reticulum stress in diverse pathophysiological contexts: A comprehensive mechanistic review. *Journal of Cellular Physiology*, 239(11), e31383. <https://doi.org/10.1002/jcp.31383>
- SILVEIRA, H. S.; CESÁRIO, R. C.; SIMÃO, V. A.; et al. Melatonin promotes cytotoxicity while reducing cell motility and antioxidant defenses in ovarian cancer cell lines. *Toxicology Reports*, v. 15, p. 102149, 2025. DOI: 10.1016/j.toxrep.2025.102149.
- SIMÃO, V. A.; FLORIANO, J. F.; CESÁRIO, R. C. et al. Extracellular signaling molecules from adipose-derived stem cells and ovarian cancer cells induce a hybrid epithelial– mesenchymal

phenotype in a bidirectional interaction. Cells, v. 14, n. 5, p. 374, 2025. DOI: 10.3390/cells14050374.)

Banca de trabalhos científicos (Anexo)

- Banca em evento científico: XIII Congresso de Biociências (2024 e 2025).
- Banca em evento científico: XXXVI Congresso de Iniciação Científica da Unesp - IB/Botucatu (2024).
- Banca de Trabalho de Conclusão de Curso: Centro Universitário Sudoeste Paulista (UniFSP) – Avaré-SP (2024).

Eventos de extensão

- I e II Escola de Inverno – Estação do Saber (2024 e 2025) - Monitoria – 30 horas.
- XVI Venha Conhecer o IB (2024 e 2025) - Monitoria – 4 horas.

Coordenações

- Coordenação de aluna de graduação em Física médica no trabalho de conclusão de curso intitulado: Investigação do tratamento com melatonina em células de câncer de ovário: avaliação dos filamentos de actina por fluorescência
 - Coordenação da Aluna Mariana Erustes Martins de Iniciação Científica com o trabalho intitulado: Investigação do tratamento com melatonina em células de câncer de ovário: avaliação das mitocôndrias por fluorescência
- Coordenação da Aluna Juliana Cavicchioli Martins de Iniciação Científica com o trabalho intitulado: Investigação do tratamento com melatonina em células de câncer de ovário: avaliação dos filamentos de actina por fluorescência

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
LISTA DE FIGURAS	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Câncer de Mama: aspectos gerais e subtipos moleculares.....	13
1.2 Melatonina: aspectos gerais e relação com o câncer	15
1.3 Mitocôndrias, núcleo e síntese proteica no câncer de mama	18
1.4 Análise proteômica: câncer de mama e a melatonina.....	22
2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA DO TEMA	23
3. HIPÓTESE.....	23
4. OBJETIVO GERAL.....	24
4.1 Objetivos Específicos	24
 CAPÍTULO 1	
ABSTRACT	25
1. INTRODUCTION	25
2. MATERIALS AND METHODS	27
3. RESULTS	33
4. DISCUSSION.....	42
5. CONCLUSIONS	45
REFERENCES	45
 CAPÍTULO 2	
ABSTRACT	50
1. INTRODUCTION	50
2. MATERIALS AND METHODS	51
3. RESULTS	54
4. DISCUSSION.....	69
5. CONCLUSIONS	71
REFERENCES	71
 CONCLUSÕES GERAIS	74
Referencias.	75

LISTA DE ABREVIATURA

AANAT – Aralkylamine N-acetyltransferase
ABCAM – Abcam (fornecedor de anticorpos e reagentes)
AKT – Protein kinase B
ANOVA – Analysis of Variance (Análise de variância)
ATCC – American Type Culture Collection
ATP – Adenosina trifosfato
BSA – Bovine Serum Albumin (Albumina sérica bovina)
CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAT – Catalase
CPTAC – Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium
CS – Citrate Synthase (Citrato sintase)
CT – Controle
DMEM – Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DTT – Ditioneitol
EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
FBS – Fetal Bovine Serum (Soro fetal bovino)
GO – Gene Ontology
GSH – Glutathione reduzida
HCD – Higher-energy Collisional Dissociation
HPLC – High-Performance Liquid Chromatography
LC-MS/MS – Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry
PDK – Pyruvate Dehydrogenase Kinase
ROS – Reactive Oxygen Species
RPMI – Roswell Park Memorial Institute medium
TIMP1 – Tissue Inhibitor of Metalloproteinases 1
TNBC – Triple-Negative Breast Cancer
UALCAN – University of Alabama at Birmingham Cancer Data Analysis Portal
WHO – World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classificação molecular do câncer de mama e prognóstico associado.....	15
Figura 2: Resumo esquemático dos processos celulares modulados pela melatonina em células normais e tumorais.....	16
Figura 3: Mecanismos moleculares das propriedades antitumorais da melatonina no câncer de mama associados à regulação da síntese de estrogênio	17
Figura 4: Comparação entre o metabolismo energético de células normais e células tumorais, destacando a predominância da fosforilação oxidativa em células diferenciadas e da glicólise aeróbica (efeito Warburg) em células altamente proliferativas.....	19
Figura 5: Esquema ilustrativo da supressão do metabolismo mitocondrial tumoral mediada pela melatonina	21

RESUMO

O câncer de mama é a neoplasia mais incidente entre mulheres e apresenta elevada heterogeneidade molecular, refletindo diferenças marcantes em comportamento biológico, resposta terapêutica e prognóstico. Entre os mecanismos associados à progressão tumoral, a reprogramação metabólica destaca-se por envolver alterações coordenadas no metabolismo energético, na função mitocondrial, no controle redox e em vias metabólicas associadas a aminas biogênicas e poliaminas. Nesse contexto, a melatonina tem emergido como um modulador metabólico com potencial efeito oncostático, capaz de atuar em múltiplas vias celulares, com efeitos dependentes do contexto tumoral. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da melatonina sobre processos celulares associados à progressão tumoral e sobre o perfil proteômico global e mitocondrial de células de câncer de mama com bom e mau prognóstico, utilizando as linhagens MCF-7 (luminal A) e MDA-MB-468 (triplo-negativa). Os resultados demonstraram que o tratamento com melatonina reduz significativamente a viabilidade celular, bem como as capacidades migratória e invasiva em ambas as linhagens, sendo os efeitos mais consistentes observados nas células MCF-7. Em nível molecular, a melatonina promoveu modulação negativa de proteínas-chave associadas ao metabolismo energético e à resposta à hipóxia, incluindo GAPDH e HIF-1 α , além de alterações na expressão e na atividade de enzimas mitocondriais, indicando comprometimento da capacidade metabólica tumoral. Adicionalmente, o tratamento com melatonina induziu alterações no equilíbrio redox, caracterizadas por aumento de marcadores de estresse oxidativo e modulação das enzimas antioxidantes, bem como alterações no perfil de aminas biogênicas e poliaminas, sugerindo uma remodelação metabólica integrada. A análise proteômica global e mitocondrial revelou uma regulação coordenada, predominantemente negativa, de proteínas envolvidas em vias bioenergéticas, metabolismo de carboidratos, resposta ao estresse oxidativo e progressão tumoral. A integração desses dados com análises *in silico* indicou associação clínica de genes modulados pela melatonina com parâmetros de progressão tumoral, além de potencial valor diagnóstico em coortes independentes de pacientes. De forma integrada, os achados desta tese demonstram que a melatonina impõe uma restrição metabólica às células de câncer de mama, particularmente em nível mitocondrial, impactando diretamente características associadas a agressividade tumoral. Esses resultados ampliam a compreensão dos mecanismos moleculares associados à ação antitumoral da melatonina e sustentam sua investigação como agente adjuvante, especialmente no contexto de estratégias terapêuticas personalizadas para diferentes subtipos de câncer de mama.

Palavras-chave: câncer de mama; melatonina; Proteômica; metabolismo mitocondrial (Mitochondria, Energy Metabolism, Oxidative Phosphorylation).

ABSTRACT

Breast cancer is the most prevalent malignancy among women and exhibits marked molecular heterogeneity, reflecting substantial differences in biological behavior, therapeutic response, and prognosis. Among the mechanisms associated with tumor progression, metabolic reprogramming stands out by involving coordinated alterations in energy metabolism, mitochondrial function, redox control, and the metabolism of biogenic amines and polyamines. In this context, melatonin has emerged as a promising oncostatic agent, capable of selectively modulating multiple cellular pathways in tumor cells. The present study aimed to evaluate the effects of melatonin on cellular processes associated with tumor progression and on the global proteomic profile of breast cancer cells with favorable and unfavorable prognosis, using the MCF-7 (luminal A) and MDA-MB-468 (triple-negative) cell lines as experimental models. The results demonstrated that melatonin treatment significantly reduced cell viability as well as migratory and invasive capacities in both cell lines, with more pronounced effects observed in MCF-7 cells. At the molecular level, melatonin promoted the negative modulation of proteins associated with energy metabolism and hypoxic response, including GAPDH and HIF-1 α , in addition to alterations in the expression and activity of mitochondrial enzymes, indicating impairment of tumor metabolic capacity. Furthermore, melatonin treatment induced redox imbalance, characterized by increased markers of oxidative stress and modulation of antioxidant enzymes, as well as changes in the profile of biogenic amines and polyamines, reinforcing the occurrence of broad metabolic remodeling. Global and mitochondrial proteomic analyses revealed coordinated regulation of proteins involved in bioenergetic pathways, carbohydrate metabolism, oxidative stress response, and tumor progression. Integration of these data with *in silico* analyses indicated the clinical relevance of melatonin-modulated genes, showing associations with tumor progression and diagnostic potential in patient cohorts. Taken together, the findings of this thesis demonstrate that melatonin acts by imposing a global metabolic restriction on breast cancer cells, particularly at the mitochondrial level, directly impacting tumor aggressiveness. These results expand the understanding of the molecular mechanisms underlying the antitumor action of melatonin and reinforce its potential as an adjuvant agent in personalized therapeutic strategies for different breast cancer subtypes.

Keywords: breast cancer; melatonin; proteomics; mitochondrial metabolism.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Câncer de mama: fatores de risco e variedades

Segundo a Organização Mundial da Saúde, o número de novos casos de câncer pode crescer cerca de 70% até o ano de 2030. Nesse contexto, o câncer de mama (CM) contribui estatisticamente para esse aumento, pois é o mais incidente entre os cânceres em mulheres nos Estados Unidos (SIEGEL et al., 2022). No Brasil, as estimativas indicam a ocorrência de 73.610 novos casos por ano no triênio 2023–2025 (INCA, 2023). Entre os principais fatores de risco associados ao CM, destaca-se o envelhecimento. O envelhecimento constitui o principal fator de risco não modificável para o câncer de mama, refletindo o acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas ao longo da vida (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2026). Outro fator de risco relevante é o histórico familiar, especialmente em casos associados a mutações germinativas em genes de alta penetrância, como BRCA1 e BRCA2, que conferem maior suscetibilidade ao desenvolvimento do câncer de mama. Entretanto, tais mutações explicam apenas uma parcela minoritária dos casos. Adicionalmente, fatores reprodutivos relacionados ao tempo de exposição hormonal, como menarca precoce e menopausa tardia, bem como aspectos do histórico reprodutivo, uso de terapia de reposição hormonal e fatores de estilo de vida, podem contribuir para o aumento do risco da doença (SUN et al., 2017).

Por se tratar de um câncer com potencial de progressão e disseminação metastática quando diagnosticado em estágios avançados, o CM pode atingir órgãos distantes, como fígado, pulmão e cérebro, o que contribui para um prognóstico desfavorável. Nesse sentido, o diagnóstico precoce é de suma importância, pois está diretamente associado a maiores taxas de sobrevida global (BUDNY et al., 2019). Entre as estratégias de detecção, o rastreamento mamográfico constitui a principal ferramenta, enquanto o autoexame das mamas tem papel complementar, voltado a conscientização corporal, podendo auxiliar na identificação precoce de alterações mamárias suspeitas. Na presença de achados clínicos ou radiológicos, é indicado o prosseguimento da investigação diagnóstica, sendo a mamografia associada a uma redução de aproximadamente 19% na mortalidade associada ao CM (INCA, 2015).

Após a confirmação histopatológica de malignidade pelo patologista, o material tumoral é rotineiramente submetido à análise por imuno-histoquímica, com o objetivo de caracterizar o perfil de expressão dos principais marcadores utilizados na definição do subtipo do câncer de mama. Para um diagnóstico preciso quanto ao tipo histológico, grau de diferenciação tumoral, status dos receptores de estrogênio e progesterona e expressão do receptor do fator de crescimento epidérmico tipo 2 (HER2), faz-se necessária a realização de análises histológicas complementadas por testes imuno-histoquímicos, e quando indicado, citogenéticos. Essas abordagens permitem a

adequada determinação do subtipo biológico do tumor e, consequentemente, o direcionamento terapêutico mais específico e individualizado (McDONALD et al., 2016; BUDNY et al., 2019). Com base nesse perfil molecular, o câncer de mama é estratificado em subtipos biológicos associados a diferentes comportamentos clínicos e prognósticos. De forma geral, os tumores que expressam os receptores de estrogênio (ER+) e progesterona (PR+), classificados como luminais A ou luminais B, correspondem a aproximadamente 70% dos casos. Um segundo grupo é constituído pelos tumores com superexpressão de HER2,

responsáveis por cerca de 20% dos casos. Já os tumores triplo-negativos, caracterizados pela ausência de expressão de ER, PR e HER2, são menos incidentes, representando de 10 a 20% dos casos de câncer de mama (BARZAMAN et al., 2020).

A classificação molecular do CM é determinante para a definição da estratégia terapêutica e para a estimativa do prognóstico. Os tumores com expressão positiva de receptores hormonais são os mais incidentes, e em geral, apresentam melhor prognóstico, em razão da boa resposta às terapias endócrinas. Em contrapartida, os tumores triplo-negativos apresentam menor incidência, e são caracterizados por maior agressividade biológica, opções terapêuticas limitadas e pior prognóstico clínico (TSANG; TSE, 2020).

O tratamento do CM varia conforme o subtipo molecular. Tumores ER+/PR+ são tratados principalmente com terapia endócrina, podendo ser associada à quimioterapia em casos específicos, como doença de alto risco. Nos tumores HER2+, são utilizadas terapias baseadas em anticorpos monoclonais, como o trastuzumabe, geralmente em associação à quimioterapia, sendo a terapia endócrina indicada quando há positividade concomitante dos receptores hormonais. Já para os tumores triplo-negativos, a quimioterapia sistêmica permanece como a principal opção terapêutica disponível (BARZAMAN et al., 2020; WAKS; WINER, 2019) (Figura 1).

A resposta ao tratamento e a sobrevida das pacientes também variam de acordo com o estadiamento tumoral. No estágio I, a taxa de sobrevida é superior a 98% nos subtipos ER+/PR+ e HER2+, reduzindo-se para aproximadamente 85% nos tumores triplo-negativos. No estágio metastático, o tempo médio de sobrevida varia de 4 a 5 anos para tumores hormônio-positivos e/ou HER2+ e de 10 a 13 meses para o subtipo triplo-negativo (WAKS; WINER, 2019).

Apesar da resposta inicial favorável aos tratamentos, muitas pacientes apresentam recidivas e resistência intrínseca ou adquirida aos quimioterápicos, o que contribui para a redução da sobrevida global (BUTTI et al., 2019). Dessa forma, estudos que busquem identificar alterações nas células tumorais são fundamentais para o desenvolvimento de novas estratégias diagnósticas e terapêuticas, visando minimizar recorrências tumorais e aumentar a sobrevida das pacientes.

5 Main Intrinsic or Molecular Subtypes of Breast Cancer

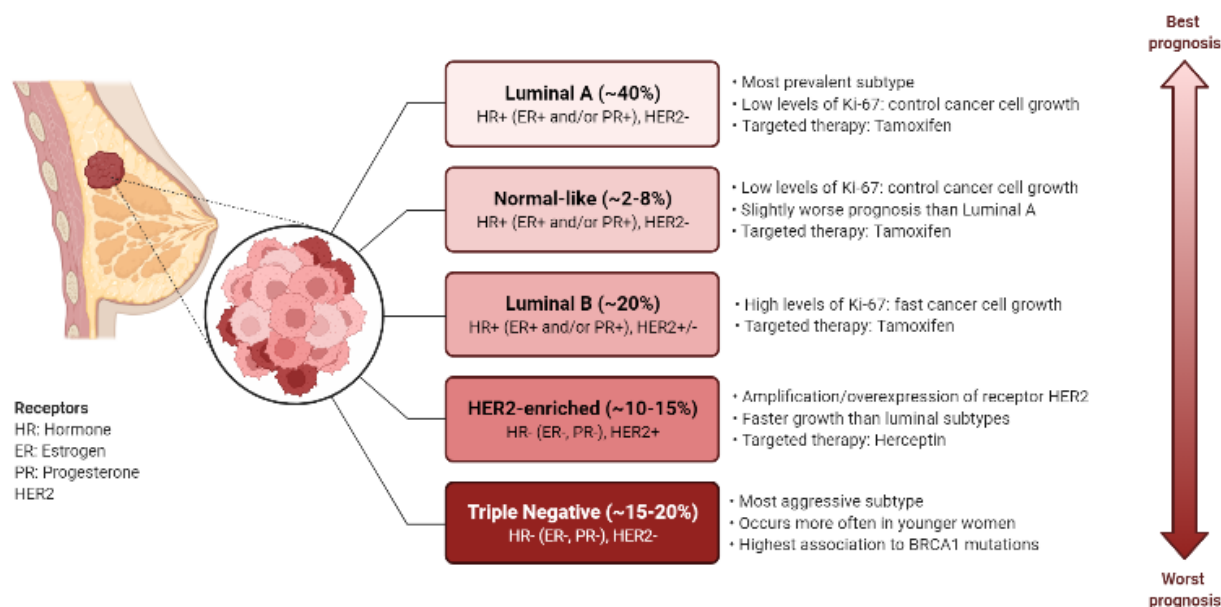


Figura 1: Classificação molecular do câncer de mama e prognóstico associado.

Fonte: BioRender.com (2026)

Atualmente, a classificação do câncer de mama baseia-se predominantemente na avaliação imuno-histoquímica da expressão dos receptores hormonais de estrogênio (ER) e progesterona (PR), da amplificação ou superexpressão do HER2 e do índice proliferativo Ki-67, parâmetros que orientam a estratificação prognóstica e a decisão terapêutica. Nesse contexto, os tumores são classificados em Luminal A (ER+/PR+, HER2-, baixo Ki-67), Luminal B HER2- (ER+/PR+, HER2-, alto Ki-67), Luminal B HER2+ (ER+/PR+, HER2+), HER2-enriched clínico (ER-/PR-, HER2+) e triplo-negativo (ER-/PR-/HER2-). Paralelamente, análises baseadas em expressão gênica, como o PAM50, definem os chamados subtipos intrínsecos — Luminal A, Luminal B, HER2-enriched, Basal-like e normal-like. Este último apresenta baixa frequência e limitada aplicabilidade clínica, sendo frequentemente associado à contaminação por tecido mamário normal, não devendo ser confundido com os subtipos luminais definidos por imuno-histoquímica. Assim, a distinção entre subtipagem clínica e molecular é essencial para evitar interpretações equivocadas e garantir adequada correlação prognóstica e terapêutica (PARKER *et al.*, 2009).

REFERENCES

[1] Global Cancer Observatory. Cancer Today. International Agency for Research on Cancer. Available online: <https://gco.iarc.fr/today/> (accessed on 2 January 2025).

[2] Katsura, C.; Ogunmwonyi, I.; Kankam, H.K.N.; Saha, S. Breast cancer: Presentation, investigation and management. *Br. J. Hosp. Med.* 2022, 83, 1–7.

- [3] Barzaman, K.; Karami, J.; Zarei, Z.; Hosseinzadeh, A.; Kazemi, M.H.; Moradi-Kalbolandi, S.; Safari, E.; Farahmand, L. Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *Int. Immunopharmacol.* 2020, 84, 106535.
- [4] Tsang, J.Y.S.; Tse, G.M. Molecular classification of breast cancer. *Adv. Anat. Pathol.* 2020, 27, 27–35.
- [5] Hanahan, D.; Weinberg, R.A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011, 144, 646–674.
- [6] DeBerardinis, R.J.; Chandel, N.S. Fundamentals of cancer metabolism. *Sci. Adv.* 2016, 2, e1600200.
- [7] Talib, W.H.; Alsayed, A.R.; Abuawad, A.; Daoud, S.; Mahmood, A.I. Melatonin in cancer treatment: Current knowledge and future opportunities. *Molecules* 2021, 26, 2506.
- [8] Reiter, R.J.; Tan, D.X.; Rosales-Corral, S.; Manchester, L.C. The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. *Mini Rev. Med. Chem.* 2013, 13, 373–384.
- [9] Reiter, R.J.; Sharma, R.; Bai, Y.; Chuffa, L.G.A.; Loh, D.; Fan, L.; Cardinali, D.P. Function of intramitochondrial melatonin and its association with Warburg metabolism. *Cell. Signal.* 2025, 131, 111754.
- [10] Cao, Y.; Zhang, H.; Chen, X.; Li, C.; Chen, J. Melatonin: A natural guardian in cancer treatment. *Front. Pharmacol.* 2025, 16, 1617508.
- [11] Reiter, R.J.; Rosales-Corral, S.A.; Tan, D.X.; Acuña-Castroviejo, D.; Qin, L.; Yang, S.F.; Xu, K. Melatonin, a full-service anti-cancer agent: Inhibition of initiation, progression and metastasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 843.
- [12] Sonehara, N.M.; Lacerda, J.Z.; Jardim-Perassi, B.V.; de Paula, R., Jr.; Moschetta-Pinheiro, M.G.; Souza, Y.S.T.; de Andrade, J.C.J.; De Campos Zuccari, D.A.P. Melatonin regulates tumor aggressiveness under acidosis condition in breast cancer cell lines. *Oncol. Lett.* 2019, 17, 1635–1645.
- [13] Maroufi, N.F.; Ashouri, N.; Mortezaia, Z.; Ashoori, Z.; Vahedian, V.; Amirzadeh-Iranaq, M.T.; Fattahi, A.; Kazemzadeh, H.; Bizzarri, M.; Akbarzadeh, M.; Nejabati, H.R.; Faridvand, Y.; Rashidi, M.R.; Nouri, M. The potential therapeutic effects of melatonin on breast cancer: An invasion and metastasis inhibitor. *Pathol. Res. Pract.* 2020, 216, 153226.
- [14] Marques, J.H.M.; Mota, A.L.; Oliveira, J.G.; Lacerda, J.Z.; Stefani, J.P.; Ferreira, L.C.; Castro, T.B.; Aristizábal-Pachón, A.F.; De Campos Zuccari, D.A.P. Melatonin restrains angiogenic factors in triple-negative breast cancer by targeting miR-152-3p: In vivo and in vitro studies. *Life Sci.* 2018, 208, 131–138.
- [15] Gonçalves, N.N.; Colombo, J.; Lopes, J.R.; Gelaleti, G.B.; Moschetta, M.G.; Sonehara, N.M.; Hellmén, E.; Zanon, C.F.; Olinari, S.M.; De Campos Zuccari, D.A.P. Effect of

melatonin in epithelial mesenchymal transition markers and invasive properties of breast cancer stem cells of canine and human cell lines. *PLoS ONE* 2016, 11, e0150407.

[16] Liu, S.; Zhang, X.; Wang, W.; Li, X.; Sun, X.; Zhao, Y.; Wang, Q.; Li, Y.; Hu, F.; Ren, H. Metabolic reprogramming and therapeutic resistance in primary and metastatic breast cancer. *Mol. Cancer* 2024, 23, 261.

[17] Ren, M.; Yang, X.; Bie, J.; Wang, Z.; Liu, M.; Li, Y.; Shao, G.; Luo, J. Citrate synthase desuccinylation by SIRT5 promotes colon cancer cell proliferation and migration. *Biol. Chem.* 2020, 401, 1031–1039.

[18] Proietti, S.; Cucina, A.; Minini, M.; Bizzarri, M. Melatonin, mitochondria, and the cancer cell. *Cell. Mol. Life Sci.* 2017, 74, 4015–4025.

[19] Chuffa, L.G.A.; Seiva, F.R.F.; Cuciolo, M.S.; Silveira, H.S.; Reiter, R.J.; Lupi, L.A. Mitochondrial functions and melatonin: A tour of the reproductive cancers. *Cell. Mol. Life Sci.* 2019, 76, 837–863.

[20] Reiter, R.J.; Tan, D.X.; Galano, A. Melatonin: Exceeding expectations. *Physiology (Bethesda)* 2014, 29, 325–333.

[21] Florido, J.; Rodriguez-Santana, C.; Martinez-Ruiz, L.; Lopez-Rodriguez, A.; Acuña-Castroviejo, D.; Rusanova, I.; Escames, G. Understanding the mechanism of action of melatonin, which induces ROS production in cancer cells. *Antioxidants (Basel)* 2022, 11, 1621.

[22] Currie, E.; Schulze, A.; Zechner, R.; Walther, T.C.; Farese, R.V., Jr. Cellular fatty acid metabolism and cancer. *Cell Metab.* 2013, 18, 153–161.

[23] Nicoud, M.B.; Sterle, H.A.; Massari, N.A.; Táquez Delgado, M.A.; Formoso, K.; Herrero Ducloux, M.V.; Martinel Lamas, D.; Cremaschi, G.A.; Medina, V.A. Study of the antitumour effects and the modulation of immune response by histamine in breast cancer. *Br. J. Cancer* 2020, 122, 348–360.

[24] Semenza, G.L. HIF-1: Upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2010, 20, 51–56.

[25] Pavlova, N.N.; Thompson, C.B. The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metab.* 2016, 23, 27–47.

[26] Cai, Z.; Deng, Y.; Ye, J.; Zhuo, Y.; Liu, Z.; Liang, Y.; Zhang, H.; Zhu, X.; Luo, Y.; Feng, Y.; Liu, R.; Chen, G.; Wu, Y.; Han, Z.; Liang, Y.; Jiang, F.; Zhong, W. Aberrant expression of citrate synthase is linked to disease progression and clinical outcome in prostate cancer. *Cancer Manag. Res.* 2020, 12, 6149–6163.

[27] Wang, J.F.; Su, R.B.; Wu, N.; Xu, B.; Lu, X.Q.; Liu, Y.; Li, J. Inhibitory effect of agmatine on proliferation of tumor cells by modulation of polyamine metabolism. *Acta Pharmacol. Sin.* 2005, 26, 616–622