

## Mecanismos de resistência ao T-DM1 em pacientes com câncer de mama HER2 positivos: Uma revisão sistemática

### Mechanisms of T-DM1 resistance in HER2-positive breast cancer patients: A systematic review

Mariana Caetano Figueiredo<sup>1</sup>, Nicoli Gueno Risetto<sup>1</sup>, Rhenan Tolentino Tanaka<sup>1</sup>, Viviane Dombroski<sup>1</sup>, Ricardo Cervini<sup>2,3</sup>, Gustavo Colombo Dal Pont<sup>2,3</sup>, Ariana Centa<sup>2,3\*</sup>

#### RESUMO

O trastuzumab-entansina (TDM-1) é um fármaco anticorpo conjugado a drogas (ADCs) utilizado no tratamento direcionado ao câncer de mama HER2-positivo com importante eficácia clínica, porém é percebido em alguns pacientes resistência a esse medicamento, o que se mostrou um obstáculo para o tratamento oncológico. O presente estudo busca conhecer os mecanismos de resistência ao TDM-1 em pacientes com câncer de mama HER2 positivos, encontrados em 6 artigos da literatura, baseando-se em uma revisão sistemática. Foram encontrados dez mecanismos envolvidos na resistência ao TDM-1, sendo eles: expressão diminuída de HER2, dita como forma de resistência em três dos artigos revisados; STAT3 ativado de forma anômala; superexpressão da proteína caveolae; maior ativação da via NRG1/HER3; atividade de efluxo aumentada; expressão do gene SLC; expressão e a fração polimerizada da tubulina B III diminuída; a presença de um número maior de cromossomos; células cancerosas gigantes e aneuploides e a superexpressão do gene YES. Constatou-se, por fim, que conhecer cada um desses mecanismos de resistência é de extrema importância para o desenvolvimento de novas terapias oncológicas.

**Palavras-chave:** Câncer de mama; Ado-Trastuzumab Emtansine; Farmacorresistência; Resistência tumoral.

#### ABSTRACT

Trastuzumab-entansine (TDM-1) is an antibody-conjugated drug (ADCs) used in the treatment of HER2-positive breast cancer with important clinical efficacy, but resistance to this drug is perceived in some patients, which has been shown to an obstacle to cancer treatment. The present study seeks to understand the mechanisms of resistance to TDM-1 in patients with HER2-positive breast cancer, found in 6 articles in the literature, based on a systematic review. Ten mechanisms involved in resistance to TDM-1 were found, namely: decreased expression of HER2, said to be a form of resistance in three of the articles reviewed; anomalously activated STAT3; overexpression of caveolae protein; increased activation of the NRG1/HER3 pathway; increased efflux activity; SLC gene expression; decreased expression and polymerized fraction of tubulin B III; the presence of a greater number of chromosomes; giant and aneuploid cancer cells and the overexpression of the YES gene. Finally, it was found that knowing each of these resistance mechanisms is extremely important for the development of new oncological therapies.

**Keywords:** Breast cancer; Ado-Trastuzumab Emtansine; Pharmaco-resistance; Tumor resistance.

<sup>1</sup> Curso de Medicina. Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná.

<sup>2</sup> Curso de Medicina. Universidade Alto Vale do Rio do Peixe.

<sup>3</sup> Laboratório de Pesquisa Translacional em Saúde. Universidade Alto Vale do Rio do Peixe.

\*E-mail: ariana.aacc@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o câncer mais incidente em mulheres no mundo. Estima-se que em 2020 ocorreram 684.996 óbitos e surgiram cerca de 2,3 milhões novos casos, o que representa 24,5% dos novos casos por câncer em mulheres (IARC, 2020). No Brasil, é o segundo câncer mais incidente entre mulheres, sendo estimados 66.280 novos casos para 2021 (INCA, 2019).

A classificação molecular através da presença de receptores hormonais de estrógeno (RE), progesterona (RP) e do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2, do inglês, *human epidermal growth factor receptor-type 2*) no câncer de mama, possibilita o direcionamento do tratamento. O gene ERBB2, controla a expressão da proteína HER2 na superfície da célula que, em quantidades normais, é responsável pela duplicação e crescimento das células epiteliais. A superexpressão ou amplificação de HER2 ocorre em 20 a 30% dos carcinomas mamários invasivos, e quando isso ocorre, o câncer é considerado HER2-positivo. Quando o câncer de mama é classificado como HER2-positivo, indica uma aceleração na multiplicação celular, maior agressividade, pior prognóstico e maior número de óbitos por falha terapêutica (HADDAD, 2010; SANTOS et al., 2014).

O direcionamento do tratamento para cânceres com superexpressão de HER2 melhorou consideravelmente o prognóstico dos pacientes. O surgimento do anticorpo monoclonal denominado trastuzumabe, representou o primeiro avanço nas terapias direcionadas ao HER2. Posteriormente, foi seguido pelo anticorpo monoclonal pertuzumabe. No entanto, apesar das respostas iniciais positivas a esses agentes, a resistência tumoral adquirida se desenvolve quase que universalmente (SAUVEUR et al., 2020; WANG et al., 2020).

O desenvolvimento de outros fármacos, como os anticorpos conjugados a drogas (ADCs), trouxeram um novo panorama ao tratamento do câncer de mama para pacientes HER2-positivo. Os ADCs combinam a seletividade do anticorpo monoclonal com moléculas citotóxicas, permitindo a ação da droga dentro da célula cancerosa alvo, reduzindo a toxicidade. O trastuzumab-emtansina (T-DM1), possui as propriedades biológicas do trastuzumab, anticorpo projetado contra HER2, e a citotoxicidade da emtansina, potente inibidor de polimerização de microtúbulos. Essa combinação faz com que as células parem na fase G2/M do ciclo celular, levando à morte celular por apoptose.

O fármaco, quando atinge uma célula que superexpressa HER2, é internalizada para o citoplasma. Em seguida, ocorre a endocitose pelo lisossomo, onde ocorre a degradação do anticorpo de T-DM1, resultando na liberação de lisina-MCC-DM1. Assim, a emtansine é transportada do lúmen lisossomal para o citosol, onde atinge o alvo, a  $\beta$ 1-tubulina, induzindo a célula à morte celular (SAUVEUR et al., 2020; WANG et al., 2020; ALONSO et al., 2020).

Apesar do sucesso clínico do T-DM1, alguns pacientes que respondem inicialmente a esse medicamento, podem desenvolver resistência durante o tratamento, enquanto outros apresentam resistência primária a esse agente. Os mecanismos de resistência ao T-DM1 também podem ser relacionados à ambas as partes do ADC. Assim, a diminuição ou heterogeneidade na expressão do HER2 pelas células tumorais impacta na ação do trastuzumab. Enquanto isso, a presença de bombas de efluxo de drogas, mutações na  $\beta$ 1-tubulina, expressão aberrante de isotipos específicos de  $\beta$ -tubulina estão associadas aos mecanismos de resistência da emtansine. A internalização do ADC através de vesículas revestidas com caveolina-1 e a atividade proteolítica lisossomal ineficiente, resulta em acúmulo da droga no compartimento lisossomal, podendo levar a uma redução resposta ao T-DM1 (ALONSO et al., 2020).

O T-DM1 usado em cânceres de mama HER2-positivo demonstra notável eficácia na clínica, entretanto, muitos pacientes acabam desenvolvendo resistência ao tratamento, pois as células tumorais inevitavelmente se tornam reprogramadas de modo a sustentar a sobrevivência celular. Dessa forma, esse artigo tem o objetivo de apresentar os mecanismos já descritos que podem levar ao desenvolvimento dessa resistência.

## **METODOLOGIA**

Essa revisão seguiu os itens selecionados para a sistemática Diretrizes de revisões e meta-análises (PRISMA) (MOHER et al., 2009).

### Base de dados e estratégia de pesquisa

As bases de dados utilizadas foram PubMed e EBSCOhost. Foram realizadas pesquisas utilizando os termos “breast cancer” em título/resumo **E** “trastuzumab emtansine” **OU** “trastuzumab-emtansine” **OU** “T-DM1” em título/resumo **E** “drug resistance” em título/resumo publicados entre os anos 2015 e 2021. A pesquisa foi realizada por dois pesquisadores de forma independente, e teve fim no dia 24 de maio de

2021. Artigos duplicados foram excluídos, e foi feita uma pré-seleção dos artigos com base no título e resumo em duplicata. Após isso, foi feita a coleta de dados por meio da avaliação do artigo na íntegra.

#### Critérios de inclusão

Foram incluídos no presente estudo pesquisas clínicas, estudos de coorte e caso-controle, estudos *in vivo* e *iv vitro*, com células e animais, ou outras opções avaliadas individualmente.

#### Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo revisões de literatura, relatos de caso, estudos que não estavam escritos na língua inglesa.

#### Seleção de estudos

Os artigos foram avaliados de forma independente, por dois pesquisadores, e foram selecionados com base na leitura do título e resumo, seguindo os critérios de inclusão e exclusão. A partir disto, foi feita a leitura dos artigos na íntegra pelos pesquisadores.

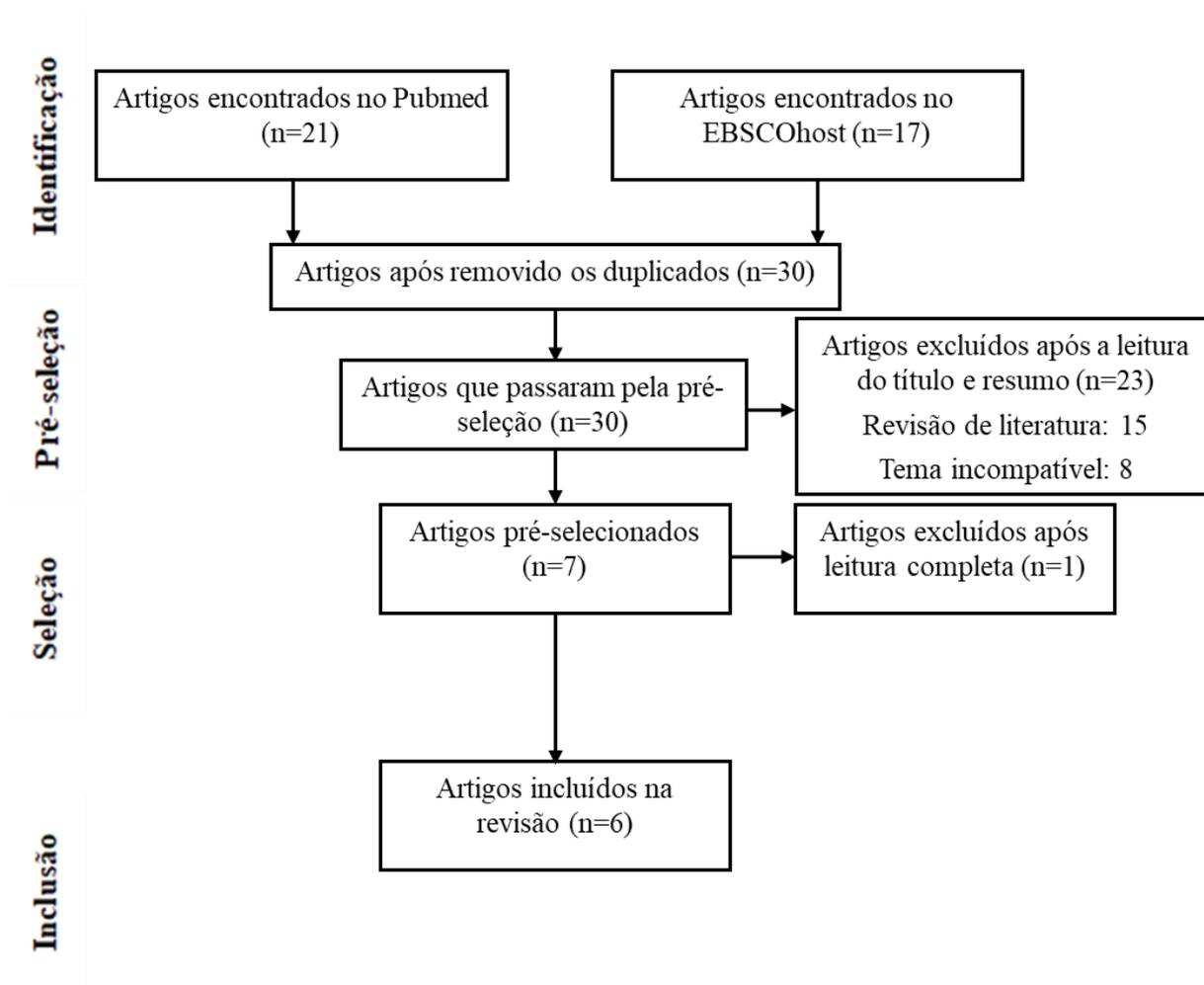
#### Risco de viés e qualidade dos estudos

A qualidade dos estudos e o risco de viés foram avaliados utilizando a ferramenta Quality in Prognosis Studies (QUIPS), que avalia estudos nos seguintes domínios: participação no estudo, abandono do estudo, avaliação do resultado, clareza e objetividade do estudo e análise estatística. Com bases nessa classificação os artigos foram classificados como com baixo, moderado ou alto risco de viés (HAYDEN, 2016). Os critérios foram avaliados seguindo uma classificação da qualidade, onde distinguiram-se os artigos de alta qualidade e nenhum risco de viés (+), aceitável e com risco moderado de viés (+/-), baixa qualidade e com alto risco de viés (-) e inseguro (?).

## Resultados

Foi encontrado um total de 38 artigos durante a busca nas duas bases de dados selecionadas, utilizando a estratégia descrita. Após a remoção dos trabalhos duplicados, restou um total de 30 artigos. Após a seleção utilizando os critérios de inclusão e exclusão, além da compatibilidade do assunto do artigo com o tema do estudo, restaram 07 artigos. Após a leitura completa dos textos, foram utilizados 06 artigos para a extração de dados (Fig. 1).

A qualidade de todos os artigos e o risco de viés foi determinado utilizando ferramenta QUIPS, conforme apresentado na Tabela S1. A avaliação geral das seis categorias avaliadas resultou em cinco estudos com baixo risco de viés e um estudo com risco moderado de viés. Após esta avaliação, nenhum estudo foi removido da análise posterior.



**Figura 1:** Diagrama da identificação e seleção dos estudos contidos nessa revisão

### Principais características dos estudos

Dos estudos encontrados, estavam trabalhos publicados entre junho de 2017 e junho de 2020. Em relação ao local de realização dos estudos, dois foram realizados nos Estados Unidos, dois na China, um na França e outro do Reino Unido. Todos os estudos encontrados tiveram como objetivo analisar os mecanismos de resistência ao T-DM1. Além desse objetivo, dois dos estudos encontrados ainda buscaram meios de superá-la (Tabela 1).

**Tabela 1** - Principais características dos 6 artigos incluídos nessa revisão sistemática

Estudo #	Primeiro autor	Data da publicação	País	Objetivo	Referências
1	Lei Wang	Agosto 31, 2018	China	Compreensão dos mecanismos de resistência ao T-DM1 e buscar métodos para superar essa resistência	(WANG et al., 2018)
2	Matthew Sung	Outubro 20, 2017	EUA	Buscar os mecanismos de resistência ao T-DM1	(SUNG et al., 2017)
3	Yukinori Endo	Julho 17, 2018	EUA	Observar as células TDM-1 resistentes e ver as diferenças patológicas destas células em relação a células não resistentes	(Endo et al., 2018)
4	Luis J. Schwarz	Junho 3, 2017	Reino Unido	Analisar se o tratamento com uma nova mistura de anticorpos possa superar a resistência de células tumorais.	(Schwarz et al., 2017)
5	Sauveur, J	Maió, 26 2020	França	Identificar novos mecanismos de resistência ao T-DM1	(Sauveur et al., 2020)
6	Wang, L	Junho, 23 2020	China	Analisar os mecanismos de resistência ao T-DM1 relacionados a ampliação do gene YES1 em cânceres HER2-positivos	(Wang et al., 2020)

**Fonte:** Autores, 2022.

**Tabela S1.** Risk of bias assessment results of the six articles selected (QUIPS tool).

	Study Participation	Study Attrition	Prognostic Factor Measurement	Outcome Measurement	Study Confounding	Statistical Analysis and Reporting	Overall
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	?	+	+

(+) High Quality, (+/-) Acceptable, (-) Low Quality, (?) Unsure

**Fonte:** Autores, 2022.

## Mecanismos de resistência ao T-DM1 encontrados

### *STAT3 ativado de forma anômala*

No estudo de Wang et al. (2018), realizado *in vitro* e *in vivo*, foi observado que as células resistentes ao T-DM1 se ligaram ao fármaco e o internalizaram, entretanto, não realizaram a apoptose prevista. Além disso, foi observado uma sensibilidade a uma droga inibidora de STAT3 (Signal Transducer And Activator Of Transcription 3), a napabucasina. Assim, estudou-se a transfecção dessas células por meio de um siRNA direcionado a proteína STAT3, observando assim, que as células realizavam a apoptose. Portanto, conclui-se que a presença de STAT3 ativado de forma anômala nessas células induziram a resistência ao T-DM1. Além disso observou-se que a STAT3 ativada induzia a secreção de várias citocinas e fatores de crescimento, entre eles, a interleucina 6.

### *Superexpressão da proteína caveolae*

Em um dos estudos, células foram super estimuladas por T-DM1 até desenvolverem resistência (Sung et al., 2017). Uma das linhagens, a N87-TM, apresentou resistência devido a superexpressão de caveolina-1 (CAV1), polimerase I e fator de liberação de transcrição (PRTF), que constituem a proteína caveolae. Com base em análises detalhadas, observou-se que o TDM-1 era internalizado de forma diferente nessas células. Ao contrário do que acontecia em células sensíveis, que internalizam o fármaco por meio dos compartimentos endo-lisossomais, essas células internalizavam por meio de compartimentos endocíticos caveolares. Os compartimentos endocíticos caveolares

apresentam um pH neutro durante o processo, enquanto que nos compartimentos endolisossomais o pH reduz gradativamente. O pH neutro impede a correta clivagem do ADC, que é essencial para seu funcionamento, tornando a célula resistente ao T-DM1.

#### *Ativação aumentada da via NRG1/HER3 após supressão de HER2*

No estudo de Schwarz et al. (2017), foi observado que em células de tumores resistentes, apesar de apresentarem baixos níveis de expressão de HER2, mantinham níveis robustos de fator de crescimento epidérmico (EGFR) e da ativação de fosfatidil inositol 3 quinase (PI3K). Essas funções são mantidas em decorrência do aumento na sinalização celular da via NRG1/HER3, de forma a suplementar a supressão de HER2 na célula. Foi observado que o bloqueio dessa via sensibiliza novamente tumores que tem menor expressão de HER2 ao tratamento, sugerindo ainda mais o envolvimento da via NRG1/HER3 na resistência ao tratamento.

#### *Expressão diminuída de HER2 em células resistentes a T-DM1*

No realizado por Sauveur et al. (2020), duas linhagens celulares resistentes a T-DM1 foram selecionadas na ausência (MDA-MB-361 TR) ou na presença de ciclosporina (MDAMB-361 TCR), e comparadas com a linhagem celular parental (MDA-MB-361 S). Foi observado uma regulação negativa de HER2 no mRNA e nas proteínas em ambas as linhas de células resistentes, quando comparadas com a linha de células parental. Quando avaliado o nível de expressão de HER2 nos tipos de células TR (sem ciclosporina) e TCR (com ciclosporina), pode-se observar a presença de uma população heterogênea expressando diferentes níveis de HER2, onde haviam células com expressão elevada de HER2 e outras com baixa expressão de HER2. Isso indica que, durante a exposição prolongada a T-DM1, uma subpopulação de células que expressam baixos níveis de HER2, pode ter sensibilidade presumivelmente reduzida ao agente citotóxico.

Além disso, outro estudo também apontou uma expressão diminuída de HER2 como um mecanismo de resistência (Endo et al., 2018). Células de um tumor JIMT1 foram submetidos a dois meses de exposição ao T-DM1, a fim de criar uma resistência. Após dois meses, foi observado que as células que criaram uma resistência ao T-DM1 tinham uma baixa expressão de HER2, enquanto as células parentais de controle apresentavam níveis normais. O estudo observou, através de marcadores específicos, que a internalização do T-DM1 nas células não resistentes passa pelo HER2, e que nas células

resistentes a internalização do T-DM1 não ocorre. Esses dados confirmam que a baixa expressão de HER2 é um mecanismo importante para a resistência destes tumores. Além disso, no estudo de Sung et al. (2017), duas linhagens de células resistentes desenvolvidas, BT474-TM e HCC1954-TM, apresentavam resistência devido a expressão reduzida de HER2.

#### *A atividade de efluxo é aumentada em modelos resistentes*

A fim de verificar se há resistência a T-DM1, devido à expressão aumentada de transportadores ABC, um ensaio de acumulação de rodamina 123 (Rho 123) foi realizado (Wang et al., 2020). O efluxo de Rho 123 permaneceu significativamente maior nas linhagens de células TR (sem ciclosporina) e TCR (com ciclosporina), quando comparado à linhagem de células parentais na presença ou ausência de ciclosporina. Esses dados sugerem que, a superexpressão de uma bomba de efluxo insensível a ciclosporina, pode contribuir significativamente para a resistência a T-DM1.

#### *A expressão do gene SLC é alterada na linhagem de células resistentes ao T-DM1*

O artigo de Wang et al. (2020) afirma que os transportadores de soluto (SLC), estão envolvidos no transporte de uma ampla gama de substratos através das membranas. Os dados de RNAseq mostraram alterações de expressão em 52 SLCs, entre os quais 17 estão presumivelmente localizados em endossomos e/ou lisossomos. Foi observado uma regulação negativa de sete SLCs (*SLC17A7*, *SLC25A27*, *SLC28A3*, *SLC2A12*, *SLC36A4*, *SLC48A1* e *SLC7A5*), e regulação positiva de oito SLCs (*SLC29A1*, *SLC27A6*, *SLC27A6*, *SLC29A2*, *SLC29A3*, *SLC30A2*, *SLC46A3* e *SLC7A2*) em ambas as linhas de células resistentes em comparação com a parental. No total, sete deles mostraram uma forte diferença na expressão em TR e TCR, respectivamente, em comparação com a linha celular parental.

#### *Expressão e a fração polimerizada de tubulina $\beta$ III foram diminuídas em modelos resistentes*

O estudo de Wang et al. (2020) também avaliou a expressão de  $\alpha$  e  $\beta$  tubulina por *Western Blot*, e os resultados mostraram expressão inalterada em células TR e TCR, em comparação com a linhagem celular parental. O total de  $\alpha$  e  $\beta$  tubulina contida nos microtúbulos diminuiu em ambas as linhas de células resistentes e de forma mais

marcante nas células TCR. Aproximadamente 72%-77% da tubulina foi encontrada na fração de microtúbulos das células parentais e apenas 35%-41% nas células TR e 18%-20% nas células TCR. A quantidade de  $\beta$  III tubulina contida em microtúbulos na linha de células parentais era maior do que em ambas as linhas de células resistentes. Esses resultados sugerem que as variantes resistentes a T-DM1 exibem modificações complexas de seu complexo microtúbulo/tubulina. A contribuição para a resistência é provavelmente multifatorial, uma vez que a alteração de um único parâmetro, como o conteúdo  $\beta$  tubulina III, não foi suficiente para reproduzir o fenótipo de resistência.

#### *A parada do ciclo celular induzida por T-DM1 é mantida em linhas de células resistentes*

Sauveur et al. (2020), após uma exposição de 24 horas ao T-DM1, avaliou a distribuição do ciclo celular em células parentais e resistentes por coloração com iodeto de propídio e citometria de fluxo. Observou-se que ciclo celular das células MDA-MB-361 S foi interrompido na fase G2/M, após a exposição a T-DM1. Os resultados indicam que a população diplóide G1 em células MDA-MB-361 TR e TCR não expostas foi diminuída em comparação com as células S, enquanto as populações G2/M e poliplóides aumentaram, sugerindo que as células resistentes contêm um número aumentado de cromossomos. Uma diminuição na fase diplóide G1 em células TCR foi observada após a exposição a T-DM1, enquanto a quantidade de células poliplóides aumentou em ambas as linhas de células resistentes, indicando que as células resistentes permaneceram sensíveis à interrupção do ciclo celular induzida por T-DM1.

#### *As células resistentes a T-DM1 são gigantes e aneuploides*

Além disso, Sauveur et al. (2020) identificou que o número de células tetraplóides (4N) e aneuplóides ( $> 4N$ ), nas linhas de células TR e TCR, foi aumentado quando comparado com as células parentais. A linhagem celular parental continha aproximadamente 90% das células diplóides e 10% de células triplóides. Já nas células TR, o número de células diplóides diminuiu, e nas células TCR permaneceu inalterado. O número de células 4N e 5N aumentou em ambas as linhagens resistentes. Além disso, como as células resistentes pareciam ser maiores do que as células parentais, foi observado um tamanho aumentado nas células TR e TCR em comparação com células parentais. Vários genes envolvidos na adesão celular foram encontrados com expressões diferentes nos três modelos. Em conjunto, estes resultados indicam que as linhas de

células resistentes contêm células aneuplóides gigante,s com comportamento de adesão possivelmente alterado.

#### *A superexpressão do gene YES induz a resistência ao T-DM1*

O estudo de Wang et al. (2020) mostra que a superexpressão do gene *YES1* pode ativar múltiplas vias de sinalização relacionadas à proliferação, devido à amplificação da região cromossômica 18p11.32. Sendo assim, é capaz de conferir resistência cruzada a drogas direcionadas a cânceres HER2-positivos. O mRNA do gene *YES1* foi aumentado em células BT-474 / R1-7 (linhagem resistente ao T-DM1), enquanto mRNAs de outros genes *SFK* (*SRC*, *FYN*, *LYN*, *BLK*, *HCK* e *FGR*) permaneceram praticamente inalterados. Esta análise mostrou que o número de cópias de sete genes *THOC1*, *COLEC12*, *CETN1*, *CLUL1*, *TYMS*, *ENOSF1* e *ADCYAP1* na região 18p11.32 do cromossomo 18 foram amplificados. Em seguida, foi avaliado se a superexpressão desses genes estava associada a resistência ao das drogas. Para este fim, foi diminuído a expressão dos genes *CLUL1*, *TYMS*, *ENOSF1* ou *YES1* usando dois siRNAs, o que resultou na sensibilização das células BT-474/R1-7 ao tratamento com T-DM1. Essas análises mostraram que o bloqueio do gene *YES1* reverteu a resistência T-DM1 em células BT-474/R1-7.

#### **Discussão**

O câncer de mama HER2-positivo apresenta várias heterogeneidades, as quais modulam a resposta ao tratamento e o prognóstico da doença. Estratégias para iniciar o tratamento com T-DM1 em um câncer HER2-positivo, devem levar em consideração outros biomarcadores de possível resistência. Esses biomarcadores incluem subtipo molecular e imunológico do câncer, níveis de expressão HER2, o tráfego intracelular e o metabolismo do T-DM1, o comprometimento da citotoxicidade mediada pelo DM1 (emtasine), além da heterogeneidade intratumoral para estratificar os riscos do paciente e otimizar a seleção do tratamento (PERNAS e TOLANEY, 2021; HUNTER et al., 2020).

A proteína Caveolina-1 é importante para a formação da caveolae, que atua no transporte através da membrana. A expressão de caveolina-1 pode mediar a endocitose e promover a internalização de T-DM1 em células cancerosas HER-2 positivas. Dessa forma, a proteína caveolina-1 pode ser um preditor eficaz para determinar a eficácia do tratamento com T-DM1 (CHUNG, et al., 2015). O estudo de Chung e colaboradores (2015), demonstrou que células de câncer de mama HER-2-positivas BT-474 e SKBR-3,

que expressam níveis baixos e moderados de caveolina-1, respectivamente, foram tratadas com trastuzumabe ou seu conjugado T-DM1. As células BT-474 que superexpressavam a caveolina-1 foram mais sensíveis ao tratamento com T-DM1 do que as células SKBR-3, diferente do estudo de Sung e sua equipe (2017), onde foi observado que a superexpressão da proteína caveolae indicou resistência ao tratamento com T-DM1.

A redução na expressão de receptores HER2 pode interferir na ação do T-DM1, sendo que a maior expressão de HER2 em células tumorais em relação aos tecidos periféricos, é um requisito para a segurança e eficácia da droga (Sung et al., 2017; Endo et al., 2018; Sauveur et al., 2020). A redução na expressão do HER2 prejudica a ligação e internalização de T-DM1, limitando tanto a atividade antitumoral mediada por trastuzumabe, quanto a liberação intracelular e a citotoxicidade de T-DM1 (HUNTER et al., 2020). Em uma pesquisa de Loganzo e colaboradores (2015), utilizando uma linhagem de células com câncer de mama JIMT-1 resistente a T-DM1, foi possível observar que a restauração da expressão de HER2 reverteu o fenótipo de resistência, fornecendo evidências de que os níveis de expressão regulam a sensibilidade de T-DM1.

Um dos mecanismos pelos quais os tumores adquirem resistência aos medicamentos, é o aumento da expressão de transportadores ABC, os quais ativam o efluxo de medicamentos como o T-DM1 para fora das células. No artigo de Li et al. (2018) foi observado o aumento na expressão de alguns membros da família ABC como MDR1, MRP4 e BCRP em uma linhagem de células BT-474M1 TR. Ao realizar a inibição do MDR1, a sensibilidade ao T-DM1 e DM1 foi restaurada.

Há mais de 400 genes de transportadores facilitadores (família SLC), que foram agrupados em 55 famílias, incluindo transportadores acoplados a íons e transportadores passivos, localizados na membrana plasmática ou em organelas intracelulares. Esses transportadores são responsáveis por mediar o transporte de um amplo espectro de substratos, incluindo diferentes nutrientes e medicamentos. Em células do câncer, os transportadores SLC expressos atuam na absorção de drogas antitumorais, possuindo um papel determinante para a eficácia da terapia. Entretanto, as células cancerosas são mais propensas a mostrar perfis de expressão diferentes de transportadores SLC. Em alguns casos, ocorre uma expressão aprimorada de transportadores SLC para certos requisitos nutricionais, gerando vantagem no crescimento sobre as células normais quando os nutrientes se tornam restritos. Isso pode ser evidenciado através da expressão de seis famílias de transportadores SLC (SLC1, SLC6, SLC7, SLC36, SLC38 e SLC43), que

atuam no transporte de aminoácidos, uma vez que a disponibilidade de aminoácidos controla a fisiologia celular, alterando os níveis de expressão gênica e as vias de transdução de sinal nas células cancerosas (Qing Li e Yan Shu, 2014). Os dados de Sauveur e colaboradores (2020) mostraram alterações de expressão em 52 SLCs, que influenciam no transporte de nutrientes e drogas, conferindo um provável mecanismo de resistência ao T-DM1.

Os microtúbulos são estruturas dinâmicas, compostas de heterodímeros de  $\alpha$  e  $\beta$ -tubulina, essenciais na divisão celular, sendo alvos de fármacos utilizados contra o câncer. A superexpressão ou expressão aberrante de  $\beta$ III-tubulina, pode afetar a resposta das células tumorais aos agentes ligantes da tubulina. As mutações na  $\beta$ -tubulina que afetam a ligação do fármaco, estão associadas à resistência aos agentes de ligação à tubulina (KAVALLARIS, 2010). Entretanto, como especificado pelo estudo de Sauveur et al. (2020), não foi possível estabelecer a relação entre redução da expressão da  $\beta$ III-tubulina e resistência ao tratamento ao T-DM1.

A instabilidade genômica, variando desde pequenas inserções ou deleções, até grandes alterações cromossômicas (incluindo a aneuploidia), são marcas registradas do câncer, e podem ser um mecanismo eficaz para gerar uma variação fenotípica e adaptação sob uma pressão seletiva (GORDON, RESIO e PELLMAN, 2012). Sauveur e colaboradores (2020) demonstraram um aumento no número de células tetraplóides (4N) e aneuplóides, o que pode conferir resistência ao T-DM1. Estudos *in vitro* utilizando linhagem de células com instabilidade cromossômica, indicam que, em cada uma a três divisões celulares, ocorre a degradação de um cromossomo. Essa degradação, decorrente da instabilidade do genoma, acelera o desenvolvimento de resistência aos medicamentos anticâncer, resultando em uma falha terapêutica. Os mecanismos que levam ao desenvolvimento das aneuploidias incluem: defeitos na dinâmica do cinetócoro e microtúbulos, número do centrossoma, e em pontos de verificação da montagem do fuso (GORDON, RESIO e PELLMAN, 2012; SANSREGRET, VANHAESEBROECK e SWANTON, 2018).

A tetraploidização em particular, facilita a aquisição rápida de alterações do número de cópias e mutações em resposta a condições estressantes, criando maiores níveis de diversidade genética. Esse mecanismo, observado no câncer de mama, confere ao câncer resistência a múltiplos fármacos (SANSREGRET, VANHAESEBROECK e SWANTON, 2018).

O gene *YES1* é um dos 11 membros da família SFK (*SRC, FYN, YES, BLK, YRK, FRK, FGR, HCK, LCK, LYN* e *RGR*), que atua como um regulador do crescimento, adesão e diferenciação celular. A expressão diminuída do *YES1*, resulta em resistência quimioterápica e no crescimento anormal de vários tipos de tumores, como o mesotelioma maligno, câncer pancreático e colorretal (FANG et al., 2017; SATO et al., 2012). Um dos mecanismos de resistência, consiste em promover a translocação nuclear do receptor do fator de crescimento epidérmico, que induz resistência a alguns fármacos utilizados no tratamento do câncer. Além disso, também consiste em regular algumas vias de sinalização oncogênicas específicas, importantes para a progressão da doença (FANG et al., 2017). Sato et al., 2012 demonstrou que o gene *YES* é um mediador central do crescimento celular, e que a sua inibição contribuiu para a parada do ciclo celular em G1. Esses resultados corroboram com os dados encontrados no estudo de Wang et al. (2020), onde a superexpressão do gene *YES* ativa múltiplas vias de sinalização relacionadas à proliferação do câncer, assim como na resistência a fármacos direcionados a cânceres HER2-positivos.

## Conclusão

Embora a adoção de terapias alvo tenham alterado significativamente o tratamento para pacientes com câncer de mama HER2-positivo, nem todos os pacientes acabam respondendo de forma adequada ao tratamento. Desse modo, uma melhor compreensão da biologia tumoral de cânceres HER2-positivos torna-se de extrema importância, levar ao desenvolvimento de novas terapias, a fim de aprimorar o tratamento para pacientes com câncer.

## REFERÊNCIAS

- ALONSO, S. G., et al. Trastuzumab Emtansine: Mechanisms of Action and Resistance, Clinical Progress, and Beyond. **Trends in Cancer**, v. 6, n. 2, 2020.
- CHUNG, Yuan-Chiang, et al. Caveolin-1 Dependent Endocytosis Enhances the Chemosensitivity of HER-2 Positive Breast Cancer Cells to Trastuzumab Emtansine (T-DM1). **PLoS One**, 2015 Jul 14;10(7).
- ENDO, Yukinori *et al.* T-DM1-resistant cells gain high invasive activity via EGFR and integrin cooperated pathways. **Mabs**, Silver Spring, v. 10, n. 7, p. 1-15, 21 ago. 2018.
- FANG, Zheng; et al. miR-140-5p suppresses the proliferation, migration and invasion of gastric cancer by regulating YES1. **Molecular Cancer**, v. 16, n. 139, 2017.

GORDON, David J.; RESIO, Benjamin; PELLMAN, David. Causes and consequences of aneuploidy in câncer. **Nat Rev Genet.** 2012;13:189-203.

HADDAD, C. F. Trastuzumab no câncer de mama. **FEMINA**, v. 38, n. 2, 2010.

HUNTER, Francis W.; et al. Mechanisms of resistance to trastuzumab emtansine (T-DM1) in HER2-positive breast cancer. **BJC**, v. 122, n. 5, p. 603-612, 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA.

**Estimativa 2020: incidência do Câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 2019.

Disponível em: <

<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>>. Acesso em: 03 julho 2021.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Cancer today.** Lyon: WHO, 2020. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/home> Acesso em: 28 junho 2022.

KAVALLARIS, Maria. Microtubules and resistance to tubulin-binding agents. **Nat Rev Cancer.** 2010;10:194-204.

LI, Guangmin; et al. Mechanisms of Acquired Resistance to Trastuzumab Emtansine in Breast Cancer Cells. **Molecular Casncer Therapeutics**, v. 17, n. 7, p. 1441-1453, 2018.

LI, Qing; SHU, Yan. Role of solute carriers in response to anticancer drugs. **Mol Cell Ther.** 2014;2:15.

LOGANZO, F.; et al. Tumor Cells Chronically Treated with a Trastuzumab–Maytansinoid Antibody–Drug Conjugate Develop Varied Resistance Mechanisms but Respond to Alternate Treatments. **Mol Cancer Ther**, v. 14, n. 4, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional do Câncer. **Conceito e Magnitude do câncer de mama.** Brasília, DF: Ministério da Saúde: 2021 Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/controlado-cancer-de-mama/conceito-e-magnitude>>. Acesso em: 03 julho 2021.

MOHER, David *et al.* Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: the prisma statement. **Plos Medicine**, [S.L.], v. 6, n. 7, p. 1-2, 21 jul. 2009.

PERNAS, S.; TOLANEY, S. M. Management of Early-Stage Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Breast Cancer. **JCO, Oncology Practice**, v. 17, n. 6, p. 331-334, 2021.

SANSREGRET, Laurent; VANHAESEBROECK, Bart; SWANTON, Charles. Determinants and clinical implications of chromosomal instability in câncer. **Nat Rev Clin Oncol.** 2018;15:139-150.

SANTOS, T. P., et al. Avaliação epidemiológica das pacientes com câncer de mama tratadas com trastuzumabe no Hospital de Base de Brasília. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v. 10, n 36, 2014.

SATO, Ayami; et al. Yes is a central mediator of cell growth in malignant mesothelioma cells. **Oncol Rep.** 28(5):1889-1893, 2012.

SAUVEUR, Juliette *et al.* Characterization of T-DM1-resistant breast cancer cells. **Pharmacology Research & Perspectives**, Lyon, v. 8, n. 4, e00617, 24 jun. 2020.

SCHWARZ, Luis J *et al.* An ERBB1-3 Neutralizing Antibody Mixture With High Activity Against Drug-Resistant HER2+ Breast Cancers With ERBB Ligand Overexpression. **Jnci: Journal of the National Cancer Institute**, [S.L.], v. 109, n. 11, djx065, 3 jun. 2017.

SUNG, Matthew *et al.* Caveolae-Mediated Endocytosis as a Novel Mechanism of Resistance to Trastuzumab Emtansine (T-DM1). **Molecular Cancer Therapeutics**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 243-253, 20 out. 2017.

WANG, Lei et al. STAT3 activation confers trastuzumab-emtansine (T-DM1) resistance in HER2-positive breast cancer. **Cancer Science**, Shangai, v. 109, n. 10, p. 3305-3315, 31 ago. 2018.

WANG, Lei *et al.* YES1 amplification confers trastuzumab–emtansine (T-DM1) resistance in HER2-positive cancer. **British Journal Of Cancer**, Shangai, v. 123, n. 6, p. 1000-1011, 23 jun. 2020.

*Recebido em: 10/08/2022*

*Aprovado em: 12/09/2022*

*Publicado em: 24/09/2022*