



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO -
UNIRIO**

ANA LUIZA DE OLIVEIRA BARBEITAS

**OS HDACs COMO ALVOS TERAPÊUTICOS PARA TUMORES DE
MAMA, PRÓSTATA E GLIOBLASTOMA
REVISÃO DE LITERATURA**

RIO DE JANEIRO

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - UNIRIO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
INSTITUTO BIOMÉDICO – IB
BIOMEDICINA

ANA LUIZA DE OLIVEIRA BARBEITAS

**Os HDACs como alvos terapêuticos para tumores de mama,
próstata e glioblastoma**
Revisão de literatura

Monografia submetida como requisito parcial, para a obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina, pela Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

Orientador: Dr^a Patrícia Cristina dos Santos Costa

RIO DE JANEIRO

2017

Ana Luiza de Oliveira Barbeitas

OS HDACs COMO ALVOS TERAPÊUTICOS PARA TUMORES DE
MAMA, PRÓSTATA E GLIOBLASTOMA
REVISÃO DE LITERATURA

MONOGRAFIA APROVADA EM: **13/12/2017.**

BANCA EXAMINADORA:

Profª Drª Patrícia Cristina dos Santos Costa
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)

Profª Drª Claudia Cardoso Netto
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)

Drª Giselle Pinto de Faria Lopes
Instituto Nacional de Câncer (INCA)

RIO DE JANEIRO

2017

de Oliveira Barbeitas, Ana Luiza
dB223 Os HDACs como alvos terapêuticos para tumores de
mama, próstata e glioblastoma - Revisão de
literatura / Ana Luiza de Oliveira Barbeitas. --
Rio de Janeiro, 2017.

81

Orientador: Patrícia Cristina dos Santos Costa.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro,
Graduação em Biomedicina, 2017.

1. Câncer de próstata. 2. Câncer de mama. 3.
Glioblastoma. 4. Acetilação de histonas. 5.
Inibidores HDAC. I. dos Santos Costa, Patrícia
Cristina, orient. II. Título.

“If you want to go fast, go alone. If you want to go far, go together.”

- African Proverb.

AGRADECIMENTOS:

Agradeço, primeiramente, a Deus. Seu amor por mim me fez chegar até aqui. Agradeço também à minha família que sempre compreendeu minhas escolhas e me apoiou nas lutas. Agradeço aos meus tios e primos por serem tão presentes na minha vida. Agradeço aos meus pais, Ana Maria e Aggeu que estiveram comigo desde o momento da escolha do curso, passando pelo dia da inscrição, a semana que antecedeu as aulas, o primeiro dia, as provas das disciplinas mais cabeludas e até na escolha do vestido de formatura. Não existem palavras que consigam expressar o amor, gratidão e orgulho que tenho por ser filha deles. Meu pai, que só de estar por perto faz meu dia ganhar cor e brilho, é meu exemplo de superação e comprometimento. Minha mãe, que me encanta com a força e a fé inabalável que possui e que tem o melhor cheirinho do mundo. Eles são, com certeza, o meu bem mais precioso. Agradeço também aos meus irmãos, Suzana, João Wandick e Daniella (*in memoriam*), que por conta da diferença de idade sempre foram como pais pra mim. Eles sempre estiveram ao meu lado, cuidando, amando e se preocupando e hoje, sinto que cresci porque eles estiveram comigo. Também agradeço aos meus sobrinhos, Isabella, Arthur, Pedro, Silvana, André, Raquel e Thiago que, com o jeitinho peculiar de cada um, são capazes de encher meu peito de amor e luz.

Agradeço ao meu namorado Caio que durante toda a graduação esteve do meu lado me apoiando e incentivando. Ele esteve ao meu lado durante as semanas de prova e nas férias, me ajudou a amadurecer e a ter forças pra lutar pelos meus sonhos, me aguentou nos momentos de desânimo e mais que isso, me estendeu a mão e me ajudou a me sentir melhor. Meu amor e admiração são infinitos e sou feliz por saber que é recíproco. Agradeço aos meus sogros Sandra e Francisco e também à minha cunhada Carolina pelo carinho e por terem me ajudado tanto com gestos e palavras de conforto nessa jornada, mesmo que estando em outra cidade.

Agradeço às minhas amigas de sempre, Ana Karolina, Barbara, Camille, Tamiris e Jéssica que conseguem me colocar pra cima quando eu penso que não vou conseguir. Agradeço por todos os conselhos e palavras de conforto, abraços e anos de amizade. Mesmo com os compromissos diários e muitas vezes ficando sem nos encontrar, sei a força que essa amizade tem. Agradeço aos amigos que fiz na biomedicina, em especial à Bárbara, Gabriel, Maicon e Milena que me acompanharam

e ajudaram durante esses 4 anos. A amizade deles foi um presente especial que recebi da UNIRIO.

Agradeço também à Patrícia Cristina dos Santos Costa, minha orientadora, que me recebeu de braços abertos e confiou no meu potencial, além de me ajudar e sanar todas as dúvidas que tive. Sem ela essa jornada não poderia ser concluída.

Resumo:

ANA LUIZA DE OLIVEIRA BARBEITAS. OS HDACs COMO ALVOS TERAPÊUTICOS PARA TUMORES DE MAMA, PRÓSTATA E GLIOBLASTOMA - REVISÃO DE LITERATURA. MONOGRAFIA. BACHAREL EM BIOMEDICINA. UNIVERSIDADE FEREDAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. RIO DE JANEIRO. 2017.

O câncer representa um problema de saúde pública mundial e atinge quase 9 milhões de óbitos por ano e, dentre os tipos de câncer mais incidentes no Brasil, estão inseridos o câncer de próstata, câncer de mama e glioblastoma. A desregulação na acetilação de histonas, principais proteínas que compõe o nucleossomo, gera um desequilíbrio entre a atividade enzimática da Histona Acetil Transferase (HAT) e da Histona Desacetilase (HDAC) e é capaz de causar modificações epigenéticas que estão associadas ao desenvolvimento e progressão tumoral. O aumento da atividade de HDAC, por sua vez, é capaz de suprimir genes importantes para o controle de proliferação, crescimento, adesão e reparo celular. Sabendo do papel das enzimas HDAC na progressão tumoral, o objetivo dessa revisão de literatura foi investigar o papel dos inibidores HDAC (HDACi) como estratégias terapêuticas para o tratamento de tumores de mama, próstata e glioblastoma a partir de buscas na literatura. Após análise de ensaios pré-clínicos e clínicos, concluiu-se que, apesar dos HDACi apresentarem resultados significativos no contexto tumoral em modelos pré-clínicos, são necessários mais ensaios clínicos, em diferentes contextos, para avaliar seu papel em pacientes acometidos com esses tumores.

Palavras chave: Câncer de Mama. Câncer de Próstata. Glioblastoma. Acetilação de Histonas. Inibidores HDAC.

Abstract:

Cancer represents a worldwide public health problem and causes almost 9 million deaths annually, and the most common types of cancer in Brazil are prostate cancer, breast cancer and glioblastoma. Deregulation in histone acetylation generates an imbalance between the enzymatic activity of Histone Acetyl Transferase (HAT) and Histone Deacetylase (HDAC) is capable to cause epigenetic modifications associated with tumor development and progression. The increase in HDAC activity, in turn, is capable to suppress important genes for the control of cell proliferation, growth, adhesion and cell repair. The objective of this literature review was focused on research the role of HDACi as therapeutic targets for tumors of the breast, prostate and glioblastoma, based on literature searches prioritizing recent papers with a prominent role in the scientific area. After analyzing pre-clinical and clinical trials, it was concluded that although HDACi present significant results in the cancer context in preclinical models, more clinical trials are needed in different contexts to assess their role in patients with these tumors.

Key words: Breast Cancer. Prostate Cancer. Glioblastoma. Histone Acetylation. HDAC inhibitors.

Lista de Ilustrações:

Figura 1: Representação da incidência mundial dos casos de câncer exceto câncer de pele não-melanoma.

Figura 2: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016-2017 no Brasil por sexo, exceto pele não melanoma*.

Figura 3: Localização espacial da próstata.

Figura 4: Classificação de Gleason. 1: Glândulas uniformes bem diferenciadas e limitadas. 2: Glândulas diferenciadas porém mais espaçadas apresentando um limite menos definido. 3: Glândulas diferenciadas de forma moderada apresentando variação de tamanho e características infiltrativas. 4: Infiltrado irregular junto à tumor glandular. 5: Carcinoma anaplásico apresentando pouca diferenciação glandular.

Figura 5: Composição da mama.

Figura 6: Esquema mostrando os tipos específicos de células envolvidas no desenvolvimento de tumores cerebrais.

Figura 7: Representação esquemática ilustrando o efeito dos tratamentos convencionais (quimio e radioterapia) sobre as CSCs. Os tratamentos atuais visam células altamente proliferativas, deixando uma pequena população de células quiescentes que ao longo do tempo causam a recapitulação tumoral.

Figura 8: Estrutura do Nucleossomo. Em vermelho H3, em roxo H4, em azul escuro H2A, em azul claro H2B e em cinza, o DNA.

Figura 9: Estrutura da cromatina. O DNA está envolvido em torno de um octâmero de histonas para formar o nucleossomo. Os nucleossomos em conjunto formam a cromatina que por sua vez dará origem ao cromossomo.

Figura 10: Representação da acetilação.

Figura 11: Classificação das HDACs

Figura 12: Mecanismos dos inibidores de HDAC que causam morte tumoral.

Figura 13: Estrutura química de Panobinostat.

Figura 14: Estrutura química de Vorinostat.

Figura 15: Estrutura química de Etenostat.

Figura 16: Estrutura química de Ácido Vaspróico.

Figura 17: Estrutura química de Pracinostat.

Figura 18: Estrutura química de Romidepsina.

Figura 19: Fases da pesquisa clínica.

Figura 20: Ano de publicação dos artigos utilizados nesta revisão bibliográfica.

Figura 21: Diminuição da expressão de MTA1 e HIF-1alfa pelas drogas pterostilbeno e vorinostat (SAHA). Camundongos tratados com 10mg/kg de pterostilbeno e 50mg/kg de vorinostat por via endovenosa 5 dias/semana durante 10 semanas. MTA1 (proteína associada a metástase 1) e HIF-1alfa são marcadores de metástase e angiogênese. A: Imunohistoquímica. B: Análise quantitativa de *western blot*, 1: Veículo (10% de DMSO), 2: Pter, 3: SAHA, 4: Pter + SAHA)

Figura 22: Estudos clínicos com HDACi em câncer de próstata.

Figura 23: Alterações nos níveis de PSA após tratamento.

Figura 24: O panobinostat induz apoptose em células TNBC. Imagens de microscópio confocal mostrando corpos apoptóticos (setas) nas linhagens celulares. Marcação vermelha: Filamentos de actina. Marcação verde: Acetilação de histonas H3. Marcação azul: DAPI.

Figura 25: Estudos clínicos com HDACi em câncer de mama.

Figura 26: Expressão dos genes Ki67, STK15 e Cyclin B pré e pós tratamento com vorinostat. Mulheres tratadas com vorinostat (+, N=14) Grupo controle (o, N=11).

Figura 27: A associação de TSA e BEZ235 induz uma maior apoptose celular em linhagem de CM. Marcação azul: DAPI

Figura 28: O tratamento com SAHA diminui a viabilidade celular de células U87MG de GBM.

Figura 29: Estudos clínicos com HDACi em glioblastoma.

Figura 30: Análise Kaplan-Meier de SGM (A) e SLPT (B).

Figura 31: Relação da quantidade de artigos publicados sobre glioblastoma durante os anos.

Lista de Abreviaturas:

BCL6 – *B-cell lymphoma 6*

BID – *Bax-like BH3 protein*

BIM – *BCI-2-like protein 11*

BMF – *BCI2-modifying factor*

CDK – Cinase dependente de ciclina

CM – Câncer de Mama

CP – Câncer de Próstata

CSC – Célula Tronco Tumoral

DMT – Dose Máxima Tolerada

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ER – Receptor de Estrogênio

EUA – Estados Unidos da América

E2F – Família de fatores de transcrição E2F

FDA – *Food and Drug Administration*

GBD – Global Burden of Disease

GBM – Glioblastoma

GFAP – *Glial fibrillary acidic protein*

GSC – Célula-Tronco Tumoral da Glia

HAT – Histona Acetil Transferase

HDAC – Histona Desacetilase

HDACi – Inibidor de Histona Desacetilase

HER2 – Fator 2 de crescimento epidérmico humano

HIF 1A – Fator Induzido por Hipóxia

HP1 – *Heterochromatin protein 1*

Hsp90 – *Heat shock protein 90*

IL6 – Interleucina 6

INCA – Instituto Nacional do Câncer

JNK – *c-Jun N-terminal kinases*

MAPK – Proteína quinase ativada por mitógeno

MEF2 – *Myocyte enhancer fator-2*

MTA1 – *Metastasis associated protein*

MTD – *maximum tolerated dose*

MyoD – Fator de diferenciação miogênico

Noxa – (PMAIP1) *phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PLZF – *Promyelocytic leukaemia zinc finger protein*

PR – Receptor de Progesterona

PSA – Antígeno Prostático Específico

PTN - Proteína

RE – Retículo endoplasmático

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio

SBU – Sociedade Brasileira de Urologia

SGM – Sobrevida Global Média

SLPT – Sobrevida Livre de Progressão Tumoral

SNC – Sistema Nervoso Central

STAT - *Signal Transducer and Activator of Transcription*

TMZ – Temozolamida

TNBC – Tumor de Mama Triplo Negativo

TSA – Tricostatina A

VEG-F – Fator de Crescimento Vascular Endotelial

ÍNDICE

1 - INTRODUÇÃO	17
1.1 - Câncer.....	17
1.1.1 - Câncer de Próstata.....	19
1.1.2 – Câncer de Mama	22
1.1.3 – Glioblastoma.....	24
1.2 - Epigenética	26
1.2.1 - Modificações Epigenéticas	29
1.2.2 – Histona Acetil Transferase.....	30
1.2.3 - Histona Desacetilase.....	31
1.2.4 - Inibidor de Histona Desacetilase	32
1.3 – Supressores Tumorais.....	38
1.4 – Ensaios Clínicos	39
2 – OBJETIVOS	41
3 – METODOLOGIA.....	42
4 – DESENVOLVIMENTO.....	44
5 - CONCLUSÃO.....	63
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Câncer

Existe um ditado que diz que o câncer é tão antigo quanto a raça humana (HAJDU, 2011a). Achados paleontológicos indicam que em tempos pre-históricos os tumores já existiam em animais antes dos homens aparecerem na terra (HAJDU, 2011a).

A palavra “câncer” vem do grego “*karkínos*” que significa caranguejo. O termo foi utilizado pela primeira vez por Hipócrates comparando o câncer ao caranguejo, animal que se adere às estruturas ao redor usando suas garras (HAJDU 2011a). Hoje, esse nome é dado a um conjunto de doenças que apresentam em comum um crescimento celular desordenado, sendo capazes de invadir tecidos e órgãos vizinhos e também distantes (INCA, 2017).

Os avanços realizados entre os anos de 1500 e 1750 em patologia e cirurgia serviram de base para que nos séculos 18 e 19 as composições macroscópica e microscópica de tumores benignos e malignos fossem bem compreendidas (HADJU, 2012). Em 1931, Otto Heinrich Warburg foi consagrado com o prêmio Nobel pelo trabalho que mostrava que as células tumorais podem viver e se desenvolver mesmo na ausência de oxigênio, abrindo assim novos caminhos nas áreas de metabolismo e respiração celular (RAJU, 1998). A partir de então, muito se descobriu sobre essa doença, desde a descrição dos modernos biomarcadores para tipos específicos de câncer (SASMITA, WONG, & LING, 2017) até terapias cada vez menos invasivas e com menos efeitos colaterais aos pacientes (CORSO, BINDRA, & MEHTA, 2017; DECKER, et al., 2017).

Atualmente, o câncer representa um problema de saúde pública que ocorre na maioria dos países do mundo, com a assustadora taxa de crescimento de 20% na última década (**Figura 1**) e atingindo a marca de quase 9 milhões de óbitos por ano, a maioria dos quais registrados em países de baixa e média renda (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE - OMS, 2017). O custo econômico anual total relacionado ao câncer em 2010 foi estimado em aproximadamente 1,16 trilhão de dólares (GLOBAL BURDEN OF DISEASE, GBD, 2016), gastos incompatíveis com a realidade econômica de muitos dos países com populações de baixa e média renda, nos quais

são observadas altas taxas de ocorrência de vários tipos de câncer. Além disso, o desenvolvimento desses estudos não é, na maioria das vezes, originado nesses países, o que dificulta a utilização prática dessas descobertas nas comunidades mais carentes (HARRIS, 2004).

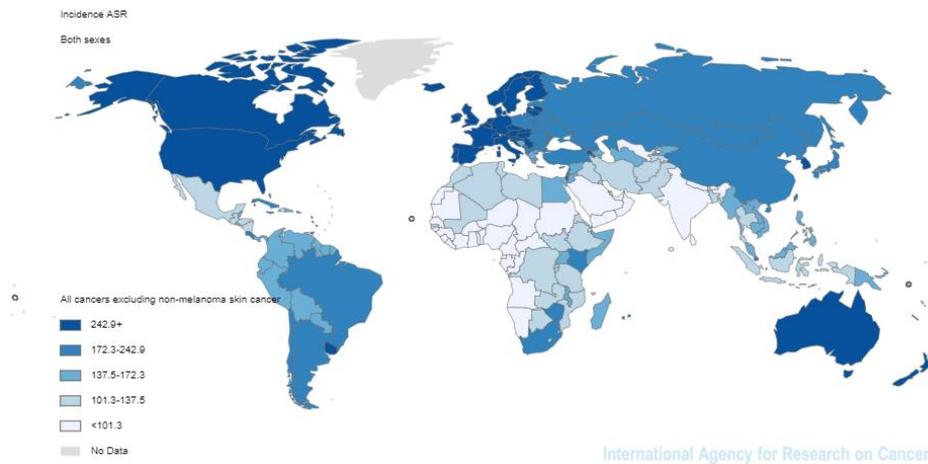


Figura 1: Representação da incidência mundial dos casos de câncer exceto câncer de pele não-melanoma. (OMS em parceria com a Agência Internacional de Pesquisas em Câncer, 2012).

De acordo com pesquisa feita pelo Ministério da Saúde em parceria com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), a estimativa para o Brasil entre 2016 e 2017 apontou para a ocorrência de cerca de 600 mil novos casos de câncer (**Figura 2**) (MINISTÉRIO DA SAÚDE/ INCA, 2016). Dentre os dez tipos de câncer mais incidentes no Brasil, os mais frequentes são o câncer de próstata e o câncer de mama, representando juntos mais de 50% do número total de cânceres estimados e causando um grande impacto na comunidade. Além desses tumores, os tumores que acometem o SNC, incluindo o glioblastoma, também se destaca pois, seu prognóstico é extremamente desfavorável.

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	61.200	28,6%	Homens	Mulheres	Mama feminina	57.960	28,1%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.330	8,1%			Côlon e Reto	17.620	8,6%
Côlon e Reto	16.660	7,8%			Colo do útero	16.340	7,9%
Estômago	12.920	6,0%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.890	5,3%
Cavidade Oral	11.140	5,2%			Estômago	7.600	3,7%
Esôfago	7.950	3,7%			Corpo do útero	6.950	3,4%
Bexiga	7.200	3,4%			Ovário	6.150	3,0%
Laringe	6.360	3,0%			Glândula Tireoide	5.870	2,9%
Leucemias	5.540	2,6%			Linfoma não Hodgkin	5.030	2,4%
Sistema Nervoso Central	5.440	2,5%			Sistema Nervoso Central	4.830	2,3%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Figura 2: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016-2017 no Brasil por sexo, exceto pele não melanoma*. (Estimativa feita pelo INCA para o biênio 2016-2017).

1.1.1 - Câncer de Próstata

O anatomista italiano Nicollò Massa foi o primeiro a descrever a próstata em 1536 e desde então muito se descobriu sobre essa glândula que faz parte do sistema genital masculino (GHABILI, et al., 2016). A próstata está localizada abaixo da bexiga e em frente ao reto tendo uma porção da uretra atravessando seu centro (**Figura 3**). Sua função é produzir uma secreção que representa cerca de 30% do volume total do líquido seminal (GUYTON & HALL, 2011). Para identificar alterações na próstata, são feitos testes direcionados ao antígeno prostático específico (PSA) e exame de toque retal, sendo as principais complicações relacionadas à essa glândula: hiperplasia benigna da próstata que é o crescimento celular estimulado pela testosterona que resulta em aumento do tamanho da próstata, prostatite que é a inflamação da próstata e câncer de próstata (CP). (GUYTON & HALL, 2011).

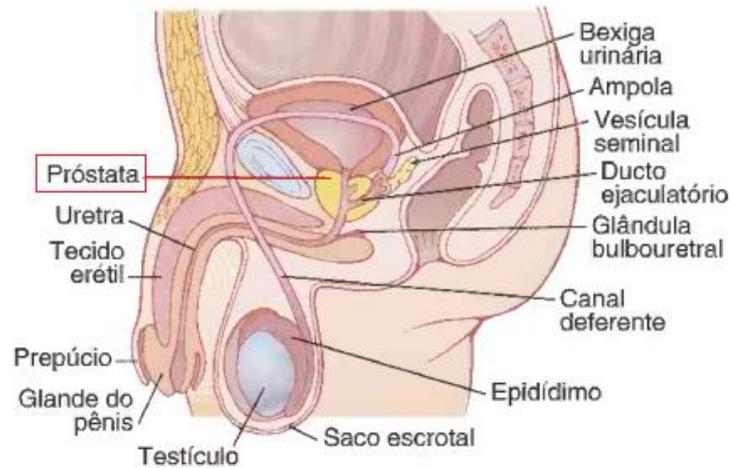


Figura 3: Localização espacial da próstata (GUYTON & HALL, 2011).

O câncer de próstata foi descrito pela primeira vez por J. Abrams, um cirurgião do Hospital Real de Londres em 1853, a partir da observação de um exame histológico (ADAMS, 1853; CARLSSON & VICKERS, 2015). O aumento da incidência desse tumor, contudo, gerou uma necessidade de se desenvolver mudanças no diagnóstico e tratamento dessa patologia ao longo dos séculos.

O CP é classificado em adenocarcinoma por ser originado a partir de células glandulares e atinge, em maiores proporções, homens com idade acima de 65 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE/ INCA, 2016). Esse tumor apresenta alta incidência sendo o segundo tumor mais comum em homens no mundo e o primeiro no Brasil, ocupando a 15ª posição em mortes causadas por câncer em homens com estimativa de 14 mil mortes para o biênio de 2016-2017 (MINISTÉRIO DA SAÚDE/ INCA, 2016). Além disso, sabe-se que os casos de metástase originados do CP aumentaram significativamente nos últimos anos nos Estados Unidos da América (EUA) (WEINER et al., 2016). Esse aumento está intimamente relacionado ao aumento da expectativa de vida da população e à evolução dos métodos diagnósticos que permitiram seu diagnóstico (MINISTÉRIO DA SAÚDE/ INCA, 2016).

Esse tumor possui uma complexa rede de escalas para determinação da sua agressividade sendo capazes de auxiliar na escolha do tratamento adequado além de prever o prognóstico do paciente. Uma dessas escalas é conhecida como pontuação dos níveis de Gleason que possui classificação baseada na aparência histológica

tumoral e nos níveis de diferenciação dos subtipos celulares presentes na massa tumoral, sendo divididos em 5 categorias (**Figura 4**) (GLEASON, 1966). Os grupos 1, 2 e 3 possuem características celulares mais bem diferenciadas e os grupos 4 e 5 apresentam características menos diferenciadas, o que está associado a um perfil mais proliferativo e conseqüentemente mais agressivo (DELAHUNT. et al., 2012). Ao longo dos anos essa classificação sofreu alterações com o objetivo de melhorar, ainda mais, a determinação exata do tumor em pacientes.



Figura 4: Classificação de Gleason. 1: Glândulas uniformes bem diferenciadas e limitadas. 2: Glândulas diferenciadas porém mais espaçadas apresentando um limite menos definido. 3: Glândulas diferenciadas de forma moderada apresentando variação de tamanho e características infiltrativas. 4: Infiltrado irregular junto à tumor glandular. 5: Carcinoma anaplásico apresentando pouca diferenciação glandular (DELAHUNT, et al., 2012).

A progressão do CP ocorre quase sempre de forma lenta, tendo o seu progresso relacionado ao aumento da idade do indivíduo (BELL. et al, 2015). Porém, de acordo com a Sociedade Brasileira de Urologia (SBU), a maioria dos casos é identificada em estágios mais avançados. Isso pode ser explicado pelo preconceito existente em torno do exame de toque retal que leva o homem a não fazer visitas de rotina ao urologista (SBU). Tal preconceito acarreta em um diagnóstico atrasado e aumenta, conseqüentemente, o número de casos de metástase (CARTER et al., 2013; MOYER 2012). Além disso, os tratamentos usados atualmente se concentram em

radioterapia e prostatectomia que são tratamentos fortemente invasivos (HAMDY et al., 2016)

1.1.2 – Câncer de Mama

As mamas começam a se desenvolver durante a puberdade por conta de estímulos mensais de estrogênio, responsável pelo crescimento das glândulas mamárias e pelo armazenamento de gordura na região, resultando em um aumento de massa das mamas. As mamas são constituídas por lobos e alvéolos (glândulas produtoras de leite), ductos lactíferos (que transportam o leite até os mamilos), por tecido adiposo e conjuntivo sendo esse complexo sustentado pelo músculo peitoral maior (**Figura 5**) (GUYTON & HALL, 2011). O comportamento alterado de células presentes no microambiente mamário e consequente alteração na organização desse tecido são capazes de dar origem a um tumor conhecido como câncer de mama (CM) (MELZER, VON DER OHE & HASS, 2017).

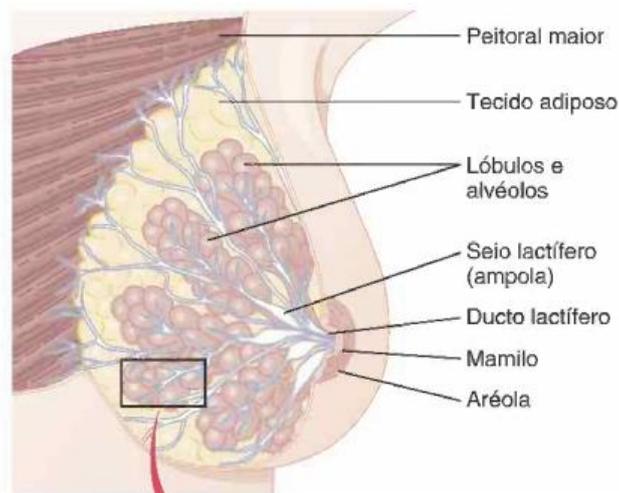


Figura 5: Composição da mama (Guyton & Hall, 2011).

O câncer de mama apresenta alta incidência de casos e representa 15% das mortes causadas por câncer em mulheres, sendo considerado o tumor que mais mata mulheres no mundo (MINISTÉRIO DA SAÚDE/ INCA, 2016). Aproximadamente 230

mil mulheres serão diagnosticadas com câncer de mama invasivo todos os anos, e dessas, cerca de 40 mil virão a óbito (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014). A razão desse número elevado de mortes está no alto número de casos de metástases originados desse tumor primário (WEIGELT, PETERSE & VAN'T VEER, 2005).

O CM é considerado um tumor bastante heterogêneo (TANG et al., 2016; MARUSYK & POLYAK, 2010), apresentando diferenças morfológicas e fenotípicas além de variados comportamentos clínicos (MARUSYK & POLYAK, 2010). Ele é definido como carcinoma por ser originado de células epiteliais e é dividido em alguns grupos de acordo com seu tecido de origem. Os de maior incidência são os carcinomas ductais, originados das células que revestem os ductos lactíferos e os carcinomas lobulares, originados nas regiões lobulares. Eles representam em média 75% e 15% respectivamente, dos tumores de mama nos EUA (LI et al., 2003a; LI, URIBE & DALING, 2005) e os 10% restantes compreendem outros subtipos como os carcinomas mucinoso, tubular, comedo, inflamatório, medular e papilar (LI, URIBE & DALING, 2005).

Contudo, a classificação desse tumor é ainda mais complexa sendo caracterizados, ainda, pelo seu grau de diferenciação (a partir da escala de Nottingham), sendo os tumores com menor grau de diferenciação os considerados com pior prognóstico (ELSTON & ELLIS, 1991). Além disso, são divididos, a nível molecular, em três subtipos: os que possuem receptores de estrogênio (ER) e/ou receptores de progesterona (PR), os que possuem o gene HER2 (*human epidermal growth factor receptor-type 2* – receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano) em abundância e o chamado triplo negativo que não apresenta aumento de HER2 nem de ER e PR (TANG et al., 2016)

O tratamento para o carcinoma mamário utiliza-se, justamente, dessas características moleculares. Os tumores que apresentam receptores hormonais podem ser tratados através de antagonistas seletivos e também com inibidores de síntese hormonal (DEROO & KORACH, 2006; HAGARAJ et al., 2012). Os tumores HER2 positivos tendem a ser mais agressivos e apresentando um pior prognóstico quando comparado aos tumores positivos para receptores hormonais (SOTIRIOU & PUSZTAI, 2009; O'SHAUGHNESSY, 2005). Eles podem ser tratados com anticorpos específicos para HER2 (SOTIRIOU & PUSZTAI, 2009). Já os tumores chamados de triplo negativo, apresentam o pior prognóstico causado pela falta de tratamentos com

marcadores específicos apresentando, por essa razão, uma maior chance de recorrência (ANDERS & CAREY, 2008; FOULKES, SMITH & REIS-FILHO, 2011).

1.1.3 – Glioblastoma

Dentre os tumores que acometem o sistema nervoso central (SNC), os gliomas são um importante subtipo, sendo derivados de células gliais ou seus precursores (ZONG, PARADA L.F., BAKER S.J., 2015) (**Figura 6**). Eles possuem diferentes tipos de prognósticos, e a classificação dos gliomas é baseada em 2 parâmetros: o tipo de célula que origina o foco primário e a capacidade do tumor de se infiltrar em sítios diferentes daquele em que surgiu (HANAHAN D. & WEINBERG R.A., 2000).

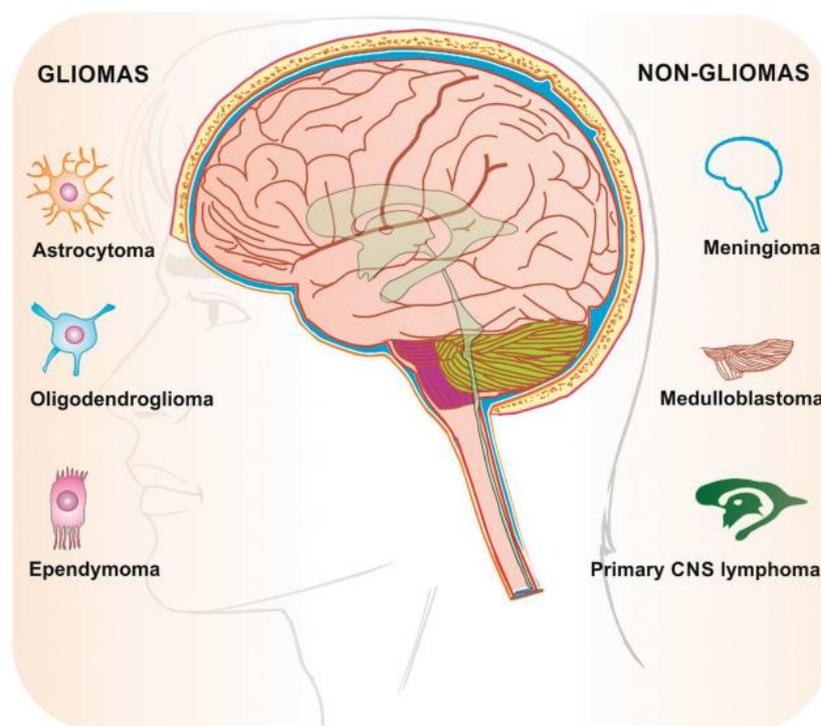


Figura 6: Esquema mostrando os tipos específicos de células envolvidas no desenvolvimento de tumores cerebrais (Malhotra et al, 2015).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), os gliomas são classificados de graus I a IV, com base no nível de malignidade determinado por critérios histopatológicos e moleculares, definindo assim a qualidade de seu prognóstico. Os gliomas graus I e II são geralmente bem diferenciados, apresentam baixo potencial proliferativo e normalmente podem ser tratados através de

procedimentos cirúrgicos, enquanto os gliomas de graus III e IV são altamente invasivos, heterogêneos, malignos e associados a um pior prognóstico (LOUIS et al., 2007; JOVCEVSKA, KOCEVAR & KOMEL, 2013).

Um importante tipo de glioma é o glioblastoma (GBM), tumor classificado como um astrocitoma primário por ser originado dos astrócitos - células gliais em formato de estrela, presentes no cérebro e na medula espinhal, responsáveis por muitas funções, como suporte bioquímico das células endoteliais, provimento de nutrientes aos tecidos nervosos, a manutenção do balanço iônico extracelular, entre outras (KIMELBERG, JALONEN, & WALZ, 1993; LIU, TESCHEMACHER, & KASPAROV, 2017).

O glioblastoma é considerado o tipo mais maligno e mais frequente dentre os astrocitomas primários, representando mais de 60% de todos os tumores cerebrais em adultos (ROCK et al., 2014), tendo seu pico de incidência entre 55 e 60 anos (OHGAKI & KLEIHUES, 2005) e sobrevida média de 15 meses após o diagnóstico (OHKA et al., 2012; THAKKAR et al., 2014). O tumor possui prognóstico crítico, sendo classificado como glioma grau IV.

Principalmente devido às suas características histológicas e proliferativas, os glioblastomas são tumores de alta complexidade, contra os quais as terapias usuais são escassas – radio e quimioterapia - e não muito eficazes. Diversos subtipos de glioblastoma podem ser encontrados em uma mesma amostra (SOTTORIVA, SPITERI, PICCIRILLO, 2013), podendo ser observada a presença de células tronco tumorais (CSCs,) consideradas ponto chave para o crescimento tumoral e sua manutenção (IGNATOVA et al., 2002; JORDAN et al., 2006; REYA, 2011; AL-HAJJ et al., 2004). Estudos demonstram que essa subpopulação é capaz, justamente, de promover a radioresistência e a quimioresistência a partir do tratamento contra o glioblastoma (SINGH et al., 2004; GALLI et al., 2004; CALABRESE et al., 2007; BAO et al., 2006a; RICH, 2007; DONNERBERG et al., 2005) **(Figura 7)**.

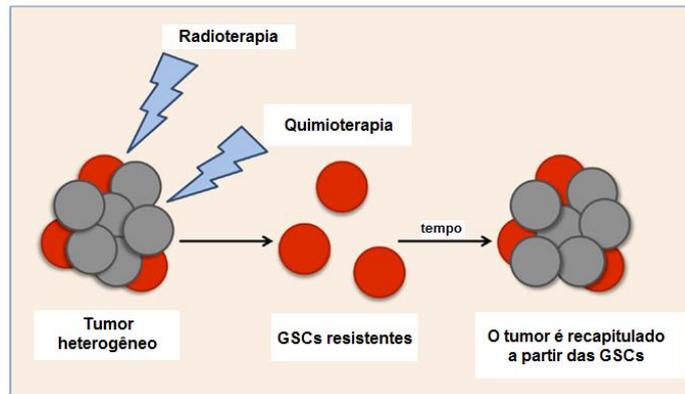


Figura 7: Representação esquemática ilustrando o efeito que os tratamentos convencionais (quimio e radioterapia) sobre as CSCs. Os tratamentos atuais visam células altamente proliferativas, deixando uma pequena população de células quiescentes que ao longo do tempo causam a recapitulação tumoral. (Adaptado de: SEYMOUR, NOWAK & KAKULAS, 2015).

1.2 - Epigenética

O câncer pode ser definido como um grupo de doenças que varia muito em relação a sua origem. Esta grande heterogeneidade se traduz em dificuldade para determinar tratamento adequado. Sabe-se que o crescimento tumoral está associado não só a fatores que levam a alterações genéticas como também a fatores epigenéticos (SADIKOVIC et al, 2008). Nesse contexto, a epigenética e os estudos dos processos envolvidos nessas alterações se inserem como um alvo terapêutico promissor (BISWAS & RAO, 2017).

O termo epigenética foi introduzido por Conrad Hal Waddington em 1942 e foi definido como interações causais entre genes e seus produtos que dão origem aos fenótipos nos seres humanos. Com o passar dos anos, a biologia molecular se aprimorou e passou a se aprofundar consideravelmente no estudo de alterações na função gênica que são mitoticamente e/ou meioticamente hereditárias e que não envolvem uma mudança na seqüência de bases do DNA (DUPONT et al, 2009).

As modificações epigenéticas são mecanismos que levam a alterações da cromatina mas não do material genético (DNA). A partir dessas alterações

determinados genes podem ser ativados ou silenciados de maneira reversível (BIRD, 2007). A cromatina é um complexo de DNA e proteínas que se encontra dentro do núcleo de células eucarióticas e que dão origem ao chamado nucleossomo - elemento base e unidade funcional deste complexo (BIRD, 2007).

As principais proteínas desse complexo são as histonas, que em sua forma de octâmero são capazes de dar origem a uma estrutura de DNA altamente compactada (ANNUNZIATO, 2008). O octâmero de histonas, inclui 1 par de histonas H2A, H2B, H3 e H4 rodeadas por 147 pares de bases de DNA, adicionalmente H1 é responsável por unir os nucleossomos adjacentes (PETERSON, 2004; IZZO, KAMIENIARZ & SCHNEIDER, 2008). **(Figura 8 e 9)**

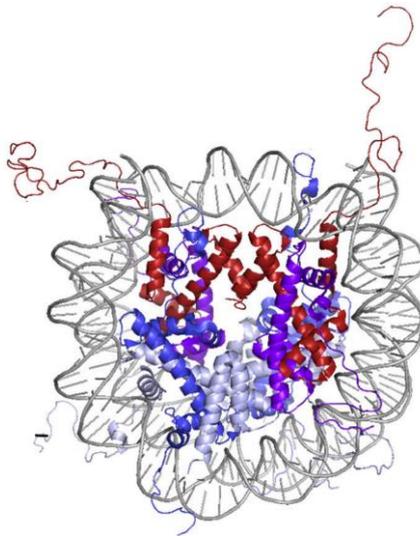


Figura 8: Estrutura do Nucleossomo. Em vermelho H3, em roxo H4, em azul escuro H2A, em azul claro H2B e em cinza, o DNA. (Adaptado de: CECIL, 2016).

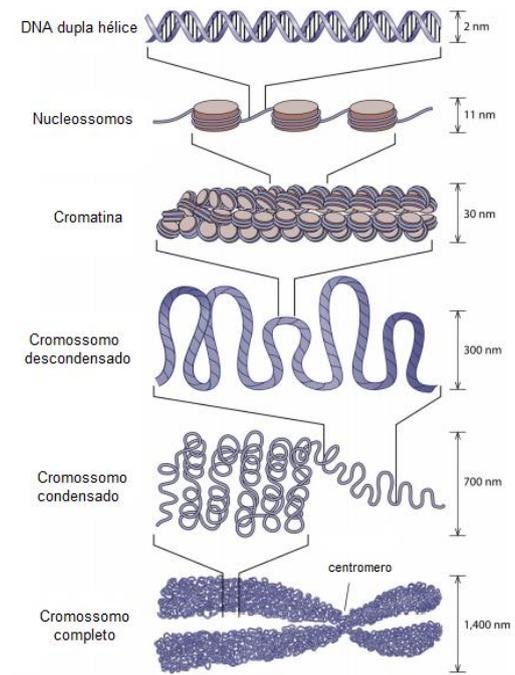


Figura 9: Estrutura da cromatina. O DNA está envolvido em torno de um octâmero de histonas para formar o nucleossomo. Os nucleossomos em conjunto formam a cromatina que por sua vez dará origem ao cromossomo (Adaptado de: JANSEN & VERSTREPEN, 2011).

A partir dessas interações com as proteínas histona, a cromatina pode assumir duas formas: heterocromatina (do grego *heteros* – diferente), de forma compacta, condensada, com a transcrição reprimida e eucromatina (do grego *eu* – verdadeiro), de forma descondensada e geneticamente ativa (HEITZ, 1929; TROJER & REINBERG, 2007). Essas alterações estruturais, além de auxiliarem no acomodamento do DNA no espaço limitante do núcleo celular, são capazes de causar alterações no acesso a fatores de transcrição de informações (MISTELI, 2005; CHAKALOVA et al., 2005).

A exposição à modificações pós-traducionais ocorrem a partir das porções N-terminais das histonas que se projetam para fora dos nucleossomos. As caudas N-terminais são altamente flexíveis e ricas em resíduos de lisina e arginina que podem ser modificados por um grande número de sistemas celulares (RAMAKRISHNAN, 1997). Esses resíduos possuem uma carga positiva que interage com o esqueleto de fosfato (de carga negativa) do DNA (PETERSON & LANIEL, 2004). Por esse motivo, essas modificações têm a capacidade de alterar a estrutura da cromatina, influenciar

na afinidade das histonas pelo DNA e afetar o nível de acessibilidade de fatores de transcrição (STRAHL & ALLIS, 2000; KOUZARIDES, 2007) e, é justamente o enovelamento do DNA em torno das histonas que representa um elemento que dificulta a posterior ligação de proteínas envolvidas na transcrição do DNA como por exemplo, a RNA polimerase (WORKMAN & KINGSTON, 1998).

1.2.1 - Modificações Epigenéticas

As modificações pós-traducionais são alterações químicas de uma cadeia proteica e ocorrem após a sua tradução, em que grupos funcionais são adicionados ou retirados levando a uma mudança na conformação da cromatina e a afinidade das proteínas histonas pelo DNA. Algumas dessas modificações são: acetilação, metilação, fosforilação, glicosilação e ubiquitinação (KOUZARIDES, 2007).

Dentre essas modificações, a acetilação é considerada objeto de estudo de muitos grupos de pesquisa por conta da sua influência em diferentes processos como progressão do ciclo celular, recombinação e reparo de DNA e apoptose. Além disso a regulação da sua expressão está associada a carcinogênese, tendo influência assim, no processo de formação tumoral (CHRUN, MODOLO & DANIEL, 2017).

Na acetilação, o grupo funcional acetil ($R-COCH_3$) é adicionado à lisina da cauda N-terminal das histonas modulando a estrutura da cromatina. Já na desacetilação, esse grupamento acetil é removido (PAZIN & KADONAGA, 1997). Esses dois processos, de adição e remoção de grupamentos acetil são controlados por duas enzimas: Histona Acetil Transferase (HAT) e Histona Desacetilase (HDAC) que juntas mantêm em equilíbrio os mecanismos de acetilação e desacetilação de histonas e conseqüentemente o controle da transcrição gênica, da sobrevivência e do funcionamento celular (**Figura 10**) (PAZIN & KADONAGA, 1997).

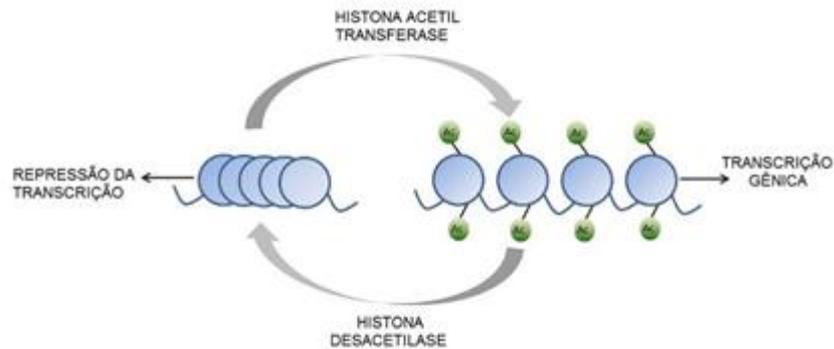


Figura 10: Representação da acetilação. (Adaptado de: SMITH et al., 2017).

As HDACs são responsáveis por remover grupamentos acetil da cromatina permitindo a interação do DNA com as histonas adquirindo um estado mais condensado (MARKS et al., 2001). Por outro lado, as HATs são responsáveis por adicionar grupos acetil aos resíduos de lisina da cauda das histonas, diminuindo a interação do DNA pelas histonas e permitindo o acesso de fatores de transcrição ao material genético (CARROZZA et al., 2003). Essas duas enzimas possuem o potencial de alterar o estado de compactação da cromatina além de regular eventos envolvidos nos processos celulares.

1.2.2 – Histona Acetil Transferase

Durante a acetilação, as HATs transferem o grupamento acetil (carregado negativamente) para a cauda das histonas (de carga positiva), neutralizando sua carga (CARROZZA et al., 2003). Esse processo diminui a afinidade das histonas pelo DNA, que possui carga negativa devido ao seus grupamentos fosfato, tendo como consequência o melhor acesso de fatores de transcrição ao DNA (CARROZZA et al., 2003).

As HATs são organizadas em duas classes com base na sua origem e função. As de tipo A tem localização nuclear com a função de catalisar a acetilação e eventos relacionados à transcrição de genes, as de tipo B são responsáveis por catalisar

eventos de acetilação relacionados ao transporte de histonas recém-sintetizadas do citoplasma para o núcleo (ROTH, DENU & ALLIS, 2001). Com base em sua estrutura primária, essas enzimas são organizadas em famílias, sendo 4 delas as mais estudadas: a família GNAT, a família p300/CBP, a família MYST e a Rtt109 (ROTH, DENU & ALLIS, 2001).

1.2.3 - Histona Desacetilase

A desacetilação das histonas é conhecida por elevar a densidade de carga positiva devido à protonação do grupo amino e, dessa forma, reforça a interação eletrostática entre as histonas e o DNA carregado negativamente, levando a uma cromatina mais condensada e conseqüente repressão da transcrição (MARMORSTEIN & ROTH, 2001; DEKKER & HAISMA, 2009) pela diminuição do acesso de proteínas e outros elementos ativadores ao DNA (ROPERO & ESTELLER, 2007).

Até o momento, 18 HDACs em humanos foram identificadas e são divididas em 4 classes (CHRUN, MODOLO & DANIEL, 2017). A classe I compreende as enzimas HDAC1, HDAC2, HDAC3 e HDAC8 localizados principalmente no núcleo celular. Os de classe II incluem HDAC4, HDAC5, HDAC7 e HDAC9, localizados tanto no núcleo quanto no citoplasma e HDAC6 e HDAC10 localizados somente no citoplasma. Já a classe III é composta por sirtuínas que diferente das outras histona desacetilases, são zinco independentes. Por último, a classe IV inclui HDAC11 presente tanto no núcleo quanto no citoplasma (GREGORETTI, LEE & GOODSON, 2004) (**Figura 11**).

CLASSES	
I	HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC8
II	HDAC4, HDAC5, HDAC7, HDAC9, HDAC6, HDAC10
III	SIRTUINAS
IV	HDAC11

Figura 11: Classificação das HDACs.

Sabe-se que as HDACs em desequilíbrio atuam junto ao crescimento tumoral, uma vez que desencadeiam a transcrição anormal de genes cruciais que controlam funções celulares, como por exemplo a proliferação, regulação do ciclo celular e apoptose. Essas enzimas também possuem várias funções no genoma, como reparação do DNA, montagem da cromatina e recombinação (RAJAK et al, 2014). A explicação para essas funções é pelo fato de que, além da desacetilação de histonas, outras proteínas também podem ser desacetiladas pelas HDACs, como p53, p21, E2F, MyoD, Hsp90 e α -tubulina, ilustrando a complexa função das HDACs (GLOZAK et al, 2005). Assim, as HDACs podem contribuir para o início e o progresso de vários tumores (RAJAK et al, 2014). Além de disfunções em HDAC, sabe-se que o aumento da atividade de HAT leva à ativação de proto-oncogenes, enquanto os genes supressores de tumor são silenciados devido à hipoacetilação (BISWAS & RAO, 2017).

Dessa forma, conclui-se que a desregulação desses processos pode levar a uma grande variedade de doenças humanas, como cânceres e envelhecimento celular e, por essa razão, a epigenética e sua capacidade de reprogramar células diferenciadas têm se tornado alvo de muitos estudos (BERGER et al, 2009; BOCHAR et al., 2000)

1.2.4 - Inibidor de Histona Desacetilase

Embora a acetilação/desacetilação sejam processos bem equilibrados em células normais, a expressão alterada de HDACs e HATs pode causar diversas alterações epigenéticas anormais associadas ao desenvolvimento de diversas doenças, incluindo o câncer. A hipoacetilação, gerada pelo aumento da atividade de HDAC, desempenha um papel importante na iniciação tumoral alterando a expressão de genes e conseqüentemente o fenótipo das células (KIM et al., 2001). A repressão da transcrição gênica causada por essa enzima é capaz de permitir a proliferação celular e impedir a morte dessas células por apoptose (GLOZAK & SETO, 2007).

Os inibidores HDAC (HDACi) interferem na atividade de HDAC impedindo que os grupamentos acetil sejam removidos, promovendo uma hiperacetilação da cromatina e assim regulando eventos biológicos, tais como ciclo celular, modulação imunológica, diferenciação e apoptose em células de câncer (BOLDEN, PEART &

JOHNSTONE, 2006; PENG & SETO, 2011). Eles são capazes de inibir a proliferação de células tumorais por indução da paragem do ciclo celular e up-regulação de inibidores endógenos da progressão do ciclo celular, diferenciação e também apoptose (CAREW, GILES & NAWROCKI, 2008). Na maioria das vezes, as células tumorais apresentam parada de ciclo nas fases G2/M, mas em alguns casos, células tratadas com HDACi apresentam parada na fase G1 do ciclo celular e com isso seu DNA é replicado, contudo essa replicação é precedida pela indução de apoptose (JOHNSTONE, 2002). Sabe-se, também, que vários inibidores HDAC estimulam a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e que, o estresse oxidativo desencadeado, pode desempenhar um papel na morte de células tumorais induzida por HDACi (UNGERSTEDT et al, 2005). Os HDACi interferem também na função das proteínas chaperona (BOSE, DAI & GRANT, 2014). Além disso, esses inibidores demonstraram possuir propriedades antiangiogênicas e diminuir a expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) - proteína que promove o crescimento de vasos sanguíneos - e fator induzido por hipóxia (HIF-1 alfa) (**Figura 12**) (QIAN et al, 2004).

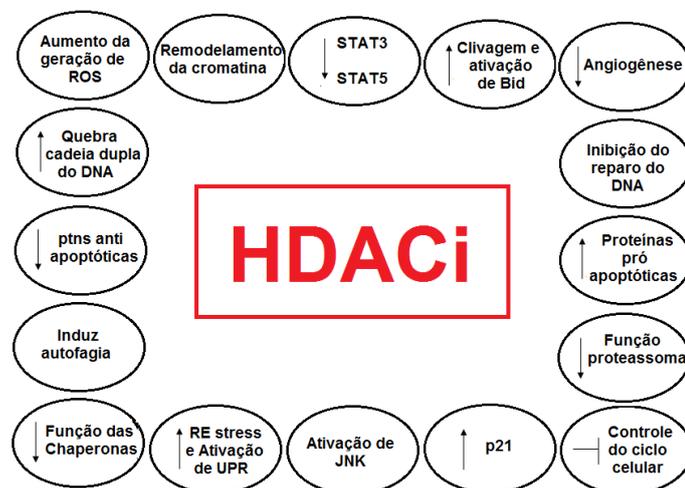


Figura 12: Mecanismos dos inibidores de HDAC que causam morte tumoral. (Adaptado de: BOSE P., DAI Y. & GRANT S., 2014).

Interessantemente, ensaios pré-clínicos têm mostrado que esse inibidores apresentam algum tipo de seleção a essas células modificadas (como as células tumorais) (BOSE, DAI & GRANT, 2014) e por isso esse inibidores de HDAC tornam-

se uma opção promissora para reverter as alterações epigenéticas anormais relacionadas ao câncer (BOSE, DAI & GRANT, 2014). Atualmente, são utilizados na clínica médica como uma nova classe de agentes anti-tumorais (ADAMOPOULOU & NAUMANN, 2013; LEE et al, 2015) e seus efeitos em glioblastoma, CP e CM se concentra na capacidade de regulação do ciclo celular (BOJANG & RAMOS, 2014).

As diferentes classes de inibidores de HDAC, divididos com base na sua estrutura química incluem 4 grupos: ácidos hidroxâmicos, benzamidas, ácido graxo de cadeia curta e peptídeos cíclicos (DOKMANOVIC & MARKS, 2005). Os ácidos hidroxâmicos, entretanto, continuam sendo a classe mais estudada de inibidores de HDAC.

Até o momento, três inibidores de HDAC foram aprovados para a terapia do câncer pelo FDA (*Food and Drug Administration*). A primeira droga, Vorinostat (SAHA, Zolina), desenvolvida pela Merck & Co. Inc. foi aprovada em Outubro de 2006 para utilização em doentes com um tipo raro de linfoma não Hodgkins de pele. Essa droga é estruturalmente relacionado à Tricostatina A (TSA), um produto natural contendo ácido hidroxâmico e originalmente utilizada como fármaco antifúngico. A segunda droga, a Romidepsina (Istodax, FK228, FR901228, depsipeptide), desenvolvida por Gloucester Pharmaceuticals foi aprovada no final de 2009, para o tratamento de linfoma de células T (UEDA et al, 1994). A terceira droga, Belinostat (Beleodaq, PXD-101), foi desenvolvida pela Spectrum Pharmaceuticals e foi aprovada em Julho de 2014 também para o tratamento de Linfoma de células T (FDA, 2014).

Além desses fármacos, outros inibidores de HDAC já foram submetidos a ensaios clínicos para diferentes tipos de tumor, mas ainda não aprovados. O Panobinostat (**Figura 13**), por exemplo, é um análogo do ácido hidroxâmico que inibe seletivamente a histona desacetilase induzindo, dessa forma, a hiperacetilação das proteínas histona levando à uma modulação do ciclo celular com parada nas fases G2/M do ciclo e apoptose. Ele também modula a expressão de genes relacionados à angiogênese como VEGF e HIF-1a (NCBI, CID:6918837). Já o Vorinostat (**Figura 14**) é um derivado do ácido hidroxâmico que leva a hiperacetilação de histonas resultando em uma regulação positiva de p21, indução de apoptose, sensibilização de células tumorais para processos de morte celular e também afetando a atividade de p53 e Hsp90. Além disso, essa droga é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica

(NCBI, CID:5311). O Etinostat (**Figura 15**), por sua vez, é um derivado de benzamida sintético capaz de se ligar e inibir as HDACs de classe I (HDACs 1, 2, 3 e 8), sendo portanto, uma droga seletiva. Ao bloquear os efeitos imuno-supressores de células T-reguladoras, essa droga é capaz de aumentar a resposta imune do organismo aos tumores através da melhora na capacidade de ataque das células T dos pacientes (NCBI, CID:4261). O Ácido Valpróico (VPA) (**Figura 16**) é um ácido graxo com propriedades anticonvulsivantes e normalmente usado no tratamento da epilepsia. Ele é um inibidor de HDAC capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e apresenta funções relacionadas à inibição da proliferação e migração de pericitos -células mesenquimais que dão suporte para a formação de novos vasos sanguíneos- e a sua diferenciação em fibroblastos produtores de colágeno tipo I (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013), mostrando que a inibição causada por VPA apresenta alguma capacidade de inibir a angiogênese (KARÉN et al., 2011; NCBI, CID:3212). Já o Pracinostat ou SB939 (**Figura 17**) é um pan-inibidor de HDAC derivado do ácido hidroxâmico que gera o acúmulo de histonas acetiladas a partir da transcrição seletiva de genes supressores tumorais e induzindo a apoptose das células tumorais (NCBI, CID:49855250). Por fim, a Romidepsina (**Figura 18**) é um antibiótico depsipeptídeo bicíclico derivado da bactéria *Chromobacterium violaceum* que possui atividade antineoplásica. Essa droga é capaz de se ligar e inibir as HDACs resultando em alterações na expressão gênica, na indução da diferenciação celular, parada no ciclo celular, inibição da angiogênese e apoptose. Além disso, essa droga é metabolizada principalmente pelos citocromos CYP3A4 e CYP3A514 (NCBI, CID: 5352062).

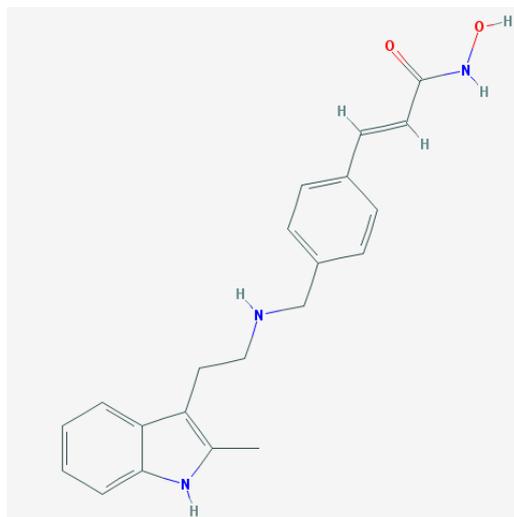


Figura 13: Estrutura química de Panobinostat.

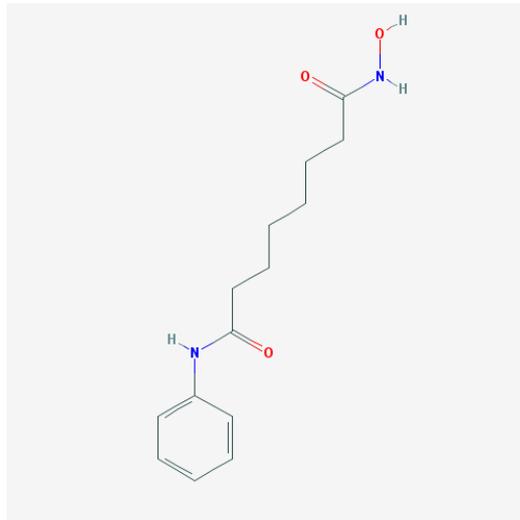


Figura 14: Estrutura química de Vorinostat.

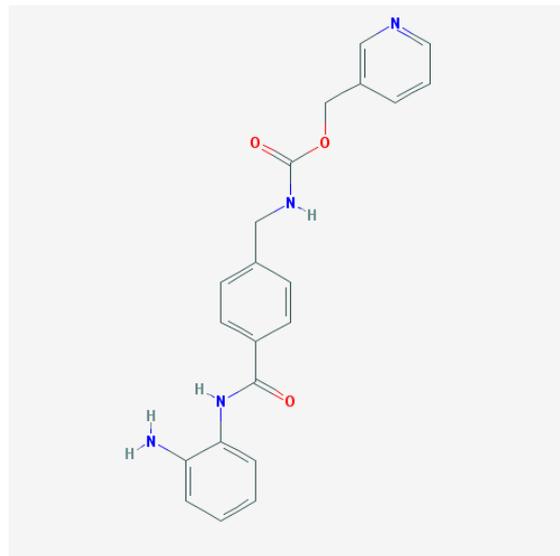


Figura 15: Estrutura química de Etinostat.

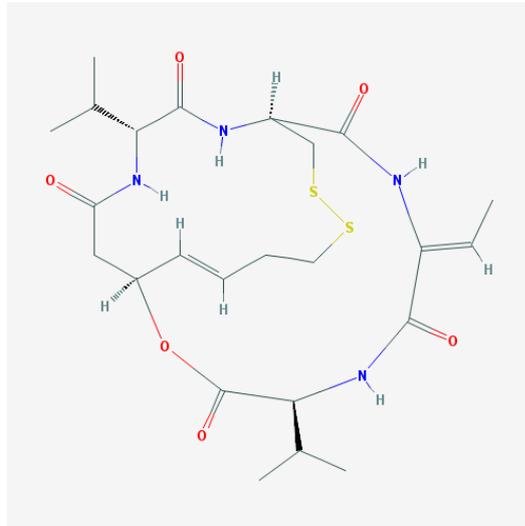


Figura 18: Estrutura química de Romidepsina.

1.3 – Supressores Tumorais

A procura por tratamentos alternativos que sejam específicos e menos invasivos, levou à descoberta de genes supressores tumorais. Esse conjunto de genes, por sua vez, codifica proteínas intimamente envolvidas no controle da iniciação e progressão tumoral a partir do controle dos processos de divisão celular e consequente controle da morte celular programada (apoptose) e reparo do DNA. Mutações nesses genes já são descritas na literatura e uma possível explicação para suas ocorrências é, justamente, as alterações epigenéticas (HAINAUT & PFEIFER, 2016).

As mutações mais conhecidas e importantes são as ocorridas no gene *TP53* e por isso se tornou alvo de estudo de muitos grupos científicos. Mutações no gene *TP53* estão presentes em cerca de 60% dos tumores que acometem os humanos e, essas mutações levam ao silenciamento da proteína p53, fator de transcrição que atua como supressor tumoral (BAUGH et al., 2017). Essa proteína é capaz de controlar outras proteínas que atuam como supressores tumorais como p21. Essa proteína é um inibidor de cinase dependente de ciclina (CDKs) que age regulando a transição da fase G1 para a fase S do ciclo celular (ABBAS & DUTTA, 2009).

Outros genes supressores tumorais são *BRCA1* e *BRCA2* que também agem regulando o ciclo celular e controlando a proliferação celular descontrolada. As proteínas *brca1* e *brca2* reparam danificações existentes no DNA ou destruir as células em que os danos no material genético não podem ser reparados. Mutações nesses supressores tumorais acarretam em um não-reparo de danos no DNA (NICKOLOFF, et al., 2017). Por conta da relação desses supressores tumorais com a proliferação e ciclo celular, o silenciamento deles é capaz de contribuir para o desenvolvimento dos tumores (DUFFY, SYNNOTT & CROWN, 2017).

1.4 – Ensaios Clínicos

Para se desenvolver pesquisas clínicas com variadas drogas, são feitos, anteriormente, testes pré-clínicos. Os testes pré-clínicos são feitos em modelos experimentais e em situações artificiais com o intuito de observar os potenciais efeitos e riscos do uso da droga. Esses testes podem ser comportamentais, para observar os efeitos da droga sobre o comportamento, toxicológicos, para avaliar a toxicidade e possíveis efeitos colaterais e farmacológicos, para avaliar o potencial terapêutico e mecanismo de ação da droga. O objetivo central das pesquisas pré-clínicas é garantir a segurança humana, uma vez que esses ensaios ocorrem antes dos ensaios em seres humanos (ensaios clínicos) (Centro de Desenvolvimento em Estudos Clínicos – CDEC Brasil, 2017).

A pesquisa clínica envolve a participação de seres humanos e segue rigorosos protocolos, além de precisar da aprovação de um comitê de ética para ser desenvolvida. Esses ensaios são divididos em 4 fases com funções e objetivos distintos.

O estudo de fase I representa a primeira etapa de testes em humanos e as drogas são testadas em pequenos grupos de voluntários e tem o objetivo de estabelecer o perfil farmacocinético e farmacodinâmico da droga. Já o estudo de fase II, tem o objetivo de estabelecer a dose segura para uso em humanos e determinar as possíveis reações adversas. No estudo de fase III, o grupo de voluntários é maior e tem o objetivo de determinar os riscos e benefícios da droga a curto e longo prazo e relaciona-los a fatores como idade, sexo e patologias associadas (**Figura 19**). Por fim,

o estudo de fase IV ocorre durante a comercialização do medicamento, sendo assim, estudos de vigilância e observação para definir possíveis efeitos adversos a longo prazo (CDEC, 2017).

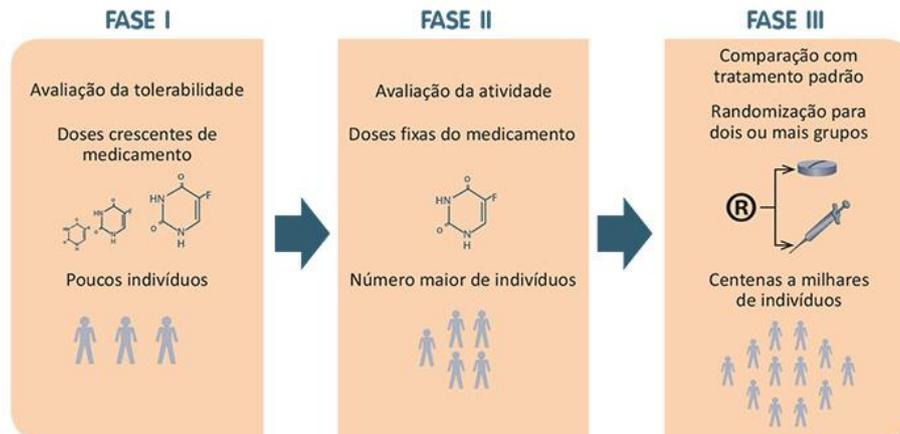


Figura 19: Fases da pesquisa clínica. (Instituto Vencer o Câncer, 2017)

2 – OBJETIVOS

O objetivo dessa revisão bibliográfica é investigar o papel de HDACs como possíveis alvos terapêuticos para tumores de mama, próstata e glioblastoma.

3 – METODOLOGIA

Foi desenvolvida uma revisão bibliográfica para investigar a influência da acetilação em tumores de mama, próstata e glioblastoma e também o papel dos inibidores da enzima HDAC como possíveis alvos terapêuticos para esses tumores. A pesquisa foi feita a partir do banco de bases de dados PUBMED <www.ncbi.nlm.gov/pubmed/advanced>, selecionando artigos de revistas e periódicos com papéis de destaque na área científica priorizando trabalhos publicados recentemente (**Figura 20**) e de grupos de referência nos assuntos em questão. Adicionalmente, foi utilizado o site de busca Google no site eletrônico <www.google.com.br> além de buscas manuais em livros acadêmicos.

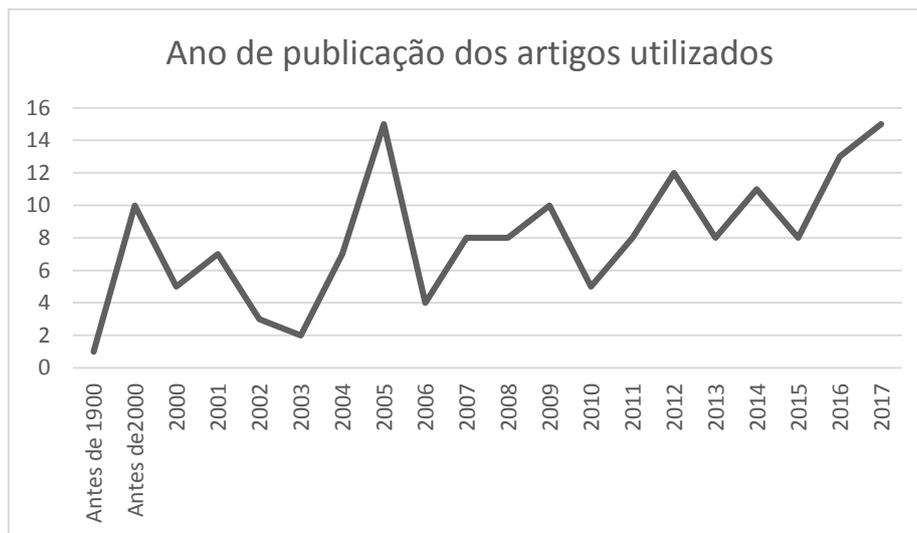


Figura 20: Ano de publicação dos artigos utilizados nesta revisão bibliográfica.

A estratégia de busca para encontrar os ensaios clínicos se focou em direcionar a pesquisa utilizando os termos chave de cada assunto. Primeiramente, as palavras chave utilizadas foram “breast câncer”, “epigenetic”, “epigenetics”, “acetylation”, “HDAC”, “histone deacetylase” e “histone deacetylase inhibitors” todos precedidos do operador booleano “AND” a fim de combinar todas as buscas. Depois, os termos procurados foram “prostate câncer”, “epigenetic”, “epigenetics”, “acetylation”, “HDAC”, “histone deacetylase” e “histone deacetylase inhibitors” todos precedidos no operador booleano “AND”. Após isso, a busca se concentrou em glioblastoma, usando os

termos “glioblastoma”, “GBM”, “epigenetic” “epigenetics” “acetylation” “HDAC” “histone deacetylase” e “histone deacetylase inhibitors” também precedidos do operador booleano “AND”. Os artigos foram então analisados, selecionados e estudados.

A busca de ensaios clínicos foi feita a partir do “*clinical trials*” disponível pelo site de busca PUBMED. Os artigos encontrados foram selecionados eliminando aqueles que estudavam os tumores de mama, próstata e glioblastoma associados à outros tumores, que não os de interesse para a realização dessa revisão de literatura. A escolha dos trabalhos não se restringiu ao ano de publicação, porém, só foram encontrados trabalhos relacionando os HDACi aos tumores de interesse a partir de 2009

4 – DESENVOLVIMENTO

O equilíbrio entre a transcrição ativa e o silenciamento de genes tem papel de destaque em manter a homeostase celular. Mudanças na estrutura da cromatina são capazes de afetar esse balanço e influenciar na transformação das células (TSAI & BAYLIN, 2011). Dentro desse contexto, a acetilação se insere como um mecanismo capaz de afetar a estrutura da cromatina e conseqüentemente a expressão gênica. Em desequilíbrio, as enzimas HAT e HDAC são capazes de causar modificações epigenéticas associadas ao desenvolvimento e progressão tumoral (WEICHERT, 2009; WEICHERT, et al., 2008). Assim, as mudanças epigenéticas tem um forte papel no desenvolvimento do câncer de próstata, câncer de mama e glioblastoma.

O aumento da atividade de HDAC é capaz de suprimir genes importantes para o controle de proliferação, crescimento, adesão e reparo celular sendo considerado um alvo promissor de estudos sobre biomarcadores no diagnóstico de diversos tumores como o CP, CM e GBM (NGOLLO et al., 2014; KIM et al., 2001; TRYFONIDIS et al., 2016; STABERG et al., 2017). Estudos sobre sua atividade vêm crescendo nos últimos anos mas apesar disso, não há um grande corpo de dados disponível na literatura. Alguns trabalhos presentes na literatura relacionam o seu aumento com a repressão de vários genes importantes para o funcionamento da maquinaria de controle celular e também para a diferenciação celular, sendo essa repressão associada a proliferação de células menos diferenciadas (HALKIDOU et al., 2004). Esse conjunto de eventos promove uma multiplicação celular desregulada contribuindo assim para progressão tumoral (GLOZAK & SETO, 2007). Sua relação com a tumorigênese, interessante, também possui envolvimento com o silenciamento transcricional de reguladores negativos do ciclo celular, genes anti-apoptóticos e genes supressores tumorais (LI, CARROL & DAHIYA, 2009), estando dessa forma relacionado a prognósticos ruins (WEST & JOHNSTONE, 2014).

Dentro da classe das HDACs, algumas delas são descritas na literatura e consideradas mais importantes para o crescimento dos tumores estudados nesse trabalho. São elas: HDAC1, HDAC3 e HDAC5 superexpressas em tumores de mama (LI et al., 2016; KRUSCHE et al., 2005), HDAC1, HDAC2 e HDAC3 superexpressas

em tumores de próstata e HDAC 1, HDAC3 e HDAC6 superexpressas em glioblastoma (STABERG et al., 2017). Porém, o envolvimento de outras HDACs já vem sendo estudadas na literatura, mostrando que muitas descobertas a cerca dessas enzimas e do seu papel frente a tumorigênese ainda precisam ser investigadas para que se defina o tratamento ideal e direcionado para cada tipo de tumor.

Das HDACs com papéis relevantes nos tumores de interesse, a HDAC1 foi a primeira desacetilase identificada e descrita em mamíferos (TAUNTON, HASSIG & SCHREIBER, 1996). Depois dela, muitas outras HDACs e suas relações com a progressão de diversas doenças incluindo o câncer já vem sendo descritas. As HDACs 1, 2 e 3 estão envolvidas na regulação do ciclo celular causado pela repressão de genes envolvidos no controle do ciclo celular como p21 (BOSE, DAI & GRANT, 2014). A superexpressão de HDAC1 também está relacionada a inibição do receptor de estrogênio, importante para o tratamento de pacientes com câncer de mama (KAWAI et al., 2003) e a superexpressão de HDAC3 relaciona-se à baixa sobrevivência de pacientes com GBM (STABERG et al., 2017). As HDACs 4, 5, 7 e 9 são co-receptores transcricionais responsáveis pela atividade catalítica de vários complexos e interage com fatores de transcrição como BCL6, MEF2, PLZF e HP1 (BERTOS, WANG & YANG, 2001). Em câncer de mama foi visto o aumento da expressão de HDAC5 em pacientes, sendo o seu aumento relacionado a um pior prognóstico ao avaliar amostras de tecidos (LI et al., 2016). HDAC6 é capaz de regular processos biológicos como a migração celular, degradação de proteínas e formação de sinapses (LEE et al., 2008) além de atuar na inibição das proteínas chaperonas, como Hsp90, impedindo dessa forma o dobramento apropriado de outras proteínas (BOSE, DAI & GRANT, 2014). Em glioblastoma, essa enzima vem sendo relacionada, ainda, com a formação de esferoides e proliferação celular (WANG et al., 2016). Por fim, HDAC6 regula a contração do músculo liso e em eventos relacionados à proliferação celular (WALTREGNY et al., 2005).

De modo geral, observa-se que todas as HDACs ao apresentarem expressão aumentada são capazes de alterar funções celulares relacionadas à proliferação e diferenciação celular, reprimir genes conhecidos na literatura como supressores tumorais, fazendo com que o tumor adquira propriedades mais proliferativas e agressivas e também aumentando a angiogênese através de fatores como HIF1alfa e VEGF (CRESS & SETO, 2000; JUAN et al., 2000; LI, SHIN & KWON, 2013). Além

disso, são capazes de regular positivamente proteínas pró apoptóticas como Bim, Bmf e Noxa (PMAIP1) através da sua atuação sobre p53 (acetilação de p53) e também promover o estresse do retículo endoplasmático, levando à ativação de UPR que por sua vez ativará genes responsáveis pela morte celular (BOSE, DAI & GRANT, 2014).

Dentro desse contexto, os HDACi se inserem como um potente alvo terapêutico (LI, et al., 2016; KRUSCHE, et al., 2005). O silenciamento de HDAC é capaz de inibir a proliferação celular, induzir a apoptose e impedir a migração celular (LI, et al., 2016). Além disso, é capaz de silenciar supressores tumorais como p53 e p21 que regulam atividades celulares como diferenciação, apoptose e sobrevivência celular (LI, SHIN & KWON, 2013).

Ainda são poucos os estudos clínicos em pacientes encontrados na literatura, o que mostra que os estudos e pesquisas sobre inibidores de HDAC relacionado aos tumores de próstata, mama e glioblastoma ainda são recentes e requerem mais tempo para serem melhor compreendidos e avaliados. No Brasil não foram encontrados testes clínicos em desenvolvimento, a partir de buscas pelo site <clinicaltrials.gov>, sendo o maior número de estudos concentrados nos EUA. Entretanto, em modelos animais e culturas celulares, os resultados são mais satisfatórios e resultados relevantes já foram publicados por muitos grupos.

Câncer de próstata

Quando diagnosticado nos estágios mais iniciais, esse câncer tem altas chances de cura através dos tratamentos convencionais – prostatectomia e/ou radioterapia (KOHLI & TINDALL, 2010). Porém, nos casos em que as intervenções convencionais não foram suficientes ou em casos de diagnóstico tardio e de metástase, esses tratamentos não são suficientes e requerem novas abordagens terapêuticas.

Em estudos pré-clínicos utilizando camundongos com CP e administrando a droga vorinostat associada a uma droga capaz de induzir apoptose e inibir a metástase chamada pterostilbena, observou-se que houve inibição do crescimento tumoral, sendo esse resultado dependente da redução da angiogênese ocorrida por esse tratamento (**Figura 21**) (BUTT et al., 2017). Em modelos celulares, a droga vorinostat foi capaz de inibir o crescimento celular induzindo a parada no ciclo celular e apoptose (HUANG & PARDEE, 2000).

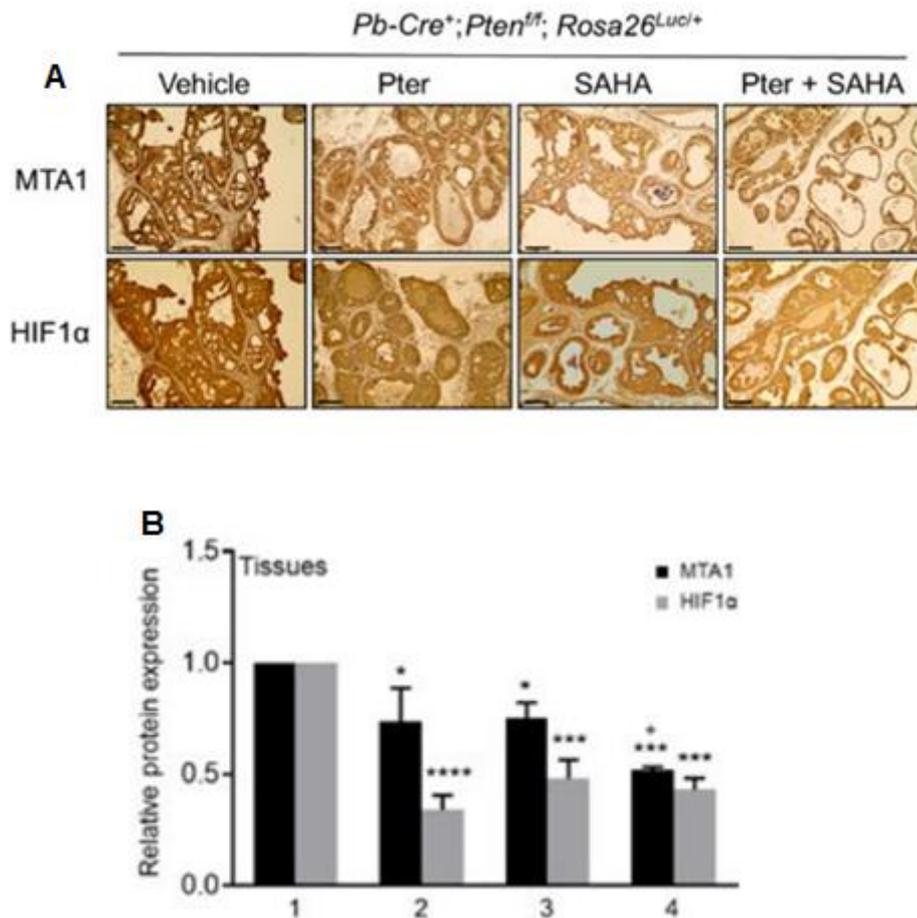


Figura 21: Diminuição da expressão de MTA1 e HIF-1alfa pelas drogas pterostilbena e vorinostat (SAHA). Camundongos tratados com 10mg/kg de pterostilbena e 50mg/kg de vorinostat por via endovenosa 5 dias/semana durante 10 semanas. MTA1 (proteína associada a metástase 1) e HIF-1alfa são marcadores de metástase e angiogênese. A: Imunohistoquímica. B: Análise quantitativa de *western blot*, 1: Veículo (10% de DMSO), 2: Pter, 3: SAHA, 4: Pter + SAHA (BUTT et al., 2017).

Estudos clínicos com HDACi em câncer de próstata					
AUTOR/ESTUDO	DROGA/VIA ORAL	DOSAGEM/POSOLOGIA	NÚMERO DE PACIENTES/GRUPOS	TOXICIDADE/EFEITOS ADVERSOS	RESULTADOS
Bradley D. et al. (2009)	Vorinostat	400mg/dia.	27 com metástase.	Fadiga, náusea, anorexia, vômito, diarreia e perda de peso.	Doença estabilizada em 2 pacientes (7%) e redução da expressão de IL-6.
Molife L.R. et al. (2010)	Romidepsina (endovenosa)	13mg/m ² nos dias 1, 8 e 15 a cada 28 dias.	35 com metástase e resistentes à castração.	Náusea, fadiga, vômito e anorexia.	Diminuição nos níveis de PSA de 5,7%
Rathkopf D.E. et al. (2010)	Grupo 1: Panobinostat Grupo 2: panobinostat + docetaxel (endovenoso)	1: 20mg nos dias 1, 3 e 5 de panobinostat 2: 15mg de panobinostat + 75mg/m ² de docetaxel.	16 resistentes a castração (8 em cada grupo).	Dispnéia e neutropenia.	Grupo 1: todos os pacientes desenvolveram progressão da doença. Grupo 2: 5 de 8 (63%) apresentaram diminuição de PSA.
Rathkopf D.E. et al. (2013)	Panobinostat (endovenoso)	20mg/m ² nos dias 1 e 8 de cada ciclo de 21 dias.	35 resistentes a castração e que receberam quimioterapia.	Fadiga, trombocitopenia, náuseas e diminuição do apetite.	Sem resultados clínicos promissores.
Eigl B.J. et al. (2015)	SB939	60mg 3x/semana.	38 resistentes à castração e metastáticos.	Fadiga e náusea.	Não é recomendado o uso de SB939 como único agente.

Figura 22: Estudos clínicos com HDACi em câncer de próstata.

O trabalho de fase II de Bradley D. e colaboradores publicado em 2009, avaliou 27 paciente com CP progressivo e que fizeram quimioterapia anteriormente. Foi administrado 400mg/dia de Vorinostat por via oral. A doença se estabilizou em 2 pacientes (7%) porém causou diversas toxicidades em grandes proporções o que levou a conclusão de que o efeito tóxico limita a avaliação da eficácia da droga nesses pacientes. Já a redução da expressão de IL-6 (interleucina 6) que é uma citocina que estimula a progressão de alguns tipos de tumor, como por exemplo o câncer de próstata metastático (ADLER et al., 1999). A inibição de HDAC está associada à diminuição da expressão de IL-6 e outros mediadores pró-inflamatórios (LEONI et al., 2005), por isso, a sinalização de IL-6 pode ser um indicador de resposta favorável ao vorinostat (BRADLEY et al., 2009) e sugere a continuação de estudos clínicos dessa droga.

Molife L.R. e colaboradores, realizaram, em 2010, um ensaio de fase II não randomizado com o HDACi Romidepsina em 35 pacientes com CP metastático e resistentes à castração. A dose de 13mg/m² foi administrada por via endovenosa nos dias 1, 8 e 15 durante 6 ciclos de 28 dias. A diminuição nos níveis de PSA foi considerada baixa, atingindo apenas 5,7%. As toxicidades apresentadas foram náusea, fadiga, vômito e anorexia. A atividade antitumoral da Romidepsina foi baixa em pacientes com câncer de próstata metastático e resistentes à castração. Os

autores sugerem então novos estudos para avaliar a ação de HDACi em associação com outras drogas (MOLIFE et al., 2010). Existem dois tipos de castração, a castração física (orquiectomia bilateral) com retirada dos testículos e a castração química com o uso de droga agonista do receptor do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH).

O trabalho de fase I feito por Rathkopf D.E. e colaboradores em 2010, separou 16 pacientes com CP resistentes à castração em 2 grupos (8 pacientes em cada grupo). No grupo 1 era administrado 20mg de Panobinostat por via oral nos dias 1, 3 e 5 durante 2 semanas e no grupo 2: 15mg de Panobinostat por via oral nos dias 1, 3 e 5 durante duas semanas associado a 75mg/m² de Docetaxel endovenoso. As toxicidades apresentadas foram dispneia e neutropenia. Concluiu-se que a utilização do Panobinostat para esse tratamento específico é seguro uma vez que essa droga reduz os níveis de PSA. Porém, os autores sugerem o uso da droga por via endovenosa a fim de aumentar as concentrações máximas da mesma no sangue (RATHKOPF et al., 2010).

O estudo de fase II publicado por Rathkopf D.E. e colaboradores de 2013 com 35 pacientes com câncer de próstata resistente a castração que já receberam quimioterapia. A droga utilizada foi o Panobinostat administrado por via endovenosa de 20mg nos dias 1 e 8 de cada ciclo de 21 dias. O Objetivo do trabalho era avaliar a taxa de sobrevida livre de progressão tumoral (SLPT) ao final de 24 semanas. Dos 35 homens, 5 (14,5%) apresentaram declínio nos níveis de PSA durante o tratamento mas nenhum apresentou um declínio de 50% ou mais (**Figura 23**). 28 pacientes (80%) vieram a óbito após 24 semanas e apenas 4 sobreviveram sem progressão da doença. Sendo assim, o tratamento apenas com Panobinostat em pacientes com CP resistentes à castração não apresentou resultados clínicos suficientes (RATHKOPF et al., 2013).

PSA	Número de pacientes N=35
Aumento (%)	
Todos	28 (80)
< 50%	11 (31,4)
> 50%	17 (48,6)
Redução (%)	
Todos	5 (14,3)
0 a 30%	4 (11,4)
30 a 50%	1 (2,9)
Sem alteração (%)	
Todos	1 (2,9)

Figura 23: Alterações nos níveis PSA após tratamento. (Adaptado de: RATHKOPF et al., 2013).

O estudo de fase II não randomizado de Eigl B.J. e colaboradores publicado em 2015 em 38 pacientes com câncer de próstata resistentes à castração e metastáticos, dos quais 88% não haviam recebido quimioterapia anteriormente. Administrou-se 60mg 3x/dia de SB939 por via oral durante ciclos de 4 semanas, sendo 3 semanas de administração da droga e 1 semana de descanso. Após o final de cada ciclo (em média 3 por paciente) diversas análises foram feitas como por exemplo exames hematológicos, bioquímicos e PSA e coleta de células tumorais circulantes. Os efeitos adversos apresentados foram fadiga e náusea. Embora a droga tenha sido bem tolerada na dose administrada nesse estudo e tenha havido diminuição no número de células tumorais circulantes na maioria dos pacientes, não houve resultado satisfatório relacionado à diminuição de PSA e por isso os autores não recomendam o uso dessa droga como único agente nesse tratamento (EIGL et al., 2015).

Dos estudos clínicos que utilizam HDACi para o tratamento de CP, apenas 1 associou um inibidor HDAC a outra droga, sendo esse estudo o que apresentou o melhor resultado. Isso mostra que é necessário que mais estudos clínicos que associem os HDACi a outras drogas sejam desenvolvidos. Além disso, os pacientes utilizados nos testes clínicos apresentavam estágio avançado de CP, apresentando tumor metastático ou resistentes a castração, ou seja, que conseguem manter um crescimento celular acelerado em ambiente desprovido ou com baixos níveis de testosterona. Nestes casos, há dificuldade de se encontrar tratamento satisfatório.

Sendo assim, é provável que estudos realizados com pacientes em estágios iniciais da doença, alcançariam resultados mais eficientes.

Sabe-se, ainda, que o CP apresenta crescimento lento e sua progressão está associada a idade avançada do paciente (BELL et al, 2015), isso indica que é possível que os homens acometidos por essa patologia apresentem, além de CP, outros problemas de saúde concomitantes, prejudicando a farmacodinâmica das drogas utilizadas no tratamento, por afetar na dinâmica de absorção e distribuição da droga por conta do uso de outros medicamentos usados simultaneamente.

Além disso, dos 5 trabalhos de ensaios clínicos encontrados e selecionados, 3 deles foram desenvolvidos pelo mesmo grupo científico: Bradley et al, 2009; Rathkopf et al, 2010 e Rathkopf et al, 2013. Tais pontos citados, podem ser capazes de explicar o motivos dos ensaios clínicos em CP não possuírem tantos resultados promissores e relevantes.

Câncer de mama

Em aproximadamente 90% dos casos de CM pelo menos um dos fatores ER+, PR+ ou HER2+ é expresso (DESANTIS, et al., 2015). As terapias se baseiam, justamente, nesses fatores para tratar os pacientes. Em muitos desses pacientes as terapias com inibidores hormonais e agentes direcionados a HER2 realmente melhoram a sobrevivência do paciente (GIULIANO, et al., 2011). No entanto, apesar desses tratamentos, é comum que alguns tumores desenvolvam resistência a essas terapias (TRYFONIDIS et al., 2016). Além disso, nos 10% dos casos, em que os tumores não apresentam esses marcadores, apenas a quimioterapia é utilizada, por não existirem fármacos específicos clinicamente aprovados (TRYFONIDIS et al., 2016).

Em camundongos com CM foi visto que a utilização da droga vorinostat, levou à redução de 40% de incidência tumoral nesses animais (COHEN et al., 2002). Em cultura de células TNBC (de tumor de mama triplo negativo), panobinostat foi capaz de diminuir a proliferação e sobrevivência celular bloqueando a progressão do ciclo celular nas fases G2/M. Essa droga foi capaz também, de induzir apoptose após 24h

em cultura em todas as linhagens celulares (MDA-MB-157, MDA-MB-231 e BT-549) (Figura 24) (TATE et al. 2012).

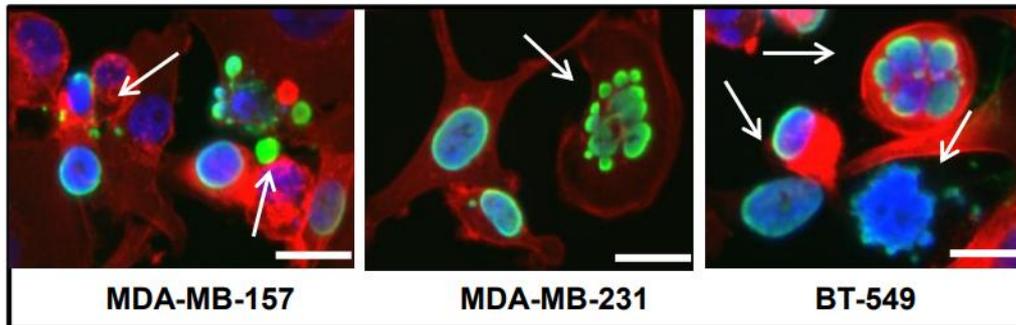


Figura 24: O panobinostat induz apoptose em células TNBC. Imagens de microscópio confocal mostrando corpos apoptóticos (setas) nas linhagens celulares. Marcação vermelha: Filamentos de actina. Marcação verde: Acetilação de histonas H3. Marcação azul: DAPI (TATE et al. 2012).

Estudos clínicos com HDACi em câncer de mama					
AUTOR/ESTUDO	DROGA/VIA ORAL	DOSAGEM/POSIOLOGIA	NÚMERO DE PACIENTES/GRUPOS	TOXICIDADE/EFEITOS ADVERSOS	RESULTADOS
Munster P.N. et al. (2011)	Vorinostat + Tamoxifeno	400mg/dia de Vorinostat + 20mg/dia de Tamoxifeno	43 com CM metastático ER+	Fadiga, náusea, diarreia, anorexia, hiperglicemia, trombocitopenia, neutropenia, linfopenia	21% dos pacientes apresentou doença estabilizada.
Ramaswamy B. et al. (2012)	Vorinostat + Paclitaxel + Bevacizumab	200-300mg 2x/dia intervalados de Vorinostat	54 com CM metastático	Fadiga, diarreia, hiperglicemia, trombocitopenia e neutropenia	Acetilação de alfa tubulina e inibição funcional de hsp90.
Stearns V. et al. (2013)	Vorinostat ou placebo	Grupo 1: 6 doses de 300mg 2x/dia Grupo 2: placebo	50 com CM invasivo (25 por grupo)	Diarreia, fadiga, alteração no paladar e náusea	Diminuição da expressão de ki67, stk15 e cyclin B1 (fatores associados à proliferação).
Yardley A. et al. (2013)	Entinostat + Exemestano ou Exemestano + placebo	Grupo 1: Exemestano 25mg/dia + Entinostat 5mg/semana Grupo 2: Exemestano 25mg/dia + placebo	130 com CM avançado e ER+ (64 no grupo 1 e 66 no grupo 2)	Fadiga e neutropenia	SGM de 28 meses no grupo 1 e 19 meses no grupo 2.
Tu Y. et al. (2014)	Vorinostat + Paclitaxel (endovenosa)	80mg/semana de Paclitaxel + 200-300mg 2x/dia de Vorinostat	55 com CM avançado	Efeitos gastrointestinais e dor de cabeça	Aumento da acetilação de alfa tubulina e inibição de HDAC6 e hsp90.
Tan W.W. et al. (2016)	Panobinostat + Letrozole	20mg (grupo 1) ou 30mg (grupo 2) 3x/semana de Panobinostat + 2,5mg/dia de Letrozole.	12 com CM metastático (6 por grupo)	Trombocitopenia, neutropenia, hiponatremia, diarreia e aumento de creatinina	2 pacientes do grupo 2 obtiveram resposta melhorada à quimioterapia.

Figura 25: Estudos clínicos com HDACi em câncer de mama.

O estudo de fase II de Munster P.N e colaboradores de 2011 avaliou 43 pacientes com câncer de mama metastático ER positivos pré e pós-menopausa tratados com 400mg/dia de Vorinostat durante 3 semanas e 20mg/dia de tamoxifeno,

um inibidor de aromatase e também antagonista do receptor de estrogênio, por 4 semanas, todos em formulação oral. Os pacientes permaneceram em tratamento até o surgimento de toxicidade inaceitável como por exemplo trombocitopenia, neutropenia e linfopenia. 21% do pacientes que participaram do estudo apresentaram estabilização da doença, porém, todos eles já haviam feito uso de algum inibidor de aromatase anteriormente. Foi feito também uma relação da resposta a droga com a acetilação de histonas, mostrando que a resposta era melhor quando havia acetilação. Dessa forma, o estudo concluiu que a combinação desses fármacos foi bem tolerada e apresenta resultados promissores para o tratamento de CM (MUNSTER et al., 2011).

O trabalho de fase I e II de Ramaswamy B. e colaboradores do ano de 2012 se concentrou em determinar a eficácia e segurança do uso de Vorinostat associado ao Paclitaxel -droga capaz de desorganizar a rede de microtúbulos e levar a despolimerização- e ao Bevacizumab- um bloqueador da ação de VEGF- em CM metastático. Foram 54 pacientes com CM metastático receberam 200-300mg de Vorinostat 2x/dia por via oral nos dias 1-3, 8-10 e 15-17 associados a 90mg de Paclitaxel por via endovenosa nos dias 2, 9 e 16 além de 10mg por via endovenosa de Bevacizumab nos dias 2 e 16 a cada 28 dias. 10 pacientes precisaram reduzir a dose de Vorinostat por apresentar toxicidades como fadiga, diarreia, hiperglicemia e trombocitopenia e neutropenia. O uso de Vorinostat induziu a acetilação de alfa tubulina e inibição funcional de Hsp90. Os autores concluem que mais pesquisas em câncer combinando Bevacizumab e Paclitaxel devem ser desenvolvidas (RAMSWAMY et al., 2012).

O estudo de fase II de Yardley D.A. e colaboradores de 2013 se concentrou em mulheres com câncer de mama avançados e ER positivos em situação de pós-menopausa. As 130 mulheres de regiões da América do Norte, Europa Central e Rússia, foram divididas aleatoriamente em 2 grupos. O primeiro, com 64 pacientes, receberia 5mg 1x/semana de Etinostat associado a 25mg por dia do inibidor de aromatase, Exemestano, por via oral e o segundo, com 66 pacientes, receberia 25mg por dia de Exemestano associado a um placebo por via oral em ciclos de 28 dias, sendo observados até suas mortes. O grupo 1 apresentou melhora na SLPT de 4,3 meses contra 2,3 meses no grupo que utilizou o placebo. Fadiga e neutropenia foram as toxicidades mais frequentes. O Etinostat em associação com o Exemestano foi bem

tolerado e demonstrou bons resultados em pacientes com câncer de mama avançado que apresentam ER positivo (YARDLEY et al., 2013).

O trabalho de Stearns V. e colaboradores de 2013, se direcionou a pacientes com câncer de mama invasivo e recém diagnosticado que fizeram uso do pan-inibidor de HDAC, Vorinostat, e dos que não fizeram uso dessa droga. Amostras de tecido de 25 mulheres que receberam até 6 doses de 300mg 2x/dia de Vorinostat e 25 que não receberam o tratamento. Houve então a investigação de genes expressos a partir de RT-PCR e imuno-histoquímica. O tratamento com Vorinostat apresentou diminuição significativa na expressão de genes associados à proliferação como Ki67, STK15 e Cyclin B1 (**Figura 26**). Este trabalho conclui que a administração dessa droga é capaz de diminuir a expressão de genes associados à proliferação de células em tumores de mama não tratados anteriormente e sugere o uso desse HDACi em associação com outros agentes para melhores resultados no tratamento desse tumor (STEARNS et al., 2013).

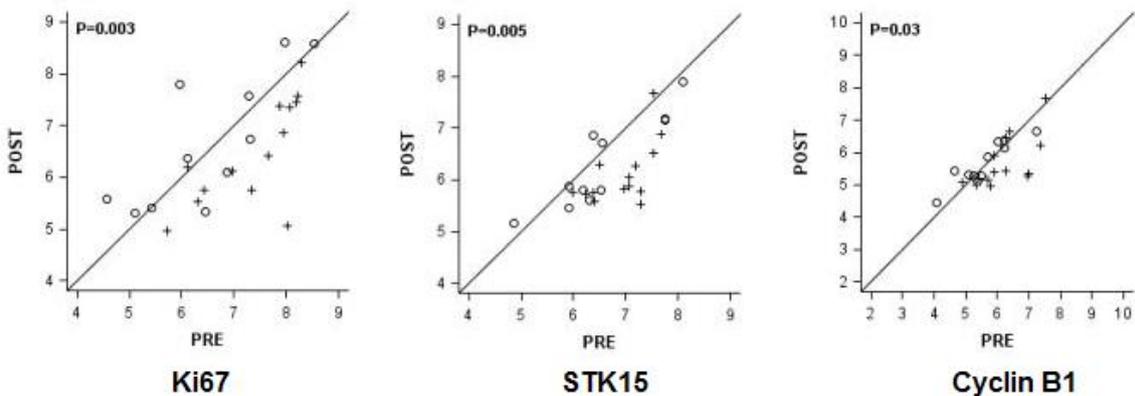


Figura 26: Expressão dos genes Ki67, STK15 e Cyclin B pré e pós tratamento com vorinostat. Mulheres tratadas com vorinostat (+, N=14) Grupo controle (o, N=11). (STEARNS V. et al., 2013).

O estudo de fase I e II de Tu Y. e colaboradores do ano de 2014, avaliou 55 pacientes com CM após 12 doses semanais de 200-300mg por via oral em dias alternados de Vorinostat associado a 80mg de por via intravenosa. Os efeitos adversos apresentados se concentraram nos efeitos gastrointestinais e dores de cabeça. Pôde-se concluir que o Vorinostat aumentou a acetilação de Hsp90 e alfa

tubulina e diminuiu a proteína Hsp90 e a expressão de HDAC6, reduzindo a sobrevivência celular em câncer de mama (TU et al., 2014).

O estudo de fase I de 2016 feito por Tan W.W. e colaboradores, com 12 pacientes e dividindo-os em dois grupos de 6 pacientes, utilizou-se do Panobinostat, associado a um inibidor de aromatase, Letrozole (aprovado pelo FDA para o tratamento de câncer de mama com resposta hormonal). Todos os 12 pacientes possuíam tumor de mama metastático sendo 10 deles ER positivos e 2 triplo negativos. A dosagem dos fármacos por via oral utilizados no primeiro grupo foi de 20mg 3x/semana de Panobinostat associado a 2,5mg diariamente de Letrozol. No segundo grupo a dosagem, por via oral foi de 30mg 3x/semana de Panobinostat associado a 2,5mg diariamente de Letrozol em um total de 43 ciclos de tratamento. O objetivo de separar os pacientes em 2 grupos e administrar doses diferentes para eles foi determinar a dose máxima tolerada (DMT) do Panobinostat em associação com o Letrozol. O DMT foi definido como a dose mais alta que levou a pelo menos dois problemas de toxicidade que incluíam trombocitopenia, neutropenia, anemia, náuseas, vômitos e diarreia. Esse estudo recomenda o uso de uma dose inicial de 20mg 3x/semana de Panobinostat associado a Letrozol e, caso não haja toxicidade grave, que a posologia seja de 30mg de Panobinostat, uma vez que os resultados positivos se concentraram nos pacientes do grupo 2. Além disso, sugere resultados encorajadores para pacientes triplo negativos e com baixos níveis de ER reforçando a importância de estudos que associem os HDACi com inibidores de aromatase para o tratamento de câncer de mama metastático (TAN et al., 2016).

Os ensaios clínicos feitos utilizando HDACi em câncer de mama se concentraram em pacientes que apresentavam tumor metastático e invasivo, ou seja, tumores em estágios de desenvolvimento bem avançado. Esse fator pode explicar o motivo dos resultados obtidos não serem melhores do que os apresentados. Estudos clínicos com HDACi deveriam focar em pacientes recém diagnosticados a fim de evitar que o quadro da doença não alcance níveis críticos como o aparecimento de metástases. Além disso, grande parte dos trabalhos se direcionam a pacientes que apresentam positividade para algum dos fatores ER, PR e HER2, sendo que os tumores triplo negativos são os tumores de mama que apresentam menos opção de tratamento e deveriam se tornar o foco de estudos que buscam alternativas farmacológicas para tratamentos eficazes.

Nos casos em que os pacientes desenvolvem resistência aos fatores hormonais, uma alternativa seria associar os HDACi à outros fármacos além dos inibidores de aromatase, que são os mais utilizados nos ensaios clínicos citados acima. Estudos pré-clínicos apresentam resultados promissores na combinação de BEZ235 um inibidor duplo PI3K / mTOR e TSA. Essa associação resultou em inibição significativa do crescimento celular por apoptose em diversas linhagens celulares de CM (**Figura 27**). Sendo assim, mais estudos pré-clínicos e clínicos precisam ser desenvolvidos relacionando os HDACi a outras drogas para se buscar a associação que garante resultados promissores (CHEN et al., 2017).

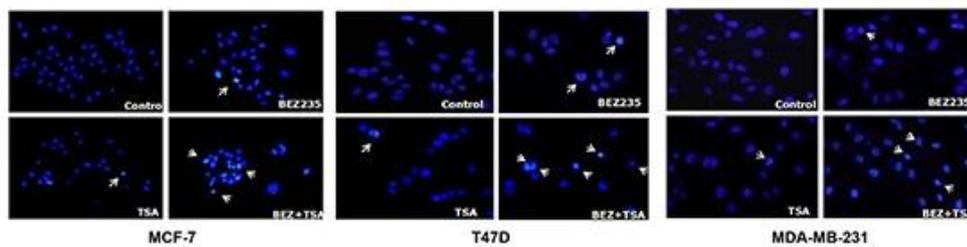


Figura 27: A associação de TSA e BEZ235 induz uma maior apoptose celular em linhagem de CM. Marcação azul: DAPI (CHEN et al., 2017).

Glioblastoma

O tratamento contra o GBM se restringe a quimioterapia e radioterapia, porém, é relatado que esses tratamentos selecionam as células tronco tumorais, que são mais agressivas e se multiplicam mais rapidamente (SINGH et al., 2004; GALLI et al., 2004; CALABRESE et al., 2007; BAO et al., 2006a; RICH J.N., 2007; DONNERBERG et al., 2005). Por conta dessa seleção, a recorrência nesse tipo de tumor ocorre em praticamente todos os casos e menos de 5% dos pacientes sobrevivem após 5 anos de diagnóstico, o que torna extremamente necessária a busca de novas abordagens terapêuticas (LEE et al., 2017; STRUPP et al., 2005). Uma alternativa terapêutica promissora seria, justamente, os inibidores de HDAC.

Em estudos pré-clínicos em modelo de cultura de células de GBM, utilizando a droga Tricostatina A (TSA), observou-se que houve redução da proliferação celular apresentando parada na fase G2/M do ciclo celular e aumento de GFAP, utilizado nesse caso como marcador celular (SASSI et al., 2014). Outro estudo com células de

GBM em suspensão permitindo a formação de esferóides mostra que o uso do HDACi SAHA diminui a viabilidade celular (**Figura 28**), reduz a expressão de marcadores relacionados à características de células tronco (HSU et al., 2016).

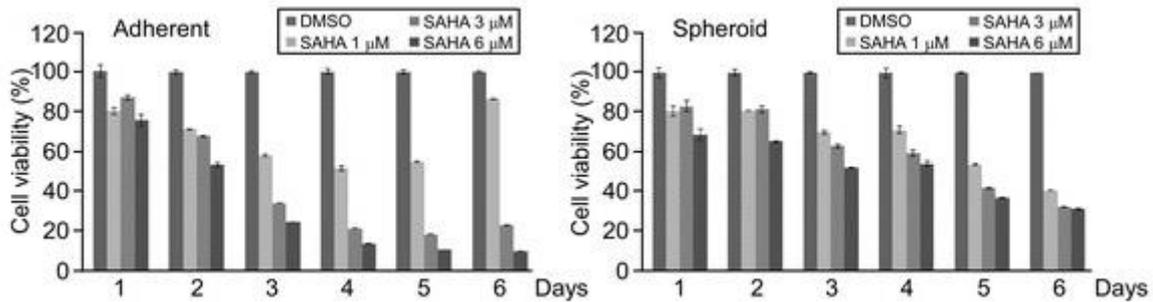


Figura 28: O tratamento com SAHA diminui a viabilidade celular de células U87MG de GBM. (HSU et al., 2016).

Estudos clínicos com HDACi em glioblastoma					
AUTOR	FÁRMACO/ VIA ORAL	DOSAGEM	NÚMERO DE PACIENTES	TOXICIDADE	RESULTADOS
Iwamoto F.M. et al. (2011)	Romidepsina	13,3mg/m ² -17,7mg/m ² de Romidepsina nos dias 1, 8 e 15.	Fase I: 8 Fase II: 35	Trombocitopenia, náusea, anemia e fadiga.	Na dose utilizada foi ineficaz o tratamento de pacientes com GBM recorrente.
Chinnayan P. et al. (2012)	Vorinostat, Bevacizumab e CPT-11	400mg de Vorinostat + 10mg/kg de Bevacizumab + 125mg/m ² de CPT-11.	19 com GBM recorrente	Fadiga e diarreia, hipertensão/hipotensão e isquemia do SNC.	As altas doses de vorinostat apresentaram uma sobrevida melhorada e sem progressão quando comparadas às menores doses.
Friday B.B. et al. (2012)	Vorinostat + Bortezomib	400mg de Vorinostat + 1,3mg/m ² de Bortezomib.	37 com GBM recorrente	Trombocitopenia, fadiga e neutropatia, linfopenia e neutropenia.	Combinação dessas drogas nas dosagens utilizadas para pacientes com GBM recorrente não é recomendada.
Lee E.Q. et al. (2012)	Vorinostat + Temozolamida (TMZ)	500mg/dia de Vorinostat.	59 com glioma de alto grau (incluindo GBM)	Anorexia, hemorragia, trombocitopenia, fadiga, linfopenia e eventos tromboembólicos.	Observou-se hiperacetilação de histonas H3 e H4 em células mononucleares periféricas.
Krauze A.V. et al. (2015)	VPA + Temozolamida + radiação padrão	25mg/kg de VPA dividido em duas doses diárias + 75mg/m ² de TMZ.	37 recém diagnosticados	Toxicidades no sangue e na medula óssea, neurológica e metabólica.	A SGM apresentada foi de 29,6 meses e a SLPT foi de 10,5 meses.
Lee E.Q. et al. (2015)	Panobinostat + Bevacizumab	30mg 3x/semana de Panobinostat + 10mg/kg a cada 2 semanas de Bevacizumab.	39 com glioma recorrente de alto grau (GBM e glioma anaplásico recorrente)	Hipofosfatemia, trombocitopenia, linfopenia, neutropenia, elevação da alanina aminotransferase, hemorragia e embolia pulmonar.	SLPT em GBM de 30,4% em uma média de 5 meses.
Galanis E. et al. (2009)	Vorinostat	200mg 2x/dia.	66 recorrentes	Trombocitopenia, fadiga, desidratação e hipernatremia.	A SGM dos pacientes foi de 5,7 meses.

Figura 29: Estudos clínicos com HDACi em glioblastoma.

No estudo de Galanis E. e colaboradores de 2009 com 66 pacientes com GBM recorrente administrou 200mg 2x/dia de Vorinostat durante 14 dias seguida de um período de repouso de 7 dias. As toxicidades observadas foram trombocitopenia, fadiga, desidratação e hipernatremia e a sobrevivência global média (SGM) dos pacientes foi de 5,7 meses. O Vorinostat apresentou atividade modesta nos pacientes participantes do estudo porém, alguns pacientes obtiveram um benefício clínico considerável e por isso, os autores sugerem novos estudos com o vorinostat em combinação a outras drogas para pacientes com GBM recorrente (GALANIS, et al., 2009).

O estudo de fase I e II de Iwamoto F.M. e colaboradores de 2011 se concentrou em determinar a farmacocinética da Romidepsina quando injerida em associação com um fármaco antiepiléptico indutor de enzimas -porque os fármacos antiepilépticos induzem fortemente CYP3A4- e avaliar a eficácia antitumoral da Romidepsina em pacientes com glioblastoma recorrente que não usaram a Romipedsina em associação com esses fármacos antiepilépticos. Na fase I do estudo, duas doses de Romidepsina foram administradas em 8 pacientes, 13,3mg/m² e 17,7mg/m² nos dias 1, 8 e 15 a cada 28 dias e foi observado que o perfil farmacocinético foi similar nos pacientes que receberam a Romidespsina associada a um fármaco antiepiléptico e nos pacientes que receberam apenas a Romidepsina. Na fase II, 35 pacientes foram tratados com Romidepsina endovenosa na dosagem de 13,3mg/m² nos dias 1, 8 e 15 de cada ciclo de 28 dias. A SLPT foi em média de 8 semanas e até o fim do estudo 34 pacientes (97%) vieram a óbito, sendo a duração média de sobrevivência de 34 semanas. Além disso, foram feitas radiografias durante todo o estudo para avaliar o diâmetro do tumor. O estudo conclui que a Romidepsina em sua dose de administração padrão não foi suficiente no tratamento de pacientes com GBM recorrente porém em combinação com outros agentes ou radioterapia podem ser mais eficazes (IWAMOTO, et al., 2011).

Chinnayan P. e colaboradores em 2012 iniciaram um estudo de fase I para determinar as toxicidades limitantes da dose e a DMT da combinação de Vorinostat, Bevacizumab e CPT-11 em glioblastoma recorrente. 19 pacientes participaram desse estudo sendo as doses estabelecidas de 400mg por via oral entre os dias 1 e 7 e 15 e 21 a cada 28 dias de Vorinostat, 10mg/kg de bevacizumab por via endovenosa nos dias 1 e 15 de cada ciclo e 125mg/m² de CPT-11 –fármaco que inibe a topoisomerase

I, enzima importante no processo de replicação e empacotamento do DNA- por via endovenosa também nos dias 1 e 15 de cada ciclo. As altas doses de Vorinostat apresentaram uma sobrevida melhorada e sem progressão quando comparadas às menores doses dessa droga. As toxicidades apresentadas foram fadiga e diarreia, hipertensão/hipotensão e isquemia do SNC. O estudo sugere a investigação mais aprofundada da combinação do Vorinostat com o Bevacizumab.

No estudo de fase II de Friday B.B. e colaboradores de 2012, foi avaliada a eficácia de Vorinostat em combinação com o Bortezomib, um inibidor de proteossoma, em 37 pacientes com GBM recorrente. A administração dos fármacos foi de 400mg/dia durante 14 dias em ciclos de 21 dias de Vorinostat por via oral e 1,3mg/m² nos dias 1, 4, 8 e 11 de cada ciclo de Bortezomib por via endovenosa. As toxicidades apresentadas foram trombocitopenia, fadiga e neutropatia, linfopenia e neutropenia. O tempo médio de progressão da doença foi de 1,5 meses e a SGM foi de 3,2 meses, concluindo que a combinação dessas drogas nas dosagens utilizadas para pacientes com GBM recorrente não é recomendada (FRIDAY, et al., 2012).

No estudo de fase I de Lee E.Q. e colaboradores de 2012 em 59 pacientes com glioma de alto grau (incluindo 39 pacientes com GBM) foi dividido em duas fases. A primeira fase teve o objetivo de definir a DMT do inibidor de HDAC, Vorinostat em combinação com 150mg/m² de Temozolamida (TMZ) durante 5 dias em ciclos de 28 dias. A dose de Vorinostat administrada foi de 500mg por dia entre os dias 1 e 7 e entre os dias 15 e 21 a cada ciclo de 28 dias. As toxicidades apresentadas foram anorexia, hemorragia e trombocitopenia. Na segunda fase foi administrado 150mg/m² por dia durante 5 dias no primeiro ciclo e 200mg/m² por dia durante 5 dias nos ciclos subsequentes de TMZ e 400mg/dia entre os dias 1 a 7 e 15 a 21 a cada ciclo de 28 dias, os efeitos adversos apresentados foram fadiga, linfopenia, trombocitopenia e eventos tromboembólicos. Os pacientes das duas fases foram tratados por no máximo 13 ciclos. Coletas de sangue foram feitas durante todo o estudo para avaliar o estado de acetilação das histonas em células mononucleares periféricas -células importantes de defesa contra infecções-. O tratamento com Vorinostat resultou em hiperacetilação das histonas H3 e H4 em células mononucleares periféricas e foi bem tolerado pelos pacientes. Como essa droga atravessa a barreira hematoencefálica, é possível que o efeito observado nas células mononucleares periféricas seja observado também nas

células de gliomas, podendo gerar resultados clínicos favoráveis para esses pacientes, sendo portanto necessário novos estudos nessa área (LEE, et al., 2012).

No estudo de fase II de Lee E.Q. e colaboradores do ano de 2015 em 24 pacientes com GBM e 15 pacientes com glioma anaplásico recorrente. Foi administrado 30mg 3x/dia de Panobinostat por via oral em combinação com 10mg/kg a cada duas semanas de Bevacizumab. A taxa de SLPT em pacientes com GBM foi de 30,4% em uma média de 5 meses e a taxa de SLPT em pacientes com glioma anaplásico recorrente foi de 46,7% em uma média de 7 meses. Os resultados obtidos foram menores do que o esperado pelo grupo que não observou aumento significativo da taxa de SLPT comparado ao trabalho de Kreisl T.N. e colaboradores de 2009 que observam a ação isolada do Bevacizumab (KREISL et al., 2009; LEE, et al., 2015).

Em modelos pré-clínicos o VPA se mostrou sensibilizar células de GBM para posterior radiação. Por isso, Krauze A.V e colaboradores iniciaram em 2015 um estudo de fase II com 37 pacientes recém diagnosticados que apresentassem expectativa de vida maior que 8 semanas. Esses pacientes receberam 25mg/kg de VPA por via oral dividido em duas doses diárias associadas à terapia de radiação padrão e 75mg/m² de TMZ. As principais toxicidades apresentadas foram toxicidades no sangue e na medula óssea, toxicidade neurológica e metabólica. A SGM apresentada foi de 29,6 meses e a SLPT foi de 10,5 meses (**Figura 30**), mostrando que a adição de VPA aos outros fármacos já utilizados na clínica pode resultar em melhores resultados aos pacientes (KRAUZE et al., 2015).

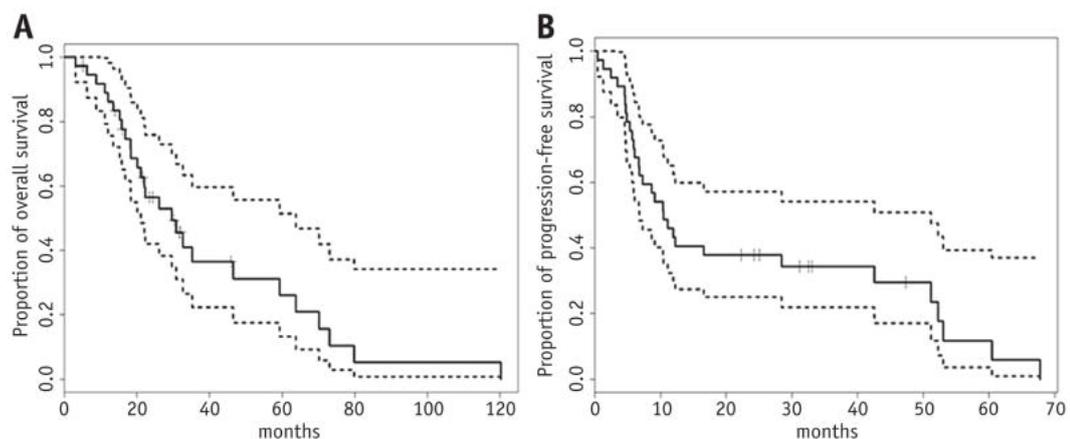


Figura 30: Análise Kaplan-Meier de SGM (A) e SLPT (B). (KRAUZE et al., 2015)

Os número de trabalhos publicados na literatura sobre glioblastoma têm crescido nos últimos anos (**Figura 31**) e, utilizando as estratégias de busca no pubmed associando os tumores estudados nessa revisão às modificações epigenéticas -mais especificamente os inibidores da histona desacetilase- o glioblastoma foi o tumor que apresentou o menor número de artigos científicos encontrado. Em contrapartida, os estudos clínicos com HDACi foram os mais abundantes, mesmo que ainda em pequeno número. Isso pode ser relacionado aos problemas encontrados nos métodos atuais para o tratamento dessa patologia que, na maioria dos pacientes acometidos, não gera resultados satisfatórios. Dentro desse contexto, os inibidores HDAC tornam-se uma alternativa aos tratamentos convencionais e se o seu uso apresentar uma melhora na sobrevida do paciente, por mais que pequena, já é considerada favorável.



Figura 31: Relação da quantidade de artigos publicados sobre glioblastoma durante os anos.

Como dito anteriormente, esse tumor apresenta diversos subtipos celulares incluindo as CSCs. Como a presença dessas CSCs já foi relacionada à agressividade e manutenção tumoral *in vivo* e *in vitro* (IGNATOVA et al., 2002; JORDAN et al., 2006; REYA, 2011; AL-HAJJ et al., 2004), estudos clínicos deveriam investigar mais a fundo se os inibidores HDAC afetam, de forma significativa, a viabilidade desse subtipo celular. Essa investigação poderia se concentrar em identificar marcadores específicos para células tronco e embrionárias pré e pós tratamento com a droga, por

exemplo além de investigar fatores já observados nos ensaios clínicos para câncer de próstata e mama como fatores associados à proliferação e angiogênese.

Outros ensaios clínicos foram encontrados, porém, avaliando diversos tipos de tumores sólidos em conjunto e não só os tumores estudados nessa revisão. Estudos combinaram a ação de Bevacizumab e Ácido Valpróico em diversos tumores sólidos avançados incluindo CM e CP e observaram melhora na sobrevida dos pacientes (WHEELER et al., 2014). O uso de Etenostat em associação com Isotretinoína (*13-cis retinoic acid*) que regula alguns fatores de transcrição resultando na apoptose de células, foi utilizado em 19 pacientes com neoplasias malignas incluindo o CP, durante 18 meses e não apresentou resposta significativa mas sugere novos testes para tumores de próstata, rim e pâncreas (PILI, et al., 2012). Outro trabalho utilizando Vorinostat associado a Docetaxel, droga que interfere no crescimento normal dos microtúbulos, observou 12 pacientes, dentre eles homens com CP resistentes à prostatectomia. Os resultados mostraram que a combinação dessas duas drogas não é bem tolerada e nenhuma resposta positiva foi observada (SCHNEIDER, et al., 2012).

5 - CONCLUSÃO

Os HDACi são opções promissoras no tratamento dos tumores de próstata, mama e glioblastoma. Ensaio pré-clínicos com essas drogas apresentam resultados bastante relevantes, embora mais ensaios clínicos sejam necessários para confirmar sua eficácia. Além disso, sua ação se mostrou potencializada quando em associação à outras drogas já usadas na clínica médica, reforçando, dessa forma, que os HDACi podem se tornar opções positivas para o tratamento desses tumores.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas T. & Dutta A. (2009). “p21 in cancer: intricate networks and multiple activities”. *Nat Rev Cancer*. 9(6): 400–414.

Adamopoulou E., Naumann U. (2013). “HDAC inhibitors and their potential applications to glioblastoma therapy”. *Oncoimmunology*. 2:e25219.

Adams J. (1853). “The case of scirrhus of the prostate gland with corresponding affliction of the lymphatic glands in the lumbar region and in the p elvis”. *Lancet*.

Adler HL, McCurdy MA, Kattan MW, Timme TL, Scardino PT, Thompson TC. (1999). “Elevated levels of circulating interleukin-6 and transforming growth factor-beta1 in patients with metastatic prostatic carcinoma”. *J Urol*. 182–7.

Al-Hajj M., Becker M.W., Wicha M., Weissman I., Clarke M.F. (2004) “Therapeutic implications of cancer stem cells”. *Curr Opin Genet Dev*, 14:43–47

American Cancer Society. (2014). “What real the key statistics about breast cancer?”. Available from: <http://www.cancer.org/cancer/breastcancer/detailedguide/breast-cancer-key-statistics>.

Anders, C. and L.A. Carey. (2008) “Understanding and treating triple-negative breast c ancer”. *Oncology (Williston Park)*, 22(11): p. 1233-9; discussion 1239-40, 1243. 24.

Annunziato, A. (2008). “DNA packaging: nucleosomes and chromatin”. *Nature Education*, 1, 26.

Bao S., Wu Q., McLendon R.E., Hao Y., Shi Q., Hjelmeland A.B., Dewhirst M.W., Bigner D.D., Rich J.N. (2006a) “Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response”. *Nature*, 444:756–760

Baugh E.H., Ke H., Levine A.J., Bonneau R.A., Chan C.S. (2017). “Why are there hotspot mutations in the TP53 gene in human cancers?” *Cell Death Differ*. 10.1038/cdd.2017.180.

- Bell K.J., Del Mar C., Wright G., Dickinson J., Glasziou P. (2015). "Prevalence of incidental prostate cancer: a systematic review of autopsy studies". *Int J Cancer*; 137: 1749–57. Crossref.
- Berger S.L., Kouzarides T., Shiekhattar R., Shilatifard A. (2009). "An operational definition of epigenetics". *Genes and Development*, v. 23, p. 781- 783.
- Bertos N.R., Wang A.H., Yang X.J. (2001). "Class II histone deacetylases: structure, function and regulation". *Biochem Cell Biol*; 79:243–252.
- Bird A. (2007). "Perceptions of epigenetics". *Nature*, v. 447, p. 396-398.
- Biswas S. & Rao C.M. (2017). "Epigenetics in cancer: Fundamentals and Beyond". *Pharmacol Ther*, 173:118-134.
- Biswas S., Rao C.M. (2017). "Epigenetics in cancer: Fundamentals and Beyond". *Pharmacol Ther*, 173:118-134.
- Bochar, D.A., Wang, L., Beniya, H., Kinev, A., Xue, Y.T., Lane, W.S., Wang, W.D., Kashanchi, F., and Shiekhattar, R. (2000). "BRCA1 is associated with a human SWI/SNF-related complex: linking chromatin remodeling to breast cancer". *Cell*, 102, 257–265.
- Bojang P, Jr., Ramos K.S. (2014). "The promise and failures of epigenetic therapies for cancer treatment". *Cancer Treat Ver*, 40:153–69.
- Bolden J.E., Peart M.J., Johnstone R.W. (2006). "Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors". *Nat Rev Drug Discov*, 5:769–784.
- Bose P., Dai Y. & Grant S. (2014). "Histone deacetylase inhibitor (HDACI) mechanisms of action: emerging insights". *Pharmacol Ther*. 143(3): 323–336.
- Bradley D., Rathkopf D., Dunn R., Stadler W.M., Liu G., Smith D.C., Pili R., Zwiebel J., Scher H., Hussain M. (2009). "Vorinostat in advanced prostate cancer patients progressing on prior chemotherapy (National Cancer Institute Trial 6862): trial results and interleukin-6 analysis: a study by the Department of Defense Prostate Cancer Clinical Trial Consortium and University of Chicago Phase 2 Consortium". *Cancer*. 115(23):5541-9.

Butt N.A., Kumar A., Dhar S., Rimando A.M., Akhtar I., Hancock J.C., Lage J.M., Pound C.R., Lewin J.R., Gomez C.R., Levenson A.S. (2017). "Targeting MTA1/HIF-1 α signaling by pterostilbene in combination with histone deacetylase inhibitor attenuates prostate cancer progression". *Cancer Med.* 6(11):2673-2685.

Calabrese C., Poppleton H., Kocak M., Hogg T.L., Fuller C., Hamner B., Oh E.Y., Gaber M.W., Finklestein D., Allen M., Frank A., Bayazitov I.T., Zakharenko S.S., Gajjar A., Davidoff A., Gilbertson R.J. (2007) "A perivascular niche for brain tumor stem cells". *Cancer Cell*, 11:69–82

Carew J.S., Giles F.J., Nawrocki S.T. (2008). "Histone deacetylase inhibitors: mechanisms of cell death and promise in combination cancer therapy". *Cancer Lett*, 269:7–17.

Sigrid Carlsson & Andrew Vickers. (2015). "Spotlight on prostate cancer: the latest evidence and current controversies". *BMC Med.* 10.1186/s12916-015-0311-x

Carrozza M.J., Uitley R.T., Workman J.L., Cote J., (2003). "The diverse functions of histone acetyltransferase complexes". *Trends Genet.*, 19 321-329.

Carter H.B., Albertsen P.C., Barry M.J., Etzioni R., Freedland S.J., Greene K.L., Holmberg L., Kantoff P., Konety B.R., Murad M.H., Penson D.F., Zietman A.L. (2013). "Early detection of prostate cancer: AUA Guideline.". *J Urol.* 190(2):419-26.

Cecil J. Howard, Ruixuan R. Yu, Miranda L. Gardner, John C. Shimko, and Jennifer J. Ottesen (2016). "Chemical and Biological Tools for the Preparation of Modified Histone Proteins". *Top Curr Chem*, 363: 193–226.

Chakalova L., Debrand E., Mitchell J.A., Osborne C.S., Fraser P. (2005). "Replication and transcription: shaping the landscape of the Genome". *Nat. Rev. Genet.*, 6, 669–677.

Chen L., Jin T., Zhu K., Piao Y., Quan T., Quan C., Lin Z. (2017). "PI3K/mTOR dual inhibitor BEZ235 and histone deacetylase inhibitor Trichostatin A synergistically exert anti-tumor activity in breast cancer". *Oncotarget.* 8(7):11937-11949.

Chinnaiyan P., Chowdhary S., Potthast L., Prabhu A., Tsai Y.Y., Sarcar B., Kahali S., Brem S., Yu H.M., Rojiani A., Murtagh R., Pan E. (2012). "Phase I trial of vorinostat combined with bevacizumab and CPT-11 in recurrent glioblastoma". *Neuro Oncol.* 14(1):93-100.

Chrun E.S., Modolo F., Daniel F.I. (2017). "Histone modifications: A review about the presence of this epigenetic phenomenon in carcinogenesis". *Pathol Res Pract.*, S0344-0338(17)30318-7.

Cohen L.A., Marks P.A., Rifkind R.A., Amin S., Desai D., Pittman B., et al. (2002). "Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), a histone deacetylase inhibitor, suppresses the growth of carcinogen-induced mammary tumors". *Anticancer Res.* 22(3):1497–504.

Corso C.D., Bindra R.S., Mehta M.P. (2017). "The role of radiation in treating glioblastoma: here to stay". *J Neurooncol*, 10.1007/s11060-016-2348-x.

Cress W.D., Seto E. (2000). "Histone deacetylases, transcriptional control, and cancer". *J Cell Physiol.*;184(1):1-16

Dekker F.J., Haisma H.J. (2009). "Histone acetyltransferases as emerging drug targets". *Drug Discov. Today*, 14 942-948.

Dekker F.J., Haisma H.J. (2009). "Histone acetyltransferases as emerging drug targets". *Drug Discov. Today*, 14 942-948.

Delahunt B., Miller R.J., Srigley J.R., et al. (2012). "Gleason grading: past, present and future". *Histopathol*; 60:75–86.

Deroo B.J., Korach K.S. (2006). "Estrogen receptors and human disease". *J. Clin Invest.*;116(3):561-70.

DeSantis C.E., Bray F., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Anderson B.O., Jemal A. (2015). "International Variation in Female Breast Cancer Incidence and Mortality Rates". *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*:1495-506.

Dokmanovic M., Marks P.A. (2005). "Prospects: Histone deacetylase inhibitors". *J Cell Biochem*, 96:293–304.

Donnenberg V.S., Donnenberg A.D. (2005). "Multiple drug resistance in cancer revisited: the cancer stem cell hypothesis". *J Clin Pharmacol*, 45:872–877.

Duffy M.J., Synnott N.C., Crown J. (2017). "Mutant p53 as a target for cancer treatment". *Eur J Cancer*; 83:258-265.

Dupont C., Armant D. R., Brenner C. A. (2009). "Epigenetics: definition, mechanisms and clinical perspective". In *Seminars in reproductive medicine* (Vol. 27, pp. 351-357): Thieme Medical Publishers.

Eigl B.J., North S., Winquist E., Finch D., Wood L., Sridhar S.S., Powers J., Good J., Sharma M., Squire J.A., Bazov J., Jamaspishvili T., Cox M.E., Bradbury P.A., Eisenhauer E.A., Chi K.N. (2015). "A phase II study of the HDAC inhibitor SB939 in patients with castration resistant prostate cancer: NCIC clinical trials group study IND195". *Invest New Drugs*. 33(4):969-76.

Elston C.W., Ellis I.O. (1991). "Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up". *Histopathology*;19(5):403-10.

FDA approves Beleodaq to treat rare, aggressive form of nonHodgkin lymphoma. Available online: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm403929.htm>

Foulkes, W.D., I.E. Smith, and J.S. Reis Filho. (2010). "Triple-negative breast cancer". *N Engl J Med*, 363(20): p. 1938-48.

Friday B.B., Anderson S.K., Buckner J., Yu C., Giannini C., Geoffroy F., Schwerkoske J., Mazurczak M., Gross H., Pajon E., Jaeckle K., Galanis E.(2012). "Phase II trial of vorinostat in combination with bortezomib in recurrent glioblastoma: a north central cancer treatment group study". *Neuro Oncol*. 14(2):215-21.

Galanis E., Jaeckle K.A., Maurer M.J., Reid J.M., Ames M.M., Hardwick J.S., Reilly J.F., Loboda A., Nebozhyn M., Fantin V.R., Richon V.M., Scheithauer B., Giannini C., Flynn P.J., Moore D.F. Jr, Zwiebel J., Buckner J.C. (2009). "Phase II trial of vorinostat in recurrent glioblastoma multiforme: a north central cancer treatment group study". *J Clin Oncol*. 20;27(12):2052-8.

GBD (2016) “Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015”. Risk Factors Collaborators, 388(10053):1659-1724.

Ghabili K., Tosoian J.J., Schaeffer E.M., Pavlovich C.P., Golzari S.E., Khajir G., Andreas D., Benzon B., Vuica-Ross M., Ross A.E. (2016). “The History of Prostate Cancer From Antiquity: Review of Paleopathological Studies”. *Urology*. 97:8-12.

Giuliano M., Schiff R., Osborne C.K., Trivedi M.V. (2011). “Biological mechanisms and clinical implications of endocrine resistance in breast cancer”. *Breast. Suppl* 3:S42-9.

Gleason D.F. (1966). “Classification of prostatic carcinomas”. *Cancer Chemoter Rep*; 50:125–128.

Glozak M.A., Sengupta N., Zhang X., Seto E. (2005). “Acetylation and deacetylation of nonhistone proteins”. *Gene*, v. 363, p. 15-23.

Glozak M.A., Seto E. (2007). “Histone deacetylases and câncer”. *Oncogene*, 26 5420-5432.

Gregorette I.V., Lee Y.M., Goodson H.V. (2004). “Molecular evolution of the histone deacetylase family: junctional implications of phylogenetic analysis” *J Mol Biol*, 338 17-31.

GUYTON, ARTHUR C.; HALL, JOHN E. *Tratado de fisiologia médica*. 12ª edição. Editora ELSEVIER, Rio de Janeiro. 2011.

Hainaut P, Pfeifer G. Somatic TP53 Mutations in the Era of Genome Sequencing. In: Lozano G., Levine A.J. (eds). *The p53 Protein, From Cell Regulation to Cancer*. 1st edn, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, USA, (2016) pp 279–300.

Hajdu S.I. (2011a). “A note from history: landmarks in history of cancer, part 1”. *Cancer*, 117(5):1097-102.

Hajdu S.I. (2012). “A note from history: landmarks in history of cancer, part 3”. *Cancer*, 118(4):1155-68.

Halkidou K., Gaughan L., Cook S., Leung H.Y., Neal D.E., Robson C.N. (2004). "Upregulation and nuclear recruitment of HDAC1 in hormone refractory prostate cancer". *Prostate*;59(2):177-89.

Hanahan D., Weinberg R.A. (2000). "The hallmarks of cancer". *Cell*, 100:57–70

Heitz, E. (1929). "Heterochromatin, Chromocentren, Chromomeren (Vorläufige Mitteilung)". *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 47, 274–284.

Hsu C.C., Chang W.C., Hsu T.I., Liu J.J., Yeh S.H., Wang J.Y., Liou J.P., Ko C.Y., Chang K.Y., Chuang J.Y. (2016). "Suberoylanilide hydroxamic acid represses glioma stem-like cells". *J Biomed Sci.* 18;23(1):81.

Huang L., Pardee A.B. 2000. "Suberoylanilide hydroxamic acid as a potential therapeutic agent for human breast cancer treatment". *Mol Med.* 6(10):849–66.

Ignatova T.N., Kukekov V.G., Laywell E.D., Suslov O.N., Vrionis F.D., Steindler D.A. (2002). "Human cortical glial tumors contain neural stem-like cells expressing astroglial and neuronal markers in vitro". *Glia*, 39:193–206.

Instituto Vencer o Câncer < <https://www.vencerocancer.org.br/> >

Iwamoto F.M., Lamborn K.R., Kuhn J.G., Wen P.Y., Yung W.K., Gilbert M.R., Chang S.M., Lieberman F.S., Prados M.D., Fine H.A. (2011). "A phase I/II trial of the histone deacetylase inhibitor romidepsin for adults with recurrent malignant glioma: North American Brain Tumor Consortium Study 03-03" *Neuro Oncol.* 13(5):509-16.

Izzo A, Kamieniarz K, Schneider R. (2008). "The histone H1 family: specific members, specific functions?". *Biol Chem.* 389(4):333-43.

Jansen A. & Verstrepen J.K. (2011). "Nucleosome Positioning in *Saccharomyces cerevisiae*" *Microbiol Mol Biol Rev.* 75(2): 301–320.

Johnstone R.W. (2002). "Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer". *Nat Rev Drug Discov.* 1(4):287-99.

Jordan C.T., Guzman M.L., Noble M. (2006) "Cancer stem cells". *N Engl J Med*, 355:1253–1261

Jovcevska I., Kocevar N., Komel R. (2013). "Glioma and glioblastoma-how much do we (not) know?" *Mol Clin Oncol*, 1, 935-41.

JUNQUEIRA L.C. & CARNEIRO J. *Histologia Básica* 12ª edição. Guanabara Boogan, Rio de Janeiro. 2013.

Karén J., Rodriguez A., Friman T., Dencker L., Sundberg C., Scholz B. (2011). "Effects of the Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid on Human Pericytes *In Vitro*". *PLoS One*. 6(9):e24954.

Kim M.S., Kwon H.J., Lee Y.M., Baek J.H., Jang J.E., Lee S.W., Moon E.J., Kim H.S., Lee S.K., Chung H.Y., Kim C.W., Kim K.W. (2001). "Histone deacetylases induce angiogenesis by negative regulation of tumor suppressor genes". *Nat Med*, United States, pp. 437-443.

Kimelberg H.K., Jalonen T., Walz W. (1993). "Regulation of the brain microenvironment: transmitters and ions". Academic Press, 193–222.

Kohli M., Tindall D.J. (2010). "New developments in the medical management of prostate cancer". *Mayo Clin Proc*;85(1):77–86.

Kouzarides T. (2007) "Chromatin modifications and their function". *Cell*, 128(4):693–705.

Krauze A.V., Myrehaug S.D., Chang M.G., Holdford D.J., Smith S., Shih J., Tofilon P.J., Fine H.A., Camphausen K. (2015). "A Phase 2 Study of Concurrent Radiation Therapy, Temozolomide, and the Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid for Patients With Glioblastoma". *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 92(5):986-992.

Kreisl TN, Kim L, Moore K, et al. (2009). "Phase II trial of single-agent bevacizumab followed by bevacizumab plus irinotecan at tumor progression in recurrent glioblastoma". *J Clin Oncol*. 27(5):740–745.

Krusche C.A., Wülfing P., Kersting C., Vloet A., Böcker W., Kiesel L., Beier H.M., Alfer J. (2005). "Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis". *Breast Cancer Res Treat*;90(1):15-23.

L.J. Juan, W.J. Shia, M.H. Chen, W.M. Yang, E. Seto, Y.S. Lin, C.W. Wu, (2000). "Histone deacetylases specifically down-regulate p53-dependent gene activation". *J Biol Chem.* 275 20436-20443.

Lee D.H., Ryu H.W., Won H.R., Kwon S.H. (2017). "Advances in epigenetic glioblastoma therapy". *Oncotarget.* 14;8(11):18577-18589.

Lee E.Q., Puduvalli V.K., Reid J.M., Kuhn J.G., Lamborn K.R., Cloughesy T.F., Chang S.M., Drappatz J., Yung W.K., Gilbert M.R., Robins H.I., Lieberman F.S., Lassman A.B., McGovern R.M., Xu J., Desideri S., Ames M.M., Espinoza-Delgado I., Prados M.D., Wen P.Y. (2012). "Phase I study of vorinostat in combination with temozolomide in patients with high-grade gliomas: North American Brain Tumor Consortium Study 04-03". *Clin Cancer Res.* 18(21):6032-9.

Lee E.Q., Reardon D.A., Schiff D., Drappatz J., Muzikansky A., Grimm S.A., Norden A.D., Nayak L., Beroukhi R., Rinne M.L., Chi A.S., Batchelor T.T., Hempfling K., McCluskey C., Smith K.H., Gaffey S.C., Wrigley B., Ligon K.L., Raizer J.J., Wen P.Y. (2015). "Phase II study of panobinostat in combination with bevacizumab for recurrent glioblastoma and anaplastic glioma". *Neuro Oncol.* 17(6):862-7.

Lee P., Murphy B., Miller R., Menon V., Banik N.L., Giglio P., Lindhorst S.M., Varma A.K., Vandergrift W.A., Patel S.J., Das A. (2015). "Mechanisms and clinical significance of histone deacetylase inhibitors: epigenetic glioblastoma therapy". *Anticancer Res.* 35:615–25.

Lee Y.S., Lim K.H., Guo X., Kawaguchi Y., Gao Y., Barrientos T., Ordentlich P., Wang X.F., Counter C.M., Yao T.P. (2008). "The cytoplasmic deacetylase HDAC6 is required for efficient oncogenic tumorigenesis". *Cancer Res;* 68:7561–9.

Leoni F, Fossati G, Lewis EC, Lee JK, Porro G, Pagani P. (2005). "The histone deacetylase inhibitor ITF2357 reduces production of pro-inflammatory cytokines in vitro and systemic inflammation in vivo". *Mol Med.* 1–15.

Li A., Liu Z., Li M., Zhou S., Xu Y., Xiao Y., Yang W. (2016). "HDAC5, a potential therapeutic target and prognostic biomarker, promotes proliferation, invasion and migration in human breast cancer". *Oncotarget*;7(25):37966-37978.

Li C.I., Uribe D.J., Daling J.R. (2005). "Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer". *Br J Cancer*. 93(9):1046-52.

Li CI, Anderson B.O., Daling JR, Moe R.E. (2003a). "Trends in incidence rates of invasive lobular and ductal breast carcinoma". *JAMA*. 289:1421–1424.

Li L.C., Carroll P.R., Dahiya R. (2005). "Epigenetic changes in prostate cancer: implication for diagnosis and treatment". *J Natl Cancer Inst*.;97(2):103-15. Review.

Li Y., Shin D., Kwon S.H. (2013). "Histone deacetylase 6 plays a role as a distinct regulator of diverse cellular processes". *Febs J*.; 280(3):775-793.

Liu B., Teschemacher A.G., Kasparov S. (2017). "Neuroprotective potential of astroglia". *J Neurosci Res*, 10.1002/jnr.24140.

Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., et al (2007). "The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system." *Acta Neuropathol*, 114, 97-109.

Luu T.H., Morgan R.J., Leong L., Lim D., McNamara M., Portnow J., Frankel P., Smith D.D., Doroshow J.H., Wong C., Aparicio A., Gandara D.R., Somlo G. (2008). "A phase II trial of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in metastatic breast cancer: a California Cancer Consortium study". *Clin Cancer Res*. 14(21):7138-42.

M.S. Kim, H.J. Kwon, Y.M. Lee, J.H. Baek, J.E. Jang, S.W. Lee, E.J. Moon, H.S. Kim, S.K. Lee, H.Y. Chung, C.W. Kim, K.W. Kim. (2001). "Histone deacetylases induce angiogenesis by negative regulation of tumor suppressor genes". *Nat Med*, United States, pp. 437-443.

Marks P., Rifkind R.A., Richon V.M., Breslow R., Miller T., Kelly W.K. (2001). "Histone deacetylases and cancer: causes and therapies" *Nat Rev Cancer*, 194-202.

Marmorstein R., Roth S.Y., (2001). "Histone acetyltransferases: function, structure, and catalysis". *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 11 155-161.

Marusyk A., Polyak K. (2010). "Tumor heterogeneity: causes and consequences". *Biochim Biophys Acta*. 1805(1):105-17.

Melzer C., von der Ohe J., Hass R. (2017). "Breast Carcinoma: From Initial Tumor Cell Detachment to Settlement at Secondary Sites". *Biomed Res Int.*; 2017:8534371.

Ministério da saúde/INCA: (2016). <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf> OU <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/tabelaestados.asp?UF=BR>

Misteli, T. (2005). "Concepts in nuclear architecture". *Bioessays*, 27(5):477-87.

Molife L.R., Attard G., Fong P.C., Karavasilis V., Reid A.H., Patterson S., Riggs C.E. Jr, Higano C., Stadler W.M., McCulloch W., Dearnaley D., Parker C., de Bono J.S. (2010). "Phase II, two-stage, single-arm trial of the histone deacetylase inhibitor (HDACi) romidepsin in metastatic castration-resistant prostate cancer (CRPC)". *Ann Oncol*. 21(1):109-13.

Moyer V.A., U.S. Preventive Services Task Force. (2012). "Screening for prostate cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement". *Ann Intern Med.*; 157(2):120-34.

Munster P.N., Thurn K.T., Thomas S., Raha P., Lacevic M., Miller A., Melisko M., Ismail-Khan R., Rugo H., Moasser M., Minton S.E. (2011). "A phase II study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat combined with tamoxifen for the treatment of patients with hormone therapy-resistant breast cancer" *Br J Cancer*. 104(12):1828-35.

Nagaraj G., M.J. Ellis and C.X. Ma. (2012). "The natural history of hormone receptor-positive breast cancer: attempting to decipher an intriguing concept". *Oncology (Williston Park)*; 26(8): p. 696-7, 700.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=3121, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3121>

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=4261, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4261>

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=49855250, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/49855250>

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=5311, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5311>

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=5352062, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5352062>

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=6918837, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6918837>

Ngollo M., Dagdemir A., Karsli-Ceppioglu S., Judes G., Pajon A., Penault-Llorca F., Boiteux J.P., Bignon Y.J., Guy L., Bernard-Gallon D.J. (2014). “Epigenetic modifications in prostate cancer”. *Epigenomics*;6(4):415-26.

Nickoloff J.A., Jones D., Lee S.H., Williamson E.A., Hromas R. (2017). “Drugging the Cancers Addicted to DNA Repair”. *J Natl Cancer Inst.* 109(11).

Ohgaki H., Kleihues P. (2005). “Epidemiology and etiology of gliomas.” *Acta Neuropathol*, 109, 93-108.

Ohka F., Natsume A., Wakabayashi T. (2012). “Current trends in targeted therapies for glioblastoma multiforme.” *Neurol Res Int*, 878425.

Organização mundial da saúde: <https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-mundo/>

O'Shaughnessy, J. (2005). “Extending survival with chemotherapy in metastatic breast câncer”. *Oncologist*, Suppl 3: p. 20-9.

Pazin M.J., Kadonaga J.T. (1997). “What’s up and down with histone deacetylation and transcription?”. *Cell*, 89 325-328.

Peng L., Seto E. (2011). “Deacetylation of nonhistone proteins by HDACs and the implications in câncer”. *Handb Exp Pharmacol*, 206:39–56.

Peterson C.L., Laniel M.A., (2004). “Histones and histone modifications”. *Curr Biol*, 14 R546-551.

Peterson C.L., Laniel M.A., (2004). “Histones and histone modifications”. *Curr Biol*, 14 R546-551.

Pili R., Salumbides B., Zhao M., Altiok S., Qian D., Zwiebel J., Carducci M.A., Rudek M.A. (2012). "Phase I study of the histone deacetylase inhibitor entinostat in combination with 13-cis retinoic acid in patients with solid tumours" *Br J Cancer*. 3;106(1):77-84.

Qian D.Z., Wang X., Kachhap S.K., et al. (2004) "The histone deacetylase inhibitor NVP-LAQ824 inhibits angiogenesis and has a greater antitumor effect in combination with the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor PTK787/ZK222584". *Cancer Res*. 64:6626–34.

Rajak H., Singh A., Raghuvanshi K., Kumar R., Dewangan P.K., Veeraswamy R., Sharma P.C., Dixit A., Mishra P. (2014). "An Structural Insight into Hydroxamic acid based Histone Deacetylase Inhibitors for the Presence of Anticancer Activity" *Curr. Med. Chem*, 21 2642-2664.

Raju T.N. (1998). "The Nobel chronicles. 1931: Otto Heinrich Warburg (1883-1970)". *Lancet*, 19-26;352(9145):2028.

Ramakrishnan V. (1997). "Histone structure and the organization of the nucleosome". *Annual review of biophysics and biomolecular structure*, 26, 83-112.

Ramaswamy B., Fiskus W., Cohen B., Pellegrino C., Hershman D.L., Chuang E., Luu T., Somlo G., Goetz M., Swaby R., Shapiro C.L., Stearns V., Christos P., Espinoza-Delgado I., Bhalla K., Sparano J.A. (2012). "Phase I-II study of vorinostat plus paclitaxel and bevacizumab in metastatic breast cancer: evidence for vorinostat-induced tubulin acetylation and Hsp90 inhibition in vivo". *Breast Cancer Res Treat*. 132(3):1063-72.

Rathkopf D.E., Picus J., Hussain A., Ellard S., Chi K.N., Nydam T., Allen-Freda E., Mishra K.K., Porro M.G., Scher H.I., Wilding G. (2013). "A phase 2 study of intravenous panobinostat in patients with castration-resistant prostate cancer" *Cancer Chemother Pharmacol*. 72(3):537-44.

Rathkopf D.E., Wong BY, Ross RW, Anand A, Tanaka E, Woo MM, Hu J, Dzik-Jurasz A, Yang W, Scher HI. (2010). "A phase I study of oral panobinostat alone and in combination with docetaxel in patients with castration-resistant prostate cancer" *Cancer Chemother Pharmacol*. 66(1):181-9.

Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F., Weissman I.L. (2001) "Stem cells, cancer, and cancer stem cells". *Nature*, 414:105–111

Rich J.N. (2007) "Cancer stem cells in radiation resistance". *Cancer Res*, 67:8980–8984

Rock K., McArdle O., Forde P., et al (2014). "A clinical review of treatment outcomes in glioblastoma multiforme the validation in a non-trial population of the results of a randomised Phase III clinical trial: has a more radical approach improved survival?" *Br J Radiol*, 85, 729-33.

Ropero S., Esteller M. (2007). "The role of histone deacetylases (HDACs) in human câncer". *Molecular Oncology*, p. 19-25.

Roth S.Y., Denu J.M., Allis C.D. (2001). "Histone acetyltransferases" *Annu Rev Biochem*, 70 81-120.

Sadikovic, B., Al-Romaih, K., Squire, J., & Zielenska, M. (2008). "Cause and consequences of genetic and epigenetic alterations in human câncer". *Current genomics*, 9, 394-408.

Sasmita A.O. Wong Y.P., Ling A.P.K. (2017). "Biomarkers and therapeutic advances in glioblastoma multiforme". *Asia Pac J Clin Oncol*, 10.1111/ajco.12756.

Sassi F. de A., Caesar L., Jaeger M., Nör C., Abujamra A.L., Schwartzmann G., de Farias C.B., Brunetto A.L., Lopez P.L., Roesler R. (2014). "Inhibitory activities of trichostatin a in U87 glioblastoma cells and tumorsphere-derived cells". *J Mol Neurosci*. 54(1):27-40.

SBU – Sociedade Brasileira de Urologia – Disponível em: <portaldaurologia.org.br>

Schneider B.J., Kalemkerian G.P., Bradley D., Smith D.C., Egorin M.J., Daignault S., Dunn R., Hussain M. (2012). "Phase I study of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, NSC 701852) in combination with docetaxel in patients with advanced and relapsed solid malignancies". *Invest New Drugs*. 30(1):249-57.

Seymour T., Nowak A., Kakulas F., (2015). "Targeting Aggressive Cancer Stem Cells in Glioblastoma". *Front Oncol.* 10.3389/fonc.2015.00159.

Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D., Squire J.A., Bayani J., Hide T., Henkelman R.M., Cusimano M.D., Dirks P.B. (2004). "Identification of human brain tumour initiating cells". *Nature*, 432:396–401

Smith H.J., Straughn J.M., Buchsbaum D.J., Arend R.C. (2017). "Epigenetic therapy for the treatment of epithelial ovarian cancer: A clinical review". *Gynecol Oncol Rep.* 20:81-86.

Sotiriou, C. and L. Pusztai. (2009). "Gene-Expression Signatures in Breast Cancer". *New England Journal of Medicine*, 360(8): p. 790-800.

Sottoriva A., Spiteri I., Piccirillo S.G., et al (2013). "Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics". *Proc Natl Acad Sci USA*, 110, 4009-14.

Staberg M., Michaelsen S.R., Rasmussen R.D., Villingshøj M., Poulsen H.S., Hamerlik P. (2017). "Inhibition of histone deacetylases sensitizes glioblastoma cells to lomustine". *Cell Oncol (Dordr)*.;40(1):21-32.

Stearns V., Jacobs L.K., Fackler M., Tsangaris T.N., Rudek M.A., Higgins M., Lange J., Cheng Z., Slater S.A., Jeter S.C., Powers P., Briest S., Chao C., Yoshizawa C., Sugar E., Espinoza-Delgado I., Sukumar S., Gabrielson E., Davidson N.E. (2013). "Biomarker modulation following short-term vorinostat in women with newly diagnosed primary breast cancer". *Clin Cancer Res.* 19(14):4008-16

Strahl B.D., Allis C.D. (2000). "The language of covalent histone modifications". *Nature*, v. 403, p. 41-45.

Stupp R, Mason W.P., van den Bent M.J., Weller M., Fisher B., Taphoorn M.J., Belanger K., Brandes A.A., Marosi C., Bogdahn U., Curschmann J., Janzer R.C., Ludwin S.K., Gorlia T., Allgeier A., Lacombe D., et al. (2005). "Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma". *N Engl J Med.* 352(10):987-996

Tang Y, Wang Y, Kiani M.F., Wang B. (2016). "Classification, Treatment Strategy, and Associated Drug Resistance in Breast Cancer". *Clin Breast Cancer*. 16(5):335-343.

Tang Y., Wang Y., Kiani M.F., Wang B.. (2016). "Classification, Treatment Strategy, and Associated Drug Resistance in Breast Cancer". *Clin Breast Cancer*;16(5):335-343.

Tan W.W., Allred J.B., Moreno-Aspitia A., Northfelt D.W., Ingle J.N., Goetz M.P., Perez E.A. (2016). "Phase I Study of Panobinostat (LBH589) and Letrozole in Postmenopausal Metastatic Breast Cancer Patients". *Clin Breast Cancer*. 16(2):82-6.

Tate C.R., Rhodes L.V., Segar H.C., Driver J.L., Pounder F.N., Burow M.E., Collins-Burow B.M. (2012). "Targeting triple-negative breast cancer cells with the histone deacetylase inhibitor panobinostat". *Breast Cancer Res*. 14(3):R79.

Thakkar J.P., Dolecek T.A., Horbinski C., et al (2014). "Epidemiologic and molecular prognostic review of Glioblastoma." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 23, 1985-96.

Trojer P., Reinberg D. (2007). "Facultative heterochromatin: is there a distinctive molecular signature?" *Mol Cell*, 12;28(1):1-13.

Tryfonidis K., Zardavas D., Katzenellenbogen B.S., Piccart M. (2016). "Endocrine treatment in breast cancer: Cure, resistance and beyond". *Cancer Treat Rev.*;50:68-81.

Tsai H.C., Baylin S.B. (2011). "Cancer epigenetics: linking basic biology to clinical medicine". *Cell Res.*;21:502–517.

Tu Y., Hershman D.L., Bhalla K., Fiskus W., Pellegrino C.M., Andreopoulou E., Makower D., Kalinsky K., Fehn K., Fineberg S., Negassa A., Montgomery L.L., Wiechmann L.S., Alpaugh R.K., Huang M., Sparano J.A. (2014). "A phase I-II study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat plus sequential weekly paclitaxel and doxorubicin-cyclophosphamide in locally advanced breast cancer". *Breast Cancer Res Treat*. 146(1):145-52.

Ueda H., Nakajima H., Hori Y., Fujita T., Nishimura M., Goto T., Okuhara M. (1994). "A novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by chromobacterium violaceum No.

968. I. Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical and biological properties, and antitumor activity". *J Antibiot (Tokyo)*. 47:301–310.

Ungerstedt J.S., Sowa Y., Xu W.S., et al. (2005). "Role of thioredoxin in the response of normal and transformed cells to histone deacetylase inhibitors". *Proc Natl Acad Sci USA*. 102:673–8.

Waltregny D., Glénisson W., Tran S.L., North B.J., Verdin E., Colige A., Castronovo V. (2005). "Histone deacetylase HDAC8 associates with smooth muscle alpha-actin and is essential for smooth muscle cell contractility". *FASEB J*;19:966–968.

Wang Z., Hu P., Tang F., Lian H., Chen X., Zhang Y., He X., Liu W., Xie C. (2016). "HDAC6 promotes cell proliferation and confers resistance to temozolomide in glioblastoma". *Cancer Lett.*; 379(1):134-142.

Weiner A.B., Matulewicz R.S., Eggener S.E., Schaeffer E.M. (2016). "Increasing incidence of metastatic prostate cancer in the United States (2004-2013)". *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 19(4):395-397.

West A.C., Johnstone R.W. (2014). "New and emerging HDAC inhibitors for cancer treatment". *J Clin Invest.*; 124(1):30-39.

W. Weichert, A. Roske, V. Gekeler, T. Beckers, C. Stephan, K. Jung, F.R. Fritzsche, S. Niesporek, C. Denkert, M. Dietel, G. Kristiansen. (2008). "Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy". *Br J Cancer*. 98 604-610.

Weichert W. (2009). "HDAC expression and clinical prognosis in human malignancies". *Cancer Lett*. 280 168-176

Weigelt B., Peterse L.J. and van't Veer L.J. (2005). "Breast cancer metastasis: markers and models," *Nature Reviews Cancer*. 591–602.

Wheler J.J., Janku F., Falchook G.S., Jackson T.L., Fu S., Naing A., Tsimberidou A.M., Moulder S.L., Hong D.S., Yang H., Piha-Paul S.A., Atkins J.T., Garcia-Manero G., Kurzrock R. (2014). "Phase I study of anti-VEGF monoclonal antibody

bevacizumab and histone deacetylase inhibitor valproic acid in patients with advanced cancers". *Cancer Chemother Pharmacol.* 73(3):495-501.

Workman J.L., Kingston R.E. (1998). "Alteration of nucleosome structure as a mechanism of transcriptional regulation". *Annu. Rev. Biochem.*, 67, 545–579.

Yardley D.A., Ismail-Khan R.R., Melichar B., Lichinitser M., Munster P.N., Klein P.M., Cruickshank S., Miller K.D., Lee M.J., Trepel J.B. (2013). "Randomized phase II, double-blind, placebo-controlled study of exemestane with or without entinostat in postmenopausal women with locally recurrent or metastatic estrogen receptor-positive breast cancer progressing on treatment with a nonsteroidal aromatase inhibitor". *J Clin Oncol.* 31(17):2128-35.

Zong H., Parada L.F., Baker S.J. (2015). "Cell of origin for malignant gliomas and its implication in therapeutic development". *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, a020610