

## CÂNCER DE MAMA E O MICROAMBIENTE TUMORAL: UMA PERSPECTIVA MOLECULAR E EVOLUTIVA

Geilza Carla de Lima Silva<sup>1</sup>; Alanna Silva dos Santos<sup>2</sup>; Iara da Silva Cardoso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestranda em Biologia Aplicada à Saúde, Laboratório de Immunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). E-mail: geilza\_55@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Graduanda em Psicologia, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: alannalanna@hotmail.com

<sup>3</sup>Graduanda em Serviço Social, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: iarahs2@hotmail.com

**Resumo:** O câncer de mama é uma doença biologicamente heterogênea, que abrange subgrupos associados à localização tumoral, além da epidemiologia, história natural e resposta às terapias sistêmicas diferentes. O objetivo do estudo foi realizar uma revisão de literatura sobre as principais inter-relações entre as células tumorais mamárias e seu respectivo estroma, ressaltando aspectos moleculares e evolutivos. A revisão da literatura foi realizada utilizando artigos científicos das bases de dados eletrônicas SCIENCE DIRECT e NCBI, durante o período de 01 à 12 de março de 2016, através de uma combinação específica de palavras-chaves. Como critérios, optou-se por selecionar artigos no idioma inglês, com delineamento experimental e com ano de publicação entre 2010-2016. O câncer é um processo microevolutivo de adaptação em que distintos clones genéticos competem por espaço e recursos, de acordo com o modelo evolutivo Darwiniano. Essa complexidade e grande diversidade é resultado de influências genéticas e microambientais. Nesse contexto, o microambiente tumoral é um conjunto de diferentes fatores celulares e físico-químicos, que influenciam direta e indiretamente em vários aspectos patológicos, tais como progressão e metástase. Sendo assim, ao investigar o microambiente tumoral, ao invés de apenas as células cancerígenas, surgem novos alvos terapêuticos promissores para limitar a progressão da doença.

**Palavras-chaves:** Câncer de Mama, Microambiente Tumoral, Biologia Molecular, Evolução, Modelo Darwiniano.

### 1. INTRODUÇÃO

O câncer de mama, uma doença complexa e heterogênea, é um dos tumores malignos mais comuns em mulheres de todo o mundo (ANDÒ et al., 2014). De fato, diferentes tipos de neoplasia apresentam características histopatológicas e biológicas variáveis, diferentes resultados clínicos e diferentes respostas às intervenções sistêmicas. Com base num elevado grau de heterogeneidade, o carcinoma mamário não

pode ser visto como uma única entidade clínico-patológica (VIALE, 2012).

À cada dia, pesquisas visam propor novos métodos terapêuticos para limitar o crescimento do tumor e suas possíveis colonizações em outros tecidos. Entretanto, essa patologia apresenta uma complexidade intrínseca e grande diversidade na sua capacidade de resposta ao tratamento, onde há influências genéticas e microambientais (MANGIA et al., 2011).

O microambiente tumoral é um conjunto de diferentes fatores celulares e físico-químicos, tais como células do sistema imunológico, arquitetura angiogênica e matriz extracelular, que influenciam direta e indiretamente em vários aspectos patológicos, incluindo a resposta aos tratamentos farmacológicos (GANDELLINI et al., 2015). Combinações de diferentes fatores celulares e extracelulares solúveis podem agir para dar suporte aos múltiplos processos no microambiente do câncer da mama, promovendo progressão e metástases (NIENHUIS et al., 2015).

Desse modo, o estroma tumoral é dependente da presença das células cancerosas, que, por sua vez, são dependentes de células do estroma (ENGELS et al., 2012). Assim, o estudo do estroma é uma peça-chave na cancerologia para elucidar novas vias de sinalização da progressão cancerígena e novos alvos terapêuticos.

Nesse contexto, o objetivo do estudo foi realizar uma revisão sistemática de literatura, através de um levantamento bibliográfico sobre as principais inter-relações entre as células tumorais mamárias e seu respectivo estroma, ressaltando aspectos moleculares e evolutivos e as implicações dessa relação na progressão tumoral, neocolonização tecidual e terapêutica.

## 2. METODOLOGIA

As revisões sistemáticas são consideradas estudos secundários, que têm nos estudos primários sua fonte de dados (GOMES; CAMINHA, 2014).

A revisão da literatura foi realizada utilizando artigos científicos das bases de dados eletrônicas SCIENCE DIRECT e NCBI, sendo esta escolha justificada pelo fato de que nessas bases encontram-se um grande número de revistas indexadas da área de biologia celular e molecular e afins.

A busca bibliográfica foi realizada no período 01 à 12 de março de 2016. A combinação de palavras-chaves utilizadas no levantamento bibliográfico foram “*Breast Cancer Microevolution*”, “*Breast Cancer Microenvironment*”, “*Tumour Stroma Breast Cancer*”, “*Breast Cancer Treatment*”, “*Molecular Markers Breast Cancer*” e “*Breast Cancer Therapy*”. Além disso, optou-se por selecionar artigos no idioma inglês, com delineamento experimental e com ano de publicação entre o período de 2010-2016.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. O câncer de mama

Células neoplásicas podem surgir em distintos locais da glândula mamária, caracterizando tipos distintos de câncer. Além da localização, a heterogeneidade do câncer de mama é reflexo de três processos gerais, cujos

efeitos são importantes para a iniciação e progressão do câncer: (1) mutações somáticas que levam à perda de função de supressores tumorais ou ganho de função de oncoproteínas, (2) alterações epigenéticas que alteram os padrões de expressão gênica e (3) alterações no microambiente tumoral que proporcionam mudanças na expressão gênica (SEMENZA, 2015).

Para melhorar o diagnóstico e o delineamento de estratégias terapêuticas, o câncer de mama foi subdividido em várias categorias que consideram aspectos como grau de invasão histológica, grau nuclear (morfologia e ploidia do DNA) e padrões de expressão de marcadores moleculares específicos (COWELL et al., 2013).

### **3.2. Entendendo a Progressão Tumoral como um Processo Microevolutivo**

Mutações alteram genomas aleatoriamente e continuamente ao longo do tempo de vida evolutiva de uma espécie. O resultado das contínuas mudanças no genoma é o aumento da diversidade genética de uma espécie, propiciando um maior repertório de fenótipos que são selecionados naturalmente, como propôs o naturalista inglês Charles Darwin (WEINBERG, 2013).

A maioria dos estudos de evolução molecular têm focado na mudança genética em uma ou mais gerações. Muito menos se sabe

sobre as mudanças genéticas que ocorrem durante o tempo de vida de um indivíduo, ou evolução somática, dos quais o câncer é provavelmente o exemplo mais conhecido. O câncer é um processo microevolutivo de adaptação em que distintos clones genéticos competem por espaço e recursos (POSADA, 2015).

A heterogeneidade tumoral é um recurso que pode resultar em um tumor composto por células cancerosas com múltiplas características moleculares diferentes. Essa condição resulta em taxas variáveis de proliferação, agressividade e sensibilidade à drogas, afetando o diagnóstico e prognóstico do paciente. A heterogeneidade tumoral tem sido reconhecida a nível morfológico, e mais recentemente, à nível genômico, transcricional e proteico (ZHANG et al., 2016).

Essa heterogeneidade é resultado de dois processos separados, porém inter-relacionados. O primeiro tipo é a instabilidade genética, que leva a alterações fixas e o segundo tipo resulta da expressão diferencial, mas "resiliente", de vários genes que são importantes para a biologia do tumor (McGRANAHAN; SWANTON, 2015; ZHANG et al., 2016).

A presença de heterogeneidade em um tumor reflete no surgimento de vários subclones celulares, ou seja, populações de

células com características distintas. Desse modo, dependendo das condições intrínsecas e microambientais, esses subclones se expandem em uma faixa linear sequencial, ou podem continuar a divergir, seguindo trajetórias evolucionárias ramificadas (BURRELL; SWANTON, 2014). No caso do câncer de mama humano, estudos recentes destacaram a diversidade genética e fenotípica presente dentro dos tumores individuais (CLEARY et al., 2014).

Sendo assim, a presença de subpopulações celulares em um mesmo tumor ou em tumores diferentes (observando um contexto metastático, por exemplo) pode resultar em consequências clínicas importantes, uma vez que pode proporcionar o surgimento de resistência aos medicamentos (BRUIN et al., 2013).

A resistência à múltiplas drogas quase invariavelmente ocorre em tumores sólidos avançados e metastáticos, conduzindo à progressão da doença e, eventualmente, à morte. Em um tumor, as diferentes subpopulações celulares encontram-se em equilíbrio, competindo entre si, visando a expansão (GREAVES; MALEY, 2012). Por vezes, os fármacos utilizados nas terapias acabam atuando como uma força seletiva que, por ser eficaz apenas para uma ou algumas das populações celulares tumorais, acaba perturbando o equilíbrio presente entre as

mesmas, promovendo a expansão de uma ou mais subpopulações. Essa expansão geralmente é mais agressiva, tendo em vista que se as populações sobreviveram aos efeitos das drogas administradas, estas apresentam constituições genéticas propícias à adaptação às novas condições (pós-citotóxicas) (GERLINGER; SWANTON, 2010).

As células tumorais podem adquirir a resistência aos medicamentos através de muitas vias. Dentre os meios existentes para adquirir resistência, destacam-se a não internalização celular da droga, a metabolização e consequente inativação da droga no interior da célula, o remodelamento do estroma tumoral para dificultar a entrega do fármaco, dentre outros (BURRELL; SWANTON, 2014).

Nesse contexto, o câncer é um fantástico exemplo de evolução à nível celular segundo o modelo Darwiniano, onde mutações podem gerar a heterogeneidade tumoral, sujeitas às pressões seletivas advindas principalmente das terapias e do microambiente no qual o tumor esta inserido, sendo esse último fator discutido a seguir.

### **3.3. Estroma Tumoral Mamário: Explorando o Desconhecido**

O desenvolvimento do câncer é um processo dinâmico, caracterizado por uma vasta variedade de alterações à nível celular e

tecidual. Isso inclui o crescimento anormal e alterações nas células, na matriz extracelular e nos vasos sanguíneos, e essas alterações são altamente inter-relacionadas (IVEY et al., 2015).

O microambiente tumoral é o local no qual o tumor está inserido, também denominado estroma tumoral. Esse microambiente não só desempenha um papel crucial durante a iniciação do tumor, progressão e metástase, mas também tem efeitos profundos sobre a eficácia terapêutica (WU; DAI, 2016).

O microambiente do tumor pode ser subdividido em: um microambiente químico, que engloba condições como pH, PO<sub>2</sub> e a concentração de outras moléculas pequenas (NO, por exemplo) e metabólitos (glicose, glutamina, lactato, por exemplo); e um microambiente celular, que inclui as células tumorais e as células do estroma (SEMENZA, 2015).

O tipo de célula mais abundante no estroma do câncer de mama são os fibroblastos, também chamados de CAFs (*cancer-associated fibroblasts*). Essas células secretam uma variedade de fatores solúveis, tais como fatores de crescimento e quimiocinas, os quais modulam o estroma tumoral e levam o tumor a um maior crescimento e invasão (SOYSAL, 2015).

Vários estudos têm revelado que os CAFs tem perfis distintos de mRNA e expressão de proteínas que os distinguem de fibroblastos no tecido mamário normal (SOYSAL, 2015). Além disso, Folgueira et al. (2013) sugere que os CAFs podem ainda influenciar no perfil transcricional das células cancerígenas mamárias.

Os macrófagos associados à tumores (TAM) são reguladores-chave da resposta terapêutica no microambiente (WU; DAI, 2016). Os TAM podem ser diferenciados em resposta a citocinas Th2, tais como IL-4, IL-10 e IL-13 (OSTUNI et al., 2015). Evidências *in vitro* e *in vivo* mostraram que os TAMs podem mediar resistência a alguns agentes quimioterápicos, bem como o tratamento anti-VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) (DIJKGRAAF et al., 2013). Além disso, podem adquirir a capacidade de produzir várias citocinas supressivas, tais como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TGF- $\beta$  (QIAN; POLLARD, 2010).

As células endoteliais tumorais, quando comparadas com as células endoteliais normais, revelam certas distinções em termos morfofuncionais, que são expressos principalmente por uma maior taxa de proliferação celular, motilidade, sensibilidade ao VEGF ou invasividade. Adicionalmente, tais células têm mostrado expressão de genes relacionados com a angiogênese, tais como

VEGFR 1 e VEGFR-2 (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 e 2*), além de VEGF (BLAZEJCZYK et al., 2015).

Os perícitos são células contráteis presentes em contato com as células endoteliais em capilares e vênulas. Essas células regulam funções cruciais das células endoteliais. No entanto, o recrutamento de perícitos em vasos sanguíneos tumorais é dependente de sinalização pelo receptor PDGF- $\beta$  (*Platelet-derived Growth Factor  $\beta$* ). A expressão ectópica de PDGF- $\beta$  em diversos tumores, inclusive o câncer de mama, tem acelerado o crescimento tumoral, devido à estabilização da angiogênese (PIETRAS; ÖSTMAN, 2010).

Um outro tipo de célula imune do estroma importante para a progressão do câncer de mama são MDSC (*Myeloid-derived Suppressor Cells*). Essas células tem seu número aumentado na presença do tumor mamário. Elas invadem o tumor, onde promovem a angiogênese (via MMPs [metaloproteinases de matriz] e VEGF), além de inibirem as células *Natural Killer* e os linfócitos T (GALLEGO-ORTEGA et al., 2015).

Destacam-se ainda as células-tronco do câncer de mama (BCSCs, *Breast Cancer Stem Cells*). Essas células podem ativar seletivamente vias de sinalização anti-apoptóticas, apresentando uma maior

capacidade de gerar a resistência à drogas, sendo reguladas por sinais do microambiente. Além disso, dispõem da superexpressão de transportadores do tipo ABC (*ATP-binding cassette*), que transportam uma grande quantidade de drogas para o meio extracelular, conferindo a resistência à múltiplas drogas (VERA-RAMIREZ et al., 2010).

Hanahan e Weinberg (2011), considerando o estroma tumoral, destacam seis capacidades do câncer que permitem o crescimento do tumor e sua disseminação metastática. São elas: (1) manutenção do sinal proliferativo, (2) escape dos sinais supressores de crescimento, (3) ativação de invasão e metástase, (4) imortalidade replicativa, (5) indução de angiogênese e (6) resistência à morte celular.

As células cancerígenas podem adquirir a capacidade de manter uma **sinalização proliferativa** por meio da autoprodução de fatores de crescimento e/ou por estimular a produção destes pelas células estromais. Um exemplo é o HER2, um receptor altamente expresso em ~30% dos pacientes com câncer de mama, sendo esse gene relacionado com a via de sinalização PI3K/AKT, responsável por aumentar o anabolismo e proliferação celular (LEMMON; SCHLESSINGER, 2010).

Outro meio de progressão tumoral é o **escape dos supressores tumorais**. As células normais apresentam alguns genes responsáveis



por checar o funcionamento da progressão do ciclo celular, para que este ocorra de modo organizado e bem-sucedido, interrompendo-o quando necessário para possíveis reparos. Porém, quando esses genes são inativados, por mutações ou alterações epigenéticas, ocorre a perda do controle da proliferação celular, que passa a ocorrer independente dos erros, promovendo o acúmulo de mutações. Dentre os supressores tumorais mais conhecidos, destaca-se a proteína p53. Num estudo de 24 pacientes, foi demonstrado que pacientes com câncer de mama inflamatório com uma mutação no gene p53 têm um risco 8,6 vezes maior de morte em comparação com os pacientes que não tinham essa mutação (UDEN et al., 2015).

As células normais são capazes de passar apenas por um número limitado de ciclos de crescimento e divisão celular. Por sua vez, as células cancerígenas apresentam a propriedade de driblar essas barreiras, adquirindo a **imortalidade replicativa**. A telomerase é a enzima que sintetiza o DNA telomérico, sendo este encontrado na região terminal dos cromossomos com função de conferir estabilidade aos mesmos. Quando encurtados, podem levar a instabilidade cromossômica e senescência replicativa. Vários estudos que sugerem que a perda dos telômeros e ativação da telomerase é considerada indispensável para a imortalização e crescimento tumoral. O

câncer de mama é um dos tipos de câncer nos quais a atividade da telomerase foi demonstrada em associação com o índice de proliferação celular (WINNIKOW et al., 2012).

Além das capacidades supracitadas, a **angiogênese** – formação de vasos sanguíneos – está intimamente relacionada com a progressão dos tumores, tendo em vista que estes necessitam de um fornecimento constante de grandes quantidades de nutrientes e O<sub>2</sub>. A maioria tumores sólidos humanos contêm áreas menos oxigenadas (hipóxia) que os tecidos normais (DOYEN et al., 2014).

A hipóxia aumenta a resistência à radioterapia e quimioterapia, estimulando as células tumorais a se desdiferenciarem, para liberar fatores angiogênicos e aumentar o suprimento de oxigênio. A adaptação às condições de hipóxia é promovida pelos fatores induzidos por hipóxia (HIFs), que apresentam mais de 45 genes alvos responsáveis por aumentar o suprimento sanguíneo para o tumor, sendo um deles o VEGF-A, envolvido na formação de novos vasos sanguíneos (WARD et al., 2013).

No câncer de mama, o aumento dos níveis da proteína HIF-1 $\alpha$  acarreta um maior risco de metástase óssea e pulmonar, invasão linfonodal, recrutamento de células estromais, desdiferenciação celular em BCSCs e

remodelamento da matriz extracelular (SEMENZA, 2015).

Uma outra capacidade da progressão tumoral é a **invasão e metástase**. As células cancerígenas apresentam a capacidade se deslocar do tumor primário, se disseminar pelo sistema cardiovascular e colonizar outros tecidos. Sendo assim, as células tumorais podem sofrer o processo de transição epitélio-mesenquimal (EMT, *Epithelial to Mesenchymal Transition*), onde perdem suas características epiteliais e ganham propriedades migratórias e invasivas, para se disseminarem por todo o corpo, formando metástases distantes. Após a colonização de outros tecidos, pode ocorrer o processo inverso, onde as células com propriedades mesenquimais voltam a apresentar características epiteliais e se adequam ao novo nicho metastático (BILL; CHRISTOFORI, 2015).

Estudos de comparação de perfil de expressão gênica de tumores de mama sugerem que os diferentes subtipos moleculares de câncer é resultado da EMT, sendo os cânceres do tipo *basal-like* mais próximos das características mesenquimais (ANSIEAU, 2013).

A **resistência e morte celular** também deve ser ressaltada com uma capacidade de progressão tumoral. As células tumorais desenvolveram uma variedade de estratégias

para limitar ou contornar a apoptose. O mais comum é a perda de função do supressor tumoral TP53, sensor crítico de danos e indutor de apoptose. Além disso, podem aumentar a expressão de reguladores anti-apoptóticos (Bcl-2, Bcl-XL) ou de sinais de sobrevivência (IGF1/2), ou ainda diminuir a expressão de fatores pró-apoptóticos (Bax, Bim, Puma). Cabe ressaltar ainda a utilização da autofagia, que atua conferindo um estado de dormência às células tumorais (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Por fim, um outro fator do microambiente tumoral que é muito relevante para a progressão do câncer de mama é a matriz extracelular (MEC), sendo esta composta de vários tipos celulares (descritos no início deste tópico), fatores de crescimento, citocinas e glicoconjugados (INSUA-RODRÍGUEZ; OSKARSSON, 2016).

A MEC tem um papel importante no desenvolvimento e homeostase da mama normal. Entretanto, também é responsável por muitas alterações no desenvolvimento do carcinoma da mama. Estas alterações levam à mudanças nas propriedades bioquímicas e físicas que contribuem para a progressão do tumor (carcinoma ductal *in situ* para o carcinoma ductal invasivo, por exemplo) e resistência à terapias, já que a presença de uma densa MEC dificulta a chegada de fármacos até o tumor (GIUSSANI et al., 2015).



Nessa perspectiva, reitera-se que a progressão tumoral como um processo microevolutivo, onde os tumores moldam o seu microambiente, estabelecendo assim um ecossistema anormal por meio da interação entre as células estromais e as células tumorais, visando uma maior sobrevivência, proliferação e disseminação destas.

### **3.4. Surgimento de Novos Alvos Terapêuticos**

Atualmente, as modalidades de tratamento do câncer de mama são cirurgia, radioterapia e quimioterapia, que contribuem para a redução da mortalidade (WARD et al., 2013).

De acordo com o subtipo molecular do câncer de mama, existem ainda terapias alternativas. Por exemplo, os tumores com expressão de receptores hormonais podem ser tratados com sucesso por anti-estrogênios ou ainda inibidores de aromatase. Já em tumores com superexpressão de HER2, tem se utilizado anticorpos anti-HER2, tais como o trastuzumab ou inibidores de cinase HER2 (DITTMER; LEYH, 2015).

Com o avanço das pesquisas visando aprofundar o conhecimento sobre o microambiente tumoral, novos alvos terapêuticos tem surgido nos últimos anos. Kamdje et al. (2014) elenca uma série de possíveis alvos do microambiente tumoral para

tratamento, tais como agentes moduladores da angiogênese (anti-VEGF), bisfosfonatos visando efeitos anti-tumorais diretos sobre o epitélio maligno, o aumento da expressão da glicoproteína rica em histidina (HRG) para a conversão de TAM em macrófagos normais, inibidores de histonas desacetilases para alterações epigenéticas, dentre outros.

Engels et al. (2012) sugere ainda as MDSCs como alvo terapêutico através na indução das interações do receptor Fas com o ligante via células T para morte das mesmas ou ainda a inibição funcional destas células, através da inibição da MMP-9. Além disso, Maugeri-Saccà e De Maria (2016) sugere a inibição das células tronco do câncer de mama.

Nesse contexto, os novos alvos terapêuticos fornecem direcionamentos de terapias importantes a partir do tumor e o do seu microambiente, visando tratar a doença de forma mais eficaz e com menos toxicidade (SUN, 2015). Entretanto, a heterogeneidade tumoral, por vezes, limita a ação de determinados agentes terapêuticos, tendo em vista que nem todos os biomarcadores são expressos em todas as subpopulações celulares. Sendo assim, uma terapia aparentemente promissora pode se tornar uma força seletiva.

### **3.5. Perspectivas Futuras**

Diante da ampliação da investigação do microambiente tumoral, em especial para o câncer de mama, novos biomarcadores vêm surgindo como alvos para o tratamento e, por consequência, tentativas de novas estratégias terapêuticas. Há muitos anos, o câncer é intensivamente investigado por cientistas de todo o planeta. Porém, novos tratamentos realmente eficazes ainda são bastante limitados tendo em vista que as pesquisas não acompanham as alterações tumorais.

Seria o câncer parte do processo evolutivo humano? Será que ao tentar limitá-lo estaríamos impedindo o nosso processo evolutivo? Será que essa transição epitélio-mesenquimal não irá conferir alguma vantagem no futuro, dependendo das condições ambientais? Mas, como o câncer, uma doença que mata inúmeras pessoas em todas as partes do planeta, poderia fornecer algum benefício? O oxigênio também exterminou muitos organismos logo após o seu surgimento na atmosfera terrestre e, atualmente, nós seres humanos não vivemos na ausência dele.

#### 4. CONCLUSÕES

O microambiente do tumor influencia na progressão tumoral, de modo que as células cancerígenas interagem com as células estromais, aumentando a sua heterogeneidade e, conseqüentemente, ampliando suas vias de

disseminação para outros nichos metastáticos. Sendo assim, a partir da compreensão dessas inter-relações surgem novos alvos terapêuticos, podendo ser promissores para a terapia do câncer. No entanto, tendo em vista as limitações impostas pela evolução tumoral, se faz necessário um maior aprofundamento na área em questão.

#### 5. REFERÊNCIAS

- ANDÒ et al. The multifaceted mechanism of Leptin signaling within tumor microenvironment in driving breast cancer growth and progression. **Frontiers in Oncology**, Italy, v. 4, n. 340, p. 1-6, 2014.
- ANSIEAU, S. EMT in breast cancer stem cell generation. **Cancer Letters**, French, v. 338, p. 63–68, 2013.
- BILL, R.; CHRISTOFORI, G. The relevance of EMT in breast cancer metastasis: Correlation or causality? **FEBS Letters**, Switzerland, v. 589, p. 1577–1587, 2015.
- BLAZEJCZYK et al. Endothelium and cancer metastasis: Perspectives for antimetastatic therapy. **Pharmacological Reports**, Poland, v. 67, p. 711–718, 2015.
- BRUIN et al. Intra-tumor heterogeneity: lessons from microbial evolution and clinical. **Genome Medicine**, United Kingdom, v. 5, n. 101, p. 1-11, 2013.
- BURRELL, R. A.; SWANTON, C. Tumour heterogeneity and the evolution of polyclonal drug resistance. **Molecular Oncology**, United Kingdom, v. 8, p. 1095-1111, 2014.
- CIRQUEIRA et al. Subtipos moleculares do câncer de mama. **Femina**, Goiás, v. 39, n. 10, 2011.

CLEARY et al. Tumor cell heterogeneity maintained by cooperating subclones in Wnt-driven mammary cancers. **Nature**, USA, v. 508, n. 7494, p. 113–117, 2014.

COWELL et al. Progression from ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer: Revisited. **Molecular Oncology**, USA, v. 7, p. 859-869, 2013.

DIJKGRAAF et al. Chemotherapy Alters Monocyte Differentiation to Favor Generation of Cancer-Supporting M2 Macrophages in the Tumor Microenvironment. **Cancer Research**, Netherlands, v. 73, n. 8, p. 2480-2492, 2013.

DITTMER, J.; LEYH, B. The impact of tumor stroma on drug response in breast cancer. **Seminars in Cancer Biology**, Germany, v. 31, p. 3–15, 2015.

DOYEN et al. Expression of the hypoxia-inducible monocarboxylate transporter MCT4 is increased in triple negative breast cancer and correlates independently with clinical outcome. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, French, v. 451, p. 54–61, 2014.

ENGELS et al. Targeting stroma to treat cancers. **Seminars in Cancer Biology**, USA, v. 22, p. 41–49, 2012.

FOLGUEIRA et al. Markers of breast cancer stromal fibroblasts in the primary tumour site associated with lymph node metastasis: a systematic review including our case series. **Bioscience reports**, Brazil, v. 33, n. 6, p. 921-929, 2013.

GALLEGO-ORTEGA et al. ELF5 Drives Lung Metastasis in Luminal Breast Cancer through Recruitment of Gr1+ CD11b+ Myeloid-Derived Suppressor Cells. **PLOS Biology**, Australia, v. 13, n. 12, p. 1-27, 2015.

GANDELLINI et al. Complexity in the tumour microenvironment: Cancer associated fibroblast gene expression patterns identify both common and unique features of tumour-stroma crosstalk across cancer types. **Seminars in Cancer Biology**, Italy, v. 35, p. 96–106, 2015.

GERLINGER, M.; SWANTON, C. How Darwinian models inform therapeutic failure initiated by clonal heterogeneity in cancer medicine. **British Journal of Cancer**, United Kingdom, v. 103, p. 1139-1143, 2010.

GIUSSANI et al. Tumor-extracellular matrix interactions: Identification of tools associated with breast cancer progression. **Seminars in Cancer Biology**, Italy, v. 35, p. 3-10, 2015.

GOMES, I. S.; CAMINHA, I. O. Guia para estudos de revisão sistemática: uma opção metodológica para as Ciências do Movimento Humano. **Movimento**, Porto Alegre, v. 20, n. 1, p. 395-411, 2014.

GREAVES, M.; MALEY, C. C. Clonal Evolution in Cancer. **Nature**, United Kingdom, v. 481, n. 7381, p. 306-313, 2012.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, Switzerland, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

INSUA-RODRÍGUEZ, J.; OSKARSSON, T. The extracellular matrix in breast cancer. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Germany, v. 97, p. 41-55, 2016.

IVEY et al. Improving cancer therapies by targeting the physical and chemical hallmarks of the tumor microenvironment, **Cancer Letters** (2015), doi: 10.1016/j.canlet.2015.12.019

KAMDJE et al. Signaling pathways in breast cancer: Therapeutic targeting of the microenvironment. **Cellular Signalling**, Cameroon, v. 26, p. 2843–2856, 2014.

LEMMON, M. A.; SCHLESSINGER, J. Cell Signaling by Receptor Tyrosine Kinases. **Cell, USA**, v. 141, p. 1117-1134, 2010.

MANGIA et al. Old and new concepts in histopathological characterization of familial breast cancer. **Annals of Oncology**, Italy, v. 22, p. 24–30, 2011.

MAUGERI-SACCÀ, M.; DE MARIA, R. Hippo pathway and breast cancer stem cells. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, Italy, v. 99, p. 115–122, 2016.

MCGRANAHAN, N.; SWANTON, C. Biological and Therapeutic Impact of Intratumor Heterogeneity in Cancer Evolution. **Cancer Cell**, United Kingdom, v. 27, p. 15-26, 2015.

NIENHUIS et al. Targeting breast cancer through its microenvironment: Current status of preclinical and clinical research in finding relevant targets. **Pharmacology & Therapeutics**, Netherlands, v. 147, p. 63–79, 2015.

OSTUNI et al. Macrophages and cancer: from mechanisms to therapeutic implications, **Trends in Immunology**, Italy, v. 36, n. 4, p. 229-239, 2015.

PIETRAS, K.; ÖSTMAN, A. Hallmarks of cancer: Interactions with the tumor stroma. **Experimental Cell Research**, Sweden, v. 316, p. 1324-1331, 2010.

POSADA, D. Cancer Molecular Evolution. **Journal of Molecular Evolution**, Spain, v. 81, p. 81-83, 2015.

QIAN, B.Z. AND POLLARD, J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. **Cell, USA**, v. 141, n. 1, p. 39–51, 2010.

SEMENZA, G. L. The hypoxic tumor microenvironment: A driving force for breast cancer progression. **Biochimica et Biophysica Acta** (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.05.036>

SOYSAL et al. Role of the Tumor Microenvironment in Breast Cancer. **Pathobiology**, Switzerland, v. 82, p. 142-152, 2015.

SUN, Y. Tumor microenvironment and cancer therapy resistance. **Cancer Letters** (2015), doi: 10.1016/j.canlet.2015.07.044.

VAN UDEN et al. Inflammatory breast cancer: An overview. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, Switzerland, v. 93, p. 116–126, 2015.

VERA-RAMIREZ et al. Gene-expression profiles, tumor microenvironment, and cancer stem cells in breast cancer: Latest advances towards an integrated approach. **Cancer Treatment Reviews**, Spain, v. 36, p. 477–484, 2010.

VIALE, G. The current state of breast cancer classification. **Annals of Oncology**, Italy, v. 23, p. 207-210, 2012.

WEINBERG, R. **The Biology of Cancer**. Garland Science: New York. 850p. 2006.

WINNIKOW et al. Accuracy of telomerase in estimating breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis. **The Breast**, Brazil, v. 21, p. 1-7, 2012.

WU, T.; DAI, Y. Tumor Microenvironment and Therapeutic Response. **Cancer Letters** (2016), doi: 10.1016/j.canlet.2016.01.043

ZHANG et al. Tumor heterogeneity and circulating tumor cells. **Cancer Letters**, China, v. 374, p. 216-223, 2016.