

USO DE MARCADORES GENÉTICOS C-MYC, N-MYC, PROTEÍNA P-53, PROTEÍNA K-RAS E GENE HER-2 NEU PARA DIAGNÓSTICO DE TUMORES

Use of Genetic Markers C-MYC, N-MYC, Protein P-53, Protein K-Ras and Gene Her-2 Neu For Diagnosis Of Tumors

Alyne Eugenia de Souza

Graduanda do curso de Biomedicina na instituição Universidade Positivo-Curitiba, Brasil.
alyne.eugenia123@gmail.com

Ana Maria Jordão

Graduanda do curso de Biomedicina na instituição Universidade Positivo-Curitiba, Brasil.
anam.jordao3245@gmail.com

Isadora Terumi Saruhashi

Graduanda do curso de Biomedicina na instituição Universidade Positivo-Curitiba, Brasil.
isadorasaruhashi@gmail.com

Júlia Fritsch

Graduando do curso de Biomedicina na instituição Universidade Positivo-Curitiba, Brasil.
juliafritsch.biomed@gmail.com

Rayssa Tarcília Ribeiro

Graduando do curso de Biomedicina na instituição Universidade Positivo-Curitiba, Brasil.
raytribeiro@gmail.com

RESUMO

Atualmente, o câncer é uma das doenças com maior probabilidade de morte. Seu diagnóstico correto amplia as chances de cura do paciente. A detecção dos marcadores genéticos, macromoléculas produzidas diretamente pelo tumor ou pelo organismo, é um dos exames de diagnóstico possível. Este trabalho é uma revisão literária, com o objetivo de abordar os marcadores tumorais c-MYC, n-MYC, proteína p-53, proteína K-ras e o gene HER-2 neu com relação ao diagnóstico e prognóstico de pacientes tumorais. Estudos demonstraram que o c-MYC é expressado em diversos tumores malignos por afetar a proliferação e o metabolismo celular. O n-MYC está associado a um pior prognóstico e resposta do paciente ao tratamento de quimioterapia. A p-53 em tumores de mama e de pulmão são superexpressadas, não sendo associada com pior ou melhor prognóstico. A K-ras é utilizada para determinar o tempo de sobrevida e tempo livre da neoplasia. É um efetivo marcador para terapia com anticorpo monoclonal. O marcador HER-2 neu é indicativo de prognóstico ruim em carcinomas mais promissor em relação a possibilidade de escolha de tratamento individualizado. Pesquisas ainda demonstraram a associação dos marcadores p53, K-ras e HER-2 neu com pior prognóstico. A aplicação destes marcadores está sendo cada vez mais utilizada por expressar especificidade e sensibilidade em diferentes áreas de caracterização tumoral, além de ter relação para a conduta terapêutica a ser seguida no tratamento tumoral.

Palavras-chave: marcador genético; oncogênese; DNA; neoplasias.

INTRODUÇÃO

O câncer está entre uma das principais causas de morte no mundo, estima-se que mais de 12 milhões de pessoas são diagnosticadas com câncer todos os anos (INCA, 2015). O diagnóstico precoce aumenta as chances de cura, sobrevivência e qualidade de vida do paciente, para isso os marcadores assim como outros exames complementares de diagnóstico possuem grande importância. Como exemplo de exames complementares tem-se a anamnese inicial, segundo Paredes (2016), radiografias, tomografias computadorizadas, ecografias, fibrobroncoscopia, cintilografia óssea (KNORST et al., 2003). As causas do desenvolvimento de câncer são variadas devido a fatores internos ou externos ao organismo (INCA, 2016) que atuam na carcinogênese, possibilitando as células de se tornarem neoplásicas. Uma célula neoplásica tem vantagens metabólicas e capacidades biológicas alteradas causadas pela ativação, mutação ou deleção de proto-oncogenes (BELIZARIO, 2002).

Proto-oncogenes são genes com funções biológicas de proliferação, diferenciação e sobrevivência celular que constituem o genoma humano e podem sofrer mutações espontâneas, amplificação gênica, ação de retrovírus, ou translocação de sequências específicas. As mutações nos proto-oncogenes geram a criação de oncogene, sequências gênicas relacionadas à carcinogênese, que tem a capacidade de produzir oncoproteínas, proteínas incapazes de exercer suas funções naturais por serem defeituosas (SERRANO; THEODORO; PINHAL, 2014).

Os marcadores tumorais, são macromoléculas, que podem ajudar no diagnóstico do câncer, uma vez que são substâncias que podem ser produzidas diretamente pelo tumor ou pelo organismo (SILVEIRA, 2005). Podem ser identificados por meios bioquímicos, imunohistoquímicos ou testes genéticos, para a pesquisa de oncogenes, genes supressores de tumores e alterações genéticas (ALMEIDA et al., 2007). A utilização de técnicas moleculares tem ajudado a esclarecer as etapas envolvidas na carcinogênese (SILVA; SADDI; MOMOTUCK, 2002).

Os marcadores p53 e K-ras, proto-oncogene da famílias ras, são frequentemente relacionados a variados cânceres e agentes ambientais (GREENBALT et al., 1994). O marcador HER-2 neu é indicador de prognóstico ruim de carcinomas, mais promissor em relação a possibilidade de escolha de tratamento direcionada às características

individualizadas do paciente (EISENBERG; KOIFMAN, 2001). Os proto-oncogenes da família myc, c-myc, N-myc e L-myc, também são marcadores tumorais. O C-myc tem sua expressão elevada em situações tumorais e o N-myc se relaciona a uma baixa resposta ao tratamento quimioterápico (DUARTE; PASCHOAL, 2006).

Estudos relatam que a proteína p53 e o gene HER-2 neu foram associados a progressão de tumores. Foi observada a expressão acentuada de p53 em tumores de mama e de pulmão. Algumas pesquisas que tiveram participantes formando grupo heterogêneo detalharam que nos casos com mais expressão gênica de p53 houve pior prognóstico. Porém, outros estudos com grupos mais homogêneos não obtiveram os mesmos resultados (SILVA; SADDI; MOMOTUCK, 2002), não sendo possível associar o p53 com pior prognóstico. O HER-2 neu também apresentou elevação da expressão nos quadros neoplásicos de câncer de mama. A superexpressão do gene HER-2 neu pode ser identificado em 20% dos cânceres mama (EISENBERG; KOIFMAN, 2001) e em 33% dos casos de carcinoma pulmonar (ALMEIDA et al., 2007). Estudos comprovaram que a expressão do gene HER-2 neu pode ter associação com o acúmulo da proteína p53, de forma que a detecção desses marcadores poderia indicar um pior prognóstico da doença (EISENBERG e KOIFMAN, 2001). Pacientes com HER-2 neu podem ser direcionados ao tratamento com anticorpo monoclonal anti-HER 2 (HADDAD, 2010).

Um pior prognóstico também foi analisado na associação do p53, HER-2 neu e K-ras (DUARTE; PASCHOAL, 2006). O K-ras pode ser usado para orientar o tratamento. A mutação do gene K-ras pode influenciar na resposta frente a um tratamento. Medicamentos como anticorpos anti-EGFR têm o benefício afetado pelo gene mutado (VIEIRA; DI SENA, 2009). A sociedade Americana de Oncologia Clínica, desde 2009, aconselha que pacientes candidatos à terapia monoclonal devem ser testados para mutações K-ras nos códons 12 e 13, pois mutações nesse gene identifica pacientes que não vão responder a terapia com fármacos anti EGFR (PINA, 2013; FOLETTO, 2015).

O K-ras mutado é observado em 15 a 20% dos casos de câncer, como no carcinoma pancreático, colorretal, pulmão e ovários. No caso de câncer de pulmão, foi constatado que pacientes que apresentam a mutação tem menor chance de sobrevida (PINA, 2013).

Pesquisas relatam também que o oncogene c-MYC tem elevada expressão em grande proporção de tumores malignos, por contribuir em pelo menos 40% das neoplasias, como:

carcinoma de bexiga e colo de útero, carcinoma mamário, ovariano e de próstata, linfoma de Burkitt e adenocarcinoma de colo sendo esses dois últimos com chances de aparecer até 100% de proto-oncogene c-MYC, já nos outros citados podem variar de 5 a 96% (FARIA et al., 2005).

Assim como o c-MYC, o n-MYC também tem sua expressão elevada em tumores. Atualmente, o neuroblastoma possui como melhor marcador o n-MYC (ALBANUS, 2014) que pode ser amplificado em 50% nos casos mais avançados. Além disso a detecção de n-MYC no diagnóstico tumoral é associado a um pior prognóstico do paciente (AMORIM, 2002) e uma pior resposta ao tratamento de quimioterapia (DUARTE; PASCHOAL, 2006). A expressão dos genes n-MYC está relacionada também, a uma piora na resposta da quimioterapia (DUARTE; PASCHOAL 2006).

Os cânceres são processos complicados e diferenciados, tumores no mesmo órgão podem ter características distintas a nível molecular e genético. Por isso a identificação de biomarcadores pode apontar o prognóstico da doença, associado com a taxa de sobrevida e indicação terapêutica apropriada de forma individual (LÓPEZ, 2014).

O presente trabalho teve como principal objetivo entender os marcadores genéticos tumorais, o desempenho deles na determinação da neoplasia e avaliar confiabilidade no diagnóstico clínico e prognóstico de tumores. Os marcadores abordados foram representantes o c-MYC e o n-MYC da família gênica MYC, a proteína marcadora p-53, a proteína K-ras e o gene HER-2 neu, escolhidos pela representatividade apresentada em diversos estudos relacionados a doenças neoplásicas.

METODOLOGIA

Foi realizado levantamento bibliográfico, utilizando como palavras-chaves “marcadores tumorais” e “biomarcadores” nas bases de dados SCIELO (*Scientific Electronic Library Online*), Pubmed, dissertações e teses no período de 1994 a 2016 em língua portuguesa, inglesa e espanhol. Dessa forma visando identificar os marcadores tumorais c-MYC, n-MYC, proteína p-53, proteína K-ras e o gene HER-2 neu como mecanismos de diagnóstico tumoral.

MARCADORES TUMORAIS

Os marcadores tumorais incluem produtos celulares circulantes, englobando: material genético (DNA e RNA), proteínas séricas, enzimas, metabolitos, proteínas carcinoembrionárias, receptores, oncoproteínas, proteínas expressadas por genes supressores, até mesmo as células tumorais podem ser investigadas como marcadores. Esses produtos são identificados em pacientes com neoplasia. O corpo em resposta à doença ou o próprio tumor produz esses marcadores que podem ser detectados através da pesquisa em sangue, urina ou até mesmo tecidos do paciente. Um marcador tumoral ideal deve ter características como só ser clinicamente presente em pacientes com tumores malignos, não sendo detectados em níveis elevados em pacientes com condições distintas como tumor maligno, quadros inflamatórios ou infecciosos e apresentar concentrações altas na fase de início da neoplasia para que fosse possível o diagnóstico precoce. A atividade proteolítica, a velocidade de proliferação e grau de dispersão do tumor determinam a concentração sérica de marcador tumoral medido. Para o tumor ser considerado com valor clínico é preciso que seja específico, sensível e sua aplicação clínica ter sido constatada em associação com neoplasias (SEDREZ, 2007).

Os marcadores tumorais podem ser usados na triagem, estadiamento clínico, localização do tumor, avaliação de prognóstico, diagnóstico diferencial, detecção de recidivas e acompanhamento do tratamento. Para a análise de marcadores tumorais é importante levar em consideração o tempo de meia-vida do marcador tumoral, sua metabolização e excreção, a possível presença de marcadores ectópicos e se possível realizar a associação de mais de um marcador para que a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico clínico sejam mais confiáveis (SEDREZ, 2007).

Proteína p53

O gene p53 é localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p). É um gene de aproximadamente 20 Kb que dá origem a um transcrito primário (mRNA) de 2.8Kb. O gene p53 não mutado é responsável por codificar um fator de transcrição nuclear. O gene transcreve a fosfoproteína 53 kDa (EISENBERG; KOIFMAN, 2001), que tem função de “guardião do genoma” (DUARTE; PASCHOAL, 2006) tendo fundamental importância na supressão tumoral controlando a proliferação celular, por regular no ciclo celular o

crescimento celular (SILVA; SADDI; MOMOTUCK, 2002) na interfase G1-S, o que leva a apoptose células com danos ao DNA - esse fator se liga ao p21 para induzir sua expressão e inibir que o ciclo celular progrida (DUARTE; PASCHOAL, 2006). A atividade oncogênica do p53 depende da mutação no sequência de leitura que promove transversão guanina-timina (G-T), afetando a produção da proteína p53 e a capacidade de ativação do p21. Essa mutação está normalmente relacionada a exposição a agentes ambientais cancerígenos e pode acontecer em diferentes regiões da sequência. A ação oncogênica da p53 é altamente associada a tumores sólidos e sua agressividade em humanos de acordo com parâmetros histológicos e biológicos, podendo estar relacionada a câncer de mama (EISENBERG; KOIFMAN, 2001) e câncer de pulmão (DUARTE; PASCHOAL, 2006). Sua versão mutante tem uma maior meia vida do que a selvagem, o que culmina em elevados níveis de células malignas no organismo (SEDREZ, 2007).

Proteína K-ras

O gene K-ras (Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homologue) localizado no braço curto do cromossomo 12, faz parte da família ras (K-ras, H-ras, N-ras) de proteínas de ligação guanosina difosfato/guanosina trifosfato (GDP/GTP) atuando como transdutor de sinal. Componente indispensável para a regulação de vias de sinalização intracelulares através de uma pluralidade de receptores, dentre eles o EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor). Sua atividade é regulada por fatores de troca do nucleotídeo guanina (GEFs) e por proteínas ativadoras da guanosina trifosfatase (GAPs) (FOLLETO, 2015; PINA 2013).

A proteína ras parte da família das proteínas G, é a chave na proliferação, diferenciação e apoptose. São ativadas por ligação a GTP pelo GEFs, onde sua produção é estimulada através dos fatores de crescimento EGFR. A inativação acontece quando o ras-GTP é hidrolisado pela GTPase intrínseca para ras-GDP. Quando ativas possuem maior compatibilidade com moléculas que, em sua maioria, ativam cascatas de sinalização intracelular, entre elas, a via do Rat sarcoma vírus/Mitogen-activated protein kinase(ras/MAPK) e a via do Phosphoinositide-3-kinase (PI3K/AKT). Em condições fisiológicas normais, é mantido uma constância entre a atividade das GEFs e das GAPs, importante para o mecanismo celular normal do tecido (FOLLETO, 2015; PINA 2013).

As mutações ocorridas no gene K-ras são, normalmente, somáticas. A mais frequente acontece no éxon 2 (codões 12 e 13), alterando a guanina/adenina que durante a formação da proteína substitui o aminoácido. Em menor frequência pode ocorrer mutações no éxon 3 (codões 61) e no éxon 4 (codões 146) (FOLLETO, 2015). As mutações podem ocasionar mudanças na conformação da proteína, uma superexpressão do fator EGFR, resultando em uma proteína ras sempre ativa, levando a uma ativação das vias de sinalização com consequente crescimento, proliferação e diferenciação celular anormal. As mutações também podem mudar a relação entre a atividade das GEFs e das GAPs, gerando uma redução marcada da atividade intrínseca da GTPase, deixando-a resistente às GAPs (FOLLETO, 2015; PINA 2013).

Oncogene c-MYC

Classificado como um proto-oncogenes, tem importante função na coordenação de eventos que fazem a proliferação e diferenciação celular, quando em células normais (FERRARI, et al., 2006). A proteína c-MYC possui duas sequências de localização nuclear (NLS) e domínios estruturais que a são determinados como fator de transcrição. Sendo que os primeiros 143 aminoácidos da porção N-terminal assimilam o domínio de transativação (TAD). As quais são intimamente ligadas às atividades biológicas exercidas pela c-MYC e possuem alto padrão de conservação dentre os membros familiares “existe um ligante, dito como essencial para a c-MYC poder exercer suas atividades, é a proteína MAX, que funciona como uma ativadora transcricional” (FARIA et al., 2005).

Segundo Junior et al. (2006) o c-MYC é um oncogene de capacidade apoptótica, e por ter tempo de vida curta, em torno de 30 minutos, o que faz um regulador gênico eficaz. Apesar de toda sua qualidade ao evitar a neoplasia, a amplificação do c-MYC não pode ser feita amplamente na clínica, por causa das variáveis de neuroblastomas que não possuem essa amplificação, mas possuem diversos graus de letalidade (ASGHARZADEH et al., 2006). Em suma, o gene c-MYC interfere no ciclo celular, podendo ser por diversos meios, na fase G₁, na apoptose celular, imortalização da célula, angiogênese, no metabolismo energético, e na adesão celular, assim todos esses processos citados podem interferir no desenvolvimento de uma neoplasia (FARIA et al., 2005) podendo sofrer interferência

nessas etapas do ciclo celular para esgotar um tumor. A ativação inadequada do c-MYC pode desenvolver neoplasias, essa ativação acontece por diferentes meios, sendo eles “translocações cromossômicas, como verificado no linfoma de Burkitt; conseqüentemente, de sua expressão; estímulo da transcrição gênica, como observado nos carcinomas do cólon; entre outros” (FARIA et al., 2005).

Oncogene n-MYC

Segundo Bom (2014), o gene n-MYC está localizado na parte distal do braço curto do cromossomo 2 (2p24), podendo indicar, rápida progressão do tumor, comportamento agressivo e alto risco de recorrência. Este oncogene codifica um fator de transcrição que uma vez no núcleo, gera um atraso na diferenciação celular promovendo a replicação e a apoptose (SANTOS, 2010). A amplificação do gene n-MYC está associado a alterações genéticas estruturais, relacionado a frequente deleção 1p em muitos neuroblastomas e ganho 17p em cerca de 80% dos neuroblastomas primários (SANTOS, 2010).

Gene HER-2 neu

O proto-oncogene chamado HER-2 neu pode ser encontrado na literatura como c-erbB-2 e HER-2. É proveniente de human epidermal growth factor receptor devido sua ampla correlação com o receptor do fator de crescimento (RFC) (KATZ, 2006). Está inserido no cromossomo 17q e executa a função de codificar a glicoproteína de transmembrana que atua como receptor da família do RFC e apresenta atividade de tirosinoquinase específica (SALES et al., 2004). Seu peso molecular é 185 Kd.

Existem diversos métodos para determinação da superexposição do gene HER-2 neu. Sales et al. (2004) afirmou que são usados métodos como “Western blot e imunoenaios enzimáticos, ou a amplificação de HER-2 neu, como Southern blot, slot blot, dot blot, hibridação in situ com reação em cadeia da polimerase (PCR) e hibridação in situ por fluorescência (FISH)”.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação destes marcadores para diagnóstico e prognóstico tumoral estão cada vez mais sendo utilizados em virtude às pesquisas e resultados positivos. Os marcadores descritos nesta revisão bibliográfica, K-ras, p53, c-MYC, k n-MYC e HER-2 neu, expressaram especificidade e sensibilidade em diferentes áreas de caracterização tumoral. Contudo, existem muitos estudos com resultados controversos. Sendo assim, é importante a necessidade de estudos mais específicos e com metodologias adequadas para resultados confiáveis, consistentes e precisos sobre os marcadores tumorais, dada a relevâncias desses produtos. Mesmo entre muitas dúvidas ainda sem respostas, os eventos moleculares que assistem a carcinogênese tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico adequado e tem mostrado importância para auxiliar na definição da linhagem terapêutica a ser seguida. Dessa forma, os marcadores tumorais constituem um importante aliado na detecção tumoral em conjunto com outros métodos diagnóstico conhecidos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.R.C.; PEDROSA, N.L.; Leite, J.B.; FLEMING, T.R.P.; CARVALHO, V.H.; CARDOSO, A.A.A. Marcadores tumorais: Revisão bibliográfica. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 53, p. 305-306, 2007.
- AMORIM, A.R. Genética do câncer. 2002. 42 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Centro Universitário de Brasília, 2002.
- ASGHARZADEH, S.; PIQUE-REGI, R.; SPOSTO, R.; WANG, H.; YUJUN, Y.; SHIMADA, H.; MATTHAY, K.; BUCKEY, J.; ORTEGA, A.; SEEGER, R.S. Prognostic significance of gene expression profiles of metastatic neuroblastomas lacking MYCN gene amplification. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 98, n. 17, p. 1193-203, 2006.
- BOM, A.P.K.P.; DEPONTE, C.S.; LIMA, I.C.; PIASECKI, L.; PIERIN, A.J., BONATTO, J.V. Neuroblastoma cervical - um relato de caso. *Sociedade Brasileira de Pediatria*, v. 4, n. 1, 2014.
- DUARTE, R.L.M.; PASCHOAL, M.E.M. Marcadores moleculares no câncer de pulmão: papel prognóstico e sua relação com o tabagismo. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 32 n. 1, p. 56-65, 2006.
- EISENBERG, A.L.A.; KOIFMAN, S. Câncer de mama: Marcadores Tumorais (Revisão de Literatura). *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 47, p. 377-388. 2001.

FERRARI, A. L.; ROBEIRO, M. F. M.; RECHE, M.; BRUM, I. S.; KOHEK, M. B.; CORLETA, H. E.; CAPP, E. Expressão dos protooncogenes c-fos, c-myc e c-jun em miométrio normal e mioma humanos. **Rev. Brasileira Ginecol. Obstet.**, v.28, n.10, p. 590-595, 2006.

FILHO, V.W.; GATTÁS, G.J.F. Biomarcadores moleculares em câncer: implicações para a pesquisa epidemiológica e a saúde pública. *Cad. Saúde Pública*, v. 17, p. 467-480, 2001.

FOLLETO, E.F. Análise da variabilidade genética do gene KRAS em pacientes portadores de câncer colorretal do Rio Grande do Sul. 2015. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade de Santa Cruz do Sul, 2015.

HADDAD, C.F. Trastuzumab no câncer de mama. **FEMINA**, v.38, n. 2, p. 73-8, 2010.

INCA. Instituto Nacional de câncer José de Alencar Gomes da Silva. Números. 2015. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br/wcm/dmdc/2015/numeros.asp> > Acesso em: 28 set. 2016.

_____. Instituto Nacional de câncer José de Alencar Gomes da Silva. Incidência de Câncer no Brasil. 2016. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/index.asp?ID=2> >. Acesso em: 28 set. 2016.

ITACI. Instituto de Tratamento do câncer infantil. Neuroblastoma. Disponível em: < <http://www.itaci.org.br/neuroblastoma.asp> > Acesso em: 28 set. 2016.

JUNIOR, J.E.; GIRALDO, P.C.; GONÇALVES, A.K. Marcadores imunoistoquímicos de lesões precursoras do câncer do colo uterino associadas ao HPV: o papel da proteína de supressão tumoral P16^{ink4a}. **DST - J. Bras. Doenças Sex. Transm.**, v. 18, n. 1, p. 62-65, 2006.

KATZ, A. HER 2 e câncer de mama: Inter-relações biológicas, prognósticas e terapêuticas - Trastuzumabe no tratamento do câncer de mama metastático. Fascículo 5, Roche, p.1-13, 2006.

KNORS, M.M; DIENSTMANN, R.; FAGUNDES, L.P. Retardo no diagnóstico e no tratamento cirúrgico do câncer de pulmão. **J. Pneumologia**, v. 29, n. 6, p. 358-364, 2003.

PAREDE, I. Anamnese. GESEP - Grupo de Estudos em Semiologia e Propedêutica. Propedêutica – Entrevista Médica. Disponível em: < <https://docs.google.com/document/d/1eCAEAfowZcProXQcnoLaRovqOSXX2QqRfWJyQKBtA4/edit> > Acesso em: 28 set. 2016.

PINA, M.J.F. Caracterização histopatológica e diagnóstico molecular das mutações no gene KRAS em pacientes com carcinoma colorretal metastático: Importância para a definição da sensibilidade e especificidade de diferentes técnicas moleculares. 2013. 62 f. Dissertação (Mestrado em Medicina e Oncologia Molecular) - Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (IPATIMUP), Faculdade de medicina da Universidade do Porto, Porto, 2013.

SALES, A.O.; RODRIGUES, S.J.P.; BACCHI, C.E. Estudo comparativo entre os métodos LSAB®+ e Herceptest® para a detecção de HER 2/neu em carcinoma de mama. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 40, n. 4, p. 265-271, 2004.

SEDREZ, A.H. Marcadores tumorais em destaque. Laboratório de Análises Clínicas Verner Willrich, p. 1-6, 2007.

SERRANO, R.; THEODORO, T.R.; PINHAL, M.A.S. Oncogenes, genes supressores de tumores, microRNAs e o desenvolvimento de tumores. **RBM Especial Oncologia**, v. 71, p. 4-10, 2014.

SILVA, D. M.; SADDI, V. A.; MOMOTUCK, E. G. Marcadores moleculares associados ao CA de mama não metastático. **Rev. Bras. de Cancerologia**, v. 48, n. 1, p.39-48, 2002.

SILVA, T.D.S. Desenvolvimento de Genossensor para Diagnóstico de Neuroblastoma. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Instituto de Genética e Bioquímica. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

SILVEIRA, A.S. Câncer ginecológico: Diagnóstico e tratamento. In: GIL, R.A. **Fatores prognósticos, preditivos e marcadores tumorais no câncer ginecológico**. Florianópolis: UFSC, 2005.

VIEIRA, F.M.A.C.; DI SENA, V.O. Câncer colorretal metastático: papel atual dos anticorpos monoclonais e a individualização de seu uso. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v.22, p.45-49, 2009.