



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

**PLATAFORMA PORTÁTIL DE DETECÇÃO DE microRNA SALIVAR
ASSOCIADO AO CÂNCER DE MAMA UTILIZANDO LEITURA
ELETROQUÍMICA VIA SMARTPHONE**

Aluno: Marlone Love Tchouptang Njiyip

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Ana Graci Brito Madurro

Co-Orientador: Prof. Dr. João Marcos Madurro

Prof^ª. Dr^ª. Yara Cristina De Paiva Maia

**UBERLÂNDIA - MG
2026**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

**PLATAFORMA PORTÁTIL DE DETECÇÃO DE microRNA SALIVAR
ASSOCIADO AO CÂNCER DE MAMA UTILIZANDO LEITURA
ELETROQUÍMICA VIA SMARTPHONE**

Aluno: Marlone Love Tchouptang Njiyip

Orientador: Prof^a. Dr^a. Ana Graci Brito Madurro

Co-Orientador: Prof. Dr. João Marcos Madurro

Prof^a. Dr^a. Yara Cristina De Paiva Maia

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Uberlândia como parte dos
requisitos para obtenção do
Título de Mestre em Genética e
Bioquímica (Área Bioquímica).**

**UBERLÂNDIA - MG
2026**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

N738
2026 Njiyip, Marlene Love Tchouptang, 2000-
plataforma portátil de detecção de microrna salivar associado
ao câncer de mama utilizando leitura eletroquímica via
smartphone. [recurso eletrônico] : plataforma portátil de detecção
de microrna salivar associado ao câncer de mama utilizando
leitura eletroquímica via smartphone. / Marlene Love Tchouptang
Njiyip. - 2026.

Orientadora: Ana Graci Brito Maduro.

Coorientadora: João Marcos Maduro .

Coorientadora: Yara Cristina de Paiva Maia.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Genética e Bioquímica.

Modo de acesso: Internet.

DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2026.40>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Genética. I. Maduro, Ana Graci Brito, 1967-, (Orient.). II. ,
João Marcos Maduro, 1961-, (Coorient.). III. Maia, Yara Cristina de
Paiva, 1975-, (Coorient.). IV. Universidade Federal de Uberlândia.
Pós-graduação em Genética e Bioquímica. V. Título.

CDU: 575

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

**PLATAFORMA PORTÁTIL DE DETECÇÃO DE microRNA SALIVAR
ASSOCIADO AO CÂNCER DE MAMA UTILIZANDO LEITURA
ELETROQUÍMICA VIA SMARTPHONE**

ALUNO: Marlone Love Tchouptang Njiyip

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Prof^ª. Dr^ª. Ana Graci Brito Madurro (Orientadora)

Examinadores:

Prof^ª. Dra. Renata Santos Rodrigues

Prof^ª. Dra. Ana Cristina Honorato Castro

Data da Defesa: 19/04/2026

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas do PGGB para o formato da Dissertação foram contempladas

Prof^ª. Dr^ª. Ana Graci Brito Madurro



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Dedico este trabalho ao meu pai, Njiyip Louis Percaud.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA
AGRADECIMENTOS**

Antes de tudo, rendo graças a Deus por Sua presença constante, Sua proteção e a força interior que ele me concedeu ao longo de todo este percurso. Nos momentos de dúvida, cansaço e incerteza, foi na fé que encontrei a coragem para continuar e a esperança de jamais desistir. Pois é de joelhos, aos Seus pés, que luto minhas batalhas e encontro minhas vitórias.

Agradeço do fundo do coração aos meus pais, Njiyip Louis Percaud e Sen Lydienne, pilares da minha vida, pelo amor incondicional, pelos sacrifícios silenciosos e pelo apoio inabalável. Tudo o que sou hoje devo a eles. A fé que depositaram em mim, seus conselhos, orações e paciência me conduziram muito além dos meus próprios limites. Mesmo à distância, sua presença foi sentida em cada etapa deste trabalho.

Aos meus irmãos e irmãs, Majolie, Nicolas, Martine e Anderson, agradeço pelo carinho, paciência e constantes incentivos. A presença de vocês, seus conselhos e apoio, mesmo à distância, foram uma verdadeira fonte de força e conforto ao longo desta jornada.

Expresso um agradecimento especial aos meus amigos mais próximos: William, Medrelle, Diane, Cabrel e Joyce. Obrigada pela escuta, pelos incentivos, orações, mensagens, ligações e pela presença, mesmo nos momentos em que as palavras faltavam. Vocês souberam me levantar nos instantes de desânimo, lembrar-me das minhas capacidades quando duvidei de mim mesma e compartilhar, com sinceridade, cada pequena e grande vitória. A amizade de vocês foi um verdadeiro refúgio e uma força essencial para seguir em frente.

Registro minha profunda gratidão aos meus orientadores, Prof. Dr. João Marcos Madurro e Profa. Dra. Ana Graci Brito Madurro, pelo acompanhamento atento, pela paciência e pela confiança depositada em mim. Para além da orientação científica, seus incentivos, conselhos e disponibilidade foram de valor inestimável, tanto no âmbito acadêmico quanto humano. Nutro uma admiração crescente pela nobreza de espírito, serenidade e sabedoria de vocês. Este



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

trabalho não teria sido possível sem seus olhares críticos, exigência benevolente e compromisso constante.

Agradeço sinceramente aos membros da banca examinadora pelo tempo dedicado à avaliação deste trabalho e pelas contribuições construtivas, que permitiram aprimorar sua qualidade científica.

Aos docentes e pesquisadores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica, expresso meus agradecimentos pela riqueza dos conhecimentos transmitidos, pela rigorosidade científica e pelo ambiente acadêmico estimulante que souberam construir.

Meus agradecimentos mais calorosos aos membros do laboratório BIOSENS/LAFRIP, que foram muito mais do que simples colegas. Obrigada pela cooperação, paciência, trocas científicas e também pelos momentos de convivência que tornaram esta experiência humana inesquecível. Trabalhar ao lado de vocês foi uma fonte contínua de aprendizado, motivação e crescimento pessoal.

Agradeço às agências de fomento CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa de mestrado, fundamentais para a realização deste trabalho.

Expresso também minha profunda gratidão ao Grupo de Cooperação Internacional de Universidades Brasileiras (GCUB) pela oportunidade excepcional proporcionada por meio de seu programa de bolsas. Esse apoio foi decisivo não apenas do ponto de vista financeiro, mas também acadêmico e pessoal, ao permitir minha inserção em um ambiente de pesquisa de alto nível e o desenvolvimento de competências científicas em um contexto internacional. Graças ao GCUB, este percurso tornou-se realidade e representou uma etapa fundamental do meu desenvolvimento profissional.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, às vezes por meio de uma palavra,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

um gesto, um sorriso ou um pensamento de incentivo. Cada uma dessas atitudes teve seu valor e colaborou, à sua maneira, para a concretização deste trabalho.

Este memorial é fruto não apenas de um esforço científico, mas também de uma trajetória humana marcada pelo apoio, amor e solidariedade. A todas e a todos, expresso minha mais profunda e sincera gratidão. Parte superior do formulário



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Sumário

ABREVIATURAS	xi
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	5
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
1. CÂNCER DE MAMA	5
1.1. Anatomia da Mama	5
1.2. Processo de carcinogênese	7
1.3. Classificação do câncer de mama	12
1.4. Biomarcadores moleculares no diagnóstico e prognóstico do câncer de mama	20
1.5. Fatores de risco para o câncer de mama	29
1.6. Epidemiologia do câncer de mama	38
1.7. Modelos de previsão de câncer de mama	43
1.8. Rastreamento e diagnóstico do câncer de mama	44
1.9. Tratamento do câncer de mama	49
2. MIRNA 200A	53
2.1. Organização genômica e características da família miR-200	53
2.2. miR-200a e seu papel na transição epitélio-mesenquimal (EMT)	56
2.3. microRNA-200a na regulação de SIRT1 e progressão do câncer de mama	57
2.4. miR-200a: regulação celular e metástase por meio da regulação de YAP1	60
2.5. miR-200a como regulador fundamental da plasticidade celular	62
2.6. miR-200a como modulador epigenético: impacto em DNMT3A, DNMT3B e metilação do DNA	62
2.7. miR-200a: Mecanismos de ação e valor como biomarcador para câncer de mama	64
2.8. miR-200a na saliva	68
3. BIOSSENSORES	71
3.1. Definição e classificação	71
3.2. Biossensores eletroquímicos	76



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

3.3. Polímeros condutores usados em biossensores.....	81
3.4. Smartphones como plataformas portáteis para biossensores e detecção eletroquímica.....	86
4. NANOMATERIAS.....	87
4.1. Nanomateriais à base de carbono.....	87
4.3. Nanomateriais Metálicos	89
4.4. Nanomateriais cerâmicos (óxidos, nitretos, carbetos).....	90
4.5. Nanomateriais Poliméricos.....	91
4.6. Nanomateriais derivados de biomoléculas ou bioinspirados.....	92
REFERENCIAS.....	94
CAPÍTULO II.....	109
Resumo.....	110
Abstract.....	111
CAPÍTULO III.....	147



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico
AdCC: Carcinoma adenoide cístico
AFC: Alterações fibrocísticas
AgNPs: Nanopartículas de prata
ARN: Ácido ribonucleico
ASCO: American Society of Clinical Oncology
AuNPs: Nanopartículas de ouro
BL1 / BL2: Basal-Like 1 / Basal-Like 2
BRCA1 / BRCA2: Breast Cancer Gene 1 / Breast Cancer Gene 2
CA: Antígeno do câncer
CCND1: Ciclina D1
CE: Contraeletrodo
CEA: Antígeno carcinoembrionário
CLI: Carcinoma lobular invasivo
CM: Carcinoma mucinoso
CNC: Nanocristais de carbono
CQDs: Pontos quânticos de carbono
CTC: Células tumorais circulantes
CTI: Carcinoma tubular invasivo
ctDNA: DNA tumoral livre de células
CV: Voltametria cíclica
DPV: Voltametria de pulso diferencial
EIS: Espectroscopia de impedância eletroquímica
EMT: Transição epitélio-mesenquimal
ER: Receptor de estrogênio
EROs: Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
ESMO: European Society for Medical Oncology



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

FDG: Fluordesoxiglicose

GWAS: Estudos de associação genômica ampla

HER2: Receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano

IDH: Isocitrato desidrogenase

IHQ: Imuno-histoquímica

IMPC: Carcinoma micropapilar invasivo

LAR: Receptor androgênico luminal

MEC: Degradação da matriz extracelular

MFKs: Mitogen-Activated Protein Kinase Kinases / MAPKs

MiRNA: MicroRNA

MMPs: Metaloproteinases da matriz

MWCNTs: Nanotubos de carbono de paredes múltiplas

NCCN: National Comprehensive Cancer Network

NICE: National Institute for Health and Care Excellence

OG: Óxido de grafeno

OGr: Óxido de grafeno reduzido

OMS: Organização Mundial da Saúde

PABA: Ácido para-aminobenzoico

PCs: Polímeros condutores

PET: Tomografia por emissão de pósitrons

PR: Receptor de progesterona

RE: Eletrodo de referência

SERDs: Degradação seletivos do receptor de estrogênio

SERMs: Moduladores seletivos do receptor de estrogênio

SIRT1: Sirtuína 1

SPE: Eletrodos serigrafados

SWV: Voltametria de onda quadrada

TGF- β : Fator de crescimento transformador beta

TNBC: Câncer de mama triplo negativo



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

uPA: Sistema uroquinase

WE: Eletrodo de trabalho

YAP1: Proteína associada a Yes 1

ZEB1: Zinc Finger E-box Binding Homeobox 1

ZEB2: Zinc Finger E-box Binding Homeobox 2

Parte superior do formulário

Parte inferior do formulário



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o tipo de câncer mais frequentemente diagnosticado em mulheres e constitui a principal causa de morte por neoplasias malignas nessa população. Caracteriza-se pela proliferação descontrolada de células anormais no tecido mamário, capazes de formar massas ou tumores com potencial de invasão local e disseminação para órgãos distantes (INCA, 2025).

Do ponto de vista histopatológico, o câncer de mama é classificado principalmente em carcinoma *in situ* e carcinoma invasivo (ou infiltrante). O carcinoma invasivo distingue-se por sua capacidade de atravessar a membrana basal e se disseminar para os tecidos adjacentes, bem como para sítios metastáticos, enquanto o carcinoma *in situ* permanece restrito ao epitélio ductal ou lobular, sem invadir as camadas basais subjacentes. Ressalta-se que a maioria dos óbitos associados ao câncer de mama não decorre do tumor primário, mas do desenvolvimento de metástases à distância, as quais comprometem de forma significativa o prognóstico e a sobrevida das pacientes.

O câncer de mama é uma doença altamente heterogênea, apresentando ampla diversidade clínica, morfológica e genética, o que resulta em respostas terapêuticas variáveis (INCA, 2025). Abrange um amplo espectro de lesões proliferativas, que vão desde a hiperplasia até o carcinoma invasivo, sendo este último predominantemente representado pelo carcinoma ductal infiltrante, responsável por aproximadamente 80 a 90 % dos casos. As manifestações clínicas mais frequentes incluem a presença de nódulo mamário, alterações cutâneas ou do mamilo, secreção papilar anormal e linfadenopatia axilar.

Em escala global, o câncer de mama permanece como o câncer mais diagnosticado entre as mulheres, com cerca de 2,4 milhões de novos casos e 715 mil óbitos estimados para 2025 (IARC, 2025). No Brasil, também constitui o tipo



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

de câncer mais incidente na população feminina, com uma estimativa de 73.610 novos casos em 2025, além de representar a principal causa de morte por câncer nesse grupo. A incidência e a mortalidade aumentam de forma significativa a partir dos 50 anos de idade (INCA, 2019; INCA, 2022). Esses dados epidemiológicos reforçam a importância do diagnóstico precoce e a necessidade do desenvolvimento de abordagens diagnósticas inovadoras, sensíveis e acessíveis, capazes de melhorar a detecção, o manejo clínico e o prognóstico das pacientes.

A base do diagnóstico do câncer de mama permanece sendo o exame anatomopatológico, considerado o padrão-ouro. A mamografia possibilita a avaliação do tecido mamário normal adjacente e da mama contralateral, permitindo a detecção de lesões não palpáveis, ampliando significativamente o diagnóstico precoce em comparação à identificação exclusiva de massas palpáveis.

A biópsia por agulha grossa (core biopsy), realizada no período pré ou pós-operatório, bem como a biópsia por agulha fina, fornece material para análise histopatológica, a qual deve contemplar o tipo histológico do tumor, o grau de malignidade, a expressão dos receptores hormonais de estrogênio e progesterona, o status do receptor HER-2 e o índice de proliferação celular Ki-67. Entretanto, esses métodos apresentam limitações, como a possibilidade de amostragem insuficiente, dificuldades na distinção entre lesões invasivas e pré-invasivas em determinados casos e limitações técnicas para a avaliação completa de alguns marcadores prognósticos.

Além disso, os métodos diagnósticos convencionais podem ser demorados, onerosos e demandar infraestrutura laboratorial especializada e pessoal qualificado, fatores que restringem sua aplicação em larga escala, especialmente em contextos com recursos limitados. Essas limitações evidenciam a necessidade



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

de estratégias alternativas, mais acessíveis, rápidas e eficazes, para o diagnóstico e o monitoramento do câncer de mama.

Nesse contexto, os avanços tecnológicos recentes têm impulsionado o desenvolvimento de novas metodologias diagnósticas, com impacto positivo nos sistemas de saúde, especialmente nas áreas de monitoramento clínico e diagnóstico médico. Dentre essas inovações, destacam-se os biossensores, dispositivos analíticos capazes de converter interações bioquímicas específicas em sinais mensuráveis, geralmente elétricos, ópticos ou térmicos. Esses sistemas podem empregar como elementos de reconhecimento biológico enzimas, ácidos nucleicos (DNA ou RNA), tecidos, organelas ou células inteiras.

Entre as biomoléculas utilizadas em biossensores para o reconhecimento específico de analitos, destacam-se os microRNAs (miRNAs), uma classe de pequenos RNAs de fita simples que desempenham papel central na regulação da expressão gênica por meio da interação com RNAs mensageiros alvo. Os miRNAs estão envolvidos em processos celulares fundamentais, como sobrevivência celular, apoptose, diferenciação, envelhecimento, carcinogênese e metástase, o que os torna biomarcadores promissores e altamente relevantes para o desenvolvimento de biossensores aplicados ao diagnóstico e prognóstico do câncer de mama. Os biossensores foram desenvolvidos principalmente com ênfase na miniaturização por meio do uso de novos materiais. Entre eles, destacam-se os polímeros condutores, que possuem propriedades únicas como condutividade elétrica, baixa energia de transição óptica, baixo potencial de ionização e alta afinidade eletrônica.

Os biossensores têm se destacado nos setores comercial e de pesquisa como uma alternativa que oferece diagnósticos avançados devido a várias características vantajosas, como alta seletividade, sensibilidade, baixo custo de produção, respostas rápidas e capacidade de detecção em tempo real,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

constituindo, assim, uma plataforma atraente para uma variedade de aplicações em diagnósticos clínicos.

Esta pesquisa descreve o desenvolvimento de uma plataforma portátil e inovadora para a detecção de microRNA salivar associado ao câncer de mama, baseada em biossensoriamento eletroquímico com leitura integrada via smartphone, visando uma abordagem rápida, sensível e de fácil aplicação clínica.

A dissertação apresentada foi elaborada em conformidade com as normas estabelecidas pelo Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia e está estruturada nos Capítulos I, II e III.

O **Capítulo I** apresenta os fundamentos teóricos por meio de uma revisão bibliográfica que aborda os temas de câncer de mama, microRNA, biossensores, nanomateriais e smartphones. O **Capítulo II** consiste em um relatório descritivo de patente depositada no Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI, Processo: BR 10 20250135078), e o **Capítulo III** consiste em um artigo científico.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

CAPÍTULO I

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1. CÂNCER DE MAMA

1.1. Anatomia da Mama

A glândula mamária, como indica a figura 1, presente em ambos os sexos, mas totalmente desenvolvida e funcional apenas nas mulheres, sofre transformações ao longo da vida de acordo com a idade e as fases do ciclo reprodutivo. Seu crescimento e organização dependem principalmente dos hormônios sexuais, notadamente o estrogênio e a progesterona, bem como de diversos fatores de crescimento. Como glândula exócrina, a função essencial da mama é a produção de leite para a alimentação infantil. Ela é composta principalmente de tecido adiposo, que ocupa os espaços entre as estruturas glandulares (COCKENPOT, 2025). Anatomicamente, cada mama possui entre 15 e 20 lóbulos, subdivididos em lóbulos menores interligados por uma rede de ductos lactíferos. Durante a lactação, os lóbulos produzem leite, que percorre esses ductos até o mamilo. Os lóbulos são formados por uma camada interna de células secretoras, circundada por uma membrana basal e, externamente, por células epiteliais alveolares. Toda a estrutura é sustentada por tecido conjuntivo rico em fibroblastos e gordura, enquanto um ducto lobular conecta a cavidade do lóbulo aos ductos lactíferos principais (CHRISTGEN *et al.*, 2021; COCKENPOT, 2025).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

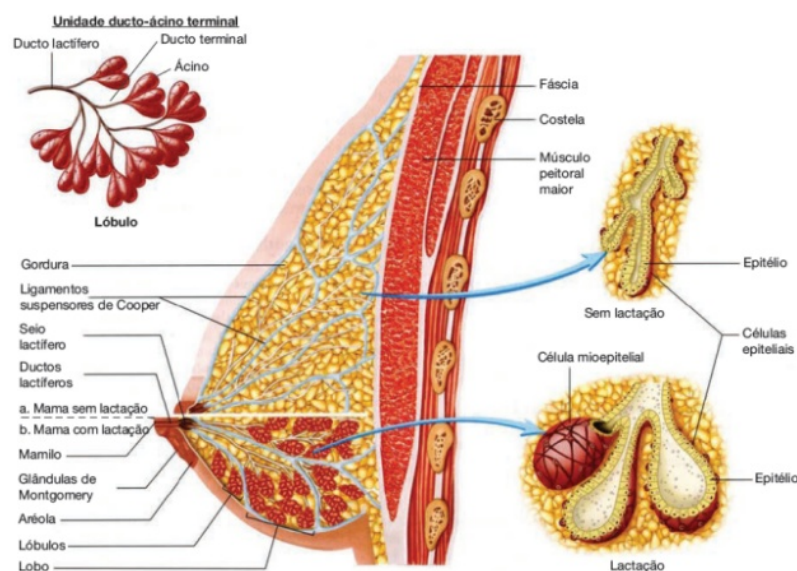


Figura 1: Anatomia da Mama (MAYROVITZ, 2022)

A mama é atravessada por uma rede linfática que se estende até a região axilar (Figura 2). Essa rede contém linfonodos em intervalos regulares, que desempenham um papel crucial na defesa imunológica. Esses linfonodos estão localizados em diferentes níveis anatômicos: na axila (linfonodos axilares), acima da clavícula (linfonodos claviculares), abaixo da clavícula (linfonodos subclaviculares) e dentro do tórax, ao redor do esterno (linfonodos mamários internos). Além da corrente sanguínea, esse sistema linfático representa uma via primária para a disseminação de células cancerígenas para outros órgãos. (BISTONI; FARHADI, 2015; HENG et al., 2017; JATOI; KAUFMANN, 2010).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

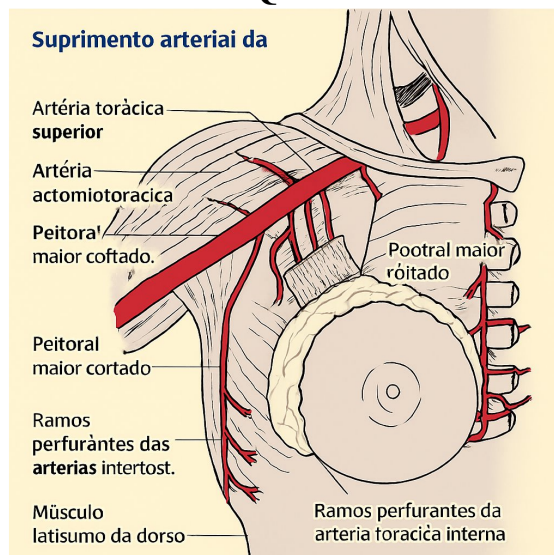


Figura 2: Sistema linfático da mama.(BISTONI; FARHADI, 2015)

1.2. Processo de carcinogênese

O desenvolvimento de um tumor a partir de células cancerígenas ocorre em diversas fases sucessivas, envolvendo mecanismos tanto de carcinogênese quanto de tumorigênese. Embora várias teorias modernas tenham complicado a compreensão desses processos, algumas etapas-chave são classicamente distinguidas: iniciação, promoção, progressão, invasão e, por fim, a transição angiogênica, que marca a capacidade do tumor de formar novos vasos sanguíneos e crescer autonomamente (Figura 3) (CHRISTGEN *et al.*, 2021).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

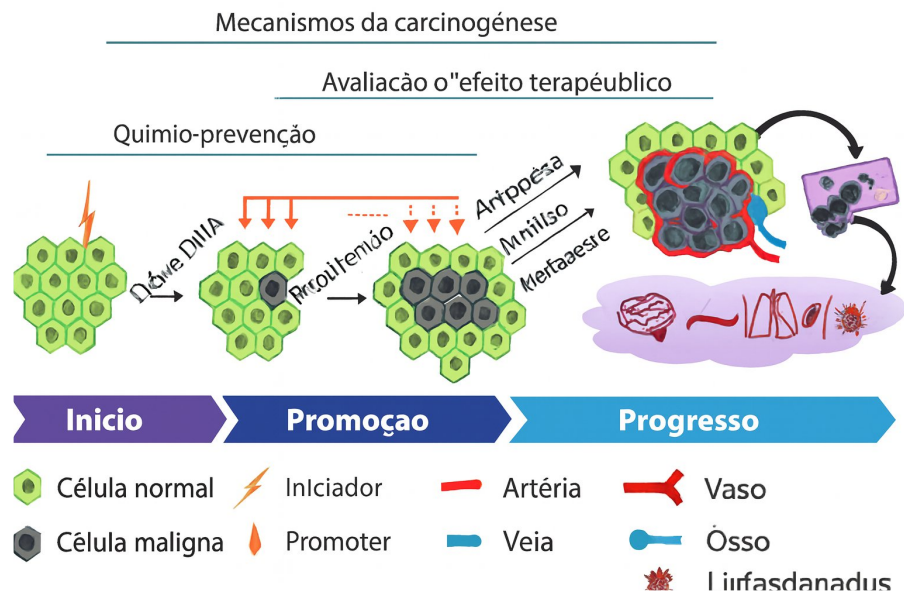


Figura 3: Representação esquemática dos diferentes estágios da carcinogénese. (LIU, YEWEI *et al.*, 2015)

1.2.1. Iniciação

O DNA celular está em constante processo de alterações, resultantes de erros durante seu reparo ou de danos causados por agentes genotóxicos, como a radiação ultravioleta ou ionizante. Embora as células possuam mecanismos de reparo do DNA, estes nem sempre são perfeitamente precisos, introduzindo, por vezes, erros estáveis que são transmitidos às células-filhas. O acúmulo progressivo dessas anormalidades em oncogenes ou genes supressores de tumor desestabiliza o equilíbrio celular e promove a transformação tumoral (CHRISTGEN *et al.*, 2021).

As células cancerígenas perdem, então, a capacidade de responder aos sinais regulatórios de crescimento. Os oncogenes, quando sofrem um ganho de função, produzem proteínas em excesso ou hiperatividade, estimulando a proliferação celular e prejudicando a diferenciação. Por outro lado, os genes supressores de tumor codificam proteínas que normalmente inibem a divisão



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

celular; sua inativação remove esse controle.

As células iniciadas, embora alteradas, ainda não são tumorais: podem permanecer quiescentes por longos períodos, mas sob a influência de fatores promotores, podem entrar em uma fase de proliferação e iniciar a tumorigênese. (CHRISTGEN et al., 2021; TSANG, JULIA Y S; TSE, 2019a).

1.2.2. Promoção tumoral

A fase de promoção tumoral corresponde ao estágio em que as células previamente iniciadas passam a se multiplicar ativamente sob a influência de promotores tumorais, até que surja uma célula com fenótipo maligno estabelecido. Essa estimulação resulta em uma elevada taxa de proliferação celular, o que contribui para a manutenção das mutações já existentes e favorece o acúmulo progressivo de novas alterações genéticas nas células-filhas ao longo das sucessivas divisões celulares.

Os agentes promotores podem ter diferentes origens, incluindo fatores dietéticos, como determinados lipídios que podem ser convertidos em diacil glicerol no cólon, e fatores hormonais, como os estrogênios, que desempenham papel particularmente relevante na promoção do câncer de mama. (GERMAIN, 2011; HENG et al., 2017).

1.2.3. Progressão e invasão

Esta fase marca a transição para um estado irreversível de transformação celular, levando à formação e ao crescimento de um tumor maligno. A progressão tumoral é caracterizada pela aquisição de crescimento autônomo, pela expressão de características fenotípicas de malignidade e pelo aumento da instabilidade genética. Essas alterações promovem o surgimento de clones celulares capazes de invadir tecidos vizinhos, formar metástases e resistir a tratamentos anticancerígenos. A invasão resulta na infiltração de células tumorais nos tecidos circundantes. (COCKENPOT, 2025; GERMAIN, 2011; YAGER; DAVIDSON, 2006).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

1.2.4. "Interruptor" angio gênico

Um tumor não consegue crescer além de 1 a 2 mm de diâmetro até desenvolver seu próprio suprimento sanguíneo. Na ausência de vasos sanguíneos, as células no centro da massa tumoral ficam privadas de nutrientes e oxigênio devido ao seu isolamento da matriz extracelular. Esse estado de hipóxia desencadeia a secreção de fatores pró-angio gênicos, principalmente o VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular), que induz a formação de novos vasos sanguíneos. Esses novos vasos, então, irrigam o tumor, permitindo que as células cancerígenas desviem recursos dos tecidos saudáveis para sustentar seu crescimento e sobrevivência. (POLYAK, 2007a; SMOLARZ; ZADROŻNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022).

1.2.5. Processo metastático da mama

O processo metastático do câncer de mama como ilustrado na figura 4, envolve uma série de etapas sucessivas: invasão, intravasamento, circulação, extravasamento e colonização cuja falha em um único nível impede a formação de metástases. Células tumorais saem do tumor primário, invadem os tecidos vizinhos, penetram nos vasos sanguíneos ou linfáticos, circulam, depois se estabelecem em um órgão distante onde se multiplicam e promovem uma angiogênese local durante essas etapas, eles devem escapar do sistema imunológico e resistir ao apoptose garantindo sua sobrevivência e a eventual formação de metástases secundárias (ALIMIRZAEI; BAGHERZADEH; AKBARI, 2019b; JIN; MU, 2015; SMOLARZ; ZADROŻNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022).

A invasão começa com a perda da adesão intercelular, devido à diminuição da E-caderina, uma molécula chave nas junções celulares. Sua redução ou mutação, frequente em carcinomas lobulares, promove a disseminação celular. Ao mesmo tempo, o N-caderina, típico de células mesenquimais, é expresso mais, marcando a transição epitélio-mesenquimal (EMT) essencial para a invasão e degradação



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

da matriz extracelular (MEC) (ALIMIRZAI; BAGHERZADEH; AKBARI, 2019a; CHRISTGEN et al., 2021; JIN; MU, 2015).

O integrinas garantir a adesão à MEC, enquanto enzimas como metaloproteinases (MMPs) e o Sistema uroquinase (uPA). Eles degradam as barreiras teciduais, facilitando a migração. Heparanase ao destruir o sulfato de heparano, ele libera fatores de crescimento e angio gênicos, estimulando assim a proliferação tumoral e a angiogênese. (JACOT; ROMIEU; LAMY, 2010; JIN; MU, 2015).

Finalmente, as células cancerosas adquirem um forte motilidade migrando em grupos (em carcinomas lobulares bem diferenciados) ou individualmente em formas mais agressivas, garantindo sua disseminação e colonização metastática. (JACOT; ROMIEU; LAMY, 2010; JIN; MU, 2015).

A transição epitélio-mesenquimal (EMT) como está ilustrado na figura 5 é um processo fundamental que permite que certas células tumorais percam suas características epiteliais e adquiram um fenótipo mesenquimal, promovendo assim sua migração e invasão. Durante essa transição, as células perdem suas junções intercelulares (notadamente por meio de uma diminuição na expressão de E-caderina) e expressam marcadores mesenquimais, como a vimentina. (JACOT; ROMIEU; LAMY, 2010; JIN; MU, 2015).

Essa transformação é regulada por diversos fatores de transcrição ZEB1, ZEB2, Snail, Slug e Twist ativados por vias de sinalização como TGF- β , WNT e PI3K/AKT, cuja superexpressão está associada a um prognóstico desfavorável no câncer de mama. A perda de adesão leva a uma mudança na polaridade celular, passando de uma orientação apicobasal para uma anteroposterior, acompanhada pela remodelação do citoesqueleto de actina, o que facilita a motilidade. Metaloproteinases (MMPs) degradam a matriz extracelular, criando vias pelas



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

quais as células alongadas, agora comparáveis a fibroblastos, podem se mover mais facilmente para os tecidos circundantes. (JACOT; ROMIEU; LAMY, 2010; JIN; MU, 2015).

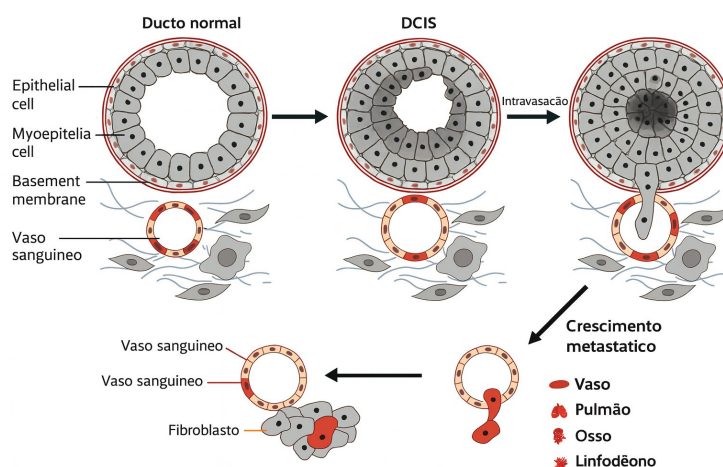


Figura 4: Principais etapas na formação de uma metástase mamária (JIN; MU, 2015)

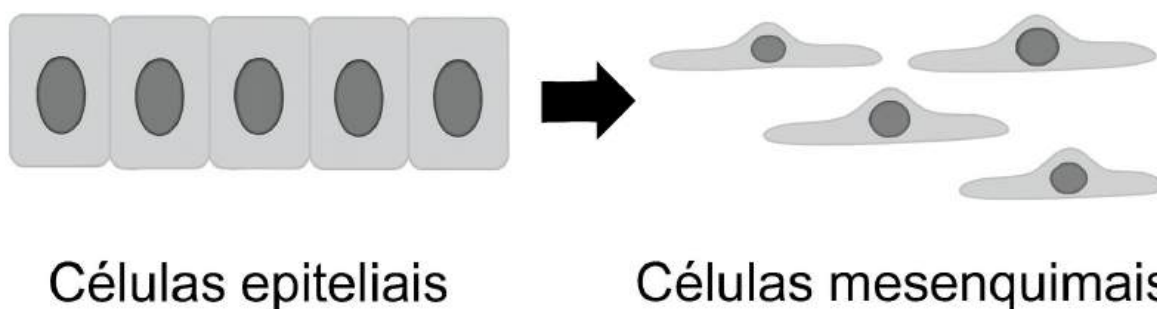


Figura 5: Transição epitélio-mesênquimal (EMT). As células epiteliais sofrem alterações fenotípicas para adquirir características mesenquimais. (JIN; MU, 2015).

1.3. Classificação do câncer de mama

1.3.1. Subtipos intrínsecos



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

A classificação do câncer de mama fundamenta-se em três pilares principais: subtipo histológico, grau tumoral e estágio, que refletem a diferenciação e a taxa de crescimento do tumor. Em 2000, PEROU *et al.* revolucionaram a compreensão do câncer de mama ao identificar, por meio de análise de expressão gênica utilizando *microarrays*, cinco subtipos moleculares: luminal A, luminal B, HER2-enriquecido, basal e normal. Esses subtipos, diferenciados principalmente pelo status dos receptores hormonais (ER, PR) e HER2, apresentam diferenças prognósticas marcantes: o luminal A tem o melhor prognóstico, enquanto o HER2 e o basal são mais agressivos. O subtipo “normal” foi posteriormente eliminado, por ser considerado contaminação por tecido saudável. Para padronizar essa classificação, o teste PAM50 (Prosigna), baseado na expressão de 50 genes, foi desenvolvido e validado como um marcador prognóstico confiável. Embora as abordagens imuno-histoquímicas (ER, PR, HER2, Ki67) sejam amplamente utilizadas na prática clínica, elas reproduzem apenas parcialmente a precisão das classificações moleculares. (ROY *et al.*, 2023).

1.3.1.1. Câncer de mama luminal

Os cânceres de mama luminais são predominantemente ER+ e incluem diversos tipos histológicos, como carcinomas tubulares, cribriformes, lobulares e mucinosos. Eles são divididos em dois subgrupos: luminal A e luminal B, de acordo com a expressão de genes de proliferação. Tumores luminal A, de baixo grau e com bom prognóstico, são geralmente ER/PR+ e HER2- enquanto o luminal B, mais agressivos, frequentemente exibem forte proliferação, às vezes PR- e/ou HER2+. Testes multigênicos, como Oncotype Dx, Mammaprint e EndoPredict. Esses subtipos podem ser distinguidos de acordo com seu perfil de expressão gênica. Em imuno-histoquímica (IHQ), a distinção geralmente se baseia no índice de proliferação, Ki67: Menos de 14% para tumores luminais A e mais de 14% (ou HER2+) para tumores luminais B. No entanto, o uso do Ki67 permanece controverso devido à sua baixa reprodutibilidade, e ainda não é



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

reconhecido como um marcador prognóstico padrão. (PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; ROY et al., 2023).

1.3.1.2. câncer de mama positivo para o receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano

Câncer de mama ER-negativos são divididos em dois grupos principais: os Tumores enriquecidos com HER2 e o tumores basais ou triplo-negativos (TNBC). O subtipo HER2-enriquecido é caracterizado por uma superexpressão do gene HER2 e outros genes localizados no cromossomo 17q12. Antes do advento das terapias direcionadas anti-HER2, esses tumores estavam associados a um pior prognóstico embora mais de 80% apresentem amplificação ou superexpressão de HER2, nem todos os tumores clinicamente HER2+ se enquadram nesse subtipo, mas alguns pertencem ao grupo luminal B análises como o teste PAM50 demonstraram que apenas cerca de 55% dos cânceres clínicos HER2+. Na verdade, são enriquecidos em HER2, sendo os demais principalmente luminais ou basais. Contudo, tumores enriquecidos em HER2 respondem melhor a terapias direcionadas, como trastuzumabe com taxas de resposta patológica completa sobrevivência sem incidentes significativamente superior aos outros subtipos (PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; ROY et al., 2023; VUONG et al., 2014).

1.3.1.3. Cânceres de mama basais/triplo-negativos

O câncer de mama do tipo basal majoritariamente câncer de mama triplo negativo (CMTN), são tumores de alto grau expressando marcadores básicos como CK5/14, lá P-caderina e o receptor do fator de crescimento epidérmico abrangem diversas formas histológicas, incluindo carcinomas medulares e metaplásicos. A maioria dos cânceres está ligada a mutações. BRCA1 pertencem a este tipo. Embora os termos basal-like e TNBC embora frequentemente confundidos, nem todos os cânceres de mama triplo-negativos são basais. Esses



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

cânceres foram subdivididos em vários subgrupos moleculares, incluindo o BL1/BL2 (reparo de DNA e sinalização de fatores de crescimento), o LAR (dependente de andrógenos, melhor prognóstico) e o mesenquimal (mais agressivo). Os TNBCs frequentemente apresentam uma forte captação de FDG em PET, uma progressão metastática rápida e um prognóstico clínico ruim (PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; ROY et al., 2023).

1.3.2. Subtipos histológicos especiais

Alguns subtipos histológicos do câncer de mama apresentar uma morfologia específica e comportamento clínico, frequentemente associado a alterações genéticas características. No entanto, uma forte heterogeneidade genética persiste mesmo dentro dessas formas distintas, refletindo a complexidade biológica da doença.

1.3.2.1. Carcinoma lobular invasivo

O carcinoma lobular invasivo (CLI) é composto por células pouco coesas, frequentemente isoladas ou dispostas em fileiras lineares, com mínima reação estromal. Tipicamente, apresenta grau nuclear baixo a intermediário (Graus 1 ou 2 de Nottingham). No entanto, a forma pleomórfica apresenta grau mais elevado e pleomorfismo acentuado. Esse tipo de câncer costuma se manifestar como uma massa mamária palpável e mal definida, com tendência a metastatizar para ossos, pele, trato gastrointestinal e meninges. Do ponto de vista radiológico, é difícil de detectar por mamografia, sendo que a ressonância magnética oferece melhor sensibilidade para formas multifocais. Geneticamente, o CLI é caracterizado por mutações no gene CDH1, responsáveis pela perda da expressão de E-caderina, o que explica a baixa coesão celular. A maioria dos CLIs clássicos pertence ao subtipo luminal A (ER/PR positivo, HER2 negativo), enquanto as formas pleomórficas podem superexpressar HER2 ou pertencer ao



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

subtipo luminal androgênico. Finalmente, sua resposta à quimioterapia neoadjuvante geralmente é menor do que a dos carcinomas ductais invasivos, provavelmente devido ao índice de proliferação reduzido. (PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; ROY et al., 2023; VUONG et al., 2014).

1.3.2.2. carcinoma tubular

O carcinoma tubular invasivo (CTI) é um câncer de mama de baixo grau na previsão excelente, frequentemente descoberta durante exames de rastreio. É caracterizada por uma formação tubular predominante (>90%) e pertence principalmente subtipo luminal A (ER/PR positivo, HER2 negativo). Geneticamente, geralmente apresenta um ganho de 1q e uma perda de 16q características de neoplasias de baixo grau. Esses tumores, representando aproximadamente 1,5 a 2% dos carcinomas mamários invasivos ocorrem principalmente em mulheres idosas e são tamanhos pequenos em imagens, eles geralmente aparecem como uma pequena massa espiculada ou distorção arquitetônica, às vezes hipoecoico na ultrassonografia. Perfil molecular A CTI demonstra forte ativação de vias hormonais (ER, PI3K) e um baixo índice de proliferação (Ki-67 <10%). Embora metástases em linfonodos embora possam ocorrer ocasionalmente, são raros e limitados. Assim, o tratamento adjuvante sistêmico ou a dissecação axilar geralmente não são necessários, dado a previsão muito favorável comparável à de mulheres sem câncer. (PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; ROY et al., 2023; SMOLARZ; ZADROŻNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022).

1.3.2.3. Carcinoma mucinoso

O carcinoma mucinoso (CM) é um câncer de mama invasivo raro, representando aproximadamente 2% dos casos, caracterizado por aglomerados de células tumorais flutuando em abundante mucina extracelular. Distinguimos o



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

tipo puro ($\geq 90\%$ de mucina) e o tipo misto (10–90%). O CM puro afeta principalmente as mulheres idosas (idade mediana: 70 anos) e frequentemente se manifesta como uma massa com a aparência benigno na mamografia Ehipoecoico na ultrassonografia. Em nível molecular, pertence à subtipo luminal A (ER/PR positivo, HER2 negativo), com uma baixa instabilidade genética, pequenos mutações PIK3CA/AKT1, e um metilação aberrante do gene MUC2A o contrário da CM colorretal, ela não apresenta instabilidade de microssatélites. O carcinoma mucinoso puro apresenta uma previsão excelente, com uma baixa recorrência local ou metastática e um taxa de sobrevivência de 5 anos muito alta Apesar de uma morfologia distinta, apresenta uma diversidade genética comparáveis a outros tumores luminais. Algumas formas basais especiais (por exemplo, carcinoma metaplásico de células fusiformes, carcinoma adenoescamoso de baixo grau, carcinoma secretor) compartilham características moleculares comuns, mas retêm uma previsão mais favorável (PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; SMOLARZ; ZADROŻNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; VUONG et al., 2014).

1.3.2.4. Carcinoma micropapilar invasivo

O carcinoma micropapilar invasivo (IMPC) é um uma forma rara de câncer de mama, representante menos de 2% casos, embora seja frequentemente observado como componente misto em outros carcinomas. Distingue-se por uma forte propensão à invasão linfovascular para a metástase em linfonodo axilar, presente em mais de dois terços dos pacientes no momento do diagnóstico. Clinicamente, manifesta-se como massa palpável em aparência altamente suspeito em exames de imagem: Massa densa e irregular na mamografia, hipoecoico na ultrassonografia e espiculado na ressonância magnética. O PET-FDG frequentemente mostra um alta atividade metabólica (SUV alto). Em nível molecular, o IMPC pertence à subtipos luminais A ou B com uma expressão



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

frequente de receptores hormonais (ER/PR positivos) e às vezes amplificação de HER2E. Apresenta também alterações genéticas recorrentes, como ganhos de 8q, 17q, 20q e amplificações de *MYC*, *CCND1*, *FGFR1*, semelhante a carcinomas invasivos canais luminais B. Apesar de sua tendência à disseminação local, O tipo histológico micropapilar não é um fator independente de mau prognóstico. No entanto, o Formas ER-negativas ou com extenso envolvimento dos gânglios linfáticos (≥ 4 linfonodos) estão associados a um desenvolvimento mais desfavorável (PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; VUONG et al., 2014).

1.3.2.5. Carcinoma adenocístico

O carcinoma adenoide cístico (AdCC) seio é uma forma rara e geralmente não agressivo câncer, caracterizado pela presença de células luminais e basais formando estruturas em telas ou tubulares, frequentemente preenchido com mucina ou materiais basaloídes frequentemente observado em mulheres idosas. Este é um tumor de baixo grau com uma previsão excelente e uma baixa incidência de metástases geneticamente, o AdCC apresenta uma translocação específica t(6;9) (q22–23; p23–24) levando à formação de gene de fusão MYB–NFIB detectada na maioria dos casos. Além dessa anomalia, seu O genoma permanece estável, sem alterações comuns como mutações TP53 ou PIK3CA, típico de outros cânceres de mama triplo-negativos. Em casos raros, uma progressão em direção a uma forma basaloide agressiva podem ocorrer, associadas a acúmulo de modificações genéticas adicionais (PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; ROY et al., 2023; TSANG; TSE, 2019; VUONG et al., 2014).

1.3.2.6. Carcinoma medular



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Os carcinomas medulares são cânceres de mama triplo-negativos (CMTN), caracterizados por alto grau de pleomorfismo nuclear, intensa atividade mitótica e infiltrado linfocítico acentuado. Apesar de apresentarem uma aparência bem definida nos exames de imagem, são mais comuns em mulheres jovens. O prognóstico relativamente favorável parece estar ligado à resposta imune associada, mais do que à histologia em si. Esses tumores apresentam elevada instabilidade genômica, com numerosos rearranjos estruturais que geram neoantígenos capazes de estimular o sistema imunológico. São frequentemente associados a mutações no gene BRCA1 ou à sua hipermetilação, bem como a mutações em TP53, encontradas em mais de 80% dos casos. Em resumo, embora a classificação molecular tenha transformado a compreensão do câncer de mama, a classificação histológica mantém grande valor por suas correlações clínicas, radiológicas e prognósticas. As duas abordagens permanecem complementares para um melhor atendimento (ALIMIRZAI; BAGHERZADEH; AKBARI, 2019; RICHIE; SWANSON, 2003; SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

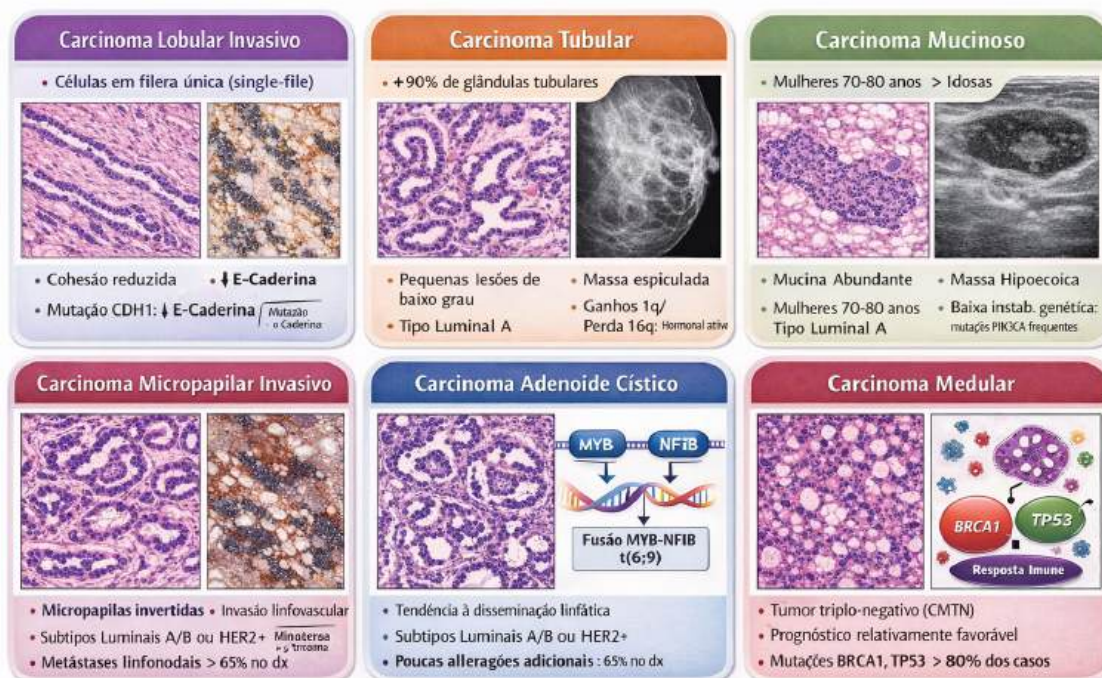


Figura 6: Subtipos histológicos de câncer de mama. Propriedade pessoal.

1.3.3. Doença benigna da mama

As alterações fibrocísticas (AFC) são a condição benigna mais comum da mama, afetando principalmente mulheres na pré-menopausa, entre 20 e 50 anos. Conhecidas por vários nomes (mastopatia cística, doença de Reclus, etc.), são agora chamadas de alterações fibrocísticas porque são observadas clinicamente em quase 50% e histologicamente em até 90% das mulheres. (PEARLMAN; GRIFFIN, 2010). São frequentemente bilaterais e multifocais, manifestando-se como dor mamária e nódulos dolorosos. Sua origem hormonal é provável, estando ligada a um desequilíbrio entre estrogênio e progesterona.

As MFKs incluem cistos (microscópicos ou macroscópicos) e lesões sólidas como adenose, hiperplasia epitelial, metaplasia apócrina, cicatrizes radiais e papilomas. (STACHS *et al.*, 2019).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

De acordo com a classificação de Dupont e Page, eles são divididos em:

- Lesões não proliferativas: cistos simples, metaplasia apócrina, hiperplasia leve, fibrose periductal, etc. (GURAY; SAHIN, 2006).
- Lesões proliferativas sem atipia: hiperplasia ductal moderada, adenose esclerosante, papilomas. As condições proliferativas sem atipia incluem principalmente fibroadenomas, comuns em mulheres jovens, que se apresentam como uma massa firme e móvel, bem como papilomas intraductais, frequentemente responsáveis por secreção mamilar, e adenomas tubulares ou lactantes, observados durante a gravidez. (DYRSTAD et al., 2015; GURAY; SAHIN, 2006).
- Lesões proliferativas com atipia: hiperplasia ductal ou lobular atípica. As hiperplasias mamárias são subdivididas em leves (não proliferativas), moderadas (proliferativas sem atipia) e atípicas, sendo estas últimas associadas a um risco aumentado de câncer e exigindo acompanhamento rigoroso. (DYRSTAD et al., 2015; GURAY; SAHIN, 2006).

O risco de câncer de mama depende do tipo histológico:

- nulo para lesões não proliferativas,
- aumento moderado (RR 1,3–1,9) para cepas proliferativas sem atipia,
- aumento significativo (RR 3,9–13) para hiperplasias atípicas.

A idade e o histórico familiar de câncer de mama também influenciam esse risco: mulheres jovens com hiperplasia atípica têm o dobro do risco em comparação com mulheres com mais de 55 anos, e o histórico familiar aumenta ainda mais esse risco, mesmo para lesões benignas não proliferativas. (DYRSTAD et al., 2015; GURAY; SAHIN, 2006; STACHS et al., 2019).

Abaixo, descrevo os biomarcadores usados para câncer de mama.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

1.4. Biomarcadores moleculares no diagnóstico e prognóstico do câncer de mama

A eficácia do tratamento do câncer de mama é medida principalmente pela sobrevivência clínica pacientes. Para otimizar as terapias, é essencial ter biomarcadores confiáveis capaz de prever a resposta ao tratamento monitorar sua eficácia após o diagnóstico de câncer de mama invasivo, a prioridade é determinar quais pacientes necessitam de tratamento. Quimioterapia adjuvante escolher o tratamento mais adequado para cada perfil. Os biomarcadores prognósticos ajudam a avaliar o risco de reincidência, enquanto os biomarcadores preditivos orientar a escolha do tratamento. Essa abordagem personalizada baseia-se na identificação e utilização de biomarcadores estabelecidos e emergentes Essencial para o diagnóstico, prognóstico e tratamento direcionado do câncer de mama. (TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

1.4.1. Receptor de estrogênio (ER)

O receptor de estrogênio (ER), pertencente à família dos receptores nucleares de esteroides, atua como um regulador transcricional controlado pelo estradiol (E2). Existe em duas formas principais: ER- α , localizado no cromossomo 6, e ER- β , no cromossomo 14. No câncer de mama, o ER é um biomarcador chave permitindo-nos avaliar a sensibilidade à terapia hormonal e para prever o prognóstico (SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

Lá estabilidade do receptor ER desempenha um papel importante na resistência hormonal. Proteínas como MUC1 (superexpressão em mais de 90% dos cânceres ER+), PIN1(ativador de transcrição ER) e PEBP4 influenciar essa estabilidade, que pode servir como alvos terapêuticos Inibidores, particularmente de GSK3 (como CG0009), demonstraram redução na proliferação tumoral por



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

meio da modulação dessas vias. (SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

As modificações pós-traducionais (fosforilação, acetilação, palmitoilação) também regulam a degradação e a estabilidade do ER, afetando o crescimento tumoral e a resistência hormonal. Assim, a quantificação do estado do ER continua sendo essencial para orientar os tratamentos hormonais (tamoxifeno, raloxifeno) e determinar o potencial terapêutico e prognóstico câncer de mama (SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

1.4.2. Estado mutacional do ER (ESR1)

As mutações do gene ESR1, que codifica o receptor de estrogênio (RE) agora são reconhecidos como um principal mecanismo de resistência hormonal no câncer de mama. Embora raros em tumores primários, eles são encontrados em 9 a 40% pacientes com câncer Resistência avançada ao ER+ e aos inibidores da aromatase (IA) (SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

Essas mudanças, localizadas principalmente em domínio de ligação ao ligante (incluindo D538G, Y537S, E380Q, Y537C, Y537N), faça o receptor ativo sem estrogênio que promove a proliferação tumoral apesar dos tratamentos hormonais. A mutação Y537S está particularmente associado a uma forte ativação independente de ligante e para um aumento da resistência ao tamoxifeno e ao fulvestranto (SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

As mutações ESR1 são, portanto, considerados como biomarcadores prognósticos desfavoráveis e preditores de resistência endócrina sua detecção, frequentemente realizada por biópsia líquida (A análise do DNA circulante)



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

permite monitorar a resposta ao tratamento. (SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

Embora não pareçam influenciar a eficácia de Inibidores de CDK4/6, deles evolução dinâmica poderia indicar um resistência emergente Novos Moduladores seletivos do receptor de estrogênio (SERMs) e degradadores seletivos (SERD) estão em desenvolvimento para combater essas mutações e melhorar o processamento de cânceres metastáticos ER+/HER2– No entanto, são necessárias mais pesquisas, particularmente na área de países de baixa renda onde os dados ainda são limitados (SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

1.4.3. HER2

O gene HER2, localizado no cromossomo 17q21.1, pertence à família de Receptores de crescimento do tipo EGFR normalmente expresso em vários tecidos epiteliais (pulmões, pâncreas, mama, etc.), é superexpressa em 20 a 30% dos cânceres de mama o que o torna um biomarcador chave prognóstico e tratamento (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Amplificação de HER2 está associado a uma maior agressividade do tumor, aumento do risco de recorrência e uma diminuição na sobrevida global embora seu papel prognóstico tenha sido por vezes controverso, a medição de Proteína HER2 continua sendo útil para avaliar a progressão e a recorrência do câncer, particularmente nas formas metastático.

Do ponto de vista terapêutico, HER2 é um alvo principal em oncologia mamária. A introdução de trastuzumabe (Herceptin), um anticorpo monoclonal direcionado contra HER2, representou um grande avanço ao melhorar a sobrevida de pacientes com superexpressão do gene HER2. Outros inibidores, como lapatinib também são utilizadas. No entanto, certas combinações



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

terapêuticas, particularmente comantraciclina (doxorubicina, epirrubicina) podem causar toxicidade cardíaca limitando seu uso combinado (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

A avaliação de status HER2 Baseia-se em duas técnicas principais: imuno-histoquímica (IHC) e hibridização *in situ* (ISH), permitindo a identificação de pacientes com maior probabilidade de se beneficiarem da terapia anti-HER2 direcionada. (MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

1.4.4. Receptor de progesterona

O receptor de progesterona (PR) é codificado pelo Gene PGR, localizado no cromossomo 11q22-23. Este gene pertence à família de receptores nucleares ativados por ligantes e constitui um marcador tumoral principal câncer de mama, permitindo prevendo a resposta hormonal (MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Há duas isoformas principais, PR-A/PR-B, que regulam conjuntos de genes semelhantes ou distintos, interagindo com vias de sinalização de fatores de crescimento. Uma terceira isoforma, PR-C, atua como um inibidor específico do PR-B no útero (MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

A dosagem PR geralmente é realizada ao mesmo tempo que a do receptor de estrogênio (RE), uma vez que a expressão do PR depende da atividade estrogênica. Assim, um PR positivo indica uma rota funcional do RE e um melhora da sensibilidade à terapia hormonal na presença de progesterona, o PR pode alterar a ligação do ER à cromatina, levando à regulação de genes envolvidos em parada do ciclo celular, diferenciação e apoptose, em vez de proliferação (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Os pacientes ER+/PR+ geralmente apresentam uma melhor resposta ao tratamento antiestrogênico do que aqueles ER+/PR-. Portanto, as diretrizes internacionais (como a EGTM) recomendam que medir os níveis de ER e PR em todos os casos de câncer de mama invasivo recém-diagnosticados. Verificando os resultados na amostra cirúrgica quando a biópsia por agulha apresenta resultado negativo, a fim de evitar os erros de amostragem ou fixação relacionado à heterogeneidade tumoral (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).

1.4.5. CEA e CA

Os marcadores tumorais séricos desempenham um papel essencial no seguimento de detecção precoce de recaídas e a avaliação do tratamento do câncer de mama. Os mais comumente usados são os CEA (Antígeno Carcino embrionário), antígeno CA15-3 e o antígeno CA125, todos ligados a glicoproteínas (em particular MUC1) (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).

O CEA foi o primeiro antígeno tumoral estudado é uma glicoproteína envolvida na adesão celular. Seus níveis aumentam em casos de inflamação ou cânceres de origem endodérmica (mama, trato digestivo, pâncreas). CA15-3, derivado de MUC1, e o CA125, reguladores da sobrevivência celular, também são frequentemente usados como indicadores biológicos do câncer de mama (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).

O níveis pré-operatórios de CEA e CA15-3 pode ajudar a avaliar o prognóstico, lá progressão da doença e a eficácia do tratamento, embora seu valor prognóstico ainda seja debatido. Estudos demonstraram que altos níveis desses marcadores são correlacionados com o tamanho do tumor, no envolvimento dos gânglios linfáticos e para um prognóstico ruim, particularmente nos subtipos luminal A e basal-like (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Apesar dos resultados contraditórios, a maioria das pesquisas indica que CEA e CA15-3 constituir fatores prognósticos independentes influenciando a sobrevivência sem doença e a sobrevivência global. A medição regular desses marcadores, que é simples e barata, pode, portanto, contribuir para a monitoramento clínico e para a adaptação terapêutica personalizada em pacientes com câncer de mama (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

1.4.6. As células tumorais circulantes (CTC)

As células tumorais circulantes (CTC) e o DNA tumoral circulante (ctDNA) representam grandes avanços decorrentes de novas tecnologias de sequenciamento. As CTCs, embora raras no sangue, desempenham um papel fundamental na progressão tumoral e constituem biomarcadores prognósticos importante no câncer de mama (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).

Um aumento no número de CTCs está associado a um declínio na sobrevivência e para uma resposta inadequada ao tratamento. A análise deles oferece uma vantagem sobre as biópsias sólidas graças à facilidade de coleta de sangue e a possibilidade de um monitoramento contínuo durante a terapia. O estudo multicêntrico SWOG S0500 demonstraram que o número de CTCs após a quimioterapia é um preditor confiável de sobrevivência. A persistência de CTCs está associada a uma menor sobrevida média. (MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

A pesquisa também revelou uma discrepância frequente no status HER2 entre as CTCs e o tumor primário, sugerindo novos alvos terapêuticos, particularmente para pacientes HER2-negativos com células tumorais circulantes HER2-positivas. Outros ensaios, como o dogefitinib mostram que a redução de CTCEGFR-positivo



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

poderia prolongar a sobrevivência sem progressão (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

No entanto, o uso clínico de CTCs permanece limitado devido à falta de padronização e a variabilidade técnica testes (ER, PR, HER2). Apesar desses desafios, as CTCs parecem ser uma ferramenta promissora para biópsia líquida, capaz de monitorar a evolução do tumor e personalizar o tratamento câncer de mama (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

1.4.7. Ki67

Lá Proteína Ki-67 é um marcador nuclear de proliferação celular expresso em todas as fases ativas do ciclo celular, exceto na fase G1 localizado em cromossomo 10q25-ter. Este gene codifica uma proteína envolvida na divisão celular e na síntese de RNA ribossômico Sua expressão, baixa no tecido mamário normal, aumenta acentuadamente nos tumores, tornando-a um principal biomarcador prognóstico e preditivo câncer de mama (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Em imuno-histoquímica, Ki-67 é usado para avaliar a taxa de proliferação tumoral prever o risco de recorrência e orientar a quimioterapia (particularmente através do teste) Oncotype DX™ Isso também nos permite distinguir entre subtipos luminais A (baixa proliferação, bom prognóstico) e subtipos luminais B (alta proliferação, mau prognóstico). (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Uma alta expressão de Ki-67 está correlacionada com tamanho grande do tumor, A alto grau histológico, um envolvimento dos gânglios linfáticos e uma sobrevivência reduzida no carcinoma ductal in situ (CDIS)O Ki-67 é frequentemente superexpresso e está associado a lesões de alto grau e a um



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

risco aumentado de recorrência. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Finalmente, no câncer de mama triplo negativo Ki-67, frequentemente associado a p53, é um indicador de agressividade e mau prognóstico. O Consenso de São Galo (2009) Recomenda-se seu uso para refinar as decisões de tratamento no câncer de mama em estágio inicial. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

1.4.8. Ciclina D1

Lá ciclina D1, codificado pelo gene CCND1, é uma proteína chave de controle do ciclo celular facilitando a transição para a fase G1 para São ativar o CDK4/6 e fosforilação da proteína do retino blastoma (Rb). Essa ativação libera fatores de transcrição. E2F promovendo a proliferação celular (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Na mamã normal A ciclina D1 participa na regulação do crescimento e da diferenciação, mas sua superexpressã induz uma hiperplasia e formação de tumor é amplificado em quase50% dos cânceres de mama e em outros tumores humanos (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).

Seu papel prognóstico permanece controverso alguns estudos o associam a uma melhor previsão (tumores ER/PR positivos e de baixo grau), enquanto outros o associam a um comportamento tumoral mais agressivo, particularmente em casos de câncer ER-negativos (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

A ciclina D1 também atua como mediador da sinalização do estrogênio interagindo com c-Myce receptores hormonais. No entanto, o Amplificação do gene CCND1 está correlacionado com uma menor sobrevida livre de recidiva e



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

para um prognóstico desfavorável sugerindo que seu impacto depende de contexto molecular e tipo de tumor (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).

1.4.9. miARNS

O microRNA (miRNA) são pequenos RNAs não codificantes endógenos (18–25 nucleotídeos) que regulam a expressão gênica ao criar um link para o UTR 3' mRNAs alvo para inibir a tradução. Eles desempenham um papel fundamental na proliferação, diferenciação, apoptose e o progressão do ciclo celular (AHMADI-HADAD *et al.*, 2024; FONTANA *et al.*, 2025; JELSKI; OKRASINSKA; MROCZKO, 2025).

No câncer de mama, os miRNAs se tornaram biomarcadores promissores graças a eles estabilidade e aos seus Pode ser detectado no sangue, plasma, soro ou tecidos fixados. Diversos estudos identificaram miRNAs específicos para a detecção precoce, como miR-195, miR-409-3p, miR-801OumiR-376c, enquanto miR-10b EmiR-122 estão ligados à metástase e para a reincidência (ABOHALAWA *et al.*, 2024; MIRANDA *et al.*, 2024).

Os perfis de expressão dos miRNAs circulantes (miR-21, miR-210, miR-155, miR-373, etc.) estão associados a prognóstico desfavorável, para a presença de metástases e para uma resistência terapêutica. Por exemplo, miR-125b está associada à resistência à quimioterapia, enquanto uma diminuição de miR-155 ou miR-381 está associado a uma melhor resposta ao tratamento (COCKENPOT, 2025; JELSKI; OKRASINSKA; MROCZKO, 2025).

Assim, os miRNAs oferecem um forte potencial como biomarcadores diagnósticos, prognósticos e preditivos de câncer de mama. No entanto, seus usos clínicos permanecem limitado pela falta de padronização e a necessidade de identificar painéis específicos para cada etapa da doença (ABOHALAWA *et al.*, 2024; FONTANA *et al.*, 2025; MIRANDA *et al.*, 2024).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

A seguir, descrevo os fatores de risco para o câncer de mama.

1.5. Fatores de risco para o câncer de mama

Fatores genéticos e ambientais desempenham um papel importante no desenvolvimento do câncer de mama. Os fatores de risco comuns para o câncer de mama são categorizados da seguinte forma: histórico familiar de câncer de mama, fatores genéticos, fatores relacionados a hormônios, fatores de estilo de vida, características mamográficas e histórico de doença benigna da mama (DBM).

1.5.1. Histórico familiar de câncer de mama

Histórico familiar de câncer de mama é um importante fator de risco. Mulheres com parentes de primeiro grau (mãe, irmã, filha) afetados têm um risco aproximadamente 1,8 vezes maior do que aquelas sem esse histórico. Esse risco aumenta com a proximidade do parentesco, o número de parentes afetados e a idade precoce do diagnóstico (antes dos 50 anos). Por exemplo, o risco se multiplica por 1,5 quando há um parente de segundo grau afetado e por quase 3 quando dois parentes de primeiro grau são afetados. Quando vários casos ocorrem na mesma família, denomina-se câncer de mama familiar, frequentemente associado a fatores genéticos hereditários. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

1.5.2. Idade

A idade ao diagnóstico é um fator determinante no câncer de mama. A doença é mais comum no período da menopausa e rara antes dos 45 anos. Na Polônia, observa-se um aumento linear na taxa de morbidade entre 40 e 59 anos, seguido por um platô e, posteriormente, uma leve diminuição após os 70 anos. Também



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

se observa uma correlação entre a idade e a expressão do receptor de estrogênio (RE): tumores RE+ são mais frequentes com o avanço da idade, enquanto tumores RE– predominam antes dos 50 anos e depois se estabilizam. Isso explica a maior proporção de tumores hormônio-dependentes (RE+) em mulheres na pós-menopausa. (MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

1.5.3. Sexo

O câncer de mama afeta principalmente mulheres, sendo que os casos em homens representam menos de 1% dos diagnósticos. No entanto, um aumento na incidência entre homens tem sido observado nos últimos trinta anos, provavelmente relacionado à obesidade e ao aumento da expectativa de vida. (TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

Nos homens, o diagnóstico costuma ser tardio, o que pode explicar o estágio avançado da doença e um prognóstico mais reservado. No entanto, estudos recentes mostram que a mortalidade não é significativamente influenciada pelo sexo, e os mesmos tratamentos são agora recomendados para ambos os sexos. (TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

Os tumores masculinos apresentam alta superexpressão de receptores hormonais (ER e PR), frequentemente associada à proteína Bcl-2, mas sua resposta ao tamoxifeno parece ser menos eficaz. Em contraste, a superexpressão de HER2 é rara em homens e não possui valor prognóstico claro. Fatores de risco comuns incluem altos níveis de estrogênio (relacionados à obesidade), distúrbios hormonais testiculares e síndrome de Klinefelter. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

1.5.4. Fatores hereditários



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

A entrevista com pacientes diagnosticadas com câncer de mama sempre inclui uma investigação do histórico familiar, particularmente de cânceres ginecológicos. O risco de desenvolver a doença aumenta significativamente quando um parente próximo, especialmente antes dos 50 anos, já teve a doença.

Se houver suspeita de histórico familiar de câncer de mama, realiza-se um teste genético para detectar mutações germinativas hereditárias em genes supressores de tumor, principalmente BRCA1 e BRCA2, responsáveis pela maioria dos casos de câncer de mama hereditário. Essas mutações, transmitidas de forma autossômica dominante, conferem um risco de 65% (BRCA1) ou 45% (BRCA2) de desenvolver câncer de mama, podendo chegar a 80% aos 70 anos para mulheres portadoras. Homens portadores apresentam um risco de aproximadamente 6%. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Mulheres portadoras de mutações BRCA recebem cuidados específicos: acompanhamento rigoroso, mastectomia bilateral profilática e, às vezes, ooforectomia. Apesar dessas mutações, a sobrevida em 5 anos permanece semelhante à de pacientes não portadoras. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Em geral, de 5 a 10% dos cânceres de mama são hereditários, ligados a mutações de alta ou moderada penetrância em genes como TP53, PTEN, STK11, CDH1, CHEK2, ATM, BRIP1, PALB2, RAD51C e RAD51D. Essas alterações também podem predispor os indivíduos a outros tipos de câncer, como na síndrome HBOC (mama/ovário) e na síndrome de Li-Fraumeni. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Estudos de associação genômica ampla (GWAS) identificaram inúmeros polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) associados a um risco aumentado.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Embora cada SNP aumente apenas ligeiramente o risco individual, seu efeito cumulativo pode ser significativo, conforme medido pela pontuação de risco poligênico (PRS). Mulheres no percentil mais alto da PRS têm um risco ao longo da vida superior a 30%. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

Por fim, as diretrizes internacionais (ASCO, ESMO, NCCN, NICE) recomendam o rastreio genético BRCA1/2 para mulheres: diagnosticadas antes dos 35-40 anos, com câncer de mama triplo-negativo, com câncer de mama bilateral ou com histórico familiar de câncer de mama, ovário, próstata, pâncreas ou melanoma. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

No entanto, mais de 90% dos pacientes testados não apresentam mutação nos genes BRCA1/2, o que não descarta uma predisposição familiar. Outros genes, como CHEK2, PTEN, PALB2, CDH1 ou RAD51C, podem estar envolvidos, o que ressalta a importância de uma análise molecular abrangente e de uma árvore genealógica detalhada para orientar o diagnóstico. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

1.5.5. Fatores hormonais

Os fatores hormonais desempenham um papel importante no desenvolvimento do câncer de mama, uma vez que o risco aumenta com o nível de exposição ao estrogênio e a duração dessa exposição. Esses hormônios estimulam a proliferação das células mamárias, promovendo assim o acúmulo de mutações genéticas.

- **Fatores endógenos**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

- Menarca precoce: O início da menstruação antes dos 12 anos aumenta o risco devido à exposição prolongada ao estrogênio. Cada atraso de dois anos na menstruação reduz esse risco em aproximadamente 10%. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).
- Menopausa tardia: Mulheres cuja menopausa ocorre após os 50 anos têm um risco aumentado, que cresce aproximadamente 3% para cada ano adicional de menstruação. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).
- Gravidez e idade da primeira gravidez: A gravidez precoce (antes dos 30 anos) e a multiparidade têm um efeito protetor, reduzindo o risco em aproximadamente 25% em comparação com mulheres nulíparas. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).
- Amamentação: Prolongar a amamentação também reduz o risco. Cada ano de amamentação leva a uma diminuição média de 4% no risco de câncer de mama, com um efeito particularmente acentuado em mulheres portadoras de mutações no gene BRCA1 (uma redução de 32% após um ano de amamentação). Acredita-se que esse efeito protetor esteja ligado a uma melhor diferenciação das células mamárias, tornando-as menos suscetíveis a mutações. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

• **Fatores exógenos**

- Anticoncepcionais orais: O uso prolongado de anticoncepcionais hormonais está associado a um risco ligeiramente aumentado, que diminui após a interrupção do tratamento.
- Terapia de reposição hormonal (TRH): A TRH, particularmente a terapia combinada de estrogênio e progestina, aumenta o risco de câncer de mama em 26 a 35% após 5 anos de uso. A queda no uso da TRH no início dos anos 2000 também foi associada a uma diminuição na incidência de câncer de mama. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

● **Fatores protetores adicionais**

A ooforectomia antes dos 40 anos reduz o risco de câncer de mama em aproximadamente 50%, especialmente em mulheres portadoras de mutações BRCA1/2, confirmando o papel central do estrogênio no desenvolvimento tumoral. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).

1.5.6. Estilo de vida e alimentares

Fatores relacionados ao estilo de vida influenciam significativamente o risco de câncer de mama, principalmente após a menopausa. Esses fatores incluem sobrepeso, dieta, consumo de álcool e tabaco e nível de atividade física. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015).

● **Sobrepeso e obesidade**

Antes da menopausa, a obesidade pode reduzir ligeiramente o risco de câncer de mama devido aos ciclos menstruais frequentemente anovulatórios. No entanto, após a menopausa, o excesso de tecido adiposo torna-se um importante fator de risco, pois promove a produção de estrogênio através da aromatização dos andrógenos presentes na gordura corporal. Uma mulher na pós-menopausa com IMC acima de 30 tem um risco aproximadamente 30% maior de desenvolver câncer de mama. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019; SMOLARZ; ZADROŻNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022).

● **Alimentos**

A dieta geralmente influencia o risco de câncer, embora os alimentos específicos envolvidos não estejam claramente identificados. Uma dieta rica em antioxidantes, fibras e vitamina D pode reduzir o risco em 20%. Por outro lado, o alto consumo de gorduras saturadas ou suplementos de fitoestrogênios pode



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

aumentar o risco, pois estes imitam a ação do estrogênio. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

● **Álcool e tabaco**

- Mesmo o consumo moderado de álcool está associado a um risco aumentado de câncer de mama, pois eleva os níveis circulantes de estradiol.
- O tabagismo continua sendo um fator controverso, mas diversos estudos indicam um risco maior em mulheres que começaram a fumar ainda jovens, principalmente antes da primeira gravidez. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

● **Atividade física**

Um estilo de vida sedentário está associado a um risco aumentado de câncer de mama, enquanto a atividade física regular reduz significativamente esse risco, melhorando a regulação hormonal e o metabolismo da gordura. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019).

1.5.7. Doenças benignas da mama

As doenças benignas da mama (DBMs) abrangem uma ampla gama de anormalidades não cancerosas que, dependendo de sua natureza, podem influenciar o risco subsequente de câncer de mama.

As doenças benignas da mama (DBM) são classificadas de acordo com sua histologia em três categorias principais:

1. Doenças não proliferativas (ex.: cistos, fibrose): aumentam apenas ligeiramente o risco de câncer.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

2. Doenças proliferativas sem atipia (por exemplo, hiperplasia epitelial simples, fibroadenoma): estas estão associadas a um risco moderadamente aumentado.
3. Doenças proliferativas com atipia (ex.: hiperplasia atípica): estas representam o risco mais elevado, de 2 a 5 vezes superior ao da população em geral.

Essas lesões benignas aparecem com mais frequência entre os 20 e os 50 anos de idade, período em que os hormônios sexuais estão particularmente ativos.

A alta densidade mamária é outro fator de risco reconhecido. Ela resulta na redução do tecido adiposo e no crescimento excessivo do tecido conjuntivo e glandular. Como a maioria dos cânceres de mama se desenvolve a partir desses tecidos, quanto maior a densidade mamária, maior o risco de câncer. Além disso, a alta densidade mamária pode dificultar o rastreamento por mamografia, já que o tecido denso às vezes mascara as lesões tumorais. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

1.5.8. radiação ionizante

Um fator de risco reconhecido para o desenvolvimento do câncer de mama é a exposição precoce à radiação ionizante. O risco de câncer de mama aumenta em mulheres que já receberam radioterapia para outro tipo de câncer ou que foram submetidas a radiografias de tórax repetidas durante o tratamento de doenças como tuberculose ou pneumonia. Esse risco é particularmente alto em mulheres jovens que são expostas repetidamente e em idade precoce. (FREITAS *et al.*, 2022).

Um estudo de 2014 realizado por Moskowitz *et al.* mostrou que o risco era maior em pacientes irradiadas antes dos 21 anos, particularmente naquelas que receberam uma dose baixa (aproximadamente 14 Gy), mas em uma grande área



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

do tórax. Tratamentos com doses altas (30–40 Gy) em uma área menor apresentaram um risco menor, mas ainda maior do que o de mulheres não irradiadas. Curiosamente, a exposição ovariana pareceu reduzir esse risco. Em mulheres tratadas para linfoma de Hodgkin, o risco cumulativo de câncer de mama aos 50 anos atingiu aproximadamente 35%. (YEZHELYEV *et al.*, 2006).

Revisões sistemáticas, como a de Henderson *et al.*, confirmam que sobreviventes de linfoma de Hodgkin apresentam o maior risco. O risco aumenta com a idade, a dose de radiação recebida e o tempo decorrido desde a irradiação. Além disso, exames diagnósticos como a mamografia em mulheres jovens também podem aumentar o risco de câncer de mama. (UNGER-SALDAÑA, 2014).

A radiação ionizante causa danos diretos e indiretos ao DNA e promove a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROs), responsáveis por mutações e instabilidade genômica. Esses mecanismos, combinados com inflamação e proliferação celular dependente de hormônios, criam um ambiente propício à carcinogênese mamária. Assim, a particular sensibilidade do tecido mamário à radiação está ligada à convergência desses processos biológicos. (KAMIŃSKA *et al.*, 2015; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019; TARIGHATI; KEIVAN; MAHANI, 2023).

1.6. Epidemiologia do câncer de mama

Segundo estimativas do GLOBOCAN 2022, o câncer de mama é responsável por 2,3 milhões (IC 95%: 2,3–2,3) de novos casos e 670.000 (IC 95%: 650.000–680.000) de óbitos em todo o mundo, representando 25% de todos os novos casos e 15,5% das mortes por câncer entre mulheres, excluindo os cânceres de pele não melanoma. O câncer de mama é o câncer mais frequentemente diagnosticado em 183 dos 185 países e está entre as duas



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

principais causas de morte por câncer em 169 países. (KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023).

A distribuição global é heterogênea, com uma variação de cerca de quatro vezes entre as sub-regiões como mostrar na tabela 1. As taxas de incidência padronizadas por idade (TIPI) mais elevadas são observadas na Austrália e Nova Zelândia (100,3 por 100.000; IC 95%: 98,8–101,8), seguidas pela América do Norte e Norte da Europa, enquanto as mais baixas são encontradas no Sul da Ásia Central (26,7 por 100.000; IC 95%: 26,5–26,9), África Central e África Oriental. As taxas de mortalidade padronizadas (TMMP) são mais elevadas na Melanésia (26,8; IC 95%: 24,3–29,5), seguidas pela Polinésia e África Ocidental, e mais baixas no Leste Asiático (6,5; IC 95%: 6,5–6,6), América Central e América do Norte. (KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023).

A relação entre mortalidade e incidência (M:I) varia muito de acordo com o nível de desenvolvimento: 17% em países com IDH muito alto, em comparação com 56% em países com IDH baixo. Globalmente, uma em cada 20 mulheres desenvolverá câncer de mama e uma em cada 70 morrerá em decorrência da doença. O risco de diagnóstico ao longo da vida é maior na França (1 em 9) e na América do Norte (1 em 10), enquanto o risco de morte é maior em Fiji (1 em 24) e na África (1 em 47). (KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023).

Em relação à distribuição por idade, 71% dos novos casos e 79% dos óbitos ocorrem em mulheres com 50 anos ou mais. Em contraste, 47% dos casos de câncer de mama na África ocorrem antes dos 50 anos, comparado a 18% na América do Norte, 19% na Europa e 22% na Oceania. A porcentagem de óbitos antes dos 50 anos varia entre 8% na Europa e 41% na África. (KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023).

Entre as mulheres com menos de 50 anos, a taxa de mortalidade materna relacionada à idade (TMMI) varia de 12,2 (IC 95%: 12,1–12,3) no Sul e Centro da



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Ásia a 37,6 (IC 95%: 37,1–38,2) na Austrália/Nova Zelândia, enquanto a TMMI varia de 2,1 (IC 95%: 2,0–2,1) no Leste Asiático a 9,8 (IC 95%: 8,9–10,8) na Melanésia. A razão de mortalidade materna (RMM) é quatro vezes maior em mulheres com menos de 50 anos (46% vs. 11%) e três vezes maior em mulheres com 50 anos ou mais (62% vs. 20%) entre países com baixo e muito alto IDH. (KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023).

A análise de tendência de dez anos (CI5plus) revela um aumento significativo na incidência em 27 dos 50 países (54%). Os maiores aumentos anuais estimados foram observados no Bahrein (+4,8%; IC 95%: +2,2–+7,4), na República da Coreia (+4,6%; IC 95%: +4,2–+5,1) e no Japão (+4,2%; IC 95%: +3,7–+4,8). Países com IDH alto (>0,9) apresentam taxas relativamente estáveis (50% dos casos), enquanto aqueles com IDH <0,9 mostram uma tendência de alta (64%). Por faixa etária, a incidência aumentou em pessoas com menos de 50 anos em 24 países e em pessoas com 50 anos ou mais em 21 países, com aumentos mais acentuados em países com IDH baixo, exceto no Japão e na Coreia. A incidência diminuiu significativamente em apenas três países (Argentina, Alemanha e Dinamarca), e somente entre mulheres com mais de 50 anos. (KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023).

Em relação à mortalidade, dos 46 países com dados disponíveis, observou-se uma diminuição nas taxas em 30 países, quase todos com IDH muito alto (exceto Cuba). Sete países atingiram a meta da Iniciativa Global contra o Câncer de Mama (GBCI) de -2,5% ao ano.

- Malta (-3,8%; IC 95%: -6,4–-1,1)
- Dinamarca (-3,3%; IC 95%: -4,1–-2,5)
- Bélgica (-3,1%; IC 95%: -3,6–-2,7)
- Suíça (-3,0%; IC 95%: -3,5–-2,5)



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

- Lituânia (-2,9%; IC 95%: -3,9--1,9)
- Países Baixos (-2,6%; IC 95%: -3,2--1,9)
- Eslovênia (-2,5%; IC 95%: -3,8--1,2)(KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023)

Outros países como Noruega (-2,4%), Suécia (-2,3%), Irlanda (-2,2%), Austrália (-2,1%), Reino Unido (-2,1%) e Nova Zelândia (-2,1%) também estão no caminho certo. Por outro lado, sete países, incluindo Colômbia, Brasil, Romênia e México, estão apresentando um aumento na mortalidade, o que corresponde aos menores IDHs. (KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023).

Por fim, as projeções indicam que, em 2050, se as tendências atuais continuarem, haverá aproximadamente 3,2 milhões (IC 95%: 2,8–3,6) de novos casos e 1,1 milhão (IC 95%: 1,0–1,3) de mortes, representando um aumento de 38% nos casos e de 68% nas mortes em comparação com 2022. (KIM *et al.*, 2025; ROHEEL *et al.*, 2023).

De acordo com dados do relatório GLOBOCAN 2022 (IARC/OMS, versão 1.1, publicada em fevereiro de 2024), o câncer de mama é a principal causa de câncer entre as mulheres no Brasil. Em 2022, foram registrados aproximadamente 94.728 novos casos, representando quase 30% de todos os cânceres femininos no país. A taxa de incidência padronizada por idade é estimada em 66,5 por 100.000 mulheres, colocando o Brasil entre os países sul-americanos com incidência intermediária.

No entanto, a taxa de mortalidade é de aproximadamente 15,4 por 100.000 mulheres, com 18.139 óbitos registrados naquele mesmo ano. Essa taxa de mortalidade relativamente alta, em comparação com países desenvolvidos, deve-se principalmente ao diagnóstico frequentemente tardio e às desigualdades no acesso a cuidados e exames de rastreio, que são particularmente acentuadas entre as regiões do país. As estimativas do GLOBOCAN também indicam um



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

aumento progressivo de casos até 2040, com uma projeção de aproximadamente 145.000 novos casos por ano, representando um aumento de mais de 50% em comparação com 2022, devido ao envelhecimento da população, à urbanização e às mudanças nos estilos de vida (alimentação, sedentarismo, obesidade). (KIM *et al.*, 2025).

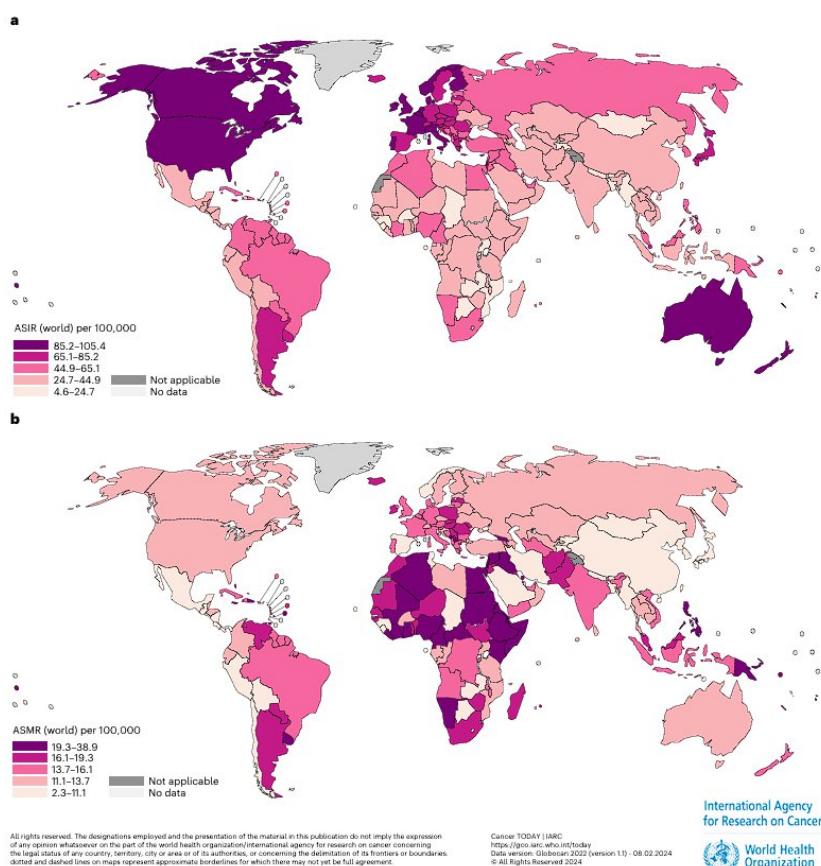


Figura 7: Mapa da carga global do câncer de mama feminino em 2022. Taxas estimadas de incidência padronizadas por idade (a) e taxas de mortalidade (b) para câncer de mama feminino por 100.000 em 2022, para 185 países. (OMS. 2022). (KIM *et al.*, 2025).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

Tabela 1: Número de novos casos de câncer de mama em mulheres e mortes relacionadas ao câncer de mama, TISA e TMR por 100.000 e M:I (%) em 2022. (KIM *et al.*, 2025)

		Age 0-49 years					Age 50+ years					All ages				
		Cases (%)	ASIR	Deaths (%)	ASMR	M:I	Cases (%)	ASIR	Deaths (%)	ASMR	M:I	Cases (%)	ASIR	Deaths (%)	ASMR	M:I
World		668,650 (29.1)	20.1	141,380 (21.2)	4.3	21.4	1,628,190 (70.9)	153.9	524,723 (78.8)	46.3	30.1	2,296,840 (100.0)	46.8	666,103 (100.0)	12.7	27.1
	Eastern Africa	23,135 (3.5)	15.0	11,227 (7.9)	7.4	49.3	24,165 (1.5)	99.8	14,103 (2.7)	58.4	58.5	47,300 (2.1)	31.9	25,330 (3.8)	17.6	55.2
	Middle Africa	8,564 (1.3)	14.7	4,145 (2.9)	7.2	49.0	8,292 (0.5)	91.0	4,997 (1.0)	55.2	60.7	16,856 (0.7)	30.0	9,142 (1.4)	16.8	56.0
Africa	Northern Africa	31,208 (4.7)	29.6	8,346 (5.9)	7.9	26.7	33,769 (2.1)	147.3	14,840 (2.8)	63.3	43.0	64,977 (2.8)	53.2	23,186 (3.5)	19.0	35.7
	Southern Africa	5,208 (0.8)	17.1	1,479 (1.0)	4.8	28.1	10,607 (0.7)	162.5	4,214 (0.8)	63.6	39.1	15,815 (0.7)	46.2	5,693 (0.9)	16.6	35.9
	Western Africa	25,250 (3.8)	19.0	12,046 (8.5)	9.2	48.4	28,355 (1.7)	132.1	15,855 (3.0)	74.6	56.5	53,605 (2.3)	41.6	27,901 (4.2)	22.3	53.6
America	Caribbean	4,005 (0.6)	21.5	1,137 (0.8)	6.1	28.4	10,857 (0.7)	161.7	4,816 (0.9)	66.4	41.1	14,862 (0.6)	49.6	5,953 (0.9)	18.2	36.7
	Central America	14,691 (2.2)	17.7	2,695 (1.9)	3.3	18.6	25,144 (1.5)	120.6	7,975 (1.5)	37.2	30.8	39,835 (1.7)	38.3	10,670 (1.6)	10.1	26.4
	Northern America	54,632 (8.2)	35.1	4,802 (3.4)	3.1	8.8	251,675 (15.5)	335.1	44,942 (8.6)	49.3	14.7	306,307 (13.3)	95.1	49,744 (7.5)	12.3	12.9
	South America	50,391 (7.5)	24.7	8,851 (6.3)	4.3	17.4	115,036 (7.1)	186.9	34,402 (6.6)	51.7	27.7	165,427 (7.2)	57.2	43,253 (6.5)	13.8	24.1
Asia	Eastern Asia	143,390 (21.4)	19.3	15,537 (11.0)	2.1	10.9	336,629 (20.7)	110.6	81,852 (15.6)	24.3	22.0	480,019 (20.9)	37.5	97,389 (14.6)	6.5	17.3
	South-central Asia	107,530 (16.1)	12.2	35,998 (25.5)	4.2	34.4	166,372 (10.2)	84.6	99,350 (18.9)	50.4	59.6	273,902 (11.9)	26.7	135,348 (20.3)	13.4	50.2
	South-eastern Asia	62,786 (9.4)	20.2	15,566 (11.0)	5.0	24.8	105,750 (6.5)	128.0	45,662 (8.7)	54.2	42.3	168,536 (7.3)	41.7	61,228 (9.2)	14.9	35.7
	Western Asia	26,421 (4.0)	21.8	6,632 (4.7)	5.5	25.2	36,939 (2.3)	139.9	14,712 (2.8)	53.6	38.3	63,360 (2.8)	45.4	21,344 (3.2)	15.1	33.3
Europe	Eastern Europe	34,675 (5.2)	24.2	5,275 (3.7)	3.6	14.9	128,799 (7.9)	194.9	44,698 (8.5)	57.8	29.7	163,474 (7.1)	58.3	49,973 (7.5)	14.4	24.7
	Northern Europe	15,290 (2.3)	33.6	1,501 (1.1)	3.3	9.8	74,034 (4.5)	319.7	17,128 (3.3)	55.4	17.3	89,324 (3.9)	90.8	18,629 (2.8)	13.7	15.1
	Southern Europe	25,706 (3.8)	37.3	2,393 (1.7)	3.3	8.8	98,915 (6.1)	259.6	29,057 (5.5)	55.8	21.5	124,621 (5.4)	81.8	31,450 (4.7)	13.8	16.9
	Western Europe	29,523 (4.4)	36.9	2,863 (2.0)	3.5	9.5	150,590 (9.2)	301.4	41,524 (7.9)	62.7	20.8	180,113 (7.8)	89.8	44,387 (6.7)	15.4	17.1
Oceania	Australia and New Zealand	5,095 (0.8)	37.6	429 (0.3)	3.2	8.5	20,691 (1.3)	351.0	3,723 (0.7)	51.4	14.6	25,786 (1.1)	100.3	4,152 (0.6)	12.8	12.8
	Melanesia	1,028 (0.2)	23.3	430 (0.3)	9.8	42.1	1,266 (0.1)	152.8	749 (0.1)	94.7	62.0	2,294 (0.1)	49.2	1,179 (0.2)	26.8	54.5
	Micronesia	34 (0)	16.3	6 (0)	3.0	18.4	99 (0)	154.2	47 (0)	71.7	46.5	133 (0)	43.9	53 (0)	16.7	38.0
	Polynesia	88 (0)	31.9	22 (0)	8.0	25.1	206 (0)	256.7	77 (0)	94.4	36.8	294 (0)	76.9	99 (0)	25.3	32.9
HDI	Very high	224,968 (33.7)	31.0	25,653 (18.2)	3.5	11.3	867,695 (53.3)	254.0	219,390 (41.8)	52.0	20.5	1,092,663 (47.6)	75.6	245,043 (36.8)	13.2	17.5
	High	249,725 (37.4)	19.6	43,349 (30.7)	3.4	17.3	488,234 (30.0)	115.5	151,998 (29.0)	34.0	29.4	737,959 (32.1)	38.8	195,347 (29.3)	9.5	24.5
	Medium	128,022 (19.2)	13.4	42,944 (30.4)	4.5	33.6	203,067 (12.5)	94.9	110,891 (21.1)	51.6	54.4	331,089 (14.4)	29.7	153,835 (23.1)	14.0	47.1
	Low	65,665 (9.8)	16.6	29,340 (20.8)	7.6	45.8	68,457 (4.2)	104.0	42,118 (8.0)	64.6	62.1	134,122 (5.8)	34.1	71,458 (10.7)	19.0	55.7

1.7. Modelos de previsão de câncer de mama

Os modelos de predição do câncer de mama permitem a avaliação do risco individual com base em fatores conhecidos e mensuráveis, facilitando assim a identificação de mulheres de alto risco e a adaptação de estratégias de rastreamento. O desempenho desses modelos é avaliado utilizando-se a



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

estatística de concordância (estatística C), que varia de 0,5 (nenhuma distinção entre casos e não casos) a 1 (previsão perfeita). (SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

O modelo de Gail (BCRAT), desenvolvido no Instituto Nacional do Câncer, é o mais utilizado. Ele leva em consideração a idade, a idade da menarca, a idade da primeira gravidez, o número de biópsias mamárias e o histórico familiar de câncer de mama. Este modelo estima o risco em 5 anos e ao longo da vida, principalmente em mulheres sem um forte histórico familiar, com um índice C entre 0,55 e 0,67. (SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

O modelo de Claus, por outro lado, baseia-se mais no histórico familiar materno e paterno e tem um índice C de aproximadamente 0,56. Os modelos mendelianos, como o BRCAPRO, distinguem-se pela sua maior precisão graças à integração das mutações dos genes BRCA1/2, com um índice C que varia de 0,76 a 0,92. (SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

Por fim, o modelo Tyrer-Cuzick combina fatores pessoais, familiares e genéticos (genes com alta e baixa penetrância, idade, IMC, menopausa, terapia hormonal, etc.) e possui um índice C de 0,762, o que o torna um dos mais eficazes. (SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

Apesar dessas ferramentas, a maioria dos fatores de risco para câncer de mama permanece moderada ou pouco compreendida, o que limita a precisão dos modelos epidemiológicos. Os avanços em genômica, biomarcadores e testes genéticos devem melhorar significativamente essas previsões no futuro. (SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

1.8. Rastreio e diagnóstico do câncer de mama

A detecção e o diagnóstico precoces do câncer de mama são pilares essenciais para melhorar o prognóstico e reduzir a mortalidade associada a essa



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

doença. A eficácia dessas estratégias depende de uma combinação de ferramentas clínicas e de imagem, adaptadas ao perfil de risco de cada paciente.

1.8.1. Autoexame e exame clínico das mamas

O autoexame das mamas (AEM) é um método simples que permite às mulheres detectarem anormalidades mamárias por conta própria. No entanto, sua eficácia na redução da mortalidade não foi claramente demonstrada. Estudos indicam que o AEM, quando realizado isoladamente, não diminui a taxa de mortalidade por câncer de mama. Apesar disso, a maioria dos médicos continua a recomendá-lo como uma ferramenta de conscientização: ele permite que as mulheres se familiarizem com a estrutura normal de suas mamas e detectem rapidamente quaisquer alterações suspeitas. As diretrizes da National Comprehensive Cancer Network (NCCN, 2013) recomendam um exame clínico das mamas (ECM) anual para mulheres com risco médio a partir dos 40 anos, juntamente com o AEM mensal para reforçar a consciência corporal. (PEDÜK, 2025).

1.8.2. Rastreio por imagem

a) Mamografia

A mamografia é o principal método de rastreio do câncer de mama. Introduzida na década de 1960, levou a uma redução da mortalidade de aproximadamente 30% em ensaios clínicos randomizados. Permite a detecção de tumores não palpáveis vários anos antes de se tornarem clinicamente aparentes. (MENDES et al., 2025; PEDÜK, 2025).

Os benefícios do rastreio são particularmente evidentes em mulheres entre os 50 e os 69 anos, mas a sua utilidade entre os 40 e os 49 anos permanece controversa devido ao risco acrescido de falsos positivos e de sobrediagnóstico. A mamografia apresenta uma sensibilidade de 75 a 95% e uma especificidade de



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

80 a 95%, mas estes resultados diminuem em mulheres mais jovens com elevada densidade mamária.(MENDES et al., 2025)As recomendações da NCCN afirmam:

- Exame anual de rastreio a partir dos 40 anos para mulheres com risco médio;
- Rastreio a partir dos 25 anos ou de acordo com o risco individual para mulheres de alto risco (portadoras de mutações BRCA1/2, histórico familiar significativo, etc.).

As limitações da mamografia incluem o estresse psicológico, a multiplicação de biópsias desnecessárias e os vieses de triagem, principalmente o viés de tempo de espera (superestimação da sobrevida) e o viés de duração (super-representação de tumores de crescimento lento).(LI, MENG DAN et al., 2024; YARA; OROSZI, 2025).

b) Ressonância magnética (RM)

A ressonância magnética das mamas é uma ferramenta complementar à mamografia, particularmente indicada para mulheres com alto risco genético (>20%), mamas densas ou resultados inconclusivos na mamografia. Apresenta sensibilidade de 0,77 a 0,79, significativamente superior à da mamografia (0,33 a 0,39), mas especificidade ligeiramente inferior (0,86 a 0,89 versus 0,95).(SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

A ressonância magnética detecta eficazmente lesões multifocais ou bilaterais e desempenha um papel fundamental na avaliação da extensão do tumor, no planejamento cirúrgico e no monitoramento da quimioterapia neoadjuvante. (SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

De acordo com a NCCN (2013), mulheres de alto risco devem realizar ressonância magnética e mamografia anualmente a partir dos 25 anos de idade,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

ou em uma idade correspondente a 10 anos antes do diagnóstico do progenitor mais jovem afetado. (SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

c) Ultrassom mamário

A ultrassonografia mamária é um exame complementar útil, particularmente para mulheres jovens (< 30 anos), gestantes ou lactantes, ou aquelas com mamas densas, nas quais a mamografia é menos eficaz. Permite a diferenciação entre lesões sólidas e císticas e guia biópsias por agulha fina. Embora aumente o número de falsos positivos, a ultrassonografia às vezes detecta cânceres não visíveis na mamografia, melhorando assim a sensibilidade geral do rastreamento. No entanto, nenhum estudo randomizado demonstrou ainda seu efeito direto na mortalidade por câncer de mama. (FREITAS et al., 2022; MENDES et al., 2025; SHARMA; SARIPILLI, 2025).

1.8.3. Diagnóstico clínico e diagnóstico por imagem

a) Histórico médico e avaliação clínica

O diagnóstico de câncer de mama começa com uma anamnese completa para identificar fatores de risco pessoais, hormonais e familiares: idade da menarca, estado menopausal, gestações e amamentação, histórico de câncer (pessoal ou familiar), terapia de reposição hormonal e exposição prévia à radioterapia torácica. Em seguida, a paciente é examinada para detectar sinais clínicos sugestivos: nódulos, assimetria, secreção mamilar, retração da pele, aspecto de casca de laranja ou linfadenopatia axilar. (FREITAS et al., 2022; LI, MENG DAN et al., 2024; YARA; OROSZI, 2025).

b) Mamografia diagnóstica

A mamografia diagnóstica é realizada em pacientes com massa palpável ou anormalidade detectada durante o rastreio. Inclui incidências direcionadas (compressão focal, magnificação) e utiliza o sistema BI-RADS para classificar as



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

anormalidades. Os carcinomas frequentemente se apresentam como massas irregulares ou espiculadas, ou como microcalcificações pleomórficas agrupadas, distintas das calcificações benignas, que são maiores e mais homogêneas.(GARCISAENZ et al., 2025; LI, MENG DAN et al., 2024).

c) Ressonância magnética diagnóstica

A ressonância magnética desempenha um papel fundamental no diagnóstico e no manejo pré-terapêutico do câncer de mama. Ela é utilizada para: avaliar a extensão do tumor e a invasão de estruturas musculares; identificar câncer contralateral não detectado; avaliar a resposta à quimioterapia; e monitorar a doença residual após a cirurgia. Também é indicada em casos de resultados inconclusivos da mamografia ou da ultrassonografia. (LI, MENG DAN et al., 2024; YARA; OROSZI, 2025).

d) Ultrassom diagnóstico

A ultrassonografia é o exame de escolha para mulheres com menos de 30 anos, gestantes ou lactantes e pacientes com anormalidades clínicas localizadas. Também é útil para investigar linfonodos axilares suspeitos, avaliar a natureza de uma massa palpável ou guiar biópsias. O uso de transdutores lineares de alta frequência (≥ 10 MHz) proporciona resolução ideal para a visualização do tecido mamário e de estruturas profundas. (LI, MENG DAN et al., 2024; POLYAK, 2007b; SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014; SHARMA; SARIPILLI, 2025).

e. Biópsia

A biópsia é a etapa fundamental para o diagnóstico definitivo do câncer de mama, pois confirma se uma lesão detectada por exames de imagem (mamografia, ultrassom ou ressonância magnética) é benigna ou maligna. Consiste na coleta de uma amostra de tecido mamário ou linfonodal para análise histopatológica e imuno-histoquímica. Os principais métodos são a biópsia por aspiração com agulha fina (BAAF), a biópsia por agulha grossa (Tru-Cut) e a



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

biópsia cirúrgica. Essas técnicas determinam o tipo histológico, o grau tumoral e o status dos receptores hormonais (RE, RP, HER2), informações essenciais para orientar o tratamento. Graças à sua precisão, a biópsia tecidual é considerada o padrão ouro para o diagnóstico e permanece indispensável para o estabelecimento de um plano de tratamento personalizado.(ALIMIRZAI; BAGHERZADEH; AKBARI, 2019; FREITAS et al., 2022; WU, HSING JU; CHU, 2022).

Uma das principais vantagens da biópsia mamária é a sua alta confiabilidade diagnóstica, permitindo a diferenciação precisa entre lesões benignas, pré-cancerosas ou cancerosas. Ela facilita o manejo precoce e adequado, evitando cirurgias desnecessárias em casos de lesões benignas. Além disso, as amostras coletadas permitem a avaliação de biomarcadores tumorais, essenciais para terapias direcionadas (por exemplo, tumores HER2+ tratados com trastuzumabe). A biópsia também contribui para o monitoramento terapêutico em casos de recidiva ou metástase, pois pode ser repetida para reavaliar o perfil molecular do tumor. Em suma, representa um passo crucial na medicina de precisão, combinando diagnóstico morfológico e informação molecular. (FREITAS et al., 2022; GARCIASAENZ et al., 2025; MENDES et al., 2025; SHARMA; SARIPILLI, 2025; WU, HSING JU; CHU, 2022).

Apesar de suas vantagens, a biópsia tecidual apresenta diversas desvantagens: é invasiva, por vezes dolorosa e reflete apenas uma porção limitada do tumor, negligenciando, portanto, sua heterogeneidade. Além disso, não pode ser repetida com frequência, o que limita o monitoramento dinâmico da doença. Para superar essas limitações, a biópsia líquida surge como uma alternativa promissora. Ela se baseia na detecção, no sangue, de células tumorais circulantes (CTCs), DNA tumoral livre de células (ctDNA), microRNAs ou exossomos. Esse método é não invasivo, mais seguro e permite o monitoramento em tempo real da progressão tumoral. No entanto, ainda apresenta desafios



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

técnicos: baixas concentrações de biomarcadores, variabilidade nos métodos de detecção e o risco de falsos positivos relacionados a mutações hematopoiéticas. A padronização das técnicas e o aprimoramento da sensibilidade analítica serão necessários antes de sua integração clínica em larga escala. (FREITAS et al., 2022; MENDES et al., 2025; SHARMA; SARIPILLI, 2025; WU, HSING JU; CHU, 2022).

1.9. Tratamento do câncer de mama

O tratamento do câncer de mama baseia-se em uma abordagem multimodal, combinando cirurgia, radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal e terapias-alvo. A escolha do tratamento depende do estágio clínico, do perfil molecular do tumor (receptores hormonais, status HER2, Ki-67, etc.) e do estado geral de saúde da paciente. O objetivo principal é a cura em casos de câncer localizado e o controle da doença a longo prazo em casos de metástase.

1.9.1. Tratamentos locais: cirurgia e radioterapia

a. Cirurgia de mama

Historicamente, a mastectomia radical era o tratamento padrão. No entanto, importantes ensaios clínicos (NSABP B-04, B-06) demonstraram que a cirurgia conservadora da mama (lumpectomia) seguida de radioterapia oferece taxas de sobrevida equivalentes à mastectomia, preservando a morfologia da mama e a qualidade de vida das pacientes. A excisão cirúrgica visa obter margens negativas, ou seja, ausência de células tumorais na periferia, para reduzir o risco de recidiva local. A dissecação dos linfonodos axilares está sendo cada vez mais substituída pela biópsia do linfonodo sentinela, um procedimento menos invasivo e associado à redução do linfedema. (MIRANDA et al., 2024; SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022).

b. Radioterapia



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

A radioterapia pós-operatória visa eliminar as células cancerígenas residuais no leito tumoral. Ela reduz o risco de recidiva local em aproximadamente 50% e melhora a sobrevida global em pacientes de alto risco (tumores grandes, comprometimento linfonodal). As técnicas modernas (radioterapia conformacional, radioterapia de intensidade modulada, terapia com prótons) permitem maior precisão no direcionamento do tratamento, reduzindo os efeitos colaterais cutâneos e cardíacos. No entanto, a radioterapia permanece contraindicada durante a gravidez e em alguns pacientes que receberam irradiação torácica prévia. (SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014; SMOLARZ; ZADROŽNA NOWAK; ROMANOWICZ, 2022).

1.9.2. Tratamentos sistêmicos: quimioterapia e terapia hormonal

a. Quimioterapia

A quimioterapia age sobre as células que se dividem rapidamente, destruindo as células cancerígenas disseminadas.

- Como adjuvante, é administrado após a cirurgia para prevenir a recorrência.
- No contexto neoadjuvante, é utilizado antes da cirurgia para reduzir o tamanho do tumor e permitir uma cirurgia conservadora.
- Em cuidados paliativos, o objetivo é controlar os sintomas e prolongar a sobrevida em casos de formas metastáticas.

Os regimes mais comumente utilizados incluem antraciclinas (doxorubicina, epirubicina) e taxanos (paclitaxel, docetaxel), frequentemente em combinação (protocolos AC, FAC, FEC). Esses tratamentos reduzem a mortalidade em aproximadamente 20% em mulheres com menos de 50 anos de idade. Os principais efeitos adversos são mielosupressão, cardiotoxicidade, neuropatia periférica e náuseas. A integração de terapias de suporte (fatores de crescimento,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

antieméticos, crioterapia capilar) melhorou significativamente a tolerabilidade. (FREITAS et al., 2022; SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

b. Terapia hormonal

A terapia hormonal tem como alvo tumores que expressam receptores hormonais (ER/PR positivos), os quais representam aproximadamente 70% dos cânceres de mama.

Os agentes mais comumente utilizados são:

- O tamoxifeno, um modulador seletivo do receptor de estrogênio, administrado por 5 a 10 anos, reduz o risco de recorrência e mortalidade em 40%.
- Os inibidores da aromatase (anastrozol, letrozol, exemestano) bloqueiam a conversão periférica de andrógenos em estrogênios em mulheres na pós-menopausa.
- A supressão ovariana (agonistas de GnRH ou ooforectomia) é indicada em mulheres na pré-menopausa de alto risco.

A terapia hormonal tem a vantagem de ser relativamente atóxica e altamente eficaz a longo prazo, mas seus efeitos colaterais incluem ondas de calor, trombose e perda óssea. (FREITAS et al., 2022; SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

1.9.3. Terapias direcionadas e imunoterapia

Os avanços na biologia molecular levaram à identificação de alvos terapêuticos específicos, possibilitando uma abordagem mais personalizada.

a. Terapias anti-HER2

Aproximadamente 20% dos cânceres de mama superexpressam a proteína HER2/neu, o que está associado a um curso agressivo da doença. O



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

trastuzumabe (Herceptin), um anticorpo monoclonal direcionado ao HER2, melhora significativamente a sobrevida quando combinado com quimioterapia. Outros agentes, como o pertuzumabe, o lapatinibe (um inibidor da tirosina quinase) e o trastuzumabe emtansina (T-DM1), apresentam eficácia terapêutica aprimorada e reduzem o risco de recorrência. O principal efeito adverso continua sendo a cardiotoxicidade, que exige monitoramento ecocardiográfico regular. (FREITAS et al., 2022; SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

b. Inibidores de CDK4/6 e PARP

Os inibidores de CDK4/6 (palbociclib, ribociclib, abemaciclib) bloqueiam a proliferação celular e revolucionaram o tratamento de cânceres metastáticos hormônio-dependentes. Os inibidores de PARP (olaparib, talazoparib) têm como alvo tumores com mutações BRCA1/2, explorando o conceito de letalidade sintética. (FREITAS et al., 2022; SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

c. Imunoterapia

As imunoterapias, particularmente os anticorpos anti-PD-1/PD-L1 (pembrolizumabe, atezolizumabe), estão mostrando resultados promissores no câncer de mama triplo-negativo, um subtipo particularmente agressivo que não possui receptores hormonais nem HER2. (FREITAS et al., 2022; SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

1.9.4. Tratamentos complementares e preventivos

Os bifosfonatos (ácido zoledrônico) e o denosumabe previnem complicações ósseas em pacientes com metástase. Tratamentos hormonais preventivos, como o tamoxifeno ou o raloxifeno, demonstraram uma redução de 40 a 50% no risco de câncer de mama em mulheres de alto risco. Além disso, o cuidado multidisciplinar, incluindo nutrição, atividade física, apoio psicológico e acompanhamento a longo prazo, é essencial para reduzir recidivas e melhorar a



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

qualidade de vida. (FREITAS et al., 2022; SHAH; ROSSO; DAVID NATHANSON, 2014).

2. MIRNA 200A

2.1. Organização genômica e características da família miR-200

Os microRNAs (miRNAs) são pequenos RNAs não codificantes de fita simples, com aproximadamente 22 nucleotídeos, que desempenham um papel crucial na regulação da expressão gênica. Sua principal função é pós-transcricional: eles se ligam a sequências parcialmente complementares em mRNAs-alvo, tipicamente na região 3' não traduzida (3'UTR), para inibir a tradução ou induzir a degradação. (KLICKA *et al.*, 2022; SENFTER *et al.*, 2016).

Em alguns casos, os miRNAs podem estabilizar os mRNAs ou estimular sua tradução, como o miR-122 no genoma do vírus da hepatite C. Além de suas funções clássicas, os miRNAs podem regular diretamente a transcrição gênica, interagir com outros RNAs não codificantes formando circuitos de "esponja" ou modular a atividade de proteínas específicas. Disfunções nesses mecanismos estão implicadas em diversas patologias, incluindo o câncer. (CAVALLARI et al., 2021; KLICKA et al., 2022; SENFTER et al., 2016).

A família miR-200 compreende cinco miRNAs altamente conservados: miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 e miR-429, agrupados em dois clusters genômicos. O cluster miR-200b/200a/429 está localizado no cromossomo 1p36.33, enquanto o cluster miR-200c/141 está localizado no cromossomo 12p13.31. Cada um desses precursores em grampo de cabelo pode produzir dois miRNAs maduros: -5p e -3p. Alinhamentos de sequências humanas mostram que os miRNAs -3p maduros são altamente conservados (68–91% de identidade), enquanto os miRNAs -5p são menos conservados (64–82%) e geralmente expressos em níveis mais baixos. Essa diferença na expressão sugere que os miRNAs -3p desempenham o papel principal nas células epiteliais normais,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

enquanto alguns miRNAs -5p, como o miR-200b-5p, podem ser relevantes em células epiteliais cancerosas e servir como biomarcadores. (CAVALLARI et al., 2021; KLICKA et al., 2022; SENFTER et al., 2016).

A sequência "semente" (nucleotídeos 2 a 8), essencial para o reconhecimento dos mRNAs alvo, divide a família em dois subgrupos como ilustrada na figura 8:

- miR-200b, miR-200c e miR-429, com um U na terceira posição,
- miR-200a e miR-141, com um C na terceira posição.

Essa variação de um único nucleotídeo altera a especificidade do alvo. Por exemplo, a fosfolipase C gama 1 é alvo do subgrupo miR-200b/c/429, mas não do miR-200a/141 no câncer de mama, ilustrando a importância funcional dessa pequena diferença. (CAVALLARI et al., 2021; KLICKA et al., 2022; SENFTER et al., 2016).

O pri-miRNA do cluster miR-200b/200a/429 tem aproximadamente 6,5–7,5 kb de tamanho, enquanto o do miR-200c/141 tem cerca de 1,1 kb. Para este último, dois sítios de início de transcrição (TSSs) foram identificados a montante do precursor do miR-200c, sendo que o mais distal produz um transcrito que não inclui o grampo de cabelo do miR-141. Além disso, um sítio doador de splicing localizado entre as duas regiões do grampo de cabelo sugere que o splicing alternativo pode modular a expressão coordenada dos miRNAs. (CAVALLARI et al., 2021; KLICKA et al., 2022; SENFTER et al., 2016).

Finalmente, estudos em células de câncer de ovário mostraram que miR-200c e miR-141 são coexpressos com o gene vizinho PTPN6, que codifica a fosfatase SHP1. Essa coexpressão pode resultar tanto da transcrição no sítio de poliadenilação de PTPN6, produzindo um longo transcrito que inclui ambos os miRNAs, quanto de uma interação epigenética entre os promotores de PTPN6 e o cluster miR-200c/141, ilustrando um controle transcricional e epigenético



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

finamente regulado. (CAVALLARI et al., 2021; KLIČKA et al., 2022; SENFTER et al., 2016).



Figura 8: Organização genética da família miR-200 em humanos. Os loci cromossômicos que codificam os dois grupos da família miR-200 são mostrados, juntamente com as posições em grampo dos pré-miRNAs e as sequências dos miRNAs maduros, com as sequências originais destacadas em caixas. As sequências originais diferem por um nucleotídeo (indicado em vermelho). (CAVALLARI et al., 2021).

2.2. miR-200a e seu papel na transição epitélio-mesenquimal (EMT)

O microRNA miR-200a desempenha um papel central na regulação da transição epitélio-mesenquimal (EMT), um processo fundamental na fibrose, progressão tumoral e perda do fenótipo epitelial. Membro da família miR-200, atua como um importante regulador negativo da EMT, direcionando-se diretamente aos fatores de transcrição ZEB1 e ZEB2, conhecidos por reprimir a transcrição da E-caderina, uma molécula essencial para a adesão celular e a manutenção da



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

arquitetura epitelial. Em condições fisiológicas, o miR-200a mantém o fenótipo epitelial ao inibir a expressão de ZEB1/2, prevenindo assim a perda da E-caderina e bloqueando a transição para um fenótipo mesenquimal. No entanto, sob estimulação por TGF- β 1, um importante indutor da transição epitélio-mesenquimal (EMT), a expressão de miR-200a diminui drasticamente, levando à desrepressão de ZEB1/2, à redução da E-caderina e à ativação de marcadores mesenquimais como α -SMA, fibronectina e colágeno tipo I. Esse mecanismo promove a migração celular, a produção excessiva de matriz extracelular e a progressão da fibrose. Por outro lado, a superexpressão de miR-200a pode neutralizar o efeito do TGF- β 1, reduzindo a expressão de ZEB1/2 e preservando a E-caderina, bloqueando assim a EMT e limitando a fibrogênese. Além disso, miR-200a interfere em outras vias, principalmente na via Wnt/ β -catenina, por meio da interação direta com a β -catenina, reduzindo, dessa forma, a invasão, a proliferação e a sinalização pró-fibrótica. Em conjunto, esses dados demonstram que o miR-200a funciona como uma salvaguarda molecular contra a transição epitélio-mesenquimal (EMT), e seu colapso representa um evento crítico no desencadeamento da transição mesenquimal e da fibrose. Seu papel fundamental no controle das vias ZEB1/2 e pró-EMT torna o miR-200a um biomarcador promissor e um alvo terapêutico potencial para a prevenção ou o tratamento da fibrose peritoneal e outras patologias relacionadas à EMT. (ABOHALAWA et al., 2024; GARCIASAENZ et al., 2025; KLICKA et al., 2022; MIRANDA et al., 2024).

2.3. microRNA-200a na regulação de SIRT1 e progressão do câncer de mama

O microRNA-200a desempenha um papel central na regulação do estado epitelial das células mamárias e no controle de processos-chave envolvidos na tumorigênese, incluindo a transição epitélio-mesenquimal (EMT). No câncer de mama, uma característica marcante das células transformadas é a acentuada diminuição da expressão de miR-200a. Essa perda não é simplesmente uma consequência da transformação; ela contribui diretamente para a aquisição de um



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

fenótipo agressivo. O miR-200a normalmente regula a integridade epitelial, a expressão de E-caderina e a estabilidade do fenótipo celular diferenciado. Quando suprimido, as células mamárias adotam um comportamento mais plástico, promovendo migração, invasão e progressão tumoral. Essa observação inicial levou à hipótese de que o miR-200a poderia atuar como um verdadeiro supressor da transformação, modulando alvos-chave envolvidos na regulação epigenética. (ABOHALAWA *et al.*, 2024; MAN *et al.*, 2022).

A identificação da SIRT1, uma sirtuína dependente de NAD, como alvo direto e funcional do miR-200a. A SIRT1 é uma desacetilase essencial que altera a estrutura da cromatina removendo grupos acetil de histonas como H3K9ac e H4K16ac, induzindo assim a condensação da cromatina associada à repressão gênica. Em células tumorais da mama, a SIRT1 é frequentemente superexpressa, contribuindo para o estabelecimento de um ambiente epigenético permissivo à transição epitélio-mesenquimal (EMT), à sobrevivência celular e à reprogramação agressiva. A literatura demonstra que a região 3'-UTR da SIRT1 contém um sítio de ligação conservado para o miR-200a, permitindo que este bloqueie eficientemente a tradução gênica. Ensaio funcionais, incluindo testes de luciferase, confirmam que a presença do miR-200a reduz diretamente a expressão da SIRT1, enquanto a mutação do sítio de ligação abole completamente esse efeito. Do ponto de vista biológico, essa interação garante um controle rigoroso dos níveis de SIRT1 em células epiteliais saudáveis, mantendo a atividade epigenética equilibrada e prevenindo a ativação aberrante de programas pró-tumorais. (MAN *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2021).

Quando o miR-200a é perdido, esse mecanismo regulatório é interrompido, levando ao acúmulo excessivo de SIRT1. Essa superexpressão é observada desde os estágios iniciais da transformação celular. O SIRT1, então, ativa um programa epigenético que promove a transição EMT e aumenta as propriedades invasivas das células. Estudos mostram que células mamárias transformadas com



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

altos níveis de SIRT1 exibem maior motilidade, menor expressão de E-caderina e aumento de marcadores mesenquimais. A restauração do miR-200a ou a inibição farmacológica do SIRT1 usando moléculas como SAHA ou Aza produz o efeito oposto: redução da migração celular, reativação da identidade epitelial e diminuição do fenótipo invasivo. Essas descobertas posicionam o SIRT1 como um mediador chave dos efeitos tumorais da perda de miR-200a. (CAVALLARI et al., 2021; MAN et al., 2022; MONGROO; RUSTGI, 2010).

Um aspecto particularmente inovador deste modelo reside na existência de um circuito de retroalimentação epigenética entre o miR-200a e a SIRT1. De fato, se o miR-200a inibe a SIRT1 pós-transcricionalmente, a SIRT1 pode, por sua vez, reduzir a expressão do miR-200a modificando diretamente seu ambiente epigenético. A SIRT1 é recrutada para o promotor do locus miR-200a/141, onde desacetila especificamente histonas, levando à compactação da cromatina, o que é desfavorável à transcrição. Além disso, a SIRT1 forma um complexo com as DNA metiltransferases DNMT1, DNMT3A e DNMT3B, resultando em hipermetilação do promotor e silenciamento estável do miR-200a. Assim, quando a expressão do miR-200a diminui durante a transformação, a SIRT1 se acumula e consolida essa diminuição, estabelecendo um estado epigenético duradouro que reprime permanentemente o locus. Essa relação cria um ciclo vicioso em que a perda inicial de miR-200a leva à superexpressão de SIRT1, que, por sua vez, silencia ainda mais o miR-200a. Esse mecanismo autossustentável representa um ponto-chave na progressão tumoral, estabilizando o fenótipo agressivo e mantendo a plasticidade mesenquimal. (CAVALLARI et al., 2021; MAN et al., 2022; MONGROO; RUSTGI, 2010).

As consequências funcionais dessa desregulação são profundas. Em células onde o miR-200a é deletado, a migração, a invasão e a capacidade de sofrer transição epitélio-mesenquimal (EMT) são significativamente aumentadas. Por outro lado, a restauração do miR-200a diminui essas propriedades, ilustrando



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

seu papel crucial na inibição da progressão tumoral. Assim, a SIRT1 surge como uma intérprete direta da perda de miR-200a, traduzindo essa deleção em uma reorganização epigenética global favorável à tumorigênese. Esse papel se manifesta por meio da perda de coesão celular, da ativação de vias de resposta ao estresse mecânico e da adoção de um fenótipo flexível que permite à célula tumoral navegar por diferentes ambientes teciduais. (CAVALLARI *et al.*, 2021; MAN *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2021).

Em conjunto, esse mecanismo revela um eixo epigenético crucial para a compreensão da progressão do câncer de mama. O par miR-200a/SIRT1 atua como uma chave molecular que determina o equilíbrio entre um estado epitelial estável e um estado mesenquimal agressivo. Interrupções nesse circuito levam a mudanças profundas na identidade celular, facilitando a disseminação metastática. Clinicamente, a expressão de miR-200a pode servir como um marcador de transformação precoce, enquanto a SIRT1 pode constituir um alvo terapêutico para interromper a reprogramação epigenética de tumores de mama. Esse modelo, portanto, abre importantes caminhos para o desenvolvimento de estratégias inovadoras com o objetivo de restaurar o equilíbrio epigenético e prevenir a progressão metastática. (CAVALLARI *et al.*, 2021; MAN *et al.*, 2022; MONGROO; RUSTGI, 2010).

2.4. miR-200a: regulação celular e metástase por meio da regulação de YAP1

Pesquisas revelaram que o microRNA-200a desempenha um papel crucial na progressão do tumor de mama, particularmente na sua capacidade de adquirir resistência à anoiquia. A anoiquia é uma forma específica de apoptose induzida quando as células perdem sua ancoragem à matriz extracelular. Para que uma célula tumoral entre na corrente sanguínea e inicie a metástase, ela deve contornar essa morte celular programada. O microRNA-200a, já conhecido por regular a transição epitélio-mesenquimal (EMT), parece ser um fator-chave na adaptação de células tumorais desprendidas a condições estressantes,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

promovendo sua sobrevivência e disseminação. (GUO *et al.*, 2018; SENFTER *et al.*, 2016).

O ponto central é a identificação da YAP1 (Proteína 1 Associada a Yes) como alvo direto do miR-200a. A YAP1 é um importante regulador da via Hippo, conhecida por controlar a proliferação e a sobrevivência celular. A literatura demonstra que, em células de câncer de mama, a superexpressão do miR-200a diminui a expressão da YAP1, alterando, assim, os sinais celulares relacionados à adesão e à tensão mecânica. Essa inibição da YAP1 permite que as células cancerígenas se tornem menos dependentes da matriz extracelular, facilitando sua resistência à anoiquia e sua capacidade de sobreviver na corrente sanguínea. Essa função confere ao miR-200a uma função paradoxal: ao mesmo tempo que preserva o fenótipo epitelial, ele promove uma etapa crítica no processo metastático, permitindo que as células tumorais escapem da morte induzida pela perda de adesão. (AHMADI-HADAD *et al.*, 2024; YU *et al.*, 2018a).

A inibição de YAP1 por miR-200a não se limita à sobrevivência celular; ela também confere às células tumorais um fenótipo que promove migração, invasão e colonização de locais distantes.

Altos níveis de miR-200a estão associados a uma maior capacidade de formar metástases em modelos experimentais. Células que expressam fortemente miR-200a exibem plasticidade mecânica e molecular que lhes permite navegar por diferentes microambientes, resistir a estresses hemodinâmicos e iniciar a formação de novos tumores em tecidos distantes. (ALIMIRZAI; BAGHERZADEH; AKBARI, 2019; YU *et al.*, 2018).

Essas descobertas destacam a natureza dual do miR-200a: embora tradicionalmente considerado um microRNA supressor da transição epitélio-mesenquimal (EMT), sua ação sobre o YAP1 confere um papel pró-metastático em certos contextos, particularmente na resistência à anoiquia. Assim, o miR-



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

200a poderia servir como um biomarcador para identificar tumores com alto potencial metastático ou pacientes com probabilidade de desenvolver disseminação tumoral agressiva. Do ponto de vista terapêutico, o direcionamento do eixo miR-200a-YAP1 parece ser uma estratégia promissora para restaurar a sensibilidade à anoquia e limitar a formação de metástases. (TSANG, JULIA YS; TSE, 2019; YU et al., 2018).

2.5. miR-200a como regulador fundamental da plasticidade celular

O microRNA-200a desempenha um papel central na regulação da plasticidade celular, um mecanismo fundamental na progressão tumoral. Como membro da família miR-200, contribui para a manutenção do fenótipo epitelial, controlando a expressão de genes responsáveis pela adesão celular, notadamente a E-caderina. Esse processo limita a capacidade das células tumorais de adotarem um estado mesenquimal, caracterizado pelo aumento da motilidade e perda da coesão celular. Contudo, em diversos contextos oncológicos, particularmente sob a influência do TGF- β ou do estresse microambiental, a expressão do miR-200a pode ser modulada, permitindo que as células alterem rapidamente sua identidade fenotípica. Assim, o miR-200a se posiciona como um mediador chave da dinâmica EMT/MET, controlando como as células tumorais se adaptam, sobrevivem e interagem com seu ambiente. (FENG et al., 2014; GRAVGAARD et al., 2012; PATERSON et al., 2013).

2.6. miR-200a como modulador epigenético: impacto em DNMT3A, DNMT3B e metilação do DNA

O microRNA-200a (miR-200a) pertence à família miR-200, um grupo essencial para a regulação da identidade epitelial e o controle da plasticidade celular. No câncer de mama, essa família desempenha um papel ambivalente e contextual, capaz tanto de inibir a transição epitélio-mesenquimal (TEM) quanto, paradoxalmente, de promover certos estágios da progressão tumoral. Pesquisas



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

recentes mostram que o miR-200a influencia inúmeros mecanismos celulares ao modular a expressão de alvos como as DNA metiltransferases DNMT3A e DNMT3B, enzimas centrais para a remodelação epigenética das células tumorais. O artigo consultado destaca a estreita relação entre microRNAs, incluindo o miR-200a, e DNMTs na regulação da metilação do DNA, um processo fundamental na tumorigênese mamária. (HU *et al.*, 2020; MAN *et al.*, 2022; TSOUKO *et al.*, 2015).

Estudos demonstraram que vários microRNAs, incluindo o miR-200a, participam ativamente da regulação da metilação do DNA, direcionando-se direta ou indiretamente às DNMTs. No contexto do câncer de mama, o miR-200a desempenha um papel fundamental por meio de sua integração em complexos circuitos regulatórios envolvendo DNMT3A, DNMT3B e diversos fatores epigenéticos. A literatura descreve um eixo funcional no qual a diminuição do miR-200a pode ser induzida pela superexpressão de DNMT3A, via uma interação FEN1/PCNA/DNMT3A, levando à repressão do miR-200a, o que aumenta a expressão de MET e EGFR e promove o crescimento tumoral. Esse circuito de retroalimentação demonstra que o miR-200a contribui indiretamente para a manutenção de um estado epigenético capaz de sustentar a proliferação e a transformação maligna das células mamárias. Assim, o miR-200a ocupa uma posição estratégica no equilíbrio entre genes supressores de tumor e vias pró-tumorais moduladas pela metilação. (MAN *et al.*, 2022).

O miR-200a é classicamente associado à manutenção do fenótipo epitelial por meio da inibição da transição epitélio-mesenquimal (EMT), tendo como alvo fatores como ZEB1 e ZEB2. No entanto, dados mais recentes destacam que, dependendo do contexto, o miR-200a também pode contribuir para mecanismos que promovem a progressão tumoral. Através de sua capacidade de influenciar enzimas epigenéticas essenciais, o miR-200a participa das alterações globais da cromatina características do câncer de mama. A repressão do miR-200a, promovida por certas DNMTs (transcriptases dependentes de DNA), leva à



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

desregulação de genes envolvidos na adesão celular, migração e resistência a estresses ambientais. Consequentemente, o miR-200a atua como um centro molecular onde convergem sinais que controlam a plasticidade tumoral, o potencial metastático e a capacidade das células cancerígenas de se adaptarem a diferentes microambientes. (GUO *et al.*, 2018; MAN *et al.*, 2022).

2.7. miR-200a: Mecanismos de ação e valor como biomarcador para câncer de mama

O miR-200a pertence à família miR-200 de microRNAs, um grupo central na regulação da plasticidade celular e da progressão tumoral. Essa família está amplamente envolvida na manutenção da identidade epitelial, na prevenção da invasão tumoral e na regulação da transição epitélio-mesenquimal (EMT). Dentre seus membros, o miR-200a desempenha um papel fundamental em diversos tipos de câncer, incluindo o câncer de mama, onde atua como um verdadeiro "guardião" do fenótipo epitelial e um modulador chave da disseminação metastática. Alterações em sua expressão são frequentemente observadas em tumores de mama agressivos, tornando-o um marcador biológico de crescente interesse em estudos diagnósticos, prognósticos e terapêuticos. (GUO *et al.*, 2018; KLIČKA *et al.*, 2022; MONGROO; RUSTGI, 2010).

Uma das funções mais bem estabelecidas do miR-200a é a regulação da transição epitélio-mesenquimal (EMT), um processo fundamental pelo qual as células epiteliais perdem sua coesão e adquirem um fenótipo mesenquimal, tornando-se mais móveis e invasivas. Durante a EMT, as células do câncer de mama tornam-se capazes de atravessar barreiras teciduais, entrar na corrente sanguínea e formar metástases. O miR-200a previne esse processo ao atingir diretamente os fatores de transcrição ZEB1 e ZEB2, dois potentes repressores da E-caderina. Ao inibir ZEB1/2, o miR-200a promove a expressão da E-caderina, mantém as junções celulares e estabiliza o fenótipo epitelial. Assim, quando o miR-200a é expresso em altos níveis, a célula mantém um estado epitelial



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

estável, incompatível com a invasão e migração tumoral. Por outro lado, sua diminuição promove a perda da coesão celular e a aquisição de comportamento agressivo, facilitando a progressão do câncer de mama. (KLICKA *et al.*, 2022).

Além de seu papel na transição epitélio-mesenquimal (EMT), o miR-200a regula uma série de vias moleculares envolvidas na sobrevivência, metabolismo e plasticidade das células cancerígenas. Entre seus mecanismos mais importantes está a regulação da SIRT1, uma desacetilase associada à resistência ao estresse, ao metabolismo mitocondrial e à progressão tumoral. Ao atingir a SIRT1, o miR-200a limita a ativação de vias pró-sobrevivência e impede o estabelecimento de programas celulares que promovem a disseminação. Essa interação é ainda mais importante porque a SIRT1, por sua vez, pode reprimir a expressão da família miR-200, criando um ciclo de feedback que amplifica a agressividade tumoral quando o miR-200a está ausente. (GUO *et al.*, 2018; KLICKA *et al.*, 2022; MONGROO; RUSTGI, 2010).

O miR-200a também modula a biologia mitocondrial ao ter como alvo o TFAM, um fator chave para a transcrição e replicação do DNA mitocondrial. Essa regulação influencia diretamente a produção de energia, a proliferação e a capacidade das células cancerígenas de resistir ao estresse metabólico, conferindo ao miR-200a um papel multifuncional na dinâmica tumoral. Além disso, o miR-200a interfere em diversas vias oncogênicas importantes, como TGF- β , NF- κ B, Notch e as redes transcricionais MYC/AP-1, reforçando seu papel como um regulador mestre do comportamento tumoral. (CAVALLARI *et al.*, 2021).

O miR-200a emergiu como um biomarcador promissor para o câncer de mama, particularmente no contexto de metástase. Os microRNAs circulantes, presentes no plasma, soro ou exossomos, são notavelmente estáveis e refletem com precisão a atividade biológica do tumor. Dentre esses microRNAs, o miR-200a ocupa uma posição central devido à sua ligação direta com a dinâmica da



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

transição epitélio-mesenquimal/mesenquimal (EMT/MET). (CAVALLARI *et al.*, 2021).

No câncer de mama, altos níveis de miR-200a circulante tem sido associado à presença de metástases e a uma alta carga tumoral, sugerindo que as células tumorais liberam mais miR-200a quando readquirem um fenótipo epitelial após a disseminação. Diversos estudos indicam que ele pode ser utilizado para: detectar metástases precocemente, identificar pacientes com alto risco de recorrência, avaliar a presença de células tumorais circulantes e monitorar a eficácia dos tratamentos oncológicos. (CAVALLARI *et al.*, 2021). Embora diversos estudos iniciais não tenham revelado variação significativa no miR-200a no sangue de pacientes no momento do diagnóstico, análises mais recentes utilizando sequenciamento de nova geração mostraram que o miR-200a está significativamente diminuído no soro de pacientes com câncer de mama em estágio inicial, ao contrário de outros membros da família miR-200, que parecem estar aumentados. (CAVALLARI *et al.*, 2021; KLIČKA *et al.*, 2022; MONGROO; RUSTGI, 2010).

Embora sua utilidade para o diagnóstico precoce ainda seja limitada, o miR-200a está se mostrando particularmente relevante no contexto metastático. Um estudo focado em células tumorais circulantes (CTCs) demonstrou que pacientes metastáticos com CTCs positivas apresentam níveis plasmáticos de miR-200a mais elevados do que pacientes sem CTCs ou controles saudáveis. Esses níveis sanguíneos elevados refletem a atividade metastática, permitindo que o miR-200a sirva como um indicador indireto da presença de CTCs e da disseminação tumoral. (CAVALLARI *et al.*, 2021; MONGROO; RUSTGI, 2010).

Outras análises clínicas confirmaram que altos níveis de miR-200a no plasma estão associados a um risco aumentado de metástase e desfechos adversos, particularmente quando combinados em painéis que incluem outros membros da família miR-200. Por exemplo, painéis que combinam miR-200a,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

miR-200b, miR-200c e miR-141 demonstraram ser mais eficazes do que a contagem tradicional de células tumorais circulantes (CTCs) na predição da sobrevida global do paciente. Finalmente, um estudo longitudinal de grande porte mostrou que o miR-200a circulante pode ser detectado como um indicador de metástase até dois anos antes do diagnóstico clínico, tornando-o um biomarcador potencialmente valioso para o monitoramento a longo prazo de pacientes após o tratamento primário. (CAVALLARI *et al.*, 2021; SENFTER *et al.*, 2016).

Embora o miR-200a ainda não seja usado rotineiramente na prática clínica, seu perfil de expressão circulante está se mostrando particularmente relevante em cânceres de mama agressivos, especialmente aqueles com alto potencial metastático. Dados recentes posicionam o miR-200a como um biomarcador multidimensional: diagnóstico, prognóstico e preditivo. Sua capacidade de refletir o estado EMT/MET em tempo real abre caminho para estratégias de diagnóstico precoce baseadas em biópsia líquida. Além disso, a restauração do miR-200a em células tumorais representa uma abordagem terapêutica promissora, pois poderia: reativar a expressão de E-caderina, bloquear a invasão e migração, reduzir a formação de metástases e aumentar a sensibilidade das células tumorais aos tratamentos. (ABOHALAWA *et al.*, 2024; CAVALLARI *et al.*, 2021a; LIU, YEWEI *et al.*, 2015; MIRANDA *et al.*, 2024).

Num contexto em que a plasticidade tumoral é um dos principais obstáculos ao tratamento do câncer de mama metastático, o miR-200a constitui um importante alvo estratégico para futuras terapias baseadas em microRNA. (SENFTER *et al.*, 2016; YU *et al.*, 2018b).

As propriedades regulatórias do miR-200a, juntamente com sua sensibilidade a modificações epigenéticas, fazem dele um candidato particularmente relevante como biomarcador diagnóstico e prognóstico. A modulação do miR-200a, seja por hipermetilação, pela ação de DNMTs ou por outros mecanismos transcricionais, resulta em variações detectáveis em tecidos



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

tumorais ou biópsias líquidas. Sua capacidade de refletir o estado epigenético geral da célula tumoral e seu envolvimento em processos-chave, como EMT, proliferação e resistência terapêutica, aumentam seu valor clínico. Em alguns subtipos agressivos, a diminuição do miR-200a está associada ao aumento da desdiferenciação e a um pior prognóstico. Por outro lado, sua expressão em outros contextos pode sinalizar plasticidade celular específica ou remodelamento epigenético ativo. Portanto, o miR-200a está emergindo como um marcador multifuncional capaz de integrar a dinâmica tumoral, as modificações epigenéticas e a potencial resposta a terapias direcionadas a DNMTs. (CAVALLARI *et al.*, 2021b; GÁL *et al.*, 2025; WU, CHENGHUI *et al.*, 2025).

2.8. miR-200a na saliva

A saliva é hoje reconhecida como uma rica fonte de biomoléculas, incluindo proteínas, fatores inflamatórios, DNA e, principalmente, microRNAs (miRNAs). Ao contrário de outros fluidos biológicos, a saliva pode ser coletada de forma completamente não invasiva, tornando-a particularmente valiosa para abordagens de diagnóstico precoce. Os miRNAs, incluindo o miR-200a, são detectáveis na saliva graças ao seu encapsulamento em exossomos ou microvesículas, o que os protege contra a degradação enzimática. Essa alta estabilidade permite sua análise confiável, mesmo em condições simples de armazenamento, aumentando seu potencial como biomarcadores em diversos contextos patológicos. (FAUR *et al.*, 2021; GÁL *et al.*, 2025).

Os miRNAs circulantes, incluindo o miR-200a, estão presentes na saliva em duas formas: livres, como pequenas moléculas resistentes às enzimas salivares, e encapsulados em exossomos, o que lhes confere uma estabilidade notável apesar das condições físico-químicas variáveis da cavidade oral. (FAUR *et al.*, 2021).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

Essa estabilidade, já demonstrada no soro e no plasma, também é observada na saliva. Os miRNAs salivares são protegidos da degradação por nucleases por vesículas extracelulares, permitindo o armazenamento e a detecção confiáveis mesmo após várias horas ou dias. Assim, a saliva oferece uma plataforma não invasiva ideal para analisar a expressão do miR-200a. (MIRANDA *et al.*, 2024).

O miR-200a detectado na saliva pode ter diversas origens biológicas: Exossomos derivados de células tumorais. Numerosos estudos demonstraram que células cancerígenas liberam exossomos contendo miRNAs específicos. No câncer de mama, tumores e metástases produzem exossomos ricos em miR-200a, que podem circular pela corrente sanguínea e alcançar a saliva através das glândulas salivares. Células epiteliais da cavidade oral. As células orais expressam naturalmente certos miRNAs, incluindo membros da família miR-200. Sua expressão pode ser modulada pelo estado fisiológico ou patológico do indivíduo. Interoperabilidade biológica via sistema linfático. A cavidade oral possui uma rica rede de vasos linfáticos, o que facilita a passagem de miRNAs circulantes para a saliva. Essa multiplicidade de fontes torna o miR-200a ainda mais relevante como um biomarcador acessível que reflete o estado sistêmico do paciente. (FAUR *et al.*, 2021; KALLIGOSFYRI *et al.*, 2024; PARK *et al.*, 2009).

Embora a maioria dos estudos sobre o miR-200a se concentre no sangue e nos tecidos, diversos estudos mostram que a saliva também pode conter assinaturas específicas de miRNA associadas à presença de tumores, risco de metástase, heterogeneidade molecular do câncer de mama e resposta ao tratamento. (GÁL *et al.*, 2025).

Em casos de câncer de mama, algumas análises salivares revelaram a modulação de microRNAs (miRNAs), incluindo o miR-200a, em pacientes com tumores mamários em comparação com controles saudáveis. O miR-200a salivar pode refletir: a atividade de transição epitélio-mesenquimal/mesenquimal (EMT/MET) das células tumorais, a carga de células tumorais circulantes, o nível



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

de disseminação metastática e a dinâmica tumoral em tempo real. Portanto, sua detecção na saliva apresenta grande potencial para monitoramento longitudinal, evitando potencialmente a necessidade de coleta repetida de sangue. (FAUR *et al.*, 2021; GÁL *et al.*, 2025; KALLIGOSFYRI *et al.*, 2024; PARK *et al.*, 2009).

Uma das principais vantagens do miR-200a salivar reside em seu potencial para diagnóstico precoce. Alterações na expressão do miR-200a na saliva podem surgir nos estágios iniciais do desenvolvimento tumoral, muito antes das manifestações clínicas ou radiológicas. Essa sensibilidade se deve à secreção precoce de exossomos tumorais, que contêm marcadores moleculares que refletem os estágios iniciais da transformação celular. (ZHANG, GUANGXIN *et al.*, 2017).

As variações no miR-200a observadas na saliva, sejam elas uma diminuição (associada à transição epitélio-mesenquimal ativa) ou um aumento (indicando o retorno ao estado epitelial ou adaptação metastática), fornecem informações detalhadas sobre o estado do tumor. Assim, o miR-200a salivar pode se tornar uma ferramenta de triagem não invasiva, particularmente útil em pacientes jovens ou naqueles com alto risco genético, para os quais os métodos de triagem tradicionais apresentam limitações. (GREITHER *et al.*, 2017).

Estudos sobre microRNAs salivares mostram que o miR-200a exibe perfis de expressão distintos dependendo dos subtipos moleculares do câncer de mama. A variabilidade observada depende, em particular, do status dos receptores hormonais (ER, PR) e do receptor HER2, sugerindo uma estreita interação entre a sinalização tumoral e a liberação de microRNA em exossomos. (FAUR *et al.*, 2021).

Em cânceres de mama triplo-negativos (CMTN), caracterizados por alta agressividade e ausência de alvos terapêuticos específicos, o miR-200a salivar frequentemente apresenta alterações significativas. Os CMTN exibem transição



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

epitélio-mesenquimal (TEM) altamente ativa, resultando em níveis reduzidos de miR-200a nas células tumorais e, consequentemente, em modulação significativa desse microRNA em fluidos biológicos. A análise do miR-200a salivar poderia, portanto, permitir a diferenciação de fenótipos tumorais, facilitando a estratificação de pacientes e a adaptação de estratégias terapêuticas. (ABRAHAM *et al.*, 2012).

Níveis elevados de miR-200a na saliva podem: indicar adaptação das células tumorais ao desprendimento; refletir aumento da liberação de exossomos por células metastáticas ativas; ou estar correlacionados com a progressão para locais como fígado, ossos ou pulmões. (GÁL *et al.*, 2025).

Assim, o miR-200a salivar não se limita a ser um biomarcador diagnóstico: ele também representa uma ferramenta prognóstica capaz de prever a disseminação tumoral e identificar pacientes com alto risco de recidiva em um estágio inicial. A alta estabilidade dos microRNAs salivares (resistência à RNase, pH variável e temperatura ambiente) permite uma detecção confiável, tornando o miR-200a particularmente atraente como um biomarcador não invasivo. (FAUR *et al.*, 2021; GÁL *et al.*, 2025).

3. Biossensores

3.1. Definição e classificação

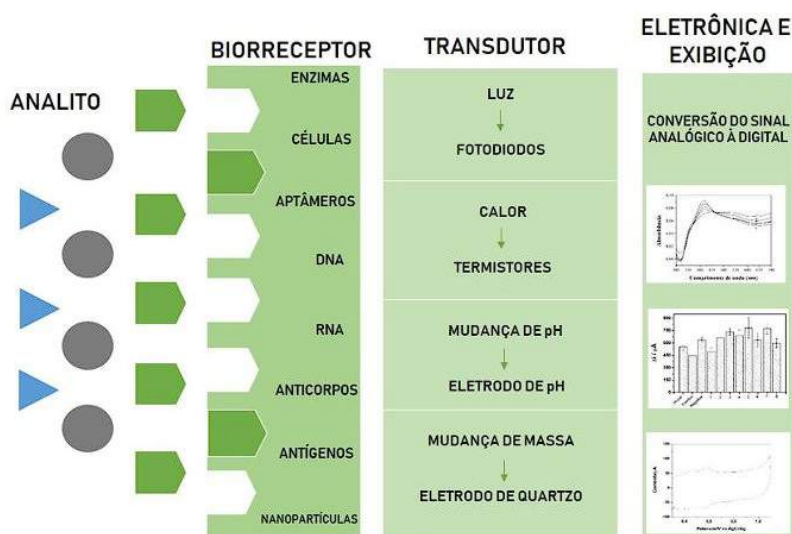
Os biossensores são dispositivos analíticos sofisticados que combinam um elemento de reconhecimento biológico com um sistema de transdução capaz de converter um evento bioquímico em um sinal mensurável. De acordo com a definição oficial da IUPAC, esses sistemas exploram reações bioquímicas específicas envolvendo enzimas, anticorpos, tecidos, organelas ou mesmo células inteiras para detectar uma molécula-alvo, denominada analito. O reconhecimento dessa substância se expressa pela produção de um sinal elétrico, térmico, óptico ou outro sinal físico proporcional à sua concentração na amostra analisada. (MOBED *et al.*, 2024).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

Os biossensores possuem cinco componentes essenciais: o analito, o biorreceptor, o transdutor, o módulo eletrônico e o dispositivo de exibição. O analito é a substância de interesse, enquanto o biorreceptor seja um ácido nucleico, um anticorpo, uma enzima ou outro elemento biológico garante o reconhecimento seletivo dessa molécula. Os termos "sonda" e "alvo" são frequentemente usados como sinônimos para se referir ao biorreceptor e ao analito, respectivamente. A interação entre essas duas entidades desencadeia um fenômeno de biorreconhecimento, ou seja, uma reação bioquímica específica ou ligação que gera uma mudança mensurável, como uma alteração na carga, massa, pH ou um sinal luminoso. (GORGANI *et al.*, 2024).

O transdutor desempenha um papel central no funcionamento do biossensor: ele transforma o evento biológico em um sinal físico interpretável. Esse sinal primário, geralmente fraco, é então processado por um sistema eletrônico responsável por amplificá-lo, reduzir o ruído e convertê-lo em um sinal digital utilizável. Finalmente, os dados são disponibilizados ao usuário por meio de uma tela ou interface que exibe valores numéricos, curvas ou outras representações gráficas. (NEGAHDARY; ANGNES, 2022).





**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Figura 9: Configuração esquemática de um biossensor. (ANNA RIOS, 2018).

A evolução dos biossensores tem suas raízes no trabalho pioneiro de M. Cremer, em 1906, que demonstrou que a concentração de um ácido através de uma membrana de vidro podia ser correlacionada com um potencial elétrico. No entanto, foi Leland C. Clark Jr. quem, em 1956, lançou as bases do biossensor moderno ao desenvolver um eletrodo projetado para medir o oxigênio no sangue. Para superar a interferência causada pelos componentes sanguíneos que contaminavam o eletrodo, ele introduziu uma membrana polimérica que permitia a transmissão seletiva de oxigênio. Essa inovação foi crucial para o desenvolvimento subsequente de biossensores enzimáticos, particularmente com a integração da glicose oxidase em 1962, resultando no famoso “eletrodo de Clark”. As décadas seguintes testemunharam o surgimento de outros biossensores enzimáticos, como o eletrodo de urease desenvolvido por Guilbault em 1969, e a comercialização, em 1975, do primeiro biossensor dedicado à detecção de glicose, dentro da instrumentação YSI. (KISSINGER, 2005; MEHROTRA, 2016; TURNER, 2013).

Desde então, o campo dos biossensores tem experimentado um crescimento exponencial, como evidenciado pelo aumento no número de publicações científicas entre 1995 e 2025. Utilizando o termo "biossensor", com base no banco de dados ResearchGate, isso indica o crescente interesse nesses dispositivos em diversos setores: monitoramento ambiental, segurança alimentar, defesa contra bioterrorismo, diagnóstico médico e desenvolvimento farmacêutico. A classificação de biossensores baseia-se principalmente em dois critérios: a natureza do mecanismo de reconhecimento e o tipo de transdução de sinal.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

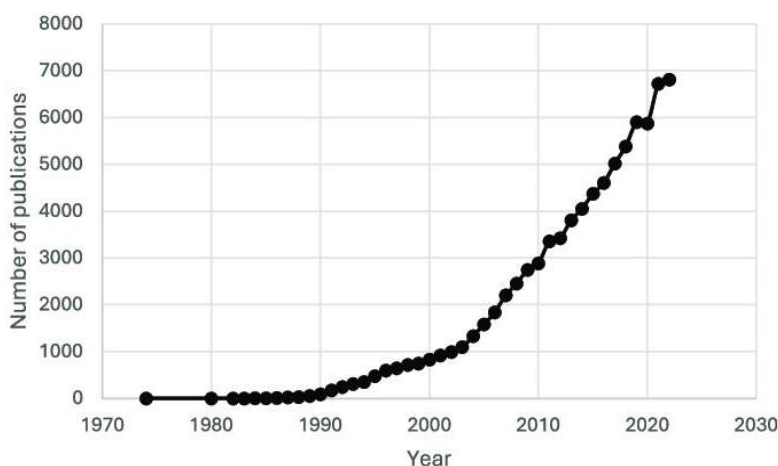


Figura 10: Número de publicações contendo o termo "biossensor" de 1995 a 2025 no ResearchGate. Trabalho pessoal.

Dependendo do método de transdução, os biossensores são divididos em quatro categorias principais: eletroquímicos, ópticos, piezoelétricos e termométricos. Dentre esses, os biossensores eletroquímicos dominam o cenário científico e industrial devido ao seu baixo custo, facilidade de miniaturização, alta sensibilidade e compatibilidade com processos de microfabricação. Seu funcionamento baseia-se na geração ou consumo de elétrons ou íons durante a reação entre o analito e a biomolécula imobilizada. Essas reações modificam o potencial elétrico ou a corrente do sistema, permitindo uma quantificação precisa. Paralelamente, os biossensores ópticos exploram fenômenos de luz como fluorescência, luminescência ou ressonância plasmônica de superfície. Eles oferecem alta sensibilidade e podem detectar simultaneamente vários analitos, constituindo, assim, uma classe intermediária entre a pesquisa básica e as aplicações clínicas. (BORISOV; WOLFBEIS, 2008; FELIPE *et al.*, 2025; FERREIRA *et al.*, 2018).

Os biossensores piezoelétricos exploram a capacidade de certos materiais, como o quartzo, de gerar um sinal elétrico quando sua massa se altera. Isso



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

possibilita a quantificação de biomoléculas utilizando microbalanças de quartzo de alta sensibilidade. Por fim, os biossensores termométricos medem as variações de temperatura associadas a reações bioquímicas, uma abordagem amplamente utilizada na indústria alimentícia e em processos de fermentação. (CHADHA *et al.*, 2022; NARESH; LEE, 2021).

Do ponto de vista do biorreconhecimento, os biossensores podem ser enzimáticos, baseados em receptores de proteínas, imunológicos, celulares ou genéticos. Os biossensores enzimáticos, fundamentados no trabalho de Clark, dependem de enzimas imobilizadas capazes de converter um substrato em um produto mensurável. Os receptores de proteínas, por sua vez, exploram a capacidade natural dos receptores de membrana de reconhecer especificamente moléculas biológicas. Os imunossensores baseiam-se na interação altamente seletiva entre anticorpos e antígenos, o que os torna ferramentas de diagnóstico muito confiáveis. (FLAUZINO *et al.*, 2022; MEHROTRA, 2016; SALAHANDISH *et al.*, 2018).

Os biossensores celulares utilizam células inteiras ou microrganismos como elementos de detecção, permitindo limites de detecção muito baixos graças à diversidade de ligantes expressos na superfície celular. Os genômicos, por sua vez, utilizam sequências de DNA ou RNA imobilizadas para detectar ácidos nucleicos por complementaridade de sequência. Sua estabilidade, baixo custo e especificidade baseada no pareamento de bases de Watson-Crick os tornam ferramentas valiosas na detecção genética e no diagnóstico molecular. (CHADHA *et al.*, 2022; NARESH; LEE, 2021).

O desempenho de um biossensor depende de vários parâmetros essenciais: seletividade, sensibilidade, faixa de resposta linear, limite de detecção, reprodutibilidade e estabilidade. A seletividade garante que apenas o alvo seja reconhecido, apesar da complexidade da matriz analisada; a sensibilidade



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

expressa a capacidade do biossensor de detectar pequenas variações de concentração. A reprodutibilidade e a estabilidade garantem, respectivamente, a confiabilidade do sinal e sua consistência, mesmo diante de variações ambientais. (MEHROTRA, 2016; TURNER, 2013).

3.2. Biossensores eletroquímicos

A eletroquímica estuda o movimento e a troca de elétrons entre diferentes espécies químicas, bem como os fatores que governam essas transferências. Essas trocas estão ligadas a transformações químicas do tipo oxidação ou redução, que constituem reações redox. Cada reação pode ser decomposta em duas semicélulas, uma oxidante e outra redutora, e o fluxo de elétrons entre essas semirreações gera uma corrente elétrica. Quando essas reações consomem ou produzem íons e elétrons, elas modificam as propriedades elétricas do meio, particularmente a corrente e a voltagem, o que permite que essas variações sejam transformadas em sinais eletroquímicos mensuráveis, diretamente proporcionais à quantidade de analito presente. (CHADHA *et al.*, 2022).

Um biossensor eletroquímico quase sempre se baseia em uma célula com três eletrodos: um eletrodo de trabalho (ET), um eletrodo de referência (ER) e um contraeletrodo (CE). Plataformas impressas em tela (SPEs) são amplamente utilizadas para criar dispositivos miniaturizados e portáteis. O eletrodo de trabalho é onde a reação eletroquímica é desencadeada pela aplicação de um potencial específico em relação ao eletrodo de referência. O potencial aplicado corresponde à energia fornecida para promover as reações redox e depende da carga acumulada no eletrodo, que por sua vez é alimentado por uma fonte externa. Este eletrodo é frequentemente funcionalizado com biomoléculas específicas para o analito, a fim de transformar a reação bioquímica em um sinal mensurável. (NARESH; LEE, 2021).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

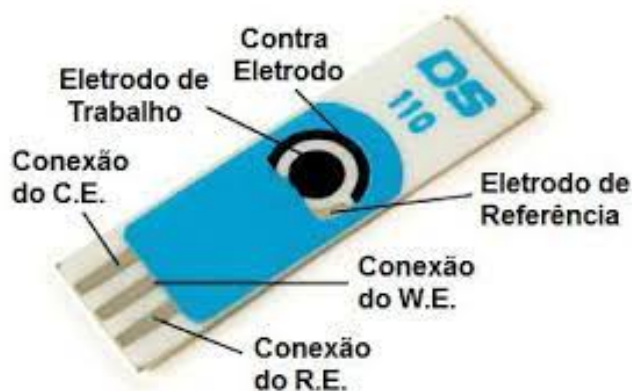


Figura 11: Modelo de eletrodo: impresso em tela (SPE). Eletrodo de trabalho (WE), eletrodo de referência (RE), contro eletrodo (CE). (BARTON *et al.*, 2016).

Os processos eletroquímicos podem ser estudados utilizando diversas técnicas, sendo as mais comuns a voltametria (CV, DPV, SWV), a amperometria, a potenciometria e a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Esses métodos compartilham instrumentos semelhantes, incluindo o potenciostato, que controla o potencial ou a corrente e registra a resposta elétrica. Na voltametria, o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho é alterado e a corrente resultante é medida. Por exemplo, a voltametria cíclica envolve a varredura linear do potencial em ambas as direções (em direção a potenciais oxidantes e, em seguida, redutores), resultando em um voltamograma caracterizado por picos de oxidação e redução, que revelam as propriedades termodinâmicas e cinéticas das reações. (MEHROTRA, 2016).

Na voltametria cíclica (VC), um potencial triangular é aplicado ao eletrodo de trabalho. A varredura direta gera uma corrente de oxidação, enquanto a varredura reversa produz uma corrente de redução. Os picos resultantes fornecem informações cruciais sobre a reversibilidade das reações, a taxa de transferência de elétrons e a presença de quaisquer reações químicas secundárias. A VC é uma técnica preferida para a análise qualitativa de um sistema eletroquímico, pois



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

permite a visualização rápida das características gerais do processo redox em estudo. (MEHROTRA, 2016; TURNER, 2013).

Na voltametria de pulso diferencial (DPV), pulsos de potencial são sobrepostos a uma varredura crescente. A corrente é medida imediatamente antes e imediatamente depois de cada pulso, e a diferença entre essas duas medições constitui o sinal. Essa medição dupla elimina grande parte da corrente capacitiva não faradaica, aumentando assim a sensibilidade do sistema. Os voltamogramas resultantes, caracterizados por picos estreitos, facilitam a quantificação de analitos em baixas concentrações e melhoram a relação sinal-ruído. (BORISOV; WOLFBEIS, 2008; MEHROTRA, 2016).

A voltametria de onda quadrada (SWV) aplica uma onda quadrada sobreposta a uma rampa de potencial escalonada. Assim como na voltametria de pulso diferencial (DPV), duas correntes são medidas durante cada ciclo (pulso direto e reverso), mas a alta frequência de ciclos permite uma aquisição de dados muito mais rápida. Essa técnica oferece alta sensibilidade, excelente resolução e velocidade superiores, tornando-a particularmente atraente para biossensores portáteis. (CHADHA *et al.*, 2022; MEHROTRA, 2016).

A amperometria mede a corrente produzida pela oxidação ou redução do analito quando o eletrodo é mantido a um potencial constante. A corrente resultante é proporcional à concentração da espécie eletroativa, tornando este método ideal para medições quantitativas. É amplamente utilizado em sensores enzimáticos, particularmente sensores de glicose, bem como para a detecção de gases ou diversas moléculas de interesse biológico ou ambiental. O uso de nanomateriais ou revestimentos enzimáticos melhora ainda mais a sensibilidade, facilitando a transferência de elétrons. (PATTAN-SIDDAPPA *et al.*, 2025).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

A condutimetria mede a variação na condutividade de uma solução quando sua ionicidade se altera na presença do analito. Diferentemente de outras técnicas, ela não requer uma reação redox. Utiliza dois eletrodos imersos no eletrólito, e a condução elétrica depende da concentração iônica. É particularmente útil para monitorar reações que produzem ou consomem íons, bem como para o controle industrial de processos químicos. (CHADHA *et al.*, 2022; PATTAN-SIDDAPPA *et al.*, 2025).

A medição de impedância eletroquímica mede a impedância de um sistema submetido a uma corrente alternada. Essa impedância depende das resistências e capacitâncias presentes na interface eletrodo-solução. Quando o analito interage com a superfície do eletrodo, os parâmetros de impedância, particularmente a resistência de transferência de carga (CtR) e a capacitância da dupla camada (DIC), são modificados. Essa técnica é especialmente adequada para o estudo de fenômenos de superfície e detecção biomolecular, pois não requer reações redox. É utilizada em biossensores, monitoramento de corrosão, caracterização de materiais e análises ambientais. Sua principal vantagem é a alta sensibilidade a interações não faradaicas. (CHADHA *et al.*, 2022; NARESH; LEE, 2021; PATTAN-SIDDAPPA *et al.*, 2025).

A potenciometria envolve a medição de um potencial estável sem fluxo de corrente significativo; utiliza eletrodos de referência e indicadores, incluindo eletrodos íon-seletivos. Os métodos condutimétricos baseiam-se nas variações de condutividade devido ao aparecimento ou desaparecimento de íons. A medição de impedância estuda as alterações na resistência e reatância de um sistema submetido a um sinal alternado, permitindo a análise altamente sensível da formação de camadas biomoleculares em eletrodos. (MEHROTRA, 2016; NARESH; LEE, 2021; TURNER, 2013).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Os sinais eletroquímicos são amplamente influenciados pela dinâmica do transporte de massa do analito: difusão (movimento a favor de um gradiente de concentração), convecção (movimentos induzidos por agitação ou fenômenos físicos) e migração (deslocamento sob a influência de um campo elétrico). As equações de Faraday relacionam a corrente medida ao número de elétrons transferidos, à área da superfície do eletrodo e ao fluxo do analito na interface. Numerosos fatores influenciam essa relação, incluindo a concentração das espécies, reações químicas secundárias, interações superficiais e condições externas como a temperatura. (BORISOV; WOLFBEIS, 2008; KISSINGER, 2005; MEHROTRA, 2016).

Os biossensores para uso em pontos de atendimento (PoC) exigem miniaturização, baixo consumo de energia e facilidade de manuseio. Os transdutores eletroquímicos atendem bem a esses requisitos: são compatíveis com plataformas portáteis, podem ser produzidos a baixo custo e oferecem excelente sensibilidade. A integração de nanomateriais aprimora ainda mais seu desempenho, aumentando a área de superfície ativa, melhorando a transferência de elétrons e reduzindo o ruído de fundo. (BORISOV; WOLFBEIS, 2008; CHADHA *et al.*, 2022; KISSINGER, 2005).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

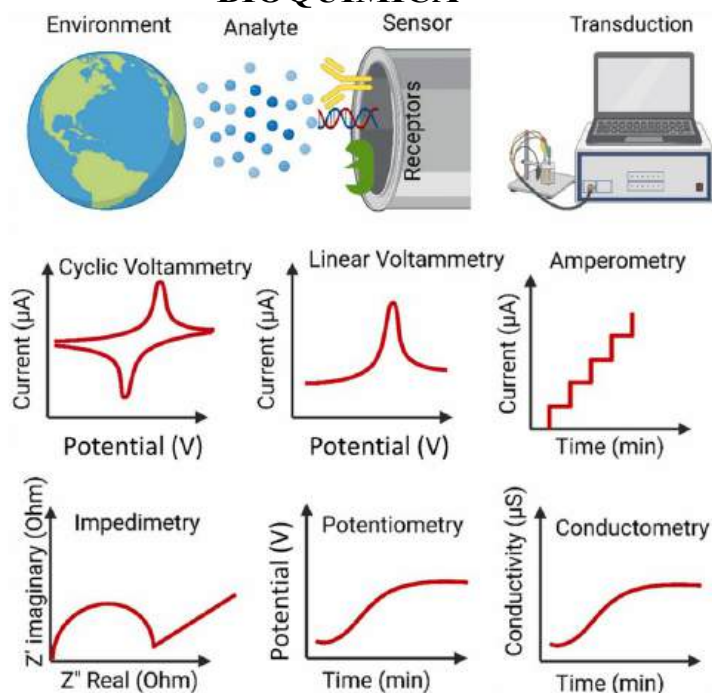


Figura 12: Diagrama ilustrando os métodos de medição eletroquímica. (PATTAN-SIDDAPPA *et al.*, 2025).

3.3. Polímeros condutores usados em biossensores

Os polímeros condutores (PCs) constituem uma classe específica de materiais orgânicos cujas propriedades eletrônicas se aproximam das de semicondutores ou metais. Sua característica distintiva reside na presença de sistemas π conjugados ao longo da cadeia polimérica, permitindo a deslocalização eletrônica e a formação de portadores de carga móveis. Graças a essa conjugação eletrônica, os polímeros condutores exibem propriedades elétricas, magnéticas e ópticas únicas, que transformaram seu papel na pesquisa científica e em tecnologias emergentes. (FELIPE *et al.*, 2025; GOMIDE *et al.*, 2025; SANTOS *et al.*, 2019).

Desde a sua descoberta na década de 1970, os polímeros condutores têm atraído crescente interesse devido à sua notável combinação de vantagens:



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

síntese de baixo custo, flexibilidade, leveza, capacidade de serem processados em filmes finos e, sobretudo, compatibilidade com sistemas biológicos. Essas características levaram à sua integração em inúmeros campos tecnológicos, como baterias recarregáveis, diodos emissores de luz, dispositivos eletroquímicos, revestimentos anticorrosivos, sistemas fotovoltaicos e, mais recentemente, biossensores (LAKARD, 2020; LIU, XIAO *et al.*, 2012).

Na área biomédica, os polímeros condutores se destacam por sua capacidade de servir como camada ativa para a imobilização de biomoléculas, sua alta biocompatibilidade, sua estabilidade eletroquímica e sua capacidade de amplificar sinais analíticos. Eles desempenham um papel central em biossensores eletroquímicos, onde servem para criar uma interface bioeletrônica entre a biomolécula de reconhecimento (DNA, enzima, anticorpo) e o eletrodo. (KUZNETSOVA *et al.*, 2023; RAMANAVICIUS; RAMANAVICIUS, 2021).

A condutividade dos polímeros condutores depende da presença de ligações π conjugadas, alternando entre ligações simples e duplas na cadeia principal do polímero. Essa configuração cria um intervalo de banda relativamente pequeno, permitindo que os elétrons π se movam sob a influência de excitação térmica ou elétrica. (EL-SAID *et al.*, 2020; RAMANAVICIUS; RAMANAVICIUS, 2021).

Em polímeros condutores como a polianilina, o polipirrol, o politiofeno ou o PABA, a condução eletrônica é garantida por: polárons, ou seja, radicais catiônicos deslocalizados; e bipolarons, dications estáveis que se movem dentro da cadeia polimérica. Esses portadores de carga se movem por meio do rearranjo local das ligações π , permitindo a passagem da corrente elétrica. (ROSTAMI; OMRANI; HAMEDIAN, 2013; SAYYAH *et al.*, 2006).

Alguns polímeros funcionam por meio de um mecanismo redox intramolecular. Nesse caso, a condução depende da transferência de elétrons



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

entre dois centros redox localizados nas unidades monoméricas. Um único polímero pode exibir condução mista eletrônica-iônica, particularmente durante processos de dopagem/desdopagem, que são essenciais para a atividade eletroquímica de polímeros condutores. Essa capacidade de condução ajustável é fundamental em biossensores, pois permite a conversão eficiente de um evento de reconhecimento biológico em um sinal eletroquímico mensurável. (KUZNETSOVA *et al.*, 2023; PATTAN-SIDDAPPA *et al.*, 2025).

Os polímeros condutores tornaram-se componentes essenciais em biossensores modernos por diversos motivos: sua estrutura permite uma interface estável entre moléculas biológicas imobilizadas (DNA, enzimas, anticorpos) e a superfície do eletrodo. O polímero garante a transmissão rápida e amplificada de sinais eletroquímicos. (LAKARD, 2020; RAMANAVICIUS; RAMANAVICIUS, 2021).

A presença de grupos funcionais (amina, carboxila, hidroxila) permite a ligação covalente ou não covalente de biomoléculas. Isso aumenta a seletividade e a especificidade do biossensor. Filmes poliméricos garantem a proteção do eletrodo e a reprodutibilidade do sinal, dois parâmetros cruciais em diagnósticos. Polianilina, polipirrol e polímeros aromáticos derivados do ácido aminobenzóico são compatíveis com microeletrodos, dispositivos portáteis e sistemas de diagnóstico no local de atendimento. (CHENG *et al.*, 2025; EL-SAID *et al.*, 2020).

São utilizados em: genossensores (DNA, RNA, microRNA); imunossensores; biossensores enzimáticos; células de biocombustível; biodetecção ambiental e detecção clínica de biomarcadores (glicose, dopamina, patógenos).

Polímeros condutores podem ser sintetizados por polimerização química, enzimática ou fotoquímica. No entanto, a polimerização eletroquímica é o método mais utilizado para biossensores devido às suas vantagens exclusivas. A eletropolimerização baseia-se em um processo eletroquímico no qual um



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

monômero aromático é oxidado na superfície de um eletrodo, gerando um radical catiônico. Esse radical se acopla a outros radicais ou monômeros para formar oligômeros e, posteriormente, filmes poliméricos. A síntese direta no eletrodo garante excelente adesão, controle preciso da espessura e morfologia do filme, a possibilidade de trabalhar em temperatura ambiente, a ausência de agentes oxidantes externos reduz a contaminação e dopantes ou nanomateriais podem ser incorporados durante o crescimento do filme. (DAKSHAYINI *et al.*, 2019; FELIPE *et al.*, 2025; FLAUZINO *et al.*, 2022; PATTAN-SIDDAPPA *et al.*, 2025a).

O mecanismo geral da eletropolimerização baseia-se em: oxidação do monômero para formar um radical catiônico estabilizado, acoplamento radical que leva à formação de dímeros, crescimento de oligômeros e precipitação do filme no eletrodo, onde se organiza em uma estrutura tridimensional. (PATTAN-SIDDAPPA *et al.*, 2025).

Quando o monômero possui grupos aromáticos ligados a oxigênio ou nitrogênio, a polimerização geralmente é mais fácil, resultando em filmes homogêneos, reproduzíveis, mecanicamente estáveis e altamente condutores. Essas características são essenciais para eletrodos funcionalizados destinados a biossensores. (DAKSHAYINI *et al.*, 2019).

O PABA, derivado do ácido 4-aminobenzoico (4-ABA), é um polímero eletroativo amplamente utilizado na modificação de eletrodos para sensores e biossensores. O monômero 4-ABA possui dois grupos funcionais importantes: um grupo amina ($-NH_2$) e um grupo carboxila ($-COOH$). O PABA é facilmente oxidável e o grupo carboxila está envolvido em interações químicas com biomoléculas. Essa dupla característica confere ao PABA uma versatilidade particular na biofuncionalização de eletrodos. As propriedades dos filmes de PABA incluem boa eletroatividade, alta estabilidade química, morfologia homogênea, capacidade de formar filmes finos e reproduzíveis e alta densidade de grupos ativos,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

facilitando a ligação covalente de DNA, microRNA ou anticorpos. (CHENG *et al.*, 2025; DAKSHAYINI *et al.*, 2019; ROSTAMI; OMRANI; HAMEDIAN, 2013).

O PABA é utilizado em diversos tipos de biossensores: Genossensores: Permite a imobilização de sondas de DNA ou microRNA por meio de interações covalentes entre os grupos carboxila do polímero e os grupos amina das sondas. Imunossensores: Anticorpos podem ser ligados por meio de reações de ativação química (EDC/NHS), possibilitando a detecção de proteínas (ex.: NS1 do vírus da dengue). (EL-SAID *et al.*, 2020; ROSTAMI; OMRANI; HAMEDIAN, 2013; SAYYAH *et al.*, 2006).

Em um estudo fundamental, pesquisadores demonstraram que o 4-ABA pode ser eletropolimerizado de forma eficiente em um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) para fabricar um sensor voltamétrico ultrasensível direcionado a dois corantes alimentares azoicos. A eletropolimerização, realizada por voltametria cíclica ao longo de 30 ciclos entre -0,3 e +1,5 V em tampão fosfato pH 7, produz um filme homogêneo de poli(4-ABA) que exibe um aumento drástico na área ativa do eletrodo (10,5 vezes) e uma redução significativa na resistência de carga (17 vezes). Esses resultados confirmam que o filme de PABA melhora simultaneamente a rugosidade, a condutividade e a estabilidade da interface eletrodo-solução características essenciais para o desenvolvimento de biossensores para biomarcadores de baixa concentração, como microRNAs. (KUZNETSOVA *et al.*, 2023; PATTAN-SIDDAPPA *et al.*, 2025).

Rostamie *et al.* em 2011, demonstraram a aplicação direta de PABA eletropolimerizado em biossensores genômicos. Depositando nanotubos de carbono entre microeletrodos de platina e, em seguida, eletropolimerizando uma fina camada (2–3 nm) de poli(4-ABA) a um potencial constante de +0,7 V, obtiveram uma plataforma capaz de imobilizar covalentemente sondas de DNA por meio dos grupos carboxílicos do polímero (reação EDC/NHS). O sensor



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

resultante detectou quantidades extremamente pequenas de DNA complementar com alta especificidade e tempo de resposta rápido (< 30 min). Essa demonstração é um precedente crucial para a detecção de miRNA, pois comprova que o PABA pode servir como um molde sólido, estável e funcional para hibridização de ácidos nucleicos. (ROSTAMI; OMRANI; HAMEDIAN, 2013).

3.4. Smartphones como plataformas portáteis para biossensores e detecção eletroquímica

Os smartphones surgiram no mercado de consumo no final da década de 1990, transformando os telefones convencionais em verdadeiros computadores de bolso. Atualmente, constituem os dispositivos móveis mais utilizados no mundo, incorporando recursos avançados, como telas sensíveis ao toque, elevada capacidade de processamento e amplo armazenamento de dados. Além das funções de comunicação, os smartphones desempenham um papel cada vez mais relevante no desenvolvimento de sistemas de detecção portáteis, atuando como plataformas para aquisição, processamento e visualização de sinais analíticos, com aplicações em áreas como saúde, meio ambiente e segurança (HUANG *et al.*, 2018; ZHANG, MEIYING; CUI; LI, 2022).

Os smartphones, bem como seus acessórios equipados com sensores, possibilitam a detecção de diferentes tipos de sinais, desde técnicas ópticas até medições eletroquímicas. Em diversas aplicações de biossensores, esses dispositivos têm demonstrado potencial para substituir instrumentos laboratoriais convencionais na detecção de interações biomoleculares, viabilizando o desenvolvimento de sistemas portáteis, de baixo custo e de fácil operação. Além disso, técnicas analíticas como fluorescência, eletroquímica e ressonância plasmônica de superfície têm sido progressivamente integradas a smartphones, permitindo a obtenção de elevados níveis de sensibilidade e seletividade (RODA *et al.*, 2014; ZHANG, DIMING *et al.*, 2015).



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Dessa forma, os smartphones configuram-se como plataformas promissoras para o controle, aquisição e análise de dados provenientes de medições eletroquímicas, incluindo voltametria e espectroscopia de impedância. A integração desses dispositivos com biossensores tem demonstrado grande potencial em aplicações como diagnóstico médico, monitoramento ambiental e detecção de contaminantes alimentares, contribuindo para o avanço de tecnologias de diagnóstico rápidas, acessíveis e de baixo custo (CALABRIA *et al.*, 2017; ZHANG, DIMING; LIU, 2016).Parte superior do formulárioParte inferior do formulário

4. NANOMATERIAS

Os nanomateriais transformaram profundamente o campo dos biossensores graças às suas propriedades únicas relacionadas ao seu tamanho nanométrico: alta relação superfície/volume, comportamento eletrônico quântico, maior reatividade superficial e diversas possibilidades de funcionalização. Esta seção descreve em detalhes três classes principais de nanomateriais amplamente utilizadas em plataformas de sensoriamento eletroquímico: nanomateriais de carbono (óxido de grafeno, grafeno), nanopartículas metálicas (ouro, prata, cobre) e nanocompósitos híbridos (BAIG *et al.*, 2021; DING *et al.*, 2024)

4.1. Nanomateriais à base de carbono

Os nanomateriais de carbono representam uma das classes mais estudadas em nanotecnologia devido à diversidade de suas formas alotrópicas e às suas excepcionais propriedades físico-químicas. Sua organização atômica, frequentemente baseada na hibridização sp^2 do carbono, confere-lhes características únicas, como alta condutividade eletrônica, alta mobilidade de elétrons π , notável resistência mecânica e uma área superficial específica extremamente elevada. Dentre esses materiais, os nanotubos de carbono (CNTs), sejam de parede simples (SWCNTs) ou de paredes múltiplas (MWCNTs), revolucionaram os campos da eletrônica flexível, nanomecânica e biossensores.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Os CNTs exibem condutividade elétrica comparável à do cobre, ao mesmo tempo que possuem um módulo de Young superior ao do aço, tornando-os materiais ideais para aplicações que exigem robustez e alta transmissão de sinal. Sua superfície pode ser funcionalizada quimicamente para imobilizar enzimas, anticorpos, ácidos nucleicos ou nanopartículas metálicas, ampliando significativamente seu uso em biossensores eletroquímicos. (JOUDEH; LINKE, 2022).

O grafeno, isolado pela primeira vez em 2004, é uma plataforma nanoestruturada de destaque devido à sua espessura monoatômica, condutividade térmica e elétrica recorde e propriedades mecânicas excepcionais. Seus derivados, como o grafeno oxidado (GO) e o grafeno reduzido (rGO), oferecem uma química de superfície ajustável que permite a ligação controlada de biomoléculas, sondas eletroativas e nanopartículas. As nanoestruturas de grafeno são hoje onipresentes em imagem, eletrônicos vestíveis, supercapacitores, membranas filtrantes e dispositivos de diagnóstico no ponto de atendimento. (SALEH, 2020).

Fulerenos (C_{60} , C_{70}), Os nanocristais de carbono (CNC) constituem outra família de nanomateriais de carbono. Sua estrutura fechada, semelhante a uma gaiola, permite que capturem elétrons e radicais livres, daí sua importância em sistemas fotovoltaicos orgânicos, antioxidantes e terapia fotodinâmica. Os nano diamantes, por outro lado, possuem uma estrutura sp^3 que lhes confere excepcional estabilidade química, alta biocompatibilidade e a possibilidade de incorporar centros de cor (centros NV) usados em sensores quânticos extremamente sensíveis. (SAJID, 2022).

Por fim, os pontos quânticos de carbono (CQDs), pequenos materiais fluorescentes (<10 nm), possuem notável foto estabilidade, baixa toxicidade e facilidade de dopagem (N, S, P, B). Eles se tornaram ferramentas poderosas para imageamento celular, detecção de íons metálicos, quantificação de



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

biomarcadores e biossensores ópticos de alta resolução. (AL-HARBI; ABD-ELRAHMAN, 2025).

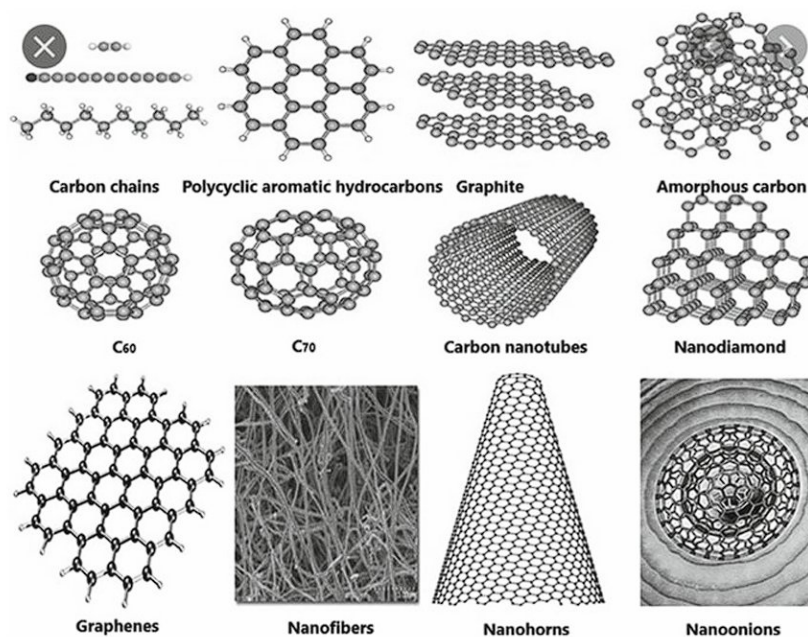


Figura 13: Alótropos do carbono. (BAIG *et al.*, 2021)

4.3. Nanomateriais Metálicos

Os nanomateriais metálicos abrangem nanopartículas, nanocúmulos, nanofios, nano-ligas e estruturas núcleo-casca compostas por metais puros ou mistos. Seu principal atrativo reside em suas propriedades plasmônicas, catalíticas e eletroquímicas, que são altamente dependentes de seu tamanho (efeito quântico), forma (nanobastões, nanoesferas, nanoestrelas) e composição (mono ou bimetálica). As nanopartículas de ouro (AuNPs), graças à ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR), exibem uma intensa resposta óptica, permitindo a detecção ultrasensível de biomoléculas, sua quantificação colorimétrica e seu uso em imagens plasmônicas. As AuNPs também são biocompatíveis e facilmente funcionalizadas, o que promove seu uso em medicina



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

regenerativa, terapia fototérmica e plataformas avançadas de biossensores.(AL-HARBI; ABD-ELRAHMAN, 2025; SANNINO, 2021).

As nanopartículas de prata (AgNPs) são conhecidas por sua atividade antibacteriana e antifúngica. Elas exercem um efeito tóxico sobre os microrganismos através da liberação de íons Ag^+ , da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e da alteração das membranas celulares. Isso as torna úteis em curativos médicos, implantes, têxteis antimicrobianos e revestimentos hospitalares antibiofilme.(SANNINO, 2021).

Nanopartículas de platina (PtNPs) e paládio (PdNPs) exibem atividade catalítica excepcional, tornando-as candidatas ideais para catalisar reações de oxidação-redução em biossensores eletroquímicos. As PtNPs são amplamente utilizadas na detecção de glicose, peróxido de hidrogênio, NADH e diversos analitos clinicamente relevantes. Nano-ligas (por exemplo, Au-Ag, Au-Cu, Pt-Pd, Ni-Co) permitem o ajuste fino das propriedades catalíticas, plasmônicas e eletromagnéticas. Estruturas núcleo-casca combinam múltiplas funcionalidades, como magnetismo + plasmônica, permitindo captura magnética simultânea, purificação biomolecular e detecção óptica. (SALEM *et al.*, 2023).

4.4. Nanomateriais cerâmicos (óxidos, nitretos, carbetos)

Os nanomateriais cerâmicos constituem um grupo muito amplo que engloba nanoestruturas de óxidos, nitretos e carbetos metálicos, conhecidos por sua alta estabilidade térmica, dureza, inércia química e propriedades ópticas ou magnéticas específicas. Entre os mais estudados, os óxidos metálicos nanoestruturados ocupam um lugar central. O dióxido de titânio (TiO_2) é um exemplo. TiO_2 , por exemplo, existe em diversas fases cristalinas (anatásio, rutilo, brookita), cada uma com uma atividade fotocatalítica diferente. Em nanoescala, o TiO_2 Sua relação área superficial/volume aumenta, aprimorando suas capacidades de adsorção, catálise e fotogeração de elétrons e lacunas. É



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

utilizado em fotocatalise ambiental, tratamento de água, painéis solares e sensores eletroquímicos. (SAJID, 2022; SALEM *et al.*, 2023).

O óxido de zinco nanoestruturado (ZnO), com suas propriedades semicondutoras, piezoelétricas e luminescentes, é utilizado em LEDs, detectores de UV, biossensores e membranas antibacterianas. Nanopartículas de óxido de ferro (Fe)₃O₄, γ-Fe₂O₃. Esses materiais possuem superparamagnetismo, o que lhes permite comportar-se como materiais não magnéticos na ausência de um campo externo, mantendo-se altamente reativos quando um campo magnético é aplicado. Essas propriedades são fundamentais para imagens de ressonância magnética, hipertermia para tratamento de câncer, separação biomagnética e terapias direcionadas. (AL-HARBI; ABD-ELRAHMAN, 2025; SALEH, 2020).

Nitretos (se₃N₄), os carbetos (TiC, SiC) e o nitreto de boro (BN) exibem alta estabilidade térmica, alta condutividade térmica e excepcional resistência ao desgaste. Nitretos como o nitreto de boro hexagonal (h-BN), também conhecido como "grafeno branco", possuem alta condutividade térmica, mas são isolantes elétricos, o que os torna úteis na fabricação de compósitos térmicos, membranas nanofiltrantes e dispositivos ópticos. Carbetos ultraduros são utilizados em implantes, revestimentos protetores e como catalisadores robustos para condições extremas. (LOWRY *et al.*, 2012a).

4.5. Nanomateriais Poliméricos

Os nanomateriais poliméricos abrangem uma ampla gama de nanoestruturas derivadas de polímeros naturais, semissintéticos ou sintéticos. Suas principais vantagens residem na flexibilidade química, biocompatibilidade ajustável, capacidade de encapsulação e degradabilidade controlada. Nanopartículas poliméricas podem encapsular fármacos, peptídeos, siRNA, CRISPR-Cas9 ou agentes de diagnóstico, garantindo a liberação controlada. Elas podem ser



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

direcionadas a órgãos específicos por meio da funcionalização da superfície (ligantes, anticorpos, peptídeos). (KOLAHALAM *et al.*, 2019).

Nanogéis e hidrogéis nanoestruturados são redes poliméricas hidratadas capazes de responder a estímulos como pH, temperatura, campos magnéticos, luz ou enzimas. Esses materiais são essenciais para a administração inteligente de medicamentos, engenharia de tecidos, cicatrização avançada de feridas e biossensores sensíveis. (RIZWAN *et al.*, 2014).

Polímeros condutores (PANI, PPy, PEDOT, PABA) desempenham um papel fundamental na eletroquímica. Sua estrutura conjugada permite a deslocalização de elétrons π , resultando em condutividade que pode ser ajustada por dopagem (ácidos, bases ou moléculas eletroativas). Eles constituem matrizes ideais para biossensores, pois oferecem estabilidade mecânica, biocompatibilidade adequada, grande área superficial ativa e a capacidade de imobilizar biomoléculas. A eletropolimerização possibilita a formação de filmes finos altamente controlados sobre eletrodos, abrindo caminho para dispositivos miniaturizados e de alta sensibilidade. (CHEN *et al.*, 2013).

As nanofibras poliméricas, obtidas por eletrofiação, possuem uma relação área superficial/volume muito alta e porosidade ajustável. Elas são utilizadas em curativos inteligentes, membranas filtrantes, suportes para cultura celular, tecidos artificiais e sistemas de liberação controlada de fármacos. Os dendrímeros e micelas poliméricas, por sua vez, oferecem arquiteturas organizadas, possibilitando a administração direcionada, o imageamento e a terapia combinada. (LOWRY *et al.*, 2012).

4.6. Nanomateriais derivados de biomoléculas ou bioinspirados

Os nanomateriais de origem biológica, criados a partir de biomoléculas naturais (proteínas, peptídeos, ácidos nucleicos, polissacarídeos, lipídios), distinguem-se pela sua biocompatibilidade intrínseca, degradabilidade e



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

capacidade de interagir seletivamente com sistemas vivos. Nanomateriais proteicos, como nanocápsulas de ferritina, partículas semelhantes a vírus (VLPs) ou proteínas auto-organizadas, podem encapsular enzimas, fármacos ou vacinas. Eles se beneficiam de estruturas naturalmente otimizadas pela evolução para o reconhecimento molecular. (RIZWAN *et al.*, 2014).

Peptídeos auto-organizados podem formar nanofibras, nanotubos ou nanorribons que mimetizam certas estruturas naturais da matriz extracelular. Essas arquiteturas são utilizadas em engenharia de tecidos, regeneração neural, terapia anti-inflamatória ou como matrizes para o crescimento celular. Peptídeos também podem ser usados no reconhecimento molecular para biossensores. (BAIG *et al.*, 2021; DING *et al.*, 2024).

Nanoestruturas de DNA e RNA, incluindo origami de DNA e nanorrobôs moleculares, são capazes de auto-montagem com precisão atômica graças às regras de complementaridade de bases. Elas possibilitam o desenvolvimento de estruturas tridimensionais programáveis para direcionamento específico, circuitos lógicos biomoleculares, terapia gênica e diagnósticos ultrassensíveis via aptâmeros. (AGHABABAI BENI; JABBARI, 2022).

Polissacarídeos como quitosana, alginato, celulose nanocristalina ou ácido hialurônico dão origem a nanopartículas biodegradáveis, filmes mucoadesivos, géis injetáveis e vetores terapêuticos. Finalmente, nanomateriais bioinspirados, como nanoenzimas (enzimas artificiais), nanopartículas que mimetizam vírus ou estruturas inspiradas em sistemas mineralizados naturais, combinam as vantagens dos organismos vivos com a robustez dos materiais inorgânicos. (CHEN *et al.*, 2013; RIZWAN *et al.*, 2014).

A seguir, serão apresentados a metodologia, os materiais, os reagentes, os resultados e as técnicas experimentais utilizadas no desenvolvimento do



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

biossensor eletroquímico SPCE/PABA/miR-200a, incluindo a integração com um sistema de leitura portátil via smartphone para a detecção de miRNA salivar.

REFERENCIAS

ABOHALAWA, Bushra Yasin et al. MicroRNAome profiling of breast cancer unveils hsa-miR-5683 as a tumor suppressor microRNA predicting favorable clinical outcome. *Cancer Cell International* , v. 24, n. 1, 1 dez. 2024. <https://doi.org/10.1186/s12935-024-03550-8>

ABRAHAM, Jean E et al. Saliva samples are a viable alternative to blood samples as a source of DNA for high throughput genotyping. . [S.l: s.n.], 2012. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1755-8794/5/1/19>. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-5-19>

AGHABABAI BENI, Ali; JABBARI, Hadi. *Nanomaterials for Environmental Applications. Results in Engineering*. [S.l.]: Elsevier B.V. , 1 set. 2022 <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2022.100467>

AHMADI-HADAD, Armia et al. Reawakening the master switches in triple-negative breast cancer: A strategic blueprint for confronting metastasis and chemoresistance via microRNA-200/205: A systematic review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. [S.l.]: Elsevier Ireland Ltd. , 1 dez. 2024 <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2024.104516>

AL-HARBI, Nuha; ABD-ELRAHMAN, Nabil K. Physical methods for preparation of nanomaterials, their characterization and applications: a review. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*. [S.l.]: Springer. , 1 jun. 2025

ALIMIRZAI, Sahar; BAGHERZADEH, Maryam; AKBARI, Mohammad R. Liquid biopsy in breast cancer: A comprehensive review. 2019a. Disponível em: <https://publons.com/publon/>. <https://doi.org/10.1111/cge.13514>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

ALIMIRZAI, Sahar; BAGHERZADEH, Maryam; AKBARI, Mohammad R. Liquid biopsy in breast cancer: A comprehensive review. 2019b. Disponível em: <<https://publons.com/publon/>>. <https://doi.org/10.1111/cge.13514>

BAIG, Nadeem et al. Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. Materials Advances. [S.l.]: Royal Society of Chemistry. , 21 mar. 2021

BISTONI, Giovanni; FARHADI, Jian. Anatomy and Physiology of the Breast. Plastic and Reconstructive Surgery: Approaches and Techniques. [S.l.]: wiley, 2015. p. 477-485. <https://doi.org/10.1002/9781118655412.ch37>

BORISOV, Sergey M.; WOLFBEIS, Otto S. Optical biosensors. Chemical Reviews. [S.l.: s.n.], fev. 2008 <https://doi.org/10.1021/cr068105t>

CALABRIA, Donato et al. Smartphone-based enzymatic biosensor for oral fluid L-lactate detection in one minute using confined multilayer paper reflectometry. Biosensors and Bioelectronics, v. 94, p. 124-130, 15 ago. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.02.053>

CAVALLARI, Ilaria et al. The miR-200 family of microRNAs: Fine tuners of epithelial-mesenchymal transition and circulating cancer biomarkers. Cancers. [S.l.]: MDPI. , 1 dez. 2021a <https://doi.org/10.3390/cancers13235874>

CAVALLARI, Ilaria et al. The miR-200 family of microRNAs: Fine tuners of epithelial-mesenchymal transition and circulating cancer biomarkers. Cancers. [S.l.]: MDPI. , 1 dez. 2021b <https://doi.org/10.3390/cancers13235874>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

CHADHA, Utkarsh et al. Recent progress and growth in biosensors technology: A critical review. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. [S.l.]: Korean Society of Industrial Engineering Chemistry. , 25 maio 2022
<https://doi.org/10.1016/j.jiec.2022.02.010>

CHEN, Guanying et al. Nanochemistry and nanomaterials for photovoltaics. Chemical Society Reviews. [S.l.]: Royal Society of Chemistry. , 7 nov. 2013
<https://doi.org/10.1039/c3cs60054h>

CHENG, Tingting et al. Nanostructured conductive polymers: synthesis and application in biomedicine. Journal of Materials Chemistry B. [S.l.]: Royal Society of Chemistry. , 20 mar. 2025

CHRISTGEN, Matthias et al. Lobular breast cancer: Histomorphology and different concepts of a special spectrum of tumors. Cancers. [S.l.]: MDPI AG. , 1 ago. 2021
<https://doi.org/10.3390/cancers13153695>

COCKENPOT, V. Pathological examination in breast oncology: Overview of histological types, examination procedures, predictive and innovative biomarkers. Annales de Chirurgie Plastique Esthétique, v. 70, n. 6, p. 500-510, 1 nov. 2025.
<https://doi.org/10.1016/j.anplas.2025.06.017>

DAKSHAYINI, B. S. et al. Role of conducting polymer and metal oxide-based hybrids for applications in amperometric sensors and biosensors. Microchemical Journal. [S.l.]: Elsevier Inc. , 1 jun. 2019
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.061>

DING, Guanglong et al. Nanomaterials for Flexible Neuromorphics. Chemical Reviews. [S.l.]: American Chemical Society. , 27 nov. 2024



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

DYRSTAD, Sara W. et al. Breast cancer risk associated with benign breast disease: systematic review and meta-analysis. Breast Cancer Research and Treatment. [S.l.]: Springer Science and Business Media, LLC. , 1 fev. 2015a <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3254-6>

DYRSTAD, Sara W. et al. Breast cancer risk associated with benign breast disease: systematic review and meta-analysis. Breast Cancer Research and Treatment. [S.l.]: Springer Science and Business Media, LLC. , 1 fev. 2015b <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3254-6>

EL-SAID, Waleed A. et al. Application of conducting polymer nanostructures to electrochemical biosensors. Molecules. [S.l.]: MDPI AG. , 2020a <https://doi.org/10.3390/molecules25020307>

EL-SAID, Waleed A. et al. Application of conducting polymer nanostructures to electrochemical biosensors. Molecules. [S.l.]: MDPI AG. , 2020b <https://doi.org/10.3390/molecules25020307>

FAUR, Cosmin Ioan et al. Salivary exosomal microRNAs as biomarkers for head and neck cancer detection-a literature review. Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery. [S.l.]: Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. , 1 dez. 2021 <https://doi.org/10.1186/s40902-021-00303-9>

FELIPE, Ana Consuelo et al. Electropolymerization of p-anisidine: influence of pH on electrosynthesis. Chemical Papers, v. 79, n. 4, p. 2091-2104, 1 abr. 2025. <https://doi.org/10.1007/s11696-025-03908-w>

FENG, Xiangling et al. MiR-200, a new star miRNA in human cancer. Cancer Letters. [S.l.]: Elsevier Ireland Ltd. , 28 mar. 2014 <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.11.004>

FERREIRA, Fábio P. et al. A novel polymer-based genosensor for the detection



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

and quantification of *Streptococcus pneumoniae* in genomic DNA sample. *Polymer Engineering and Science*, v. 58, n. 8, p. 1308-1314, 1 ago. 2018.
<https://doi.org/10.1002/pen.24707>

FLAUZINO, José M.R. et al. Label-free and reagentless electrochemical genosensor based on graphene acid for meat adulteration detection. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 195, 1 jan. 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113628>

FONTANA, Andrea et al. Development of a microRNA-based prognostic model for accurate prediction of distant metastasis in breast cancer patients. *Breast Cancer Research*, v. 27, n. 1, 1 dez. 2025.
<https://doi.org/10.1186/s13058-025-02124-4>

FREITAS, Ana Julia Aguiar De et al. Liquid Biopsy as a Tool for the Diagnosis, Treatment, and Monitoring of Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. [S.l.]: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). , 1 set. 2022
<https://doi.org/10.3390/ijms23179952>

GÁL, Kristóf et al. Analysis of the Circulating miRNome Expression Profile in Saliva Samples After Neoadjuvant Chemoradiotherapy in a Rectal Cancer Study Population Using Next-Generation Sequencing. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 21, p. 10506, 29 out. 2025. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/1422-0067/26/21/10506> > .
<https://doi.org/10.3390/ijms262110506>

GARCIA SAENZ, Jose Angel et al. SEOM-GEICAM-SOLTI clinical guidelines in advanced breast cancer (UPDATE 2025). *Clinical and Translational Oncology*, 2025.
<https://doi.org/10.1007/s12094-025-04102-w>

GERMAIN, Doris. Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. [S.l.: s.n.], set. 2011
<https://doi.org/10.1016/j.ecl.2011.05.009>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

GJ, Mizejewski. Does Elevated Alpha-fetoprotein During Pregnancy Protect Against Breast Cancer Later in Life? A Commentary. *Anatomy & Physiology*, v. 06, n. 03, 2016.
<https://doi.org/10.4172/2161-0940.1000e139>

GOMIDE, José A.L. et al. Advancement in SARS-CoV-2 diagnosis: A new and stable electrochemical biosensor for genomic RNA detection. *Bioelectrochemistry*, v. 161, 1 fev. 2025.
<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2024.108798>

GORGANI, Leila et al. Metal-organic framework (MOF)-based biosensors for miRNA detection. *Talanta*. [S.l.]: Elsevier B.V. , 1 jun. 2024
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125854>

GRAVGAARD, Karina H. et al. The miRNA-200 family and miRNA-9 exhibit differential expression in primary versus corresponding metastatic tissue in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, v. 134, n. 1, p. 207-217, 2012.
<https://doi.org/10.1007/s10549-012-1969-9>

GREITHER, Thomas et al. Salivary miR-93 and miR-200a as post-radiotherapy biomarkers in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncology Reports*, v. 38, n. 2, p. 1268-1275, 1 ago. 2017.
<https://doi.org/10.3892/or.2017.5764>

GUO, Runsheng et al. MiR-200a negatively regulates TGF-1-induced epithelial-mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells by targeting ZEB1/2 expression. *Am J Physiol Renal Physiol*, v. 314, p. 1087-1095, 2018. Disponível em: <<http://www.ajprenal.org>>.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00566.2016>

GURAY, Merih; SAHIN, Aysegul A. Benign Breast Diseases: Classification, Diagnosis, and Management. *The Oncologist*, v. 11, n. 5, p. 435-449, 1 maio 2006.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

<https://doi.org/10.1634/theoncologist.11-5-435>

HENG, Yujing J. et al. The molecular basis of breast cancer pathological phenotypes. *Journal of Pathology*, v. 241, n. 3, p. 375-391, 1 fev. 2017.
<https://doi.org/10.1002/path.4847>

HU, Ke et al. Exosomes mediated transfer of Circ-UBE2D2 enhances the resistance of breast cancer to tamoxifen by binding to MiR-200a-3p. *Medical Science Monitor*, v. 26, 2020.
<https://doi.org/10.12659/MSM.922253>

HUANG, Xiwei et al. Smartphone-based analytical biosensors. *Analyst*. [S.l.]: Royal Society of Chemistry, 21 nov. 2018

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 12 jan. 2026.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 12 jan. 2026.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Conceito e magnitude do câncer de mama. Brasília: INCA, 2025.

Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-de-mama/conceito-e-magnitude>. Acesso em: 12 jan. 2026.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC).

Global Cancer Observatory (GLOBOCAN). Lyon: World Health Organization, 2025. Disponível em: <https://gco.iarc.fr>. Acesso em: 12 jan. 2026.

JACOT, W.; ROMIEU, G.; LAMY, P. J. Cancer du sein métastatique : progrès dans la prise en charge et limites actuelles. *Medecine Nucleaire*. [S.l: s.n.], jan. 2010

<https://doi.org/10.1016/j.femme.2011.10.005>

JATOI, Ismail; KAUFMANN, Manfred. Management of breast diseases. [S.l.: Springer Berlin Heidelberg, 2010.

<https://doi.org/10.1007/978-3-540-69743-5>

JELSKI, Wojciech; OKRASINSKA, Sylwia; MROCZKO, Barbara. microRNAs as Biomarkers of Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. [S.l.: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). , 1 maio 2025

<https://doi.org/10.3390/ijms26094395>

JIN, Xin; MU, Ping. Targeting breast cancer metastasis. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*, v. 9, p. 23-34, 2 set. 2015.

<https://doi.org/10.4137/BCBCR.S25460>

JOUDEH, Nadeem; LINKE, Dirk. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*. [S.l.: BioMed Central Ltd. , 1 dez. 2022

<https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>

KALLIGOSFYRI, Panagiota M. et al. Enzyme-Assisted Electrochemical Point-of-Care Test for miRNA Detection in Liquid Biopsy. *Analytical Chemistry*, v. 96, n. 49, p. 19202-19206, 10 dez. 2024.

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c04127>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

KAMIŃSKA, Marzena et al. Breast cancer risk factors. *Przegląd Menopauzalny*. [S.l.]: Termedia Publishing House Ltd. , 2015
<https://doi.org/10.5114/pm.2015.54346>

KIM, Joanne et al. Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries. *Nature Medicine*, v. 31, n. 4, p. 1154-1162, 1 abr. 2025.
<https://doi.org/10.1038/s41591-025-03502-3>

KISSINGER, Peter T. Biosensors - A perspective. *Biosensors and Bioelectronics*. [S.l.]: Elsevier Ltd. , 15 jun. 2005
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2004.10.004>

KLICKA, Klaudia et al. The role of miR-200 family in the regulation of hallmarks of cancer. *Frontiers in Oncology*. [S.l.]: Frontiers Media S.A. , 8 set. 2022
<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.965231>

KOLAHALAM, Lalitha A. et al. Review on nanomaterials: Synthesis and applications. 2019, [S.l.]: Elsevier Ltd, 2019. p. 2182-2190.
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.07.371>

KUZNETSOVA, Lyubov S. et al. Conductive Polymers and Their Nanocomposites: Application Features in Biosensors and Biofuel Cells. *Polymers*. [S.l.]: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). , 1 set. 2023a
<https://doi.org/10.3390/polym15183783>

KUZNETSOVA, Lyubov S. et al. Conductive Polymers and Their Nanocomposites: Application Features in Biosensors and Biofuel Cells. *Polymers*. [S.l.]: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). , 1 set. 2023b
<https://doi.org/10.3390/polym15183783>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

LAKARD, Boris. Electrochemical biosensors based on conducting polymers: A review. Applied Sciences (Switzerland). [S.l.]: MDPI AG. , 1 set. 2020a
<https://doi.org/10.3390/app10186614>

LAKARD, Boris. Electrochemical biosensors based on conducting polymers: A review. Applied Sciences (Switzerland). [S.l.]: MDPI AG. , 1 set. 2020b
<https://doi.org/10.3390/app10186614>

LI, Mengdan et al. Breast cancer screening and early diagnosis in China: a systematic review and meta-analysis on 10.72 million women. BMC Women's Health, v. 24, n. 1, 1 dez. 2024.
<https://doi.org/10.1186/s12905-024-02924-4>

LI, X. et al. MiR-200 can repress breast cancer metastasis through ZEB1-independent but moesin-dependent pathways. Oncogene, v. 33, n. 31, p. 4077-4088, 31 jul. 2014.
<https://doi.org/10.1038/onc.2013.370>

LIU, Xiao et al. Electropolymerization of 4-aminobenzoic acid containing nano-Au deposited on carbon paste electrode for determination of acetaminophen. J. Iranian Chem. Res, v. 5, n. 3, p. 161-171, 2012.

LIU, Yewei et al. Mammalian models of chemically induced primary malignancies exploitable for imaging-based preclinical theragnostic research. Quantitative imaging in medicine and surgery, v. 5, n. 5, p. 708-29, out. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26682141>>.

LOWRY, Gregory V. et al. Transformations of nanomaterials in the environment. Environmental Science and Technology, v. 46, n. 13, p. 6893-6899, 3 jul. 2012a.
<https://doi.org/10.1021/es300839e>

LOWRY, Gregory V. et al. Transformations of nanomaterials in the environment. Environmental Science and Technology, v. 46, n. 13, p. 6893-6899, 3 jul. 2012b.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

<https://doi.org/10.1021/es300839e>

MAN, Xiaxia et al. DNMT3A and DNMT3B in Breast Tumorigenesis and Potential Therapy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. [S.l.]: Frontiers Media S.A. , 10 maio 2022
<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.916725>

MAYROVITZ, Harvey N. Breast Cancer. . [S.l: s.n.], [S.d.].

MEHROTRA, Parikha. Biosensors and their applications - A review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. [S.l.]: Elsevier B.V. , 1 maio 2016

MENDES, João et al. Deep learning in breast cancer risk prediction: a review of recent applications in full-field digital mammography. *Frontiers in Oncology*. [S.l.]: Frontiers Media SA. , 2025
<https://doi.org/10.3389/fonc.2025.1656842>

MIRANDA, Felipe Silva De et al. MicroRNA as a promising molecular biomarker in the diagnosis of breast cancer. *Frontiers in Molecular Biosciences*, v. 11, 2024.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2024.1337706>

MOBED, Ahmad et al. Biosensors; nanomaterial-based methods in diagnosing of Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*. [S.l.]: Elsevier Ltd. , 1 fev. 2024
<https://doi.org/10.1016/j.jctube.2023.100412>

MOMENIMOVAHED, Zohre; SALEHINIYA, Hamid. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer: Targets and Therapy*. [S.l.]: Dove Medical Press Ltd., 2019
<https://doi.org/10.2147/BCTT.S176070>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

MONGROO, Perry S.; RUSTGI, Anil K. The role of the miR-200 family in epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Biology and Therapy*. [S.l.]: Landes Bioscience. , 1 ago. 2010
<https://doi.org/10.4161/cbt.10.3.12548>

NARESH, Varnakavi; LEE, Nohyun. A review on biosensors and recent development of nanostructured materials-enabled biosensors. *Sensors (Switzerland)*. [S.l.]: MDPI AG. , 2 fev. 2021
<https://doi.org/10.3390/s21041109>

NEGAHDARY, Masoud; ANGNES, Lúcio. Application of electrochemical biosensors for the detection of microRNAs (miRNAs) related to cancer. *Coordination Chemistry Reviews*. [S.l.]: Elsevier B.V. , 1 ago. 2022
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2022.214565>

PARK, Noh Jin et al. Salivary microRNA: Discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clinical Cancer Research*, v. 15, n. 17, p. 5473-5477, 1 set. 2009.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0736>

PATERSON, Emily L. et al. Down-regulation of the miRNA-200 family at the invasive front of colorectal cancers with degraded basement membrane indicates EMT is involved in cancer progression. *Neoplasia (United States)*, v. 15, n. 2, p. 180-191, 2013.
<https://doi.org/10.1593/neo.121828>

PATTAN-SIDDAPPA, Ganesh et al. Flexible carbon cloth electrode: pioneering the future of electrochemical sensing devices. *Advanced Composites and Hybrid Materials*. [S.l.]: Springer Science and Business Media B.V. , 1 jun. 2025a
<https://doi.org/10.1007/s42114-025-01338-6>

PATTAN-SIDDAPPA, Ganesh et al. Flexible carbon cloth electrode: pioneering the future of electrochemical sensing devices. *Advanced Composites and Hybrid Materials*. [S.l.]: Springer Science and Business Media B.V. , 1 jun. 2025b



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

<https://doi.org/10.1007/s42114-025-01338-6>

PEARLMAN, Mark D; GRIFFIN, Jennifer L. Clinical Expert Series Benign Breast Disease. Obstet Gynecol. [S.l: s.n.], 2010. Disponível em: <<http://www.nccn.org>>. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181ee9fc7>

PEDÜK, Şevki. Mapping the future of early breast cancer diagnosis: a bibliometric analysis of AI innovations. Discover Oncology, v. 16, n. 1, 1 dez. 2025. <https://doi.org/10.1007/s12672-025-03495-y>

POLYAK, Kornelia. Breast cancer: Origins and evolution. Journal of Clinical Investigation. [S.l: s.n.], 1 nov. 2007a

PROVENZANO, Elena; ULANER, Gary A.; CHIN, Suet Feung. Molecular Classification of Breast Cancer. PET Clinics. [S.l.]: W.B. Saunders. , 1 jul. 2018a <https://doi.org/10.1016/j.cpet.2018.02.004>

PROVENZANO, Elena; ULANER, Gary A.; CHIN, Suet Feung. Molecular Classification of Breast Cancer. PET Clinics. [S.l.]: W.B. Saunders. , 1 jul. 2018b <https://doi.org/10.1016/j.cpet.2018.02.004>

RAMANAVICIUS, Simonas; RAMANAVICIUS, Arunas. Conducting polymers in the design of biosensors and biofuel cells. Polymers. [S.l.]: MDPI AG. , 1 jan. 2021a <https://doi.org/10.3390/polym13010049>

RAMANAVICIUS, Simonas; RAMANAVICIUS, Arunas. Conducting polymers in the design of biosensors and biofuel cells. Polymers. [S.l.]: MDPI AG. , 1 jan. 2021b <https://doi.org/10.3390/polym13010049>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

RICHIE, Rodney C; SWANSON, John O. Breast Cancer: A Review of the Literature. Journal of Insurance Medicine J Insur Med. [S.l: s.n.], 2003.

RIZWAN, Md. et al. Ecofriendly Application of Nanomaterials: Nanobioremediation. Journal of Nanoparticles, v. 2014, p. 1-7, 19 jun. 2014a. <https://doi.org/10.1155/2014/431787>

RIZWAN, Md. et al. Ecofriendly Application of Nanomaterials: Nanobioremediation. Journal of Nanoparticles, v. 2014, p. 1-7, 19 jun. 2014b. <https://doi.org/10.1155/2014/431787>

RODA, Aldo et al. A 3D-printed device for a smartphone-based chemiluminescence biosensor for lactate in oral fluid and sweat. Analyst, v. 139, n. 24, p. 6494-6501, 10 nov. 2014. <https://doi.org/10.1039/C4AN01612B>

ROHEEL, Amna et al. Global epidemiology of breast cancer based on risk factors: a systematic review. Frontiers in Oncology. [S.l.]: Frontiers Media SA. , 2023 <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1240098>

ROSTAMI, Ali; OMRANI, Abdollah; HAMEDIAN, Nooshin. Flower-like morphology of poly(m-aminobenzoic acid) deposited at GC surface in the presence of silica nanoparticles: Electropolymerization and characterization. Monatshefte fur Chemie, v. 144, n. 12, p. 1775-1782, dez. 2013. <https://doi.org/10.1007/s00706-013-1063-y>

ROY, Madhuchhanda et al. Molecular Classification of Breast Cancer. PET Clinics. [S.l.]: W.B. Saunders. , 1 out. 2023

SAJID, Muhammad. Nanomaterials: types, properties, recent advances, and toxicity concerns. Current Opinion in Environmental Science and Health. [S.l.]: Elsevier B.V. , 1 fev. 2022 <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2021.100319>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

SALAHANDISH, Razieh et al. Label-free ultrasensitive detection of breast cancer miRNA-21 biomarker employing electrochemical nano-genosensor based on sandwiched AgNPs in PANI and N-doped graphene. Biosensors and Bioelectronics, v. 120, p. 129-136, 30 nov. 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.08.025>

SALEH, Tawfik A. Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. Environmental Technology and Innovation. [S.l.]: Elsevier B.V. , 1 nov. 2020
<https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101067>

SALEM, Salem S. et al. A Comprehensive Review of Nanomaterials: Types, Synthesis, Characterization, and Applications. Biointerface Research in Applied Chemistry, v. 13, n. 1, 15 fev. 2023.
<https://doi.org/10.33263/BRIAC131.041>

SANNINO, Diana. Types and Classification of Nanomaterials. Nanotechnology: Trends and Future Applications. [S.l.]: Springer Singapore, 2021. p. 15-38.
https://doi.org/10.1007/978-981-15-9437-3_2

SANTOS, Cátia da Cruz et al. Electropolymerization of phenol and aniline derivatives: Synthesis, characterization and application as electrochemical transducers. Journal of Electroanalytical Chemistry, v. 846, 1 ago. 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.05.045>

SAYYAH, S. M. et al. Electropolymerization of o-aminobenzoic acid and characterization of the obtained polymer films. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials. [S.l.: s.n.], 1 jan. 2006
<https://doi.org/10.1080/009140390909763>

SENFETER, Daniel et al. The microRNA-200 family: Still much to discover. Biomolecular Concepts, v. 7, n. 5-6, p. 311-319, 1 dez. 2016.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

<https://doi.org/10.1515/bmc-2016-0020>

SHAH, Rupen; ROSSO, Kelly; DAVID NATHANSON, S. Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. World Journal of Clinical Oncology. [S.l.]: Baishideng Publishing Group Co., Limited. , 10 ago. 2014
<https://doi.org/10.5306/wjco.v5.i3.283>

SHARMA, Dinesh Kumar; SARIPILLI, Rajeswari. Recent strategies in diagnosis, screening, prevention, and treatment of breast cancer in young women. Discover Oncology. [S.l.]: Springer Science and Business Media B.V. , 1 dez. 2025
<https://doi.org/10.1007/s12672-025-03180-0>

SMOLARZ, Beata; ZADROŻNA NOWAK, Anna; ROMANOWICZ, Hanna. Breast Cancer-Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature). Cancers. [S.l.]: MDPI. , 1 maio 2022
<https://doi.org/10.3390/cancers14102569>

STACHS, Angrit et al. Benign breast disease in women. Deutsches Arzteblatt International, v. 116, n. 33-34, p. 565-573, 19 ago. 2019.

TARIGHATI, Elaheh; KEIVAN, Hadi; MAHANI, Hojjat. A review of prognostic and predictive biomarkers in breast cancer. Clinical and Experimental Medicine. [S.l.]: Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. , 1 fev. 2023
<https://doi.org/10.1007/s10238-021-00781-1>

TSANG, Julia Y S; TSE, Gary M. Molecular Classification of Breast Cancer. . [S.l.: s.n.], 2019a. Disponível em: <www.anatomicpathology.com>.
<https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000232>

TSANG, Julia Y S; TSE, Gary M. Molecular Classification of Breast Cancer. . [S.l.: s.n.], 2019b. Disponível em: <www.anatomicpathology.com>.
<https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000232>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

TSANG, Julia Ys; TSE, Gary M. Classification moléculaire du cancer du sein. . [S.l: s.n.], 2019.

TSOUKO, Efrosini et al. miR-200a inhibits migration of triple-negative breast cancer cells through direct repression of the EPHA2 oncogene. Carcinogenesis, v. 36, n. 9, p. 1051-1060, 24 mar. 2015.
<https://doi.org/10.1093/carcin/bgv087>

TURNER, Anthony P.F. Biosensors: Sense and sensibility. Chemical Society Reviews, v. 42, n. 8, p. 3184-3196, 25 mar. 2013.
<https://doi.org/10.1039/c3cs35528d>

UNGER-SALDAÑA, Karla. Challenges to the early diagnosis and treatment of breast cancer in developing countries. World Journal of Clinical Oncology. [S.l.]: Baishideng Publishing Group Co., Limited. , 10 ago. 2014
<https://doi.org/10.5306/wjco.v5.i3.465>

VUONG, Darina et al. Molecular classification of breast cancer. Virchows Archiv. [S.l.]: Springer Verlag. , 2014a
<https://doi.org/10.1007/s00428-014-1593-7>

VUONG, Darina et al. Molecular classification of breast cancer. Virchows Archiv. [S.l.]: Springer Verlag. , 2014b
<https://doi.org/10.1007/s00428-014-1593-7>

WANG, Xuehui et al. Hsa_circ_0005273 facilitates breast cancer tumorigenesis by regulating YAP1-hippo signaling pathway. Journal of Experimental and Clinical Cancer Research, v. 40, n. 1, 1 dez. 2021.
<https://doi.org/10.1186/s13046-021-01830-z>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Breast cancer. Geneva: World Health



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Organization, 2025. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>. Acesso em: 20 nov. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Cancer control: Breast cancer. Geneva: World Health Organization, 2025. Disponível em: <https://www.who.int/teams/noncommunicable-diseases/cancer>. Acesso em: 14 jan. 2026.

WU, Chenghui et al. Cancer-associated fibroblast promotes tamoxifen resistance in estrogen receptor positive breast cancer via exosomal LncRNA PRKCQ-AS1/miR-200a-3p/MKP1 axis-mediated apoptosis suppression. Journal of Experimental and Clinical Cancer Research, v. 44, n. 1, 1 dez. 2025. <https://doi.org/10.1186/s13046-025-03529-x>

WU, Hsing Ju; CHU, Pei Yi. Current and Developing Liquid Biopsy Techniques for Breast Cancer. Cancers. [S.l.]: MDPI, 1 maio 2022 <https://doi.org/10.3390/cancers14092052>

YAGER, James D; DAVIDSON, Nancy E. Carcinogenèse des oestrogènes dans le cancer du sein. [S.l: s.n.], 2006. Disponível em: <www.nejm.org>.

YARA, Dinesh; OROSZI, Terry. Understanding Breast Cancer: A Comprehensive Review of Epidemiology, Risk Factors, and Treatment Strategies. Advances in Breast Cancer Research, v. 14, n. 01, p. 1-15, 2025. <https://doi.org/10.4236/abcr.2025.141001>

YEZHELYEV, Maksym V et al. Review Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. [S.l: s.n.], 2006. Disponível em: <<http://oncology.thelancet.comVol>>. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(06\)70793-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(06)70793-8)

YU, San Jian et al. MicroRNA-200a confers chemoresistance by antagonizing TP53INP1 and YAP1 in human breast cancer. BMC Cancer, v. 18, n. 1, 12 jan.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

2018a.

<https://doi.org/10.1186/s12885-017-3930-0>

YU, San Jian et al. MicroRNA-200a confers chemoresistance by antagonizing TP53INP1 and YAP1 in human breast cancer. BMC Cancer, v. 18, n. 1, 12 jan. 2018b.

<https://doi.org/10.1186/s12885-017-3930-0>

ZHANG, Diming et al. Smartphone-based portable biosensing system using impedance measurement with printed electrodes for 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) detection. Biosensors and Bioelectronics, v. 70, p. 81-88, 5 ago. 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.03.004>

ZHANG, Diming; LIU, Qingjun. Biosensors and bioelectronics on smartphone for portable biochemical detection. Biosensors and Bioelectronics. [S.l.]: Elsevier Ltd. , 15 jan. 2016
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.08.037>

ZHANG, Guangxin et al. MicroRNA-200c and microRNA- 141 are regulated by a FOXP3-KAT2B axis and associated with tumor metastasis in breast cancer. Breast Cancer Research, v. 19, n. 1, 21 jun. 2017.
<https://doi.org/10.1186/s13058-017-0858-x>

ZHANG, Meiying; CUI, Xin; LI, Nan. Smartphone-based mobile biosensors for the point-of-care testing of human metabolites. Materials Today Bio. [S.l.]: Elsevier B.V. , 1 mar. 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100254>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

CAPÍTULO II

**PLATAFORMA PORTÁTIL DE DETECÇÃO DE microRNA SALIVAR
ASSOCIADO AO CÂNCER DE MAMA UTILIZANDO LEITURA
ELETROQUÍMICA VIA SMARTPHONE**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Este capítulo inclui um documento de pedido de patente,
que se encontra em fase de exame para posterior
submissão ao **INPI – Instituto Nacional da Propriedade
Industrial.**

Resumo

O câncer de mama (CM) constitui a neoplasia maligna mais incidente entre as mulheres em âmbito global, correspondendo a aproximadamente um terço de todos os tumores malignos diagnosticados nesse grupo. Frequentemente, manifesta-se clinicamente como um nódulo palpável, podendo evoluir de forma silenciosa em estágios iniciais. O diagnóstico precoce e um prognóstico mais favorável são fundamentais para o sucesso do tratamento do CM. Nesse contexto, os biossensores surgem como alternativas promissoras às metodologias diagnósticas convencionais, destacando-se pelo baixo custo, rapidez, precisão, especificidade e portabilidade. Para auxiliar no diagnóstico de CM, a presente invenção consiste em uma plataforma composta por um eletrodo de carbono serigrafado, modificado com um polímero (poliácido p-aminobenzoico) (poli-PABA) e sensibilizado pelo (SEQ ID N01) do CM, permitindo a identificação do alvo complementar na saliva. A plataforma portátil desenvolvida mostrou-se uma ferramenta promissora para diagnóstico do câncer de mama, sem a necessidade de processamento das amostras de saliva.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Palavras-chaves: Diagnóstico, biossensores, saliva, miRNA 200a, câncer de mama.

Abstract

Breast cancer (BC) is the most frequently diagnosed malignant neoplasm among women worldwide, accounting for approximately one third of all malignant tumors in this population. Clinically, it often presents as a palpable breast lump and may progress silently during the early stages. Early diagnosis and a favorable prognosis are essential for successful breast cancer treatment. In this context, biosensors have emerged as promising alternatives to conventional diagnostic methodologies, offering advantages such as low cost, rapid response, high accuracy, specificity, and portability. To support breast cancer diagnosis, the present invention consists of a platform based on a screen-printed carbon electrode modified with a polymer (poly(p-aminobenzoic acid), poly-PABA) and sensitized with the breast cancer-specific sequence (SEQ ID NO1), enabling the detection of its complementary target in saliva. The developed portable platform demonstrated strong potential as a non-invasive tool for breast cancer diagnosis, eliminating the need for saliva sample preprocessing.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Keywords: Diagnosis; biosensors; saliva; miRNA-200a; breast cancer.

**PLATAFORMA PORTÁTIL DE DETECÇÃO DE microRNA SALIVAR
ASSOCIADO AO CÂNCER DE MAMA UTILIZANDO LEITURA
ELETROQUÍMICA VIA SMARTPHONE**

Campo de invenção

[001] O câncer de mama (CM) constitui a neoplasia maligna mais incidente entre as mulheres em âmbito global, correspondendo a aproximadamente um terço de todos os tumores malignos diagnosticados nesse grupo. A doença é caracterizada pela proliferação desordenada de células epiteliais na glândula mamária, que adquirem fenótipo atípico, com capacidade de invasão local e potencial metastático para órgãos distantes. Frequentemente, manifesta-se clinicamente como um nódulo palpável, podendo evoluir de forma silenciosa em estágios iniciais. [002] O microRNA 200a (miR-200a) é um importante biomarcador do câncer de mama, pois está relacionado à progressão e metástase da doença, além de desempenhar um papel essencial na morfogênese e diferenciação do epitélio mamário. O diagnóstico precoce e um prognóstico mais favorável são fundamentais para o sucesso do tratamento do CM. Nesse contexto, os biossensores surgem como alternativas promissoras às metodologias diagnósticas convencionais, destacando-se pelo baixo custo, rapidez, precisão,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

especificidade e portabilidade. Para auxiliar no diagnóstico de CM, a presente invenção consiste em um biossensor caracterizado por uma plataforma composta por um eletrodo de carbono serigrafado, modificado com um polímero (poli-ácido p-aminobenzoico) (poli-PABA) e sensibilizado pelo (SEQ ID N01) do CM, permitindo a identificação do alvo complementar na saliva. Os resultados demonstraram que essa tecnologia é eficaz na diferenciação entre pacientes com câncer de mama triplo negativo e aqueles com doenças benignas da mama. Dessa forma, a plataforma portátil desenvolvida se mostra uma ferramenta promissora para diagnóstico do câncer de mama, sem a necessidade de processamento das amostras de saliva.

[003] O câncer de mama é caracterizado pelo crescimento descontrolado de células anormais nos tecidos mamários, que podem formar uma massa ou tumor, com potencial de se espalhar para outras partes do corpo. O câncer de mama é dividido em dois tipos principais: carcinomas invasivos (ou infiltrantes) e carcinomas in situ. Os carcinomas invasivos podem se disseminar para outras regiões, enquanto os carcinomas in situ surgem no epitélio ductal ou lobular, mas permanecem confinados, sem invadir as camadas basais subjacentes (RICHIE, RC; SWANSON, JO. Breast cancer: a review of literature. J Insur Med., 35(2):85 101, 2003). Inicialmente, o câncer de mama é assintomático na maioria das pacientes, portanto, a detecção precoce é fundamental. No entanto, à medida que a doença progride, pode causar uma combinação de sintomas, especialmente em estágios mais avançados. Entre os principais sinais estão: a presença de uma massa ou espessamento na mama, geralmente indolor; alterações no tamanho, formato ou aparência da mama; surgimento de covinhas, vermelhidão ou aspecto de "casca de laranja" na pele; mudanças na aparência do mamilo ou da aréola; e secreção mamária anormal ou sanguinolenta (SANCHO-GARNIER, H.; COLONNA, M. Epidemiology of Breast Cancer. Presse Médicale Elsevier Masson SAS, 2019). [004] Certos fatores aumentam o risco de câncer de mama, no entanto, os fatores genéticos, por si só, não explicam completamente a ocorrência



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

dessa doença. Outros elementos, como idade, obesidade, consumo excessivo de álcool, histórico familiar de câncer de mama, exposição à radiação, histórico ginecológico (como idade da primeira menstruação e da primeira gravidez), tabagismo e terapia hormonal pós-menopausa, também influenciam esse risco. Além disso, fatores ambientais e o estilo de vida desempenham um papel determinante na probabilidade de desenvolvimento do câncer de mama (GAO, A. et al. Reliable Detection of Breast Cancer miRNAs with a Silicon Nanowire Biosensor Enhanced by PNA Probe and Optical Calibration. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 401, 2024). Certas mutações genéticas herdadas de alta penetrância aumentam significativamente o risco de câncer de mama, sendo as mais relevantes aquelas presentes nos genes BRCA1, BRCA2 e PALB2. Mulheres que possuem mutações nesses genes-chave podem considerar estratégias para a redução desse risco, como a remoção cirúrgica de ambas as mamas ou a adoção de medidas de quimioprevenção. (ARMSTRONG, N. et al. A Systematic Review of the International Prevalence of the BRCA Mutation in Breast Cancer. *Clinical Epidemiology*, Dove Medical Press Ltd., 2019). Entretanto, o surgimento do câncer de mama geralmente resulta da combinação desses diversos fatores, e não apenas da manifestação de um único fator isolado. [005] Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2022, foram registrados 2,3 milhões de casos de câncer de mama e 670.000 mortes em todo o mundo. Esse tipo de câncer está presente em todos os países e afeta mulheres de todas as idades, desde a puberdade. No entanto, sua incidência tende a aumentar com o avanço da idade. Em 157 dos 185 países do mundo, o câncer de mama foi a principal causa de morte entre as mulheres em 2022 (Organização Mundial da Saúde, 2024, disponível em <https://www.who.int/>). [006] No Brasil, o câncer de mama é o mais comum entre as mulheres, com 94.728 novos casos registrados em 2023, o que corresponde a 30% de todos os cânceres diagnosticados em mulheres. Além disso, a mortalidade foi de 22.189 óbitos em 2022 (Organização Mundial da Saúde, 2024, disponível em Global Cancer Observatory: Cancer



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Today: International Agency for Research on Cancer. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/today/>. [007] Os microRNAs (miRNAs) são uma classe importante de ácidos ribonucleicos (RNA) curtos e de cadeia simples que desempenham um papel fundamental na regulação da expressão gênica, ligando-se aos RNAs mensageiros alvo (mRNAs) (MOAZAMPOUR, M.; ZARE, HR; SHEKARI, Z. Femtomolar Determination of an Ovarian Cancer Biomarker (miR-200a) in Blood Plasma Using a Label-Free Electrochemical Biosensor Based on ZnS Quantum Dots Functionalized with L-Cysteine. *Analytical Methods.*, v. 13, n. 17, p. 2021 2029, 2021). Os miRNAs estão envolvidos em diversos processos celulares, como sobrevivência celular, apoptose, envelhecimento, diferenciação, carcinogênese e metástase (PIASECKA, D. et al. MicroRNAs in the Regulation of Triple-Negative Breast Cancer Progression. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology Springer Verlag*, 2018). Um único miRNA tem o potencial de regular a expressão de muitos genes-alvo diferentes, o que os torna alvos terapêuticos promissores. Vários estudos têm demonstrado amplificação ou perda de miRNAs em tecidos cancerígenos quando comparados aos tecidos normais, sugerindo que os miRNAs podem atuar como “oncogenes” ou “genes supressores de tumor” no desenvolvimento do câncer (GRAVGAARD, KH et al. The miRNA-200 Family and miRNA-9 Exhibit Differential Expression in Primary Tissue Versus Corresponding Metastatic Tissue in Breast Cancer. *Breast Cancer Research and Treatment.*, v. 134, n. 1, p. 207–217, 2012). O miR-200a, pertencente à família miR-200, está associado à progressão da doença no câncer de mama e em outros tipos de câncer. Foi demonstrado que o miR-200a inibe a transição epitelial-mesenquimal (EMT), um processo considerado crucial nas etapas iniciais da disseminação metastática de células cancerígenas (PATERSON, EL et al. Down-regulation of the miRNA-200 family at the invasive front of colorectal cancers with degraded basal membrane indicated EMT is involved in cancer progression. *Neoplasia*, v. 15, n. 2, p. 180–191, 2013). Durante a EMT, as células regulam negativamente a molécula de adesão célula-célula E caderina. Além



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

disso, o miR-200a foi mostrado como um inibidor dos repressores transcricionais da E-caderina, ZEB1 e ZEB2 (Zinc finger E-box binding homeobox), induzindo assim a regulação positiva da E-caderina e a inibição da EMT (BOJMAR, L. et al. The Role of MicroRNA-200 in the Progression of Human Colorectal and Breast Cancer. PLoS ONE, v. 8, n. 12, 2013). Portanto, o miR 200a suprime a migração celular e tem sido considerado regulado negativamente durante a EMT (GRAVGAARD, KH et al. The miRNA-200 Family and miRNA-9 Exhibit Differential Expression in Primary Tissue Versus Corresponding Metastatic Tissue in Breast Cancer. Breast Cancer Research and Treatment, v. 134, n. 1, p. 207–217, 2012). Novas evidências sugerem que a expressão ectópica de miR-200a pode promover a quimiorresistência em linhas celulares de câncer de mama a múltiplos agentes quimioterápicos. Em contrapartida, a inibição de miR-200a aumenta a quimio-sensibilidade à gemcitabina em células cancerígenas resistentes. Além disso, o miR-200a regulado positivamente pode aumentar a resistência ao tratamento ao antagonizar TP53INP1 e YAP1 em câncer de mama (YU, SJ et al. MicroRNA 200a Confers Chemoresistance by Antagonizing TP53INP1 and YAP1 in Human Breast Cancer. BMC Cancer, v. 18, n. 1, 2018). Por outro lado, um estudo demonstrou que o miR-200a regula a via Keap1/Nrf2 no epitélio mamário, direcionando o mRNA de Garder 1. A terapia epigenética poderia restaurar a regulação do miR-200a na expressão de Keap1, reativando assim a via antioxidante dependente de Nrf2 no câncer de mama (EADES, G. et al. miR 200a Regulates Nrf2 Activation by Targeting Keap1 mRNA in Breast Cancer Cells. Journal of Biological Chemistry, v. 286, n. 47, p. 40725–40733, 2011). [008] A invenção US20200157631A1 demonstrou que o uso de microRNAs, como miR-801, miR-141, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-203, miR-210, miR-375, miR-142-3p e miR-768-3p, possibilita o diagnóstico do câncer de mama metastático ou a detecção de células tumorais circulantes (CTCs) em um indivíduo. A referida invenção descreve um método diagnóstico baseado na quantificação de miRNAs por técnicas de biologia molecular, como a RT-qPCR (reação em cadeia da



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

polimerase após transcrição reversa), capaz de mensurar a concentração de um ou mais miRNAs-alvo e compará-la a valores de referência. Variações significativas nessa concentração indicam a presença do câncer ou de CTCs. Na presente invenção, foi empregada uma metodologia alternativa baseada em biópsia líquida, na qual o miRNA-200a foi detectado em amostras de saliva por meio de técnica eletroquímica, com leitura realizada via smartphone. Essa abordagem dispensa o uso de equipamentos mais robustos e de alto custo, como a RT-qPCR, configurando-se como uma alternativa acessível e portátil para diagnóstico molecular. [009] Amostras de saliva, em comparação com a coleta de sangue, oferecem diversas vantagens, incluindo menor custo geral, menor risco de infecção, maior conveniência para o paciente, melhor aceitabilidade, maior conformidade e facilidade de utilização. Além disso, elas melhoram significativamente o recrutamento para estudos translacionais em ensaios clínicos, reduzindo custos e minimizando problemas logísticos associados à coleta de sangue nesses estudos (ABRAHAM, JE et al. Saliva samples are a viable alternative to blood samples as a source of DNA for high throughput genotyping. BMC Med Genomics, 2012). [010] O diagnóstico do câncer de mama baseia-se em exames clínicos e mamografia, que permitem o rastreamento do tecido mamário normal circundante e da mama oposta, possibilitando a detecção de cânceres não palpáveis, e não apenas a identificação de massas palpáveis. Além disso, a biópsia possibilita a obtenção de material genético de uma massa mamária suspeita para análise. No entanto, as biópsias por agulha apresentam limitações, sendo incapazes de identificar áreas de invasão em aproximadamente 20% dos casos inicialmente diagnosticados como carcinoma ductal (RICHIE, RC; SWANSON, JO. Breast Cancer: A Literature Review. Journal of Insurance Medicine, 2003; 35(2):85-101). [011] Outro ponto relevante é a identificação de marcadores tumorais, como o CA 15-3, que desempenha um papel importante no diagnóstico e prognóstico do câncer de mama. Esse marcador é frequentemente utilizado para monitorar a progressão da doença, avaliar a resposta ao tratamento



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

e detectar recidivas, contribuindo para um acompanhamento clínico mais preciso dos pacientes (KARAMI, F.; MEHDIPOUR, P. A comprehensive focus on global spectrum of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer. BioMed Research International, 2013). Por fim, é importante destacar que esses métodos diagnósticos podem ser demorados, exigir a atuação de pessoal especializado e apresentar um custo elevado, o que pode limitar seu acesso e aplicação em larga escala. Essas limitações reforçam a necessidade de desenvolver alternativas mais acessíveis, rápidas e eficientes para o diagnóstico e monitoramento do câncer de mama. [012] Um biossensor é um dispositivo analítico que integra um componente biológico capaz de reconhecer alvos de maneira específica, produzindo um sinal mensurável vinculado à concentração do analito. Nas últimas décadas, diversos materiais de origem biológica, como enzimas, células, ácidos nucleicos, complexos antígeno-anticorpo e microrganismos, têm sido incorporados em diferentes aplicações eletroquímicas, ópticas, acústicas e mecânicas para a fabricação de biossensores de alta sensibilidade e seletividade (GUARDA, S.; SRIVASTAVA, S. Development of an Electrochemical Biosensor for Cancer Diagnosis Based on miR-204. Interdisciplinary Sciences – Computational Life Sciences., v. 14, n. 2, p. 596–606, 2022). Ele apresenta diversas características vantajosas, incluindo alta seletividade e sensibilidade, baixo custo de produção, resposta rápida e a capacidade de fornecer resultados em tempo real. Essas qualidades tornam os biossensores uma ferramenta promissora para aplicações em diagnósticos médicos, monitoramento ambiental e detecção de substâncias biológicas e químicas (NEGAHDARY, M.; ANGNES, L. Application of Electrochemical Biosensors for the Detection of Cancer-Related MicroRNAs (miRNAs). Coordination Chemistry Reviews Elsevier BV, 2022.), sendo uma plataforma de detecção atrativa, os biossensores possuem diversas aplicações, incluindo o diagnóstico de doenças, o controle de qualidade na indústria alimentícia e a detecção de alvos no ambiente. Essa versatilidade deve-se à possibilidade de utilizar uma ampla variedade de elementos de



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

reconhecimento biológico específicos, como sondas de DNA/RNA, anticorpos, enzimas e proteínas, garantindo alta precisão e eficiência na identificação de diferentes analitos (GUNDAGATTI, S.; SRIVASTAVA, S. Development of an Electrochemical Biosensor for Cancer Diagnosis Based on miR-204. Interdisciplinary Sciences – Computational Life Sciences., v. 14, n. 2, pp. 596 606, 2022). Esses dispositivos são amplamente empregados nos campos da biotecnologia, medicina e monitoramento ambiental, sendo utilizados para a detecção de toxinas, hormônios, antígenos e nutrientes. [013] O funcionamento dos biossensores baseia-se em reações químicas ou bioquímicas que ocorrem em sua superfície, podendo ser catalisadas por enzimas, proteínas ou outros elementos biológicos. Essas interações geram sinais mensuráveis, permitindo análises precisas e sensíveis em diversas aplicações (GORGANI, L. et al. Metal-Organic Framework (MOF)-Based Biosensors for miRNA Detection. Talanta Elsevier BV, 2024). Esses biossensores podem ser modificados com materiais nanotecnológicos, como filmes poliméricos, nanotubos de carbono, pontos quânticos e nanopartículas metálicas (ouro, platina, paládio, entre outros) (KHODADOUST, A. et al. A Ratiometric Electrochemical DNA Biosensor for miR-141 Detection. Microchimica Acta. v. 189, n. 6, 2022). Com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução, essas modificações permitem ajustar sua reatividade, aumentando a condutividade, a seletividade e a incorporação de biomoléculas. Como resultado, há uma melhora significativa nos sinais eletroquímicos, tornando os biossensores ainda mais eficientes para aplicações em biossensores de alta sensibilidade e precisão (Development of an Electrochemical Biosensor for Cancer Diagnosis Based on miR-204. Interdisciplinary Sciences – Computational Life Sciences., v. 14, n. 2, pp. 596 606, 2022). [014] Os smartphones chegaram ao mercado convencional no final dos anos 1990, transformando os telefones clássicos em verdadeiros computadores de bolso. Atualmente, são os dispositivos móveis mais utilizados no mundo, equipados com recursos avançados, como telas sensíveis



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

ao toque, alta capacidade de processamento e armazenamento de dados. Além de suas funções tradicionais, os smartphones desempenham um papel cada vez mais relevante em sistemas de sensores portáteis, atuando como plataformas para recepção, análise e exibição de sinais de detecção, contribuindo para o avanço de tecnologias inovadoras em diversas áreas, incluindo saúde, meio ambiente e segurança (ZHANG, D. et al. Portable Smartphone-Based Biosensor System Using Impedance Measurement with Printed Electrodes for Detection of 2,4,6 Trinitrotoluene (TNT). *Biosensors and Bioelectronics.*, v. 70, p. 81–88, 2015). Smartphones, assim como seus acessórios equipados com sensores, são amplamente utilizados para detectar diferentes tipos de informações, abrangendo desde espectroscopia óptica até medições de corrente eletroquímica. Em diversas aplicações de biossensores, os smartphones têm se mostrado uma alternativa viável para substituir instrumentos científicos tradicionais na detecção de interações biomoleculares. Essa abordagem possibilita a criação de dispositivos portáteis, acessíveis e de fácil manuseio, ampliando o alcance e a praticidade das análises em tempo real (HUANG, X. et al. Smartphone-Based Analytical Biosensors. *Analyst*, Royal Society of Chemistry., 2018.). Portanto, diversas técnicas de detecção, como fluorescência, eletroquímica e ressonância plasmônica de superfície, têm sido progressivamente integradas aos smartphones e aplicadas em biossensores para a identificação de biomoléculas. Essa integração permite a criação de dispositivos portáteis, de baixo custo e alta sensibilidade, ampliando o potencial dos biossensores em diagnósticos médicos, monitoramento ambiental e outras áreas de pesquisa (RODA, A. et al. A 3D-Printed Device for a Smartphone-Based Chemiluminescence Biosensor for Lactate in Oral Fluid and Sweat. *Analyst*.v. 139, n. 24, p. 6494–6501, 2014). Os smartphones oferecem, portanto, uma plataforma promissora para controlar, registrar e exibir detecção em tempo real por meio de medições eletroquímicas (voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada, cronoamperometria, espectroscopia de impedância eletroquímica). Até



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

o momento, diversas aplicações têm sido exploradas, incluindo diagnóstico médico, monitoramento ambiental e triagem de toxinas alimentares, nas quais o smartphone atua como receptor e analisador de dados provenientes de sensores eletroquímicos. Essa integração facilita a obtenção de resultados rápidos e acessíveis, ampliando o uso dessas tecnologias em diferentes áreas (CALABRIA, D. et al. Smartphone-Based Enzymatic Biosensor for L-Lactate Detection in Oral Fluid Within One Minute Using Confined Multilayer Paper Reflectometry. *Biosensors and Bioelectronics.*, v. 94, p. 124–130, 2017) [015] Com o objetivo de desenvolver métodos diagnósticos eficazes para o câncer de mama, a invenção KR20140108810A desenvolveu um biossensor capaz de detectar células cancerígenas tratadas com medicamentos anticâncer, de forma qualitativa e quantitativa. Esse biossensor utiliza um eletrodo composto por uma camada eletrodepositada de nanopartículas de ouro (Au0), uma camada de polímero eletrocondutor formada sobre as nanopartículas de Au e uma camada de aptâmero fixada na parte superior do polímero eletricamente condutor. A invenção CN118392955A propôs um método para a construção de um biossensor eletroquímico utilizando um substrato de detecção montado com uma sonda triangular de DNA, uma solução de sonda e uma exonuclease. Esse sistema permite a detecção quantitativa do cDNA PIK3CA E545K no sangue de pacientes com câncer de mama. Já a invenção CN111518914B apresenta uma técnica baseada em biomarcadores para o diagnóstico do câncer de mama, por meio da medição dos níveis de expressão de pelo menos dois miRNAs circulantes no sangue periférico humano, combinando-os para garantir alta especificidade e sensibilidade. Na invenção CN102925569A, marcadores de microRNA (ácido ribonucleico) são utilizados para detectar câncer de mama por meio da adição de uma cauda PolyA na porção 3' do microRNA. Em seguida, o conteúdo do microRNA é identificado no soro ou plasma do paciente por PCR de transcrição reversa (reação em cadeia da polimerase) e métodos de PCR de fluorescência quantitativa. A invenção WO2023170659A1 propõe métodos para o diagnóstico e



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

tratamento do câncer de mama, enfatizando a determinação do nível de expressão de pelo menos quatro miRNAs selecionados de um grupo composto por miR-150-5p, miR-106b-3p, miR-106a-5p, miR-125a-5p, miR-17 5p, miR-574-3p, miR-339-5p, miR-339-3p, miR-335-5p, miR-16-5p e miR-21-5p. [016] Com o propósito de auxiliar no diagnóstico mamário, a presente invenção consiste em uma plataforma composta por um eletrodo de carbono serigrafado, modificado com poli-ácido p-aminobenzoico (poli-PABA), essa plataforma foi utilizada para acoplar uma sonda (SEQ ID N01), a fim de identificar o alvo complementar na saliva. O biossensor desenvolvido demonstrou eficácia na diferenciação de pacientes com câncer de mama, câncer de mama triplo negativo e doenças benignas da mama, utilizando amostras de saliva de indivíduos que não haviam passado por nenhum tratamento prévio. Dessa forma, apresenta-se um biossensor com resultados promissores para o desenvolvimento de um dispositivo diagnóstico. Esse dispositivo se destaca por sua tendência tecnológica de miniaturização, sua abordagem técnico-científica multidisciplinar e seu grande potencial inovador e econômico.

Listagem de figuras

[017] A compreensão da presente invenção será facilitada por meio da análise das figuras anexas, que ilustram diferentes aspectos e possíveis configurações da tecnologia descrita:

FIGURA 1: Esquema ilustrativo das etapas de construção do biossensor e do processo de detecção do analito em amostras de saliva.

FIGURA 2: (A) Voltamograma obtido durante o primeiro ciclo do processo de eletropolimerização do ácido para-aminobenzoico, evidenciando as características eletroquímicas iniciais da formação do polímero; (B) Voltamograma obtido ao



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

longo dos 49 ciclos consecutivos do processo de eletropolimerização do ácido para-aminobenzoico, evidenciando a evolução do comportamento eletroquímico durante a formação do filme polimérico; (C) Esquema representativo do mecanismo químico envolvido na formação do polímero (poli-ácido paminobenzoico).

FIGURA 3: Voltamograma obtido durante o processo da caracterização da plataforma com $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}/(\text{KCl})$.

FIGURA 4: Registro da voltametria de pulso diferencial evidenciando os picos de oxidação característicos das amostras de sonda, na presença de amostras de saliva de pacientes com doença benigna da mama (DBM), câncer de mama (CM) e triplo negativo (TN) usando o sistema redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

FIGURA 5: Registro da voltametria de pulso diferencial monitorando o pico de oxidação das amostras com doença benigna da mama (DBM), câncer de mama (CM) e triplo negativo (TN), com aquisição dos dados realizada por meio de conexão com smartphone.

FIGURA 6: Representação gráfica dos sinais eletroquímicos obtidos por voltametria de pulso diferencial em amostras de saliva de pacientes com doença benigna da mama (DBM), câncer de mama (CM) e subtipo triplo negativo (TN).

FIGURA 7: Representação gráfica dos sinais eletroquímicos obtidos por voltametria de pulso diferencial em amostras de saliva de pacientes com doença benigna da mama (DBM), câncer de mama (CM) e subtipo triplo negativo (TN), com aquisição dos dados realizada por meio de leitura via dispositivo móvel (smartphone).

FIGURAS 8A a 8G: Imagens da topografia da superfície obtidas por microscopia de força atômica (AFM) após cada etapa de construção do biossensor.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

FIGURAS 9A a 9G: Imagens da topografia da superfície obtidas por microscopia eletrônica de varredura de (MEV) após cada etapa de construção do biossensor.

Descrição e detalhes dos componentes da invenção

[018] A presente invenção refere-se a uma plataforma portátil para diagnóstico molecular não invasivo, composta por um eletrodo de carbono serigrafado, modificado com um polímero condutor derivado do ácido para-aminobenzóico (PABA) e funcionalizado com uma sonda oligonucleotídica específica (SEQ ID NO:1), capaz de reconhecer microRNA associado ao câncer de mama. A plataforma permite a detecção eletroquímica do alvo complementar diretamente em amostras de saliva, possibilitando a diferenciação entre pacientes com câncer de mama triplo negativo e indivíduos com doenças benignas da mama. Trata-se de uma solução sensível, seletiva e de baixo custo, que elimina a necessidade de técnicas convencionais mais complexas e onerosas, como a RT qPCR. A tecnologia proposta apresenta elevado potencial para aplicação em triagem clínica, monitoramento remoto e diagnóstico precoce, sobretudo em cenários com recursos laboratoriais limitados. A seguir, a tecnologia será apresentada em detalhes. [019] Todos os reagentes utilizados nesta invenção são de grau analítico (PA) e as soluções utilizadas foram preparadas utilizando água deionizada (18,18 MΩ·cm a 25°C). a fim de evitar interferências provenientes de íons residuais. As amostras de saliva não sofreram purificação prévia. Um estudo transversal foi realizado em um hospital clínico em Uberlândia, MG, Brasil, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Uberlândia (CAAE 31626620.2.0000.5152) e de acordo com as normas da Declaração de Helsinque e Resolução CNS 466/12. Incluiu 16 participantes voluntários que assinaram um termo de consentimento. Foram incluídas mulheres com diagnóstico de câncer de mama (grupo CM), confirmado por exame anatomopatológico. O grupo CM está incluído os pacientes com triplo negativo (TN) e pacientes com câncer de mama (CM). Além disso, mulheres que,



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

após a cirurgia, foram diagnosticadas com fibroadenoma, hiperplasia ductal atípica, papiloma ou outras doenças benignas da mama (DBM) constituíram o (grupo DBM). Os critérios de exclusão incluíram idade inferior a 18 anos, locais de tumor primário diferentes da mama, incapacidade física e/ou mental de responder às ferramentas de coleta de dados e aqueles que escovavam a cavidade oral antes da coleta de dados. [020] A saliva não estimulada foi coletada pelo método de cuspir. Os participantes foram instruídos a enxaguar a boca, sentar-se confortavelmente com os olhos abertos, inclinar a cabeça ligeiramente para a frente e descansar por 5 minutos, minimizando os movimentos orofaciais. A saliva foi acumulada no assoalho da boca e, em seguida, cuspidada no tubo de centrifuga de 15 mL a cada 60 segundos até que um total de 2 mL fosse coletado. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a $3.000 \times g$, a 4°C por 20 minutos. [021] Como eletrodos de trabalho foram utilizados eletrodos de carbono serigrafados com diâmetro de 4 mm. Eles podem ser substituídos por eletrodos de grafite ou eletrodos feitos de outros materiais, como ouro, carbono vítreo, e podem conter diferentes áreas de trabalho, como microeletrodos multiplex. [022] A preparação dos eletrodos impressos utilizados foi realizada em folhas de PVC, onde foi aplicada uma tinta condutiva de prata conforme descrito na patente BR 10 2013 001459 1 A2 (desenho das trilhas e do eletrodo de referência), utilizando uma tela serigráfica contendo os desenhos das trilhas e do eletrodo de referência. Posteriormente, foi aplicada uma tinta de carbono condutora por meio de serigrafia com desenho correspondente aos eletrodos de trabalho e auxiliares. Os eletrodos foram submetidos a pré-condicionamento eletroquímico por cronoamperometria em solução de PBS ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). O intervalo de potencial usado foi de 5s de tempo de equilíbrio, potencial de 1,4v por 300s. A seleção dos eletrodos foi baseada no perfil de um cronoamperograma para que os eletrodos selecionados para as etapas seguintes tivessem um perfil semelhante, garantindo a reprodutibilidade dos resultados. Além disso, esta etapa é essencial na limpeza eletroquímica ou eletropolimento do eletrodo, garantindo a ausência de espécies



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

eletroativas na região do potencial a ser trabalhada. [023] A modificação do eletrodo é uma estratégia usada para melhorar as características do biossensor, como sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade. A superfície dos eletrodos foi modificada pela eletropolimerização do ácido para-aminobenzoico (PABA) de fórmula $C_7H_7NO_2$. [024] A solução de monômero ($2,5 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) foi preparada recentemente antes do uso, ou seja, PABA dissolvido em solução tampão de fosfato ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7,4) e 50 μL foram eletro polimerizados no eletrodo de trabalho por meio de ciclos contínuos do potencial entre 0,0 V e 1,2 V (vs. Ag^0) a uma velocidade de 0,05 V/s (50 ciclos) por voltametria cíclica. [025] A FIGURA 1 apresenta a ilustração esquemática das principais etapas de desenvolvimento do biossensor proposto: desde a impressão serigráfica dos eletrodos, passando pela eletropolimerização do PABA e pela imobilização da sonda (SEQ ID N01), seguida da hibridização com a sequência-alvo presente na saliva, até a detecção eletroquímica indireta, realizada por meio de um potenciostato conectado a um smartphone e a um computador, utilizando a ninidrina como indicador de reconhecimento molecular. [026] A FIGURA 2A e 2B mostram voltamogramas representativos da polimerização do PABA após o primeiro ciclo de voltametria e após 50 ciclos. O pico de formação do polímero é observado de $E_p = +0,2 \text{ V}$ a $E_p = +0,4 \text{ V}$ e o pico do monômero em $E_p = +0,8 \text{ V}$. Durante a reação de polimerização, o monômero é consumido para formar o polímero. Isto resulta numa redução do pico do monômero no espectro eletroquímico. O pico do monômero diminui de intensidade à medida que a reação de polimerização progride e a redução no pico do monômero indica que o monômero é consumido para formar o polímero. O pico do polímero aumenta de intensidade à medida que a reação de polimerização progride. [027] A FIGURA 2C mostra o mecanismo químico de formação do polímero PABA, conforme sugerido em estudos anteriores. O potencial elétrico é aplicado entre o eletrodo e o contraeletrodo, sendo este escolhido de modo a promover a oxidação dos monômeros e auxiliar na formação de um centro ativo, denominado radical livre,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

que iniciará a reação de polimerização. Os monômeros oxidados na superfície do eletrodo levam à formação de radicais livres. A seguir, ocorre a propagação, que constitui o segundo estágio da formação do polímero. Essa etapa consiste na reação entre o radical livre e um monômero, resultando na formação de uma nova unidade polimérica. Na sequência, tem lugar o alongamento, que se caracteriza pela repetição da reação de propagação, resultando na formação de uma cadeia polimérica progressivamente mais longa. Por fim, a terminação ocorre quando a cadeia de polímero em formação reage com outro radical livre, levando à obtenção de uma cadeia polimérica concluída. [028] Após a eletropolimerização, o eletrodo foi lavado com água deionizada para remover o monômero não reagido, e então foi aplicado um volume de 10 μL de sonda (SEQ ID N 01), a uma concentração de $1 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Ressalta-se que essa sequência pode ser substituída por outras biomoléculas, como ARN longos não codificantes, RNAs genômicos, oligonucleotídeos, aptâmeros ou peptídeos sintéticos. [029] A sequência foi depositada no eletrodo de trabalho para imobilização por 30min à temperatura ambiente em ambiente úmido e após imobilização foi realizada lavagem com solução tampão fosfato de sódio por 5 s. Em seguida, 10 μL de saliva de pacientes com doença benigna da mama (DBM), câncer de mama (CM) e câncer de mama triplo negativo (TN) foram diluídos (1:10, v/v) em água para injeção e deixados para hibridização a 75 °C por 40min. Após a hibridização, foi realizada lavagem com solução tampão fosfato por 5s para retirada do excesso não hibridizado e após foram adicionados 10 μL de uma solução de ninidrina (NHN, $0,04 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e deixado por 40 min em meio úmido servindo como indicador de hibridização. [030] A etapa seguinte consistiu na detecção eletroquímica por voltametria de pulso diferencial entre -0,8 e +0,5 V (vs. Ag^0) do alvo nas amostras de saliva de DBM, TN e CM, em solução tampão fosfato ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7,4) como eletrólito, monitorando o pico de oxidação do NHN. Este intercalador se comporta de forma diferente ao interagir com DNA de fita simples (sonda) e DNA de fita dupla (sonda/alvo), pois tem maior afinidade por bases



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

pareadas do que por bases desemparelhadas. Como o alvo complementar hibridiza especificamente com a sonda de DNA, ocorre um reconhecimento preciso, promovendo uma ligação forte entre as duas moléculas. [031] Essa hibridização específica aumenta a concentração do alvo complementar na superfície do eletrodo, resultando em um aumento na reação com a ninidrina (NHN). Dessa forma, quando o alvo está presente, a resposta eletroquímica é mais intensa do que quando apenas a sonda está presente. Além disso, outros indicadores de hibridização também podem ser utilizados, como brometo de etídio, rodamina, azul de metileno, ferroceno, Hoechst 33258, aminoantipirina, brometo de propídio, cloreto de ferro/ferricianeto de potássio e hexamina rutênio. Por fim, a detecção eletroquímica com smartphone foi realizada utilizando um smartphone e um potenciostato portátil conectado a um smartphone para conseguir as leituras eletroquímica. [032] A caracterização das propriedades eletrônicas da plataforma do eletrodo foi realizada por voltametria cíclica, monitorando o comportamento da sonda redox de ferro/ferricianeto $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ a $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ em solução contendo cloreto de potássio (KCl) a $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. O experimento foi conduzido na faixa de $-0,8 \text{ V}$ a $+0,8 \text{ V}$ (vs. Ag^0), a uma taxa de varredura de 50 mV/s , inicialmente na construção da plataforma de carbono e posteriormente após a eletropolimerização com PABA. As respostas de corrente de pico anódico (I_{pa}) e catódico (I_{pc}) aumentaram com a adição do ácido para-aminobenzóico (PABA). [033] A FIGURA 3 apresenta os resultados dos ensaios realizados com o propósito de investigar as propriedades eletrônicas da modificação com o monômero utilizado nesta invenção. Os voltamogramas I e II correspondem, respectivamente, ao eletrodo de carbono sem modificação (SPCE) e ao eletrodo modificado com poli-ácido p-aminobenzoico, (SPCE/poli-PABA) a $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Observa-se um aumento progressivo da corrente de pico anódico (I_{pa}) e catódico (I_{pc}), e a polimerização com PABA exibe a maior área eletroativa. [034] Os típicos processos anódico e catódico do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ são observados nos voltamogramas. No caso do SPCE sem



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

modificação, o potencial de oxidação do ferrocianeto foi mais baixo, medido em ($0,216 \pm 0,021$ V), enquanto a corrente de pico anódica foi a mais baixa ($119,007 \pm 0,344$ μ A). Após a modificação do SPCE pela polimerização com PABA, foi registrado um aumento no potencial de oxidação ($0,231 \pm 0,013$ V) e um aumento na corrente de pico anódica ($176,809 \pm 1,102$ μ A), indicando a oxidação do ferrocianeto e melhores propriedades de transporte de carga, respectivamente. Esses dados evidenciam a capacidade do PABA de promover reações redox eletrocatalíticas no eletrodo devido à sua maior condutividade. Dessa forma, a modificação da superfície do eletrodo facilita a transferência eletrônica na zona anódica da interface eletrodo-solução, aumentando a área eletroativa e indicando que a formação do polímero com PABA da presente invenção gera uma superfície contendo cargas positivas. [035] A FIGURA 4 mostra os voltamogramas obtidos por voltametria de pulso diferencial, monitorando o pico de oxidação do intercalador NHN em tampão fosfato ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7,4), entre -0,6 e -0,2 V (vs. Ag^0), com velocidade de 0,1 V/s e amplitude de pulso de 0,01 V. Nos voltamogramas I, II, III e IV, respectivamente, podem ser observados os perfis voltamétricos da plataforma e seus picos de detecção correspondentes, sendo 2,577 μ A para a sonda (SEQ ID N01) (SPCE+Probe), 6,10 μ A para o alvo da doença benigna da mama (SPCE+Probe+DBM), 9,51 μ A para o alvo de câncer de mama (SPCE+Probe+CM) e 13,69 μ A para o alvo de câncer de mama triplo negativo (SPCE+Probe+TN). Observa-se que a ninidrina (NHN) interage mais intensamente com a dupla-fita formada, resultando em uma maior resposta de corrente evidenciada nos voltamogramas II, III e IV, em comparação com a sonda isolada (SPCE+Probe). [036] Para cada amostra de saliva dos alvos analisados (DBM, CM ou TN), manteve-se a mesma concentração, garantindo que as diferenças observadas nos picos de detecção fossem exclusivamente atribuídas às características de cada alvo. Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que é possível diferenciar distintos tipos de mutações associadas a doenças mamárias ao partir de uma concentração conhecida, utilizando a sonda (SEQ ID



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

N01) proposta. Essa abordagem pode contribuir para um diagnóstico mais preciso e específico. [037] A FIGURA 5 mostra os voltamogramas obtidos por voltametria de pulso diferencial com conexão no smartphone, monitorando o pico de oxidação do intercalador NHN em tampão fosfato ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7,4), entre -0,6 e -0,1V (vs. Ag^0), com velocidade de $0,1 \text{ V/s}$ e amplitude de pulso de $0,01 \text{ V}$. Nos voltamogramas I, II e III, respectivamente, podem ser observados os perfis voltamétricos da plataforma e seus picos de detecção correspondentes, sendo $79,14 \text{ }\mu\text{A}$ para o alvo da doença benigna da mama (SPCE+Probe+DBM), $262,36 \text{ }\mu\text{A}$ para o alvo de câncer de mama (SPCE+Probe+CM) e $406,36 \text{ }\mu\text{A}$ para o alvo de câncer de mama triplo negativo (SPCE+Probe+TN). Observa-se que a ninidrina (NHN) interage mais intensamente com a dupla-fita formada, resultando em uma maior resposta de corrente evidenciada nos voltamogramas I, II e III. [038] Os resultados obtidos demonstram que é possível diferenciar distintos tipos de mutações associadas a doenças mamárias ao partir de uma concentração conhecida, utilizando a sonda (SEQ ID N01) proposta com o smartphone. Essa abordagem pode contribuir para um diagnóstico revolucionário mais preciso e específico. [039] Na FIGURA 6, é possível observar os valores da resposta de corrente do pico de oxidação da ninidrina para a sonda (SEQ ID N01) e os alvos TN, CM e DBM de amostras reais, representados em um gráfico de barras. A resposta de corrente do alvo TN, representada no gráfico pelas amostras TN 166 e TN 165, apresentou um aumento de $11,61\text{x}$ em relação à sonda, sendo a maior resposta de detecção entre os alvos de amostras reais analisados. O alvo CM, representado pelas amostras CM 1 e CM 2, apresentou o segundo maior pico de detecção, com um aumento de $6,55\text{x}$ em relação à sonda. Por fim, as amostras correspondentes a doenças benignas da mama, como fibroadenoma, hiperplasia ductal atípica, entre outras, representadas como DBM 134, DBM 170, DBM 157, DBM 196, DBM 130, DBM 158, DBM 146, DBM 145, DBM 136, DBM 165, DBM 180 e DBM 169, apresentaram um aumento médio de $4,14\text{x}$ em comparação com a sonda (SEQ ID N01), descrita no estudo. [040] A detecção eletroquímica



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

indireta com ninidrina em smartphone foi avaliada utilizando uma amostra representativa de cada grupo de amostras de saliva usadas no estudo (FIGURA 7). Assim, para o grupo de pacientes com câncer de mama triplo negativo (TN), a amostra TN 166 apresentou um valor de Δi de 403,74 vezes; para o grupo com câncer de mama (CM), a amostra CM 1 registrou 267,46 vezes; e para o grupo com doença benigna da mama (DBM), a amostra DBM 162 mostrou 78,16 vezes, conforme representado no gráfico de barras. [041] Observou-se um aumento na resposta de corrente obtida com o uso do mini potenciostato portátil hifenado ao smartphone, em comparação aos resultados previamente registrados. No entanto, as mesmas diferenças nos aumentos de corrente nos picos de detecção continuam evidentes, possibilitando tanto a detecção quanto a diferenciação dos alvos correspondentes aos diferentes tipos de doenças mamárias. [042] Além disso, os dados obtidos mostram que a detecção eletroquímica pode ser realizada tanto em um computador quanto em um smartphone, garantindo versatilidade na análise. No smartphone, além da medição, é possível diferenciar os alvos de maneira rápida e portátil, tornando essa tecnologia acessível para aplicações clínicas e diagnósticas em ambientes com infraestrutura limitada. [043] Análises posteriores foram realizadas a fim de complementar as análises eletroquímicas, utilizando métodos de Microscopia, sendo estes a Microscopia de Força Atômica (AFM) e a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As imagens referentes a Microscopia de força atômica foram obtidas utilizando o aparelho do Laboratório de Biossensores (Biosens) da UFU– Uberlândia-MG. A microscopia eletrônica de varredura foi realizada utilizando o equipamento do RELAM – UFU. [044] A análise realizada no laboratório de biossensores feita, utilizou cantilevers CSG10 (Silício monocristalino, tipo N, 0,01-0,025 Ohm-cm, dopado com antimônio), e obteve um perfil topológico que pôde ser analisado estatisticamente. A função Auto Tilt(3rd) foi utilizada para aumentar a significância estatística obtida. A rugosidade obtida, em escala de nanômetros, e perfil analítico RMS (Root-Mean-Square, ou quadrado médio) foi condizente com os resultados obtidos



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

anteriormente. [045] A FIGURA 8A mostra uma imagem do eletrodo limpo, utilizando o cantilever CSG 10, configurações automáticas., mostrando uma rugosidade de 2.920 nm. A FIGURA 8B mostra uma imagem topográfica do eletrodo com a polímero feita pelo mesmo equipamento, com uma rugosidade de 4.033 nm. A FIGURA 8C mostra uma imagem topográfica do eletrodo com a sonda feita pelo mesmo equipamento, com uma rugosidade de 2.865nm. A FIGURA 8D mostra uma imagem topológica do eletrodo com alvo, com uma rugosidade de 6.819 nm. As imagens topológicas auxiliam a compreender o resultado obtido anteriormente, demonstrando que a interação entre a sonda e o alvo obteve sucesso, e resultou em uma mudança na topografia quantificável e visualizável de superfície. É possível observar nas figuras picos e vales mais acentuados nas superfícies modificadas, o que não acontece no eletrodo limpo. [046] As FIGURAS 8D, 8E, 8F e 8G apresentam imagens obtidas por microscopia de força atômica (AFM) e correspondem, respectivamente, ao eletrodo com alvo sintético, ao eletrodo modificado DBM, ao eletrodo modificado TN e ao eletrodo modificado CM. A análise dessas imagens permite avaliar a topografia e a rugosidade das superfícies modificadas, fornecendo informações relevantes sobre as alterações estruturais decorrentes do processo de funcionalização. [047] O eletrodo com alvo sintético (FIGURA 8D) apresenta uma rugosidade média de 6.819 nm, caracterizando uma superfície relativamente homogênea em comparação com os eletrodos modificados. O eletrodo DBM (FIGURA 8E) exibe a menor rugosidade entre os analisados, com um valor de 1.98 nm, indicando uma modificação significativa na morfologia da superfície. O eletrodo TN (FIGURA 8F), por sua vez, apresenta a maior rugosidade, com 13.5 nm, sugerindo uma superfície mais rugosa após a modificação. Já o eletrodo CM (Figura 8G) possui uma rugosidade intermediária de 4.494 nm, evidenciando um grau moderado de alteração estrutural. Essas diferenças na rugosidade sugerem que cada modificação resulta em um impacto distinto sobre a superfície do eletrodo, o que pode influenciar sua eficiência e desempenho em aplicações eletroquímicas. [048]



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

As FIGURAS 9A, 9B e 9C representam, respectivamente, o eletrodo limpo, eletrodo modificado com polímero e o eletrodo com a sonda. A análise das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura revela alterações morfológicas nos eletrodos modificados, indicando o sucesso do processo de polimerização e da imobilização da sonda. As FIGURAS 9D, 9E, 9F e 9G representam, respectivamente, os eletrodos modificados DBM, TN e CM, além do eletrodo contendo o alvo sintético. A análise das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura revela alterações morfológicas nos eletrodos modificados, indicando o sucesso do processo de hibridização. Essas modificações estruturais são evidenciadas por diferenças na topografia das superfícies, sugerindo interações específicas entre os materiais utilizados e a funcionalização da superfície do eletrodo. [049] Os eletrodos modificados apresentam características distintas quando comparados ao eletrodo contendo o alvo sintético, indicando que os processos de modificação e hibridização ocorreram de maneira eficaz. As variações na rugosidade e na distribuição dos componentes sobre a superfície reforçam a viabilidade das modificações realizadas, contribuindo para a caracterização estrutural dos eletrodos e sua aplicação no desenvolvimento de dispositivos baseados em detecção eletroquímica.

Exemplos de preparo

Exemplo de preparação 1: Pré-condicionamento de eletrodos de carbono grafite

[050] Para obtenção de resultados satisfatórios, foi realizado o polimento eletroquímico dos eletrodos de carbono com 40 μL de PBS ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) pela técnica de cronoamperimetria eletroquímica com $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, com potencial de 1,4V por 300s.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Exemplo de preparação 2: Modificação de eletrodos de carbono por eletropolimerização de PABA

[051] A superfície do eletrodo foi modificada por deposição eletroquímica de solução de PABA ($2,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) / tampão fosfato ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7,4) usando a técnica de voltametria cíclica eletroquímica, 50 ciclos com potencial entre 0,0 V e 1,2 V, 50 mV s^{-1} . Posteriormente, as linhas de base dos eletrodos foram determinadas pela técnica de voltametria de pulso diferencial em solução tampão fosfato ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7,4) com os seguintes parâmetros: potencial entre -0,8 V e +0,5 V, amplitude de modulação 0,2 V, intervalo de tempo 0,002 s, 1 varredura a $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Exemplo de preparação 3: Imobilização da sonda miRNA200a

[052] Para imobilização da sonda (SEQ ID N 01) $10 \mu\text{L}$ ($1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) foram adicionados na área de trabalho do eletrodo de grafite modificado. Para garantir a quimissorção entre a sonda e o polímero PABA depositado no eletrodo, o PABA/sonda (SEQ ID N01) foi incubado em temperatura ambiente por 30 minutos em um recipiente hermeticamente fechado para evitar perda de volume da solução. Após o tempo de incubação, os biossensores (PABA/sonda (SEQ ID N01)) foram lavados por imersão em solução tampão fosfato ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7,4) por 5 segundos. Este procedimento garante que as moléculas da sonda (SEQ ID N01) não adsorvidas sejam removidas.

Exemplo de preparação 4: Detecção de saliva complementar na saliva

[053] Dezesesseis amostras de saliva de pacientes foram usadas para a etapa de detecção de alvo complementar. Dentre estes, dois pertenciam a pacientes TN, dois pertenciam a pacientes CM e os demais correspondiam a pacientes DBM. Um volume correspondente a $10 \mu\text{L}$ de saliva (1:10, v/v) das amostras foi depositado na superfície dos eletrodos. Incubados por 40 minutos a 75°C , cada eletrodo foi lavado com $150 \mu\text{L}$ de solução tampão ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7,4) por 5



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

segundos para lavar amostras não ligadas da superfície PABA/sonda (SEQ ID N01). A detecção indireta foi realizada adicionando 5 μL de solução de ninidrina ($0,04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) à superfície de PABA/sonda (SEQ ID N01):saliva. Após 40 minutos em temperatura ambiente, o excesso de ninidrina foi lavado com 150 μL de solução tampão ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7,4) por 5 segundos. Voltametria de pulso diferencial foi usada para detecções em uma solução eletrolítica de tampão fosfato ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7,4) com potencial entre -0,8 V e +0,5 V, amplitude de modulação 0,2 V, intervalo de tempo 0,002 s, 1 varredura a $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Exemplo de preparação 5: Análises morfológicas do biossensor

[054] A morfologia da superfície dos eletrodos foi avaliada por microscopia de sonda de varredura, realizada no modo de microscopia de força dinâmica (DFM), e por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio Zeiss EVO MA10.

[055] Assim, a presente invenção tem como diferencial um diagnóstico específico de câncer de mama que é o primeiro câncer com alta incidência e mortalidade em mulheres. O método de construção deste biossensor foi extremamente detalhado e possui muitas qualidades para futura comercialização. Foi demonstrado ser eficaz na diferenciação de pacientes TN, de pacientes com DBM e pacientes com CM usando saliva como amostra biológica sem a necessidade de pré-tratamento.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

REIVINDICAÇÕES

1) PLATAFORMA PORTÁTIL DE DETECÇÃO DE microRNA SALIVAR ASSOCIADO AO CÂNCER DE MAMA UTILIZANDO LEITURA ELETROQUÍMICA VIA SMARTPHONE caracterizado por compreender um eletrodo de trabalho modificado com o polímero poli-ácido p-aminobenzoico (poli4-aminobenzóico) e sensibilizado com o miR-200a (SEQ ID N01) para identificar o alvo complementar em amostra saliva.

2) PLATAFORMA PORTÁTIL de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por utilizar como eletrodo de trabalho um eletrodo de carbono serigrafado, eletrodo de carbono vítreo, eletrodo de grafite ou eletrodo de ouro, preferencialmente eletrodo de carbono serigrafado.

3) PLATAFORMA PORTÁTIL de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o polímero (poli-ácido p-aminobenzoico) poder ser substituído por seus isômeros poli ácido 2-aminobenzóico ou poli ácido 3-aminobenzóico.

4) PLATAFORMA PORTÁTIL de acordo com a qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por utilizar técnicas eletroquímicas como voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada,



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

cronoamperometria, espectroscopia de impedância eletroquímica, preferencialmente a técnica de voltametria de pulso diferencial utilizando.

5) PLATAFORMA PORTÁTIL de acordo com com a qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por utilizar para controle da técnica de detecção, visualização e registro dos resultados um mini potenciostato hifenado a smartphone.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

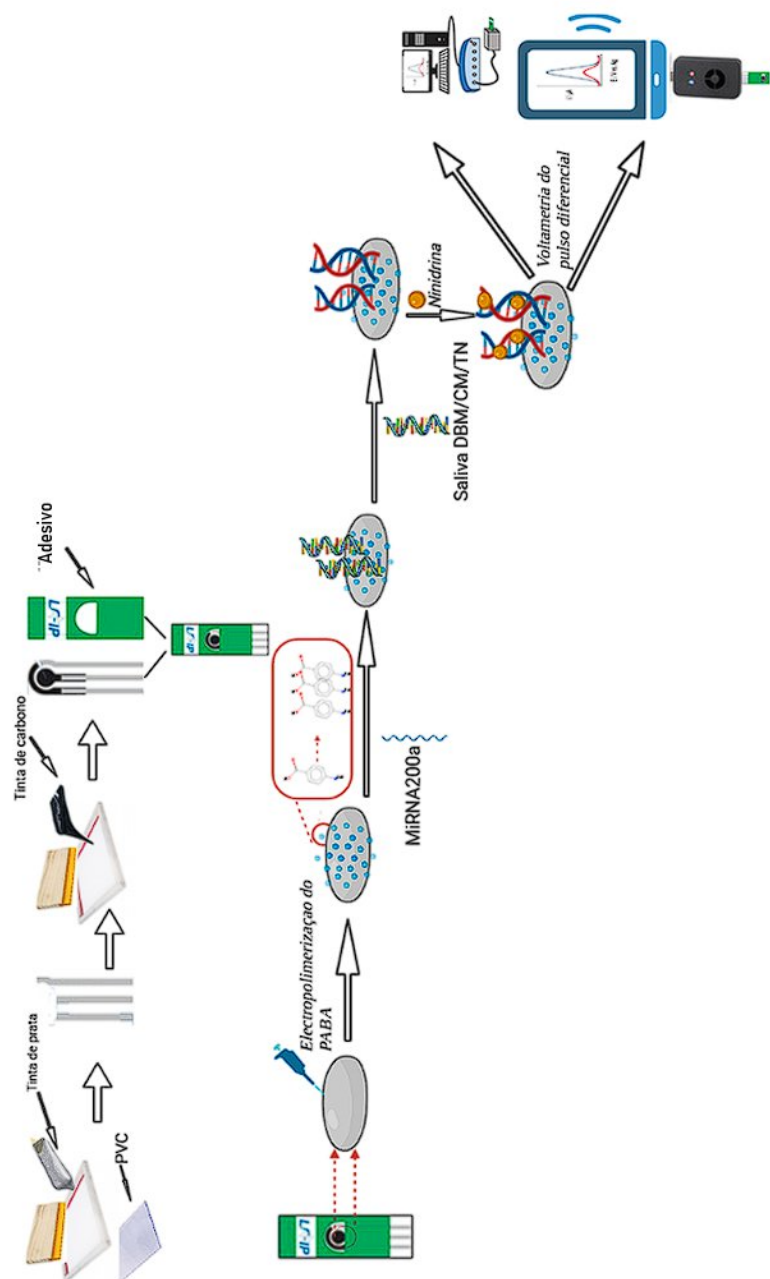


FIGURA1



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

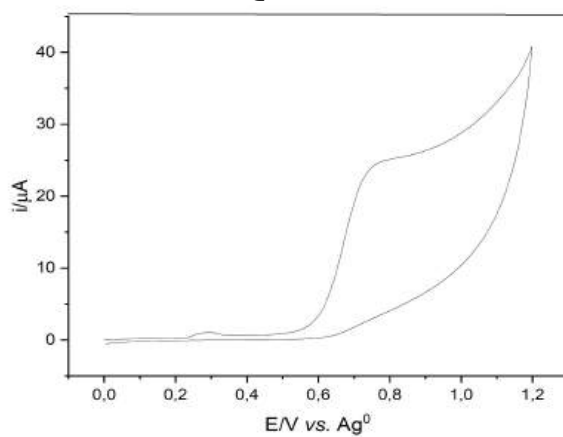


FIGURA 2A

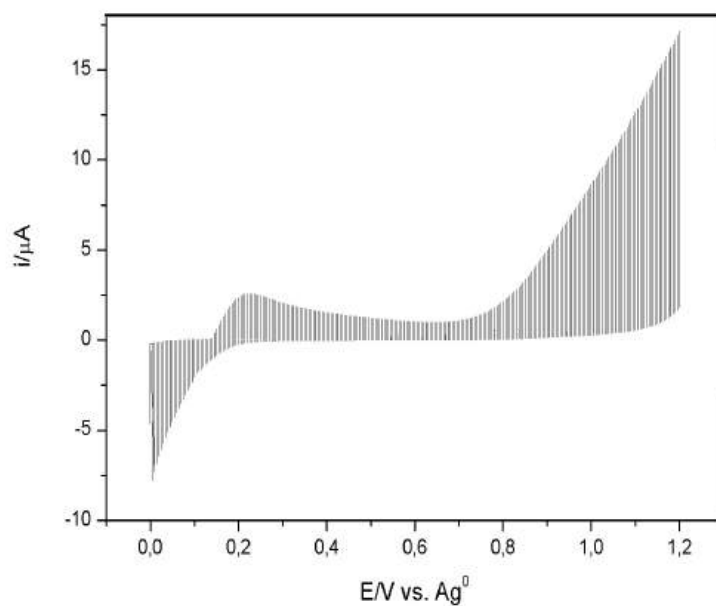


FIGURA 2B



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

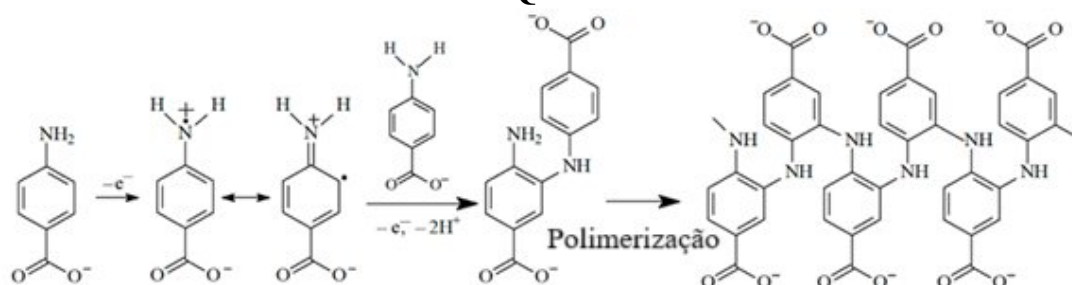


FIGURA 2C

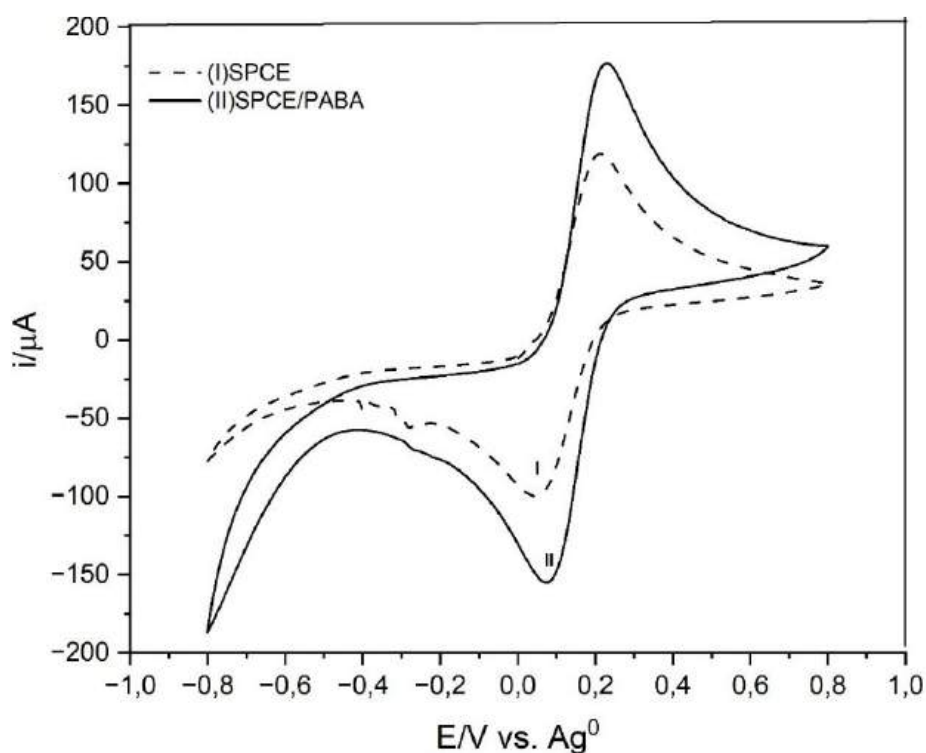


FIGURA 3



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

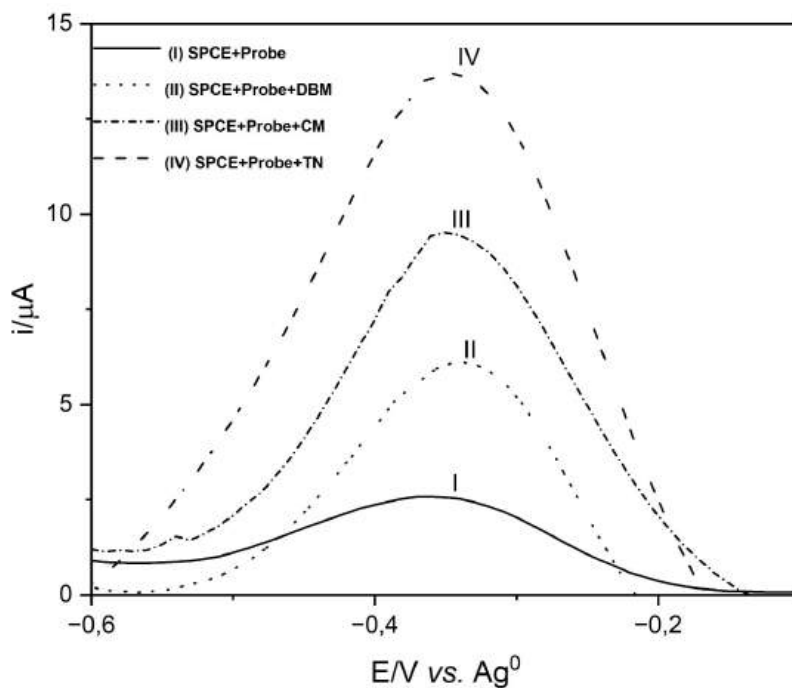


FIGURA 4



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

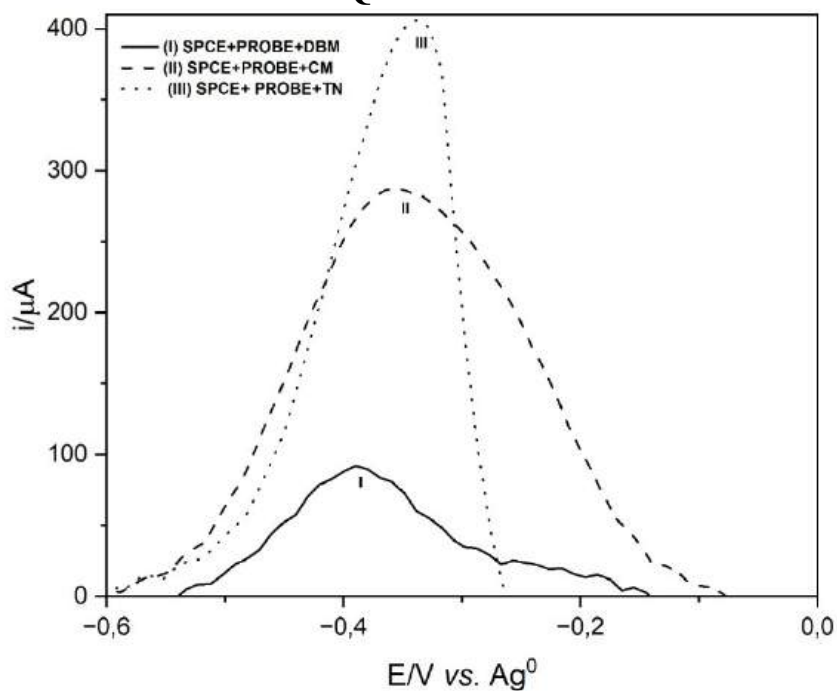


FIGURA 5



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

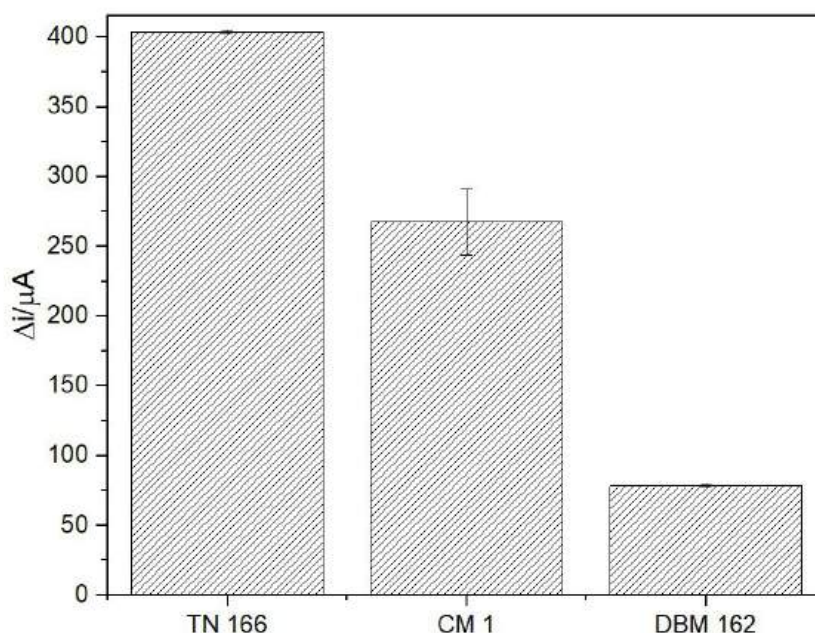


FIGURA 7

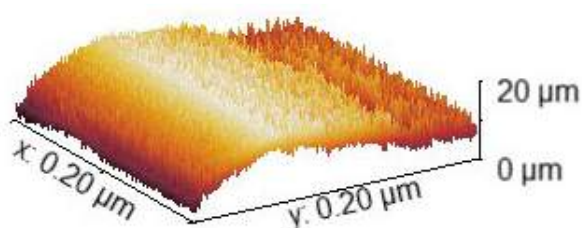


FIGURA 8A

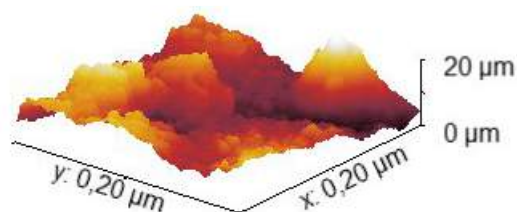


FIGURA 8B

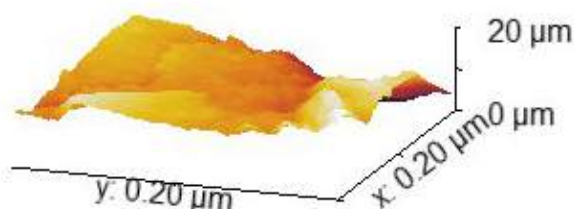


FIGURA 8C

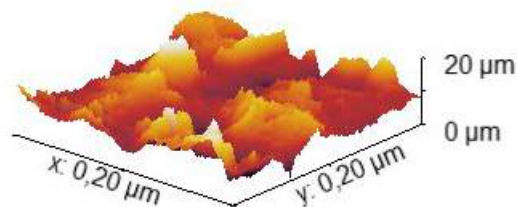


FIGURA 8D



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

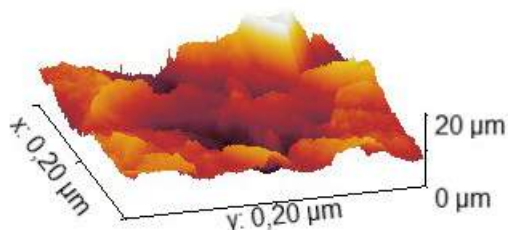


FIGURA 8E

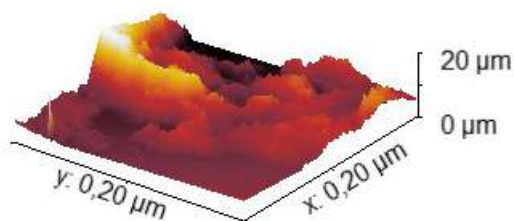


FIGURA 8F

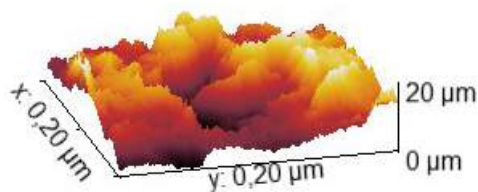


FIGURA 8G

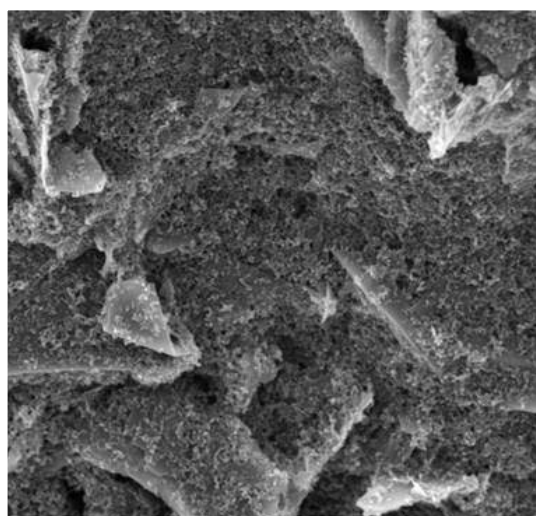


FIGURA 9A

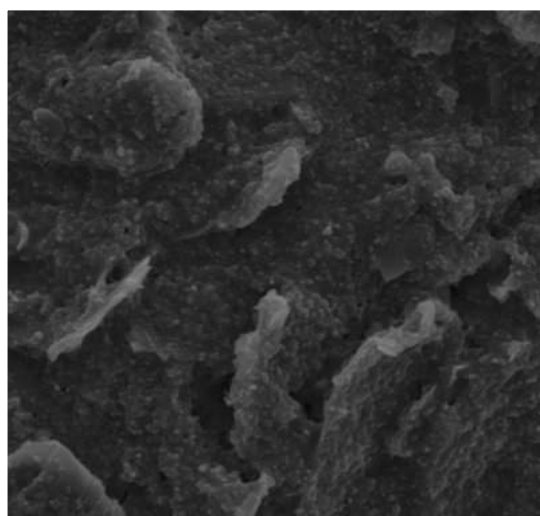


FIGURA 9B



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

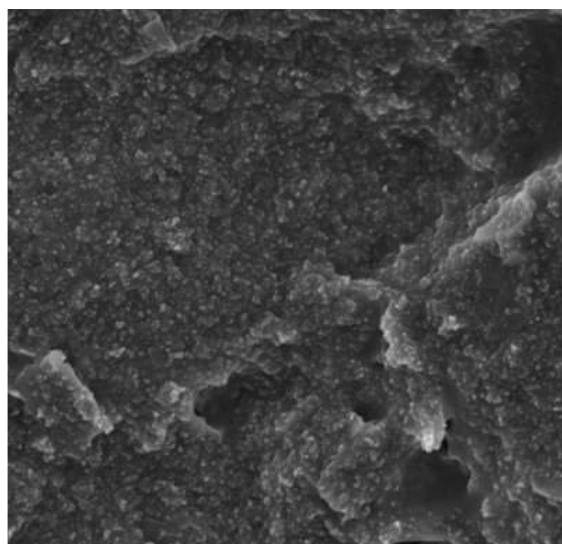


FIGURA 9C

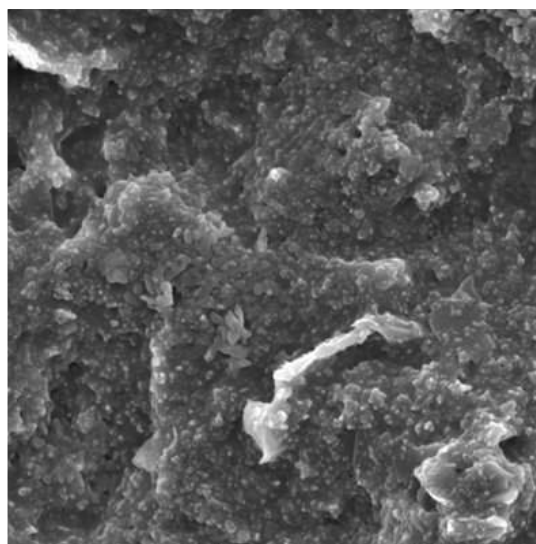


FIGURA 9D

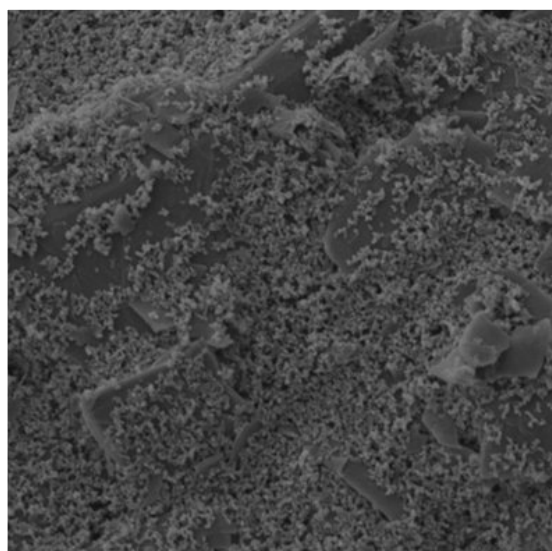


FIGURA 9E

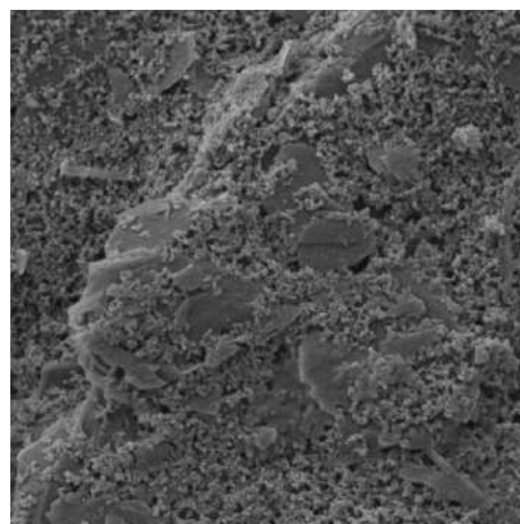


FIGURA 9F



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

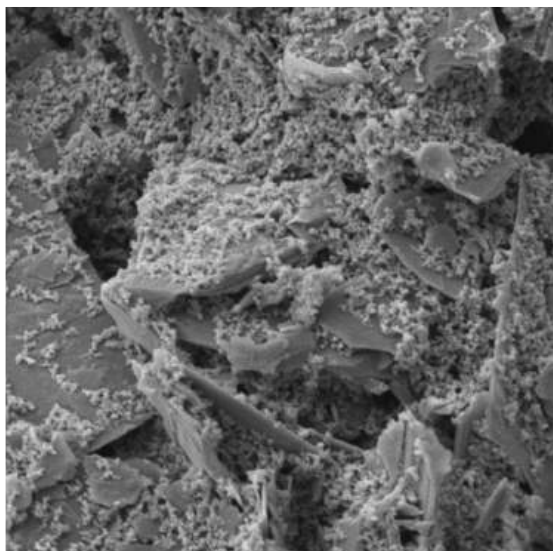


FIGURA 9G



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA
CAPÍTULO III**

**A smartphone-integrated electrochemical biosensor for non-invasive
detection of salivary microRNA in breast cancer diagnosis**

Este capítulo apresenta um artigo científico desenvolvido para submissão. O trabalho descreve o desenvolvimento de um biossensor eletroquímico portátil para a detecção de biomarcadores associados ao câncer de mama, utilizando eletrodos de carbono serigrafados funcionalizados e leitura eletroquímica assistida por smartphone.

O artigo reúne a metodologia experimental, a caracterização do sistema e a avaliação analítica e clínica da plataforma proposta, destacando seu potencial para aplicações em diagnóstico não invasivo e point-of-care. Os resultados obtidos demonstram a viabilidade do biossensor como uma ferramenta promissora de baixo custo, rápida e sensível para o diagnóstico molecular do câncer de mama.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

**A smartphone-integrated electrochemical biosensor for non-invasive
detection of salivary microRNA in breast cancer diagnosis**

Marlone L. T. Njiyip^a, Dayane D. Moraes^a, Luis M. E. L. Cunha^a, Lida N. P. Gelves^b, Lucas R. O. Silva^a, J. M. Madurro^c, Yara C. P. Maia^b, Ana Graci Brito Madurro^{a*}

^a Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, Brazil

^b Faculty of Medicine, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, Brazil

^c Institute of Chemistry, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, Brazil

*Author to whom correspondence should be addressed. e-mail: agbrito@ufu.br



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Highlights

- Novel genosensor for salivary miR-200a detection in breast cancer diagnosis.
- High sensitivity with detection up to 1:107 dilution and linear range from 1:5 to 1:50.
- Smartphone-assisted electrochemical readout enabling point-of-care analysis.
- Clear discrimination of benign disease, breast cancer, and TNBC from saliva.
- Excellent diagnostic accuracy confirmed by ROC analysis (AUC = 1.0).

Abstract

This work reports the development of a portable electrochemical biosensor for the selective detection of salivary miR-200a, a key microRNA biomarker associated with breast cancer progression and epithelial–mesenchymal transition. The sensing platform was constructed using a screen-printed carbon electrode (SPCE) modified with an electropolymerized poly-PABA film, which provides a stable and functional interface enriched with carboxyl and amine groups for efficient probe immobilization while limiting nonspecific adsorption. A specific miR-200a oligonucleotide probe was immobilized onto the poly-PABA layer, and hybridization events were monitored through indirect electrochemical detection using ninhydrin as an electroactive indicator. The biosensor exhibited excellent analytical performance, including a wide linear response range, low limit of detection, good reproducibility, and operational stability for up to 30 days under refrigerated storage. Surface characterization by atomic force microscopy, scanning electron microscopy, and energy-dispersive X-ray spectroscopy confirmed successful electrode functionalization and pronounced morphological changes following specific probe–target hybridization. High selectivity was demonstrated, as the complementary miR-200a target produced a significantly higher electrochemical response compared to non-complementary miRNA sequences and viral RNA (HCV), confirming minimal interference in complex



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

biological matrices. Clinical validation using human saliva samples enabled clear discrimination between healthy individuals, patients with benign breast disease, breast cancer, and triple-negative breast cancer. Receiver operating characteristic (ROC) analysis yielded areas under the curve of 1.0 across all comparisons, indicating outstanding diagnostic accuracy. The integration of smartphone-assisted electrochemical readout further enhances the portability and accessibility of the platform. Overall, this biosensor represents a promising non-invasive, low-cost, and point-of-care diagnostic approach for breast cancer screening and molecular stratification.

Keys words: Electrochemical biosensor; microRNA-200a; Saliva-based diagnostics; Breast cancer; Point-of-care testing; Smartphone-assisted sensing.

Introduction

Breast cancer remains the most frequently diagnosed malignant neoplasm in women and one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide (Smolarz et al., 2022; C. Wu et al., 2025). Despite significant advances in imaging and histopathology, early diagnosis continues to represent a major clinical challenge, particularly during asymptomatic stages of the disease (Alimirzaie et al., 2019; da Fonseca Alves et al., 2024). Conventional diagnostic approaches, such as mammography and tissue biopsy, although effective, suffer from limitations related to their invasive nature, high cost, requirement for specialized infrastructure, and, in some cases, insufficient sensitivity for the detection of early lesions or micro-invasions (Ahmadi-Hadad et al., 2024; Christgen et al., 2021; Yara & Oroszi, 2025). These constraints highlight the urgent need for alternative diagnostic strategies that are rapid, minimally invasive, and compatible with point-



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

of-care applications (Roy et al., 2023; Tarighati et al., 2023; H. J. Wu & Chu, 2022). Globally, breast cancer remains the most frequently diagnosed cancer among women, with approximately 2.4 million new cases and an estimated 715,000 deaths by 2025 (IARC, 2025).

In this context, microRNAs (miRNAs) who are short RNA sequences of approximately 22 nucleotides that function as regulatory non-coding RNAs and they have emerged as highly promising molecular biomarkers (Abohalawa et al., 2024; Sun et al., 2023). These small non-coding RNAs play a pivotal role in the post-transcriptional regulation of gene expression and are involved in key biological processes, including cell proliferation, apoptosis, epithelial–mesenchymal transition (EMT), and metastasis (Cockenpot, 2025; Fontana et al., 2025; Miranda et al., 2024). Among them, miR-200a, a member of the miR-200 family, is closely associated with breast cancer progression and the regulation of EMT through the control of E-cadherin expression and its transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2 (Cavallari et al., 2021a; Guo et al., 2018; Klicka et al., 2022; Li et al., 2014; Mongroo & Rustgi, 2010; Tsouko et al., 2015). Reliable detection of this miRNA therefore represents a strategic objective for breast cancer diagnosis and patient stratification (Cavallari et al., 2021b; Hu et al., 2020; Khodadoust et al., 2022).

Electrochemical biosensors constitute a particularly attractive analytical platform for the detection of nucleic acid biomarkers (Mobed et al., 2024; Naresh & Lee, 2021). Their high sensitivity, low power consumption, compatibility with miniaturization, and ease of integration into portable systems make them well suited for point-of-care diagnostic applications (Huang et al., 2018; Mohammadpour-Haratbar et al., 2023; D. Zhang & Liu, 2016). The analytical performance of these devices largely depends on the engineering of the electrode–solution interface, which governs charge transfer processes, active site density, and recognition selectivity (Chiorcea-Paquim, 2023; Felipe et al., 2025;



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Gajdosova et al., 2020). In this regard, the incorporation of nanomaterials and functional materials has substantially enhanced the analytical performance of electrochemical biosensors by enabling signal amplification and improving stability and reproducibility (Gomide et al., 2025; Guedes et al., 2021; Moço et al., 2021).

Among the functional materials explored, electroactive polymeric films offer notable advantages in terms of chemical stability, ease of deposition, and surface functionalization (L. F. Ferreira et al., 2015; Rostami et al., 2013). Poly(para-aminobenzoic acid) (poly-PABA), enriched with amine and carboxyl functional groups, provides a particularly suitable matrix for the immobilization of nucleic acid probes while limiting non-specific adsorption (Benyoucef et al., 2008; Liu et al., 2012; Sayyah et al., 2006). Its deposition by electropolymerization allows precise control over surface properties and promotes efficient biomolecular recognition (El-Said et al., 2020; Kuznetsova et al., 2023; Lakard, 2020; Santos et al., 2019).

In parallel, the use of alternative biological fluids, such as saliva, aligns with the concept of non-invasive liquid biopsy (Faur et al., 2021; Park et al., 2009). Compared to blood, saliva offers significant advantages in terms of patient comfort, biosafety, and sampling simplicity, while constituting a relevant source of molecular biomarkers (Faur et al., 2021; Greither et al., 2017). When combined with the integration of electrochemical biosensors into portable electronic devices, particularly smartphones, this approach paves the way for compact, connected, and economically accessible molecular diagnostic systems at the core of modern bioelectronics (Abraham et al., 2012; Calabria et al., 2017; Gál et al., 2025; M. Zhang et al., 2022).

In this work, we report the development of an electrochemical biosensor based on a screen-printed carbon electrode modified with a poly-PABA film for the specific detection of miR-200a in human saliva samples. The proposed platform combines surface engineering, functional materials, and portable smartphone-controlled electrochemical readout. The developed system demonstrates robust



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

and selective discrimination between breast cancer, triple-negative breast cancer, and benign breast conditions using saliva samples, highlighting the strong potential of electrochemical biosensors integrated into portable bioelectronic systems for non-invasive point-of-care molecular diagnostics.

2. Materials and methods

2.1. Reagents, materials and equipment

All reagents used were of analytical grade. p-Aminobenzoic acid (PABA) was acquired from Goldlab. Ninhydrin (ACS reagent), the breast cancer-specific oligonucleotide probe, miRP 5'-GGCCCGGGGACACTCGTAGAATGGCCTGTCACGACCTAAAGGGTCTGAACTGAGATTGTGACAGACCATTGCTACAAGTTTCCACTGGGCG-3'), the complementary target sequences miRT (miRNA-200a, 3'-CCGGGCCCCTGTGAGCATCTTACCGGACAGTGCTGGATTTCAGCTTGACTCTAACACTGTCTGGTAACGATGTTCAAAGGTGACCCGC-5') were obtained from Sigma-Aldrich. Hepatitis C virus (HCV) target sequences (3'-GCGTGAAGACAGAAGTTCCTCACAGGGG-5') and non complementary miRNA target were obtained from genscript. Phosphate buffer solutions (PBS, 0.1 mol·L⁻¹, pH 7.4) were prepared from disodium phosphate and monosodium phosphate (Neon). All solutions were prepared with demineralized water (18.2 MΩ·cm, 25 °C). Electrochemical preconditioning and electrode modification were performed using a PalmSens 4 potentiostat controlled by PSTrace 5.131 software, while electrochemical detection of biological samples was carried out with a SensiSmart portable potentiostat (PalmSens BV), controlled via PSTouch software and connected to a Motorola smartphone running Android 12. Thermal incubations were performed in a Lucadema oven, and biological sample handling took place in a Lutech biosafety cabinet. Electrode surface morphology was



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

analyzed by atomic force microscopy (SPM 9600, Shimadzu) and by scanning electron microscopy coupled with EDS (VEGA 3 LMU, Tescan), with SEM/EDS analyses performed within the RELAM-UFU network.

2.2. Study Design, Planning, and Eligibility Criteria

A cross-sectional study was conducted at the Cancer Hospital of the Federal University of Uberlândia (MG, Brazil), following ethical approval (CAAE 31626620.2.0000.5152), in accordance with the Declaration of Helsinki and CNS Resolution 466/12. Data were collected between June 2021 and October 2023, after obtaining informed consent. The study included women with pathologically confirmed breast cancer (including TNBC and non-TNBC), patients with benign breast conditions (BBD group), and a healthy control group of women with no family history of breast cancer and normal breast imaging, classified as BIRADS 1. Exclusion criteria included age < 18 years, a primary non-breast tumor, inability to participate, and brushing teeth before saliva collection.

2.3. Collection of saliva samples

Unstimulated saliva was collected by expectoration after oral rinsing, with participants remaining at rest for 5 minutes. Samples were centrifuged at $3000 \times g$ at 4°C for 20 minutes (KASVI®, São José dos Pinhais, PR, Brazil), and the supernatant was used for analysis. Relevant clinical data, including histological type, clinical stage, tumor grade, and molecular subtypes (ER, PR, HER2), were extracted from medical records according to the TNM classification (AJCC/UICC).

2.4. Fabrication and preconditioning of screen-printed carbon electrodes

Four-mm diameter screen-printed carbon electrodes (SPCE) were used as working electrodes. The electrodes were fabricated on PVC substrates by successive screen printing of a silver conductive ink for the tracks and reference



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

electrode, followed by a carbon conductive ink for the working and auxiliary electrodes. Before modification, the electrodes underwent electrochemical preconditioning by chronoamperometry in a $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS solution. After a 5s equilibration time, a potential of +1.4 V was applied for 300 s. Electrodes with similar chronoamperometric profiles were selected to ensure measurement reproducibility. This step also allows for electrochemical cleaning and electropolishing of the surface.

2.5. Fabrication and functionalization of the electrochemical biosensor

The surface of the working electrode was modified by electropolymerization of para-aminobenzoic acid (PABA), chosen for its ability to form a stable polymeric film, rich in amine and carboxyl groups, promoting the immobilization of biomolecules and improving the electrochemical performance of the biosensor (Ferreira et al. 2015). PABA was dissolved at $2.5 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ in phosphate buffer ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.4). Electropolymerization was carried out by cyclic voltammetry (50 cycles between 0.0 and +1.2 V vs Ag^0 , $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$) using a PalmSens 4 potentiostat. After modification, baselines were established by differential pulse voltammetry in phosphate buffer ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.4), with a potential of -0.8 to +0.5 V, an amplitude of 0.2 V, an interval of 0.002 s and a single sweep at $0.1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.

2.6. Immobilization of the miRP

The oligonucleotide probe (miRP) was immobilized on the surface of PABA-modified graphite electrodes. Immobilization was achieved by chemisorption, via the functional groups of the polymer film, by incubation at room temperature in a humid, hermetically sealed environment. After incubation, the electrodes were rinsed with phosphate buffer ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.4) to remove any probes that were



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

not specifically adsorbed (Ferreira et al., 2018; Flauzino et al., 2022; Moço et al., 2021).

2.7. Hybridization with salivary targets and electrochemical detection

Hybridization was performed using diluted (1:10, v/v) human saliva samples, which were deposited onto functionalized electrodes and incubated at 75 °C for 40 min to promote probe-target specific hybridization. Indirect detection of hybridization was performed using ninhydrin ($0.04 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), which was used as an electroactive indicator due to its increased affinity for double-stranded nucleic acid structures (Guedes et al. 2021). After incubation, excess indicator was removed by rinsing. Electrochemical measurements were performed by differential pulse voltammetry in a phosphate buffer ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.4), using a Sensit Smart portable potentiostat connected to a smartphone for data acquisition and processing.

2.8. Figures of merit of the biosensor

The calibration curve was developed from a saliva sample from a patient with triple-negative breast cancer (TNBC), diluted in water for injection to obtain a series of successive dilutions: 1:5, 1:10, 1:20, 1:30, and 1:50 (v/v). Each dilution was analyzed using the proposed electrochemical detection method, and a linear regression between the peak current intensity obtained by differential pulse voltammetry and the dilution factor was used to establish the calibration curve. The limit of detection (LOD) was calculated using the equation $\text{LOD} = 3.3\sigma/S$ while the limit of quantification LOQ was calculated according to $\text{LOQ} = 10\sigma/S$, where σ represents the standard deviation of the background signal and S the slope of the curve. Furthermore, the stability of the biosensor was evaluated over a 40 days storage period at 8°C using the same TNBC saliva sample, with electrochemical



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

responses compared at regular intervals to assess the reproducibility and robustness of the device over time. The selectivity of the miR-200a probe was evaluated using healthy saliva samples artificially spiked with different nucleic acid sequences. Samples were enriched separately with miR-200a target, a non-complementary miRNA (miR-), and a viral HCV sequence at a final concentration of $3 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (1:10, v/v).

2.9. Electrochemical and morphological characterization and statistical analysis

The surface morphology of the electrodes was analyzed by atomic force microscopy (AFM) and scanning electron microscopy (SEM) coupled with energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS). The arithmetic mean $\pm$ standard deviation is given for numerical values obtained from triplicate measurements. Histograms and voltammograms were plotted with Origin Pro 2025 after baseline subtraction.

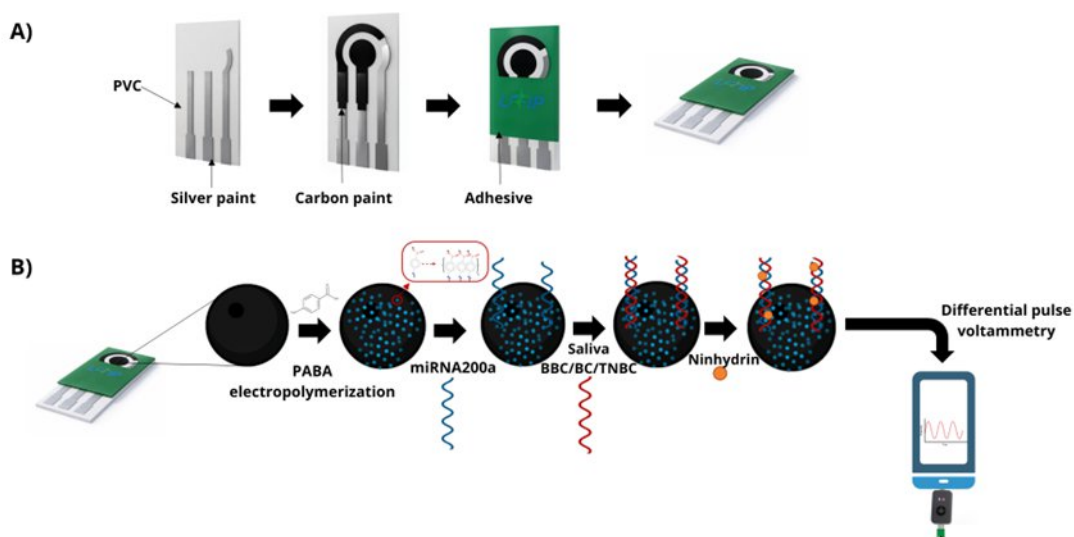


Fig.1. (A) Schematic illustration of SPCE fabrication, (B) biosensor assembly, and smartphone-assisted electrochemical detection of salivary miR-200a in benign



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

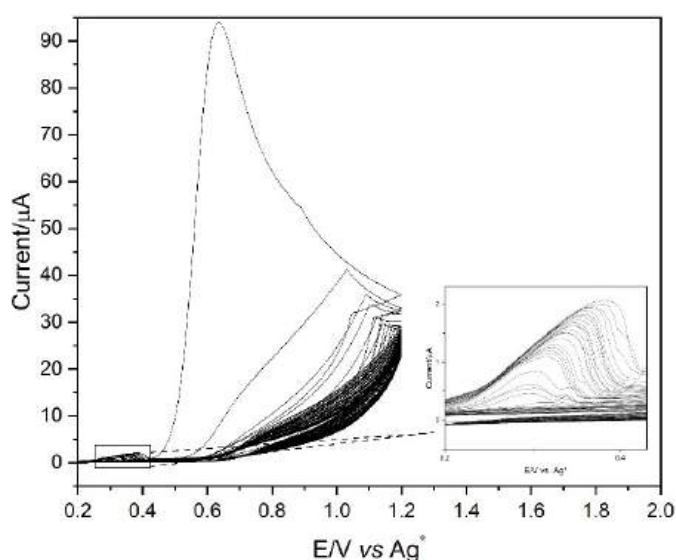
breast disease (BBC), breast cancer (BC), and triple-negative breast cancer (TNBC) samples.

2. Results and discussion

2.1. Electropolymerization and characterization of para-aminobenzoic acid

The electropolymerization and characterization of para-aminobenzoic acid (PABA) were carried out by cyclic voltammetry in phosphate buffer (0.1 mol·L⁻¹, pH 7.4) using a graphite electrode. Energy-dispersive spectroscopy (EDS) and morphological analyses are presented in Figs 2A - 2E.

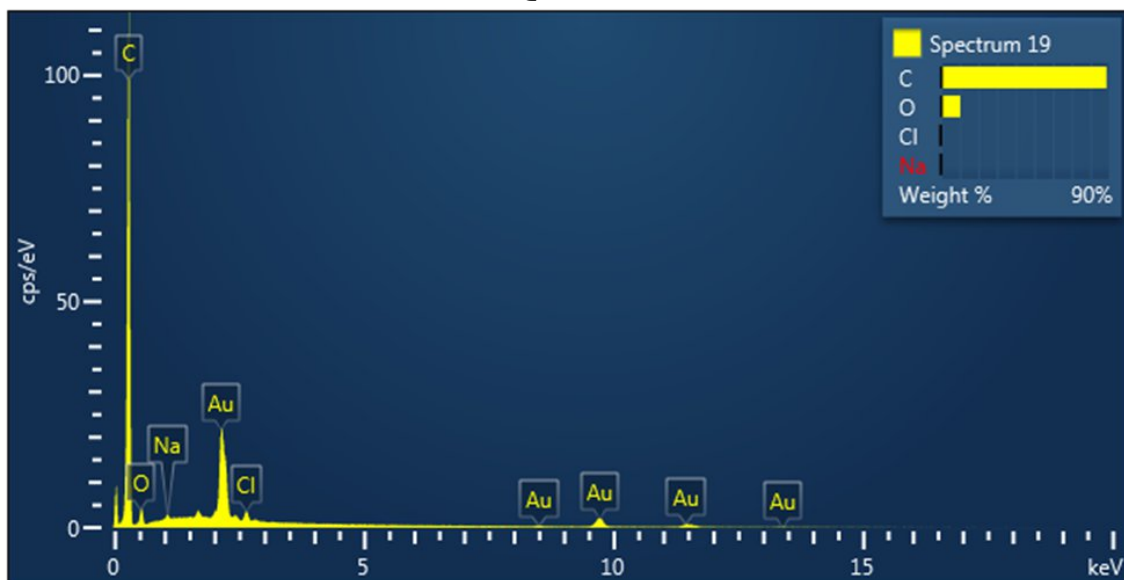
(A)



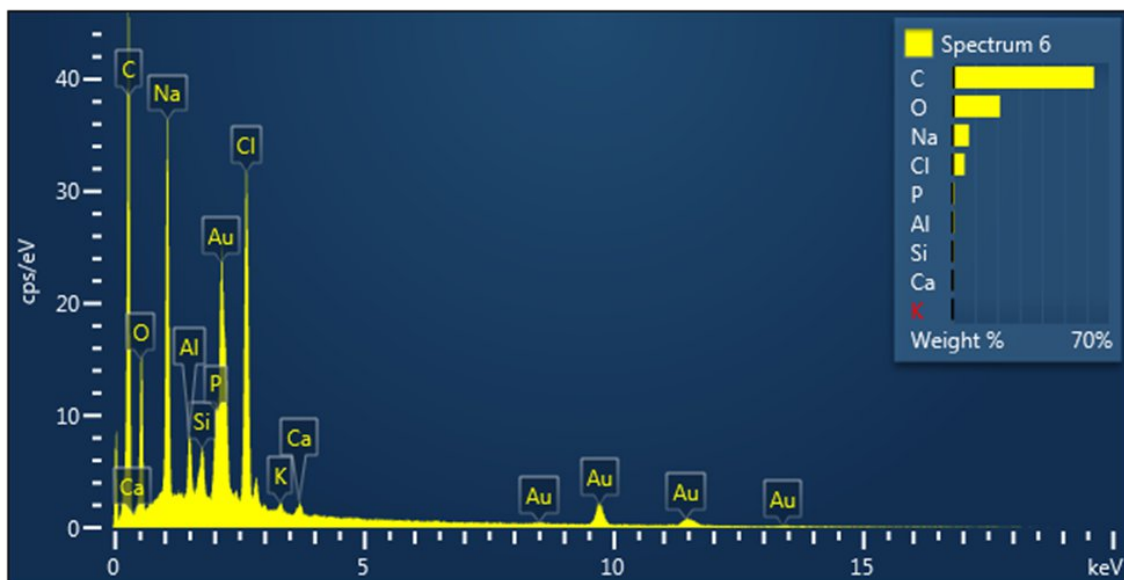
(B)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA



(C)



(D)

(E)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

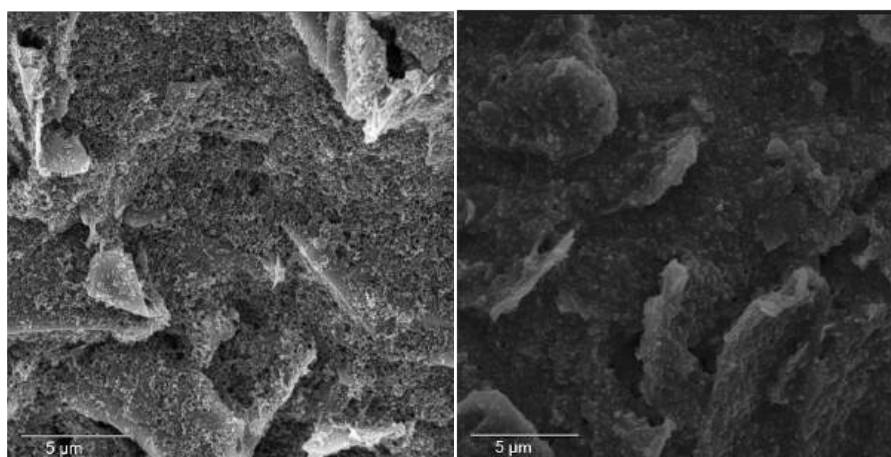
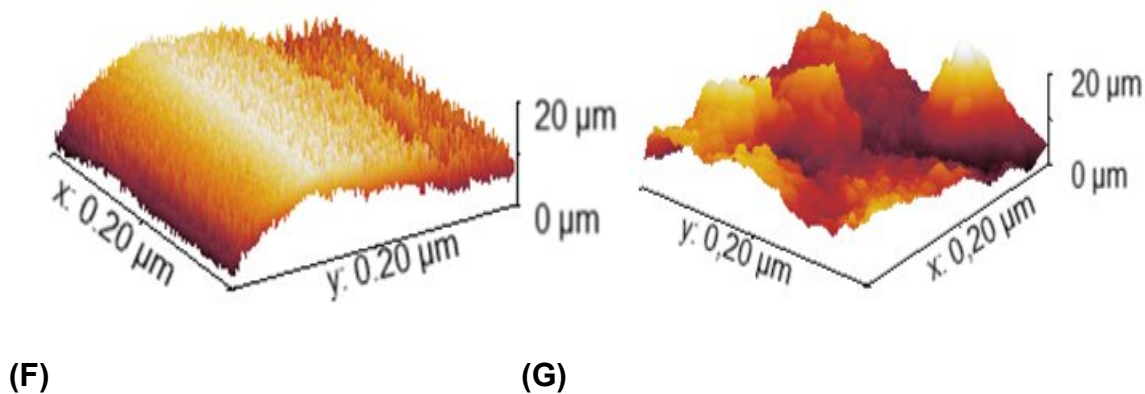


Fig. 2. (A) Consecutive cyclic voltamograms (50 cycles) of GE in a solution containing 2.50 mM PABA. Electrolyte: phosphate buffer ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), scan rate: $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. (B) EDS analysis graph of SPCE. (C) EDS analysis graph of SPCE/Poly(PABA).. Characterization of the electrodes and the platform. (D) AFM image of SPCE; (E) SPCE/Poly(PABA); (F) SEM image of bare SPCE; (G) SPCE/Poly(PABA).

In Figure 2A, an irreversible anodic peak is observed at high potentials, attributed to the oxidation of the PABA monomer and associated with the formation of radical cation species that initiate the electropolymerization process. As the number of potential cycles increases, a progressive decrease in the



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

monomer oxidation current is observed, indicating consumption of the monomer during polymer growth. Simultaneously, an increase in the current response within the potential window of approximately +0.2 to +0.4 V is detected, which is attributed to the formation and growth of an electroactive poly(PABA) film on the electrode surface. After successive cycles, the stabilization of the voltammograms suggests the formation of a stable, homogeneous, and well-adherent polymeric layer.

EDS analysis confirms the successful chemical modification of the electrode surface following PABA electropolymerization. The bare SPCE surface (Figure 2B) is predominantly composed of carbon (88.70%) and oxygen (10.38%). In contrast, the PABA-modified electrode (Figure 2C) exhibits a marked reduction in carbon content (63.20%) accompanied by a significant increase in oxygen content (21.24%), consistent with the incorporation of oxygen-containing functional groups, particularly carboxyl moieties characteristic of poly(PABA). The presence of sodium (7.30%) and phosphorus (0.99%) is attributed to residual phosphate buffer species remaining from the electropolymerization process.

The surface morphology of the modified electrodes was investigated by atomic force microscopy (AFM), revealing a progressive increase in surface roughness (S_q) throughout the successive functionalization steps (Figure 2D). The bare SPCE (Figure 2D) exhibits moderate roughness (50.80 ± 2.29 nm), characteristic of a relatively homogeneous carbon surface. Following PABA electropolymerization, the surface roughness increases to 81.60 ± 1.29 nm, indicating the formation of a poly(PABA) film. The growth of this polymeric layer induces granular features and results in a more heterogeneous and irregular surface morphology (Figure 2E). The comparative analysis of SEM micrographs clearly highlights the progressive evolution of the surface morphology throughout the different electrode modification steps and biological interactions (Figure 2E). The bare SPCE exhibits a surface composed of irregular flakes and relatively flat



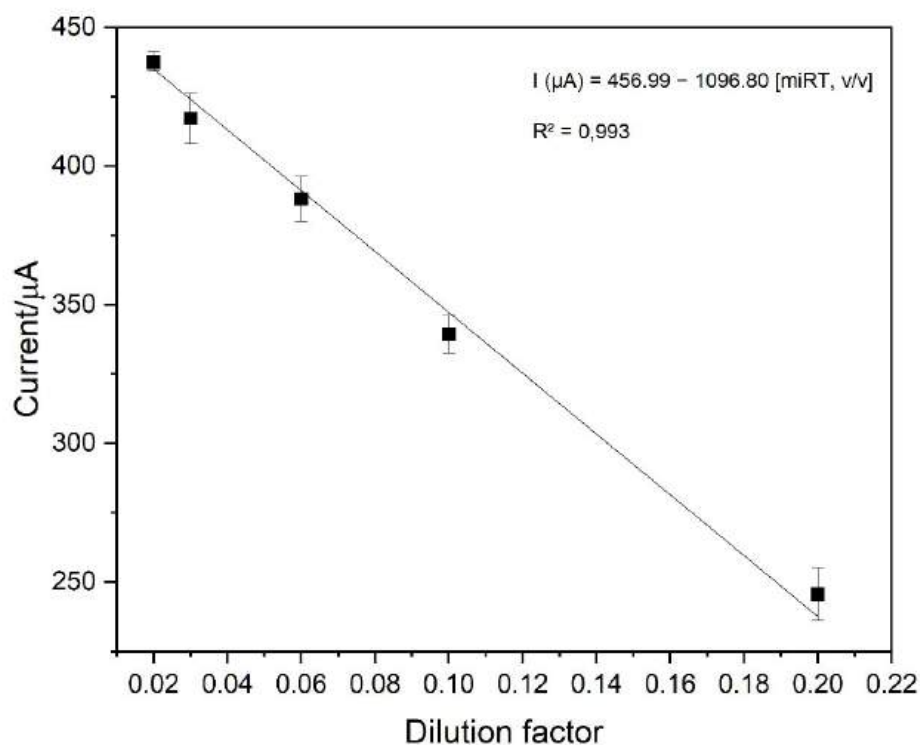
SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

regions (Figure 2F). After PABA electropolymerization, the surface becomes markedly rougher and more heterogeneous, with the formation of a granular polymeric film and layered structures (Figure 2G).

2.2. Analysis of the Genosensor Figures of Merit

Subsequently, a calibration curve was constructed to evaluate the detection limit, linear range, sensitivity, stability and stability (Fig. 3).

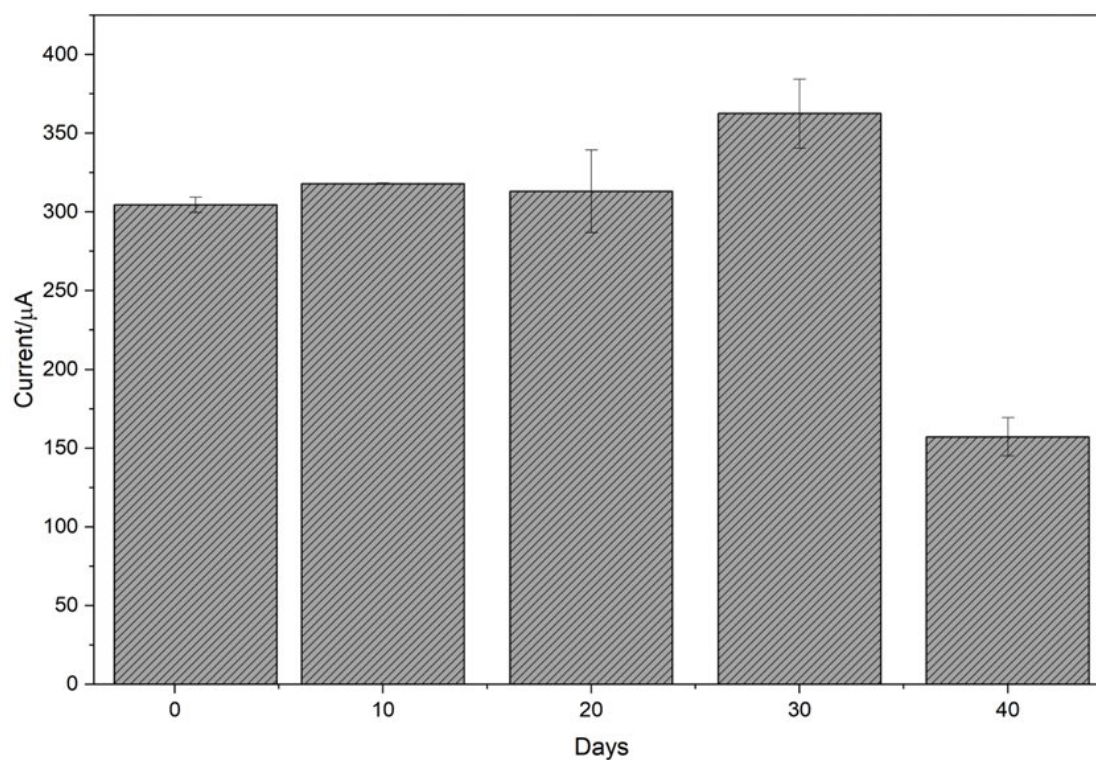
(A)





SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

(B)



(C)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

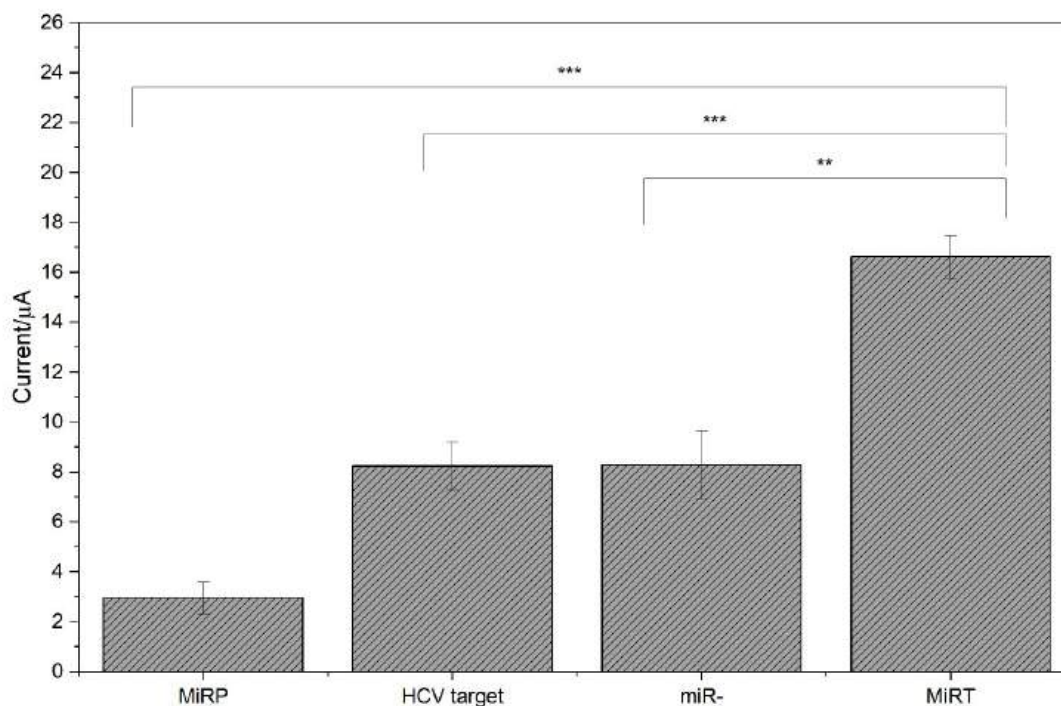


Figure 3. (A) Calibration curve of the SPCE/PABA/miRP biosensor obtained from serial dilutions of TNBC salivary samples, demonstrating a linear relationship between the current response and the dilution factor ($R^2 = 0.993$). (B) Stability profile of the biosensor response monitored over 40 days under storage at $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. (C) Specificity assessment of the SPCE/PABA/miRP genosensor using saliva samples enriched with non-complementary (miR-), viral RNA (HCV), and the complementary miRT.

Fig.3A presents the current response obtained from the ninhydrin oxidation peak current as a function of the dilution factor (1:5, 1:10, 1:15, 1:30, and 1:50), yielding peak currents of 247.24, 339.93, 388.28, 417.26, and 444.62 μA , respectively. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were calculated according to conventional signal-to-noise criteria, being $I\text{ }(\mu\text{A}) = 456.99 - 1096.80\text{ }[miRT, v/v]$. The LOQ, estimated at 1:35 (v/v), demonstrates satisfactory signal stability and analytical robustness, while the LOD of 1:107 (v/v) highlights



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

the high sensitivity of the proposed biosensing platform. All experiments was conducted in phosphate buffer solution ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.4), by monitoring the oxidation peak of ninhydrin.

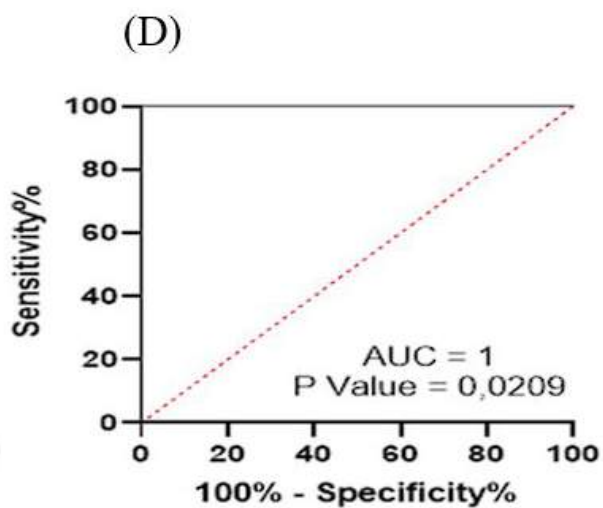
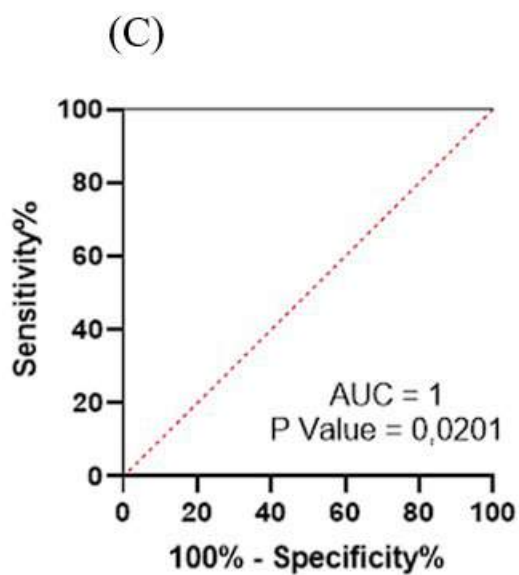
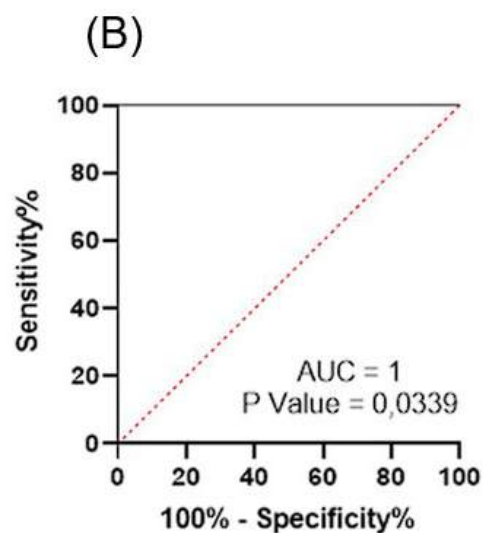
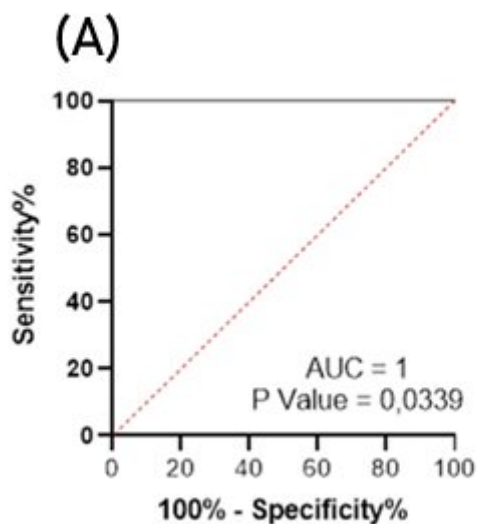
Although these concentrations are lower than those commonly reported for amplified or purified biological samples, this behavior is consistent with the nature of the target analyte (miRNA) and the use of saliva as the analytical matrix, which is known to contain lower miRNA abundance than blood-derived matrices (Faur et al., 2021). Furthermore, many previously reported studies rely on amplification or purification steps that artificially enhance apparent sensitivity (Felipe et al., 2025; F. P. Ferreira et al., 2018; Flauzino et al., 2022; Guedes et al., 2021; Moço et al., 2021). In contrast, the present approach provides a direct and non-invasive analysis, offering a more realistic representation of clinical conditions and reinforcing the practical relevance of the proposed biosensing platform. In **Fig. 3B** stability studies demonstrate sustained bioactivity for up to 30 days, with approximately 90% of the initial analytical response maintained from day 35 onward, indicating satisfactory In **Fig. 3C** the results demonstrate low current responses for the non-complementary targets (8.27 and 8.23 μA), indicating limited nonspecific interactions at the sensing interface. In contrast, the presence of the complementary miR-200a target results in a pronounced increase in the electrochemical signal (16.61 μA), with statistically significant differences relative to miR- (p = 0.00502) and HCV (p = 0.00109). This selective signal amplification confirms that the biosensor response is governed by specific probe–target hybridization, supporting its suitability for selective breast cancer biomarker detection in complex salivary matrices.

2.3. Diagnostic Accuracy Assessment (ROC Analysis)

The analysis of the Accuracy Assessment was presented in the Fig.4.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA





SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

(E)

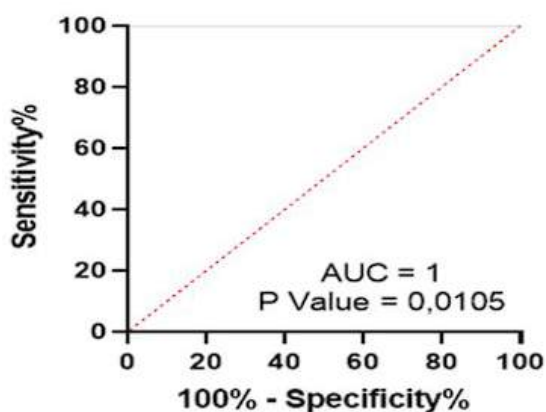


Figure 4. ROC curve analysis for Saliva from a (A) healthy patient vs BBC, : (B) Saliva from a healthy patient vs BC, : (C) Saliva from a healthy patient vs TNBC, (D) BBC vs BC and (E) TNBC vs BC.

According to **Fig. 4**, an area under the curve (AUC) of 1.0 was obtained in all cases, accompanied by statistically significant p-values ranging from 0.0105 to 0.0339. These results demonstrate the outstanding discriminative performance of the biosensor, achieving near-ideal sensitivity and specificity for distinguishing negative samples from pathological samples, as well as for differentiating between specific tumor subtypes. The statistical significance confirms that the observed differences in electrochemical responses are robust and reflect biologically meaningful variations effectively captured by the proposed sensing platform. Although the consistent AUC values of 1 may partially reflect the limited sample size, which can lead to an apparently perfect separation between groups, the coherence of the results across all comparisons strongly supports the intrinsic analytical capability of the biosensor. Taken together, these findings highlight the considerable diagnostic potential of the developed platform and its suitability for sensitive and selective molecular discrimination. Nevertheless, these findings should be interpreted as a proof of concept, and further validation in larger and



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

more heterogeneous cohorts is required to fully establish the clinical translatability and long-term robustness of the proposed approach.

2.4. Clinical Differentiation and Diagnostic Performance

The electrochemical biosensor developed in this study demonstrated a robust capacity for clinical differentiation, exhibiting a direct and ascending correlation between the measured current intensity and the pathological severity of the analyzed conditions, Figure 5. The results indicate that the negative control group established a baseline response with an average of approximately 163.03 μA while the benign breast disease (D) group showed a significant increment, reaching an intermediate range of 232.67 μA . This initial distinction is fundamental for the practical applicability of the device, as it allows for a clear separation between healthy patients and those with non-cancerous physiological alterations, thereby minimizing the occurrence of false-positive results which are common in conventional screening methods.

The transition to the breast cancer groups (B and T) revealed a sharp increase in electrochemical signals, validating the high sensitivity of the sensor to specific biomarkers present in malignant tissues. The general breast cancer (B) group presented a mean response of 317.46 μA , but the maximum performance was observed in the Triple-Negative (T) subtype, with values ranging from 381.77 to 515.31 μA . This behavior suggests that the analyte capture density on the electrode surface is proportional to the aggressiveness of the tumor, as triple-negative cancer is clinically recognized for its distinct biological profiles and high proliferative rates. The lack of overlap between the maximum values of one group and the minimum values of the subsequent group as observed between the control and D groups, and between the B and T groups further reinforces the diagnostic precision of the system, indicating that the limits of detection and quantification are well-established for the stratification of different disease stages.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA

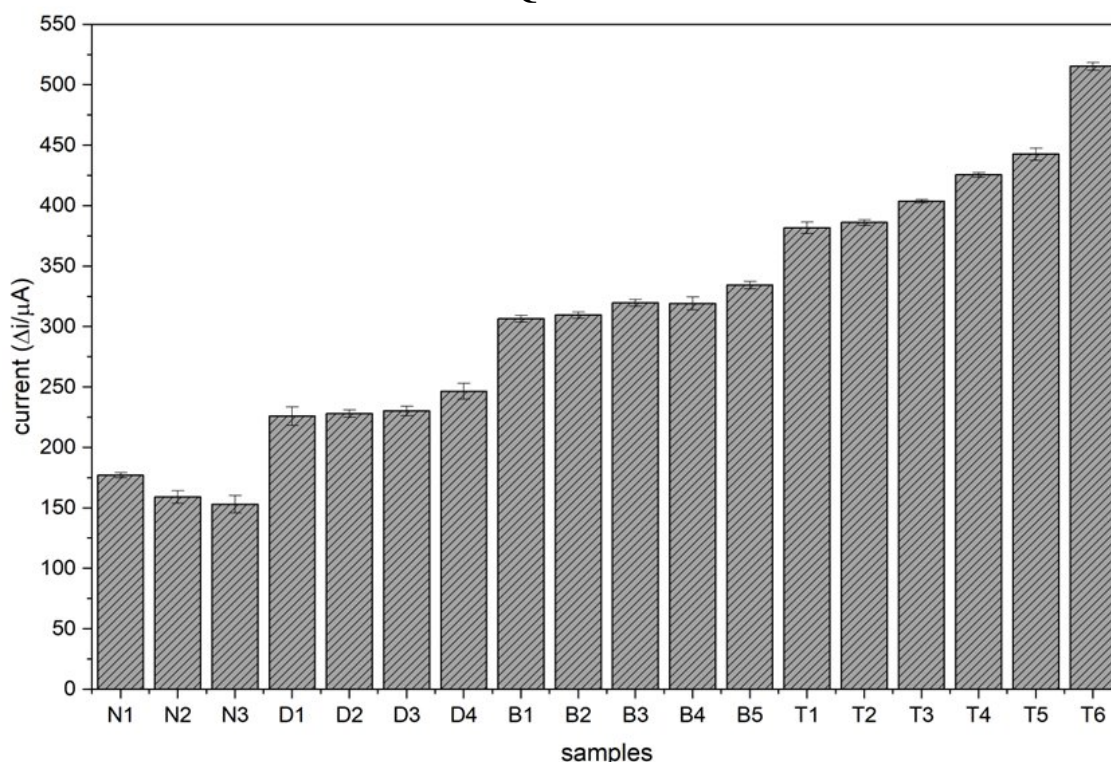


Figure 5. Analytical signal of the electrochemical biosensor in real samples, demonstrating the progressive increase in current according to clinical severity: Negative Control (N1 – N3), Benign Breast Disease (D1 – D4), Breast Cancer (B1 – B5), Triple-Negative (T1 – T6) subtype.

Figure 5 shows that the analysis of the graph reveals a clear and progressive gradient in the analytical signal of the electrochemical biosensor in real samples, directly associated with the clinical severity of the evaluated groups. The linear progression of the electrochemical current can be attributed to the efficiency of the biosensor surface modification, which facilitates electron transfer proportionally to the number of bound miRT molecules (captured biomarkers) on the electrode surface. The variability observed within the Triple-Negative (T1 – T6) group, the highest in the series, likely reflects the inherent biological heterogeneity among oncological patients; however, it consistently maintains a secure statistical distance from the less severe groups. In summary, the sensor's ability to discern



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

not only the presence of neoplasia but also to differentiate the more aggressive subtype Triple-Negative from general Breast Cancer and benign diseases positions this technology as a promising tool for rapid, accurate, and low-cost diagnostics, offering a viable alternative to more time-consuming and complex laboratory methods. These results support the potential of the platform not only for differentiating negative and pathological samples but also for clinical stratification among breast cancer subtypes, including triple-negative tumors, in complex salivary matrices.

Conclusion

In conclusion, the SPCE/poly-PABA/miR-200a biosensor presented herein provides a robust, sensitive, and highly selective strategy for the electrochemical detection of salivary miR-200a. The engineered polymeric interface ensured stable probe immobilization, enhanced surface functionality, and effective suppression of nonspecific interactions, enabling reliable discrimination between complementary and non-complementary nucleic acid sequences. The biosensor exhibited excellent analytical figures of merit, including low detection limits, good linearity, and satisfactory operational stability. Importantly, the platform demonstrated strong clinical relevance by clearly differentiating healthy individuals, benign breast disease, breast cancer, and triple-negative breast cancer using unprocessed saliva samples, achieving near-ideal diagnostic accuracy. The smartphone-assisted readout further reinforces the applicability of this system for decentralized and point-of-care testing. Overall, this work represents a promising step toward non-invasive, portable, and clinically relevant electrochemical biosensing platforms for early breast cancer diagnosis and molecular stratification, warranting further validation in larger clinical cohorts.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

References

- Abohalawa, B. Y., Shaath, H., Elango, R., Vishnubalaji, R., Rashid, S., Al-Sarraf, R., Akhtar, M., & Alajez, N. M. (2024). MicroRNAome profiling of breast cancer unveils hsa-miR-5683 as a tumor suppressor microRNA predicting favorable clinical outcome. *Cancer Cell International*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-024-03550-8>
- Abraham, J. E., Maranian, M. J., Spiteri, I., Russell, R., Ingle, S., Luccarini, C., Earl, H. M., Pharoah, P. P., Dunning, A. M., & Caldas, C. (2012). *Saliva samples are a viable alternative to blood samples as a source of DNA for high throughput genotyping*. <http://www.biomedcentral.com/1755-8794/5/1/19>
- Ahmadi-Hadad, A., de Queiroz, P. C. C., Schettini, F., & Giuliano, M. (2024). Reawakening the master switches in triple-negative breast cancer: A strategic blueprint for confronting metastasis and chemoresistance via microRNA-200/205: A systematic review. In *Critical Reviews in Oncology/Hematology* (Vol. 204). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2024.104516>
- Alimirzaie, S., Bagherzadeh, M., & Akbari, M. R. (2019). *Liquid biopsy in breast cancer: A comprehensive review*. <https://doi.org/10.1111/cge.13514/Breast>
- Benyoucef, A., Huerta, F., Ferrahi, M. I., & Morallon, E. (2008). Voltammetric and in situ FT-IRS study of the electropolymerization of o-aminobenzoic acid at gold and graphite carbon electrodes: Influence of pH on the electrochemical behaviour of polymer films. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 624(1–2), 245–250. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2008.09.013>
- Calabria, D., Caliceti, C., Zangheri, M., Mirasoli, M., Simoni, P., & Roda, A. (2017). Smartphone-based enzymatic biosensor for oral fluid L-lactate detection in one minute using confined multilayer paper reflectometry. *Biosensors and Bioelectronics*, 94, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.02.053>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

- Cavallari, I., Ciccarese, F., Sharova, E., Urso, L., Raimondi, V., Silic-Benussi, M., D'Agostino, D. M., & Ciminale, V. (2021a). The miR-200 family of microRNAs: Fine tuners of epithelial-mesenchymal transition and circulating cancer biomarkers. In *Cancers* (Vol. 13, Issue 23). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers13235874>
- Cavallari, I., Ciccarese, F., Sharova, E., Urso, L., Raimondi, V., Silic-Benussi, M., D'Agostino, D. M., & Ciminale, V. (2021b). The miR-200 family of microRNAs: Fine tuners of epithelial-mesenchymal transition and circulating cancer biomarkers. In *Cancers* (Vol. 13, Issue 23). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers13235874>
- Chiorcea-Paquim, A. M. (2023). Advances in Electrochemical Biosensor Technologies for the Detection of Nucleic Acid Breast Cancer Biomarkers. In *Sensors* (Vol. 23, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/s23084128>
- Christgen, M., Cserni, G., Floris, G., Marchio, C., Djerroudi, L., Kreipe, H., Derksen, P. W. B., & Vincent-Salomon, A. (2021). Lobular breast cancer: Histomorphology and different concepts of a special spectrum of tumors. In *Cancers* (Vol. 13, Issue 15). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cancers13153695>
- Cockenpot, V. (2025). Pathological examination in breast oncology: Overview of histological types, examination procedures, predictive and innovative biomarkers. *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique*, 70(6), 500–510. <https://doi.org/10.1016/j.anplas.2025.06.017>
- da Fonseca Alves, R., Pallarès-Rusiñol, A., Rossi, R., Martí, M., Vaz, E. R., de Araújo, T. G., Sotomayor, M. D. P. T., & Pividori, M. I. (2024). Peptide-based biosensing approaches for targeting breast cancer-derived exosomes. *Biosensors and Bioelectronics*, 255. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2024.116211>
- El-Said, W. A., Abdelshakour, M., Choi, J. H., & Choi, J. W. (2020). Application of conducting polymer nanostructures to electrochemical biosensors. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25020307>



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

- Faur, C. I., Rotaru, H., Osan, C., Jurj, A., Roman, R. C., Moldovan, M., Chirila, M., & Hedesiu, M. (2021). Salivary exosomal microRNAs as biomarkers for head and neck cancer detection—a literature review. In *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery* (Vol. 43, Issue 1). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1186/s40902-021-00303-9>
- Felipe, A. C., do Nascimento, L. A., Lima, T. M., Soares, P. I., Machado, Â. R., Franco, D. L., Ferreira, L. F., Brito-Madurro, A. G., & Madurro, J. M. (2025). Electropolymerization of p-anisidine: influence of pH on electrosynthesis. *Chemical Papers*, 79(4), 2091–2104. <https://doi.org/10.1007/s11696-025-03908-w>
- Ferreira, F. P., Honorato-Castro, A. C., da Silva, J. V., Orellana, S. C., Oliveira, G. C., Madurro, J. M., & Brito-Madurro, A. G. (2018). A novel polymer-based genosensor for the detection and quantification of *Streptococcus pneumoniae* in genomic DNA sample. *Polymer Engineering and Science*, 58(8), 1308–1314. <https://doi.org/10.1002/pen.24707>
- Ferreira, L. F., Santos, C. C., da Cruz, F. S., Correa, R. A. M. S., Verly, R. M., & Da Silva, L. M. (2015). Preparation, characterization, and application in biosensors of functionalized platforms with poly(4-aminobenzoic acid). *Journal of Materials Science*, 50(3), 1103–1116. <https://doi.org/10.1007/s10853-014-8667-4>
- Flauzino, J. M. R., Nguyen, E. P., Yang, Q., Rosati, G., Panáček, D., Brito-Madurro, A. G., Madurro, J. M., Bakandritsos, A., Otyepka, M., & Merkoçi, A. (2022). Label-free and reagentless electrochemical genosensor based on graphene acid for meat adulteration detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 195. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113628>
- Fontana, A., Barbano, R., Pasculli, B., Mazza, T., Palumbo, O., Binda, E., Trivieri, N., Mencarelli, G., Laurenzana, I., Lamorte, D., De Luca, L., Caivano, A., Biagini, T., Rendina, M., lo Mele, A., Prencipe, G., Bravaccini, S., Murgio, R., Ciuffreda, L., ... Parrella, P. (2025). Development of a microRNA-based prognostic model for



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

accurate prediction of distant metastasis in breast cancer patients. *Breast Cancer Research*, 27(1). <https://doi.org/10.1186/s13058-025-02124-4>

Gajdosova, V., Lorencova, L., Kasak, P., & Tkac, J. (2020). Electrochemical nanobiosensors for detection of breast cancer biomarkers. In *Sensors (Switzerland)* (Vol. 20, Issue 14, pp. 1–37). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/s20144022>

Gál, K., Dávid, P., Paholcsek, M., Barabás, M., Szilágyi, E., Balogh, K., Solymosi, D., Miklós, S., Mikáczó, J., Trási, K., Csiki, E., Simon, M., Fauszt, P., Pólska, S., Remenyik, J., Kovács, Á., & Szilágyi-Tolnai, E. (2025). Analysis of the Circulating miRNome Expression Profile in Saliva Samples After Neoadjuvant Chemoradiotherapy in a Rectal Cancer Study Population Using Next-Generation Sequencing. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(21), 10506.
<https://doi.org/10.3390/ijms262110506>

Gomide, J. A. L., Moço, A. C. R., Tanaka, L. T. R., Alexandre, M. R. A., Roca, T. P., Vieira Dall'acqua, D. S., Costa Nunes Soares, M. M., Oliveira, R. J., Lima, R. C., Madurro, J. M., & Brito-Madurro, A. G. (2025). Advancement in SARS-CoV-2 diagnosis: A new and stable electrochemical biosensor for genomic RNA detection. *Bioelectrochemistry*, 161.
<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2024.108798>

Greither, T., Vorwerk, F., Kappler, M., Bache, M., Taubert, H., Kuhnt, T., Hey, J., & Eckert, A. W. (2017). Salivary miR-93 and miR-200a as post-radiotherapy biomarkers in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncology Reports*, 38(2), 1268–1275. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5764>

Guedes, P. H. G., Brussasco, J. G., Moço, A. C. R., Moraes, D. D., Flauzino, J. M. R., Luz, L. F. G., Almeida, M. T. G., Soares, M. M. C. N., Oliveira, R. J., Madurro, J. M., & Brito-Madurro, A. G. (2021). Ninhydrin as a novel DNA hybridization



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

indicator applied to a highly reusable electrochemical genosensor for *Candida auris*. *Talanta*, 235. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122694>

Guo, R., Hao, G., Bao, Y., Xiao, J., Zhan, X., Shi, X., Luo, L., Zhou, J., Chen, Q., Wei, X., & MiR, W. X. (2018). MiR-200a negatively regulates TGF-1-induced epithelial-mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells by targeting ZEB1/2 expression. *Am J Physiol Renal Physiol*, 314, 1087–1095. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00566.2016>.-Although

Hu, K., Liu, X., Li, Y., Li, Q., Xu, Y., Zeng, W., Zhong, G., & Yu, C. (2020). Exosomes mediated transfer of Circ-UBE2D2 enhances the resistance of breast cancer to tamoxifen by binding to MiR-200a-3p. *Medical Science Monitor*, 26. <https://doi.org/10.12659/MSM.922253>

Huang, X., Xu, D., Chen, J., Liu, J., Li, Y., Song, J., Ma, X., & Guo, J. (2018). Smartphone-based analytical biosensors. In *Analyst* (Vol. 143, Issue 22, pp. 5339–5351). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c8an01269e>

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC).

Global Cancer Observatory (GLOBOCAN). Lyon: World Health Organization, 2025. Available at: <https://gco.iarc.fr>. Acess: 12 jan. 2026.

Khodadoust, A., Nasirizadeh, N., Taheri, R. A., Dehghani, M., Ghanei, M., & Bagheri, H. (2022). A ratiometric electrochemical DNA-biosensor for detection of miR-141. *Microchimica Acta*, 189(6). <https://doi.org/10.1007/s00604-022-05301-w>

Klicka, K., Grzywa, T. M., Mielniczuk, A., Klinke, A., & Włodarski, P. K. (2022). The role of miR-200 family in the regulation of hallmarks of cancer. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.965231>

Kuznetsova, L. S., Arlyapov, V. A., Plekhanova, Y. V., Tarasov, S. E., Kharkova, A. S., Saverina, E. A., & Reshetilov, A. N. (2023). Conductive Polymers and Their



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Nanocomposites: Application Features in Biosensors and Biofuel Cells. In *Polymers* (Vol. 15, Issue 18). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/polym15183783>

Lakard, B. (2020). Electrochemical biosensors based on conducting polymers: A review. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 10, Issue 18). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/APP10186614>

Li, X., Roslan, S., Johnstone, C. N., Wright, J. A., Bracken, C. P., Anderson, M., Bert, A. G., Selth, L. A., Anderson, R. L., Goodall, G. J., Gregory, P. A., & Khew-Goodall, Y. (2014). MiR-200 can repress breast cancer metastasis through ZEB1-independent but moesin-dependent pathways. *Oncogene*, 33(31), 4077–4088.
<https://doi.org/10.1038/onc.2013.370>

Liu, X., Luo, L., Zhang, Y., & Ding, Y. (2012). Electropolymerization of 4-aminobenzoic acid containing nano-Au deposited on carbon paste electrode for determination of acetaminophen. *J. Iranian Chem. Res*, 5(3), 161–171.

Miranda, F. S. de, Slaibi-Filho, J., Calasans dos Santos, G., Carmo, N. T., Kaneto, C. M., Borin, T. F., Luiz, W. B., & Gastalho Campos, L. C. (2024). MicroRNA as a promising molecular biomarker in the diagnosis of breast cancer. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2024.1337706>

Mobed, A., Darvishi, M., Kohansal, F., Dehfooli, F. M., Alipourfard, I., Tahavvori, A., & Ghazi, F. (2024). Biosensors; nanomaterial-based methods in diagnosing of *Mycobacterium tuberculosis*. In *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases* (Vol. 34). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.jctube.2023.100412>

Moço, A. C. R., Neto, J. A. S., de Moraes, D. D., Guedes, P. H., Brussasco, J. G., Flauzino, J. M. R., Luz, L. F. G., Soares, M. M. C. N., Madurro, J. M., & Brito-Madurro, A. G. (2021). Carbon ink-based electrodes modified with nanocomposite



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

as a platform for electrochemical detection of HIV RNA. *Microchemical Journal*, 170. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106739>

- Mohammadpour-Haratbar, A., Boraie, S. B. A., Zare, Y., Rhee, K. Y., & Park, S. J. (2023). Graphene-Based Electrochemical Biosensors for Breast Cancer Detection. In *Biosensors* (Vol. 13, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/bios13010080>
- Mongroo, P. S., & Rustgi, A. K. (2010). The role of the miR-200 family in epithelial-mesenchymal transition. In *Cancer Biology and Therapy* (Vol. 10, Issue 3, pp. 219–222). Landes Bioscience. <https://doi.org/10.4161/cbt.10.3.12548>
- Naresh, V., & Lee, N. (2021). A review on biosensors and recent development of nanostructured materials-enabled biosensors. In *Sensors (Switzerland)* (Vol. 21, Issue 4, pp. 1–35). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/s21041109>
- Park, N. J., Zhou, H., Elashoff, D., Henson, B. S., Kastratovic, D. A., Abemayor, E., & Wong, D. T. (2009). Salivary microRNA: Discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clinical Cancer Research*, 15(17), 5473–5477. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0736>
- Rostami, A., Omrani, A., & Hamedian, N. (2013). Flower-like morphology of poly(m-aminobenzoic acid) deposited at GC surface in the presence of silica nanoparticles: Electropolymerization and characterization. *Monatshefte Fur Chemie*, 144(12), 1775–1782. <https://doi.org/10.1007/s00706-013-1063-y>
- Roy, M., Fowler, A. M., Ulaner, G. A., & Mahajan, A. (2023). Molecular Classification of Breast Cancer. In *PET Clinics* (Vol. 18, Issue 4, pp. 441–458). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cpet.2023.04.002>
- Santos, C. da C., Pimenta, T. C., Thomasini, R. L., Verly, R. M., Franco, D. L., & Ferreira, L. F. (2019). Electropolymerization of phenol and aniline derivatives: Synthesis, characterization and application as electrochemical transducers.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

Journal of Electroanalytical Chemistry, 846.

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.05.045>

Sayyah, S. M., Azooz, R. E., El-Rehim, S. S. A., & El-Rabiey, M. M. (2006).

Electropolymerization of o-aminobenzoic acid and characterization of the obtained polymer films. In *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* (Vol. 55, Issue 1, pp. 37–63).

<https://doi.org/10.1080/009140390909763>

Smolarz, B., Zadrożna Nowak, A., & Romanowicz, H. (2022). Breast Cancer—

Epidemiology, Classification, Pathogenesis and Treatment (Review of Literature). In *Cancers* (Vol. 14, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers14102569>

Sun, W., Zhang, N., Ren, X., Wu, D., Jia, Y., Wei, Q., & Ju, H. (2023). Nano-matrixes propped self-enhanced electrochemiluminescence biosensor for microRNA detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 242.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2023.115750>

Tarighati, E., Keivan, H., & Mahani, H. (2023). A review of prognostic and predictive biomarkers in breast cancer. In *Clinical and Experimental Medicine* (Vol. 23, Issue 1, pp. 1–16). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.

<https://doi.org/10.1007/s10238-021-00781-1>

Tsouko, E., Wang, J., Frigo, D. E., Aydogdu, E., & Williams, C. (2015). miR-200a

inhibits migration of triple-negative breast cancer cells through direct repression of the EPHA2 oncogene. *Carcinogenesis*, 36(9), 1051–1060.

<https://doi.org/10.1093/carcin/bgv087>

Wu, C., Sun, X., Lu, Y., Wang, H., Yu, Z., Wang, Z., Huang, R., Jin, Y., Chen, X., Xie, H., Zong, Y., Shen, K., Jiang, M., Tang, Y., & Chen, X. (2025). Cancer-associated fibroblast promotes tamoxifen resistance in estrogen receptor positive breast cancer via exosomal LncRNA PRKCQ-AS1/miR-200a-3p/MKP1 axis-mediated



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
BIOQUÍMICA**

apoptosis suppression. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 44(1). <https://doi.org/10.1186/s13046-025-03529-x>

Wu, H. J., & Chu, P. Y. (2022). Current and Developing Liquid Biopsy Techniques for Breast Cancer. In *Cancers* (Vol. 14, Issue 9). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers14092052>

Yara, D., & Oroszi, T. (2025). Understanding Breast Cancer: A Comprehensive Review of Epidemiology, Risk Factors, and Treatment Strategies. *Advances in Breast Cancer Research*, 14(01), 1–15. <https://doi.org/10.4236/abcr.2025.141001>

Zhang, D., & Liu, Q. (2016). Biosensors and bioelectronics on smartphone for portable biochemical detection. In *Biosensors and Bioelectronics* (Vol. 75, pp. 273–284). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.08.037>

Zhang, M., Cui, X., & Li, N. (2022). Smartphone-based mobile biosensors for the point-of-care testing of human metabolites. In *Materials Today Bio* (Vol. 14). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100254>

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.