



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**MECANISMOS MOLECULARES ALTERADOS NAS CÉLULAS
CANCERÍGENAS DA MAMA**

Trabalho submetido por
Tânia Isabel Cardoso Sequeira
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Novembro de 2016



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**MECANISMOS MOLECULARES ALTERADOS NAS CÉLULAS
CANCERÍGENAS DA MAMA**

Trabalho submetido por

Tânia Isabel Cardoso Sequeira

para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por

Prof. Doutora Isabel Barahona

Novembro de 2016

*Aos meus pais e à minha irmã,
sem o apoio dos quais não teria sido possível.*

Agradecimentos

Expresso os meus agradecimentos, em primeiro lugar, à minha orientadora, a Professora Dra. Isabel Barahona, pela sua orientação, conselhos e disponibilidade que sempre apresentou para me ajudar nesta monografia.

À Cooperativa Egas Moniz pela qualidade do ensino e formação tanto a nível pessoal como profissional.

À minha família, especialmente aos meus pais e à minha irmã, por todo o amor, paciência e esforço exercidos para que este dia finalmente chegasse.

Aos amigos que sempre me apoiaram e me motivaram para que terminasse esta pequena mas grande etapa.

Aos amigos que se tornaram a minha família, especialmente à Margarida Camoesas, à Marília Esgalhado, à Marisa Pires, à Joana Leal e à Ana Marta, por toda a paciência, apoio e especialmente pelos momentos partilhados ao longo deste percurso.

A todos, muito obrigada!

Resumo

Atualmente, o cancro da mama tem uma incidência alta sendo importante controlar a sobrevivência das células mamárias prevenindo a iniciação e progressão de cancro da mama. O cancro da mama pode ser originado por várias mutações genéticas sendo também importante para o seu desenvolvimento as proteínas envolvidas na deteção e reparação de erros nas cadeias de DNA que têm como função regular a sobrevivência celular. As principais mutações genéticas envolvidas no cancro da mama envolvem vários genes como os genes BRCA1, BRCA2, p53 e GATA3.

Com base nas alterações que ocorrem nas células mamárias a nível molecular, o cancro da mama pode classificar-se em 5 tipos: Luminal A, Luminal B, HER2+, Basal e Claudin-low. Esta classificação, de modo geral, baseia-se nos recetores hormonais, como o recetor de estrogénio, o recetor de progesterona e o recetor andrógeno, e baseia-se também noutros marcadores moleculares como o fator de crescimento epidérmico humano.

Os cancros da mama hereditários são principalmente causados por genes de alta penetrância como os genes BRCA1 e BRCA2, e também por alguns genes com penetrância moderada como os genes PTEN, TP53, ATM, entre outros. A maioria dos genes com maior suscetibilidade de causar cancro da mama codificam para proteínas supressoras de tumores que estão envolvidas em importantes mecanismos de reparação de erros no DNA.

Palavras-chave: Cancro da mama, DNA, marcadores moleculares, mutações genéticas.

Abstract

Actually, breast cancer has a high incidence and, for this reason, it's important to control the survival of the breast cells preventing the initiation and progression of breast cancer. Breast cancer could be caused by several genetic mutations and, to their development, it's important that the proteins involved in detection and repairing of DNA have the function to regulate the survival of the cells. The major genetic mutations involved in breast cancer have various genes like BRCA1, BRCA2, p53 and GATA3.

Thought the alterations that occur in the molecular level of breast cells, breast cancer could be classified in 5 types: Luminal A, Luminal B, HER2+, Basal and Claudin-low. This classification, generally, is based in hormonal receptors like oestrogen, progesterone and androgen, and is also based in molecular markers like the human epidermal growth factor.

The hereditary breast cancers are mainly caused by genes of high penetrance, like the genes BRCA1 and BRCA2 and by genes with moderate penetrance, like the genes PTEN, TP53, ATM, among others. Most of the genes with susceptibility to breast cancer code to tumour suppressor proteins that are involved in critical error repairing DNA pathways.

Word-keys: Breast cancer, DNA, molecular markers, genetic mutations.

Índice geral

1. Introdução	11
2. Classificação do cancro da mama	15
2.1. Luminal ou erbB2	15
2.1.1. Luminal A	16
2.1.2. Luminal B.....	17
2.2. HER2+.....	18
2.3. Basal.....	19
2.4. Claudin-low.....	20
3. Marcadores moleculares.....	23
3.1. Recetor de estrogénio	23
3.2. Recetor de progesterona	24
3.3. Recetor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER 2)	24
3.4. Recetor andrógeno.....	25
3.5. VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular	25
4. Principais mutações.....	27
4.1. Mutação no gene BRCA1	27
4.2. Mutação do gene BRCA2	29
4.3. Mutação no gene supressor de tumor p53	30
4.4. Mutação no gene retinoblastoma (Rb)	32
4.5. Mutação no gene ATM	32
4.6. Mutação no gene PIK3CA (fosfatidilinositol 3-quinase classe 1A)	33
4.7. Mutação no gene APOBEC3.....	34
4.8. Mutação no gene GATA3	35
4.9. Mutação no gene PTEN	36
4.10. Mutação no gene AKT1	36
4.11. Mutação no gene fosfoglicerato desidrogenase (PHGDH)	36
Conclusão.....	39
Bibliografia	41

Índice de figuras

Figura 1: Constituição do ducto mamário ..	11
Figura 2: Constituição da mama ..	11
Figura 3: Interações dos genes pertencentes ao complexo MRN ..	13
Figura 4: Caraterização do subtipo Luminal A ..	16
Figura 5: Caraterização do subtipo Luminal B ..	17
Figura 6: Caraterização do subtipo HER2+ ..	18
Figura 7: Caraterização do subtipo basal ..	19
Figura 8: Caraterização do subtipo Claudin-low ..	20
Figura 9: Mecanismo de ação de p53 ..	31

Lista de abreviaturas

ATM – Gene ataxia-telangectasia mutado

BRCA1 – Cancro da mama tipo 1

Cdc2 – Cinase dependente de ciclina 2

DHT - 5 α -dihidrotestosterona

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EGFR – Recetor do fator de crescimento epidérmico

EMT - Transição de epitelial para mesenquimal

ER – Recetor de estrogénio

EpCAM – Molécula de adesão de células epiteliais

HER2 – Recetor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2

HIF-1 - Fator induzido por hipoxia 1

IGF-1 - Fator de crescimento semelhante à insulina 1

Jak – Cinase janus

LOH – Perda de heterozigosidade

MAPK – Proteína cinase ativada por mitogénio

MRN - MRE11, RAD50 e NBN

mRNA – RNA mensageiro

miRNA – MicroRNA

PHGDH - Gene fosfoglicerato desidrogenase

PIK3CA – Gene que codifica para a subunidade alfa da proteína cinase fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3

PR – Recetor de progesterona

PTEN - Fosfatase homóloga à tensina

RANKL - Recetor ativador do ligando do fator nuclear jB

SNP – Polimorfismo de nucleótido único

STAT – Ativador ou transdutor de sinal da transcrição

TNBC – Cancro de mama triplo negativo

TNF – Fator de necrose tumoral

VEGF – Fator de crescimento endotelial

1. Introdução

A glândula mamária é composta por dois tipos de linhas celulares principais: células epiteliais luminais e células mioepiteliais contrácteis. As células luminais rodeiam um lúmen central enquanto as células mioepiteliais se localizam junto à lâmina basal, estes dois tipos celulares estão organizados em alvéolos que por sua vez se juntam e formam lóbulos. Cada lóbulo contém um ducto ramificado por onde sai o colostro e o leite. Quanto ao número de ductos, existe discordância entre os autores, sendo que alguns consideram que a glândula mamária é constituída por 11 a 48 ductos e outros defendem que é constituída por apenas 5 a 9 ductos, divididos em centrais e periféricos, e classificando os restantes como orifícios das glândulas sebáceas. Junto aos ductos e lóbulos epiteliais encontra-se tecido conectivo fibroso (Chiche et al., 2013; Going & Moffat, 2004; Jones et al., 2004; Love & Barsky, 2004; Raouf et al., 2008; Rusby, Brachtel, Michaelson, Koerner, & Smith, 2007).

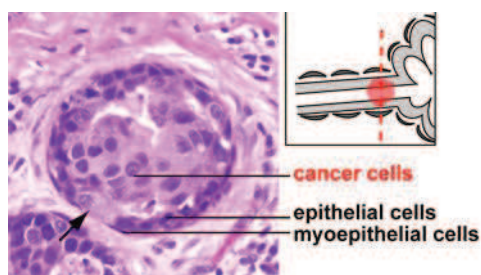


Figura 1: Constituição do ducto mamário.
Retirado de Vidi (2014).

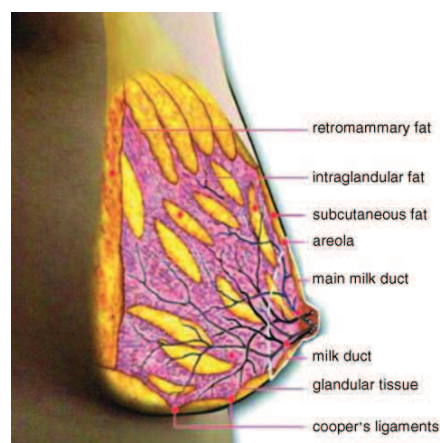


Figura 2: Constituição da mama. Retirado de Ramsay (2005).

O epitélio mamário sofre diversas mudanças durante o ciclo morfo genético tal como as células estaminais responsáveis pela constante autorrenovação do epitélio da glândula mamária. As células estaminais adultas são caracterizadas por uma divisão lenta mais lenta do que as outras células epiteliais e pela sua capacidade de reter nucleósidos de DNA sintéticos e de manter o seu conteúdo genético durante a mitose. Alguns cancros da mama derivam de células estaminais cancerígenas que mimetizam as propriedades das células

estaminais normais, como por exemplo, a autorrenovação. Normalmente, o cancro da mama inicia-se quando células, presentes nas glândulas mamárias produtoras de leite ou presentes nos ductos, adquirem mudanças genéticas que despoletam divisão descontrolada ou metástases sendo que estas células neoplásicas derivam de uma fase tardia do mecanismo de diferenciação glandular epitelial (Blows et al., 2010; Bocker et al., 2002; Finlay-Schultz & Sartorius, 2015; Visvader & Stingl, 2014).

Com o decorrer do envelhecimento podem surgir disfunções das células estaminais, estando o envelhecimento associado à redução do número de células epiteliais e ao aumento de células luminais que expressam queratina 14 e integrina $\alpha 6$ (Garbe et al., 2012; A. Wu et al., 2016).

O cancro da mama pode ser originado por uma unidade lobular individual. Os lóbulos podem ser classificados como imaturos ou maduros, caso sejam enriquecidos em células progenitoras basais (células estaminais) ou apresentem maioritariamente linhagens luminais diferenciadas, respetivamente (Arendt et al., 2014; Mills et al., 2016).

Ao ocorrer uma acumulação de mutações somáticas em oncogenes e em genes supressores de tumores, bem como mudanças epigenéticas nos tecidos mamários e seus progenitores, pode ocorrer o desenvolvimento de cancro sendo para isso necessário que ocorra uma proliferação celular excessiva. Os eventos moleculares mais frequentes associados ao aparecimento de cancro incluem ativação da divisão celular e evasão de apoptose com maturação comprometida e interrupção da divisão celular. Normalmente verifica-se que na presença de proteínas alteradas das vias de reparação de DNA que controlam a integridade genómica, o desenvolvimento de mutações é mais frequente, podendo estas células progredir para o desenvolvimento de cancro. Podem também ocorrer outro tipo de variações genéticas, como polimorfismos de nucleótido único em microRNA ou nos locais de ligação de microRNA comprometendo a regulação da expressão genética alterando assim a suscetibilidade das células para se tornarem cancerígenas. Os microRNAs são RNAs não codificantes que regulam a expressão genética pós-transcricionalmente, regulam o mecanismo do recetor do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) e reconhecem os mRNAs por emparelhamento imperfeito com à região 3' por não traduzida resultando em degradação do mRNA ou em repressão da tradução. A amplificação de HER2 resulta numa ativação do recetor resultando na estimulação de mecanismos de sinalização intracelulares associados à regulação do crescimento celular, sobrevivência e migração, tal como os mecanismos da proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK), fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)/AKT

e mTOR. Várias proteínas quinases atuam como oncoproteínas contribuindo para o processo de transformação, tal como as proteínas fosfatases que interagem com as proteínas quinases. Os microRNAs tanto podem atuar como oncogenes ou atuar como supressores de tumor (Khan et al., 2014; Kleibl & Kristensen, 2016; Leivonen et al., 2016; Mohammed, Pickard, & Mourtada-Maarabouni, 2016; Tsang, Ebert, & van Oudenaarden, 2016; Wood et al., 2007).

Podem dividir-se os genes de suscetibilidade ao cancro da mama em 3 categorias segundo a sua capacidade de penetrância, ou seja, consoante a frequência com que esses genes com um determinado genótipo expressam um determinado fenótipo, sendo distinguidas em alta (como BRCA1, BRCA2, p53 e PTEN), moderada (como PALB2 e ATM) e baixa penetrância, indicando assim o risco relativo para desenvolver cancro (Kleibl & Kristensen, 2016).

A via de reparação de DNA mais frequente nas células cancerígenas denomina-se recombinação homóloga atuando durante as fases S e G2 do ciclo celular utilizando um cromátido irmão como padrão. As quebras nas cadeias de DNA são detetadas por proteínas sensoriais, as quais constituem o complexo MRN (MRE11, RAD50 e NBN), que posteriormente se liga à parte terminal do DNA onde ocorreu a quebra iniciando uma nova cadeia terminal (Damiola et al., 2014; Kleibl & Kristensen, 2016).

O complexo MRN que atua na recombinação homóloga contribui para a ativação da quinase ATM que tem como função a fosforilação de proteínas responsáveis pela resposta à presença de erros (mutações) no DNA e de proteínas que atuam na reparação por recombinação homóloga. Como o complexo MRN atua na reparação aquando quebra das cadeias de DNA, ao ocorrer mutações nalgum destes genes o risco de adquirir cancro da mama aumenta (Damiola et al., 2014; Kleibl & Kristensen, 2016).

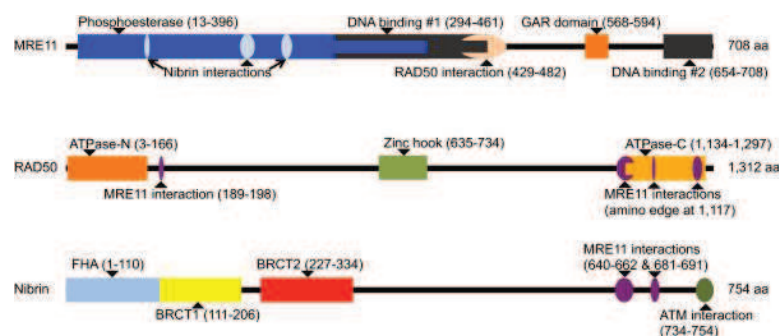


Figura 3: Interações dos genes pertencentes ao complexo MRN. Retirado de Damiola (2014).

O cancro da mama pode ser adquirido tanto de forma esporádica como de forma hereditária, sendo necessário que ocorram várias mutações em genes responsáveis pelos diversos processos moleculares para o desenvolvimento de cancro.

2. Classificação do cancro da mama

Atualmente considera-se a existência de 5 tipos de cancro da mama baseados na sua histopatologia: luminal A, luminal B, claudin-low, basal-like e HER2 (Abdel-Fatah et al., 2008; Asselin-Labat et al., 2011; Prat et al., 2010; Prat & Perou, 2011; Visvader & Stingl, 2014).

2.1. Luminal ou *erbB2*

O cancro do tipo luminal subdivide-se em 2 subtipos: luminal A e luminal B. A maioria das células deste tipo apresentam recetor de estrogénio e/ou de progesterona positivos podendo ser originários de células epiteliais EpCAM+. Os recetores de estrogénio e de progesterona são expressos por células luminais e estas hormonas regulam as células estaminais normais. O subtipo luminal A apresenta maior expressão de genes relacionados com o recetor de estrogénio e menos expressão de genes proliferativos do que o subtipo luminal B (Asselin-Labat et al., 2011; Blows et al., 2010; Finlay-Schultz & Sartorius, 2015; Keller et al., 2012).

Este tipo é caracterizado pela alteração em dois mecanismos que ocorrem apenas nos seus 2 subtipos (luminal A e B): a sinalização de estrogénio e a sinalização Jak-STAT. Ao ocorrer ativação do recetor de estrogénio ocorrem respostas biológicas através de mecanismos de sinalização que podem requerer ou não a ligação ao DNA. A ligação de ação genómica envolve uma ligação de um ligando a um recetor que induz uma mudança conformacional que promove a dissociação de complexos da proteína chaperona e induz a ligação de recetores a elementos de resposta hormonal no DNA, seguindo-se o recrutamento de proteínas co reguladoras que regulam o processo de transcrição genética. O supressor da sinalização de citocinas e as proteínas contendo SH2 induzido por citocinas são inibidores da diferenciação celular mediada pelo mecanismo JAK/STAT tendo efeitos fisiológicos na supressão da atividade da tirosina quinase e dos recetores de citocina e inibindo a ativação de STAT. A expressão de proteínas contendo SH2 induzido por citocinas encontra-se aumentada no cancro da mama tal como a síntese da hormona de crescimento, as quais contribuem para a progressão tumoral, atuando ao nível da proliferação. Estes subtipos são caracterizados pelo aumento da expressão de genes ativada pelo fator de transcrição de estrogénio que é normalmente expresso no epitélio

luminal que reveste os ductos mamários. Normalmente, estes subtipo tem origem em células que limitam os ductos mamários (Blows et al., 2010; Borges et al., 2008; Y. Liu & Hu, 2014; Trevino, Wang, & Walker, 2015).

2.1.1. Luminal A

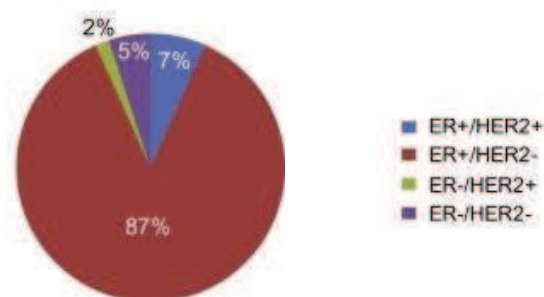


Figura 4: Caracterização do subtipo Luminal A. Retirado de Prat & Perou (2011).

Este subtipo é caracterizado pela baixa taxa de proliferação e pelo seu baixo grau histológico, ou seja, apresenta células semelhantes às células mamárias normais e com um crescimento celular menos rápido quando comparado com outros subtipos de cancro da mama, o que lhe confere menos agressividade. As células têm níveis elevados de recetor de estrogénio α e de recetor andrógeno, no entanto apresenta baixos níveis de Ki-67, que é um marcador celular indicativo de proliferação, e não têm recetor HER2 (Abdel-Fatah et al., 2008; Atchley et al., 2008; Cheang et al., 2009; Prat & Perou, 2011; Widodo, Dwianingsih, Triningsih, Utoro, & Soeripto, 2014).

EpCAM+, molécula de adesão de células epiteliais, é o marcador que corresponde para o estado de diferenciação major de células epiteliais na mama neste subtipo, sendo esta molécula um fator que promove crescimento e invasão necessários para as células cancerígenas com fenótipo epitelial (Keller et al., 2012; Martowicz, Spizzo, Gastl, & Untergasser, 2012).

Este subtipo, além da ativação das 2 vias de sinalização enunciadas anteriormente características do subtipo luminal, é caracterizado também por alterações noutros mecanismos como sinalização de PI3K-Akt, da adesão focal, regulação das fibras de actina do citoesqueleto e sinalização de quimiocinas. O gene mutante MAP3K1 apresenta baixo grau histológico e baixa taxa de proliferação, sendo associado ao subtipo luminal

A (Ellis et al., 2012; Y. Liu & Hu, 2014).

2.1.2. Luminal B

Este subtipo de tumor é caracterizado por uma expressão de recetores de estrogénio e de progesterona ligeiramente mais baixa (presentes em 82% das células em vez de 87% das células como no subtipo luminal A), elevada expressão de marcadores de proliferação (Ki-67), elevada instabilidade genómica, elevada sinalização do fator de crescimento e maior grau histológico aquando comparado com o subtipo luminal A. Pode apresentar-se como sendo positivo para os recetores de estrogénio, de progesterona e de HER2 ou então como sendo positivo para os recetores de estrogénio e para os recetores de androgénio e negativo para os recetores de HER2 negativo tendo ainda elevado Ki-67, que é um marcador celular indicativo de proliferação (Ades et al., 2014; Prat & Perou, 2011; Thakkar & Mehta, 2011).

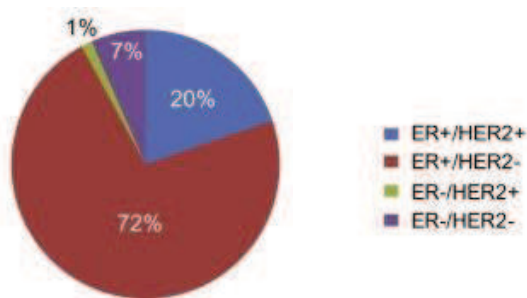


Figura 5: Caracterização do subtipo Luminal B. Retirado de Prat & Perou (2011).

Tal como o subtipo Luminal A, este subtipo também é caracterizado por alterações em vários mecanismos além das 2 vias de sinalização referidas anteriormente como sinalização de HIF-1, sinalização de mTOR, sinalização de ErbB, sinalização do recetor de células T, sinalização de fosfatidilinositol, maturação de oócito mediado por progesterona e sinalização de insulina. O fator HIF-1, tal como o estrogénio, modula a interação celular epitelial-endotelial. O mecanismo PI3K/Akt/mTOR regula a atividade de estrogénio α . Já o mecanismo de maturação de oócito mediado por progesterona é exclusivo neste subtipo de cancro promovendo o fator MPF ou Cdc2/ciclina B. O fator de crescimento semelhante à insulina 1 e os estrogénios contribuem para a proliferação celular, sendo os efeitos do recetor de estrogénio α mediados pelo mecanismo de

sinalização de insulina e ao ocorrer aumento de estrogénio ocorre um aumento de expressão e/ou de atividade funcional de algumas proteínas envolvidas no mecanismo de sinalização de insulina, mecanismo este que ocorre nas células normais de modo a estimular a sua proliferação mas que acarreta um aumento de risco para desenvolvimento de cancro da mama (Y. Liu & Hu, 2014; Thakkar & Mehta, 2011).

Tumores do tipo luminal B apresentam maior taxa de proliferação o que também é revelado pelo grau histológico e apresentam pior prognóstico aquando comparados aos tumores do tipo luminal A (Cheang et al., 2009; Prat & Perou, 2011).

2.2. *HER2*⁺

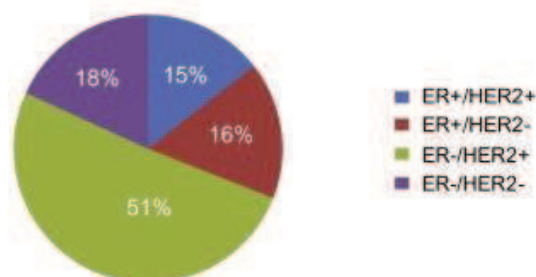


Figura 6: Caracterização do subtipo *HER2*⁺. Retirado de Prat & Perou (2011).

Este tipo de cancro da mama é caracterizado normalmente por apresentar metástases de nódulos linfáticos, elevada taxa de proliferação e baixo grau histológico, no entanto além de apresentar sobre expressão ou expressão elevada de HER pode apresentar recetor de estrogénio α positivo ou negativo, sendo mais frequente a ausência de expressão dos recetores de estrogénio e de progesterona. O gene *HER2* está frequentemente associado aos mecanismos de sinalização de ErbB, de adesão focal, de sinalização de TNF, de diferenciação de osteoclastos e de reabsorção de sódio regulada pela aldosterona sendo que estes mecanismos podem desencadear mutações. O mecanismo de sinalização de TNF induz vários mecanismos intracelulares como apoptose, inflamação e imunidade. O recetor TNF α é o principal recetor de TNF e está envolvido no mecanismo EGFR/*HER2*, afetando a sensibilidade para os inibidores de EGFR/*HER2* podendo levar a sobre expressão de *HER2* induzindo assim resistência ao TNF, o que permite que as células cancerígenas escapem às defesas imunitárias. Quanto à diferenciação osteoclástica

caraterística deste subtipo, é um processo responsável pela reabsorção óssea e pela regulação de mecanismos de sinalização ativados por RANK e recetores imunitários, associando assim este subtipo a metástases ósseas. Este subtipo está também associado a alterações em vários mecanismos do sistema imunitário, como regulação do recetor de células T, sinalização de quimiocinas, e citotoxicidade mediada por células “natural killer”, a alterações em mecanismos do sistema nervoso, como a sinapse colinérgica e a alterações nos mecanismos do sistema endócrino, como sinalização de insulina (Asselin-Labat et al., 2011; Y. Liu & Hu, 2014; Prat & Perou, 2011; Widodo et al., 2014).

2.3. Basal

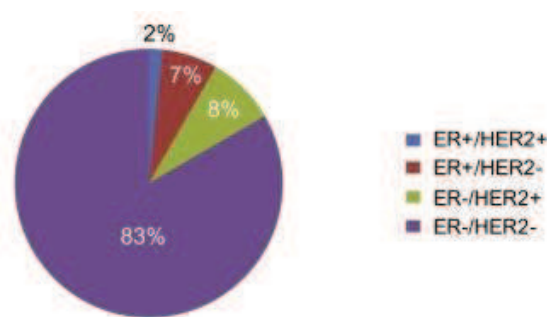


Figura 7: Caraterização do subtipo basal. Retirado de Prat & Perou (2011).

Este subtipo de cancro da mama tem origem em células basais/mioepiteliais de camadas profundas das glândulas e dos ductos, tem caraterísticas semelhantes aos tumores com mutações na linha germinativa de BRCA1 e caracteriza-se por apresentar normalmente recetor de estrogénio, recetor de progesterona, HER e recetor andrógeno negativos e por apresentar-se positivo para citoqueratina 5/6 e para o recetor do fator de crescimento epidérmico. Apresenta assim um fenótipo triplo negativo (recetor de estrogénio, recetor de progesterona e recetor de HER negativos) e normalmente tem um comportamento agressivo, um pobre prognóstico e apresenta elevada frequência de mutações de TP53. Os mecanismos envolvidos neste subtipo englobam mecanismos de sinalização de PI3K-Akt e de sinalização de MAPK (Asselin-Labat et al., 2011; Atchley et al., 2008; Blows et al., 2010; Y. Liu & Hu, 2014; Rakha, Reis-Filho, & Ellis, 2008; Widodo et al., 2014).

Este subtipo tumoral pode resultar de células epiteliais EpCAM+ e é regulado pelo

SHARP1 que por sua vez é regulado pelo supressor de tumor p63 e inibe o fator indutor de hipoxia 1 diminuindo assim a agressividade deste. Estas células basais são morfologicamente heterogêneas, fusiformes ou cuboídes consoante a localização e o estado hormonal, distinguindo-se das células basais normais pela expressão de actina do músculo liso (HHF35), de miosina e de CD10. As células basais distinguem-se dos restantes tipos celulares presentes na mama principalmente devido à expressão de citoqueratina de elevado peso molecular. Verificou-se que no tipo cancerígeno triplo negativo, as invasão e angiogénese das suas células são inibidas por miR-206 (Behbod & Rosen, 2005; Gusterson, Ross, Heath, & Stein, 2005; Keller et al., 2012; Liang, Bian, & Shim, 2016; Montagner et al., 2012).

2.4. Claudin-low

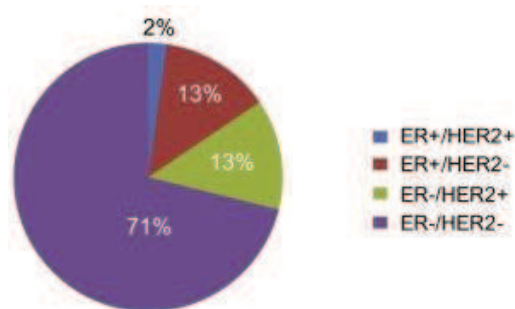


Figura 8: Caracterização do subtipo Claudin-low. Retirado de Prat & Perou (2011).

Este subtipo apresenta subgrupos de recetores de estrogénio, de progesterona e do fator de crescimento epidérmico negativos. Caracteriza-se por apresentar características mesenquimais e baixa diferenciação luminal e epitelial. Distingue-se dos restantes subtipos por apresentar baixa expressão de genes regulados por GATA3 e de genes responsáveis pela adesão entre células com enriquecimento para marcadores relacionados com a função de células estaminais e transição de epitelial para mesenquimal, como exemplo destes últimos temos os genes claudina, cingulina e ocludina. Também a proteína canderina E, que é dependente do cálcio, está envolvida na adesão entre células. É caracterizado também por genes expressos por células T e B o que indica elevada infiltração a nível imunitário, como interleucina C e CXCL2. Apresenta também elevada expressão dos genes vimentina e canderina N e de repressores transcricionais de canderina E. A transição de epitelial para mesenquimal produz células cancerígenas com

caraterísticas semelhantes às células estaminais com potencial para gerarem metástases, adquirindo o fenótipo CD44⁺/CD24^{-low}. Esta transição é induzida por fatores de transcrição, como Goosecoid, Snail, Twist e TGF-beta1, derivando assim de mudanças na expressão genética (Creighton et al., 2009; Hennessy et al., 2009; Mani et al., 2008; Prat & Perou, 2011; Taube et al., 2010).

3. Marcadores moleculares

Para caracterizar cada subtipo tem-se como base vários marcadores moleculares como o recetor de estrogénio, o recetor de progesterona, o recetor andrógeno, o recetor do fator de crescimento epidérmico 2, o fator de crescimento endotelial vascular e o marcador de proliferação Ki-67 (M. Liu et al., 2016).

3.1. Recetor de estrogénio

O estrogénio é uma hormona que pode induzir proliferação, inibir a ocorrência de apoptose e induzir a transição de epitelial para mesenquimal promovendo a existência de células com recetor de estrogénio positivo, o qual participa na regulação da transcrição dos tecidos mamários. Quando a interação entre o estrogénio e o recetor de estrogénio ocorre forma-se um complexo que regula a expressão de genes específicos. Existem 2 isoformas do recetor de estrogénio: ER α e ER β (Abdel-Fatah et al., 2008; M. Liu et al., 2016; Osborne, 1998).

O gene ER β 1 pode ter função de supressor de tumor e regular a ativação transcricional mediada por ER α impedindo a ocorrência de hiperproliferação induzida por ER α . Os recetores ER α e ER β 1 regulam a proliferação celular através da ciclina D1 (Abdel-Fatah et al., 2008).

A expressão de Bcl-2 está associada a ER α positivo, baixa expressão de MIB-1, ausência de mutação p53 e baixo nível de expressão de HER2 (Abdel-Fatah et al., 2008).

A sinalização da integrina β 4 está implicada na tumorigenicidade induzida por estrogénio que ativa a transcrição do ER α , que por sua vez vai induzir a expressão da isoforma N-terminal do fator de transcrição p63, Δ Np63, que atua como fator de transcrição da integrina β 4, resultando em fosforilação de AKT e regulando assim a adesão e sobrevivência celular (Ho et al., 2016).

A proteína FOXA1 pode influenciar as interações entre a cromatina e o recetor de estrogénio e pode influenciar também a acessibilidade a cromatina de amplo genoma. Em células não cancerígenas, a FOXA1 pode alterar a ligação e função do recetor de

estrogénio, sendo assim fulcral para a atividade deste (Hurtado, Holmes, Ross-Innes, Schmidt, & Carroll, 2011).

3.2. Recetor de progesterona

A progesterona tem papel no controlo da proliferação de e na morfogénese no epitélio luminal atuando por mecanismos de sinalização parácrina, incluindo o recetor ativador do ligando do fator nuclear β (RANKL). A regulação do recetor de progesterona é mediada por interações entre este e outros fatores regulatórios que determinam a ação transcricional do recetor de progesterona. Quando há expressão de recetores de progesterona, mantém-se os fatores proliferativos que induzem a sinalização parácrina. Ao atuar na passagem de modo parácrino de proliferação para autócrino e desregular o mecanismo de sinalização RANKL vai aumentar a progressão pré-neoplásica. Através do mecanismo parácrino também estimula a proliferação de células epiteliais. Apesar disto, os tipos de cancro caracterizados por recetor de progesterona positivo apresentam um fenótipo menos invasivo e melhor prognóstico, o que indica que este recetor pode limitar as fases mais tardias da progressão tumoral. Este recetor está envolvido no desenvolvimento lóbulo-alveolar e tal como o recetor de estrogénio também apresenta 2 subtipos: PR α e PR β (Hagan & Lange, 2014; M. Liu et al., 2016; Obr & Edwards, 2012).

3.3. Recetor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER 2)

O HER2 é uma proteína transmembranar que pertence à família ErbB do recetor da tirosina quinase. Esta regula vários processos celulares como a proliferação e diferenciação celular. Em vários tipos de cancro da mama podemos encontrar sobre expressão desta proteína a qual se deve à mutação do gene HER2. (M. Liu et al., 2016).

3.4. Recetor andrógeno

O recetor andrógeno pertence à família de recetores nucleares e atua como fator de transcrição e mediador do efeito inibitório na proliferação celular ao induzir apoptose, visto que os androgénios atuam como moduladores negativos do onco miRNA-21 reduzindo a proliferação de células de cancro da mama. O recetor androgénio liga-se à sequência ARE específica no promotor proximal miR-21, ocorrendo o recrutamento de HDAC3 que atua através de repressão transcricional, tendo assim o recetor andrógeno ativado um papel de repressor transcricional da expressão miR-21. O recetor androgénio ativado além de atuar baixar a expressão de miR-21 também inibe a expressão da ciclina D1 endógena, diminuindo a expressão das proteínas C-MYC e K-RAS, aumentando a expressão DAX 1 que causa a inibição da aromatase aumentando a expressão do gene ER β . Ligandos, como a 5 α -dihidrotestosterona (DHT) ou testosterona, vão induzir a fosforilação do recetor andrógeno e uma mudança conformacional levando a translocação nuclear e a regulação do gene alvo. Apenas se verifica ação a nível da proliferação por parte de androgénio aquando na presença de linhas celulares que expressam o seu recetor, como por exemplo no caso das linhas celulares T47-D e ZR-75-1 (Birrell et al., 1995; Casaburi et al., 2016; Wang et al., 2011).

Os níveis de recetores andrógenos aumentam com a progressão do tumor caracterizado por ER α positivo, ao restaurar o balanço da atividade da hormona sexual 17 β -estradiol (metabolito da testosterona) que regula a proliferação celular epitelial mamária. Existe um limite ótimo de expressão do recetor de androgénio e do recetor de estrogénio α que permite distinguir entre estimulação ou supressão de proliferação em células normais e cancerígenas. Normalmente ocorre competição a nível da ligação do recetor ao ERE específico ou outro local no genoma, a nível da interação com moléculas co-regulatórias comuns e a nível da interação com fatores pioneiros, tais como FOXA1 (Casaburi et al., 2016; Hickey, Robinson, Carroll, & Tilley, 2012).

3.5. VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

O fator de crescimento endotelial vascular é um regulador da angiogénese tumoral. O VEGF-A interage com o VEGFR1 ou com o VEGFR2 (2 tirosinas quinases recetoras de

membrana) promovendo a ocorrência de migração de células endoteliais e de mitose e impedindo a ocorrência de apoptose, ou seja, quando esta interação ocorre, há fosforilação do local PKT de VEGFR2 havendo produção de 3,4,5-trifosfato e diacilglicerol, sendo estes segundos mensageiros que ativam a proteína cinase C e o mecanismo cinase de sinal extracelular regulado, resultando assim em multiplicação de células extracelulares e endoteliais, migração e invasão. A associação entre o fator de transcrição GATA1 com a histona metiltransferase SET7, promove a transcrição do VEGF e conseqüentemente a angiogénese tumoral (M. Liu et al., 2016; Zhang et al., 2016).

4. Principais mutações

4.1. Mutação no gene BRCA1

O gene BRCA1 é o gene de suscetibilidade de cancro da mama tipo 1 que codifica uma proteína que atua ao nível da reparação de DNA através de recombinação homóloga ao promover interações entre proteínas nos locais de quebra. Pode ocorrer mutação neste gene, localizando-se no cromossoma 17, e quando ocorre esta deleção ou inserção resulta em erros no DNA (mutações), ocorrendo frequentemente em perda de heterozigossidade (LOH) nas células que tinham um alelo natural e um alelo mutante. A mutação mais frequente resulta da deleção de uma adenina ou de uma guanina ou da inserção de uma citosina no alelo normal. Quando ocorrem estas alterações originam-se proteínas não funcionais ou verifica-se ausência de proteínas. Pode ocorrer tanto perda do alelo mutante como do alelo natural, e segundo Cornelic et al. a perda do alelo natural (ocorrendo assim inativação homozigótica de BRCA1) pode ser o primeiro evento genético que conduz à formação de tumor em casos familiares de cancro da mama, embora seja necessário que ocorra também a perda do alelo mutante para que se formem expansões clonais. A perda do alelo funcional de BRCA1 tem maior probabilidade de ocorrer originando áreas com LOH e pode conduzir a uma série de alterações genéticas que fornecem às células uma vantagem de crescimento. Esta mutação é transmitida via autossómica dominante (Clarke et al., 2006; Cornelis et al., 1995; Cui et al., 2001; Kleibl & Kristensen, 2016; Larson et al., 2005; Meng et al., 2004; Smith, Easton, Evans, & Ponder, 1992; Struewing et al., 1995, 1997).

A perda de heterozigotia tanto pode ocorrer em tecidos cancerígenos como em tecidos normais localizados nas proximidades do tumor, ocorrendo normalmente nas unidades ducto lobulares terminais, que originam o lóbulo, podendo então existir em células luminais ou mioepiteliais. O fato de haver alterações genéticas em tecido normal próximo do tumor justifica as recorrências sugerindo a remoção de uma área maior de tecidos aquando procedimento cirúrgico, prevenindo assim a formação de tumor (Clarke et al., 2006; S R Lakhani et al., 1999; Meng et al., 2004).

BRCA1 está envolvido em todas as fases do ciclo celular ao interagir com proteínas envolvidas nas diversas fases, atua ao nível de resposta aquando erros no DNA, está envolvido em processos de proliferação celular em resposta a estimulação hormonal, controla o processo de recombinação e mantém a integridade do genoma. Atua também como co-regulador de transcrição podendo assim explicar a sua atividade como supressor de tumor, sendo esta também explicada pela supressão de crescimento que ocorre aquando sobre expressão da proteína BRCA1 (Abdel-Fatah et al., 2008; Cornelis et al., 1995; Deng, 2006; Rosen, Fan, & Ma, 2006; Smith et al., 1992).

A proteína nuclear BRCA1 pode interagir com a proteína RAD51, que atua na recombinação e na regulação, ativa a expressão do inibidor da cinase p21 dependente da ciclina, que é um potente supressor de crescimento que atua nos mecanismos de vigilância do ciclo celular, nomeadamente no checkpoint G1/S, inibindo a progressão do ciclo celular da fase G1 para a fase S, exceto em células p21^{-/-}. BRCA1 funciona também como co-ativador de p53 resultando em sobre expressão de p53 (Ouchi, Monteiro, August, Aaronson, & Hanafusa, 1998; Peng, Xu, Long, & Zuo, 2016; Somasundaram et al., 1997).

Quando estamos na presença de défice de BRCA1 ocorrem erros nos mecanismos de vigilância do ciclo celular de outras fases (checkpoints nas fases S, G(2)/M e M), ocorrendo duplicação do centrossoma anormal, bloqueio da proliferação celular, reparação de DNA danificado ineficiente, erros na transcrição e indução de apoptose (Brodie & Deng, 2001; Deng, 2006; Rosen et al., 2006; Venkitaraman, 2002).

Os tumores relacionados com BRCA1 são caracterizados por apresentarem elevado grau histológico sendo que alguns contêm amplas zonas acelulares centrais contendo necroses, colagénio e material hialino. Como marcadores moleculares, as células destes tecidos cancerígenos apresentam o recetor de estrogénio negativo, o recetor de progesterona negativo e o recetor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2 (HER2) negativo inserindo-se deste modo na classificação de cancro da mama triplo negativo com fenótipo basal. A expressão de citoqueratina 5/6 está associada a cancro da mama relacionado com BRCA1, indicando diferenciação basal. Além das características referidas anteriormente este tipo de tumores também apresentam maior número de divisões mitóticas, ou seja, elevado índice de proliferação, mutações no gene p53, perda do gene ATM, maior grau de pleomorfismo nuclear, menos formação tubular e está associado com infiltrados linfocitários marcados com ou sem necrose (Abdel-Fatah et al.,

2008; Atchley et al., 2008; William D Foulkes et al., 2003; Gao & Dabbs, 2014; Sunil R Lakhani et al., 2005).

Existem 3 subtipos epiteliais, especificamente células estaminais/progenitoras, progenitoras luminais e luminais maduras sendo que o cancro da mama basal relacionado com mutação BRCA1 tem origem em células progenitoras luminais. Verificou-se que em tecidos com mutação BRCA1 há um aumento da expressão do repressor de transcrição Slug, um regulador da linhagem celular progenitora, cuja expressão é necessária para aumentar fenótipos basais para que ocorra progressão neoplásica. A mutação que ocorre na linha germinativa da família BRCA1 impede que ocorra um aumento de células progenitoras luminais, havendo menor expressão dos genes característicos nas células com fenótipo luminal e promovendo assim a transformação maligna de tumores mamários. Além disso, na presença de mutação do gene BRCA1 verifica-se que não ocorre expressão do recetor de estrogénio indicando predisposição para o subtipo basal (Bai, Smith, Chan, & Pei, 2013; W D Foulkes, 2004; Lim et al., 2009; Proia et al., 2011; Sorlie et al., 2003; Visvader & Stingl, 2014).

4.2. Mutação do gene BRCA2

O gene BRCA2 está localizado no cromossoma 13 e atua como gene supressor de tumor, mantendo a integridade genómica, indicando assim um papel na reparação de erros na cadeia dupla de DNA mediada por recombinação. Após indução da transcrição do gene BRCA2 na fase G1 do ciclo celular, a transcrição de BRCA2 permanece elevada durante a fase S o que indica que tem um papel na síntese de DNA. Atua também como co fator da reparação de DNA dependente de RAD51 ao regular a atividade de RAD51. BRCA2 liga-se à zona da molécula de DNA que está apenas com uma cadeia de nucleótidos para formar um complexo proteína/ DNA procedendo à reparação do DNA quando há erros na molécula de DNA que contém duas cadeias de nucleótidos, estando conseqüentemente BRCA2 implicado no processo de reparação (Kleibl & Kristensen, 2016; Meng et al., 2004; Shamo, 2003; Sharan et al., 1997; Vaughn et al., 1996; Venkitaraman, 2002; Wong, Pero, Ormonde, Tavtigian, & Bartel, 1997; Wooster et al., 1995).

Quando ocorre mutação, esta pode ser devida a deleção, inserção ou variação

“nonsense”, podendo resultar em perda de heteroziguidade. Tal como em câncros relacionados com mutação BRCA1, a perda de heteroziguidade tanto pode ocorrer em tecido cancerígeno como em tecido normal localizado nas proximidades do tumor, ocorrendo normalmente nas unidades ducto lobulares terminais, que originam o lóbulo, podendo então existir células luminais ou mioepiteliais. O fato de haver alterações genéticas em tecido normal próximo do tumor justifica as recorrências sugerindo a remoção de uma área maior de tecidos aquando procedimento cirúrgico, prevenindo assim a formação de tumor. PALB2 é um gene de suscetibilidade de cancro da mama que codifica para uma proteína que interage com BRCA2, sendo que a mutação de ambos aumenta o risco de cancro da mama (Clarke et al., 2006; S R Lakhani et al., 1999; Meng et al., 2004; Rahman et al., 2007; Venkitaraman, 2002).

O cancro da mama relacionado com mutação em BRCA2 apresenta menos formação de túbulos, exibe um fenótipo luminal e apresenta mais frequentemente recetores de estrogénio positivos (Bane et al., 2007; Sunil R Lakhani et al., 2005).

O gene PALB2 é um gene de suscetibilidade ao cancro da mama que pertence à família das proteínas FANC e ativa a recombinação homóloga. Este gene codifica para proteínas que interagem com BRCA2 estando associado a cancro da mama com mutações no gene BRCA2. (Kleibl & Kristensen, 2016; Rahman et al., 2007; Sopik & Narod, 2014).

4.3. Mutação no gene supressor de tumor p53

O gene TP53 atua na reparação de DNA, na renovação e regulação da divisão de células estaminais mamárias e atua também na manutenção da integridade genómica, sendo considerado um gene supressor de tumor. Porém, este gene apresenta elevada taxa mutacional estando associado a vários mecanismos como sinalização de PI3K-Akt e sinalização de MAPK. Na presença da mutação do gene p53, o cancro da mama apresenta um fenótipo mais agressivo, sendo associado a alto grau histológico e a elevadas taxas de proliferação. Normalmente os tipos de cancro com maior grau histológico, apresentam maior tendência para perda de heteroziguidade e para expressão anormal do gene TP53, acontecendo o mesmo com os genes ATM e BRCA1. As mutações no gene p53 podem ser devidas à perda do alelo que contém o locus p53, localizado no braço pequeno do

cromossoma 17, sendo que nesta situação não se verifica sobre expressão da proteína p53. Normalmente, quando ocorre esta perda verifica-se mutação nas restantes cópias do gene p53, ocorrendo primeiro perda do gene normal e depois perda do controlo do crescimento. A proteína p53 está envolvida na regulação da proliferação celular e normalmente é regulada ao longo do ciclo celular. Esta regulação efetua-se através do aumento da transcrição do gene p53 na fase G1 cujo RNAm tem um tempo de semivida curto, sendo os níveis desta proteína normalmente baixos. Quando há mutação no gene p53, as proteínas p53 resultantes formam um complexo estável com o hsc70, membro da família de proteínas de choque térmico, o que permite um aumento do tempo de semivida das proteínas p53 (Chiche et al., 2013; Davidoff, Humphrey, Iglehart, & Marks, 1991; Ding et al., 2004; Ellis et al., 2012; Y. Liu & Hu, 2014; Meng et al., 2004; Visvader & Stingl, 2014).

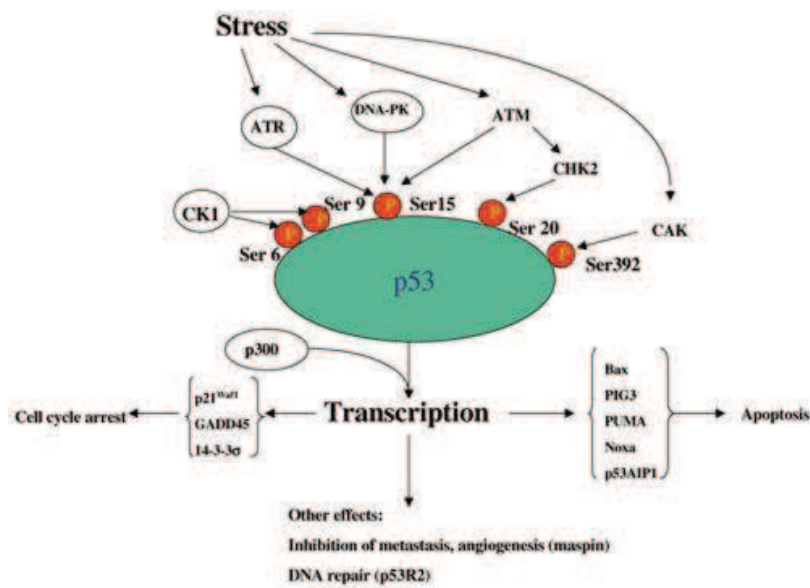


Figura 99: Mecanismo de ação de p53. Retirado de Gasco (2002)

Este gene é normalmente ativado quando há erros de DNA e quando expressão de oncogenes está ativada. p53 regula a polaridade quando divisão celular nas células estaminais mamárias o que indica que a perda deste gene favorece divisões apolares de células estaminais cancerígenas o que, por conseguinte, contribui para um crescimento tumoral. Frequentemente a expressão anormal da proteína TP53 está associada ao grau

patológico e a deleção genética. A família do gene p53 engloba vários genes (p53, p63 e p73) que codificam várias isoformas, sendo a proteína p63 a que é maioritariamente expressa em células epiteliais basais. p63 é usado como marcador por ser específico para células mioepiteliais (Barbareschi et al., 2001; Cicalese et al., 2009; Ding et al., 2004; Gasco, Shami, & Crook, 2002).

4.4. Mutação no gene retinoblastoma (*Rb*)

O gene retinoblastoma atua como supressor de tumor estando a sua perda associada aos subtipos luminal B e triplo negativo. Os tipos de cancro associados a mutação neste gene são caracterizados pela sua agressividade e por apresentarem transições de epitelial para mesenquimal (EMT) associados a cancro com mutações no gene p53. A transição de epitelial para mesenquimal é um dos processos envolvidos na progressão tumoral e em metástases, ocorrendo perda do marcador Caderina-E e um aumento dos marcadores vimentina e fibronectina. Os fatores de transcrição Snail, Slug, Twist e SIP1 vão inibir o fenótipo epitelial e induzir a transição de epitelial para mesenquimal ao reprimir a transcrição de Caderina-E (Jiang et al., 2010; Visvader & Stingl, 2014; Yang et al., 2009).

4.5. Mutação no gene *ATM*

O gene ATM tem um papel na deteção e reparação de erros na cadeia dupla de DNA. A ocorrência de mutação no gene ATM ocorre por deleção no cromossoma (11q23-24) que contém o locus ATM. Nos cancros da mama, a expressão de ATM é reduzida ocorrendo assim diferenciação tumoral e parâmetros microvasculares aumentados, podendo também ocorrer expressão anormal da proteína ATM (Abdel-Fatah et al., 2008; Cuatrecasas et al., 2006; Ding et al., 2004; Meng et al., 2004).

O complexo MRN (MRE11, RAD50 e NBN), que atua na recombinação homóloga, contribui para a ativação da cinase ATM que tem como função a fosforilação de proteínas responsáveis pela resposta na presença de erros de DNA e de proteínas que atuam na reparação por recombinação homóloga, mais concretamente, atua fosforilando p53 e

BRCA1 conferindo-lhes a estabilidade necessária de modo a poderem atuar na paragem do ciclo celular, na reparação de DNA ou na apoptose. Na ausência ou baixa expressão de ATM verifica-se expressão de Bcl-2 e ausência de expressão de p53 (Abdel-Fatah et al., 2008; Kleibl & Kristensen, 2016).

4.6. Mutação no gene *PIK3CA* (fosfatidilinositol 3-quinase classe 1A)

As cinases do fosfatidilinositol 3 são reguladores dos mecanismos de sinalização envolvidos na proliferação, adesão, crescimento, sobrevivência, motilidade e proliferação celular. As cinases-PI3 classe 1A são cinases dos lípidos, heterodiméricas compostas por uma subunidade catalítica (p110a), codificada pelo gene *PIK3CA* e por uma subunidade regulatória (p85a). A mutação nos genes que codificam esta proteína é mais frequente em tipos de cancro com recetores positivos do que em tipos de cancro caracterizados por recetores negativos. Mutações específicas no *PIK3CA* normalmente estão agrupadas em zonas (hotspots) localizadas no exão 9 (E542/545K; domínio catalítico) e no exão 20 (mudança no aminoácido na posição H1047R, domínio cinase). O *PIK3CA* é um oncogene que tem um papel na carcinogénese epitelial e que tanto pode ocorrer a sua amplificação como pode sofrer mutações somáticas maioritariamente no domínio cinase. Quando há inibição induzida de *PIK3CA* ocorre um aumento de apoptose em células cancerígenas mamárias com mutação no gene *PIK3CA* (Bachman et al., 2004; Schneck et al., 2013; Stemke-Hale et al., 2008; G. Wu et al., 2005).

A mutação no gene *PIK3CA* está também correlacionada com o estado de fosforilação de Akt. A via de sinalização fosfatidilinositol-3-cinase alterada (PI3K)/Akt está frequentemente envolvida nos processos celulares de regulação requeridos para carcinogénese mamária, sendo que o mecanismo das cinases do fosfatidilinositol 3 é ativado por mutações *PIK3CA* e *AKT1*. Este mecanismo interfere em funções celulares, como crescimento, proliferação, sobrevivência, angiogénese e motilidade. PI3K fosforila o fosfatidilinositol da membrana, recrutando AKT e a cinase 1 dependente de fosfoinosítídeo para a membrana celular, ocorrendo posteriormente fosforilação de AKT. O supressor de tumor PTEN reverte os efeitos de PI3K desfosforilando o mesmo local. Esta via encontra-se frequentemente desregulada devido a alterações em vários dos seus componentes, como amplificação do locus gene *HER2*, perda de função da proteína

PTEN (fosfatase homóloga à tensina) e mutações no gene PIK3CA. A perda da proteína PTEN promove a ocorrência de metilação, a perda de heterozigossidade e a regulação de RNA ou dos níveis de proteínas. As mutações de PIK3CA estão assim associadas a perda e a ativação anormal de AKT (Banerji et al., 2012; Schneck et al., 2013; Stemke-Hale et al., 2008; G. Wu et al., 2005).

4.7. Mutação no gene *APOBEC3*

A expressão do gene *APOBEC3* é regulada por estrogénio. A deleção de um fragmento de DNA que contém os genes desta família *APOBEC3*, ocorre entre o 5º exão da *APOBEC3A* e o 8º exão da *APOBEC3B*, o que resulta na eliminação completa da região codificante do gene *APOBEC3B*. O gene resultante tem uma sequência proteica idêntica ao *APOBEC3A* mas com uma região não transcrita do gene *APOBEC3B*. O grau de expressão deste novo gene, produzido por esta fusão, pode variar devido às diferenças na estabilidade do seu RNA ou devido aos níveis de transcrição (Long et al., 2013).

A família do gene *APOBEC 3* codifica para a citosina desaminase, a qual tem como função desaminar a citosina, tendo também capacidade para desaminar a 5-metilcitosina e a 5-hidroximetilcitosina. Atuam através de reparação por excisão de bases mal emparelhadas fornecendo, deste modo, um mecanismo de desmetilação ativa. A maioria das mutações ocorre em citosinas não metiladas desfavorecidas hidroliticamente. A enzima DNA citosina desaminase *APOBEC3* é a responsável por estas mutações, sendo o seu RNAm up-regulado na maioria dos tumores mamários primários e linhas celulares cancerígenas mamárias. Quanto maiores forem os níveis de *APOBEC3*, maior será o número de mutações ocorridas, o nº de mutações em TP53, os níveis de uracilo genómico e as transições de citosina para timina. A proteína *APOBEC3B* endógena é predominantemente nuclear e só deteta fonte de atividade de edição de DNA de C para U em extratos de linhas celulares de cancro da mama (Burns et al., 2013; Long et al., 2013).

4.8. Mutação no gene *GATA3*

O *GATA3* é um fator de transcrição regulador da linhagem luminal e da função celular imunitária. Este gene atua de vários modos: no eixo de sinalização dos recetores de estrogénio α , ao nível da morfogénese da glândula mamária, na diferenciação tumoral, nas metástases e na maturação tanto de células progenitoras luminal de recetores de estrogénio positivas como negativas. A sua sobre expressão resulta em supressão da disseminação tumoral. O défice de *GATA3* resulta em expansão de progenitores luminal e em bloqueio da diferenciação. Assim, a perda de um alelo *GATA3* acelera a progressão tumoral e a sobre expressão de *GATA3* encurta o processo de tumorigénese ao promover a diferenciação celular, ao reduzir a capacidade de iniciar o tumorigénese e ao diminuir a angiogénese. (Asselin-Labat et al., 2007, 2011; Usary et al., 2004; Visvader & Stingl, 2014).

O FoxM1 é um repressor transcricional de *GATA3*, que coordena a metilação do promotor *GATA3* através da sua associação com a proteína DNA (citosina-5) metiltransferase 3 beta (DNMT3b) e bloqueando a diferenciação da célula progenitora luminal. Na presença desta mutação verifica-se perda do transdutor de sinal e ativador de transcrição 5a (Stat5a) sugerindo um papel para este gene na regeneração ou expansão de células progenitoras alveolares. Verifica-se uma elevada expressão de *GATA3* tanto no epitélio luminal mamário normal como no tipo de cancro com recetor de estrogénio positivo. A variação no número de cópias de *GATA3* acelera o início do tumor mamário em células luminais o que não se verifica em células com progenitores basais. As células luminais maduras apresentam elevados níveis da proteína *GATA3* o que suporta o seu papel no mecanismo de diferenciação tumoral. O silenciamento epigenético do gene *GATA3* é um dos mecanismos para que ocorra perda de expressão, havendo metilação de citosina. Os genes *FOXA1*, caspase-14 e p18 podem ser alvos do fator de transcrição *GATA3* resultando em diferenciação de células epiteliais mamárias HC11. *GATA3* liga-se a locais distais e proximais no promotor do gene caspase-14 resultando em diferenciação de queratinócitos (Asselin-Labat et al., 2011; Usary et al., 2004; Visvader & Stingl, 2014).

4.9. Mutações no gene *PTEN*

O gene *PTEN* localiza-se no cromossoma 10 (10q23.3) e codifica uma fosfatase lipídica major podendo sofrer tanto alterações somáticas como na linha germinativa. O gene *PTEN* regula negativamente o mecanismo PI3K/Akt, o qual está envolvido na proliferação celular, migração e apoptose e está envolvido na paragem do ciclo celular na fase G1. As mutações na sua linha germinativa estão associadas ao desenvolvimento tumoral, sendo frequente a inativação deste gene em tumores primários através de alteração dos níveis de degradação de proteossomas e de compartimentalização subcelular anormal. Este tipo de mutação apenas ocorre em tipos de cancro caracterizados por recetores hormonais positivos (Eng, 2003; Stemke-Hale et al., 2008; Wang et al., 2011).

4.10. Mutações no gene *AKT1*

Ocorre substituição de ácido glutâmico por lisina no aminoácido 17 de *AKT1*, zona onde vai ocorrer ligação a lípidos. A lisina altera as interações eletrostáticas e forma novas ligações de hidrogénio com o ligando fosfoinosítídeo. Esta mutação favorece a ativação de *AKT1* e estimula a sinalização “downstream”, promovendo a oncogénese através do mecanismo da cinase do fosfatidilinositol 3/*AKT*. As mutações *AKT1* são características de tipos de cancro com recetores hormonais positivos, e tanto podem ocorrer por perda do gene *AKT1* ou por sinalização PI3K/*AKT* a jusante (Carpten et al., 2007; Stemke-Hale et al., 2008).

4.11. Mutações no gene *fosfoglicerato desidrogenase (PHGDH)*

Nos tipos de cancro da mama com recetor de estrogénio negativo verifica-se a presença do gene fosfoglicerato desidrogenase (*PHGDH*) numa região genómica onde ocorre frequentemente um aumento do número de cópias e onde os níveis da proteína *PHGDH* se encontram elevados. O *PHGDH* catalisa o primeiro passo do mecanismo de biossíntese de serina, ocorrendo um aumento do fluxo de síntese de serina nas células

cancerígenas com elevada expressão de PHGDH, sendo a serina essencial para a produção de proteínas necessárias para que ocorra proliferação celular. Nos tipos de cancro caracterizados por recetor de estrogénio negativo verifica-se um aumento da expressão de PHGDH (Possemato et al., 2011).

Conclusão

Atualmente, o cancro da mama tem uma incidência alta sendo importante controlar a sobrevivência das células mamárias prevenindo a iniciação e progressão de cancro da mama. O cancro da mama pode ser originado por várias mutações genéticas sendo também importante para o seu desenvolvimento as proteínas envolvidas na deteção e reparação de erros nas cadeias de DNA que têm como função regular a sobrevivência celular.

Com base nas alterações que ocorrem nas células mamárias a nível molecular, o cancro da mama pode classificar-se em 5 tipos: Luminal A, Luminal B, HER2+, Basal e Claudin-low. Esta classificação, de modo geral, baseia-se nos recetores hormonais, como o recetor de estrogénio, o recetor de progesterona e o recetor andrógeno, e baseia-se também noutros marcadores moleculares como o fator de crescimento epidérmico humano.

Os subtipos de cancro da mama luminal (A e B) diferenciam-se dos restantes por apresentarem expressão de recetores de estrogénio, de recetores de progesterona e por expressarem marcadores para células epiteliais luminais. A principal distinção entre estes 3 subtipos, é o fato de ocorrer expressão de HER2 no subtipo Luminal B o que não acontece no subtipo Luminal A. O subtipo de cancro da mama luminal encontra-se associado a mutações em vários genes como o gene PTEN, TP53 e PIK3CA. Além das mutações referidas anteriormente, o subtipo luminal A também é associado a mutações nos genes GATA3 e MAP3K1, enquanto o subtipo luminal B é associado a mutações no gene Rb1.

O subtipo de cancro da mama basal, não apresenta expressão de recetores de estrogénio, de recetores de progesterona nem de HER2 sendo caracterizado por marcadores para células mioepiteliais. Este subtipo de cancro da mama encontra-se frequentemente associado a mutações em vários genes, como os genes TP53, BRCA1, Rb1 e PTEN.

O subtipo HER2+ não apresenta expressão dos recetores de estrogénio e de progesterona e é caracterizado por sobre expressão de HER2. Este subtipo de cancro da mama encontra-se frequentemente associado a mutações em vários genes como os genes TP53, PTEN e PIK3CA.

O subtipo de cancro da mama Claudin-low é caracterizado pela ausência de expressão de recetores de estrogénio, de recetores de progesterona e do fator de crescimento epidérmico. Caracteriza-se por apresentar características mesenquimais e baixa diferenciação luminal e epitelial. Distingue-se dos restantes subtipos por apresentar baixa expressão de genes regulados por GATA3 e de genes responsáveis pela adesão entre células com enriquecimento para marcadores relacionados com a função de células estaminais e transição de epitelial para mesenquimal.

Concluindo, os cancros da mama hereditários são principalmente causados por genes de alta penetrância como os genes BRCA1 e BRCA2, e também por alguns genes com penetrância moderada como os genes PTEN, TP53, ATM, entre outros. A maioria dos genes com maior suscetibilidade de causar cancro da mama codificam para proteínas supressoras de tumores que estão envolvidas em importantes mecanismos de reparação de erros no DNA.

Bibliografia

- Abdel-Fatah, T. M. A., Powe, D. G., Hodi, Z., Reis-Filho, J. S., Lee, A. H. S., & Ellis, I. O. (2008). Morphologic and molecular evolutionary pathways of low nuclear grade invasive breast cancers and their putative precursor lesions: further evidence to support the concept of low nuclear grade breast neoplasia family. *The American Journal of Surgical Pathology*, 32(4), 513–523. Comparative Study, Journal Article. <http://doi.org/10.1097/PAS.0b013e318161d1a5>
- Ades, F., Zardavas, D., Bozovic-Spasojevic, I., Pugliano, L., Fumagalli, D., de Azambuja, E., ... Piccart, M. (2014). Luminal B breast cancer: molecular characterization, clinical management, and future perspectives. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 32(25), 2794–2803. Journal Article, Review. <http://doi.org/10.1200/JCO.2013.54.1870>
- Arendt, L. M., Keller, P. J., Skibinski, A., Goncalves, K., Naber, S. P., Buchsbaum, R. J., ... Kuperwasser, C. (2014). Anatomical localization of progenitor cells in human breast tissue reveals enrichment of uncommitted cells within immature lobules. *Breast Cancer Research: BCR*, 16(5), 453. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1186/s13058-014-0453-3>
- Asselin-Labat, M.-L., Sutherland, K. D., Barker, H., Thomas, R., Shackleton, M., Forrest, N. C., ... Visvader, J. E. (2007). Gata-3 is an essential regulator of mammary-gland morphogenesis and luminal-cell differentiation. *Nature Cell Biology*, 9(2), 201–209. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/ncb1530>
- Asselin-Labat, M.-L., Sutherland, K. D., Vaillant, F., Gyorki, D. E., Wu, D., Holroyd, S., ... Visvader, J. E. (2011). Gata-3 negatively regulates the tumor-initiating capacity of mammary luminal progenitor cells and targets the putative tumor suppressor caspase-14. *Molecular and Cellular Biology*, 31(22), 4609–4622. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1128/MCB.05766-11>
- Atchley, D. P., Albarracin, C. T., Lopez, A., Valero, V., Amos, C. I., Gonzalez-Angulo, A. M., ... Arun, B. K. (2008). Clinical and pathologic characteristics of patients with

- BRCA-positive and BRCA-negative breast cancer. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 26(26), 4282–4288. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1200/JCO.2008.16.6231>
- Bachman, K. E., Argani, P., Samuels, Y., Silliman, N., Ptak, J., Szabo, S., ... Park, B. H. (2004). The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers. *Cancer Biology & Therapy*, 3(8), 772–775. Comparative Study, Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.
- Bai, F., Smith, M. D., Chan, H. L., & Pei, X.-H. (2013). Germline mutation of Brcal alters the fate of mammary luminal cells and causes luminal-to-basal mammary tumor transformation. *Oncogene*, 32(22), 2715–2725. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1038/onc.2012.293>
- Bane, A. L., Beck, J. C., Bleiweiss, I., Buys, S. S., Catalano, E., Daly, M. B., ... O'Malley, F. P. (2007). BRCA2 mutation-associated breast cancers exhibit a distinguishing phenotype based on morphology and molecular profiles from tissue microarrays. *The American Journal of Surgical Pathology*, 31(1), 121–128. Journal Article, Multicenter Study, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1097/01.pas.0000213351.49767.0f>
- Banerji, S., Cibulskis, K., Rangel-Escareno, C., Brown, K. K., Carter, S. L., Frederick, A. M., ... Meyerson, M. (2012). Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature*, 486(7403), 405–409. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/nature11154>
- Barbareschi, M., Pecciarini, L., Cangi, M. G., Macri, E., Rizzo, A., Viale, G., & Doglioni, C. (2001). p63, a p53 homologue, is a selective nuclear marker of myoepithelial cells of the human breast. *The American Journal of Surgical Pathology*, 25(8), 1054–1060. Journal Article.
- Behbod, F., & Rosen, J. M. (2005). Will cancer stem cells provide new therapeutic targets? *Carcinogenesis*, 26(4), 703–711. Journal Article, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S., Review. <http://doi.org/10.1093/carcin/bgh293>

- Birrell, S. N., Bentel, J. M., Hickey, T. E., Ricciardelli, C., Weger, M. A., Horsfall, D. J., & Tilley, W. D. (1995). Androgens induce divergent proliferative responses in human breast cancer cell lines. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 52(5), 459–467. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't.
- Blows, F. M., Driver, K. E., Schmidt, M. K., Broeks, A., van Leeuwen, F. E., Wesseling, J., ... Huntsman, D. (2010). Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Medicine*, 7(5), e1000279. Journal Article, Meta-Analysis. <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000279>
- Bocker, W., Moll, R., Poremba, C., Holland, R., Van Diest, P. J., Dervan, P., ... Buchwallow, I. B. (2002). Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 82(6), 737–746. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't.
- Borges, S., Moudilou, E., Vouyovitch, C., Chiesa, J., Lobie, P., Mertani, H., & Raccurt, M. (2008). Involvement of a JAK/STAT pathway inhibitor: cytokine inducible SH2 containing protein in breast cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 617, 321–329. Journal Article. http://doi.org/10.1007/978-0-387-69080-3_30
- Brodie, S. G., & Deng, C. X. (2001). BRCA1-associated tumorigenesis: what have we learned from knockout mice? *Trends in Genetics: TIG*, 17(10), S18-22. Journal Article, Review.
- Burns, M. B., Lackey, L., Carpenter, M. A., Rathore, A., Land, A. M., Leonard, B., ... Harris, R. S. (2013). APOBEC3B is an enzymatic source of mutation in breast cancer. *Nature*, 494(7437), 366–370. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1038/nature11881>
- Carpten, J. D., Faber, A. L., Horn, C., Donoho, G. P., Briggs, S. L., Robbins, C. M., ... Thomas, J. E. (2007). A transforming mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in cancer. *Nature*, 448(7152), 439–444. Journal Article, Research Support,

Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/nature05933>

- Casaburi, I., Cesario, M. G., Dona, A., Rizza, P., Aquila, S., Avena, P., ... Sisci, D. (2016). Androgens downregulate miR-21 expression in breast cancer cells underlining the protective role of androgen receptor. *Oncotarget*, 7(11), 12651–12661. Journal Article. <http://doi.org/10.18632/oncotarget.7207>
- Cheang, M. C. U., Chia, S. K., Voduc, D., Gao, D., Leung, S., Snider, J., ... Nielsen, T. O. (2009). Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(10), 736–750. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1093/jnci/djp082>
- Chiche, A., Moumen, M., Petit, V., Jonkers, J., Medina, D., Deugnier, M.-A., ... Glukhova, M. A. (2013). Somatic loss of p53 leads to stem/progenitor cell amplification in both mammary epithelial compartments, basal and luminal. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 31(9), 1857–1867. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1002/stem.1429>
- Cicalese, A., Bonizzi, G., Pasi, C. E., Faretta, M., Ronzoni, S., Giulini, B., ... Pelicci, P. G. (2009). The tumor suppressor p53 regulates polarity of self-renewing divisions in mammary stem cells. *Cell*, 138(6), 1083–1095. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2009.06.048>
- Clarke, C. L., Sandle, J., Jones, A. A., Sofronis, A., Patani, N. R., & Lakhani, S. R. (2006). Mapping loss of heterozygosity in normal human breast cells from BRCA1/2 carriers. *British Journal of Cancer*, 95(4), 515–519. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603298>
- Cornelis, R. S., Neuhausen, S. L., Johansson, O., Arason, A., Kelsell, D., Ponder, B. A., ... Lalle, P. (1995). High allele loss rates at 17q12-q21 in breast and ovarian tumors from BRCA1-linked families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 13(3), 203–210. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't.
- Creighton, C. J., Li, X., Landis, M., Dixon, J. M., Neumeister, V. M., Sjolund, A., ... Chang, J. C. (2009). Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences of the United States of America*, 106(33), 13820–13825. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1073/pnas.0905718106>
- Cuatrecasas, M., Santamaria, G., Velasco, M., Camacho, E., Hernandez, L., Sanchez, M., ... Fernandez, P. L. (2006). ATM gene expression is associated with differentiation and angiogenesis in infiltrating breast carcinomas. *Histology and Histopathology*, 21(2), 149–156. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't.
- Cui, J., Antoniou, A. C., Dite, G. S., Southey, M. C., Venter, D. J., Easton, D. F., ... Hopper, J. L. (2001). After BRCA1 and BRCA2-what next? Multifactorial segregation analyses of three-generation, population-based Australian families affected by female breast cancer. *American Journal of Human Genetics*, 68(2), 420–431. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. <http://doi.org/10.1086/318187>
- Damiola, F., Pertesi, M., Oliver, J., Le Calvez-Kelm, F., Voegelé, C., Young, E. L., ... Tavtigian, S. V. (2014). Rare key functional domain missense substitutions in MRE11A, RAD50, and NBN contribute to breast cancer susceptibility: results from a Breast Cancer Family Registry case-control mutation-screening study. *Breast Cancer Research: BCR*, 16(3), R58. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1186/bcr3669>
- Davidoff, A. M., Humphrey, P. A., Iglehart, J. D., & Marks, J. R. (1991). Genetic basis for p53 overexpression in human breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(11), 5006–5010. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.
- Deng, C.-X. (2006). BRCA1: cell cycle checkpoint, genetic instability, DNA damage response and cancer evolution. *Nucleic Acids Research*, 34(5), 1416–1426. Journal Article, Research Support, N.I.H., Intramural, Review. <http://doi.org/10.1093/nar/gkl010>
- Ding, S. L., Sheu, L. F., Yu, J. C., Yang, T. L., Chen, B. F., Leu, F. J., & Shen, C. Y. (2004). Abnormality of the DNA double-strand-break checkpoint/repair genes, ATM, BRCA1 and TP53, in breast cancer is related to tumour grade. *British Journal*

- of Cancer*, 90(10), 1995–2001. Journal Article.
<http://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601804>
- Ellis, M. J., Ding, L., Shen, D., Luo, J., Suman, V. J., Wallis, J. W., ... Mardis, E. R. (2012). Whole-genome analysis informs breast cancer response to aromatase inhibition. *Nature*, 486(7403), 353–360. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/nature11143>
- Eng, C. (2003). PTEN: one gene, many syndromes. *Human Mutation*, 22(3), 183–198. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S., Research Support, U.S. Gov't, P.H.S., Review. <http://doi.org/10.1002/humu.10257>
- Finlay-Schultz, J., & Sartorius, C. A. (2015). Steroid hormones, steroid receptors, and breast cancer stem cells. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 20(1–2), 39–50. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Review. <http://doi.org/10.1007/s10911-015-9340-5>
- Foulkes, W. D. (2004). BRCA1 functions as a breast stem cell regulator. *Journal of Medical Genetics*, 41(1), 1–5. Journal Article, Review.
- Foulkes, W. D., Stefansson, I. M., Chappuis, P. O., Begin, L. R., Goffin, J. R., Wong, N., ... Akslen, L. A. (2003). Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(19), 1482–1485. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't.
- Gao, F. F., & Dabbs, D. J. (2014). BRCA1 and BRCA2 Cancer Syndromes and Clinical Significance. *Pathology Case Reviews*, 19(2), 43–48. <http://doi.org/10.1097/PCR.0000000000000021>
- Garbe, J. C., Pepin, F., Pelissier, F. A., Sputova, K., Fridriksdottir, A. J., Guo, D. E., ... Labarge, M. A. (2012). Accumulation of multipotent progenitors with a basal differentiation bias during aging of human mammary epithelia. *Cancer Research*, 72(14), 3687–3701. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-0157>
- Gasco, M., Shami, S., & Crook, T. (2002). The p53 pathway in breast cancer. *Breast Cancer Research : BCR*, 4(2), 70–76. Journal Article, Review.

- Going, J. J., & Moffat, D. F. (2004). Escaping from Flatland: clinical and biological aspects of human mammary duct anatomy in three dimensions. *The Journal of Pathology*, 203(1), 538–544. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1002/path.1556>
- Gusterson, B. A., Ross, D. T., Heath, V. J., & Stein, T. (2005). Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. *Breast Cancer Research : BCR*, 7(4), 143–148. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Review. <http://doi.org/10.1186/bcr1041>
- Hagan, C. R., & Lange, C. A. (2014). Molecular determinants of context-dependent progesterone receptor action in breast cancer. *BMC Medicine*, 12, 32. Journal Article, Review. <http://doi.org/10.1186/1741-7015-12-32>
- Hennessy, B. T., Gonzalez-Angulo, A.-M., Stenke-Hale, K., Gilcrease, M. Z., Krishnamurthy, S., Lee, J.-S., ... Mills, G. B. (2009). Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. *Cancer Research*, 69(10), 4116–4124. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3441>
- Hickey, T. E., Robinson, J. L. L., Carroll, J. S., & Tilley, W. D. (2012). Minireview: The androgen receptor in breast tissues: growth inhibitor, tumor suppressor, oncogene? *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 26(8), 1252–1267. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Review. <http://doi.org/10.1210/me.2012-1107>
- Ho, J.-Y., Chang, F.-W., Huang, F. S., Liu, J.-M., Liu, Y.-P., Chen, S.-P., ... Hsu, R.-J. (2016). Estrogen Enhances the Cell Viability and Motility of Breast Cancer Cells through the ERalpha-DeltaNp63-Integrin beta4 Signaling Pathway. *PloS One*, 11(2), e0148301. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0148301>
- Hurtado, A., Holmes, K. A., Ross-Innes, C. S., Schmidt, D., & Carroll, J. S. (2011). FOXA1 is a key determinant of estrogen receptor function and endocrine response. *Nature Genetics*, 43(1), 27–33. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/ng.730>
- Jiang, Z., Deng, T., Jones, R., Li, H., Herschkowitz, J. I., Liu, J. C., ... Zacksenhaus, E.

- (2010). Rb deletion in mouse mammary progenitors induces luminal-B or basal-like/EMT tumor subtypes depending on p53 status. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(9), 3296–3309. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1172/JCI41490>
- Jones, C., Mackay, A., Grigoriadis, A., Cossu, A., Reis-Filho, J. S., Fulford, L., ... Lakhani, S. R. (2004). Expression profiling of purified normal human luminal and myoepithelial breast cells: identification of novel prognostic markers for breast cancer. *Cancer Research*, 64(9), 3037–3045. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't.
- Keller, P. J., Arendt, L. M., Skibinski, A., Logvinenko, T., Klebba, I., Dong, S., ... Kuperwasser, C. (2012). Defining the cellular precursors to human breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(8), 2772–2777. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1073/pnas.1017626108>
- Khan, S., Greco, D., Michailidou, K., Milne, R. L., Muranen, T. A., Heikkinen, T., ... Nevanlinna, H. (2014). MicroRNA related polymorphisms and breast cancer risk. *PloS One*, 9(11), e109973. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, N.I.H., Intramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0109973>
- Kleibl, Z., & Kristensen, V. N. (2016). Women at high risk of breast cancer: Molecular characteristics, clinical presentation and management. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, 28, 136–144. Journal Article, Review. <http://doi.org/10.1016/j.breast.2016.05.006>
- Lakhani, S. R., Chaggar, R., Davies, S., Jones, C., Collins, N., Odel, C., ... O'Hare, M. J. (1999). Genetic alterations in “normal” luminal and myoepithelial cells of the breast. *The Journal of Pathology*, 189(4), 496–503. Journal Article. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199912\)189:4<496::AID-PATH485>3.0.CO;2-D](http://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199912)189:4<496::AID-PATH485>3.0.CO;2-D)
- Lakhani, S. R., Reis-Filho, J. S., Fulford, L., Penault-Llorca, F., van der Vijver, M., Parry, S., ... Easton, D. F. (2005). Prediction of BRCA1 status in patients with breast

- cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 11(14), 5175–5180. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-2424>
- Larson, P. S., Schlechter, B. L., de las Morenas, A., Garber, J. E., Cupples, L. A., & Rosenberg, C. L. (2005). Allele imbalance, or loss of heterozygosity, in normal breast epithelium of sporadic breast cancer cases and BRCA1 gene mutation carriers is increased compared with reduction mammoplasty tissues. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 23(34), 8613–8619. Comparative Study, Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.1451>
- Leivonen, S.-K., Sahlberg, K. K., Mäkelä, R., Due, E. U., Kallioniemi, O., Børresen-Dale, A.-L., & Perälä, M. (2016). High-throughput screens identify microRNAs essential for HER2 positive breast cancer cell growth. *Molecular Oncology*, 8(1), 93–104. JOUR. <http://doi.org/10.1016/j.molonc.2013.10.001>
- Liang, Z., Bian, X., & Shim, H. (2016). Downregulation of microRNA-206 promotes invasion and angiogenesis of triple negative breast cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 477(3), 461–466. Journal Article. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.06.076>
- Lim, E., Vaillant, F., Wu, D., Forrest, N. C., Pal, B., Hart, A. H., ... Lindeman, G. J. (2009). Aberrant luminal progenitors as the candidate target population for basal tumor development in BRCA1 mutation carriers. *Nature Medicine*, 15(8), 907–913. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1038/nm.2000>
- Liu, M., Li, Z., Yang, J., Jiang, Y., Chen, Z., Ali, Z., ... Wang, Z. (2016). Cell-specific biomarkers and targeted biopharmaceuticals for breast cancer treatment. *Cell Proliferation*, 49(4), 409–420. Journal Article, Review. <http://doi.org/10.1111/cpr.12266>
- Liu, Y., & Hu, Z. (2014). Identification of collaborative driver pathways in breast cancer. *BMC Genomics*, 15, 605. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural.

<http://doi.org/10.1186/1471-2164-15-605>

Long, J., Delahanty, R. J., Li, G., Gao, Y.-T., Lu, W., Cai, Q., ... Zheng, W. (2013). A common deletion in the APOBEC3 genes and breast cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(8), 573–579. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1093/jnci/djt018>

Love, S. M., & Barsky, S. H. (2004). Anatomy of the nipple and breast ducts revisited. *Cancer*, 101(9), 1947–1957. Journal Article, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1002/cncr.20559>

Mani, S. A., Guo, W., Liao, M.-J., Eaton, E. N., Ayyanan, A., Zhou, A. Y., ... Weinberg, R. A. (2008). The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*, 133(4), 704–715. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.027>

Martowicz, A., Spizzo, G., Gastl, G., & Untergasser, G. (2012). Phenotype-dependent effects of EpCAM expression on growth and invasion of human breast cancer cell lines. *BMC Cancer*, 12, 501. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1186/1471-2407-12-501>

Meng, Z. H., Ben, Y., Li, Z., Chew, K., Ljung, B.-M., Lagios, M. D., & Dairkee, S. H. (2004). Aberrations of breast cancer susceptibility genes occur early in sporadic breast tumors and in acquisition of breast epithelial immortalization. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 41(3), 214–222. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1002/gcc.20089>

Mills, D., Gomberawalla, A., Gordon, E. J., Tondre, J., Nejad, M., Nguyen, T., ... Love, S. M. (2016). Examination of Duct Physiology in the Human Mammary Gland. *PloS One*, 11(4), e0150653. Clinical Trial, Journal Article. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0150653>

Mohammed, H. N., Pickard, M. R., & Mourtada-Maarabouni, M. (2016). The protein phosphatase 4 - PEA15 axis regulates the survival of breast cancer cells. *Cellular Signalling*, 28(9), 1389–1400. Journal Article. <http://doi.org/10.1016/j.cellsig.2016.06.011>

- Montagner, M., Enzo, E., Forcato, M., Zanconato, F., Parenti, A., Rampazzo, E., ... Piccolo, S. (2012). SHARP1 suppresses breast cancer metastasis by promoting degradation of hypoxia-inducible factors. *Nature*, *487*(7407), 380–384. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/nature11207>
- Obr, A. E., & Edwards, D. P. (2012). The biology of progesterone receptor in the normal mammary gland and in breast cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *357*(1–2), 4–17. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Review. <http://doi.org/10.1016/j.mce.2011.10.030>
- Osborne, C. K. (1998). Steroid hormone receptors in breast cancer management. *Breast Cancer Research and Treatment*, *51*(3), 227–238. Journal Article, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S., Review.
- Ouchi, T., Monteiro, A. N., August, A., Aaronson, S. A., & Hanafusa, H. (1998). BRCA1 regulates p53-dependent gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(5), 2302–2306. Journal Article, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S., Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.
- Peng, L., Xu, T., Long, T., & Zuo, H. (2016). Association Between BRCA Status and P53 Status in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, *22*, 1939–1945. Journal Article.
- Possemato, R., Marks, K. M., Shaul, Y. D., Pacold, M. E., Kim, D., Birsoy, K., ... Sabatini, D. M. (2011). Functional genomics reveal that the serine synthesis pathway is essential in breast cancer. *Nature*, *476*(7360), 346–350. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/nature10350>
- Prat, A., Parker, J. S., Karginova, O., Fan, C., Livasy, C., Herschkowitz, J. I., ... Perou, C. M. (2010). Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Research: BCR*, *12*(5), R68. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1186/bcr2635>
- Prat, A., & Perou, C. M. (2011). Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Molecular Oncology*, *5*(1), 5–23. Journal Article, Research Support, N.I.H.,

- Extramural, Review. <http://doi.org/10.1016/j.molonc.2010.11.003>
- Proia, T. A., Keller, P. J., Gupta, P. B., Klebba, I., Jones, A. D., Sedic, M., ... Kuperwasser, C. (2011). Genetic predisposition directs breast cancer phenotype by dictating progenitor cell fate. *Cell Stem Cell*, 8(2), 149–163. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1016/j.stem.2010.12.007>
- Rahman, N., Seal, S., Thompson, D., Kelly, P., Renwick, A., Elliott, A., ... Stratton, M. R. (2007). PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nature Genetics*, 39(2), 165–167. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1038/ng1959>
- Rakha, E. A., Reis-Filho, J. S., & Ellis, I. O. (2008). Basal-like breast cancer: a critical review. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 26(15), 2568–2581. Journal Article, Review. <http://doi.org/10.1200/JCO.2007.13.1748>
- Raouf, A., Zhao, Y., To, K., Stingl, J., Delaney, A., Barbara, M., ... Eaves, C. (2008). Transcriptome analysis of the normal human mammary cell commitment and differentiation process. *Cell Stem Cell*, 3(1), 109–118. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1016/j.stem.2008.05.018>
- Rosen, E. M., Fan, S., & Ma, Y. (2006). BRCA1 regulation of transcription. *Cancer Letters*, 236(2), 175–185. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Review. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.04.037>
- Rusby, J. E., Brachtel, E. F., Michaelson, J. S., Koerner, F. C., & Smith, B. L. (2007). Breast duct anatomy in the human nipple: three-dimensional patterns and clinical implications. *Breast Cancer Research and Treatment*, 106(2), 171–179. Journal Article. <http://doi.org/10.1007/s10549-006-9487-2>
- Schneck, H., Blassl, C., Meier-Stiegen, F., Neves, R. P., Janni, W., Fehm, T., & Neubauer, H. (2013). Analysing the mutational status of PIK3CA in circulating tumor cells from metastatic breast cancer patients. *Molecular Oncology*, 7(5), 976–986. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't.

<http://doi.org/10.1016/j.molonc.2013.07.007>

- Shamoo, Y. (2003). Structural insights into BRCA2 function. *Current Opinion in Structural Biology*, 13(2), 206–211. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S., Review.
- Sharan, S. K., Morimatsu, M., Albrecht, U., Lim, D. S., Regel, E., Dinh, C., ... Bradley, A. (1997). Embryonic lethality and radiation hypersensitivity mediated by Rad51 in mice lacking Brca2. *Nature*, 386(6627), 804–810. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. <http://doi.org/10.1038/386804a0>
- Smith, S. A., Easton, D. F., Evans, D. G., & Ponder, B. A. (1992). Allele losses in the region 17q12-21 in familial breast and ovarian cancer involve the wild-type chromosome. *Nature Genetics*, 2(2), 128–131. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/ng1092-128>
- Somasundaram, K., Zhang, H., Zeng, Y. X., Houvras, Y., Peng, Y., Zhang, H., ... El-Deiry, W. S. (1997). Arrest of the cell cycle by the tumour-suppressor BRCA1 requires the CDK-inhibitor p21WAF1/CiP1. *Nature*, 389(6647), 187–190. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. <http://doi.org/10.1038/38291>
- Sopik, V., & Narod, S. A. (2014, October). Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *The New England Journal of Medicine*. Comment, Letter, United States. <http://doi.org/10.1056/NEJMc1410673#SA1>
- Sorlie, T., Tibshirani, R., Parker, J., Hastie, T., Marron, J. S., Nobel, A., ... Botstein, D. (2003). Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(14), 8418–8423. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. <http://doi.org/10.1073/pnas.0932692100>
- Stemke-Hale, K., Gonzalez-Angulo, A. M., Lluch, A., Neve, R. M., Kuo, W.-L., Davies, M., ... Hennessy, B. T. (2008). An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer. *Cancer Research*, 68(15), 6084–6091. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research

- Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-6854>
- Struewing, J. P., Abeliovich, D., Peretz, T., Avishai, N., Kaback, M. M., Collins, F. S., & Brody, L. C. (1995). The carrier frequency of the BRCA1 185delAG mutation is approximately 1 percent in Ashkenazi Jewish individuals. *Nature Genetics*, *11*(2), 198–200. Journal Article. <http://doi.org/10.1038/ng1095-198>
- Struewing, J. P., Hartge, P., Wacholder, S., Baker, S. M., Berlin, M., McAdams, M., ... Tucker, M. A. (1997). The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *The New England Journal of Medicine*, *336*(20), 1401–1408. Journal Article. <http://doi.org/10.1056/NEJM199705153362001>
- Taube, J. H., Herschkowitz, J. I., Komurov, K., Zhou, A. Y., Gupta, S., Yang, J., ... Mani, S. A. (2010). Core epithelial-to-mesenchymal transition interactome gene-expression signature is associated with claudin-low and metaplastic breast cancer subtypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(35), 15449–15454. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1073/pnas.1004900107>
- Thakkar, J. P., & Mehta, D. G. (2011). A review of an unfavorable subset of breast cancer: estrogen receptor positive progesterone receptor negative. *The Oncologist*, *16*(3), 276–285. Journal Article, Review. <http://doi.org/10.1634/theoncologist.2010-0302>
- Trevino, L. S., Wang, Q., & Walker, C. L. (2015). Hypothesis: Activation of rapid signaling by environmental estrogens and epigenetic reprogramming in breast cancer. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, *54*, 136–140. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Review. <http://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.12.014>
- Tsang, J. S., Ebert, M. S., & van Oudenaarden, A. (2016). Genome-wide Dissection of MicroRNA Functions and Cotargeting Networks Using Gene Set Signatures. *Molecular Cell*, *38*(1), 140–153. JOUR. <http://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.03.007>
- Usary, J., Llaca, V., Karaca, G., Presswala, S., Karaca, M., He, X., ... Perou, C. M. (2004). Mutation of GATA3 in human breast tumors. *Oncogene*, *23*(46), 7669–

7678. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. <http://doi.org/10.1038/sj.onc.1207966>
- Vaughn, J. P., Cirisano, F. D., Huper, G., Berchuck, A., Futreal, P. A., Marks, J. R., & Iglehart, J. D. (1996). Cell cycle control of BRCA2. *Cancer Research*, *56*(20), 4590–4594. Journal Article, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.
- Venkitaraman, A. R. (2002). Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell*, *108*(2), 171–182. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Review.
- Visvader, J. E., & Stingl, J. (2014). Mammary stem cells and the differentiation hierarchy: current status and perspectives. *Genes & Development*, *28*(11), 1143–1158. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Review. <http://doi.org/10.1101/gad.242511.114>
- Wang, Y., Romigh, T., He, X., Tan, M.-H., Orloff, M. S., Silverman, R. H., ... Eng, C. (2011). Differential regulation of PTEN expression by androgen receptor in prostate and breast cancers. *Oncogene*, *30*(42), 4327–4338. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1038/onc.2011.144>
- Widodo, I., Dwianingsih, E. K., Triningsih, E., Utoro, T., & Soeripto. (2014). Clinicopathological features of Indonesian breast cancers with different molecular subtypes. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, *15*(15), 6109–6113. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't.
- Wong, A. K., Pero, R., Ormonde, P. A., Tavtigian, S. V., & Bartel, P. L. (1997). RAD51 interacts with the evolutionarily conserved BRC motifs in the human breast cancer susceptibility gene *brca2*. *The Journal of Biological Chemistry*, *272*(51), 31941–31944. Journal Article.
- Wood, L. D., Parsons, D. W., Jones, S., Lin, J., Sjoblom, T., Leary, R. J., ... Vogelstein, B. (2007). The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science (New York, N.Y.)*, *318*(5853), 1108–1113. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. <http://doi.org/10.1126/science.1145720>
- Wooster, R., Bignell, G., Lancaster, J., Swift, S., Seal, S., Mangion, J., ... Micklem, G. (1995). Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*,

- 378(6559), 789–792. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't, Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S., Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. <http://doi.org/10.1038/378789a0>
- Wu, A., Dong, Q., Gao, H., Shi, Y., Chen, Y., Zhang, F., ... Sun, L.-Z. (2016). Characterization of mammary epithelial stem/progenitor cells and their changes with aging in common marmosets. *Scientific Reports*, 6, 32190. Journal Article. <http://doi.org/10.1038/srep32190>
- Wu, G., Xing, M., Mambo, E., Huang, X., Liu, J., Guo, Z., ... Sidransky, D. (2005). Somatic mutation and gain of copy number of PIK3CA in human breast cancer. *Breast Cancer Research : BCR*, 7(5), R609-16. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. <http://doi.org/10.1186/bcr1262>
- Yang, J., Bielenberg, D. R., Rodig, S. J., Doiron, R., Clifton, M. C., Kung, A. L., ... Moses, M. A. (2009). Lipocalin 2 promotes breast cancer progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(10), 3913–3918. Journal Article, Research Support, N.I.H., Extramural, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.1073/pnas.0810617106>
- Zhang, Y., Liu, J., Lin, J., Zhou, L., Song, Y., Wei, B., ... Ye, Q. (2016). The transcription factor GATA1 and the histone methyltransferase SET7 interact to promote VEGF-mediated angiogenesis and tumor growth and predict clinical outcome of breast cancer. *Oncotarget*, 7(9), 9859–9875. Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't. <http://doi.org/10.18632/oncotarget.7126>