



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ – ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΩΝ ΜΗ ΚΩΔΙΚΩΝ RNA (lncRNAs) ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ  
ΜΑΣΤΟΥ»**

**ΣΤΥΛΙΑΝΗ ΧΑΤΖΗΠΕΤΡΟΥ**

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΟΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΣΤΡΙΑ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΑΣΠΑΣΙΑ ΤΣΕΖΟΥ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ, Επιβλέπουσα**

**ΙΩΑΝΝΑ ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ, ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΘ, Συνεπιβλέπουσα**

**ΤΖΕΤΗ ΜΑΡΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΕΚΠΑ, Μέλος**

**ΛΑΡΙΣΑ, 2021–2022**

**[1]**



**UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM  
“HUMAN GENETICS –GENETIC COUNSELING”**

**MASTER’S THESIS  
“ROLE OF LONG NON CODING RNAs (lncRNAs) IN BREAST CANCER”**

**STYLIANI CHATZIPETROU  
MOLECULAR BIOLOGIST AND GENETICIST**

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>5</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ</b>	<b>6</b>
<b>1.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ</b>	<b>6</b>
<b>1.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ</b>	<b>8</b>
<b>1.3 ΥΠΟΤΥΠΟΙ</b>	<b>10</b>
<b>1.4 ΔΙΑΓΝΩΣΗ</b>	<b>12</b>
<b>1.5 ΘΕΡΑΠΕΙΑ</b>	<b>15</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Μη κωδικά μόρια RNA (ncRNAs)</b>	<b>20</b>
<b>2.1 ΕΙΔΗ RNA</b>	<b>20</b>
<b>2.2 ΒΙΟΓΕΝΕΣΗ ΤΩΝ lncRNAs</b>	<b>23</b>
<b>2.3 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ lncRNAs</b>	<b>25</b>
<b>2.4 ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ lncRNAs</b>	<b>28</b>
<b>2.4.1 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ</b>	<b>28</b>
<b>2.4.2 LncRNAs ΚΑΙ ΠΑΘΗΣΕΙΣ</b>	<b>30</b>
<b>2.4.3 LncRNAs ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ</b>	<b>31</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: LncRNAs ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ</b>	<b>35</b>
<b>3.1 LncRNAs ΚΑΙ ΠΡΟΑΓΩΓΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ</b>	<b>35</b>
<b>3.2 LncRNAs ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ</b>	<b>42</b>
<b>3.3 LncRNAs ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ</b>	<b>46</b>
<b>3.4 LncRNAs ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ</b>	<b>54</b>
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>62</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>64</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εξετάζει τον ρόλο των μακρών μη κωδικών μορίων RNA (lncRNAs) στον καρκίνο του μαστού. Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον πιο κοινό καρκίνο μεταξύ των γυναικών και εμφανίζει αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας. Τα τελευταία χρόνια ωστόσο έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στις θεραπευτικές μεθόδους, χωρίς την πλήρη ανταπόκριση των ασθενών. Η τρέχουσα έρευνα επισημαίνει πλέον συχνά τη μη φυσιολογική έκφραση των lncRNAs στον καρκίνο του μαστού, γεγονός που δείχνει την πιθανή εμπλοκή τους στην εμφάνιση και την ανάπτυξή του. Για αρκετές δεκαετίες τα μόρια αυτά θεωρούνταν μεταγραφικός θόρυβος, σήμερα όμως πολλές μελέτες ασχολούνται με την κατανόηση των βιολογικών λειτουργιών τους αλλά και των ρυθμιστικών μηχανισμών τους στον καρκίνο. Στην παρούσα εργασία γίνεται μια κριτική ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας. Αρχικά παρουσιάζεται η επιδημιολογία και οι παράγοντες κινδύνου του καρκίνου του μαστού, οι υπότυποι του αλλά και οι έως τώρα μέθοδοι διάγνωσης και θεραπείας. Στη συνέχεια, στο επόμενο κεφάλαιο, εξετάζονται τα μη κωδικά μόρια RNA, και κυρίως τα μακρά, και γίνεται λόγος για τη βιογένεση, τον μηχανισμό δράσης τους και τον ρόλο τους σε βιολογικές διεργασίες και παθήσεις. Ο ρόλος των μορίων αυτών στον καρκίνο του μαστού, που είναι το αντικείμενο εξέτασης της εργασίας, αποτελεί το θέμα του τρίτου κεφαλαίου. Σε αυτό αναλύεται διεξοδικά η πρόσφατη βιβλιογραφία ως προς: (α) την εμπλοκή των lncRNAs στην προώθηση του όγκου του μαστού, (β) τη δράση όσων εμπίπτουν στην κατηγορία των ογκοκατασταλτικών lncRNAs, (γ) τους μηχανισμούς με τους οποίους τα μόρια αυτά εμπλέκονται στην αντίσταση στη θεραπεία, αλλά και (δ) τη δυνητική χρήση των lncRNAs ως διαγνωστικών βιοδεικτών και προγνωστικών παραγόντων στον καρκίνο του μαστού. Συγκεκριμένα, γίνεται διαχωρισμός των συμμετεχόντων στον καρκίνο lncRNAs σε ογκογόνα και ογκοκατασταλτικά. Συνοψίζονται τα καλά χαρακτηρισμένα lncRNAs όσον αφορά την εμπλοκή τους στην προώθηση της καρκινογένεσης μέσω επαγωγής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της μετάστασης, καθώς και την αναστολή της απόπτωσης. Αποσαφηνίζεται, ακόμα, ο ρόλος των ογκοκατασταλτικών lncRNAs στην αναστολή του πολλαπλασιασμού και της μετάστασης, την προαγωγή της απόπτωσης καθώς και την ανατροπή της αντίστασης στη θεραπεία. Η εμπλοκή των lncRNAs στην αντίσταση στη θεραπεία αποτελεί αντικείμενο μελέτης για τη δράση τους ως ceRNAs, ως εξωσωμικά lncRNAs, ως ρυθμιστές της απόπτωσης αλλά και ως ρυθμιστές των αντλιών εκροής φαρμάκων. Τέλος, αναφέρεται η δυνητική χρήση των μορίων αυτών ως βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού, λόγω της άμσης εμπλοκής τους σε χαρακτηριστικά γεγονότα της καρκινογένεσης.

## ABSTRACT

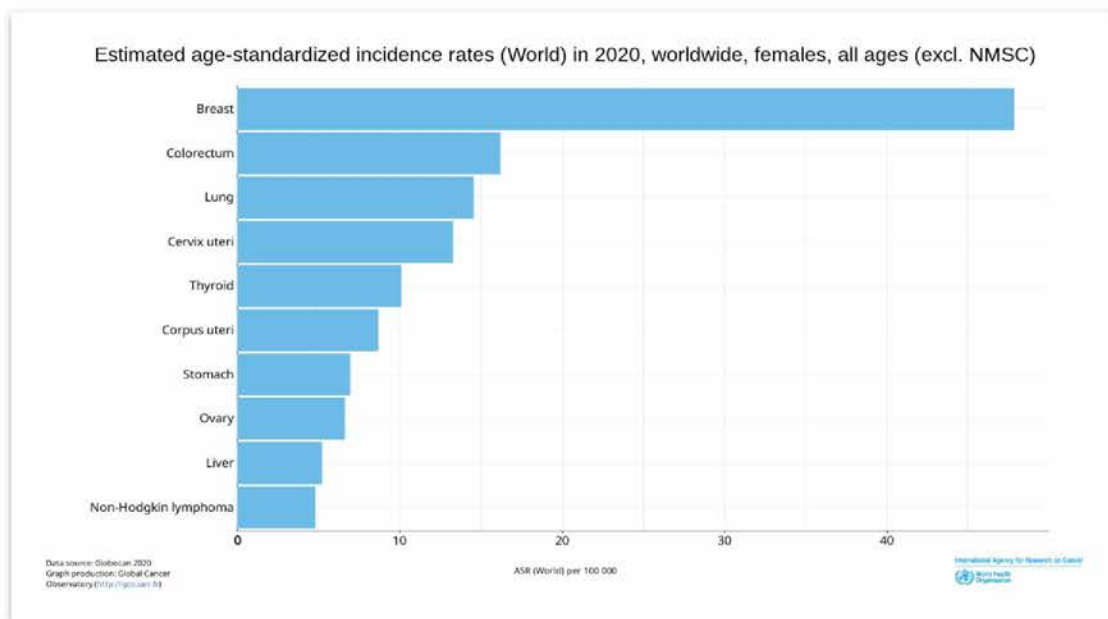
The present Master thesis considers the role of long non-coding RNA molecules in breast cancer. Breast cancer is the most common cancer among women and shows significant mortality rates. Recently, significant progress has been made in the field of therapeutics, however without complete response to treatments. The majority of current research in cancer investigates the abnormal expression of lncRNAs in breast cancer and their possible involvement in the occurrence and development of the disease. For several decades in the past these molecules were considered as transcriptional noise; however, currently many studies aim to broaden the understanding of their biological functions and regulatory mechanisms in cancer. The present thesis reviews the relevant literature. Firstly, it discusses the epidemiology and the risk factors of breast cancer, its subtypes as well as the current methods of diagnosis and treatment. In the next chapter, it examines non-coding RNA molecules, especially the long ones, namely their biogenesis, their mechanism of action and their role in biological processes and diseases. The contribution of these molecules in breast cancer, which is of main interest in this thesis, is considered in the third chapter, which thoroughly analyzes recent literature on: (a) the involvement of lncRNAs in breast tumor promotion, (b) the activity of molecules that fall into the category of tumor suppressor lncRNAs, (c) the mechanisms by which these molecules are involved in treatment resistance, and (d) the potential use of lncRNAs as biomarkers for diagnosis, prognosis and prediction of breast cancer. Specifically, cancer-participating lncRNAs are separated into oncogenic and tumor suppressive ones. Well-characterized lncRNAs are summarized in terms of their involvement in promoting carcinogenesis through induction of cell proliferation and metastasis, as well as inhibition of apoptosis. The role of tumor suppressor lncRNAs in inhibiting proliferation and metastasis, promoting apoptosis as well as reversing treatment resistance is further elucidated. The involvement of lncRNAs in treatment resistance is being studied for their activity as ceRNAs, as exosomal lncRNAs, as regulators of apoptosis and also as regulators of drug efflux pumps. Finally, the potential use of these molecules as biomarkers for breast cancer is reported, due to their direct involvement in characteristic events of carcinogenesis.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

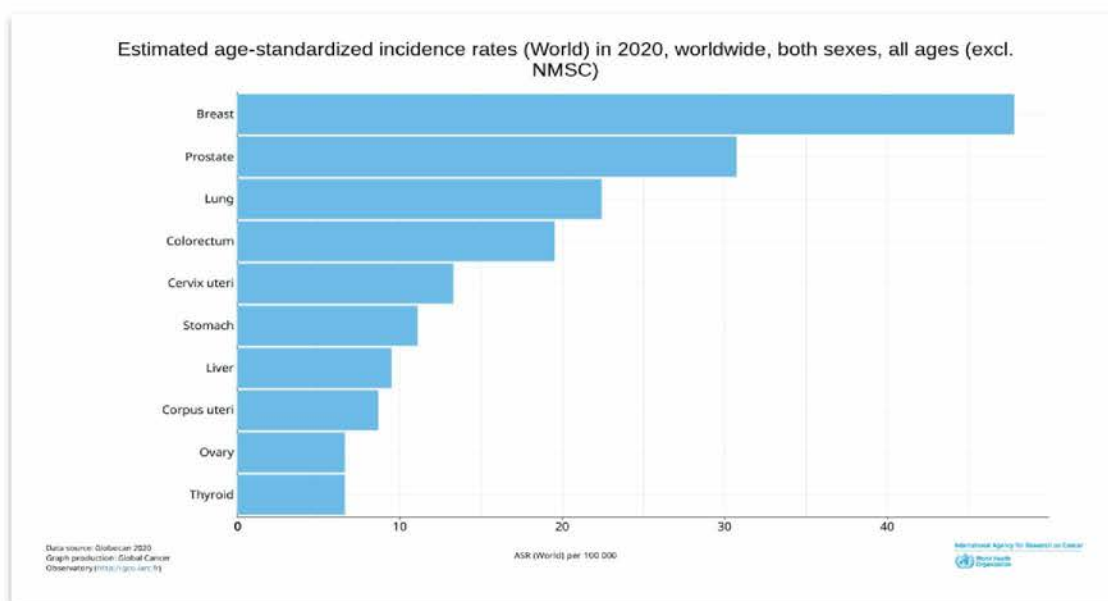
### ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

#### 1.1 Επιδημιολογικά στοιχεία

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον πιο κοινό τύπο καρκίνου στις γυναίκες (Y. S. Sun et al., 2017). Το 2020 αναδείχθηκε ο πιο κοινός τύπος καρκίνου παγκοσμίως, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας(WHO, 2020).



Εικόνα 1: Ποσοστά εμφάνισης διάφορων τύπων καρκίνου στο γυναικείο πληθυσμό παγκοσμίως το 2020(Πηγή: WHO).

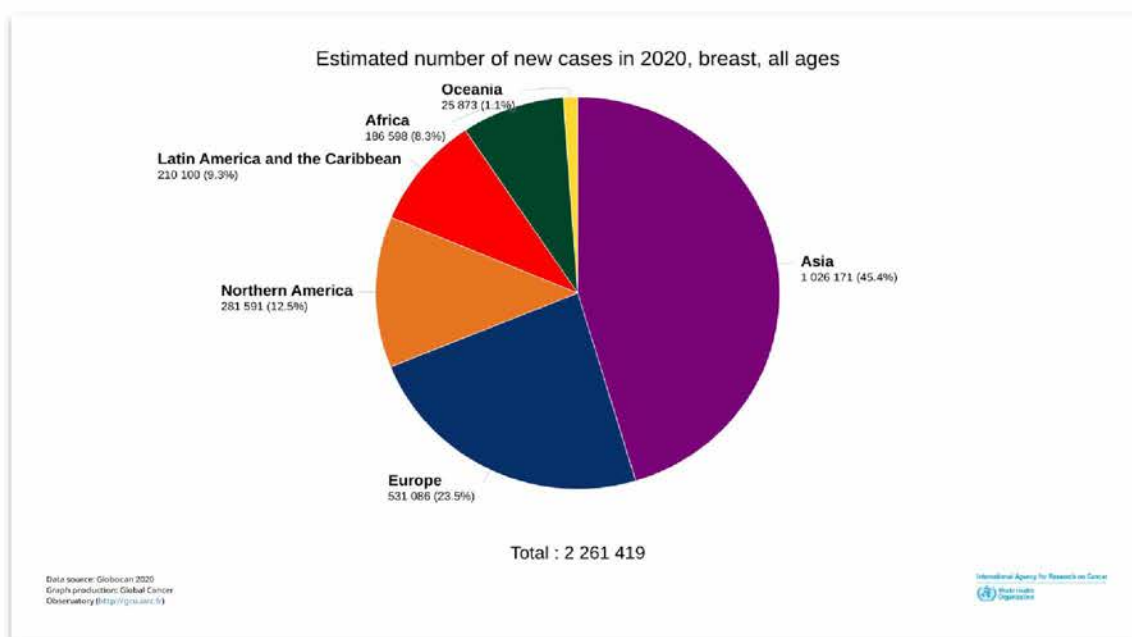


Εικόνα 2: Ποσοστά εμφάνισης διάφορων τύπων καρκίνου παγκοσμίως το 2020(Πηγή: WHO).

Το ποσοστό εμφάνισης του καρκίνου του μαστού σχετίζεται άμεσα με την εθνικότητα και τη φυλή, καθώς είναι υψηλότερο στις αναπτυγμένες χώρες(Y. S. Sun et al., 2017). Το γεγονός αυτό οφείλεται στην αύξηση του προσδόκιμου ζωής, καθώς ο καρκίνος αποτελεί κατά βάση ασθένεια του γήρατος(White et al., 2014).Ωστόσο, η χαμηλή επίπτωση της νόσου στις αναπτυσσόμενες χώρες αποδίδεται έως έναν βαθμό επίσης στα χαμηλότερα ποσοστά προσυμπτωματικού ελέγχου(Rojas & Stuckey, 2016a).

Από το 1930 και μετά, ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού κατά τη διάρκεια της ζωής μιας γυναίκας αυξάνεται συνεχώς, ανεξαρτήτως φυλής(Jatoi et al., 2005). Ειδικά από τα μέσα της δεκαετίας του 2000, τα ποσοστά επίπτωσης της νόσου αυξάνονται με αργό ρυθμό κατά περίπου 0,5% ετησίως. Το 2022 αναμένεται να διαγνωστούν 51.400 νέες περιπτώσεις(*Breast Cancer Statistics | Facts & Figures | NBCC*, n.d.). Εκτιμάται, μάλιστα, ότι το 2050 η επίπτωση της νόσου θα αγγίξει τα 3,2 εκατομμύρια(Hortobagyi et al., 2005).

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, οι περισσότερες νέες περιπτώσεις καρκίνου του μαστού σημειώνονται στην Ασία και στην Ευρώπη, ενώ σημαντικά λιγότερα περιστατικά καταγράφονται στην Αφρική και στην Ωκεανία(WHO, 2020).



Εικόνα 3: Νέες περιπτώσεις καρκίνου του μαστού παγκοσμίως, το 2020(Πηγή: WHO).

Ασθενείς με καρκίνο του μαστού εμφανίζουν μεγάλη πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης (90%), ωστόσο παρατηρείται διαφορά μεταξύ των πληθυσμών διαφορετικών φύλων(Hortobagyi et al., 2005). Η αναλογία της θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού προς τον αριθμό των περιστατικών είναι γενικά υψηλότερη στις λιγότερο ανεπτυγμένες περιοχές του κόσμου(Hortobagyi et al., 2005). Η αύξηση του προσδόκιμου ζωής των γυναικών με

καρκίνο του μαστού είναι αποτέλεσμα τόσο της εντατικοποίησης των ελέγχων όσο και των νέων θεραπειών(Giordano et al., 2004).

## 1.2 Παράγοντες κινδύνου

Η εκτενής έρευνα για τον καρκίνο του μαστού, λόγω της έξαρσης της νόσου, έχει οδηγήσει στον εντοπισμό κάποιων παραγόντων που εμπλέκονται στην εμφάνισή της. Όπως κάθε τύπος καρκίνου, έτσι και ο καρκίνος του μαστού εμφανίζει άμεση συσχέτιση με την ηλικία, εφόσον ο καρκίνος αναφέρεται γενικά ως ασθένεια του γήρατος(Jemal et al., 2007),(Shoemaker et al., 2018). Το οικογενειακό ιστορικό και η κληρονομικότητα φαίνεται επίσης να παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τα ποσοστά κληρονομικού καρκίνου του μαστού(Brewer et al., 2017). Πέρα από την ηλικία και το οικογενειακό ιστορικό, άλλα στοιχεία που έχουν αναδειχθεί ως παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου είναι: το γενετικό υπόβαθρο, παράγοντες που αφορούν την αναπαραγωγή, γεγονότα που αφορούν την κύηση, αλλά και ο τρόπος ζωής(Rojas & Stuckey, 2016a). Οι παράγοντες αυτοί έχουν συσχετιστεί είτε με προδιάθεση εμφάνισης καρκίνου του μαστού, είτε και με κακή πρόγνωση σχετικά με την εξέλιξη της νόσου(Rojas & Stuckey, 2016a),(Momenimovahed & Salehiniya, 2019b).

Το γενετικό υπόβαθρο των ασθενών με καρκίνο έχει απασχολήσει ιδιαίτερα τους ερευνητές όσον αφορά την εμπλοκή του στην καρκινογένεση(Shionitz&Korde, 2015). Η μακροχρόνια σχετική έρευνα έχει εντοπίσει ορισμένα γονίδια που εμφανίζουν υψηλή ή μέτρια συσχέτιση με την εμφάνιση της νόσου. Τα δύο βασικά γονίδια που έχουν συσχετιστεί άμεσα είναι τα *BRCA1* και *BRCA2*(HAAll et al., 1990), (Wooster et al., 1994). Πρόκειται για γονίδια που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του DNA σε περίπτωση βλάβης, επομένως η απουσία τους συνεπάγεται αδυναμία επιδιόρθωσης του DNA και πολλαπλασιασμό κυττάρων με βλάβες, γεγονός που οδηγεί στην εμφάνιση καρκίνου(Yoshida & Miki, 2004). Πιο συγκεκριμένα, οι φορείς μεταλλάξεων των γονιδίων *BRCA1* και *BRCA2* εμφανίζουν αντίστοιχα 55–72% και 45–69% πιθανότητα να εμφανίσουν καρκίνο του μαστού έως την ηλικία των 70, σε αντίθεση με τον γενικό πληθυσμό, όπου ο κίνδυνος είναι της τάξης του 12%(Shionitz & Korde, 2015). Πέρα από τα *BRCA1* & *BRCA2*, και άλλα γονίδια έχουν χαρακτηριστεί ως υψηλού κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού. Το γονίδιο *PTEN*, το οποίο συμμετέχει στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA και στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, εμπλέκεται στη νόσο. Φορείς γαμετικών μεταλλάξεων *PTEN* φαίνεται να εμφανίζουν 25–75% πιθανότητα εκδήλωσης καρκίνου του μαστού(Tan et al., 2012). Ένα ακόμα γονίδιο, το οποίο έχει συσχετιστεί με τα περισσότερα είδη καρκίνου, είναι το *p53*(Birch et al., 2001). Πρόκειται για ογκοκατασταλτικό γονίδιο που συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και μάλιστα γαμετικές μεταλλάξεις σε αυτό έχουν συσχετιστεί, μεταξύ άλλων, με 56–90% δια βίου κίνδυνο για καρκίνο του μαστού(Shionitz & Korde, 2015). Ένας ακόμα



ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου με κάποιον ρόλο στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού αποτελεί το γονίδιο *STK11*, καθώς φορείς σχετικών γαμετικών μεταλλάξεων εμφανίζουν 32–54% δια βίου κίνδυνο για καρκίνο του μαστού (Lim et al., 2004). Τέλος, ως υψηλού κινδύνου γονίδιο έχει χαρακτηριστεί το *CDH1*, ρυθμιστής της έκφρασης γονιδίων κυτταρικής ανάπτυξης και διαφοροποίησης. Φορείς σχετικών γαμετικών μεταλλάξεων έχουν 39–52% κίνδυνο για δια βίου εμφάνιση καρκίνου του μαστού, λόγω ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού και επιβίωσης των κυττάρων (Shionitz & Korde, 2015). Άλλα γονίδια χαρακτηρίζονται ως μέτριου κινδύνου, καθώς σχετίζονται με μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου. Τέτοια γονίδια είναι τα *ATM*, *CHEK2* και *PALB2*, τα οποία συμμετέχουν στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA ή/και στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου. Και τα τρία αυτά γονίδια έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο του μαστού, καθώς φορείς γαμετικών μεταλλάξεών τους εμφανίζουν αυξημένη πιθανότητα νόσησης σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (Renwick et al., 2006), (Rahman et al., 2007), (Meijers-Heijboer et al., 2002).

Οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την αναπαραγωγή είναι οι εξής: η ηλικία έναρξης της έμμηνου ρήσης, ο ωοθυλακιορρηκτικός κύκλος, η ηλικία της πρώτης κύησης, τα χαρακτηριστικά της κύησης, η πιθανή ύπαρξη διακοπής της κύησης, ο θηλασμός, η ηλικία εμμηνόπαυσης, κ.ά (Momenimovahed & Salehiniya, 2019c). Η πρόωρη έναρξη της έμμηνου ρήσης έχει συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού, λόγω του ότι η προγενέστερη ωορρηξία συνεπάγεται μεγαλύτερη έκθεση σε οιστρογόνα (*Menstrual Factors in Relation to Breast Cancer Risk - PubMed*, n.d.). Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώθηκε αργότερα από προοπτικές μελέτες και μελέτες ασθενών-μαρτύρων (Thakur et al., 2017a), (M. H. Wu et al., 2006), (Balekouzou et al., 2017a). Συγκεκριμένα, σύμφωνα με μελέτη ασθενών-μαρτύρων στο Μπανγκόκι, γυναίκες με καθυστερημένη εμμηναρχή και τακτικό εμμηνορροϊκό κύκλο έφεραν μειωμένες πιθανότητες εμφάνισης καρκίνου του μαστού, σε σύγκριση με εκείνες με πρόωμη εμμηναρχή και ακανόνιστο εμμηνορροϊκό κύκλο (Balekouzou et al., 2017b). Ωστόσο, το θέμα δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, καθώς άλλες μελέτες διανεύδουν την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ ηλικίας έναρξης έμμηνου ρήσης και κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Tamakoshi et al., 2005), (C. I. Li et al., 2013). Τέλος, η καθυστερημένη ηλικία της εμμηνόπαυσης έχει αξιολογηθεί ως προδιαθεσικός παράγοντας από παλαιότερες μελέτες (Y. Kim et al., 2015), (Thakur et al., 2017b). Μάλιστα, η μετα-ανάλυση 117 μελετών συσχέτισε τη μεταγενέστερη ηλικία εμμηνόπαυσης, που αφορά γυναίκες άνω των πενήντα ετών, με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Hamajima et al., 2012).

Χαρακτηριστικά της κύησης και γεγονότα γύρω από αυτήν κατατάσσονται επίσης στους παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του μαστού (Rojas & Stuckey, 2016b), (Momenimovahed & Salehiniya, 2019a). Η καθυστερημένη ηλικία πρώτης κύησης έχει συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου, καθώς, η κύηση λειτουργεί

προστατευτικά έναντι της νόσου(Henderson et al., 2008). Μελέτες δείχνουν ότι η εγκυμοσύνη αποτελεί προστατευτικό παράγοντα, καθώς ο καρκίνος του μαστού είναι πιο πιθανό να εμφανιστεί σε γυναίκες χωρίς λοχεία(H. Ma et al., 2006),(Dai et al., 2009). Επιπρόσθετα, διατυπώθηκαν ερωτηματικά σχετικά με τον ρόλο των αμβλώσεων στον καρκίνο του μαστού, λόγω της διακοπής της διαφοροποίησης του μαστού κατά την κύηση(Brindetal., 1996). Ωστόσο, επόμενες μελέτες διέψευσαν τη συσχέτιση του καρκίνου του μαστού είτε με την αποβολή, είτε με την άμβλωση(Brind et al., 1996),(Momenimovahed & Salehiniya, 2019a).Ο θηλασμός κατατάσσεται επίσης στους προστατευτικούς παράγοντες έναντι του καρκίνου του μαστού(Anstey et al., 2017). Η συσχέτισή του όμως φαίνεται να διαφέρει μεταξύ των διαφορετικών υποτύπων, καθώς έχει αποδειχθεί περισσότερο προστατευτικός έναντι διηθητικών καρκίνων του μαστού(Anderson et al., 2014),(Barnard et al., 2015). Επισημαίνονται τα αποτελέσματα μελέτης(Victora et al., 2016), σύμφωνα με την οποία ο θηλασμός προστατεύει 20.000 θανάτους από καρκίνο του μαστού παγκοσμίως ετησίως, ενώ, μάλιστα, η αύξησή του, αντίστοιχα, θα μπορούσε να αποτρέψει 20.000 νέα περιστατικά της νόσου.

Ο τρόπος ζωής αποτελεί σημαντικό προδιαθεσικό ή προστατευτικό παράγοντα για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού(Momenimovahed & Salehiniya, 2019a). Οι παράμετροι που φαίνεται να σχετίζονται είναι οι εξής: η παχυσαρκία, η διατροφή, η σωματική δραστηριότητα, η διάρκεια του ύπνου, η κατανάλωση αλκοόλ, το κάπνισμα. Πολλές είναι οι μελέτες που εντοπίζουν τον ρόλο της παχυσαρκίας στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού. Τα υψηλά επίπεδα ινσουλίνης, που παρατηρούνται στην παχυσαρκία φαίνεται να διεγείρουν την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων(Berclaz et al., 2004). Σύμφωνα με μελέτη κοόρτης γυναικών παρατηρείται συσχέτιση μεταξύ του καρκίνου του μαστού και του δείκτη μάζας σώματος, κυρίως μετά την εμμηνόπαυση(M. J. Chen et al., 2016). Ανεξάρτητα από την παχυσαρκία, γενικά η κακή διατροφή αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση όχι μόνο καρκίνου του μαστού αλλά και διάφορων μορφών καρκίνου. Πολλές μελέτες εξετάζουν την επίδραση των διατροφικών συνηθειών στον καρκίνο, με κάποιες από αυτές να συμπεραίνουν ότι η αυξημένη κατανάλωση κόκκινου ή/και μη επεξεργασμένου κρέατος και η αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών εμφανίζουν άμεση συσχέτιση με τον καρκίνο του μαστού(E. F. Taylor et al., 2007),(Crowe et al., 2008). Ωστόσο, φαίνεται ότι η κακή διατροφή συσχετίζεται κυρίως με τον προεμμηνόπαυσιακό καρκίνο του μαστού(H. R. Harris et al., 2017). Αντίθετα, η σωματική άσκηση υποστηρίζεται ότι παρουσιάζει σημαντικά οφέλη, καθώς όχι μόνο αποτελεί προστατευτικό παράγοντα έναντι της εμφάνισης του καρκίνου του μαστού, αλλά η άθληση μετά τη διάγνωση μειώνει τον κίνδυνο θανάτου από καρκίνο του μαστού(J. Lee, 2019),(Holick et al., 2008).

### 1.3 Υπότυποι

Ο καρκίνος του μαστού είναι μία νόσος ετερογενής και οι διάφοροι όγκοι παρουσιάζουν διαφορετική συμπεριφορά σε μοριακό, ιστοπαθολογικό και κλινικό επίπεδο, καθώς και διαφορετική πρόγνωση και θεραπεία(Bernard et al., 2009). Η έρευνα για τον καρκίνο του μαστού έχει οδηγήσει στην ταυτοποίηση διαφορετικών υποτύπων όγκων του μαστού. Αυτή η διάκριση είναι ανοσοϊστοχημική και βασίζεται στην έκφραση διαφορετικών παραγόντων(Sotiriou et al., 2003). Οι βασικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση των όγκων του μαστού σε υποτύπους είναι οι υποδοχείς προγεστερόνης (PR), οιστρογόνου (ER) και το μέλος της οικογένειας των υποδοχέων ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2), καθώς και ο δείκτης πολλαπλασιασμού Ki-67(Perou et al., 2000). Η διαφορετική έκφραση αυτών των δεικτών είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, από τη στιγμή που η κατηγοριοποίηση των όγκων σχετίζεται και με διαφορετική συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων, διαφορετική πρόγνωση και διαφορετική θεραπεία(Sorlie et al., 2001). Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί τέσσερις διαφορετικοί υπότυποι καρκίνου του μαστού: λοβιακό καρκίνωμα τύπου A (LuminalA), λοβιακό καρκίνωμα τύπου B (LuminalB), HER2 θετικός καρκίνος (HER2 enriched) και τριπλά αρνητικός καρκίνος (Basallike)(Yersal & Barutca, 2014).

Οι LuminalA όγκοι αποτελούν τον πιο κοινό υπότυπο και αντιπροσωπεύουν το 50–60% όλων των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού(Yersal & Barutca, 2014). Παρουσιάζουν ήπια μιτωτική δραστηριότητα και έχουν βραδεία εξέλιξη(Carey, 2010), γεγονός που οφείλεται στα χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Συγκεκριμένα, αυτού του τύπου οι όγκοι παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση PR και ER, αλλά χαρακτηρίζονται από απουσία HER2 και χαμηλή έκφραση Ki-67(J. J. Gao & Swain, 2018). Επιπρόσθετα, ασθενείς με τέτοιους όγκους συνήθιζεται να είναι φορείς ορισμένων μεταλλάξεων, με πιο χαρακτηριστική αυτή του γονιδίου PIK3CA(Koboldt et al., 2012). Ασθενείς με LuminalA όγκους έχουν καλή πρόγνωση. Οι υποτροπές είναι λιγότερο συχνές, συγκριτικά με άλλους υποτύπους, ακόμα όμως και σε τέτοιες περιπτώσεις τα ποσοστά επιβίωσης είναι αυξημένα. Η συνηθέστερη μορφή υποτροπής φαίνεται να είναι ο μεταστατικός καρκίνος των οστών(Kennecke et al., 2010). Η μορφή θεραπείας που ακολουθείται είναι ορμονοθεραπεία και βασίζεται στη στόχευση των ER και PR(Guarneri & Conte, 2009).

Οι LuminalB όγκοι αποτελούν το 15–20% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού(Yersal & Barutca, 2014). Η κύρια διαφορά με τους LuminalA όγκους είναι η αυξημένη μιτωτική τους δραστηριότητα(Creighton, 2012). Τέτοιοι όγκοι παρουσιάζουν επίσης αυξημένη έκφραση ER και PR, ωστόσο μπορεί να εκφράζουν σε αυξημένα επίπεδα HER2 ή όχι. Το κύριο γνώρισμα αυτών των όγκων είναι τα αυξημένα επίπεδα του δείκτη πολλαπλασιασμού Ki-67, όπως και άλλων γονιδίων που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων(Loi et al., 2009). Όσον αφορά το μοριακό προφίλ των

ασθενών, αρκετοί έχουν ταυτοποιηθεί ως φορείς μεταλλάξεων PIK3CA και TP53 (Koboldt et al., 2012). Η πρόγνωση αυτών των όγκων είναι κακή, εξαιτίας του επιθετικού τους φαινοτύπου. Οι ασθενείς με LuminalB όγκους συνηθίζεται να έχουν υψηλότερα ποσοστά υποτροπής και χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης (Z. Hu et al., 2006). Τέλος, ασθενείς με αυτόν τον υπότυπο καρκίνου του μαστού δεν ανταποκρίνονται στην ορμονοθεραπεία, ενώ στο επίκεντρο των κλινικών μελετών βρίσκονται αναστολείς έναντι των μορίων του μονοπατιού PIK3 (Tran & Bedard, 2011).

Οι HER2 enriched όγκοι αντιπροσωπεύουν το 15–20% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού (Yersal & Barutca, 2014). Η κακή πρόγνωση τους οφείλεται στην έκφραση των διάφορων παραγόντων. Συγκεκριμένα, οι όγκοι αυτοί χαρακτηρίζονται από απουσία έκφρασης των PR και ER, ενώ παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα HER2 και Ki-67 (Prat & Perou, 2011). Η πλειοψηφία των ασθενών με τέτοιο υπότυπο καρκίνου του μαστού είναι φορείς μεταλλάξεων της TP53 σε ποσοστό τουλάχιστον 70% (Koboldt et al., 2012). Οι θετικοί για HER2 όγκοι έχουν αυξημένο πολλαπλασιαστικό και μεταστατικό δυναμικό και έναν ιδιαίτερα επιθετικό φαινότυπο, ο οποίος οδηγεί στην κακή πρόγνωση ελλείψει θεραπείας (Gabos et al., 2006). Εντατικές δοκιμές για τη θεραπεία αυτού του καρκινικού υποτύπου έχουν φέρει στο προσκήνιο τον αποκλεισμό των HER2 συνδυαστικά με χημειοθεραπεία, με εξαιρετική βελτίωση κάποιων ασθενών, ενώ άλλοι αντιστέκονται στη θεραπεία (Schettini et al., 2020).

Οι basal-like όγκοι αντιπροσωπεύουν το 15% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού (Yersal & Barutca, 2014). Οι όγκοι αυτοί χαρακτηρίζονται ως τριπλά αρνητικοί καθώς απουσιάζουν οι υποδοχείς PR, ER και HER2 (Heitz et al., 2009). Το χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτού του καρκινικού υποτύπου είναι τα αυξημένα επίπεδα του δείκτη πολλαπλασιασμού Ki-67 και διάφορων μιτωτικών δεικτών, που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του όγκου (Yersal & Barutca, 2014). Ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού, στην πλειοψηφία τους (περίπου το 80%) είναι φορείς μετάλλαξης της TP53, ενώ παρουσιάζουν και απώλεια του ενεργού ογκοκατασταλτικού γονιδίου Rb και του γονιδίου PTEN (Koboldt et al., 2012). Επιπρόσθετα, οι όγκοι αυτοί έχουν γονιδιακή αστάθεια και απορρυθμισμένη έκφραση ιντεγκρινών (Taherian et al., 2011). Πρόκειται, συνεπώς για διηθητικούς όγκους, με ιδιαίτερα επιθετική κλινική συμπεριφορά και κακή πρόγνωση, ενώ επίσης, εμφανίζουν έντονο μεταστατικό δυναμικό και χαμηλά ποσοστά πενταετούς επιβίωσης (Heitz et al., 2009). Επισημαίνεται ότι καρκίνοι στους οποίους έχει ταυτοποιηθεί μεταλλαγμένο BRCA1 είναι συχνά τριπλά αρνητικοί (Foulkes et al., 2004).

#### 1.4 Διάγνωση

Από τη στιγμή που, ως γνωστόν, ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον πιο διαδεδομένο καρκίνο μεταξύ των γυναικών παγκοσμίως, η ανάγκη για έγκαιρη διάγνωση του είναι

επιτακτική. Τα τελευταία χρόνια οι εξελίξεις στις διαγνωστικές μεθόδους είναι ραγδαίες, γεγονός που καθιστά δυνατή την έγκαιρη διάγνωση, την παροχή κατάλληλης θεραπείας και κατά συνέπεια την αυξημένη επιβίωση (Simon & Robb, 2021). Οι διαθέσιμες μέθοδοι ελέγχου σήμερα είναι οι εξής: μαστογραφία, απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού, μοριακή απεικόνιση μαστού, βιοψία μαστού, δοκιμασία ανίχνευσης HER2 και δοκιμασία ελέγχου του αίματος (Nounou et al., 2015).

Η μαστογραφία είναι ουσιαστικά η ακτινογραφία μαστού, μία μέθοδος χαμηλής δόσης ακτίνων X, για λεπτομερή απεικόνιση μαστού (Budh & Sarga, 2022). Η απεικόνιση αυτή γίνεται σε φιλμ συμβατικά, ενώ πλέον μπορεί να γίνει και ηλεκτρονικά, δηλαδή σε οθόνη υπολογιστή (Kerlikowske et al., 2011). Αποτελεί την πιο διαδεδομένη μέθοδο προληπτικού ελέγχου και η ηλικία έναρξής της ποικίλλει ανάλογα με τον ατομικό κίνδυνο για καρκίνο του μαστού. Συγκεκριμένα, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη όλοι οι παράγοντες κινδύνου, προκειμένου να καθορίζεται εξατομικευμένα η ηλικία έναρξης ελέγχου (Samuels, 1992). Παράλληλα, πρέπει να χρησιμοποιείται κριτικά, καθώς, αν και η δόση ακτινοβολίας είναι χαμηλή, μπορεί μακροπρόθεσμα να επιφέρει βλαπτικές επιδράσεις στον οργανισμό (Autier & Boniol, 2018). Η έκθεση σε ακτινοβολία αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού, αν και οι γυναίκες που υποβάλλονται σε μαστογραφία σε ηλικία άνω των 50 ετών φαίνεται να μη διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο (Løberg et al., 2015), (National Cancer Institute, 2017).

Η απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI) αποτελεί σημαντικό απεικονιστικό εργαλείο, χάρη στην υψηλής ποιότητας ανάλυση που προσφέρει (VanGoethemetal., 2006). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην ενδοφλέβια έγχυση σκιαγραφικού παράγοντα, η δράση του οποίου σε κάποιους ασθενείς επιφέρει παρενέργειες (Mody et al., 2009). Το σημαντικό πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου ελέγχου είναι η αποφυγή εφαρμογής επιβλαβούς ακτινοβολίας. Αντί για ακτινοβολία χρησιμοποιεί ισχυρούς μαγνήτες, που παρέχουν μια ιδιαίτερα λεπτομερή απεικόνιση του μαστού (Morrow et al., 2011). Ταυτόχρονα, δεν περιορίζεται από την πυκνότητα του μαστού και ανιχνεύει με μεγάλη ευαισθησία τις περισσότερες αλλοιώσεις (Nounou et al., 2015). Η υψηλή ευαισθησία της μεθόδου επιτρέπει την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου, ακόμα και τη σταδιοποίησή του (Sinha & Sinha, 2009).

Η μοριακή απεικόνιση μαστού (MBI) αποτελεί μια μέθοδο ελέγχου, με βάση ραδιενεργό ιχνηθέτη, ειδικό για καρκινικούς ιστούς, καθώς και με ειδική γ-κάμερα, γι' αυτό αναφέρεται και ως γ-απεικόνιση ειδική για τον μαστό (Hunt, 2021). Σήμερα το MBI έχει ενσωματωθεί στην κλινική πράξη χάρη στις υψηλής ανάλυσης εικόνες που παρέχει (Rhodes et al., 2005). Η μέθοδος αυτή βρίσκει εφαρμογή τόσο στον προσυμπτωματικό έλεγχο συμπληρωματικά με τη μαστογραφία, όσο και στην αξιολόγηση της εξέλιξης του καρκίνου του μαστού (Nounou et al., 2015). Όσον αφορά τη διακριτική ικανότητα της μεθόδου, φαίνεται ότι η ευαισθησία και η ειδικότητά της εξαρτάται από το μέγεθος και όχι τον τύπο

του όγκου(O'Connor et al., 2007). Υποστηρίζεται ότι η μέθοδος εμφανίζει ευαισθησία ίδια με αυτή του MRI, ωστόσο, φαίνεται ότι διαθέτει μεγαλύτερη ειδικότητα στην ανίχνευση μικρών αλλαγών του μαστού(Narayanan et al., 2011).

Η βιοψία μαστού είναι η μόνη διαγνωστική μέθοδος που μπορεί να παρέχει οριστικά αποτελέσματα χωρίς συνδυαστική χρήση με άλλες μεθόδους ελέγχου(Bruening et al., 2010), καθώς μπορεί να υποδείξει με βεβαιότητα την ύπαρξη καρκίνου. Για τη βιοψία απαιτείται η λήψη ιστού από τον πάσχοντα μαστό(M. L. Palmer & Tsangaris, 1993). Υπάρχουν δύο βασικά είδη βιοψίας, η χειρουργική βιοψία και η βιοψία βελόνας. Η επιλογή του είδους που θα ακολουθηθεί εξαρτάται είτε από την ύποπτη για καρκίνο περιοχή του μαστού, είτε από το μέγεθος του ύποπτου όγκου(L. J. Taylor et al., 2022). Και τα δύο είδη βιοψίας παρουσιάζουν πολύ σημαντική ευαισθησία, ωστόσο οι βιοψίες που πραγματοποιούνται με τη χρήση βελόνας προκαλούν παρενέργειες σε πολύ μικρότερο ποσοστό(Velanovich et al., 1999). Οι παρενέργειες αυτές περιλαμβάνουν την εμφάνιση μωλώπων, αιμορραγίας ή/και κάποιας λοίμωξης, ωστόσο είναι σπάνια η πρόκληση σοβαρού προβλήματος(L. J. Taylor et al., 2022). Το αποτέλεσμα μιας βιοψίας είναι ο χαρακτηρισμός του ύποπτου για καρκίνου σημείου ως καλόηθες ή κακόηθες, ανάλογα με την απουσία ή την παρουσία καρκινικού ιστού αντίστοιχα(Lein et al., 1996).

Η δοκιμασία ανίχνευσης του υποδοχέα HER2 είναι πολύ σημαντική, επειδή ο ρόλος του HER2 στον καρκίνο του μαστού είναι καίριος(Krishnamurti & Silverman, 2014). Υπάρχουν δύο μέθοδοι ανίχνευσης του HER2: η ανοσοϊστοχημεία και ο υβριδισμός φθορισμού insitu (FISH)(Cuadros & Villegas, 2009). Η ανίχνευση HER2 με ανοσοϊστοχημεία βασίζεται στην ανίχνευση τυχόν υπερέκφρασης της πρωτεΐνης του υποδοχέα με τη χρήση αντισώματος(Md Pauzi et al., 2021). Το αποτέλεσμα της ανοσοϊστοχημείας μπορεί να είναι είτε αρνητικό για την ύπαρξη καρκίνου, είτε θετικό, είτε αμφίβολο και τα όρια μεταξύ αυτής της διάκρισης είναι αυστηρά καθορισμένα με κατευθυντήριες γραμμές. Ως θετικά χαρακτηρίζονται τα αποτελέσματα 3+, ως αρνητικά τα 0/1+ και τα 2+ ως αμφίβολα(Gown et al., 2008). Η τεχνική FISH βασίζεται στον εντοπισμό συγκεκριμένης χρωμοσωμικής περιοχής ή χρωμοσώματος με υβριδισμό κατάλληλου ανιχνευτή, σημασμένου με φθορίζουσα χρωστική(Marchiò et al., 2009). Συνήθως η ανοσοϊστοχημεία αποτελεί την πρωταρχική εξέταση, και συμπληρωματικά εφαρμόζεται η εξέταση FISH(Hilal & Romond, 2016). Το αποτέλεσμα της FISH σε περίπτωση ύπαρξης καρκίνου είναι η ανίχνευση χρωμοσωμικού υλικού, το οποίο αποτυπώνεται στη λήψη φθορίζοντος σήματος(Stoss et al., 2015). Επειδή, όμως, παρατηρείται ασυμφωνία μεταξύ των δύο αυτών τεχνικών, δυσχεραίνεται η ευρεία εφαρμογή της δοκιμασίας ανίχνευσης HER2(Agersborg et al., 2018). Επισημαίνεται ότι η δοκιμασία αυτή καθορίζει εάν ένας ασθενής με καρκίνο του μαστού θα ακολουθήσει θεραπεία για HER2 enriched όγκους(Hilal & Romond, 2016). Ωστόσο για τη σαφή ταξινόμησή τους, οι ασθενείς θα πρέπει να

ελέγχονται με εναλλακτικούς ανιχνευτές, κατάλληλους για τις στοχεύουσες περιοχές του HER2(Yaziji et al., 2004).

Η δοκιμασία ελέγχου του αίματος βασίζεται στην αναζήτηση βιοδεικτών, δηλαδή μορίων, οι αυξομειώσεις της έκφρασης των οποίων έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο του μαστού(Nounou et al., 2015). Οι βιοδείκτες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στην ανίχνευση, όσο και στην πρόγνωση, στον έλεγχο της εξέλιξης και στον σχεδιασμό της κατάλληλης θεραπείας του καρκίνου του μαστού(Barzaman et al., 2020a). Υπάρχουν ήδη κάποιοι χαρακτηρισμένοι βιοδείκτες για αυτόν τον τύπο καρκίνου, όπως είναι οι δείκτες που χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση των καρκινικών υποτύπων (PR, ER, HER2, Ki-6), αλλά και άλλα μόρια(Colomeretal., 2018), π.χ. το CEA, τα CA15-3 και CA27.29(Duffy, 2006). Το CEA, γνωστό ως καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο, είναι γλυκοπρωτεΐνη, η έκφραση της οποίας σχετίζεται, μεταξύ άλλων, και με τον καρκίνο του μαστού(Nicolini et al., 2006). Όσον αφορά τα CA15-3 και CA27.29, οι βιοδείκτες αυτοί αποτελούν διαφορετικούς επιτόπους μίας γλυκοπρωτεΐνης και φαίνεται να παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση στο αίμα ασθενών με καρκίνο του μαστού(Klee & Schreiber, 2004). Ο CA27.29 βιοδείκτης έχει αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα σε σχέση με τον CA15-3, ενώ φαίνεται να είναι και οι δύο περισσότερο αξιόπιστοι σε μεταστατικές καταστάσεις(Lin & Genzen, 2018).

Η έρευνα για τον χαρακτηρισμό νέων βιοδεικτών με αυξημένη ειδικότητα και ευαισθησία για τον καρκίνο του μαστού είναι συνεχής και αδιάλειπτη, με διάφορους δείκτες να βρίσκονται σήμερα υπό διερεύνηση, όπως το επιγενετικά τροποποιημένο DNA, διάφορα microRNAs, καρκινικά κύτταρα και αυτοαντισώματα(Barzaman et al., 2020b),(Seale & Tkaczuk, 2022). Όσον αφορά τις επιγενετικές τροποποιήσεις, μελέτες δείχνουν, ότι η διαφορική μεθυλίωση του ccfDNA (circulating cell free DNA), κυρίως σε υποκινητές γονιδίων, σχετίζεται με τον καρκίνο του μαστού και μπορεί να αποτελέσει σημαντικό εργαλείο σε διαγνωστικό, προγνωστικό και θεραπευτικό επίπεδο(Szyf et al., 2004),(Radpour et al., 2011). Στην περίπτωση του miRNA, υπάρχουν miRNAs που παρουσιάζουν διαφορετικά επίπεδα έκφρασης σε υγιείς και καρκινοπαθείς του μαστού, συνεπώς εξετάζεται η χρησιμότητά τους ως βιοδεικτών(Jafari et al., 2018). Τα καρκινικά κύτταρα, και συγκεκριμένα τα κυκλοφορούντα, αποτελούν ανερχόμενους βιοδείκτες κυρίως για τον έλεγχο της εξέλιξης της νόσου ή/και της θεραπείας, χάρη στην δυνατότητα ανίχνευσής τους στο αίμα των ασθενών(Lianidou&Markou, 2011),(Goodman et al., 2018). Τέλος, ιδιαίτερα σημαντικοί βιοδείκτες θα μπορούσαν να αποτελέσουν τα αυτοαντισώματα, καθώς η ανίχνευσή τους δίνει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη νόσο και μάλιστα σε πρώιμο στάδιο(Pedersen & Wandall, 2011).

## 1.5 Θεραπεία

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί για τις γυναίκες την πρώτη αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως, κάτι που καθιστά επιτακτική την εύρεση κατάλληλης θεραπείας. Οι υπάρχουσες θεραπείες δεν ενδείκνυνται για όλες/όλους τους/τις ασθενείς με καρκίνο του μαστού, ενώ εμφανίζουν και παρενέργειες που επιβαρύνουν την επιβίωση. Πολυάριθμες κλινικές μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη σχετικά με την ανάδειξη νέων θεραπευτικών στόχων ή μεθόδων, με ιδιαίτερα ελπιδοφόρα πρώτα αποτελέσματα. Σήμερα χρησιμοποιούνται ευρέως οι εξής τύποι τυπικής θεραπείας: η χειρουργική θεραπεία, η ακτινοθεραπεία, η χημειοθεραπεία, η ορμονοθεραπεία, οι στοχεύουσες θεραπείες και η ανοσοθεραπεία καρκίνου(Waks & Winer, 2019). Η επιλογή της κατάλληλης ανάμεσά τους ή ενός συνδυασμού θεραπειών γίνεται εξατομικευμένα και καθορίζεται από πολλούς παράγοντες, όπως ο τύπος καρκίνου του μαστού, καθώς και το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό(Burguin et al., 2021).

Η χειρουργική θεραπεία επιλέγεται πολύ συχνά και περιλαμβάνει δύο είδη: τη χειρουργική επέμβαση διατήρησης μαστού και τη μαστεκτομή(Hofvind et al., 2015). Στην πρώτη περίπτωση γίνεται τοπικά η αφαίρεση του καρκίνου και κάποιου περιβάλλοντα φυσιολογικού ιστού, χωρίς ολική αφαίρεση μαστού(Mansell et al., 2017). Στη δεύτερη περίπτωση γίνεται ολική αφαίρεση του πάσχοντα μαστού. Τα πλεονεκτήματα της χειρουργικής επέμβασης είναι η αποτελεσματική αφαίρεση του όγκου, ο οποίος χωρίς κατάλληλη θεραπεία μπορεί να είναι ακόμα και θανατηφόρος(Donker et al., 2014). Πριν από την επέμβαση, συχνά εφαρμόζονται άλλες μορφές θεραπείας, όπως είναι η ακτινοθεραπεία(Katz et al., 2005). Πρόκειται για μια προεγχειρητική ή νεοεπιχειρητική, όπως ονομάζεται, θεραπεία, η οποία χορηγείται με σκοπό τη μείωση του όγκου, και κατά συνέπεια την αφαίρεση μικρότερου τμήματος του μαστού κατά τη χειρουργική επέμβαση. Μετά τη χειρουργική θεραπεία, ακολουθούν μετεγχειρητικά θεραπευτικά σχήματα, τα οποία αποσκοπούν στη μείωση του κινδύνου επανεμφάνισης καρκίνου του μαστού(Coles et al., 2017). Όπως κάθε θεραπευτική μέθοδος, έτσι και η χειρουργική θεραπεία συνδέεται με πιθανές επιπλοκές. Οι πιθανές επιπλοκές της χειρουργικής επέμβασης περιλαμβάνουν τη μόλυνση του τραύματος, την εμφάνιση αιματωμάτων ή θρόμβων στο αίμα, κτλ(Lovelace et al., 2019). Τα οφέλη μιας επιτυχημένης χειρουργικής θεραπείας, δηλαδή η απαλλαγή από τον καρκίνο του μαστού, σαφώς είναι πολλά και σημαντικά, αν και περιορίζονται σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο, στους οποίους είναι τεχνικά εφικτή η αφαίρεση του προσβεβλημένου ιστού(Tosello et al., 2018).

Η ακτινοθεραπεία αποτελεί διαδεδομένη μέθοδο θεραπείας, όχι μόνο για τον καρκίνο του μαστού, αλλά και για διάφορα άλλα είδη(You & Wang, 2022). Πρόκειται για την εφαρμογή ακτίνων X, με σκοπό την καταστολή της ανάπτυξης ή/και τη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων(Schootman et al., 2007). Η ακτινοθεραπεία εφαρμόζεται είτε εξωτερικά, είτε εσωτερικά ανάλογα με τον τύπο και το στάδιο του καρκίνου(Hennequin et al., 2022). Η εξωτερική ακτινοθεραπεία αφορά την εφαρμογή ακτινοβολίας στον



προσβεβλημένο μαστό με τη χρήση ενός μηχανήματος. Αυτή η μορφή ακτινοθεραπείας αφορά τον καρκίνο που περιορίζεται στον μαστό (Giugliano et al., 2017). Η εσωτερική ακτινοθεραπεία αφορά την εισαγωγή απευθείας στον προσβεβλημένο μαστό ραδιενεργής ουσίας, η οποία απελευθερώνει ακτινοβολία, σκοτώνοντας τα καρκινικά κύτταρα γύρω της. Αυτού του τύπου η ακτινοθεραπεία είναι κατάλληλη και για τους καρκίνους που τείνουν να γίνουν μεταστατικοί με εξάπλωση στα οστά (J. R. Harris, 2005). Παρά την αποτελεσματικότητα της ακτινοθεραπείας έναντι των καρκινικών κυττάρων, υπάρχουν σημαντικές παρενέργειες (Janssen et al., 2018). Η εφαρμογή ακτινοβολίας εξωτερικά οδηγεί σε δερματικά προβλήματα, σε αλλαγή του μεγέθους και του σχήματος του μαστού, και ενδεχομένως σε αδυναμία θηλασμού καθώς και σε περιορισμένες επιλογές αποκατάστασης (Mohan et al., 2019). Η ακτινοβολία που εφαρμόζεται μέσω εισαγωγής ραδιενεργής ουσίας έχει συνήθως λιγότερες παρενέργειες, κάποιες από τις οποίες είναι μώλωπες και πόνος στο στήθος, πιθανή μόλυνση, ή/και αδυναμία (K. Wang & Tepper, 2021).

Η χημειοθεραπεία βασίζεται στη χρήση φαρμάκων ως αναστολέων της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων (Schneider-Kolsky et al., 2010). Αποτελεί συστηματική θεραπεία και χρησιμοποιείται συχνά συνδυαστικά με άλλες θεραπευτικές μεθόδους έναντι του καρκίνου, κυρίως με τη χειρουργική επέμβαση, την ακτινοβολία και την ορμονοθεραπεία (Huober & Thürlimann, 2009). Τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος και επιτίθενται στα καρκινικά κύτταρα (Ramrogu et al., 2019). Έτσι, επιτυγχάνεται σημαντική μείωση του αριθμού των καρκινικών κυττάρων, με αποτέλεσμα τη συρρίκνωση του μεγέθους και τη μείωση της πιθανότητας εξάπλωσης του όγκου (Abotaleb et al., 2018). Το βασικό μειονέκτημα των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων είναι ότι είναι σχεδιασμένα για τη στόχευση των διαιρούμενων κυττάρων. Επομένως, η δράση τους δεν είναι εξειδικευμένη μόνο έναντι των καρκινικών κυττάρων, αλλά απειλεί και τα υγιή κύτταρα του οργανισμού (Hassan et al., 2010). Επιπλέον έχουν αρκετές παρενέργειες, με βασικότερες την αιμορραγία, τις πληγές στο σώμα, την απώλεια βάρους, τον έντονο πόνο, τις δερματικές αλλαγές, την τριχόπτωση, ενώ μακροπρόθεσμα μπορεί να οδηγήσουν σε προβλήματα στην καρδιά, στους νεφρούς, στους πνεύμονες και στα αναπαραγωγικά όργανα (Hauner et al., 2017).

Η ορμονοθεραπεία επιλέγεται έναντι συγκεκριμένων υποτύπων καρκίνου του μαστού (Drăgănescu & Ciarnocan, 2017). Πρόκειται για μέθοδο θεραπείας που επιβραδύνει ή εμποδίζει τη δράση ορμονών, με σκοπό την αναστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων (Abdulkareem & Zurmi, 2012). Επομένως, είναι κατάλληλη για καρκινικούς υποτύπους που χαρακτηρίζονται από αυξημένη έκφραση ορμονών, ενώ οι μη ορμονοευαίσθητοι ασθενείς δεν ανταποκρίνονται σε αυτή τη μορφή θεραπείας (Civellari et al., 2010). Έχει φανεί ότι σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού με αυξημένη έκφραση υποδοχέων, η εφαρμογή ορμονοθεραπείας τουλάχιστον 5 ετών εξασφαλίζει σημαντική

μείωση του κινδύνου υποτροπής(Abe et al., 2005). Υπάρχουν διαφορετικοί τύποι ορμονοθεραπείας, ανάλογα με τον αποκλεισμό των οδών παραγωγής των αντίστοιχων ορμονών. Για παράδειγμα, ο αποκλεισμός λειτουργίας της ορμόνης που απελευθερώνει την ωχρινοτρόπο ορμόνη στις ωοθήκες αποτελεί συνήθη μέθοδο θεραπείας έναντι του καρκίνου του μαστού(Goel et al., 2009). Άλλος τύπος ορμονοθεραπείας στοχεύει στον αποκλεισμό παραγωγής οιστρογόνων, μέσω αναστολέων ενός ενζύμου που συμβάλλει στην παραγωγή τους, της αρωματάσης(Dowsett et al., 2010). Τέτοιου είδους θεραπεία χορηγείται είτε βοηθητικά σε πρώιμο στάδιο, είτε σε ασθενείς προχωρημένου, ακόμα και μεταστατικού σταδίου, ή προεγχειρητικά ως νεοεπιχειρητική θεραπεία(Brueggemeier et al., 2005). Επισημαίνεται, τέλος, ότι γενικά η ορμονοθεραπεία μπορεί να χορηγηθεί και προληπτικά σε γυναίκες με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ορμονοεξαρτώμενου καρκίνου του μαστού(Yung & Davidson, 2021).

Οι στοχεύουσες θεραπείες έναντι του καρκίνου του μαστού βασίζονται στη στόχευση μόνο των καρκινικών κυττάρων, με την πρόκληση όσο το δυνατό μικρότερης βλάβης στα υγιή κύτταρα του ασθενούς(Higgins & Baselga, 2011). Οι πιο διαδεδομένες ουσίες που χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό και την επίθεση αποκλειστικά σε καρκινικά κύτταρα του μαστού είναι οι αναστολείς κινασών τυροσίνης και κυκλοεξαρτώμενων κινασών, οι αναστολείς mTOR και οι αναστολείς PARP. Οι αναστολείς κινασών τυροσίνης είτε κυκλοεξαρτώμενων κινασών δρουν ως θεραπευτικά μόρια που μπλοκάρουν τα σήματα για την ανάπτυξη των κυττάρων του όγκου(Agrawal et al., 2005). Συχνά χρησιμοποιούνται συνδυαστικά με άλλα αντικαρκινικά φάρμακα(X. Yang et al., 2020). Οι αναστολείς του μονοπατιού mTOR όχι μόνο εμποδίζουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων αλλά και την αγγειογένεση των κυττάρων του όγκου(Higgins & Baselga, 2011). Η θεραπεία αυτή είναι αποτελεσματική για τον θετικό για HER2 υποτύπο καρκίνου του μαστού(Holloway & Maignani, 2021). Τέλος, οι αναστολείς PARP εμποδίζουν την επιδιόρθωση του DNA των καρκινικών κυττάρων με αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξής τους(Slade, 2020). Αποτελεσματικότερη δράση των αναστολέων PARP φαίνεται να επιτυγχάνεται με τη συνδυαστική χρήση χημειοθεραπευτικών πλατίνας(Kawachi et al., 2020).

Τέλος, η ανοσοθεραπεία καρκίνου καταπολεμά τη νόσο μέσω του ανοσοποιητικού συστήματος του ίδιου του ασθενούς(Wright, 2012). Βασίζεται στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, το οποίο ανιχνεύει και καταστρέφει τα καρκινικά κύτταρα, με αποτέλεσμα τον περιορισμό της ανάπτυξής τους(García-Aranda & Redondo, 2019). Υπάρχουν διάφοροι τύποι ανοσοθεραπείας καρκίνου του μαστού. Οι αναστολείς μορίων που συμμετέχουν στον ανοσολογικό έλεγχο αποκλείουν τον περιορισμό της δράσης του ανοσοποιητικού συστήματος, το οποίο, επομένως, δρα επιθετικότερα έναντι των κυττάρων του όγκου(Azouiry et al., 2015). Η μεταφορά T-κυττάρων στον όγκο αποτελεί επίσης μια αποτελεσματική θεραπεία έναντι του καρκίνου του μαστού(Y. H. Yang et al., 2022). Τα T-

κύτταρα του ανοσοποιητικού λαμβάνονται από τον ασθενή και εγχύονται ξανά σε αυτόν, αφού τροποποιηθούν γενετικά(Bajgainetal., 2018). Τέλος, ένας άλλος τύπος ανοσοθεραπείας περιλαμβάνει χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων σε ασθενείς(Bernard-Martuyetal., 2006). Τα αντισώματα αυτά χορηγούνται είτε αυτόνομα είτε ως μεταφορείς αντικαρκινικών φαρμάκων ή τοξικών ουσιών και δρουν αποκλειστικά και στοχευμένα έναντι των κυττάρων του όγκου(Mohit et al., 2014).

Οι τρέχουσες θεραπευτικές επιλογές για τον καρκίνο του μαστού φαίνεται να είναι ολοένα και πιο στοχευμένες, αποτελεσματικές και με λιγότερες παρενέργειες για τον ασθενή. Η επιλογή της κατάλληλης θεραπείας ή ενός κατάλληλου συνδυαστικού θεραπευτικού σχήματος υπάρχει πλέον για κάθε καρκινικό υποτύπο του μαστού. Η ανταπόκριση των ασθενών στις υπάρχουσες θεραπείες δεν είναι δεδομένη και εξαρτάται από μία σειρά παραγόντων, όπως είναι το γενετικό υπόβαθρο, το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό, κτλ. Η καθιέρωση εξατομικευμένων θεραπειών αποτελεί τον ύψιστο στόχο της κλινικής έρευνας και των τρεχουσών μελετών.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### Μη κωδικά μόρια RNA (ncRNAs)

---

#### 2.1 Είδη RNA

Το ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA) είναι ένα μόριο που υπάρχει στην πλειονότητα των ζωντανών οργανισμών και των ιών. Αποτελείται από νουκλεοτίδια, τα οποία είναι σάκχαρα ριβόζης συνδεδεμένα με αζωτούχες βάσεις και φωσφορικές ομάδες. Οι αζωτούχες βάσεις περιλαμβάνουν την αδερίνη, τη γουανίνη, την ουρακίλη και την κυτοσίνη (D. Wang & Farhana, 2022). Το RNA υπάρχει κυρίως σε μονόκλωνη μορφή, αλλά υπάρχουν και RNA ιοί που έχουν ως γενετικό υλικό δίκλωνο RNA. Το μόριο RNA μπορεί να έχει ποικίλα μήκη και δομές. Τα μέσα σύνθεσης του RNA και ο τρόπος λειτουργίας του διαφέρουν μεταξύ των ευκαρυωτών και των προκαρυωτών (Dinger et al., 2011). Επίσης, συγκεκριμένα μόρια RNA ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση και έχουν τη δυνατότητα να χρησιμεύσουν ως θεραπευτικοί παράγοντες σε ανθρώπινες ασθένειες (Rizvi & Smith, 2017).

Τα RNA μόρια χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, αυτά που μεταφράζονται σε πρωτεΐνη και εκείνα που δεν μεταφράζονται. Τα μεταφραζόμενα σε πρωτεΐνες RNA καλούνται κωδικά (J. Li & Liu, 2019). Το μοναδικό είδος RNA που μεταφράζεται σε πρωτεΐνη είναι το mRNA, το οποίο ονομάζεται αγγελιοφόρο RNA. Η δεύτερη κατηγορία RNA περιλαμβάνει αυτά που δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνη, τα οποία ονομάζονται μη κωδικά μόρια RNA και περιλαμβάνουν δύο υποκατηγορίες, κάθε μία από τις οποίες απαρτίζεται από διαφορετικά μόρια (Dinger et al., 2008). Στην πρώτη υπάρχουν τα ενδογενή μη κωδικά RNA, τα οποία περιλαμβάνουν το μεταφορικό (tRNA) και το ριβοσωμικό (rRNA) RNA. Στη δεύτερη υποκατηγορία υπάρχουν τα ρυθμιστικά μη κωδικά RNA, τα οποία διακρίνονται σε μικρά και μεγάλα (lncRNAs) μόρια (J. X. Yang et al., 2016). Τα μικρά περιλαμβάνουν τα εξής μόρια: μικρό πυρηνικό RNA (snRNA & snoRNA), μικρό παρεμβαλλόμενο RNA (siRNA), μικρό μη κωδικό – μήκους 19–22 νουκλεοτιδίων – RNA (miRNA), κατά συνθήκη RNA (scRNA) και Piwi αλληλεπιδρών RNA (piRNA) (Choudhuri, 2010).

Τα διαφορετικά είδη RNA συμμετέχουν σε βασικές λειτουργίες με διαφορετικό τρόπο. Πέρα από τον πρωταρχικό ρόλο στην πρωτεϊνοσύνθεση, εμπλέκονται στη μεταμεταγραφική τροποποίηση, στην αντιγραφή του DNA, στην γονιδιακή ρύθμιση και σε άλλες σημαντικές διαδικασίες. Παρακάτω περιγράφονται με συντομία τα διαφορετικά είδη RNA που αναφέρθηκαν και οι βασικές τους λειτουργίες.

#### *mRNA*

Το αγγελιοφόρο RNA αντιπροσωπεύει μόλις το 5% του συνολικού RNA στο κύτταρο. Είναι μονόκλωνο μόριο και παρουσιάζει μεγάλη ετερογένεια στην αλληλουχία και στο μήκος

του(VanLintetal., 2013). Το mRNA παράγεται από ένα πρότυπο DNA κατά τη διαδικασία της μεταγραφής και ο βασικός του ρόλος είναι η μεταφορά της γενετικής πληροφορίας από το DNA του πυρήνα στο κυτταρόπλασμα, με τη μορφή αμινοξέων πρωτεΐνης, μέσω της διαδικασίας της μετάφρασης(Kloc et al., 2011). Τα προκαρυωτικά mRNA περιέχουν ένα ακριβές μεταγραφικό αντίγραφο της αρχικής DNA αλληλουχίας με μία 5' τριφωσφορική ομάδα και ένα 3' υδροξυλικό κατάλοιπο(Waters & Storz, 2009). Τα ευκαρυωτικά mRNA είναι πιο περίπλοκα μόρια. Τα άκρα τους φέρουν διαφορετικές δομές, την 5' καλύπτρα και την 3' πολύ(A) ουρά, οι οποίες προστίθενται στο mRNA μέσω μετα-μεταγραφικών τροποποιήσεων(Bartee et al., n.d.). Τα mRNA αποικοδομούνται, ενώ ο χρόνος ημίσειας ζωής τους ποικίλλει ανάλογα με την αλληλουχία και με το μέγεθός τους(D. Wang & Farhana, 2022).

#### *tRNA*

Το μεταφορικό RNA είναι μόριο με καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης, καθώς μεταφέρει τα αμινοξέα που απαιτούνται για τη δημιουργία της πρωτεϊνικής αλυσίδας(Barciszewska et al., 2016). Τα tRNA είναι μονόκλιωνα μόρια, μήκους 70–90 νουκλεοτιδίων, και δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες(Fernández-Millán et al., 2016). Η δομή των tRNA περιλαμβάνει 4 χαρακτηριστικές περιοχές: δύο περιοχές αζευγάρωτων νουκλεοτιδίων στα δύο άκρα της δομής, την περιοχή του αντικωδικονίου (της τριπλέτας νουκλεοτιδίων που είναι απαραίτητη για το ζευγάρωμα με τα νουκλεοτίδια του συμπληρωματικού κωδικονίου ενός mRNA) και μία μονόκλιωνα περιοχή στο 3' άκρο για την ειδική πρόσδεση του αμινοξέος που αντιστοιχεί στο συγκεκριμένο κωδικόνιο(Giegé et al., 2012).

#### *rRNA*

Το ριβοσωμικό RNA είναι δομική μονάδα των ριβοσωμάτων και αποτελεί το 80% του συνολικού RNA του κυττάρου(Noller et al., 1995). Τα rRNA σχηματίζουν το ριβόσωμα συμμετέχοντας σε σύμπλοκα με πρωτεΐνες. Τα ριβοσώματα απαρτίζονται από μικρά και μεγάλα rRNA, τα οποία δημιουργούν αντίστοιχα τη μικρή και τη μεγάλη υπομονάδα τους(Ramakrishnan, 2002). Τα rRNAs είναι ζωτικής σημασίας για την πρωτεϊνοσύνθεση, καθώς συμβάλλουν στην πρόσδεση του ριβοσώματος στο mRNA, στην πρόσληψη του tRNA από το ριβόσωμα και στην κατάλυση του πεπτιδικού δεσμού μεταξύ των αμινοξέων της πρωτεΐνης(D. Wang & Farhana, 2022).

#### *snRNAs*

Τα μικρά πυρηνικά RNAs (snRNAs) είναι κρίσιμα συστατικά του σωματίου που προάγει το μάτισμα και καταλύει την ωρίμανση του προ-mRNA σε ώριμο mRNA(J. Chen & Wagner,

2010). Τα snRNAs αλληλεπιδρούν το καθένα με πολλές πρωτεΐνες για να σχηματίσουν σύμπλοκα RNA-πρωτεΐνης, που ονομάζονται μικρά πυρηνικά ριβονουκλεο-πρωτεϊνικά σωματίδια (snRNPs) και εντοπίζονται στον πυρήνα του κυττάρου (Valadkhan & Gunawardane, 2013). Η αναγνώριση επιτυγχάνεται κυρίως με αλληλεπιδράσεις σύζευξης βάσεων (ή επαφής νουκλεοτιδίων-νουκλεοτιδίων) μεταξύ των snRNAs και του προ-mRNA. Ειδικότερα, τα snRNAs τροποποιούνται εκτενώς με διάφορες RNA τροποποιήσεις, οι οποίες προσδίδουν χαρακτηριστικές ιδιότητες στα RNAs (D. Wang & Farhana, 2022).

#### *snoRNAs*

Τα snoRNAs λειτουργούν εντός του πυρήνα, και στοχεύουν σε μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις στο rRNA. Φαίνεται πως συμμετέχουν επίσης στη δημιουργία των ριβοσωμικών ριβονουκλεοπρωτεϊνικών συμπλόκων (RNPs) (Bachellerie et al., 1995). Ωστόσο, υπάρχει μια λειτουργική ποικιλομορφία μεταξύ αυτών των μορίων, αφού η δράση τους εκτείνεται πολύ πέρα από τον πυρήνα, ακόμη και στο κυτταρόπλασμα (Ni et al., 1997). Επιπλέον, η δράση των snoRNA έχει συσχετιστεί με την εξέλιξη και τη μετάσταση των όγκων, ενώ αποτελούν και σημαντικούς ρυθμιστές του ανοσοποιητικού συστήματος. Η βασική διαφορά μεταξύ snRNA και snoRNA έγκειται στο γεγονός ότι το πρώτο συμμετέχει στο μάτισμα των μορίων προ-mRNA για τον καθορισμό της αλληλουχίας που πρέπει να μεταφραστεί σε πρωτεΐνες, ενώ το δεύτερο συμμετέχει στην τροποποίηση και επεξεργασία του tRNA, του rRNA και του mRNA και στογονιδιακό εντύπωμα (Dieci et al., 2009).

#### *piRNA*

Τα piRNAs είναι μικρά μόρια RNA μήκους 24–31 νουκλεοτιδίων. Είναι συντηρημένα μόρια που βρίσκονται σε όλο το εύρος του γονιδιώματος (Iwasaki et al., 2015). Τα μόρια αυτά αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες Piwi, σχηματίζοντας ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα (Ozata et al., 2019). Τα piRNAs στον άνθρωπο εντοπίζονται μόνο στις γονάδες. Βασική τους λειτουργία είναι η καταστολή της δραστηριότητας των τρανσποζονίων. Ο ρόλος τους φαίνεται ότι αφορά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και τη σπερματογένεση (Litwack, 2018).

#### *miRNA*

Τα microRNAs (miRNAs) είναι μικρά, μη κωδικοποιητικά RNAs, εξαιρετικά συντηρημένα που αποτελούνται από 18–24 νουκλεοτιδία (Lu & Rothenberg, 2018). Τα miRNAs εμπλέκονται στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης (Yao et al., 2019). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τα miRNAs μεταγράφονται από τις RNA πολυμεράσες II και III και δημιουργούν πρόδρομες δομές, οι οποίες, έπειτα από μία σειρά τροποποιήσεων, σχηματίζουν τα ώριμα μόρια miRNA (Cullen, 2004). Στις περισσότερες περιπτώσεις, τα miRNAs αλληλεπιδρούν με την 3' αμετάφραστη περιοχή (3' UTR) των mRNA στόχων και επάγουν

την μεταγραφική τους καταστολή ή/και την αποικοδόμησή τους(Afonso-Grunz & Müller, 2015). Επιπλέον, επειδή είναι εκκρινόμενα μόρια που μέσω κυστιδίων μεταφέρονται σε κύτταρα στόχους, καθίστανται σημαντικά τόσο σε διαγνωστικό όσο και σε θεραπευτικό επίπεδο(Yao et al., 2019).

### *siRNA*

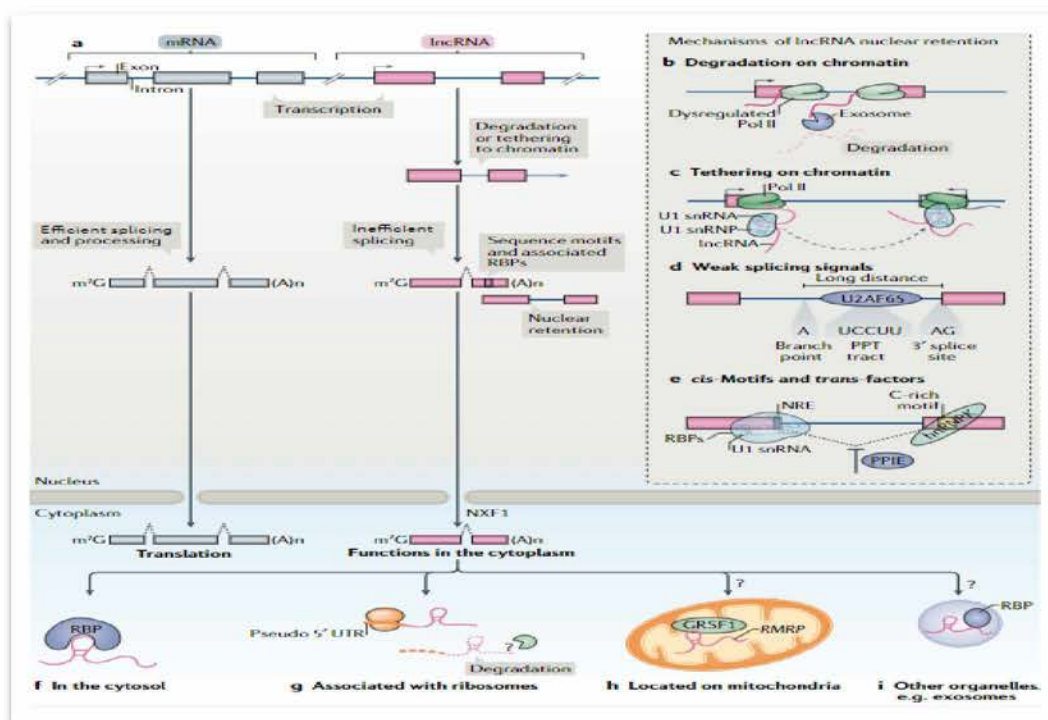
Το siRNA είναι ένα δίκλωνο μόριο RNA που δεν κωδικοποιεί κάποια πρωτεΐνη. Είναι επίσης γνωστό ως RNA αποσιώπησης και ως βραχύ παρεμβαλλόμενο RNA. Το μόριο αυτό παρουσιάζει ομοιότητες με το microRNA (miRNA) και η δομή του είναι σύντομη και σαφώς καθορισμένη, συνήθως μεταξύ 20 και 24 ζευγών βάσεων(Jaglaetal., 2005). Τα siRNAsείναι σε θέση να ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση μέσω του φαινομένου της RNAπαραεμβολής (interference). Οποιοδήποτε γονίδιο μπορεί να αποσιωπηθεί από ένα συνθετικό siRNA με συμπληρωματική αλληλουχία(B. Hu et al., 2020). Πρόκειται για ένα ισχυρό εργαλείο όσον αφορά τη στόχευση φαρμάκων και την ανάπτυξη θεραπευτικών ουσιών,καθώς χρησιμοποιείται για τη διαμόρφωση της γονιδιακής έκφρασης μέσω μεταγραφικής ή μεταφραστικής καταστολής(Alshaer et al., 2021).

### *lncRNAs*

Τα μακρά μη κωδικά μόρια RNA είναι μετάγραφα, τα οποία αποτελούνται από περισσότερα από 200 νουκλεοτίδια και δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες(Blythe et al., 2016). Τα μόρια αυτά δεν είναι ευρέως συντηρημένα και η εξέλιξή τους είναι σημαντική. Τα γονιδιά τους φέρουν λιγότερα εξόνια και παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης(M. Chen et al., 2015). Συμμετέχουν στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης σε επιγενετικό, μεταγραφικό, μεταφραστικό, μετα-μεταγραφικό και μετα-μεταφραστικό επίπεδο, με κείμερο ρόλο σε βιολογικές διεργασίες(Statello et al., 2021). Έχουν ταυτοποιηθεί διαφορετικά είδη lncRNAs, κυρίως με βάση τη γονιδιωματική τους προέλευση: το *intronic* lncRNA, το οποίο παράγεται από το ιντρόνιο ενός γονιδίου χωρίς να συμπεριλαμβάνεται κάποιο εξόνιο, το *intergenic* lncRNA, το οποίο προέρχεται από περιοχές μεταξύ γονιδίων, το *divergent* lncRNA, το οποίο προκύπτει από μεταγραφική αντίθετη κατεύθυνση σε σχέση με τον υποκινητή του γονιδίου, το *enhancer* lncRNA, το οποίο προέρχεται από περιοχές μεταξύ ενισχυτών γονιδίων, το *sense* lncRNA, το οποίο παράγεται από την αλυσίδα γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνη, επικαλύπτοντας είτε μέρος είτε ολόκληρη την αλληλουχία του γονιδίου αυτούκαι το *antisense* lncRNAs, το οποίο κωδικοποιείται από το 3' άκρο ενός γονιδίου και σε αντίθετη κατεύθυνση με αυτό, συμπεριλαμβανομένου τουλάχιστον ενός εξονίου(L. Ma et al., 2013),(Jarroux et al., 2017),(Dahariya et al., 2019a).

## **2.2 Βιογένεση των lncRNAs**

Η βιογένεση των lncRNAs παρουσιάζει ομοιότητες με αυτή των mRNAs. Τα περισσότερα είδη lncRNA μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II. Αυτό συμβαίνει επειδή τα περισσότερα φέρουν στο 5' άκρο κάλυπτρα και στο 3' άκρο μια πολυ(A) ουρά, ενώ ακολουθούν επιπλέον και τη διαδικασία του ματίσματος (Dahariya et al., 2019b). Τα χαρακτηριστικά αυτά τους προσδίδουν την ιδιότητα να μεταγράφονται σαν τα κωδικοποιά mRNAs (Q. Xu et al., 2017). Στη μεταγραφή των γονιδίων των lncRNAs συμμετέχουν εκκινητές, υποκινητές και άλλες δομές που καθορίζουν τη μεταγραφή των ευκαρυωτικών γονιδιωμάτων. Ωστόσο, παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στη μεταγραφή και στην μεταμεταγραφική επεξεργασία των lncRNAs (Quinn & Chang, 2016).



Εικόνα 4: Η βιογένεση των μακρών μη κωδικών μορίων RNA (Statello et al., 2012b).

Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη βιογένεση των lncRNAs είναι ειδικοί για τον κυτταρικό τύπο και ελέγχονται από ερεθίσματα που αφορούν συγκεκριμένα στάδια (Nojima & Proudfoot, 2022). Ο μηχανισμός της βιογένεσης των lncRNAs περιλαμβάνει μια σειρά συγκεκριμένων γεγονότων: τη δημιουργία ώριμων άκρων από τη ριβονουκλεάση P, την κάλυψη των άκρων των μορίων από ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα (snoRNPs) και την ανάπτυξη κυκλικών δομών (H. Wu et al., 2017). Η RNάση P αναγνωρίζει και διασπά δομές παρόμοιες με αυτήν των tRNA. Τα snoRNPs προσδέονται στα άκρα των μορίων, προσδίδοντάς τους σταθερότητα, ενώ οι κυκλικές δομές είναι μη πολυαδενυλιωμένες και προστατεύουν τα μόρια lncRNAs από αποικοδόμηση (Dahariya et al., 2019b). Μόλις μεταγραφούν, τα lncRNAs αναδιπλώνονται σε μια θερμοδυναμικά σταθερή δευτεροταγή δομή.



Η βιοσύνθεση των lncRNAs ρυθμίζεται από επιγενετικές τροποποιήσεις καθώς και από διάφορα άλλα είδη ρυθμιστών (L. L. Chen, 2016). Η μεταγραφή ορισμένων lncRNAs προωθείται μέσω ακετυλίωσης από το σύμπλοκο αναδιαμόρφωσης χρωματίνης, ενώ καταστέλλεται από το σύμπλοκο συναρμολόγησης χρωματίνης. Η μεταγραφή άλλων lncRNAs αναστέλλεται μέσω μεθυλίωσης. Επίσης, η αποικοδόμηση κάποιων από αυτά προάγεται από εξωσώματα (H. Wu et al., 2017).

Όσον αφορά το μάτισμα, στην περίπτωση των μορίων αυτών η διαδικασία είναι λιγότερο αποτελεσματική συγκριτικά με τα mRNAs, επειδή τα σχετικά σήματα είναι ασθενέστερα, ενώ και η αλληλουχία μεταξύ του 3' άκρου και του σημείου διακλάδωσης είναι μακρύτερη και περιέχει ένα μικρό τμήμα πολυπυριμιδίνης (PPT) (Wilusz et al., 2008). Επιπλέον, η διαφορική έκφραση των παραγόντων-ρυθμιστών ωρίμανσης έχει ως αποτέλεσμα τον διαφορετικό βαθμό συσσώρευσης των διάφορων lncRNAs στον πυρήνα. Όπως τα mRNAs, και τα lncRNAs φέρουν εναλλακτικά σήματα πολυαδενυλίωσης, με αποτέλεσμα τη σύνθεση διαφορετικών ισομορφών στο μόριο (Q. Xu et al., 2017). Πέρα από τα παραπάνω, η ωρίμανση των lncRNAs αναστέλλεται από διαφορετικά εκφραζόμενες πρωτεΐνες δέσμησης RNA, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της πυρηνικής τους συσσώρευσης (Khan et al., 2021).

Σε αντίθεση με τα mRNAs, τα περισσότερα lncRNAs υφίστανται ανεπαρκή επεξεργασία και παραμένουν στον πυρήνα, επειδή εμπλέκονται στη διαμόρφωση της δομής της χρωματίνης και στην επιγενετική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Όσα παραμένουν στη χρωματίνη, υφίστανται στη συνέχεια αποικοδόμηση από το πυρηνικό εξώσωμα. Άλλα ματίζονται και εξάγονται στο κυτταρόπλασμα (Lagarde et al., 2017). Όσα περιέχουν ένα εξόνιο (ή έστω λίγα) εξάγονται στο κυτταρόπλασμα από τον πυρηνικό παράγοντα εξαγωγής RNA (NXF1). Το αν ένα lncRNA παραμένει στον πυρήνα ή εξαχθεί στο κυτταρόπλασμα φαίνεται ότι εξαρτάται και από την κατάσταση φωσφορυλίωσης της καρβοξυτελικής περιοχής της RNA πολυμεράσης II που το μεταγράφει (Melé et al., 2017). Για παράδειγμα, lncRNAs που μεταγράφονται από RNA πολυμεράση II με λανθασμένο πρότυπο φωσφορυλίωσης στο καρβοξυτελικό άκρο αποικοδομούνται ταχύτερα από το εξώσωμα, υφίστανται τερματισμό μεταγραφής ανεξάρτητα από σήματα πολυαδενυλίωσης, και τείνουν να παραμένουν στον πυρήνα. Επομένως, προκειμένου να είναι λειτουργικά τα lncRNAs, χρειάζεται πιθανότατα να διαφεύγουν από τη διαδικασία πυρηνικής συσσώρευσης και να εξάγονται στο κυτταρόπλασμα προς τους επιθυμητούς κυτταρικούς τύπους (Quinn & Chang, 2016).

### 2.3 Μηχανισμός δράσης των lncRNAs

Ο μηχανισμός δράσης των lncRNAs είναι πολύπλοκος και ποικίλος. Ο βασικός ρόλος των lncRNAs έγκειται στη ρυθμιστική τους ικανότητα, καθώς τα μόρια αυτά δρουν συχνά ως cis ή trans ρυθμιστές των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (Ahmad et al., 2021). Οι τρεις

σημαντικότεροι μηχανισμοί δράσης που διαθέτουν τα μόρια αυτά είναι οι εξής: ρύθμιση της χρωματίνης, μεταγραφική ρύθμιση και μετα-μεταγραφική ρύθμιση. Τα lncRNAs που εντοπίζονται στον πυρήνα έχουν ρυθμιστικό ρόλο σε επίπεδο χρωματίνης και μεταγραφής, ενώ τα lncRNAs που εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα, έχουν ρυθμιστικό ρόλο σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο(Alessio et al., 2020).

Σε επιγενετικό επίπεδο, τα lncRNAs ρυθμίζουν την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, τη μεθυλίωση του DNA και την τροποποίηση των ιστονών από ένζυμα μεθυλάσης του DNA και τροποποίησης των ιστονών(Saxena & Carninci, 2011). Όσον αφορά τη δράση τους ως **ρυθμιστών της χρωματίνης**, τα lncRNAs έχουν την ικανότητα να λειτουργούν ως αναδιαμορφωτές της δομής της χρωματίνης, επιδρώντας έτσι στη γονιδιακή έκφραση(Khalil et al., 2009). Η εμπλοκή των lncRNAs στη ρύθμιση της αρχιτεκτονικής της χρωματίνης προκύπτει από τις αλληλεπιδράσεις τους με το DNA. Η αλληλεπίδραση αυτή είναι είτε άμεση μέσω συμπληρωματικών αλληλουχιών, είτε έμμεση μέσω πρωτεϊνών που προσδένονται σε DNA και RNA(Factor et al., 2013). Τα lncRNAs που μπορούν να αλληλεπιδρούν με σύμπλοκα τροποποίησης της χρωματίνης είναι πολλά. Τα σύμπλοκα που περιέχουν lncRNA μπορούν να προωθήσουν είτε την επιλεκτική καταστολή είτε την επιλεκτική ενεργοποίηση γονιδίων, ανάλογα με τη φύση του συμπλόκου της χρωματίνης(Tsai et al., 2010). Κάποια lncRNAs στρατολογούν τροποποιητές της χρωματίνης σε συγκεκριμένους γενετικούς τόπους, κυρίως σε υποκινητές γονιδίων-στόχων, με αποτέλεσμα τη μεταγραφική ενεργοποίηση ή καταστολή. Έτσι, τα μόρια lncRNA προωθούν ή αναστέλλουν την πρόσδεση πρωτεϊνών και τη δράση τους σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA, κυρίως επειδήδρουν ως ικρίωματα(J. Luo et al., 2021). Επιπλέον, τα lncRNAs μπορούν να αλληλεπιδρούν με το DNA και να σχηματίζουν υβρίδια RNA-DNA (βρόγχους R), τα οποία στη συνέχεια αναγνωρίζονται είτε από τροποποιητές της χρωματίνης που ενεργοποιούν ή αναστέλλουν τη μεταγραφή του γονιδίου-στόχου ή από μεταγραφικούς παράγοντες(Statello et al., 2020). Αυτό συμβαίνει εξαιτίας της ιδιότητας των lncRNAs να επιδρούν στην προσβασιμότητα της χρωματίνης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της ιδιότητας αποτελεί η εμπλοκή τους στη δράση του κατασταλτικού συμπλέγματος PRC2, ενός παράγοντα γονιδιακής αποσιώπησης(Tu et al., 2017).Η διαδικασία πιθανόν διευκολύνεται από τη cis ή trans αλληλεπίδραση του συμπλέγματος με ορισμένα lncRNAs. Ωστόσο, ο μηχανισμός αυτής της αλληλεπίδρασης δεν είναι απόλυτα σαφής στις λεπτομέρειές του, λόγω της χαμηλής ειδικότητας των lncRNAs για το PRC2. Τέλος, τα lncRNAs φαίνεται να εμπλέκονται σε σημαντικά επιγενετικά φαινόμενα, όπως αυτό του γονιδιωματικού εντυπώματος, μέσω αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης(Gibb et al., 2011a).

Έχει βρεθεί ότι τα μακρά μη κωδικοποιητικά RNA εμπλέκονται στη **ρύθμιση της μεταγραφής** των γονιδίων(Kornienko et al., 2013). Οι πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων τα lncRNAs δρουν ως μεταγραφικοί ρυθμιστές είναι οι εξής: είτε το μεταγράφημα που

προκύπτει από το γονίδιο που κωδικοποιεί το lncRNAs έχει την ικανότητα να ρυθμίζει τη μεταγραφή ορισμένων γειτονικών γονιδίων, είτε η επίδραση στη γονιδιακή έκφραση συντελείται μέσω αλλαγής στη διαμόρφωση της χρωματίνης (Bonasio & Shiekhattar, 2014). Η σχετική θέση ενός lncRNA και του γονιδίου που αυτό ρυθμίζει αποτελεί βασικό παράγοντα της ρυθμιστικής τους δράσης και καθορίζει τη cis ή trans δράση τους, ενώ φαίνεται, επίσης, ότι η κατανομή των lncRNAs στο γονιδίωμα είναι εξελικτικά προσαρμοσμένη στη λειτουργία αυτή (Lai et al., 2013). Τα lncRNAs ρυθμίζουν άμεσα τη γονιδιακή έκφραση μέσω της μεταγραφής, δράοντας ως συμπαραγόντες για την τροποποίηση της δραστηριότητας μεταγραφικών παραγόντων. Μπορούν να τροποποιούν τη δραστηριότητα της RNA πολυμεράσης II, αλληλεπιδρώντας με το σύμπλοκο έναρξης για να κατευθύνουν την επιλογή του (Yakovchuk et al., 2009). Διαφορετικά, κάποια lncRNAs μπορούν επίσης να αλληλεπιδρούν με ορισμένα βασικά συστατικά του εξαρτώμενου από τον RNAP II μεταγραφικού μηχανισμού. Καταστέλλουν έτσι τη γονιδιακή έκφραση, παρεμβαίνοντας στον μηχανισμό μεταγραφής, γεγονός που οδηγεί σε μεταβολή της στρατολόγησης των μεταγραφικών παραγόντων ή της RNA πολυμεράσης II στον ανασταλμένο υποκινητή (A. C. Palmer et al., 2011). Τα lncRNAs που αλληλεπιδρούν με τον μηχανισμό RNAP II μεταγράφονται κυρίως από τον RNAP III. Με τον τρόπο αυτό, αποσυνδέουν την έκφρασή τους από την εξαρτώμενη από τον RNAP II μεταγραφική αντίδραση που ρυθμίζουν (Thebaud et al., 2011). Ταυτόχρονα, η γονιδιακή καταστολή μπορεί να πραγματοποιείται είτε με είτε χωρίς εξάρτηση από την μεταγραφή, μέσω μηχανισμών αντιστάθμισης της γονιδιακής δόσης. Ο πιο καλά χαρακτηρισμένος μηχανισμός διαμεσολαβούμενης από lncRNAs καταστολής σχετίζεται με τη δράση του XIST lncRNA, το οποίο συμμετέχει στην αδρανοποίηση του X χρωμοσώματος στα κύτταρα θηλαστικών (W. Wang et al., 2021). Η εμπλοκή του lncRNAs σε αυτή τη διαδικασία έγκειται στην ικανότητα των lncRNAs να εκμεταλλεύονται την τρισδιάστατη οργάνωση της χρωματίνης, η οποία τους επιτρέπει να εξαπλώνονται σε απομακρυσμένους τόπους, ενώ τροποποιεί τη δομή της χρωματίνης-στόχου, μέσω των αλληλεπιδράσεων των lncRNAs με τροποποιητές της χρωματίνης (Saxena & Carninci, 2011). Τα lncRNAs μπορούν, επίσης, να προωθήσουν την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που βρίσκονται κοντά στους ενισχυτές τους, μέσω προσχηματισμένων βρόχων χρωματίνης, επιτρέποντας έτσι τη στρατολόγηση συμπλόκων ενεργοποίησης της χρωματίνης στους υποκινητές των γονιδίων αυτών (Gayen & Kalantry, 2017). Η ενεργοποίηση γονιδίων από lncRNAs οδηγεί συχνά σε σύνθετους φαινοτύπους που σχετίζονται με ανθρώπινες ασθένειες. Τέλος, ένα σημαντικό χαρακτηριστικό ορισμένων lncRNAs είναι η ικανότητά τους να ρυθμίζουν απομακρυσμένα γονίδια, προωθώντας άμεσα τη βρογχοποίηση της χρωματίνης, μέσω της στρατολόγησης παραγόντων δημιουργίας βρόγχου (Statello et al., 2020).

Εκτός από τη ρύθμιση της μεταγραφής, τα lncRNAs ελέγχουν πολλές άλλες πτυχές της γονιδιακής έκφρασης. Ορισμένα lncRNAs μεταφράζονται ακόμη και σε λειτουργικά πεπτιδία (Hartford & Lal, 2020). Η εμπλοκή των lncRNAs στη **μετα-μεταγραφική επεξεργασία** των mRNAs οφείλεται στην ικανότητά τους να εντοπίζουν συμπληρωματικές αλληλουχίες. Με τον τρόπο αυτό συμμετέχουν στον σχηματισμό της καλύπτρας, στην ωρίμανση, στην επεξεργασία, στη μεταφορά, στη μετάφραση, στην αποικοδόμηση και στη σταθερότητα των μεταφραζόμενων μορίων (Statello et al., 2020). Ορισμένα lncRNA δεσμεύουν πρωτεΐνες μέσω της πρόσδεσής τους σε μοτίβα ή σε δομές αλληλουχίας RNA, σχηματίζοντας ειδικά σύμπλοκα lncRNA-πρωτεΐνης (lncRNP), με αποτέλεσμα την τροποποίηση της ωρίμανσης και του κύκλου επεξεργασίας του mRNA (M. Wu et al., 2021). Άλλα lncRNAs μπλοκάρουν θέσεις μετα-μεταφραστικής τροποποίησης. Τα lncRNAs συμμετέχουν, επίσης, στο εναλλακτικό μάτισμα των mRNA, δρώντας είτε μόνα τους είτε συνδυαστικά με παράγοντες ματίσματος. Πρόκειται κυρίως για τα antisense lncRNAs (Sigova et al., 2015). Όσον αφορά τη ρύθμιση της σταθερότητας του mRNA, τα lncRNAs προσδένονται στην 3' αμετάφραστη περιοχή των μορίων, αποτρέποντας την πρόσδεση αποσταθεροποιητικών παραγόντων. Επιπρόσθετα, συμμετέχουν ενισχυτικά στη διαδικασία της μετάφρασης, στρατολογώντας παράγοντες έναρξης, και αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες, ρυθμίζοντας τη σταθερότητά τους (Yoon et al., 2013). Τέλος, τα lncRNAs συμμετέχουν έμμεσα στη μετα-μεταγραφική επεξεργασία, μέσω της αλληλεπίδρασής τους με μόρια microRNAs, τα οποία αποτελούν βασικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Συγκεκριμένα, προσδένονται στα microRNAs και έτσι ευνοούν ή εμποδίζουν την πρόσδεση στα γονίδια mRNA που αυτά ρυθμίζουν (Paraskevoudou & Hatzigeorgiou, 2016).

## 2.4 Ο ρόλος των lncRNAs

### 2.4.1 lncRNAs και βιολογικές διεργασίες

Τα μακρά μη κωδικά RNAs διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στις βιολογικές διεργασίες. Οι επιμέρους γονιδιακές ρυθμιστικές δραστηριότητές τους επηρεάζουν διάφορες πτυχές της φυσιολογίας, από τη διαφοροποίηση των κυττάρων, την ανάπτυξη και τις αποκρίσεις σε διάφορα ερεθίσματα, έως τους βασικούς ρόλους στο νευρικό, μυϊκό, καρδιαγγειακό, λιπώδες, αιμοποιητικό και ανοσοποιητικό σύστημα και τις σχετικές παθολογίες (Hobuß et al., 2019), (Sweta et al., 2019), (L. Sun & Lin, 2019), (Y. G. Chen et al., 2017).

Τα μόρια αυτά συμμετέχουν επίσης στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA, ωστόσο, ο μηχανισμός δράσης τους σε αυτή τη διαδικασία δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητός (Lukas & Altmeyer, 2015). Πολλοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των lncRNAs, στρατολογούνται στις θέσεις βλάβης του DNA. Η επιδιόρθωση των βλαβών συντελείται μέσω της αλληλεπίδρασης των μορίων αυτών με γνωστά πρωτεϊνικά σύμπλοκα που

εμπλέκονται στη συγκεκριμένη διαδικασία(G. Li et al., 2021). Τα lncRNAs μπορεί να συμμετέχουν στη ρύθμιση διάφορων βημάτων κατά την επιδιόρθωση των βλαβών του DNA, όπως στην αναγνώριση της βλάβης, στη μετάδοση σημάτων και στην τελική επιδιόρθωση. Τέλος, τα επιδιορθωτικά lncRNAs έχουν συσχετιστεί τόσο με τον ομόλογο όσο και με τον μη ομόλογο ανασυνδυασμό(Su et al., 2018).

Όσον αφορά τη διαφοροποίηση των νευρικών κυττάρων και τις αντίστοιχες διαταραχές, lncRNAs συχνά σχετίζονται με γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες με ειδικούς ρόλους στη νευρογένεση(Y. Zhao et al., 2020). Επιπλέον, με βάση τον ρόλο τους στη νευρωνική διαφοροποίηση, φαίνεται ότι τα lncRNAs αλληλεπιδρούν με μεταγραφικούς παράγοντες που εκφράζονται κατά τη νευρική ανάπτυξη ή με mRNAs και miRNAs που εμπλέκονται στην νευροαναπτυξιακή διαδικασία, επιτυγχάνοντας έτσι τη σύνθετη χωροχρονική γονιδιακή ρύθμιση που απαιτείται(Ayana et al., 2017).

Πέρα από τα παραπάνω, τα μακρά μη κωδικοποιημένα RNAs ακολουθούν ένα αναγνωρισμένο και δυναμικό μοτίβο στα ανθρώπινα αιμοποιητικά βλαστικά και προγονικά κύτταρα, κατά τη διάρκεια της πρώιμης αιμοποίησης(M. Luo et al., 2015). Η δράση αυτή έχει συσχετιστεί στενά με γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες με γνωστές λειτουργίες στη ρύθμιση της αιμοποίησης και της διαφοροποίησης των αιμοποιητικών κυττάρων. Συνεπώς, είναι εμφανής και καίριος ο ρυθμιστικός ρόλος των lncRNAs στην αιμοποίηση(Cabezas-Wallscheidetal., 2014). Μάλιστα, έχουν χαρακτηριστεί κάποια lncRNAs, τα οποία εκφράζονται κατά κύριο λόγο σε αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα και σε ορισμένα διαφοροποιημένα προγονικά κύτταρα(Delá et al., 2019). Τα lncRNAs όχι μόνο παρουσιάζουν εξαιρετικά συντηρημένο πρότυπο έκφρασης στη ρύθμιση της πρώιμης αιμοποίησης, αλλά, επιπλέον, φαίνεται ότι το πρότυπο αυτό αποσυντονίζεται σε παθολογικές καταστάσεις, κάτι που θα επέτρεπε στα μόρια αυτά να αποτελέσουν βιοδείκτες για τη διάγνωση και την πρόγνωση δυσπλασιών του αίματος(Hobuß et al., 2019).

Εξίσου σημαντικός φαίνεται ότι είναι ο ρόλος των lncRNAs στις ανοσολογικές αποκρίσεις, καθώς τα μόρια αυτά καθοδηγούν την ενεργοποίηση ή την καταστολή της έκφρασης γονιδίων που κωδικοποιούν φλεγμονώδη μόρια(Robinson et al., 2020). Έχει διαπιστωθεί ότι η επαγωγή των βασικών γονιδίων της ανοσίας εξαρτάται από την έκφραση κάποιων ρυθμιστικών lncRNAs, πριν από το φλεγμονώδες ερέθισμα. Επομένως, η έκφραση των μορίων αυτών αποτελεί το πρώτο και απαραίτητο βήμα για την αφύπνιση των γονιδίων της ανοσίας(X. Peng et al., 2010). Η δράση των lncRNAs στα ανοσοποιητικά κύτταρα μπορεί να αφορά είτε τη cis επίδραση των μορίων αυτών στους υποκινητές διάφορων γονιδίων που εμπλέκονται στην ανοσία, είτε τη ρύθμιση της χρωματίνης, με αποτέλεσμα την καταστολή γονιδίων που κωδικοποιούν ανοσοποιητικά κύτταρα(Kambara et al., 2014). Πέρα από την προσαρμοστική, επίσης στην έμφυτη ανοσία είναι αναγνωρισμένος ο ρόλος των lncRNAs. Διάφορα lncRNA μόρια συμμετέχουν ως ανοσοτροποποιητές στον έλεγχο της έμφυτης

ανοσίας, αναστέλλοντας τη δράση γονιδίων υπεύθυνων για την αντιμετώπιση ποικίλων ιογενών λοιμώξεων(Statello et al., 2020).

#### 2.4.2 *lncRNAs* και παθήσεις

Από τη στιγμή, λοιπόν, που τα μακρά μη κωδικά μόρια RNA κατέχουν καίριο ρόλο σε σημαντικές βιολογικές λειτουργίες και εμπλέκονται σε ποικίλα μοριακά μονοπάτια, είναι επόμενο η δράση τους να συσχετίζεται επίσης με διάφορες ασθένειες.

Τα τελευταία χρόνια, τα *lncRNAs* έχουν αναδειχθεί ως σημαντικοί ρυθμιστές της ανάπτυξης του ΚΝΣ μέσω επιγενετικών, μεταφραστικών και μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων(Wei et al., 2018). Για τον λόγο αυτό η διαταραγμένη έκφρασή τους έχει συσχετιστεί με πληθώρα ασθενειών του νευρικού συστήματος. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το σύνδρομο Di George και το σύνδρομο Down, για τα οποία συγκεκριμένα μόρια *lncRNAs* έχουν αναγνωριστεί ότι συμμετέχουν κατά την εμφάνιση και την εξέλιξη της νόσου(Statello et al., 2020). Άλλα *lncRNAs* εμπλέκονται στη ρύθμιση των υπεύθυνων γονιδίων για τον σχηματισμό πλακών της νόσου Alzheimer(Feng et al., 2018). Στη νόσο Huntington έχουν, επίσης, εντοπιστεί *lncRNAs* με απορρυθμισμένη έκφραση, καθώς και σε άλλες νευροεκφυλιστικές διαταραχές, όπως στη νόσο Parkinson. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι *lncRNAs* που προάγουν την αυτοφαγία είναι σημαντικά αυξημένα στη νόσο Parkinson, ενώ άλλα *lncRNAs*, τα οποία δρουν ως τροποποιητές των miRNA που σχετίζονται με προστασία από τη νόσο, είναι μειωμένα(Lyu et al., 2019). Όσον αφορά τη νόσο Huntington, έχει διαπιστωθεί ότι η έκφραση ορισμένων *lncRNAs* στον εγκέφαλο μεταβάλλεται κατά την εμφάνιση και την εξέλιξη της νόσου, ανάλογα όμως με τη βαρύτητά της(M. Zhang et al., 2021).

Περνώντας στα καρδιαγγειακά νοσήματα, πρόσφατες μελέτες έχουν αποκαλύψει επίσης εμπλοκή των *lncRNAs*. Η σημασία των *lncRNAs* στις συγγενείς καρδιοπάθειες και στις καρδιοπάθειες των ενηλίκων έχει ερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό(M. Zhang et al., 2021). Η εμπλοκή τους είναι αναμενόμενη, λόγω του ουσιώδους ρόλου που διαδραματίζουν κάποια από αυτά στην καρδιακή ανάπτυξη, στη σχετική παθοφυσιολογία και στον μεταβολισμό των λιπιδίων. Αρκετά *lncRNAs* δρουν ως ρυθμιστές του μεταβολισμού της χοληστερόλης και παράλληλα αναλαμβάνουν πρόσθετους ρόλους στην αγγειογένεση και στην αγγειακή νόσο(Grote et al., 2013). Μελέτες έχουν χαρακτηρίσει *lncRNAs* που εκφράζονται στον καρδιακό ιστό και δρουν προστατευτικά έναντι της υπερτροφίας της καρδιάς. Άλλα μόρια φαίνεται να παρεμποδίζουν την αυτοφαγία των καρδιομυϊκών κυττάρων μέσω επιγενετικού προγραμματισμού των υποκινητών των γονιδίων που τα κωδικοποιούν(Viereck & Thum, 2017). Μάλιστα, φαίνεται ότι κάποια *lncRNAs* εμπλέκονται ακόμα και σε εγκεφαλοαγγειακές νόσους, ενώ η έκφραση ορισμένων άλλων πιθανόν διαφοροποιείται ακόμα και σε περιπτώσεις εγκεφαλικών επεισοδίων(Das et al., 2020).

Επίσης, χαρακτηριστική είναι η εμπλοκή των lncRNAs σε νόσους του ήπατος. Σύμφωνα με μελέτες, ορισμένα lncRNAs είναι αυξημένα σε περιπτώσεις φλεγμονής(Quagliata & Terracciano, 2014). Μια μελέτη αλληλούχισης έδειξε ότι ασθενείς με ηπατίτιδα Β βρέθηκαν με πολυμορφισμό μίας βάσης σε συσχετιζόμενα με τη νόσο lncRNAs(Qiu et al., 2017). Εξίσου αυξημένα φαίνονται τα επίπεδα έκφρασης ορισμένων lncRNAs και σε περιπτώσεις ασθενών με ηπατίτιδα C ή με κίρρωση του ήπατος. Στην τελευταία περίπτωση εμπλέκονται lncRNAs ειδικά για το ήπαρ, τα επίπεδα έκφρασης των οποίων είναι σημαντικά αυξημένα στο πλάσμα και συσχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με το ποσοστό επιβίωσης των ασθενών(Y. A. Kim et al., 2020).

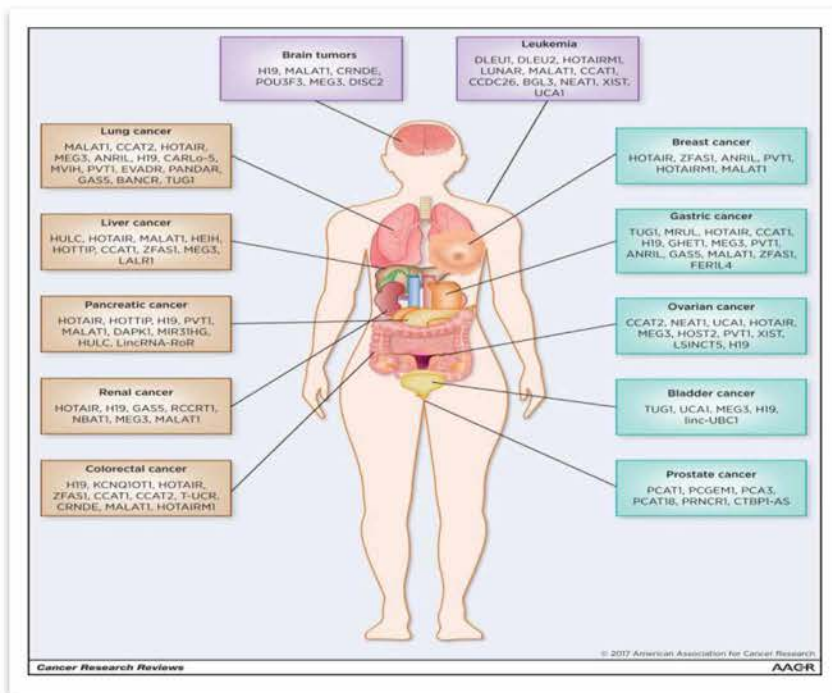
Τέλος, η εμπλοκή των lncRNAs πιθανολογείται στην οστεοαρθρίτιδα. Ο ρόλος τους στην παθογένεια της νόσου δεν είναι ακόμα σαφής. Ωστόσο, έχουν βρεθεί lncRNAs με διαφορετική έκφραση σε χόνδρινο ιστό ασθενών με οστεοαρθρίτιδα(F. Zhang et al., 2020). Η βασική ρύθμιση που ασκούν τα lncRNAs πραγματοποιείται μέσω αλληλεπίδρασης με τα miRNAs που έχουν συσχετιστεί με τη νόσο. Κάποια lncRNAs έχουν συσχετιστεί με βασικά χαρακτηριστικά της νόσου, όπως ο πολλαπλασιασμός των χονδροκυττάρων, η αναστολή της αποδόμησης της εσωτερικής κυτταρικής μάζας, η μείωση των φλεγμονωδών αντιδράσεων και η βελτιστοποίηση της εξέλιξης της νόσου(He et al., 2021). Ωστόσο, δεν δρουν όλα τα lncRNAs προστατευτικά έναντι της οστεοαρθρίτιδας(J. Wang et al., 2021).

Είναι ξεκάθαρο ότι ο ρόλος των μακρών μη κωδικών μορίων RNA στην εμφάνιση και στην εξέλιξη ανθρώπινων ασθενειών είναι πολύ σημαντικός. Βέβαια οι μηχανισμοί μέσω των οποίων τα lncRNAs δρουν ρυθμιστικά στις διάφορες ασθένειες απαιτεί περαιτέρω μελέτη. Σε γενικές γραμμές, ωστόσο, είναι γνωστό ότι η απορρυθμισμένη έκφραση των lncRNAs αλλά και οι μεταλλάξεις τους συνδέονται με διάφορες ασθένειες, ενώ ο ρυθμιστικός τους ρόλος μέσω αλληλεπίδρασης με άλλα μόρια μπορεί να συμβάλει στην παθογένεια μιας νόσου. Επομένως, θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν είτε ως θεραπευτικοί στόχοι είτε ως θεραπευτικά μόρια, ανάλογα με το αν προωθούν ή αναστέλλουν την εξέλιξη μιας νόσου, αντίστοιχα(Wapinski & Chang, 2011).

#### **2.4.3 lncRNAs και καρκίνος**

Τα τελευταία χρόνια, ελέγχεται συστηματικά η εμπλοκή των μακρών μη κωδικών μορίων RNA στον καρκίνο. Τα lncRNAs είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση μιας σειράς βιολογικών λειτουργιών, η διαταραχή των οποίων φαίνεται να διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη του καρκίνου(Gibb et al., 2011b). Τα διαταραγμένα lncRNAs μπορούν να είναι ενδεικτικά ορισμένων σταδίων της εξέλιξης της νόσου. Επίσης, είναι πιθανόν να προβλέπουν την εξέλιξη κατά τα πρώιμα στάδια ή να διατηρούν αποτελεσματικά τα σηματοδοτικά μονοπάτια που σχετίζονται με τον όγκο. Παρόλο, όμως, που η διαφοροποιημένη έκφραση των lncRNAs αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα του καρκίνου, ο λειτουργικός ρόλος όλων

των γονιδίων που τα κωδικοποιούν δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός (Gibb et al., 2011b). Αυτό που είναι σαφές είναι ότι η μη φυσιολογική έκφραση των lncRNAs συνοδεύεται από πιθανές βλάβες στο DNA και από μεταβολικές διαταραχές στα κύτταρα, και έτσι οι ποικίλες και περίπλοκες αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσουν τα lncRNAs με τα διάφορα βιομόρια σχετίζονται με την καρκινογένεση (M.-C. Jiang et al., 2019), (Kazimierczyk et al., 2020).



Εικόνα 5: lncRNAs που σχετίζονται με διάφορους τύπους καρκίνου (Bhanetal., 2017).

Το γλοίωμα αποτελεί καρκινικό τύπο με σαφή συσχέτιση με τα μακρά μη κωδικά μόρια RNA. Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων τα lncRNAs εμπλέκονται στην εξέλιξη των όγκων του εγκεφάλου είναι αρκετά καλά μελετημένοι (Katsushima et al., 2021). Κάποια από τα σχετικά lncRNAs τείνουν να είναι υπορρυθμισμένα σε ασθενείς με γλοιοβλάστωμα. Πρόκειται για lncRNAs με ογκοκατασταλτική δράση. Αντίθετα, άλλα lncRNAs που σχετίζονται με ογκογόνους μηχανισμούς τείνουν να υπερεκφράζονται (Latowska et al., 2020). Γενικά, όσα lncRNAs εμπλέκονται σε αυτόν τον καρκινικό τύπο σχετίζονται με βασικά μονοπάτια, τα οποία σε ασθενείς με γλοιοβλάστωμα είναι απορρυθμισμένα. Τέτοια μονοπάτια είναι το PI3K/Akt/mTOR, το μονοπάτι των κινασών MAP, το μονοπάτι Wnt/ $\beta$ -κατενίνη καθώς και άλλα που περιλαμβάνουν αλληλεπιδράσεις με miRNAs, το μονοπάτι της BMP, το μονοπάτι της Notch και το μονοπάτι των NF- $\kappa$ B (S. H. Kim et al., 2021).

Τα lncRNAs έχει βρεθεί ότι εμπλέκονται και σε αιματολογικές νεοπλασίες. Ανάλογα με τη δράση των μορίων αυτών στην κυτταρική διαφοροποίηση, στον ενεργειακό μεταβολισμό και στην απόπτωση καθορίζεται η θετική ή η αρνητική επίδρασή τους στην εξέλιξη της νόσου. Πέρα από τη ρύθμιση της κυτταρικής διαφοροποίησης, του ενεργειακού



μεταβολισμού και του κακοήθους πολλαπλασιασμού, οι λειτουργίες των lncRNAs περιλαμβάνουν επίσης την αντίσταση στα φάρμακα (Lammens et al., 2017). Η μη φυσιολογική έκφραση ορισμένων lncRNAs έχει συσχετιστεί με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους που αφορούν τη λευχαιμία. Μάλιστα, τα lncRNAs παρουσιάζουν διαφορική έκφραση τόσο στους διαφορετικούς υποτύπους λευχαιμίας, όσο και στα διαφορετικά στάδιά τους. Συνεπώς, τα μόρια αυτά αποτελούν πιθανούς βιοδείκτες για την πρόγνωση, τη διάγνωση και τη θεραπευτική προσέγγιση της νόσου (J. Gao et al., 2020).

Στον καρκίνο του πνεύμονα, η διαταραχή της έκφρασης των lncRNAs αποτελεί πρωταρχικό χαρακτηριστικό τόσο στην έναρξη όσο και στην εξέλιξη της νόσου (F. Peng et al., 2017). Τα επίπεδα έκφρασης των lncRNA ρυθμίζονται με ακρίβεια στη φυσιολογική κατάσταση αλλά φαίνεται να διαταράσσονται στην παθολογική κατάσταση, με διάφορους μηχανισμούς. Στην εξέλιξη του όγκου τα lncRNAs συμμετέχουν τόσο μέσω επιγενετικής ρύθμισης, όσο και μέσω αλληλεπίδρασης με άλλα μόρια. Με τον τρόπο αυτό, λειτουργούν ως ρυθμιστές του δικτύου γονιδιακής σηματοδότησης σε μεταγραφικό, μετα-μεταγραφικό και μετα-μεταφραστικό επίπεδο και συμβάλλουν σημαντικά στην εξέλιξη του καρκινικού φαινοτύπου (L. Jiang et al., 2019).

Η μη φυσιολογική βιογένεση των lncRNAs έχει ενοχοποιηθεί για την παθογένεια διάφορων ηπατικών νόσων, συμπεριλαμβανόμενου του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Υπάρχουν χαρακτηρισμένα lncRNAs που φαίνεται ότι παρουσιάζουν διαφορετικά πρότυπα έκφρασης σε υγιείς και σε ασθενείς με καρκίνο του ήπατος (Cao et al., 2015). Η δυσλειτουργία των lncRNA περιλαμβάνει την επιγενετική καταστολή ή την ενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών lncRNAs ή lncRNAs με ογκογόνο δράση αντίστοιχα, καθώς και την αλληλεπίδραση των lncRNAs με miRNAs και πρωτεΐνες. Εφόσον, λοιπόν, τα lncRNAs που σχετίζονται με τον καρκίνο του ήπατος προωθούν ή καταστέλλουν τον καρκινικό φαινότυπο, μπορούν να αξιολογηθούν για τη χρησιμότητά τους στην αντιμετώπισή του (Abbastabar et al., 2018).

Όσον αφορά τον καρκίνο του παγκρέατος, έχει ταυτοποιηθεί η δράση ορισμένων lncRNAs στην εκδήλωση και στην εξέλιξη της νόσου (Yiwei Li et al., 2021). Η εμπλοκή των μορίων αυτών περιλαμβάνει είτε τη μείωση των επιπέδων των ογκοκατασταλτικών lncRNAs, είτε την αύξηση των επιπέδων έκφρασης ογκογόνων lncRNAs με αποτέλεσμα την καταστολή άλλων ογκοκατασταλτικών μορίων καθώς και την προώθηση του πολλαπλασιασμού, της μετανάστευσης και της εισβολής των κυττάρων του όγκου (Jiao et al., 2014). Ακόμα, ορισμένα lncRNAs, μέσω της αλληλεπίδρασής τους με άλλα μόρια ή και μέσω επιγενετικής ρύθμισης, ενισχύουν τον καρκινικό φαινότυπο και προωθούν την καρκινογένεση. Τα lncRNAs με ογκογόνο δράση θα μπορούσαν να αποτελέσουν σημαντικά στοιχεία των θεραπευτικών στρατηγικών, από τη στιγμή που η ρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών στα οποία επιδρούν θα μπορούσε να έχει αντικαρκινική δράση (Gu et al., 2017).

Τέλος, ένας ακόμα καρκινικός τύπος με τον οποίο σχετίζονται τα lncRNAs είναι ο καρκίνος του προστάτη. Σύμφωνα με μελέτη ελέγχου μικροσυστοιχιών, έχουν εντοπιστεί μακρά μη κωδικά μόρια RNA με αυξημένη ή μειωμένη έκφραση σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες (Ge et al., 2020). Άλλες μελέτες αναφέρονται στην απορρυθμισμένη έκφραση των lncRNAs στον καρκίνο του προστάτη, με κάποια μόρια να εμφανίζουν υπερέκφραση στην πλειοψηφία των πρωτογενών όγκων (Bussemakers et al., 1999). Ωστόσο, τα επίπεδα έκφρασης των lncRNAs δεν έχουν συσχετιστεί σαφώς με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά της νόσου (B. Lee et al., 2014).

Παραπάνω αναφέρθηκαν με συντομία κάποια είδη καρκίνου, στα οποία έχει ερευνηθεί ο ρόλος των lncRNAs, τα οποία, φυσικά, δεν είναι τα μόνα που έχουν ελκύσει το σχετικό ερευνητικό ενδιαφέρον. Σημαντικές μελέτες έχουν επίσης ασχοληθεί με την αποσαφήνιση της σχέσης των μορίων αυτών με τον καρκίνο του παχέος εντέρου, του στομάχου, της ουροδόχου κύστης, των ωοθηκών και του καρκίνου του μαστού (Bhan et al., 2017). Η εμπλοκή των lncRNAs στον καρκίνο του μαστού αποτελεί το αντικείμενο του επόμενου κεφαλαίου.

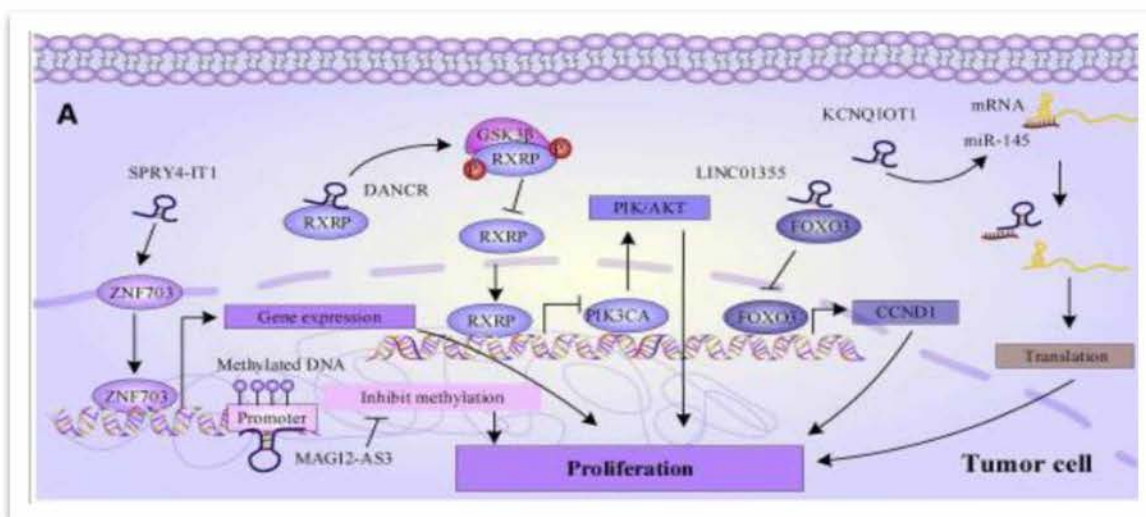
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### LncRNAs ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

#### 3.1 lncRNAs και προαγωγή του καρκίνου του μαστού

Τα μακρά μη κωδικά RNA έχουν αναγνωρισθεί ως μόρια με κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη του καρκίνου. Η έκφραση των μορίων αυτών στους όγκους ρυθμίζεται από επιγενετικές τροποποιήσεις και έτσι τα μόρια αυτά ελέγχουν την έκφραση γονιδίων του όγκου (Geisler et al., 2012). Τα lncRNAs έχουν διάφορα χαρακτηριστικά που τα καθιστούν χρήσιμα μόρια για ογκοκαταστολή, ογκογένεση, ακόμα και θεραπεία (Dahariya et al., 2019c). Τα επιμέρους μόρια lncRNA διαδραματίζουν διαφορετικό ρόλο στον καρκίνο του μαστού. Σημαντικό μέρος τους έχει συσχετιστεί με την προαγωγή του καρκινικού φαινοτύπου στον μαστό και εμπλέκεται στη διαμόρφωσή του με διάφορους τρόπους. Αυτά τα lncRNAs ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό, την εισβολή, τη μετάσταση και την απόπτωση των κυττάρων του όγκου (Jin et al., 2021a).

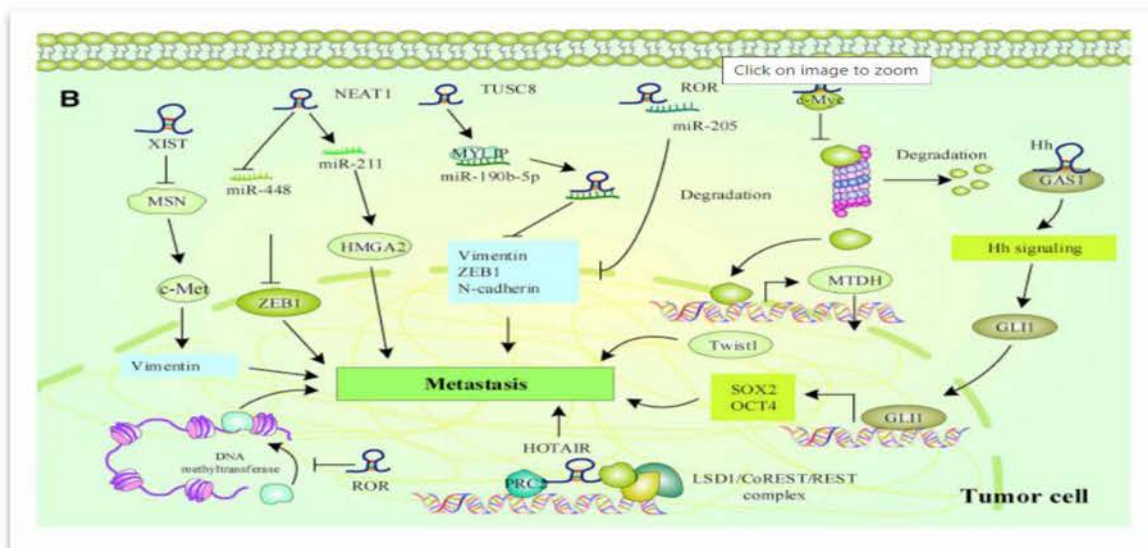
Όπως έχει φανεί σε πολλές μελέτες, τα lncRNAs ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ενεργοποιώντας ή αναστέλλοντας συγκεκριμένα μονοπάτια σηματοδότησης στον καρκίνο του μαστού (T. Tang et al., 2019). Λαμβάνοντας υπόψη την πρόσφατη βιβλιογραφία, έχει αναδειχθεί μια ποικιλία lncRNAs που ρυθμίζει θετικά τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού (B. Huang et al., 2020), (Liang et al., 2020), (Sideris et al., 2022). Ωστόσο, οι μηχανισμοί με τους οποίους αυτά τα lncRNAs προάγουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού είναι ποικίλοι.



Εικόνα 6: Ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων του μαστού από τα lncRNAs με την ενεργοποίηση ή την αναστολή σηματοδοτικών μονοπατιών (Jin et al., 2021b).

Επιπλέον, η εισβολή και η μετάσταση των καρκινικών κυττάρων φαίνεται ότι συσχετίζονται με τη μη φυσιολογική έκφραση των lncRNA στα κύτταρα του καρκίνου του

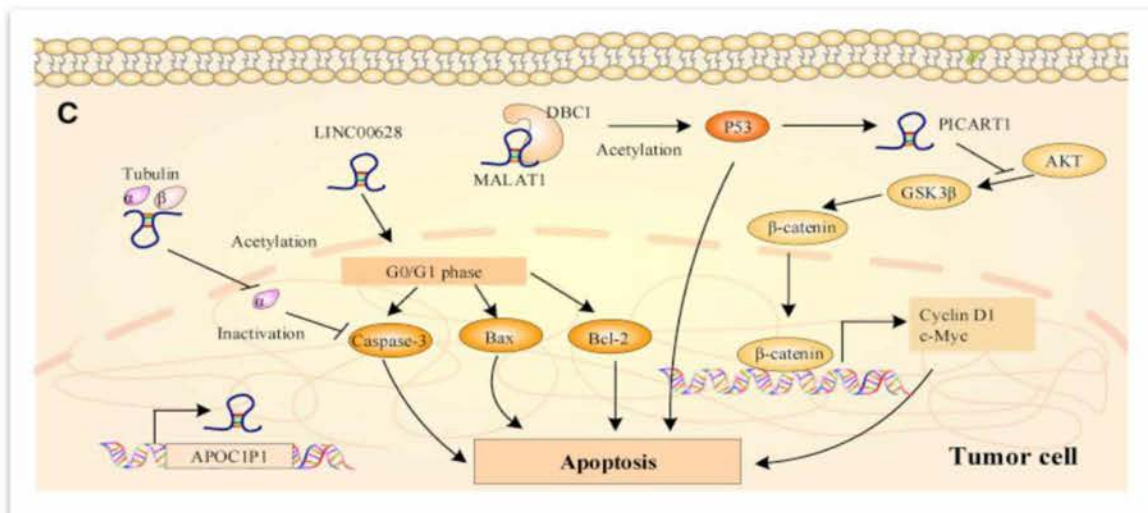
μαστού(X. Li et al., 2019). Μελέτες έχουν δείξει ότι τα lncRNA μπορούν να παρεμβαίνουν στα miRNAs για να ρυθμίζουν τη μετάσταση και την εισβολή των καρκινικών κυττάρων(D. Wu et al., 2021),(Liang et al., 2020). Συγκεκριμένα, έχουν ταυτοποιηθεί lncRNAs τα οποία επάγουν τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων του μαστού μέσω αρνητικής ρύθμισης miR μορίων που είναι σημαντικά για την αναστολή του καρκινικού φαινοτύπου, επάγοντας έτσι και την έκφραση μεσεγχυματικών δεικτών απαραίτητων για την EMT (βιμεντίνη, N-καντερίνη, Twist-1, Zeb1) και πρωτεϊνών επιθηλιακής κυτταρικής σύνδεσης (E-καντερίνη, A-καντερίνη)(Haomeng Zhang et al., 2021). Διαφορετικά μόρια lncRNAs, ανάλογα και με τα επίπεδα έκφρασής τους, σχετίζονται με διαφορετική ικανότητα εισβολής των καρκινικών κυττάρων και μεταστατική ικανότητα. Παράλληλα, τα lncRNA μπορούν να συνδεθούν άμεσα με πρωτεΐνες και να προωθήσουν την EMT του όγκου, ενισχύοντας την ικανότητα εισβολής και μετανάστευσης(Ren et al., 2018). Τέλος, τα lncRNAs έχουν εντοπιστεί ως ένας νέος, σημαντικός ρυθμιστής της απόκτησης και της διατήρησης της βλαστικότητας των βλαστικών κυττάρων του όγκου, τα οποία εμφανίζουν ιδιαίτερο μεταστατικό δυναμικό(Han et al., 2020).



Εικόνα 7: Προώθηση της μετάστασης των καρκινικών κυττάρων του μαστού από τα lncRNAs μέσω ελέγχου της έκφρασης μεσεγχυματικών δεικτών και πρωτεϊνών επιθηλιακής κυτταρικής σύνδεσης(Jin et al., 2021c).

Ένας σημαντικός αριθμός μελετών επιβεβαιώνει ότι τα lncRNA μπορούν να επηρεάσουν επίσης την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων, κυρίως μέσω των σηματοδοτικών μονοπατιών p53 και των κασπασών(Strasser et al., 2000). Τα lncRNAs που αναστέλλουν την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων συντελούν στην απεριόριστη συσσώρευσή τους(J. Yang et al., 2019). Τέτοια μόρια είναι τα MALAT1 και PICART1, τα οποία συμμετέχουν στη διαδικασία της κυτταρικής απόπτωσης μέσω της ρύθμισης της

έκφρασης του p53. Επιπρόσθετα, μακρά μη κωδικά μόρια RNA που έχουν χαρακτηριστεί για την εμπλοκή τους στον καρκίνο του μαστού, όπως το LINC00628 και το APOC1P1-3, προάγουν την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων μέσω ρύθμισης της έκφρασης της κασπάσης-3, της BAX και της BCL(Jin et al., 2021b).



Εικόνα 8: Ρύθμιση της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων του μαστού από τα lncRNAs μέσω των μονοπατιών p53 και κασπασών(Jin et al., 2021b).

Με βάση την πρόσφατη βιβλιογραφία, κάποια από τα πιο καλά χαρακτηρισμένα μακρά μη κωδικά μόρια RNA που έχουν συσχετιστεί με την προαγωγή του καρκίνου του μαστού είναι τα εξής:

#### HOTAIR--

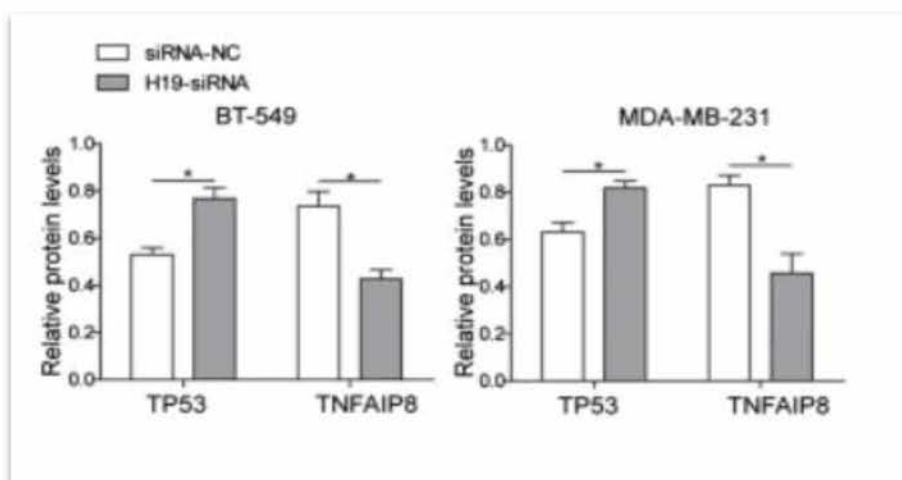
Το HOTAIR είναι το πρώτο lncRNA που συσχετίστηκε με την εξέλιξη του όγκου του μαστού. Η συμμετοχή αυτού του lncRNA στον καρκίνο του μαστού αφορά την αλληλεπίδρασή του με το σύμπλοκο PRC2. Συγκεκριμένα, αν και ο μηχανισμός δράσης του δεν είναι ακόμα γνωστός, φαίνεται ότι το HOTAIR στρατολογεί το σύμπλοκο PRC2 σε γονίδια που καταστέλλουν τη μετάσταση(Portoso et al., 2017). Με τον τρόπο αυτό, μέσω επιγενετικής ρύθμισης, επιτυγχάνει την αποσιώπηση των γονιδίων αυτών(Collina et al., 2019). Επομένως, η αυξημένη έκφραση του HOTAIR έχει συσχετιστεί τόσο με τη λεμφαδενική μετάσταση σε τριπλά αρνητικούς καρκίνους του μαστού, όσο και με τη μετάσταση του όγκου στους πνεύμονες. Η έκφραση του μορίου αυτού στους μεταστατικούς καρκίνους είναι αυξημένη(W. Zhao et al., 2018). Συνεπώς, το HOTAIR είναι μακρύ μη κωδικό μόριο lncRNA το οποίο σχετίζεται με την εξέλιξη του όγκου, μιας και προωθεί τη μετάσταση. Ωστόσο, ο μηχανισμός δράσης του στα καρκινικά κύτταρα του μαστού επιδέχεται τροποποίηση και η ρύθμιση της σχέσης των HOTAIR και PRC2 θα μπορούσε να έχει θεραπευτικές επιπτώσεις έναντι της μετάστασης του όγκου του μαστού.

## *H19--*

Το H19 είναι ένα από τα καλά χαρακτηρισμένα lncRNAs αποτύπωσης και αποτελεί μεταγράφημα 2,3 Kb. Είναι γνωστό ότι εμπλέκεται στον έλεγχο της εμβρυϊκής ανάπτυξης και στη ρύθμιση της γονιδιακής αποτύπωσης (Ghafouri-Fard et al., 2020). Είναι επίσης γνωστό ότι υπερεκφράζεται αφύσικα σε κύτταρα υψηλότερης καρκινικής ικανότητας και έχει θεωρηθεί ως ογκογόνο RNA σε επιθηλιακά κύτταρα του μαστού (Collette et al., 2017). Η έκφρασή του φαίνεται διαφορετικά ρυθμισμένη σε διάφορους καρκινικούς τύπους, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού. Σύμφωνα με μελέτες, το H19 παρατηρείται υπερεκφραζόμενο σε μεγάλο ποσοστό των καρκινικών ιστών του μαστού (Elias-Rizk et al., 2020). Ο μηχανισμός με τον οποίο επάγει την καρκινογένεση σχετίζεται με την προώθηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων του όγκου στα οποία υπερεκφράζεται. Σε καρκινικά κύτταρα του μαστού, το H19 ρυθμίζεται ανοδικά στη φάση S και ο υποκινητής του γονιδίου που το κωδικοποιεί βρέθηκε να ενεργοποιείται από τον E2F1 (Bertheaux et al., 2005). Αναφέρεται επίσης ότι το H19 ρυθμίζεται από το c-myc, το οποίο είναι ένας ευρέως δυσρυθμισμένος μεταγραφικός παράγοντας στον καρκίνο επιθηλιακής προέλευσης, επομένως και στον καρκίνο του μαστού (Barsyte-Lovejoy et al., 2006). Επισημαίνεται ότι, σύμφωνα με μελέτες, το H19 ανταγωνίζεται το microRNA let-7, το οποίο ρυθμίζει αρνητικά την αυτοανανέωση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων και την καρκινογένεση στον καρκίνο του μαστού (Kallen et al., 2013). Συγκεκριμένα, φαίνεται το H19 να λειτουργεί ως μοριακό σφουγγάρι του let-7 και να επηρεάζει την έκφραση των ενδογενών στόχων του let-7. Τέλος, είναι επίσης γνωστό ότι το H19 είναι ο πρόδρομος του miR675, ενός ογκογόνου miRNA, και καταστέλλει την έκφραση του pRB (Peperstraete et al., 2020). Σε σχετικές μελέτες, έχει συσχετιστεί υπερέκφραση του H19 με τον αποτελεσματικό σχηματισμό καρκινικών αποικιών. Πρόκειται, συνεπώς, για ένα μόριο που επάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του όγκου του μαστού. Παρόλο που η ακριβής λειτουργία του στα καρκινικά κύτταρα είναι ακόμη ασαφής, φαίνεται ότι διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στον φαινότυπο του καρκίνου του μαστού (J. Wang et al., 2020). Ο μηχανισμός δράσης του H19 θεωρείται ότι είναι η ρύθμιση της μετάφρασης (Ghafouri-Fard et al., 2020) – ωστόσο, αυτό χρειάζεται περαιτέρω τεκμηρίωση.

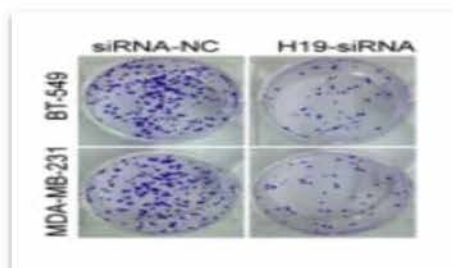
Σε μια πρόσφατη μελέτη των Yang Li et al., 2020 εξετάστηκε η επίδραση του H19 στον καρκίνο του μαστού. Μεταξύ άλλων ελέγχθηκε η επίδραση της αναστολής του H19 με siRNA σε κυτταρικές δραστηριότητες των καρκινικών κυττάρων, όπως είναι ο πολλαπλασιασμός, η μετανάστευση, η εισβολή και η αναστολή του κυτταρικού κύκλου. Στη μελέτη πραγματοποιήθηκε ανάλυση με PCR πραγματικού χρόνου και επιβεβαιώθηκε με western blot ότι η αποσιώπηση του H19 οδήγησε σε σημαντική αύξηση των επιπέδων

μεταγραφής του p53 και του TNFAIP8. Η αποσιώπηση του μορίου οδήγησε σε μείωση της μετάστασης και της εισβολής.



Εικόνα 9: Επίπεδα έκφρασης της p53 & TNFAIP8 μετά από αποσιώπηση του H19 σε καρκινικές κυτταρικές σειρές.

Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η απαλοιφή του H19 διευκόλυνε τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G0/G1 και συνεπώς κατέστειλε τον σχηματισμό κυτταρικών αποικιών, λόγω της μείωσης του αριθμού των κυττάρων που βρίσκονται στην φάση S.



Εικόνα 10: Σχηματισμός αποικιών σε καρκινικές κυτταρικές σειρές μετά από απαλοιφή του H19.

#### SRA--

Ο ενεργοποιητής RNA στεροειδών υποδοχέων (SRA) είναι το πρώτο lncRNA που φάνηκε ότι λειτουργεί ανεξάρτητα από επιγενετικό ή καταλυτικό μηχανισμό (Novikova et al., 2012). Ο SRA ανταποκρίνεται επιλεκτικά σε ορμονικούς υποδοχείς κυρίως στεροειδικούς, και μεσολαβεί στη μεταστροφή γονιδίων που εξαρτώνται από στεροειδείς υποδοχείς (Ghosh et al., 2012). Έχει αναφερθεί ότι ο SRA ρυθμίζεται ανοδικά στον καρκίνο του μαστού, γεγονός που υποδηλώνει πιθανό ογκογόνο ρόλο (Yan et al., 2016). Όπως προκύπτει από μελέτη σε διαγονιδιακό ποντικό, ο SRA εκφράζεται μόνο στα κύτταρα του θηλυκού μαστικού αδένου. Τα ποντίκια παρουσίασαν ανώμαλο σχηματισμό μαστικού αδένου, όπου παρατηρήθηκαν πολυστρωματικά επιθηλιακά κύτταρα, υπερπλασία των πόρων και διήθηση λεμφοκυττάρων (Colley & Leedman, 2011). Η υπερέκφραση του SRA προώθησε επίσης τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση (C. Liu et al., 2016). Παρόλο που τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν τον πιθανό ογκογόνο ρόλο του SRA, τα διαγονιδιακά

ποντίκια παρουσίασαν φυσιολογική διάρκεια ζωής, υποδεικνύοντας ότι η υπερέκφραση του SRA δεν αρκεί για την πρόκληση πλήρους καρκίνου του μαστού. Συνεπώς, η περίσσεια SRA είναι ανεπαρκής για την πρόκληση BC. Αυτό υποδεικνύει ότι η SRA προάγει την BC, αλλά δεν μπορεί να οδηγήσει σε BC, εκτός εάν δρα μαζί με άλλους καρκινογόνους παράγοντες (Yin Liu et al., 2015).

#### NEAT1--

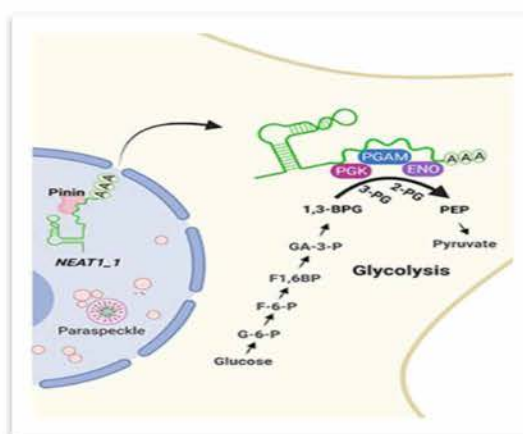
Το NEAT έχει συσχετιστεί με την πρόωξη της μετανάστευσης και της εισβολής των καρκινικών κυττάρων του μαστού. Το μόριο αυτό επιδρά άμεσα στο miR-218, το οποίο ρυθμίζει αρνητικά (X. Jiang et al., 2018). Επιπρόσθετα, ενιχύει την EMT, ενώ η αναστολή της δράσης του συνδέεται αντίστοιχα με αναστολή της EMT (D. Zhao et al., 2017).

Πρόσφατη μελέτη (Park et al., 2021) προσδιορίζει τη συμμετοχή του NEAT1 στην γλυκόλυση των κυττάρων του όγκου, που αποτελεί ένα κύριο μεταβολικό χαρακτηριστικό τους. Το NEAT1 φαίνεται να ρυθμίζει τον γλυκολυτικό μεταβολισμό στον καρκίνο του μαστού. Λόγω της συσχέτισης της καρκινογένεσης με την αερόβια γλυκόλυση, ο ρόλος του NEAT1 είναι ιδιαίτερα κρίσιμος. Αποσιώπηση του NEAT1 σε γλυκολυτική ανθρώπινη κυτταρική σειρά του καρκίνου του μαστού (BT-474) μείωσε την κατανάλωση γλυκόζης. Αντίθετα, η υπερέκφραση του NEAT1 οδήγησε σε αύξηση της κατανάλωσης γλυκόζης και συνεπώς και της γλυκόλυσης.

Τέλος, το NEAT1 υπερεκφράζεται σε ασθενείς με καρκίνο και επομένως θα μπορούσε να αποτελέσει βιοδείκτη για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του μαστού (Azadeh et al., 2022).

#### LSINCT5--

Το LSINCT5 είναι ένα 2,6KB antisense lncRNA που επάγεται από το στρες. Κανονικά, το LSINCT5 εντοπίζεται στον πυρήνα και μεταγράφεται δυνητικά από την πολυμεράση RNA III αντί της πολυμεράσης RNA II (Silva et al., 2010). Το LSINCT5 υπερεκφράζεται σε διάφορες κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού και σε καρκινικούς ιστούς, όπως δείχνει η σύγκριση με τα φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα του μαστού (Mansoori et al., 2018). Ο πολλαπλασιασμός των καρκινικών κυττάρων του μαστού μειώνεται εάν σε αυτά το LSINCT5 τεθεί εκτός λειτουργίας (Grom et al., 2010). Μια μελέτη συστοιχιών έδειξε ότι η



Εικόνα 11: Η συμμετοχή του NEAT1 στη γλυκόλυση των καρκινικών κυττάρων.



απενεργοποίηση του LSINCT5 είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε κυτταρικές σειρές όγκων του μαστού(Silva et al., 2011). Είναι επομένως σαφές ότι το LSINCT5 είναι αποτελεσματικό για την αύξηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων όγκου του μαστού, οπότε θεωρείται ότι προάγει τη γένεση της BC. Η εντατική διερεύνηση του LSINCT5 θα φανεί πιθανότατα χρήσιμη στην ανάπτυξη σχετικών μεθόδων και φαρμάκων για τη διάγνωση και την αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού.

#### *LncRNA-Smad7--*

Όσον αφορά το LncRNA-Smad7, είναι γνωστό ότι, επάγεται από τον TGF-beta σε όλα τα επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένου και στις κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού(Kong et al., 2022). Αναστέλλει την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων με την έκφρασή του σε επιθηλιακά κύτταρα του μαστού και σε αντίστοιχες κυτταρικές σειρές(Y et al., 2015). Η καταστολή αυτού του lncRNA εξουδετέρωσε την αντι-αποπτωτική λειτουργία του TGF-β. Αντίθετα, η έκτοπη έκφραση του LncRNA-Smad7 διέσωσε την απόπτωση που προκαλείται από έναν αναστολέα του υποδοχέα TGF-β. Ωστόσο, η συμβολή αυτού του lncRNA φαίνεται να περιορίζεται στην απόπτωση, καθώς η αποκοπή του δεν επηρέασε την επαγόμενη από τον TGF-β μετάβαση από επιθηλιακή σε μεσεγχυματική, τη φωσφορυλίωση του Smad2 ή την έκφραση του γονιδίου Smad7(Arase et al., 2014). Το εύρημα αυτό υποδηλώνει έναν ογκογόνο ρόλο αυτού του lncRNA, αν και πρέπει να αποσαφηνιστεί περαιτέρω ο λεπτομερής μηχανισμός.

#### *MALAT1--*

Το lncRNA MALAT1 έχει συσχετιστεί κυρίως με το αδenoκαρκίνωμα του πνεύμονα, ωστόσο έχει ταυτοποιηθεί η εμπλοκή του και στον καρκίνο του μαστού, μέσω προαγωγής τόσο του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, όσο και της μετάστασής τους(Agun & Spector, 2019).

Αυξημένα επίπεδα έκφρασης του MALAT1 έχουν συσχετιστεί αρνητικά με συγκεκριμένους υποτύπους της νόσου, όπως είναι ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού(Barsoum et al., 2020). Η παραπάνω μελέτη ερευνά την εμπλοκή του MALAT1 στον καρκίνο αυτό μέσω ρύθμισης του miR-182-5p, ενός μικρού μη κωδικού μορίου RNA, και της μεσοθηλίνης (MSLN), μιας πρωτεΐνης με αυξημένα επίπεδα σε διάφορους τύπους καρκίνου.

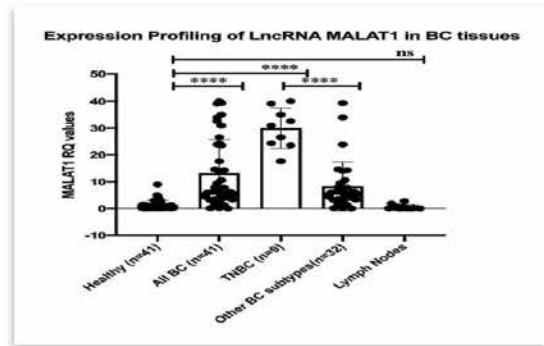
Όσον αφορά τα επίπεδα έκφρασης του MALAT1, αυτά ανιχνεύθηκαν – με PCR πραγματικού χρόνου – υπεραυξημένα σε ιστούς καρκίνου του μαστού συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες, χωρίς το ίδιο να ισχύει και σε λεμφαδενικές μεταστατικές εστίες.

Επιπλέον, αξιολογήθηκε η επιγενετική ρύθμιση της MSLN από τα nc-RNAs, καθώς φαίνεται ότι η έκφρασή της επηρεάζεται από αυτά. Το MALAT1 αλληλεπιδρά με το miR-182-5p, ογκογόνο miRNA που υπερεκφράζεται στον καρκίνο του μαστού και από κοινού οδηγούν σε ενίσχυση της έκφρασης της MSLN. Αντίθετα η αποσιώπηση του MALAT1 οδήγησε σε σημαντική μείωση της έκφρασης της MSLN.

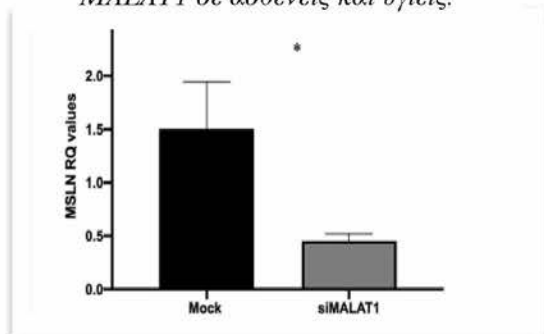
Ωστόσο, η εμπλοκή του μορίου αυτού στον καρκίνο του μαστού είναι περίπλοκη, εξαιτίας κυρίως της ύπαρξης πολλών αντικρουόμενων μελετών. Κάποιες σχετικές μελέτες υποστηρίζουν ότι τα υψηλά επίπεδα του lncRNA δρουν προστατευτικά έναντι του καρκίνου του μαστού, και μάλιστα σε ορισμένους ασθενείς η νόσος φαίνεται να έχει εξαλειφθεί (J. Kim et al., 2018), (Eastlacket al., 2018).

### 3.2 lncRNAs και αναστολή του καρκίνου του μαστού

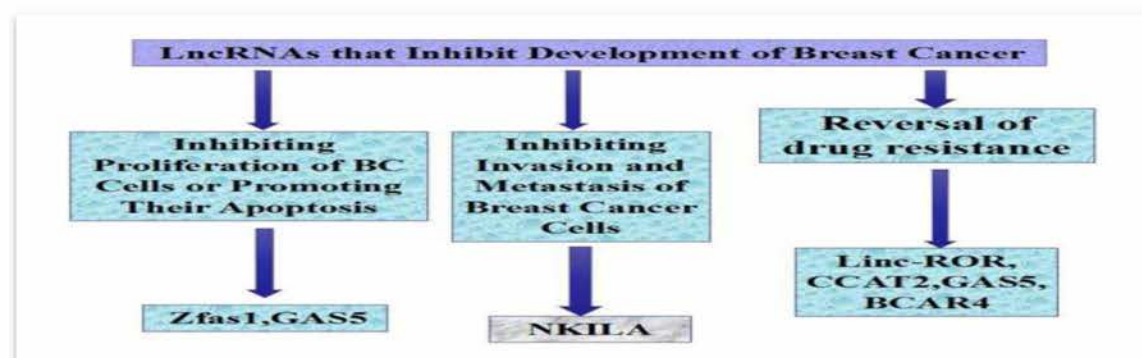
Ελάχιστες είναι οι μελέτες που έχουν επικεντρωθεί στη συστηματική ταυτοποίηση των lncRNAs που διαδραματίζουν ογκοκατασταλτικό ρόλο στον καρκίνο του μαστού. Τα lncRNAs που λειτουργούν κατασταλτικά ενάντια στον όγκο και σχετίζονται με καλή πρόγνωση της εξέλιξης της νόσου είναι επίσης λίγα (Pang et al., 2019a). Τα περισσότερα lncRNAs, τα οποία μελετώνται για την ογκοκατασταλτική τους δράση είναι μόρια που σημειώνονται υποεκφραζόμενα ή ανασταλμένα σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού.



Εικόνα 12: Επίπεδα έκφρασης του MALAT1 σε ασθενείς και υγιείς.



Εικόνα 13: Η έκφραση της MSLN μετά από knock down του MALAT1.



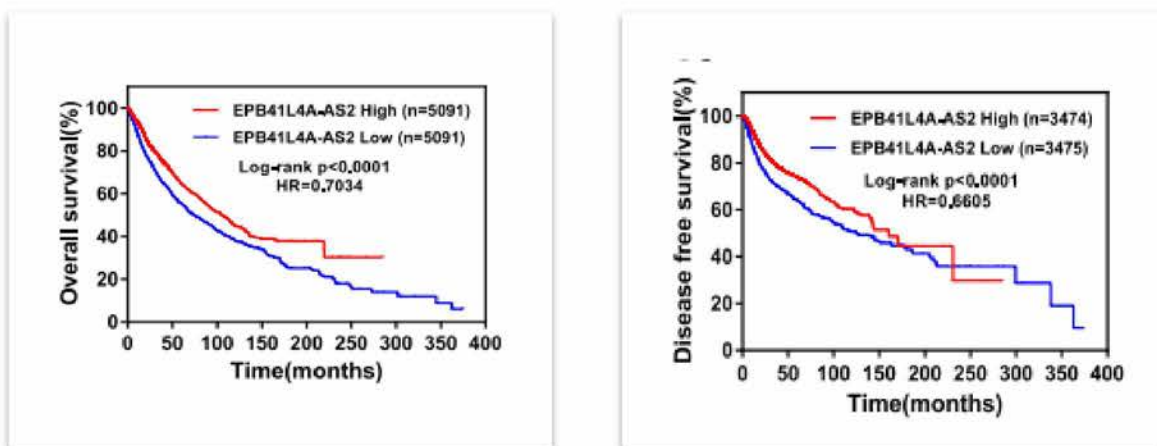
Εικόνα 14: Μακρά μη κωδικά μόρια RNA με ογκοκατασταλτική δράση(Bin et al., 2018)

Οι βιολογικές λειτουργίες των μακρών μη κωδικών μορίων RNA που σχετίζονται με την αναστολή των όγκων στον καρκίνο του μαστού δεν έχουν μελετηθεί ακόμα πλήρως. Πρόσφατη μελέτη(Pang et al., 2019b) εξετάζει την ογκοκατασταλτική δράση ορισμένων lncRNAs στον καρκίνο του μαστού. Για τον εντοπισμό των ογκοκατασταλτικών lncRNAs χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα αλληλούχισης του μεταγραφώματος δειγμάτων του μαστού συνδυαστικά με δεδομένα της βάσης “The Cancer Genome Atlas”. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής είναι τα εξής:

(α) Ταυτοποιήθηκαν 11 lncRNAs με μειωμένη έκφραση σε ιστό καρκίνου του μαστού συγκριτικά με των υγιών μαρτύρων, 8 από τα οποία παρουσιάζουν υψηλή στατιστική σημαντικότητα (WWC2-AS2, WEE2-AS1, TRHDE-AS1, TPT1-AS1, PGM5-AS1, HAND2-AS1, GRIK1-AS1 και EPB41L4A-AS2).

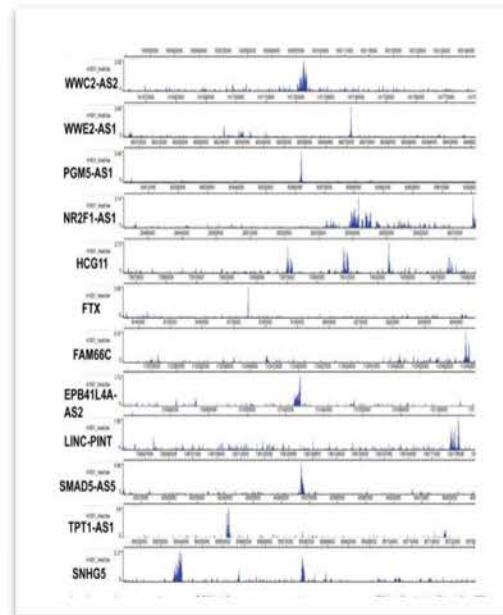
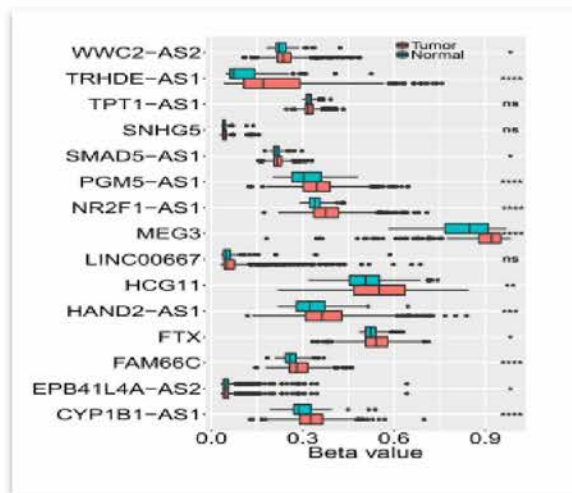
(β) Πέντε από αυτά τα lncRNAs (WEE2-AS1, TPT1-AS1, PGM5-AS1, GRIK1-AS1 και EPB41L4A-AS2) ανιχνεύθηκαν σε σημαντικά υψηλότερα ποσοστά σε ασθενείς πρώιμου σταδίου καρκίνου του μαστού, συγκριτικά με ασθενείς προχωρημένου σταδίου.

(γ) Όσον αφορά τη σχέση των μορίων αυτών με την πρόγνωση των ασθενών, ελέγχθηκε η επιβίωση άνευ νόσου και η ολική επιβίωση. Η αυξημένη έκφραση των μορίων αυτών σε ασθενείς με καρκίνο σχετίζονται με πιο ευνοϊκή πρόγνωση.



Εικόνα 15: Η επίδραση των ογκοκατασταλτικών lncRNAs στην ολική και στην άνευ νόσου επιβίωση των ασθενών.

(δ) Τα lncRNAs διερευνήθηκαν όσον αφορά τις επιγενετικές τροποποιήσεις: παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα μεθυλίωσης τόσο του DNA όσο και των ιστονών στους καρκινικούς ιστούς σε σχέση με τους υγιείς.



Εικόνα 16: Συγκριτικά επίπεδα μεθυλίωσης DNA & ιστών σε καρκινικούς και υγιείς ιστούς

Αναλυτικότερα κάποια από τα lncRNAs με ογκοκατασταλτική δράση:

#### *LET--*

Ένα lncRNA με μελετημένη ογκοκατασταλτική δράση είναι το LET. Το lncRNA αυτό φαίνεται να υπορρυθμίζεται σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Μάλιστα, η αυξημένη έκφρασή του σε καρκινικά κύτταρα του μαστού έχει συσχετιστεί με καταστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων αυτών. Ακόμα, υποστηρίζεται ότι η υπερέκφραση του lncRNA LET μπορεί να προωθήσει την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και συνεπώς δρα ογκοκατασταλτικά (Pang et al., 2019a).

#### *SONE--*

Το lncRNA SONE είναι ένα πιθανό ογκοκατασταλτικό γονίδιο. Αυτό το μόριο έχει κυρίως συσχετιστεί με τον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού (Jin et al., 2021e). Η μείωση της έκφρασης του lncRNA SONE οδηγεί σε σημαντική μείωση των επιπέδων της πρωτεΐνης όγκου p53 (TP53) και σε αύξηση της έκφρασης του c-Myc, με συνέπεια τη μεταβολή της έκφρασης των ογκοκατασταλτικών μορίων miR-34a, miR-15a, miR-16 και let-7a (Youness et al., 2019). Συνεπώς η μειωμένη έκφρασή του συνεπάγεται προώθηση του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων του μαστού, καθιστώντας το μόριο με ογκοκατασταλτική δράση.

#### *MAGI2-AS3--*

Το MAGI2 antisense RNA 3 (MAGI2-AS3) εκφράζεται σε πολλούς ανθρώπινους καρκίνους και το επίπεδο έκφρασης του MAGI2-AS3 σχετίζεται με την εξέλιξη και την πρόγνωση των καρκίνων. Η δυσλειτουργία του MAGI2-AS3 ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, τον κυτταρικό θάνατο, την εισβολή και τη μετάσταση και την αντίσταση στη θεραπεία, λειτουργώντας ως ανταγωνιστικό ενδογενές RNA (ceRNA), επιγονιδιωματικός ρυθμιστής και μεταγραφικός ρυθμιστής(Kai-xing et al., 2021). Το lncRNA MAGI2-AS3 εκφράζεται χαμηλά στον ιστό του καρκίνου του μαστού και δρα ως cis-ρυθμιστικό στοιχείο που ρυθμίζει το επίπεδο μεθυλίωσης του DNA στην περιοχή υποκινητή του MAGI2. Η υπερέκφραση του MAGI2-AS3 ή του MAGI2 σε κύτταρα MCF-7 μπλοκάρει το μονοπάτι Wnt/ $\beta$ -κατενίνης και αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση(X. Xu et al., 2021).

#### *PTCSC3--*

Το lncRNA PTCSC3 ρυθμίζεται καθοδικά στους καρκινικούς ιστούς ασθενών με τριπλά αρνητικό καρκινικό υπότυπο του μαστού(N. Wang et al., 2019). Το lncRNA H19, που προωθεί την καρκινογένεση, συσχετίζεται αρνητικά με το PTCSC3 στον καρκινικό ιστό και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού. Η υπερέκφραση του PTCSC3 οδηγεί σε μείωση του επιπέδου του H19 στα κύτταρα TNBC, ενώ η ρύθμιση του H19 προς τα πάνω δεν έχει καμία επίδραση στην έκφραση του PTCSC3(Raveh et al., 2015). Αυτό το αποτέλεσμα υποδεικνύει ότι το lncRNA PTCSC3 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων TNBC μέσω της μείωσης της ρύθμισης του lncRNA H19.

#### *EPB41L4A-AS2--*

Το EPB41L4A-AS2, ένα από τα επαληθευμένα μόρια με ογκοκατασταλτικό ρόλο στον καρκίνο του μαστού. Επιπλέον, το EPB41L4A-AS2 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή των καρκινικών κυττάρων του μαστού και προκαλεί την απόπτωση των κυττάρων. Σε κάποιο βαθμό, το EPB41L4A-AS2 λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικός παράγοντας ρυθμίζοντας την έκφραση γονιδίων με κρίσιμο ρόλο στον καρκίνο του μαστού(Shu et al., 2018). Μελέτη της έκφρασης του EPB41L4A-AS2 σε ιστούς καρκίνου του μαστού συσχετίζει την υψηλή έκφρασή του με ευνοϊκή έκφραση της νόσου. Ακόμα υποστήριξε ότι η υπερέκφρασή του σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού αναστέλλει τον σχηματισμό του όγκου και έχει προγνωστική αξία στην κλινική διαχείριση κακοηθειών του μαστού(S. Xu et al., 2016).

#### *MEG3--*

Το MEG3 αποτελεί το πρώτο lncRNA που ταυτοποιήθηκε ως ογκοκατασταλτικός παράγοντας (Y. He et al., 2017). Συγκεκριμένα, το μόριο αυτό καταστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την εισβολή και την αγγειογένεση μέσω του μονοπατιού AKT ή της μεταγραφικής δραστηριότητας του p53 στον καρκίνο του μαστού. Η υπερέκφραση οδηγεί σε σημαντική αύξηση της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων του μαστού (Y. He et al., 2017). Έχει διαπιστωθεί απώλεια της έκφρασης του MEG3 στην πλειονότητα των καρκινικών κυτταρικών σειρών, ενώ μάλιστα τα μειωμένα επίπεδα έκφρασής του σχετίζονται με αυξημένο μεταστατικό δυναμικό (Deocesano-Pereira et al., 2019). Αντίθετα, η αυξημένη έκφρασή του αναστέλλει την κυτταρική διείσδυση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στην περίπτωση του όγκου (C. Y. Zhang et al., 2017). Ως εκ τούτου, πρόκειται για μόριο βιοδείκτη με σημαντική κλινική αξία στη διάγνωση και θεραπεία τόσο του καρκίνου του μαστού, όσο και άλλων ειδών καρκίνου.

#### *GAS5--*

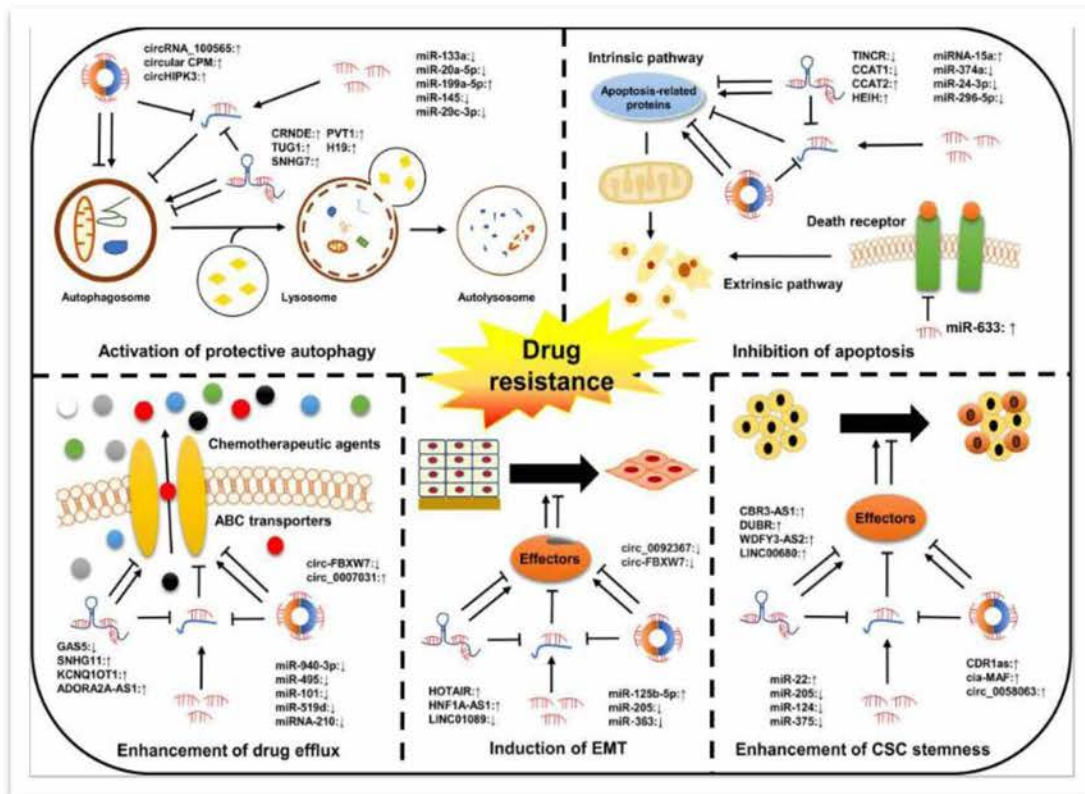
Ένα ακόμα μακρό μη κωδικό μόριο RNA με ογκοκατασταλτική δράση στον καρκίνο του μαστού είναι το GAS5. Το lncRNA αυτό ρυθμίζεται καθοδικά σε πολλούς ασθενείς διάφορων καρκινικών τύπων (Goustin et al., 2019). Ο μηχανισμός δράσης του αφορά την ενεργοποίηση πρωτεϊνών και μορίων miRNA. Συγκεκριμένα, δεσμεύει ογκογόνα μόρια, τα οποία σε παθολογική κατάσταση καταστέλλουν την έκφρασή του. Επιπλέον, το lncRNA αυτό παρουσιάζεται τροποποιημένο επιγενετικά στον όγκο, καθώς φαίνεται να μεθυλιώνεται ο υποκινητής του και συνεπώς να μειώνεται ή να καταστέλλεται η έκφρασή του (Filippova et al., 2021).

#### *Zfas1--*

Το Zfas1 είναι ένα lncRNA το οποίο εντοπίζεται εντός των αγωγών και των κυψελίδων του μαστικού αδένου. Το μόριο αυτό εμπλέκεται στην ανάπτυξη του μαστικού αδένου. Η απενεργοποίηση του Zfas1 σε επιθηλιακά κύτταρα του μαστού είχε ως αποτέλεσμα αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και η έκφραση του Zfas1 σε καρκινικά κύτταρα του μαστού είναι μειωμένη σε σχέση με τους φυσιολογικούς ιστούς του μαστού (Ghafouri-Fard, Kamali, et al., 2021). Επομένως, ο Zfas1 είναι ένας νέος και δυναμικός κατασταλτικός παράγοντας του καρκίνου του μαστού, ο οποίος απαιτεί μελλοντική έρευνα για τη διευκρίνιση της συγκεκριμένης λειτουργίας και του μηχανισμού του στην καρκινογένεση του μαστού (Sharma et al., 2021).

### **3.3 lncRNAs και αντίσταση στη θεραπεία**

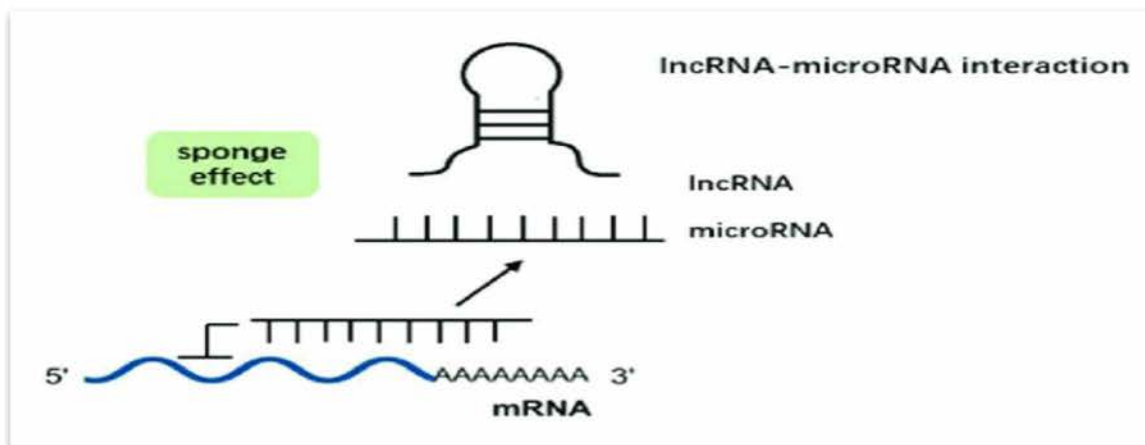
Στην πρόσφατη βιβλιογραφία έχει αναγνωριστεί η εμπλοκή των lncRNAs στην αντίσταση ή στην ευαισθησία απέναντι στις θεραπείες που αναπτύσσονται για την αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού (Singh et al., 2022). Η τρέχουσα έρευνα μελετά με εντατικό ρυθμό τη σημασία των μορίων αυτών στην αντίσταση έναντι των αντικαρκινικών φαρμάκων, προκειμένου να περιγραφούν επακριβώς οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στο φαινόμενο αυτό. Πρόκειται στην ουσία για μια σειρά μηχανισμών, μέσω των οποίων τα μόρια: δρουν ως ceRNAs για συγκεκριμένα miRNAs και μεταβάλλουν την έκφραση των στόχων, ρυθμίζουν την αντίσταση με τη μεταφορά από εξωσώματα, τροποποιούν την κυτταρική απόπτωση ή την αυτοφαγία, ρυθμίζουν την εκροή φαρμάκων μέσω των μεταφορέων ABC, ενεργοποιούν τη διαδικασία EMT και στοχεύουν κοινά σηματοδοτικά μονοπάτια (Du et al., 2020). Οι περισσότερες μελέτες στοχεύουν στον εντοπισμό εκείνων των lncRNAs που έχουν λειτουργικό ρόλο στους παραπάνω μηχανισμούς.



Εικόνα 17: Βασικοί μηχανισμοί αντίστασης των lncRNA στα φάρμακα: εκροή φαρμάκων, κυτταρική απόπτωση, αυτοφαγία, EMT, απόκτηση χαρακτηριστικών CSC (Zhou et al., 2022a).

## CeRNAs

Τα lncRNAs επιδρούν στα miRNAs, ρυθμίζοντας τα επίπεδα έκφρασής τους. Δρουν ως «μοριακά σφουγγάρια» –ceRNAs – και προσδένονται ανταγωνιστικά στα miRNAs, καταστέλλοντας την έκφρασή τους(Qiao et al., 2022).



Εικόνα 18: Η σύνδεση των lncRNA στα microRNA στόχους εμποδίζει τη σύνδεση microRNA-mRNA καταστέλλοντας τη μετα-μεταγραφική ρύθμιση(Qiao et al., 2022).

Ταυτόχρονα, τα συγκεκριμένα lncRNAs σχετίζονται και με την αντίσταση στη θεραπεία με τον εξής τρόπο: ορισμένα από αυτά στοχεύουν κάποια μόρια miRNA και η αλλαγή στην έκφραση που προκαλείται οδηγεί στην αντίσταση σε αντικαρκινικά φάρμακα(Guil & Esteller, 2015). Συνεπώς, η αναγνώριση των μορίων αυτών είναι σημαντική, καθώς ρυθμίζοντας την έκφρασή τους σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού, θα μπορούσε να ρυθμιστεί η απόκριση των ασθενών στη θεραπεία. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται κάποια μόρια lncRNAs με μελετημένη δράση στην αντίσταση στη θεραπεία, καθώς και τα μοτίβα έκφρασης, οι στόχοι τους και τα φάρμακα, των οποίων επηρεάζουν το πρότυπο έκφρασης.

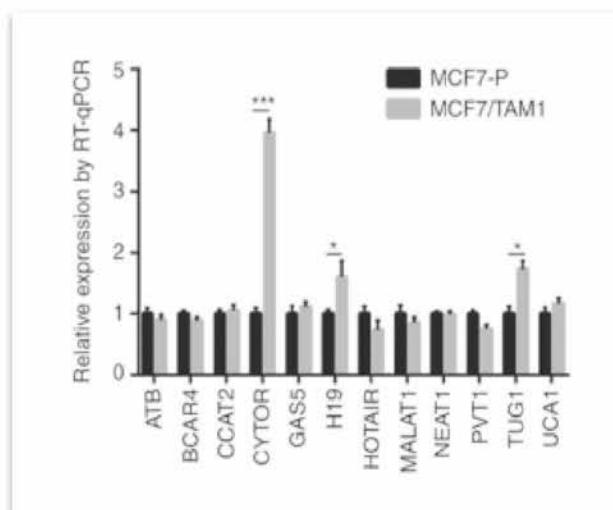
lncRNA	Expression patterns	Target	Expression pattern drug
DAMTS9-AS2	downregulation	miR-130a-5p	Tamoxifen
ATB	Upregulation	miR-200c	Trastuzumab
CASC2	Upregulation	miR-18a-5p	Paclitaxel
CYTOR	Upregulation	miR-125a-5p	Tamoxifen
DSCAM-AS1	Upregulation	miR-137	Tamoxifen
FTH1P3	Upregulation	miR-206	Paclitaxel
GAS5	Downregulation	miR-222, miR-378a-5p	tamoxifen, paclitaxel, trastuzumab, adriamycin



<b>Linc00518</b>	Upregulation	miR-199a	adriamycin, paclitaxel, vincristine
<b>NONHSAT101069</b>	Upregulation	miR-129-5p	Epirubicin
<b>ROR</b>	Upregulation	miR-194-3p, miR-205-5p	tamoxifen, mTOR inhibitor (rapamycin), paclitaxel, 5-FU
<b>TINCR</b>	Upregulation	miR-125b	Trastuzumab
<b>UCA1</b>	Upregulation	miR-18a	trastuzumab, tamoxifen

Πίνακας 1: Αντίσταση στη θεραπεία μέσω επίδρασης των lncRNAs στα miRNAs (Du et al., 2020), (Jin et al., 2021b), (Zhou et al., 2022b)

Τα ceRNAs έχουν αναγνωριστεί για τον ρόλο που κατέχουν στην αντίσταση στη θεραπεία και συγκεκριμένα στην ενδοκρινική θεραπεία. Η ταμοξιφένη αποτελεί χαρακτηριστική ουσία με χρήση στην θεραπεία του ορμονοεξαρτώμενου καρκίνου του μαστού, ενώ η αναστολή της δράσης της αποτελεί σημαντικό εμπόδιο. Μελέτη σε καρκινικά κύτταρα του μαστού εξετάζει την αναστολή της δράσης της ταμοξιφένης από το CYTOR – ρυθμιστικό lncRNA του κυτταροσκελετού. Το μόριο αυτό εμπλέκεται στην αντίσταση στην ενδοκρινική θεραπεία μέσω της δράσης του ως ceRNA στο miR-125a-5p. Συγκεκριμένα, στην μελέτη αυτή ταυτοποιήθηκε η αλληλεπίδραση των δύο μη κωδικών μορίων RNA σε καρκινική κυτταρική σειρά του μαστού MCF7, ανθεκτική στην ταμοξιφένη. Αρχικά, ταυτοποιήθηκε η εμπλοκή των lncRNAs στην αντίσταση στην ταμοξιφένη και με ποσοτική PCR αντίστροφης μεταγραφής ανιχνεύθηκε η έκφραση μακρών μη κωδικών μορίων RNA, που έχουν χαρακτηριστεί ως ογκογονίδια ή ογκοκαταστολείς. Βρέθηκαν 12 lncRNA με διαφορετική έκφραση σε καρκινικές σειρές ανθεκτικές και μη στην ταμοξιφένη, μεταξύ των οποίων το CYTOR παρουσίαζε σημαντικά αυξημένη έκφραση. Η αποσιώπησή του ευαισθητοποίησε τις ανθεκτικές σε ταμοξιφένη καρκινικές σειρές.

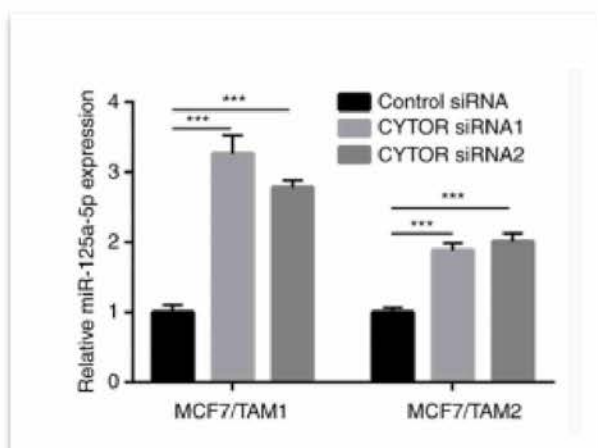


Εικόνα 19: Η έκφραση ογκοσυσχετιζόμενων lncRNAs σε καρκινικές σειρές ανθεκτικές και μη στην ταμοξιφένη.

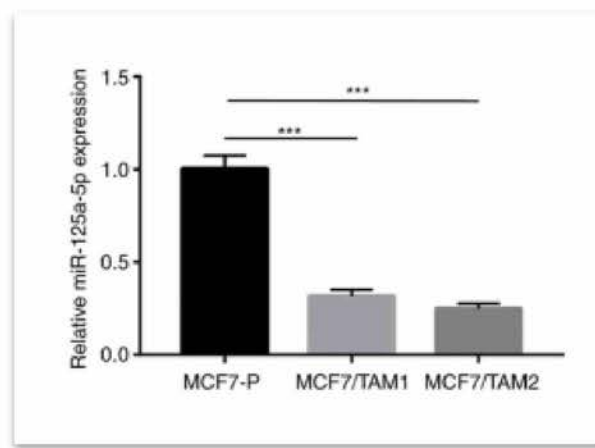


Εικόνα 20: Θέσεις πρόσδεσης miR-125a-5p σε CYTOR

Όσον αφορά τον μηχανισμό με τον οποίο το CYTOR οδηγεί σε αντίσταση στην ταμοξιφένη, φαίνεται το miR-125a-5p διαθέτει θέσεις πρόσδεσης για το CYTOR και ρυθμίζεται από αυτό σε καρκινικά κύτταρα του μαστού. Τα επίπεδα έκφρασης του miR-125a-5p συσχετίστηκαν αρνητικά με την έκφραση του CYTOR, ενώ σε καρκινικές σειρές ανθεκτικές στην ταμοξιφένη, όπου το CYTOR υπερεκφράζεται, παρουσιάζει μειωμένη έκφραση συγκριτικά με ευαίσθητες στην ταμοξιφένη καρκινικές σειρές.

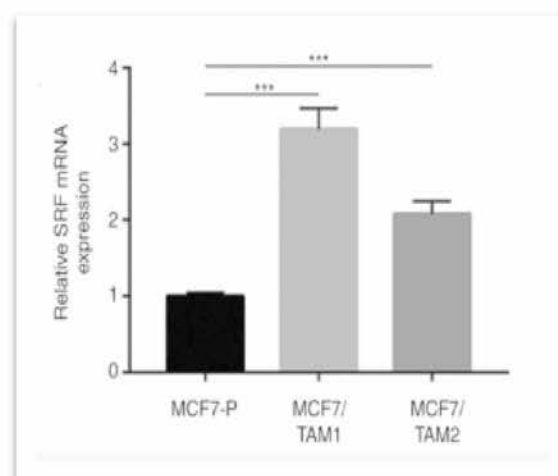


Εικόνα 21: Η έκφραση του miR-125a-5p σε ανθεκτικές σε ταμοξιφένη καρκινικές σειρές, έπειτα από αποσιώπηση του CYTOR



Εικόνα 22: Η έκφραση του miR-125a-5p σε ανθεκτικές και μη σε ταμοξιφένη καρκινικές σειρές

Η διαμεσολαβούμενη από CYTOR αντίσταση στην ταμοξιφένη δείχνει να οφείλεται στη ρύθμιση του μορίου SRF -ρυθμιστής του μονοπατιού MAPK/ERK- μέσω της αλληλεπίδρασης του με το miR-125a-5p. Είναι ενδιαφέρον ότι διαπιστώθηκε ότι η υπερέκφραση του SRF μείωσε την ευαισθησία στην ταμοξιφένη στα κύτταρα MCF7. Η αποσιώπηση του CYTOR μείωσε τα επίπεδα mRNA του SRF στα κύτταρα MCF7/TAM1 και MCF7/TAM2, τα οποία αντιστράφηκαν μετά την αναστολή του miR-125a-5p (Yungyong Liu et al., 2020).



Εικόνα 23: Η έκφραση του mRNA SRF σε ανθεκτικές και μη σε ταμοξιφένη καρκινικές σειρές

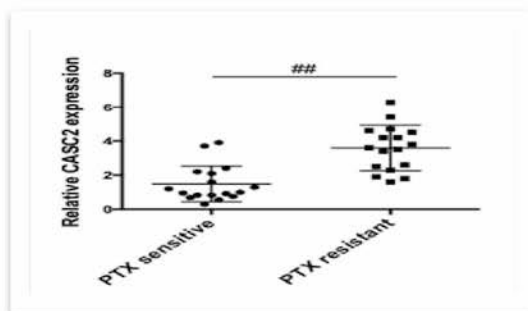
Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η μελέτη σχετικά με την εμπλοκή του CASC2 στην αντίσταση στη χημειοθεραπεία, μέσω αλληλεπίδρασης με το miR-18a-5p (Zheng et al., 2019). Πρόκειται για μελέτη που περιλαμβάνει καλλιέργεια κυττάρων και επαγωγή αντοχής στην πακλιταξέλη, διαμόλυνση πλασμιδίου, προσδιορισμός της ευαισθησίας στην πακλιταξέλη, δημιουργία μοντέλων ποντικών ξενομοσχεύματος, εκχύλιση και ποσοτικοποίηση RNA και ποσοτική ανάλυση με real time PCR, western blot και στατιστική ανάλυση. Συγκεκριμένα, μεταξύ άλλων, ελέγχθηκε το πρότυπο έκφρασης του CASC2 σε καρκινικούς ιστούς του μαστού δύο υποομάδων, ευαίσθητων και μη στην πακλιταξέλη. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής είναι τα εξής:

Η έκφραση του CASC2 ήταν αυξημένη στους ανθεκτικούς στην πακλιταξέλη καρκινικούς ιστούς, συγκριτικά με τους μη ανθεκτικούς. Φαίνεται λοιπόν ότι αυτό το μόριο εμπλέκεται στην αντίσταση στη χημειοθεραπεία.

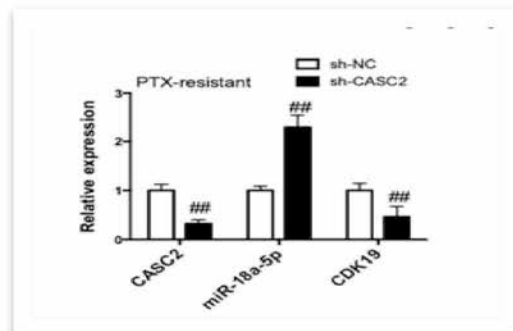
Μέσω βιοπληροφορικής ανάλυσης, μελετήθηκε ο μηχανισμός με τον οποίο το CASC2 εμπλέκεται στην απόκτηση ανθεκτικότητας στην πακλιταξέλη. Αυτό συμβαίνει μέσω της αλληλεπίδρασής του με το miR-18a-5p. Με δοκιμασία λουσιφεράσης, αξιολογήθηκε η αλληλεπίδραση των δύο μορίων, καθώς φαίνεται ότι αλληλορυθμίζονται αρνητικά. Η εισαγωγή μιμητικών miR-18a-5p μειώνει την έκφραση του CASC2, καθώς και την αντίσταση στην πακλιταξέλη, ενώ φαίνεται ότι η υπορρύθμισή του εμπλέκεται στην αντίσταση στη θεραπεία. Η αλληλεπίδρασή τους οδηγεί στη θετική ρύθμιση της CDK19, η οποία προωθεί την αντίσταση στην πακλιταξέλη.

#### Εξωσώματα

Τα εξωσώματα είναι εξωκυτταρικά κυστίδια, με βασικό ρόλο στην επικοινωνία των καρκινικών κυττάρων, καθώς είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά λιπιδίων, πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και lncRNAs. Τα εξωσώματα επηρεάζουν την ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων στα φάρμακα μέσω της αλληλεπίδρασής τους με τα lncRNAs (F. Chen et al., 2019a). Μόρια lncRNAs προάγουν την αντίσταση των καρκινικών κυττάρων σε συγκεκριμένα φάρμακα, μέσω της ενσωμάτωσής τους και της μεταφοράς τους από τα εξωσώματα (Guil & Esteller, 2015). Τέτοια μόρια είναι τα lncRNAs H19, UAC1 και AGAP2-AS1, τα οποία συμμετέχουν στην αντίσταση στη θεραπεία με ποικίλους μηχανισμούς (Du et

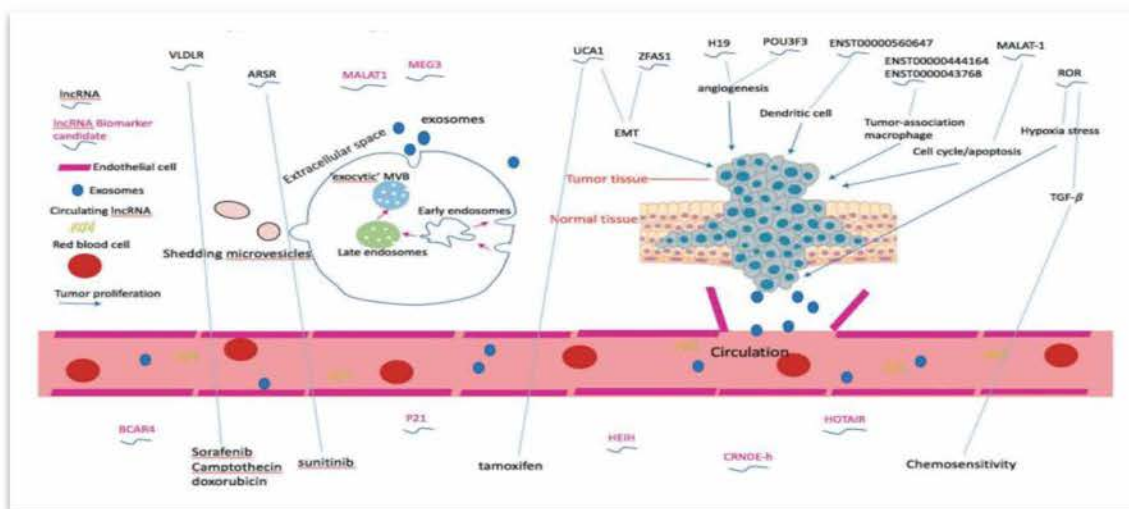


Εικόνα 24: Τα επίπεδα έκφρασης του CASC2 σε καρκινικούς ιστούς ευαίσθητους και μη στην πακλιταξέλη.



Εικόνα 25: Επίπεδα έκφρασης των CASC2, miR-18a-5p & CDK19 σε κύτταρα ανθεκτικά στην πακλιταξέλη.

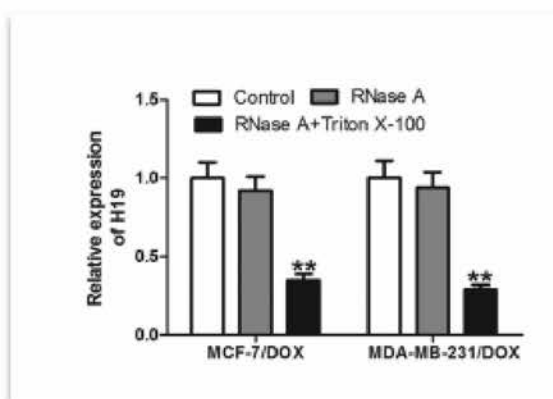
al., 2020): εξωσώματα που εξέρχονται από τα καρκινικά κύτταρα του μαστού και μεταφέρονται στο μικροπεριβάλλον του όγκου, απελευθερώνοντας lncRNAs που επιταχύνουν την εξέλιξη του όγκου, προωθούν την αγγειογένεση, την ανοσολογική διαφυγή, και έτσι, και την αντίσταση στη θεραπεία. Τα εξωσώματα αυτά μεταφέρουν υψηλή ποσότητα του περιεχομένου τους σε γειτονικά υγιή κύτταρα με αποτέλεσμα τη μεταβολή του φαινοτύπου τους (F. Chen et al., 2019b).



Εικόνα 26: Η συμμετοχή των εξωσωμάτων στην αντίσταση στη θεραπεία (F. Chen et al., 2019b)

Μελέτη που αφορά το εξωσωμικό lncRNA H19 υποστηρίζει τη συμμετοχή του στη μείωση της αντίστασης στην δοξορουμπικίνη (X. Wang et al., 2020). Αρχικά ελέγχθηκε η εμπλοκή του H19 στην αντίσταση στην δοξορουμπικίνη και βρέθηκε ότι η αυξημένη έκφρασή του σχετίζεται με ανθεκτικότητα στη θεραπεία, ενώ η μείωση των επιπέδων έκφρασής του συσχετίστηκε με ευαισθητοποίηση στην δοξορουμπικίνη.

Στη συνέχεια, προσδιορίστηκε η μορφή με την οποία το H19 lncRNA βρίσκεται στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Συγκεκριμένα, ελέγχθηκαν τα επίπεδα του H19 σε μέσο καλλιέργειας με RNάση και σε μέσο καλλιέργειας με RNάση και Triton X. Στην πρώτη περίπτωση, τα επίπεδα του H19 παρέμειναν σχεδόν σταθερά, ενώ στη δεύτερη παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων. Φάνηκε, λοιπόν ότι το H19 περιβαλλόταν από κυστίδιο με δομή εξωσώματος. Ακόμα, ανιχνεύθηκαν εξωσωματικοί δείκτες TSG101 & CD63.



Εικόνα 27: Επίπεδα έκφρασης του H19 σε διαφορετικά καλλιεργητικά μέσα.

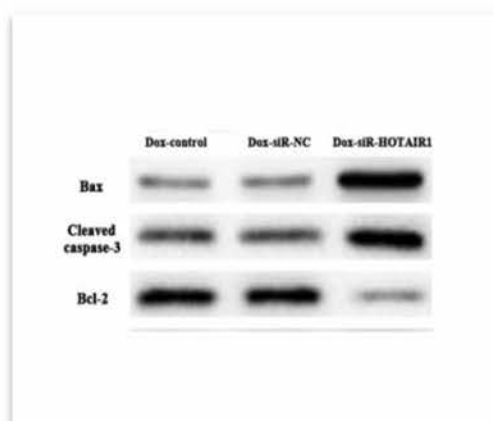
Τέλος, ιδιαίτερα κρίσιμο ήταν το εύρημα ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά για τα επίπεδα H19 μεταξύ των εξωσωμάτων και ολόκληρου του μέσου καλλιέργειας. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι η εξωκυτταρική ποσότητα του H19 απελευθερώθηκε μέσω εξωσωμάτων καθώς και ότι τα εξωσώματα είναι ο κύριος φορέας της εξωκυτταρικής H19.

#### Απόπτωση

Τα lncRNAs εμπλέκονται στην αντίσταση στη θεραπεία επίσης μέσω της απόπτωσης. Μια μη ισορροπημένη σχέση μεταξύ των παραγόντων που λειτουργούν αντίστοιχα υπέρ ή κατά της απόπτωσης οδηγεί στην απορρύθμιση της διαδικασίας αυτής, γεγονός που ενισχύει την καρκινογένεση (Jin et al., 2021c). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το LINP1, το οποίο μειώνει την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων μέσω αναστολής κασπασών, αυξάνοντας έτσι τη δυνατότητα επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων (Liang et al., 2018). Το MEG3 φαίνεται ότι σε μειωμένα επίπεδα ελαττώνει την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων, αυξάνοντας την αντίσταση των καρκινικών κυττάρων στη θεραπεία (Deocesano-Pereira et al., 2019). Το HOTAIR ρυθμίζεται ανοδικά σε κύτταρα καρκίνου του μαστού, ενώ η αποσιώπησή του προάγει την απόπτωση των κυττάρων, στοχεύοντας κασπάσες. Τα αυξημένα επίπεδα αυτού του lncRNA σε κύτταρα του όγκου έχουν συσχετιστεί με αναστολή της απόπτωσης και μείωση της ευαισθησίας στη θεραπεία (Mozdarani et al., 2020).

Μελέτη (Z. Li et al., 2019) διερεύνησε τον ρόλο του HOTAIR στη ρύθμιση της ανθεκτικότητας του όγκου του μαστού στην δοξορουβικίνη με χρήση της καρκινικής κυτταρικής σειράς του μαστού MCF-7, αλλά και της ανθεκτικής στην δοξορουβικίνη σειράς MCF-7. Με PCR ανιχνεύθηκε η έκφραση πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην απόπτωση, με σκοπό τον έλεγχο του ρυθμού απόπτωσης ανάλογα με την έκφραση του HOTAIR.

Τα δεδομένα έδειξαν ότι η αποσιώπηση του HOTAIR μείωσε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αύξησε την απόπτωση των κυττάρων και των δύο σειρών. Συγκεκριμένα, ανιχνεύθηκαν αυξημένα επίπεδα έκφρασης της BAX και της κασπάσης-3, ενώ μειωμένα επίπεδα έκφρασης σημειώθηκαν για την Bcl-2. Η αποσιώπηση του HOTAIR, με τη χρήση του αντίστοιχου siRNA, συνεπώς μειώνει την ανθεκτικότητα στην δοξορουβικίνη, λόγω της σημαντικής αύξησης του ποσοστού απόπτωσης των κυττάρων.



Εικόνα 28: Η επίδραση της αποσιώπησης του HOTAIR σε πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην απόπτωση.

Η μελέτη αυτών των lncRNAs και γενικά όσων επηρεάζουν την ευαισθησία στην θεραπεία μέσω της απόπτωσης είναι πολύ σημαντική για την κατάλληλη ρύθμιση της έκφρασής τους.

#### *Εκροή φαρμάκων*

Ορισμένα lncRNAs προάγουν την πολλαπλή αντίσταση στην θεραπεία (MDR), ενεργοποιώντας αντλίες εκροής φαρμάκων μέσω στόχευσης των μεταφορέων ABC στον καρκίνο του μαστού. Αυτή η ρύθμιση είναι η βασική αιτία για την ανάπτυξη MDR στους περισσότερους τύπους καρκίνου, ανάμεσά τους και στον καρκίνο του μαστού (J. He et al., 2021). Η συσχέτιση των lncRNAs με την MDR έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς η αντίσταση στη θεραπεία αποτελεί ένα από τα βασικά εμπόδια της καταπολέμησης της νόσου. Πολλές μελέτες στην τρέχουσα έρευνα ασχολούνται με την ταυτοποίηση τέτοιων μορίων: το H19 είναι ένα από αυτά, καθώς στοχεύει τον υποδοχέα MDR1 και αυξάνει την αντίσταση στην δοξουκυκλίνη (Ghafouri-Fard, Shoorei, et al., 2021). Το LINC00968 στοχεύει το MRP1 για την αντιστροφή της αντίστασης στη θεραπεία, συνεπώς πρόκειται για μόριο που θα μπορούσε να ρυθμιστεί κατάλληλα για την αξιοποίηση της θεραπευτικής του δράσης έναντι του καρκίνου του μαστού (Xiu et al., 2019). Το HOTAIR έχει επίσης αντικαρκινική δράση, καθώς μειώνει την έκφραση των υποδοχέων φαρμάκων MDR1, MRP1 και ABCB1 και την αντίσταση στην δοξουκυκλίνη και στην τραστουζουμάμπη (Zhou et al., 2022b).

#### **3.4 lncRNAs ως βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού**

Τα μακρά μη κωδικά μόρια διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο σε γεγονότα που αφορούν τον καρκίνο του μαστού (Lorenzi et al., 2019). Όπως αναφέρθηκε ήδη, σχετίζονται στενά με τον πολλαπλασιασμό, την εισβολή και την ανάπτυξη, τη μετάσταση και την αντίσταση στα φάρμακα έναντι του καρκίνου του μαστού. Η άμεση σύνδεση που παρουσιάζει η παρεκκλίνουσα συμπεριφορά των μορίων αυτών με τον καρκίνο επιτρέπει να θεωρηθούν ως πιθανοί βιοδείκτες τόσο για την έγκαιρη διάγνωση των όγκων, όσο και για την εκτίμηση της πρόγνωσης της νόσου (Jin et al., 2021d).

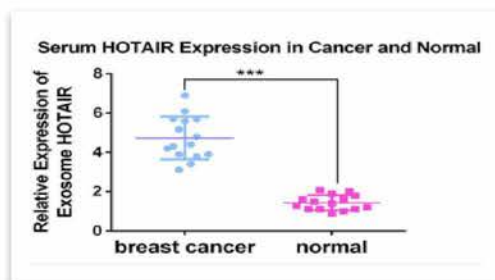
Η χρήση των lncRNAs ως βιοδεικτών για τον καρκίνο του μαστού αλλά και για άλλα είδη καρκίνου παρατηρείται ήδη κατά την τελευταία πενταετία. Ολοένα και περισσότερες μελέτες αναδεικνύουν επιμέρους χαρακτηριστικά των lncRNAs, που τα καθιστούν χρήσιμους διαγνωστικούς και προγνωστικούς βιοδείκτες. Για παράδειγμα, τα μόρια αυτά παρουσιάζουν υψηλή σταθερότητα κατά την κυκλοφορία τους σε σωματικά υγρά, από τη στιγμή που εμφανίζουν αντίσταση στην αποικοδόμηση από ριβονουκλεάσες (Shi et al., 2016). Ακόμα, η απορρύθμισή τους σε ιστούς πρωτοπαθών όγκων αντικατοπτρίζεται στα διάφορα σωματικά υγρά (Reis & Verjovski-Almeida, 2012). Σημαντικό πλεονέκτημα για τη χρήση τους ως

βιοδεικτών αποτελεί το γεγονός ότι η ανίχνευσή τους μπορεί να γίνει με ελάχιστα επεμβατικές μεθόδους, συγκριτικά με την επεμβατική βιοψία (Ginsburg et al., 2020).

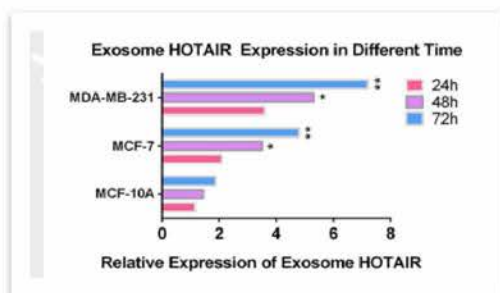
Ειδικά για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του μαστού, έχουν δημοσιευτεί πρόσφατα μελέτες που επικεντρώνονται στα lncRNAs ως βιοδείκτες της νόσου αυτής (Pecero et al., 2019). Η τρέχουσα σχετική έρευνα είναι πολύ σημαντική για τη βελτίωση της κλινικής αποτελεσματικότητας της χρήσης των συγκεκριμένων βιοδεικτών.

Μια ιδιαίτερα καινοτόμα πειραματική μελέτη (S. Tang et al., 2019) διερεύνησε τη διαγνωστική και προγνωστική αξία του **HOTAIR**, το οποίο, όπως αναφέρθηκε, προωθεί την καρκινογένεση στον μαστό. Συγκεκριμένα, εξετάζεται η έκφραση του εξωσωμικού HOTAIR ορού, δηλαδή του HOTAIR που απελευθερώνεται στην κυκλοφορία από εξωσώματα προερχόμενα από τον μαστό. Στη μελέτη συμμετείχαν ασθενείς με καρκίνο του μαστού που λάμβαναν διαφορετικές μορφές θεραπείας (χειρουργική θεραπεία, χειρουργική θεραπεία έπειτα από νεοεπιχειρητική θεραπεία, ορμονοθεραπεία με ταμοξифαίνη έπειτα από χειρουργική θεραπεία) και υγιείς-μάρτυρες. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μεθόδων απομόνωσης εξωσωμάτων, ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, απομόνωσης RNA και real-time και ποσοτικής PCR. Τα αποτελέσματα της μελέτης ήταν επιβεβαιωτικά και ενισχυτικά των αποτελεσμάτων άλλων σχετικών μελετών:

Πρώτον, στους ασθενείς με καρκίνο του μαστού, συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες, τα επίπεδα έκφρασης του εξωσωμικού HOTAIR είναι σημαντικά αυξημένα.



Εικόνα 29: Η έκφραση του HOTAIR σε καρκινικούς & φυσιολογικούς ιστούς.

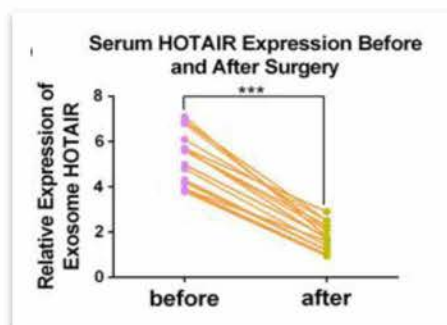


Εικόνα 30: Επίπεδα έκφρασης του HOTAIR σε καρκινικές & φυσιολογικές κυτταρικές σειρές.

Επιπλέον, ο έλεγχος της έκφρασης του HOTAIR μεταξύ δύο καρκινικών κυτταρικών σειρών του μαστού και μίας φυσιολογικής σειράς, έδειξε αύξηση της έκφρασης του

[55]

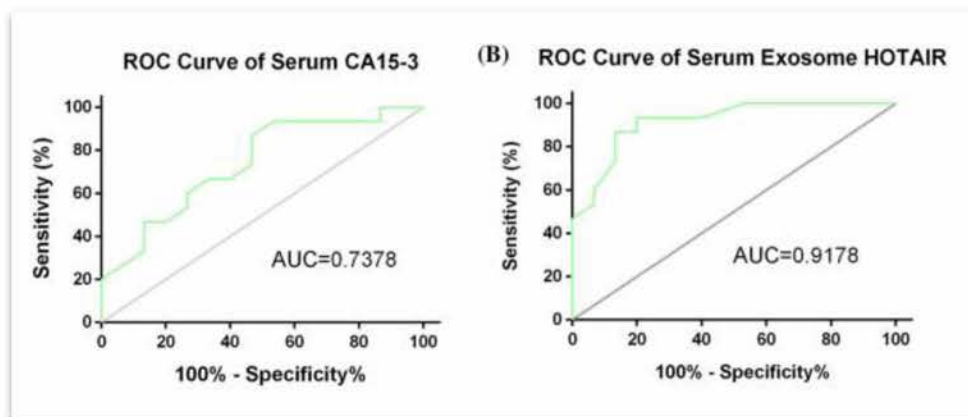
Δεύτερον, στατιστικά σημαντική ήταν και η διαφορά των επιπέδων έκφρασης του εξωσωμικού HOTAIR των ασθενών πριν και μετά τη χειρουργική επέμβαση, όπου τα επίπεδα είχαν παρουσιάσει αισθητή μείωση.



Εικόνα 31: Διαφορά επιπέδων έκφρασης του HOTAIR προ και μετά χειρουργικής επέμβασης.

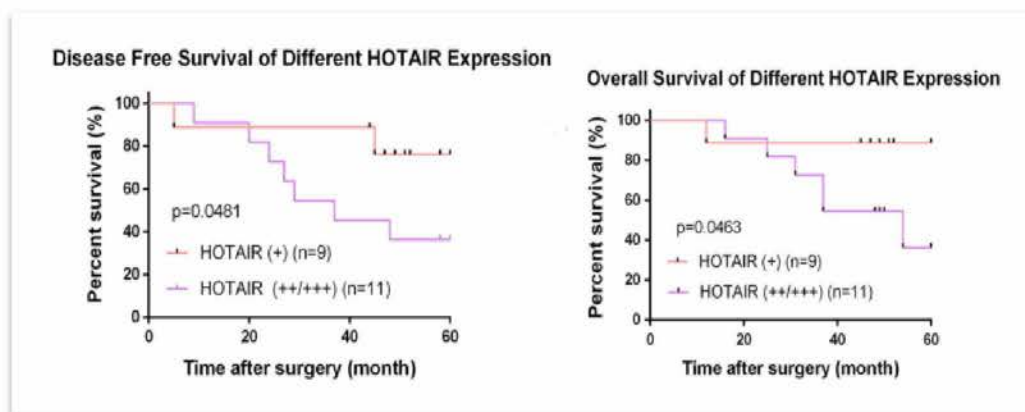
HOTAIR με την πάροδο του χρόνου αλλά μόνο στις καρκινικές κυτταρικές σειρές.

Όσον αφορά τον έλεγχο της διαγνωστικής και προγνωστικής αξίας του HOTAIR, πραγματοποιήθηκε ανάλυση ROC με σκοπό τον έλεγχο της διακριτικής ικανότητας του HOTAIR συγκριτικά με τον συμβατικό βιοδείκτη CA15-3. Προέκυψε ότι η τιμή AUC είναι σημαντικά μεγαλύτερη για το HOTAIR ( $\approx 0,9$ ) σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή του CA15-3 ( $\approx 0,7$ ).



Εικόνα 32: Σύγκριση της προγνωστικής ικανότητας του HOTAIR συγκριτικά με τον CA15-3

Τέλος, οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού κατηγοριοποιήθηκαν ανάλογα με τα επίπεδα έκφρασης του εξωσωμικού HOTAIR σε υψηλής (++)/+++ και χαμηλής (+) έκφρασης. Ο προσδιορισμός των επιπέδων έγινε με ποσοτική PCR. Όπως φάνηκε, μεταξύ των δύο υποομάδων, αυτή με τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης είχε μικρότερη επιβίωση άνευ νόσου αλλά και ολική επιβίωση.



Εικόνα 33: Ποσοστά ολικής & άνευ νόσου επιβίωσης σε ασθενείς ανάλογα με τα επίπεδα έκφρασης του HOTAIR



Άλλα μόρια lncRNA που έχουν μελετηθεί και ταυτοποιηθεί ως πιθανοί δυνητικοί βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού είναι τα εξής :

- Τα μόρια ANRIL, HIF1A-AS2 και UCA1 είναι σημαντικά αυξημένα στο πλάσμα των ασθενών με καρκίνο του μαστού συγκριτικά με υγιείς (Volovat et al., 2020). Η μέτρηση της έκφρασης του **HIF1A-AS2** σε 86 δείγματα τριπλά αρνητικού καρκινικού υποτύπου του μαστού (TNBC), 30 δείγματα μη TNBC και 30 παρακείμενα δείγματα μαστού έδειξε ότι η έκφρασή του είναι αυξημένη στους ιστούς TNBC σε σύγκριση με τους ιστούς μη TNBC, πράγμα που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η έκφραση του HIF1A-AS2 σχετίζεται με τη συνολική επιβίωση (OS) σε ασθενείς με TNBC (Y. Wang et al., 2019). Επιπλέον, τα επίπεδα του **UCA1** στο πλάσμα είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με TNBC, υποδεικνύοντας ότι το μόριο αυτό μπορεί να λειτουργήσει ως ειδικός βιοδείκτης για τη διάγνωση του TNBC (M. Liu et al., 2017).

- Η υπερμεθυλίωση του **LINC00299** στο περιφερικό αίμα ασθενών με καρκίνο μαστού μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως χρήσιμος κυκλοφοριακός βιοδείκτης για τη νόσο, σύμφωνα με μια μελέτη συσχέτισης σε επίπεδο επιγονιδιώματος (EWAS) (Jin et al., 2021b). Η σύγκριση μεταξύ των προφίλ μεθυλίωσης σε όλο το γονιδίωμα σε DNA περιφερικού αίματος από 233 ασθενείς με TNBC και 231 άτομα ελέγχου οδήγησε στον εντοπισμό και στην επικύρωση αυξημένης μεθυλίωσης στο cg06588802 στο μακρύ διαγονιδιακό μη κωδικοποιούμενο RNA, LINC00299, σε ασθενείς με TNBC, σε σύγκριση με τους μάρτυρες, γεγονός που υποδηλώνει ότι η υπερμεθυλίωση του LINC00299 στο περιφερικό αίμα μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο κυκλοφορούντα βιοδείκτη για την TNBC (Bermejo et al., 2019)

- Τα υψηλά επίπεδα των **HISLA** και **H19** στο πλάσμα συσχετίζονται με προχωρημένη λεμφαδενική μετάσταση και μειωμένη συνολική επιβίωση. Τα μειωμένα επίπεδα στο πλάσμα των **HISLA**, **H19** και **GAS5** σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού μετά από επέμβαση έχουν καλύτερη πρόγνωση (Q.-Y. Huang et al., 2019), (Alipour et al., 2020) (H. Hu et al., 2021).

- Η αυξημένη έκφραση του **LINP1** σχετίζεται με προχωρημένο στάδιο όγκου, λεμφαδενική μετάσταση και κακή πρόγνωση. Επιπλέον, η συνολική επιβίωση των ασθενών με υψηλή έκφραση του LINP1 είναι συντομότερη από εκείνους με χαμηλή έκφραση LINP (X.-M. Liu et al., n.d.).

- Η μη φυσιολογική ρύθμιση της έκφρασης του **DANCR** σχετίζεται με χειρότερη συνολική επιβίωση (Sha et al., 2017).

- Η ρύθμιση της **NAMPT-AS** συσχετίζεται αρνητικά με την ολική αλλά και την πενταετή επιβίωση σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού (Hanwen Zhang et al., n.d.).

- Το **MIR503HG** είναι ένας κατασταλτικός παράγοντας του όγκου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης για τον καρκίνο του μαστού. Σε σύγκριση με τους

ασθενείς με υψηλό MIR503HG, η χαμηλή έκφρασή του είναι αρνητικός προγνωστικός παράγοντας της ολικής επιβίωσης για τη συγκεκριμένη νόσο(Fu et al., 2019).

- Το **RP11-445H2.4** υπερεκφράζεται στους ιστούς του καρκίνου του μαστού και μπορεί να ανιχνευθεί σε δείγματα ορού, με ευαισθησία 92% και ειδικότητα 74%, η οποία είναι σημαντικά καλύτερη από την απόδοση των συμβατικών βιοδεικτών (CEA, CA125, CA153 και AFP)(Rasool et al., 2016).

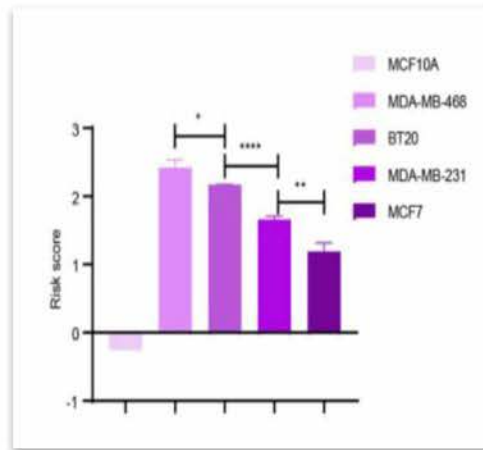
- Το **HEIH-lncRNA** υπερεκφράζεται σε ιστούς και κυτταρικές σειρές TNBC σε σύγκριση με μια φυσιολογική κυτταρική σειρά του μαστού. Η καθοδική ρύθμισή του αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων TNBC και προάγει την απόπτωση, ρυθμίζοντας τον άξονα miR-4458/SOCS1(P. Li et al., 2019).

Συνολικά, τα δεδομένα που προκύπτουν από τις μελέτες δείχνουν ότι τα lncRNAs είναι χρήσιμοι προγνωστικοί δείκτες για τη διάγνωση και την πρόγνωση της εξέλιξης, αλλά και του μεταστατικού κινδύνου σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού(Jin et al., 2021b). Ωστόσο, ελάχιστες είναι οι μελέτες που σχετίζονται με τη χρήση πολλαπλών μορίων lncRNA για την πρόβλεψη της πρόγνωσης ασθενών με καρκίνο του μαστού σε πρώιμο στάδιο.

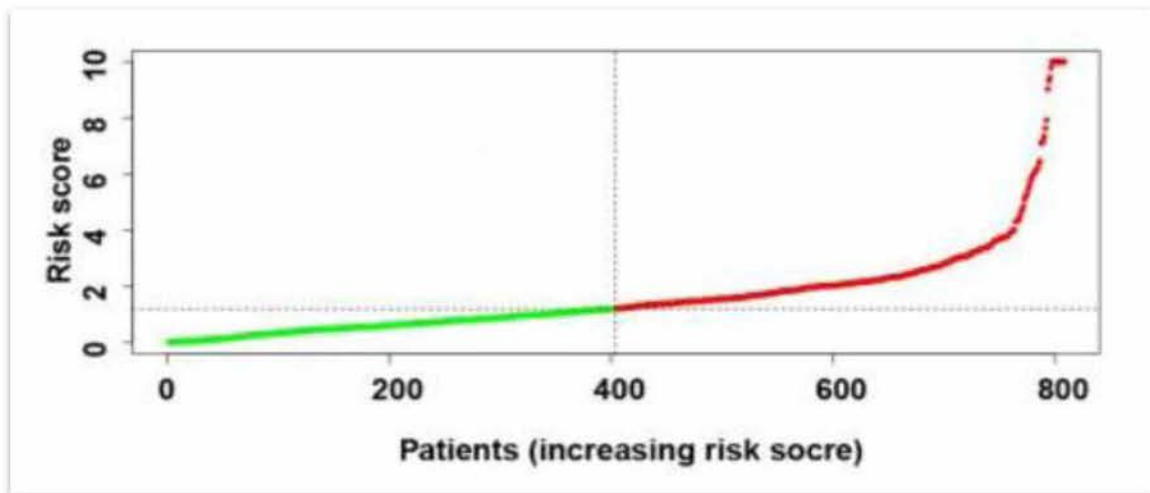
Πρόσφατη μελέτη αφορά την πρόγνωση ασθενών με καρκίνο του μαστού μέσω ελέγχου της συνδυαστικής έκφρασης συγκεκριμένων μορίων lncRNA(Zhu et al., 2021). Αξιοποιήθηκαν δεδομένα του TCGA σχετικά με lncRNAs που εμπλέκονται στον καρκίνο του μαστού. Προσδιορίστηκαν διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια μεταξύ καρκινικών και φυσιολογικών ιστών και αξιολογήθηκε η σχέση των επιπέδων έκφρασης των lncRNA με την ολική επιβίωση των ασθενών με καρκίνο του μαστού. Ακόμα, τα μακρά μη κωδικά μόρια RNA διαχωρίστηκαν σε υψηλού και χαμηλού κινδύνου.

Συγκεκριμένα, από τη μελέτη αυτή αναδείχθηκαν 8 lncRNAs, από τα οποία η συνδυαστική ανάλυση της έκφρασής τους θα μπορούσε να αποτελέσει προγνωστικό παράγοντα για τη νόσο. Πρόκειται για τα MNX1-AS1, SIRLNT, AC092920.1, AC105219.1, AL355312.3, AC055854.1, LINC01117 και ACTA2-AS1, τα οποία κατηγοριοποιήθηκαν ως γονίδια αυξημένου κινδύνου (MNX1-AS1, SIRLNT, AC092920.1, AC105219.1, AL355312.3) ή ως προστατευτικά γονίδια (AC055854.1, LINC01117 και ACTA2-AS1).

Τα σχετικά επίπεδα έκφρασης των μορίων αυτών υπολογίστηκαν σε διάφορες κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού και συσχετίστηκαν με βαθμολογίες κινδύνου (risk scores). Τρία μόνο από αυτά (SIRLNT, AC092920.1 και AC055854.1) συνδέθηκαν ανεξάρτητα με τη συνολική επιβίωση των ασθενών. Ωστόσο, συνδυαστικά, τα επίπεδα έκφρασης και των 8 lncRNAs αντιστοιχούν σε μεγαλύτερη συσχέτιση με τη συνολική επιβίωση των ασθενών.



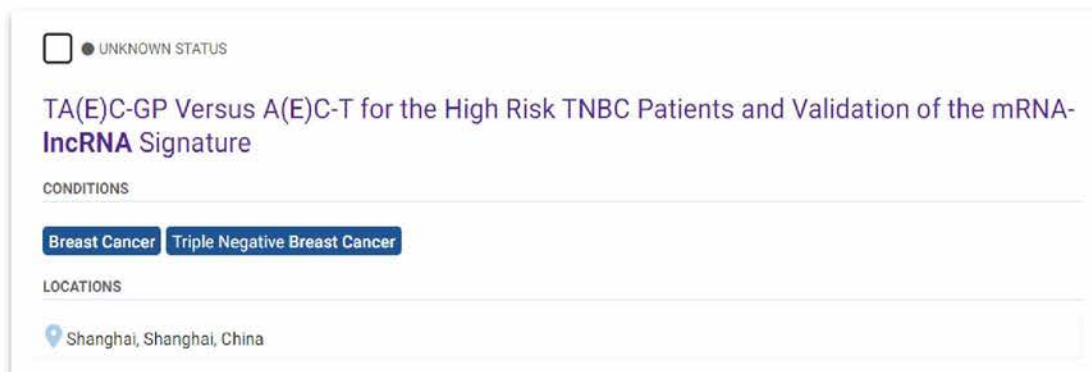
Εικόνα 34: Risk score σε διαφορετικές κυτταρικές σειρές.



Εικόνα 35: Βαθμολογίες κινδύνου με βάση τα επίπεδα έκφρασης των 8 lncRNA σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού.

Η μελέτη αυτή υποστηρίζει ότι ένα πάνελ lncRNAs θα είναι πιο ευαίσθητο και ειδικό από κάθε μεμονωμένο μόριο, επομένως η βαθμολογία κινδύνου με βάση ένα πάνελ 8 μορίων έχει υψηλότερη προγνωστική αξία. Όπως επισημαίνεται στη μελέτη, μόρια lncRNA που έχουν χαρακτηριστεί ως μόρια με ογκογόνο δράση, μπορεί να δρουν ογκοκατασταλτικά συνδυαστικά με άλλα μόρια lncRNAs. Τα αποτελέσματα της μελέτης θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν κλινικά, καθώς ο υπολογισμός της βαθμολογίας κινδύνου των ασθενών θα βοηθήσει ενδεχομένως τόσο στην πρόγνωση όσο και στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας.

Τέλος, υπάρχουν ανεξελίξει μελέτες οι οποίες θα προσθέσουν νέα σημαντικά δεδομένα στο πεδίο των lncRNAs στον καρκίνο του μαστού:



Εικόνα 36: Εν εξελίξει μελέτη για την αξιολόγηση της θεραπείας του TNBC από μία υπογραφή lncRNAs-mRNAs

Η μελέτη που απεικονίζεται αφορά τη θεραπεία του τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού (TA(E)C-GP Versus A(E)C-T for the High Risk TNBC Patients and Validation of the mRNA-LncRNA Signature - *ClinicalTrials.Gov*, n.d.). Συγκεκριμένα, αποσκοπεί στην επικύρωση μιας υπογραφής lncRNAs-mRNA για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Τα δείγματα όγκου όλων των ασθενών εξετάστηκαν με τη χρήση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο και οι κίνδυνοι υποτροπής προβλέφθηκαν με τη χρήση της υπογραφής mRNA-lncRNA. Οι ασθενείς υψηλού κινδύνου τυχαιοποιήθηκαν σε δύο διαφορετικές ομάδες για τη λήψη διαφορετικού συνδυασμού θεραπειών. Οι δύο ομάδες λαμβάνουν σε διαφορετική σειρά, ποσότητα και συνδυασμό αντικαρκινικά φάρμακα για 21 ημέρες.

OFFICIAL TITLE		
Efficacy and Safety Study of TA(E)C-GP Versus A(E)C-T for the High Risk Triple-negative <b>Breast Cancer</b> Patients Predicted by the Messenger RNA (mRNA)- <b>Long Non-coding RNA (lncRNA)</b> Signature and Validation of the Signature's Efficacy <a href="#">Show less</a>		
CONDITIONS	STUDY TYPE	ENROLLMENT (ESTIMATED)
<a href="#">Triple Negative Breast Cancer</a> <b>Breast Cancer</b>	Interventional	503
INTERVENTION / TREATMENT	PHASE	OTHER STUDY ID NUMBERS
Drug: docetaxel Drug: doxorubicin or epirubicin Drug: cyclophosphamide Drug: gemcitabine Drug: cisplatin <a href="#">Show fewer interventions/treatments</a>	Phase 2 Phase 3	1506147-4
STUDY START	PRIMARY COMPLETION (ESTIMATED)	STUDY COMPLETION (ESTIMATED)
2015-07	2021-06	2021-06

Εικόνα 37: Επισκόπηση της μελέτης

Η μελέτη αυτή ξεκίνησε το 2015 και πλέον βρίσκεται στη φάση II και φάση III, δηλαδή πραγματοποιούνται δοκιμές των διαφορετικών θεραπευτικών μεθόδων στους συμμετέχοντες, για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας, της ασφάλειας και των παρενεργειών της κάθε θεραπείας.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα διπλωματική εξετάζει διεξοδικά τη βιβλιογραφία σχετικά με τα μακρά μη κωδικά μόρια RNA (lncRNAs) που έχουν συσχετιστεί με τον καρκίνο του μαστού. Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί την πιο κοινή μορφή καρκίνου και των δύο φύλων, όχι μόνο μεταξύ των γυναικών. Η επιτακτική ανάγκη εύρεσης νέων μεθόδων διάγνωσης, πρόγνωσης και θεραπείας οδήγησε στη διερεύνηση της εμπλοκής των lncRNAs, στο πλαίσιο της αναζήτησης νέων βιοδεικτών με αυξημένη ειδικότητα και ευαισθησία για τη συγκεκριμένη νόσο.

Παλαιότερα, τα μόρια αυτά θεωρούνταν μεταγραφικός θόρυβος, σήμερα όμως, είναι ευρέως αποδεκτό ότι λειτουργούν ως ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Οι μηχανισμοί λειτουργίας μερικών lncRNAs έχουν διερευνηθεί λεπτομερώς, με αποτέλεσμα τα συγκεκριμένα μόρια να έχουν αναδειχθεί ως κύριοι ρυθμιστές σε διάφορα μεταβολικά μονοπάτια: συμμετέχουν στην επιδιόρθωση βλαβών, στη διαφοροποίηση των νευρικών κυττάρων, στην πρόιμη αιμοποίηση και στις ανοσολογικές αποκρίσεις. Ο μηχανισμός δράσης των μορίων αυτών έχει να κάνει με την επιγενετική τροποποίηση μέσω ρύθμισης της χρωματίνης και της μεταγραφής, αλλά και μέσω συμμετοχής στη μετα-μεταγραφική επεξεργασία. Τροποποιημένα επίπεδα έκφρασης των lncRNAs έχουν αναφερθεί σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως και σε πολλούς ανθρώπινους καρκίνους (γλοίωμα, αιματολογικές νεοπλασίες, καρκίνος του πνεύμονα, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, καρκίνος του παγκρέατος), συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού. Είναι ενδιαφέρον ότι διαφορετικά lncRNAs ρυθμίζονται με άλλο τρόπο σε διάφορους καρκίνους ή ακόμη και σε υποτύπους του ίδιου καρκίνου. Η έκφραση των μορίων αυτών στον όγκο εξαρτάται από επιγενετικές τροποποιήσεις, με αποτέλεσμα να χαρακτηρίζονται είτε ως ογκογόνα, είτε ως ογκοκατασταλτικά. Τα ογκογόνα lncRNAs έχουν ενοχοποιηθεί για την προώθηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, την επιθηλιομεσεγγυματική μετάβαση, την εισβολή, τη μεταστατική ικανότητα, την αντίσταση στην απόπτωση και την ενίσχυση της βλαστικότητας.

Συνοψίζοντας, τα lncRNAs που έχουν μελετηθεί και ταυτοποιηθεί για την προαγωγή γεγονότων της καρκινογένεσης στον καρκίνο του μαστού είναι τα εξής: HOTAIR, H19, SRA, NEAT1, LSINCT5, Smad7, MALAT1. Οι μελέτες που αφορούν την ογκοκατασταλτική δράση των lncRNAs βρίσκονται σε προκαταρκτικό στάδιο, ωστόσο έχουν ήδη ταυτοποιηθεί κάποια μόρια για την αναστολή του πολλαπλασιασμού και την προώθηση της απόπτωσης των κυττάρων του όγκου, την αναστολή του μεταστατικού δυναμικού, αλλά και την αντίσταση στη θεραπεία. Τέτοια lncRNAs είναι τα εξής: LET, SONE, MAG12-AS3, PTCSC3, EPB41L4A-AS2, MEG3, GAS5, Zfas1. Τα lncRNAs των δύο κατηγοριών δρουν ανταγωνιστικά μεταξύ τους και αλληλεπιδρώντας με άλλα μόρια – miRNAs, mRNAs, πρωτεΐνες – και συμμετέχουν έτσι στην εξέλιξη ή στην καταστολή του όγκου του μαστού. Ιδιαίτερα κρίσιμη είναι η εμπλοκή των μορίων αυτών στην αντίσταση στη θεραπεία, μιας και

δρουν ενάντια στις προσπάθειες αντιμετώπισης των όγκων. Ωστόσο, αν και έχουν περιγραφεί οι μηχανισμοί με τους οποίους τα lncRNAs συμμετέχουν στην αντίσταση στη θεραπεία – δρουν ως ceRNAs, ενσωματώνονται σε εξωσώματα, αναστέλλουν την απόπτωση, προκαλούν εκροή αντικαρκινικών φαρμάκων και προάγουν την EMT – απαιτείται περαιτέρω μελέτη για την κλινική αξιοποίησή τους.

Ο σημαντικός ρόλος που φαίνεται να κατέχουν τα μόρια αυτά στην καρκινογένεση ανοίγει τον δρόμο για τη μελέτη της δυναμικής τους χρήσης ως βιοδεικτών για τον καρκίνο του μαστού. Ήδη η πρόσφατη βιβλιογραφία έχει αναδείξει lncRNAs, τα οποία θα μπορούσαν να αποτελέσουν διαγνωστικούς ή και προγνωστικούς βιοδείκτες για την εξέλιξη του ασθενούς με καρκίνο (UAC1, LINC00299, HOTAIR, HISLA, H19, GAS5, LINP1, NAMPT-AS, MIR503HG, RP11-445H22.4, HEIH). Ωστόσο, η συνδυαστική ανίχνευση των άμεσα συσχετιζόμενων lncRNAs με τον καρκίνο του μαστού – ένα πάνελ μορίων – φαίνεται ότι θα εξασφαλίσει μια πιο εμπειριστατωμένη εικόνα της κατάστασης και της εξέλιξης του κάθε ασθενούς.

Τα lncRNAs διανοίγουν νέες προοπτικές για την κλινική διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Ωστόσο, υπάρχουν ακόμη πολλές δυσκολίες που πρέπει να αντιμετωπιστούν, προκειμένου να αποτελέσουν χρήσιμο εργαλείο στην κλινική πρακτική. Η κατανόηση των lncRNAs βρίσκεται ακόμη σε προκαταρκτικό στάδιο. Υπάρχουν πολλά κενά στη γνώση σχετικά με τον μηχανισμό δράσης και τις βιολογικές λειτουργίες των lncRNAs στον καρκίνο του μαστού. Επίσης, μόνο ένα μέρος των lncRNAs έχει μελετηθεί πειραματικά, ενώ ο αριθμός τους αποδεικνύεται ολοένα και αυξανόμενος. Πολλά lncRNAs είναι παρόντα στην κυκλοφορία, και θα μπορούσαν να είναι δυναμικοί βιοδείκτες σε διάφορους καρκίνους. Ωστόσο, οι μελέτες σχετικά με τα κυκλοφορούντα lncRNAs στον καρκίνο βρίσκονται ακόμη σε πρώιμο στάδιο. Ιδιαίτερα κρίσιμη για την κλινική εφαρμογή των lncRNAs είναι η εύρεση αποτελεσματικών και αξιόπιστων μεθόδων ανίχνευσης. Επομένως παραμένει η ανάγκη για τη βελτίωση των μεθόδων συστοιχιών και αλληλούχισης RNA υψηλής απόδοσης. Οι μέθοδοι αυτές θα μπορούσαν να προσφέρουν μια νέα διαγνωστική προοπτική με βάση τα lncRNAs. Τόσο η διάγνωση όσο και η θεραπεία του καρκίνου του μαστού με βάση τα lncRNAs αποτελούν πολλά υποσχόμενες στρατηγικές που αξίζουν εκτεταμένη έρευνα και ενδεδειγμένη διερεύνηση στο μέλλον.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abbastabar, M., Sarfi, M., Golestani, A., & Khalili, E. (2018). lncRNA involvement in hepatocellular carcinoma metastasis and prognosis. *EXCLI Journal*, *17*, 900–913. <https://doi.org/10.17179/EXCLI2018-1541>
- Abdulkareem, I. H., & Zurmi, I. B. (2012). Review of hormonal treatment of breast cancer. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, *15*(1), 9–14. <https://doi.org/10.4103/1119-3077.94088>
- Abe, O., Abe, R., Enomoto, K., Kikuchi, K., Koyama, H., Masuda, H., Nomura, Y., Sakai, K., Sugimachi, K., Tominaga, T., Uchino, J., Yoshida, M., Haybittle, J. L., Davies, C., Harvey, V. J., Holdaway, T. M., Kay, R. G., Mason, B. H., Forbes, J. F., ... Caffier, H. (2005). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet (London, England)*, *365*(9472), 1687–1717. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66544-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66544-0)
- Abotaleb, M., Kubatka, P., Caprnda, M., Varghese, E., Zolakova, B., Zubor, P., Opatrilova, R., Kruzliak, P., Stefanicka, P., & Büsselberg, D. (2018). Chemotherapeutic agents for the treatment of metastatic breast cancer: An update. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, *101*, 458–477. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2018.02.108>
- Afonso-Grunz, F., & Müller, S. (2015). Principles of miRNA-mRNA interactions: beyond sequence complementarity. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, *72*(16), 3127–3141. <https://doi.org/10.1007/S00018-015-1922-2>
- Agersborg, S., Mixon, C., Nguyen, T., Aithal, S., Sudarsanam, S., Blocker, F., Weiss, L., Gasparini, R., Jiang, S., Chen, W., Hess, G., & Albitar, M. (2018). Immunohistochemistry and alternative FISH testing in breast cancer with HER2 equivocal amplification. *Breast Cancer Research and Treatment*, *170*(2), 321–328. <https://doi.org/10.1007/S10549-018-4755-5/FIGURES/2>
- Agrawal, A., Gutteridge, E., Gee, J. M. W., Nicholson, R. I., & Robertson, J. F. R. (2005). Overview of tyrosine kinase inhibitors in clinical breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*, *12 Suppl 1*(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1677/ERC.1.01059>
- Ahmad, P., Bensaoud, C., Mekki, I., Rehman, M. U., & Kotsyfakis, M. (2021). Long non-coding RNAs and their potential roles in the vector–host–pathogen triad. *Life*, *11*(1), 1–12. <https://doi.org/10.3390/LIFE11010056>
- Alessio, E., Bonadio, R. S., Buson, L., Chemello, F., & Cagnin, S. (2020). A Single Cell but Many Different Transcripts: A Journey into the World of Long Non-Coding RNAs. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(1). <https://doi.org/10.3390/IJMS21010302>
- Alipoor, B., Parvar, S. N., Sabati, Z., Ghaedi, H., & Ghasemi, H. (2020). An updated review of the H19 lncRNA in human cancer: molecular mechanism and diagnostic and therapeutic importance. *Molecular Biology Reports* *2020 47:8*, *47*(8), 6357–6374. <https://doi.org/10.1007/S11033-020-05695-X>
- Alshaer, W., Zureigat, H., Al Karaki, A., Al-Kadash, A., Gharaibeh, L., Hatmal, M. M., Aljabali, A. A. A., & Awidi, A. (2021). siRNA: Mechanism of action, challenges, and therapeutic approaches. *European Journal of Pharmacology*, *905*. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2021.174178>
- Anderson, K. N., Schwab, R. B., & Martinez, M. E. (2014). Reproductive risk factors and breast cancer subtypes: a review of the literature. *Breast Cancer Research and Treatment*, *144*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/S10549-014-2852-7>
- Anstey, E. H., Shoemaker, M. L., Barrera, C. M., O’Neil, M. E., Verma, A. B., & Holman, D. M. (2017). Breastfeeding and Breast Cancer Risk Reduction: Implications for Black Mothers. *American Journal of Preventive Medicine*, *53*(3S1), S40–S46. <https://doi.org/10.1016/J.AMEPRE.2017.04.024>
- Arase, M., Horiguchi, K., Ehata, S., Morikawa, M., Tsutsumi, S., Aburatani, H., Miyazono, K., & Koizumi, D. (2014). Transforming growth factor-β-induced lncRNA-Smad7 inhibits apoptosis of mouse breast cancer JygMC(A) cells. *Cancer Science*, *105*(8), 974–



982. <https://doi.org/10.1111/CAS.12454>
- Arun, G., & Spector, D. L. (2019). MALAT1 long non-coding RNA and breast cancer. *RNA Biology*, *16*(6), 860–863. <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1592072>
- Autier, P., & Boniol, M. (2018). Mammography screening: A major issue in medicine. *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, *90*, 34–62. <https://doi.org/10.1016/J.EJCA.2017.11.002>
- Ayana, R., Singh, S., & Pati, S. (2017). Decoding Crucial LncRNAs Implicated in Neurogenesis and Neurological Disorders. *Stem Cells and Development*, *26*(8), 541–553. <https://doi.org/10.1089/SCD.2016.0290>
- Azadeh, M., Salehzadeh, A., Ghaedi, K., & Talesh Sasani, S. (2022). NEAT1 can be a diagnostic biomarker in the breast cancer and gastric cancer patients by targeting XIST, hsa-miR-612, and MTRNR2L8: integrated RNA targetome interaction and experimental expression analysis. *Genes and Environment*, *44*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/S41021-022-00244-3/FIGURES/19>
- Azoury, S., Straughan, D., & Shukla, V. (2015). Immune Checkpoint Inhibitors for Cancer Therapy: Clinical Efficacy and Safety. *Current Cancer Drug Targets*, *15*(6), 452–462. <https://doi.org/10.2174/156800961506150805145120>
- Bachellerie, J. P., Michot, B., Nicoloso, M., Balakin, A., Ni, J., & Fournier, M. J. (1995). Antisense snoRNAs: a family of nucleolar RNAs with long complementarities to rRNA. *Trends in Biochemical Sciences*, *20*(7), 261–264. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(00\)89039-8](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(00)89039-8)
- Balekouzou, A., Yin, P., Pamatika, C. M., Bekolo, C. E., Nambei, S. W., Djeintote, M., Kota, K., Mossoro-Kpinde, C. D., Shu, C., Yin, M., Fu, Z., Qing, T., Yan, M., Zhang, J., Chen, S., Li, H., Xu, Z., & Koffi, B. (2017a). Reproductive risk factors associated with breast cancer in women in Bangui: a case-control study. *BMC Women's Health*, *17*(1). <https://doi.org/10.1186/S12905-017-0368-0>
- Balekouzou, A., Yin, P., Pamatika, C. M., Bekolo, C. E., Nambei, S. W., Djeintote, M., Kota, K., Mossoro-Kpinde, C. D., Shu, C., Yin, M., Fu, Z., Qing, T., Yan, M., Zhang, J., Chen, S., Li, H., Xu, Z., & Koffi, B. (2017b). Reproductive risk factors associated with breast cancer in women in Bangui: a case-control study. *BMC Women's Health*, *17*(1). <https://doi.org/10.1186/S12905-017-0368-0>
- Barciszewska, M. Z., Perrigue, P. M., & Barciszewski, J. (2016). tRNA--the golden standard in molecular biology. *Molecular BioSystems*, *12*(1), 12–17. <https://doi.org/10.1039/C5MB00557D>
- Barnard, M. E., Boeke, C. E., & Tamimi, R. M. (2015). Established breast cancer risk factors and risk of intrinsic tumor subtypes. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1856*(1), 73–85. <https://doi.org/10.1016/J.BBCAN.2015.06.002>
- Barsoum, F. S., Awad, A. S., Hussein, N. H., Eissa, R. A., & El Tayebi, H. M. (2020). MALAT-1: LncRNA ruling miR-182/PIG-C/mesothelin triad in triple negative breast cancer. *Pathology, Research and Practice*, *216*(12). <https://doi.org/10.1016/J.PRP.2020.153274>
- Barsyte-Lovejoy, D., Lau, S. K., Boutros, P. C., Khosravi, F., Jurisica, I., Andrulis, I. L., Tsao, M. S., & Penn, L. Z. (2006). The c-Myc Oncogene Directly Induces the H19 Noncoding RNA by Allele-Specific Binding to Potentiate Tumorigenesis. *Cancer Research*, *66*(10), 5330–5337. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0037>
- Bartee, L., Shriner, W., & Creech, C. (n.d.). *Eukaryotic RNA Processing*. Open Oregon Educational Resources.
- Barzaman, K., Karami, J., Zarei, Z., Hosseinzadeh, A., Kazemi, M. H., Moradi-Kalbolandi, S., Safari, E., & Farahmand, L. (2020a). Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International Immunopharmacology*, *84*. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2020.106535>
- Barzaman, K., Karami, J., Zarei, Z., Hosseinzadeh, A., Kazemi, M. H., Moradi-Kalbolandi, S., Safari, E., & Farahmand, L. (2020b). Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International Immunopharmacology*, *84*. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2020.106535>

- Berclaz, G., Li, S., Price, K. N., Coates, A. S., Castiglione-Gertsch, M., Rudenstam, C. M., Holmberg, S. B., Lindtner, J., Eržen, D., Collins, J., Snyder, R., Thürlimann, B., Fey, M. F., Mendiola, C., Werner, I. D., Simoncini, E., Crivellari, D., Gelber, R. D., & Goldhirsch, A. (2004). Body mass index as a prognostic feature in operable breast cancer: the International Breast Cancer Study Group experience. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, *15*(6), 875–884. <https://doi.org/10.1093/ANNONC/MDH222>
- Bermejo, J. L., Huang, G., Manoochehri, M., Mesa, K. G., Schick, M., Silos, R. G., Ko, Y. D., Brüning, T., Brauch, H., Lo, W. Y., Hoheisel, J. D., & Hamann, U. (2019). Long intergenic noncoding RNA 299 methylation in peripheral blood is a biomarker for triple-negative breast cancer. *Epigenomics*, *11*(1), 81–93. <https://doi.org/10.2217/EPI-2018-0121>
- Bernard, P. S., Parker, J. S., Mullins, M., Cheung, M. C. U., Leung, S., Voduc, D., Vickery, T., Davies, S., Fauron, C., He, X., Hu, Z., Quackenbush, J. F., Stijleman, I. J., Palazzo, J., Matron, J. S., Nobel, A. B., Mardis, E., Nielsen, T. O., Ellis, M. J., & Perou, C. M. (2009). Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *27*(8), 1160–1167. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.18.1370>
- Berteaux, N., Lottin, S., Monté, D., Pinte, S., Quatannens, B., Coll, J., Hondermarck, H., Curgy, J. J., Dugimont, T., & Adriaenssens, E. (2005). H19 mRNA-like noncoding RNA promotes breast cancer cell proliferation through positive control by E2F1. *The Journal of Biological Chemistry*, *280*(33), 29625–29636. <https://doi.org/10.1074/JBC.M504033200>
- Bhan, A., Soleimani, M., & Mandal, S. S. (2017). Long non-coding RNA (LncRNA) and cancer: a new paradigm. *Cancer Research*, *77*(15), 3965. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2634>
- Bin, X., Hongjian, Y., Xiping, Z., Bo, C., Shifeng, Y., & Binbin, T. (2018). Research progresses in roles of LncRNA and its relationships with breast cancer. *Cancer Cell Int*, *18*, 179. <https://doi.org/10.1186/s12935-018-0674-0>
- Birch, J. M., Alston, R. D., McNally, R. J. Q., Evans, D. G. R., Kelsey, A. M., Harris, M., Eden, O. B., & Varley, J. M. (2001). Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations. *Oncogene*, *20*(34), 4621–4628. <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1204621>
- Blythe, A. J., Fox, A. H., & Bond, C. S. (2016). The ins and outs of lncRNA structure: How, why and what comes next? *Biochimica et Biophysica Acta*, *1859*(1), 46–58. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGRM.2015.08.009>
- Breast Cancer Statistics | Facts & Figures | NBCC*. (n.d.). Retrieved April 22, 2022, from <https://www.stopbreastcancer.org/information-center/facts-figures/>
- Brewer, H. R., Jones, M. E., Schoemaker, M. J., Ashworth, A., & Swerdlow, A. J. (2017). Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Research and Treatment*, *165*(1), 193–200. <https://doi.org/10.1007/S10549-017-4325-2>
- Brind, J., Chinchilli, V. M., Severs, W. B., & Summy-Long, J. (1996). Induced abortion as an independent risk factor for breast cancer: A comprehensive review and meta-analysis. *Journal of Epidemiology and Community Health*, *50*(5), 481–496. <https://doi.org/10.1136/JECH.50.5.481>
- Brueggemeier, R. W., Hackett, J. C., & Diaz-Cruz, E. S. (2005). Aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer. *Endocrine Reviews*, *26*(3), 331–345. <https://doi.org/10.1210/ER.2004-0015>
- Bruening W, Fontanarosa J, Tipton K, Treadwell JR, Launderers J, Schoelles K. Systematic review: comparative effectiveness of core-needle and open surgical biopsy to diagnose breast lesions. *Ann Intern Med*. 2010 Feb 16;152(4):238-46. doi: 10.7326/0003-4819-152-1-201001050-00190. Epub 2009 Dec 14. PMID: 20008742.
- Budh, D. P., & Sapra, A. (2022). Breast Cancer Screening. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556050/>

- Burguin, A., Diorio, C., & Durocher, F. (2021). Breast Cancer Treatments: Updates and New Challenges. *Journal of Personalized Medicine*, 11(8).  
<https://doi.org/10.3390/JPM11080808>
- Bussemakers, M. J. G., Bokhoven, A. Van, Verhaegh, G. W., Smit, F. P., Karthaus, H. F. M., Schalken, J. A., Debruyne, F. M. J., Ru, N., & Isaacs, W. B. (1999). DD3: A new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Research*, 59(23), 5975–5979. <https://doi.org/10.2/JQUERY.MIN.JS>
- Cao, C., Sun, J., Zhang, D., Guo, X., Xie, L., Li, X., Wu, D., & Liu, L. (2015). The Long Intergenic Noncoding RNA UFC1, a Target of MicroRNA 34a, Interacts With the mRNA Stabilizing Protein HuR to Increase Levels of  $\beta$ -Catenin in HCC Cells. *Gastroenterology*, 148(2), 415–426.e18.  
<https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2014.10.012>
- Carey, L. A. (2010). Through a Glass Darkly: Advances in Understanding Breast Cancer Biology, 2000–2010. *Clinical Breast Cancer*, 10(3), 188–195.  
<https://doi.org/10.3816/CBC.2010.N.026>
- Chen, F., Wang, N., Tan, H. Y., Guo, W., Zhang, C., & Feng, Y. (2019a). The functional roles of exosomes-derived long non-coding RNA in human cancer. *Cancer Biology & Therapy*, 20(5), 583–592. <https://doi.org/10.1080/15384047.2018.1564562>
- Chen, F., Wang, N., Tan, H. Y., Guo, W., Zhang, C., & Feng, Y. (2019b). The functional roles of exosomes-derived long non-coding RNA in human cancer. *Cancer Biology & Therapy*, 20(5), 583–592. <https://doi.org/10.1080/15384047.2018.1564562>
- Chen, J., & Wagner, E. J. (2010). snRNA 3' end formation: the dawn of the Integrator complex. *Biochemical Society Transactions*, 38(4), 1082–1087.  
<https://doi.org/10.1042/BST0381082>
- Chen, L. L. (2016). The biogenesis and emerging roles of circular RNAs. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 17(4), 205–211. <https://doi.org/10.1038/NRM.2015.32>
- Chen, M., Chen, J., & Zhang, D. (2015). Exploring the Secrets of Long Noncoding RNAs. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 5467.  
<https://doi.org/10.3390/IJMS16035467>
- Chen, M. J., Wu, W. Y. Y., Yen, A. M. F., Fann, J. C. Y., Chen, S. L. S., Chiu, S. Y. H., Chen, H. H., & Chiou, S. T. (2016). Body mass index and breast cancer: Analysis of a nation-wide population-based prospective cohort study on 1 393 985 Taiwanese women. *International Journal of Obesity*, 40(3), 524–530. <https://doi.org/10.1038/IJO.2015.205>
- Chen, Y. G., Satpathy, A. T., & Chang, H. Y. (2017). Gene regulation in the immune system by long noncoding RNAs. *Nature Immunology*, 18(9), 962–972.  
<https://doi.org/10.1038/NI.3771>
- Choudhuri, S. (2010). Small noncoding RNAs: biogenesis, function, and emerging significance in toxicology. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 24(3), 195–216. <https://doi.org/10.1002/JBT.20325>
- Coles, C. E., Griffin, C. L., Kirby, A. M., Titley, J., Agrawal, R. K., Alhasso, A., Bhattacharya, I. S., Brunt, A. M., Ciurlionis, L., Chan, C., Donovan, E. M., Emson, M. A., Harnett, A. N., Haviland, J. S., Hopwood, P., Jefford, M. L., Kaggwa, R., Sawyer, E. J., Syndikus, I., ... Thompson, A. (2017). Partial-breast radiotherapy after breast conservation surgery for patients with early breast cancer (UK IMPORT LOW trial): 5-year results from a multicentre, randomised, controlled, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet (London, England)*, 390(10099), 1048–1060. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31145-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31145-5)
- Collette, J., Le Bourhis, X., & Adriaenssens, E. (2017). Regulation of Human Breast Cancer by the Long Non-Coding RNA H19. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11). <https://doi.org/10.3390/IJMS18112319>
- Colley, S. M., & Leedman, P. J. (2011). Steroid Receptor RNA Activator - A nuclear receptor coregulator with multiple partners: Insights and challenges. *Biochimie*, 93(11), 1966–1972. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2011.07.004>
- Collina, F., Aquino, G., Brogna, M., Cipolletta, S., Buonfanti, G., De Laurentiis, M., Bonito, M. Di, Cantile, M., & Botti, G. (2019). LncRNA HOTAIR up-regulation is strongly

- related with lymph nodes metastasis and LAR subtype of Triple Negative Breast Cancer. *Journal of Cancer*, 10(9), 2018–2024. <https://doi.org/10.7150/JCA.29670>
- Colomer, R., Aranda-López, I., Albanell, J., García-Caballero, T., Ciruelos, E., López-García, M., Cortés, J., Rojo, F., Martín, M., & Palacios-Calvo, J. (2018). Biomarkers in breast cancer: A consensus statement by the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology. *Clinical & Translational Oncology*, 20(7), 815. <https://doi.org/10.1007/S12094-017-1800-5>
- Creighton, C. J. (2012). The molecular profile of luminal B breast cancer. *Biologics : Targets & Therapy*, 6, 289. <https://doi.org/10.2147/BTT.S29923>
- Crivellari, D., Spazzapan, S., Puglisi, F., Fratino, L., Scalone, S., & Veronesi, A. (2010). Hormone therapy in elderly breast cancer patients with comorbidities. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 73(1), 92–98. <https://doi.org/10.1016/J.CRITREVONC.2009.02.003>
- Crowe, F. L., Key, T. J., Appleby, P. N., Travis, R. C., Overvad, K., Jakobsen, M. U., Johnsen, N. F., Tjønneland, A., Linseisen, J., Rohrmann, S., Boeing, H., Pischon, T., Trichopoulou, A., Lagiou, P., Trichopoulos, D., Sacerdote, C., Palli, D., Tumino, R., Krogh, V., ... Riboli, E. (2008). Dietary fat intake and risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(5), 1405–1413. <https://doi.org/10.1093/AJCN/87.5.1405>
- Cuadros, M., & Villegas, R. (2009). Systematic review of HER2 breast cancer testing. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology : AIMM*, 17(1), 1–7. <https://doi.org/10.1097/PAI.0B013E318169FC1C>
- Cullen, B. R. (2004). Transcription and Processing of Human microRNA Precursors. *Molecular Cell*, 16(6), 861–865. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2004.12.002>
- Dahariya, S., Paddibhatla, I., Kumar, S., Raghuvanshi, S., Palapati, A., & Gutti, R. K. (2019a). Long non-coding RNA: Classification, biogenesis and functions in blood cells. *Molecular Immunology*, 112, 82–92. <https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2019.04.011>
- Dahariya, S., Paddibhatla, I., Kumar, S., Raghuvanshi, S., Palapati, A., & Gutti, R. K. (2019b). Long non-coding RNA: Classification, biogenesis and functions in blood cells. *Molecular Immunology*, 112, 82–92. <https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2019.04.011>
- Dahariya, S., Paddibhatla, I., Kumar, S., Raghuvanshi, S., Palapati, A., & Gutti, R. K. (2019c). Long non-coding RNA: Classification, biogenesis and functions in blood cells. *Molecular Immunology*, 112, 82–92. <https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2019.04.011>
- Dai, Q., Liu, B., & Du, Y. (2009). Meta-analysis of the risk factors of breast cancer concerning reproductive factors and oral contraceptive use. *Frontiers of Medicine in China*, 3(4), 452–458. <https://doi.org/10.1007/S11684-009-0080-Z>
- Das, S., Shah, R., Dimmeler, S., Freedman, J. E., Holley, C., Lee, J. M., Moore, K., Musunuru, K., Wang, D. Z., Xiao, J., & Yin, K. J. (2020). Noncoding RNAs in Cardiovascular Disease: Current Knowledge, Tools and Technologies for Investigation, and Future Directions: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation. Genomic and Precision Medicine*, 13(4), E000062. <https://doi.org/10.1161/HCG.0000000000000062>
- Delá, M. J., Jackson, B. T., Erard, N., Knott, S. R. V., Hannon, G. J., Kovacevic, T., Vangelisti, S., Maravilla, E. M., Wild, S. A., & Stork, E. M. (2019). *lncRNA Spehd Regulates Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Is Required for Multilineage Differentiation Cell Reports Report lncRNA Spehd Regulates Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Is Required for Multilineage Differentiation*. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.03.080>
- Deocesano-Pereira, C., Carvalho Machado, R. A., De Jesus-Ferreira, H. C., Marchini, T., Pereira, T. F., Oliveira Carreira, A. C., & Sogayar, M. C. (2019). Functional impact of the long non-coding RNA MEG3 deletion by CRISPR/Cas9 in the human triple negative metastatic Hs578T cancer cell line. *Oncology Letters*, 18(6), 5941. <https://doi.org/10.3892/OL.2019.10969>
- Dieci, G., Preti, M., & Montanini, B. (2009). Eukaryotic snoRNAs: A paradigm for gene expression flexibility. *Genomics*, 94(2), 83–88.

- <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2009.05.002>
- Dinger, M. E., Gascoigne, D. K., & Mattick, J. S. (2011). The evolution of RNAs with multiple functions. *Biochimie*, *93*(11), 2013–2018.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2011.07.018>
- Dinger, M. E., Pang, K. C., Mercer, T. R., & Mattick, J. S. (2008). Differentiating Protein-Coding and Noncoding RNA: Challenges and Ambiguities. *PLOS Computational Biology*, *4*(11), e1000176. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1000176>
- Donker, M., van Tienhoven, G., Straver, M. E., Meijnen, P., van de Velde, C. J. H., Mansel, R. E., Cataliotti, L., Westenberg, A. H., Klinkenbijn, J. H. G., Orzalesi, L., Bouma, W. H., van der Mijle, H. C. J., Nieuwenhuijzen, G. A. P., Veltkamp, S. C., Slaets, L., Duez, N. J., de Graaf, P. W., van Dalen, T., Marinelli, A., ... Rutgers, E. J. T. (2014). Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *The Lancet. Oncology*, *15*(12), 1303–1310.  
[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70460-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70460-7)
- Dowsett, M., Cuzick, J., Ingle, J., Coates, A., Forbes, J., Bliss, J., Buyse, M., Baum, M., Buzdar, A., Colleoni, M., Coombes, C., Snowdon, C., Gnant, M., Jakesz, R., Kaufmann, M., Boccardo, F., Godwin, J., Davies, C., & Peto, R. (2010). Meta-analysis of breast cancer outcomes in adjuvant trials of aromatase inhibitors versus tamoxifen. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *28*(3), 509–518. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.1274>
- Drăgănescu, M., & Carmocan, C. (2017). Hormone Therapy in Breast Cancer. *Chirurgia (Bucharest, Romania : 1990)*, *112*(4), 413–417.  
<https://doi.org/10.21614/CHIRURGIA.112.4.413>
- Du, T., Shi, Y., Xu, S., Wan, X., Sun, H., & Liu, B. (2020). Long Non-Coding RNAs in Drug Resistance of Breast Cancer. *OncoTargets and Therapy*, *13*, 7075.  
<https://doi.org/10.2147/OTT.S255226>
- Eastlack, S. C., Dong, S., Mo, Y. Y., & Alahari, S. K. (2018). Expression of long noncoding RNA MALAT1 correlates with increased levels of Nischarin and inhibits oncogenic cell functions in breast cancer. *PloS One*, *13*(6).  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0198945>
- Elias-Rizk, T., El Hajj, J., Segal-Bendirdjian, E., & Hilal, G. (2020). The long non coding RNA H19 as a biomarker for breast cancer diagnosis in Lebanese women. *Scientific Reports 2020 10:1*, *10*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79285-z>
- Factor, D. C., Tesar, P. J., & Khalil, A. M. (2013). Chromatin regulation by long non-coding RNAs. *Molecular Biology of Long Non-Coding RNAs*, 1–13.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8621-3\\_1/COVER](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8621-3_1/COVER)
- Feng, L., Liao, Y. T., He, J. C., Xie, C. L., Chen, S. Y., Fan, H. H., Su, Z. P., & Wang, Z. (2018). Plasma long non-coding RNA BACE1 as a novel biomarker for diagnosis of Alzheimer disease. *BMC Neurology*, *18*(1). <https://doi.org/10.1186/S12883-017-1008-X>
- Fernández-Millán, P., Schelcher, C., Chihade, J., Masquida, B., Giegé, P., & Sauter, C. (2016). Transfer RNA: From pioneering crystallographic studies to contemporary tRNA biology. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *602*, 95–105.  
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.03.005>
- Filippova, E. A., Fridman, M. V., Burdenny, A. M., Loginov, V. I., Pronina, I. V., Lukina, S. S., Dmitriev, A. A., & Braga, E. A. (2021). Long Noncoding RNA GAS5 in Breast Cancer: Epigenetic Mechanisms and Biological Functions. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(13). <https://doi.org/10.3390/IJMS22136810>
- Foulkes, W. D., Brunet, J. S., Stefansson, I. M., Straume, O., Chappuis, P. O., Bégin, L. R., Hamel, N., Goffin, J. R., Wong, N., Trudel, M., Kapusta, L., Porter, P., & Akslén, L. A. (2004). The prognostic implication of the basal-like (cyclin E high/p27 low/p53+/glomeruloid-microvascular-proliferation+) phenotype of BRCA1-related breast cancer. *Cancer Research*, *64*(3), 830–835. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-2970>
- Fu, J., Dong, G., Shi, H., Zhang, J., Ning, Z., Bao, X., Liu, C., Hu, J., Liu, M., & Xiong, B.

- (2019). LncRNA MIR503HG inhibits cell migration and invasion via miR-103/OLFM4 axis in triple negative breast cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(7), 4738–4745. <https://doi.org/10.1111/JCMM.14344>
- Gabos, Z., Sinha, R., Hanson, J., Chauhan, N., Hugh, J., Mackey, J. R., & Abdulkarim, B. (2006). Prognostic significance of human epidermal growth factor receptor positivity for the development of brain metastasis after newly diagnosed breast cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 24(36), 5658–5663. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.07.0250>
- Gao, J. J., & Swain, S. M. (2018). Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *The Oncologist*, 23(5), 556–565. <https://doi.org/10.1634/THEONCOLOGIST.2017-0535>
- Gao, J., Wang, F., Wu, P., Chen, Y., & Jia, Y. (2020). Aberrant LncRNA Expression in Leukemia. *Journal of Cancer*, 11(14), 4284–4296. <https://doi.org/10.7150/JCA.42093>
- García-Aranda, M., & Redondo, M. (2019). Immunotherapy: A Challenge of Breast Cancer Treatment. *Cancers*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/CANCERS11121822>
- Gayen, S., & Kalantry, S. (2017). Chromatin-enriched lncRNAs: a novel class of enhancer RNAs. *Nature Structural & Molecular Biology* 2017 24:7, 24(7), 556–557. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3430>
- Ge, S., Mi, Y., Zhao, X., Hu, Q., Guo, Y., Zhong, F., Zhang, Y., Xia, G., & Sun, C. (2020). Characterization and validation of long noncoding RNAs as new candidates in prostate cancer. *Cancer Cell International*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12935-020-01615-Y>
- Geisler, S., Lojek, L., Khalil, A. M., Baker, K. E., & Coller, J. (2012). Decapping of long noncoding RNAs regulates inducible genes. *Molecular Cell*, 45(3), 279–291. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2011.11.025>
- Ghafouri-Fard, S., Esmaceli, M., & Taheri, M. (2020). H19 lncRNA: Roles in tumorigenesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 123. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.109774>
- Ghafouri-Fard, S., Kamali, M. J., Abak, A., Shoorei, H., & Taheri, M. (2021). LncRNA ZFAS1: Role in tumorigenesis and other diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, 111999. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2021.111999>
- Ghafouri-Fard, S., Shoorei, H., Bahroudi, Z., Abak, A., & Taheri, M. (2021). The role of H19 lncRNA in conferring chemoresistance in cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111447. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2021.111447>
- Ghosh, S. K., Patton, J. R., & Spanjaard, R. A. (2012). A small RNA derived from RNA coactivator SRA blocks steroid receptor signaling via inhibition of Pus1p-mediated pseudouridylation of SRA: evidence of a novel RNA binding domain in the N-terminus of steroid receptors. *Biochemistry*, 51(41), 8163–8172. <https://doi.org/10.1021/BI300602R>
- Gibb, E. A., Brown, C. J., & Lam, W. L. (2011a). The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Molecular Cancer*, 10. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-38>
- Gibb, E. A., Brown, C. J., & Lam, W. L. (2011b). The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Molecular Cancer*, 10. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-38>
- Giegé, R., Jühling, F., Pütz, J., Stadler, P., Sauter, C., & Florentz, C. (2012). Structure of transfer RNAs: Similarity and variability. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 3(1), 37–61. <https://doi.org/10.1002/wrna.103>
- Ginsburg, O., Yip, C. H., Brooks, A., Cabanes, A., Caleffi, M., Yataco, J. A. D., Gyawali, B., McCormack, V., de Anderson, M. M. L., Mehrotra, R., Mohar, A., Murillo, R., Pace, L. E., Paskett, E. D., Romanoff, A., Rositch, A. F., Scheel, J. R., Schneidman, M., Unger-Saldaña, K., ... Anderson, B. O. (2020). Breast cancer early detection: a phased approach to implementation. *Cancer*, 126(Suppl 10), 2379. <https://doi.org/10.1002/CNCR.32887>
- Giordano, S. H., Buzdar, A. U., Smith, T. L., Kau, S. W., Yang, Y., & Hortobagyi, G. N. (2004). Is breast cancer survival improving? *Cancer*, 100(1), 44–52.

- <https://doi.org/10.1002/CNCR.11859>
- Giugliano, F. M., Falivene, S., Esposito, E., Di Franco, R., Muto, M., D' Aiuto, M., & Muto, P. (2017). External radiotherapy for breast cancer in the elderly. *Aging Clinical and Experimental Research*, 29(Suppl 1), 149–157. <https://doi.org/10.1007/S40520-016-0655-X>
- Goel, S., Sharma, R., Hamilton, A., & Beith, J. (2009). LHRH agonists for adjuvant therapy of early breast cancer in premenopausal women. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2009(4). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004562.PUB4>
- Goodman, C. R., Seagle, B. L. L., Friedl, T. W. P., Rack, B., Lato, K., Fink, V., Cristofanilli, M., Donnelly, E. D., Janni, W., Shahabi, S., & Strauss, J. B. (2018). Association of Circulating Tumor Cell Status With Benefit of Radiotherapy and Survival in Early-Stage Breast Cancer. *JAMA Oncology*, 4(8), e180163–e180163. <https://doi.org/10.1001/JAMAONCOL.2018.0163>
- Goustin, A. S., Thepsuwan, P., Kosir, M. A., & Lipovich, L. (2019). The Growth-Arrest-Specific ( GAS)-5 Long Non-Coding RNA: A Fascinating lncRNA Widely Expressed in Cancers. *Non-Coding RNA*, 5(3). <https://doi.org/10.3390/NCRNA5030046>
- Gown, A. M., Goldstein, L. C., Barry, T. S., Kussick, S. J., Kandalaft, P. L., Kim, P. M., & Tse, C. C. (2008). High concordance between immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization testing for HER2 status in breast cancer requires a normalized IHC scoring system. *Modern Pathology* 2008 21:10, 21(10), 1271–1277. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2008.83>
- Grote, P., Wittler, L., Hendrix, D., Koch, F., Währisch, S., Beisaw, A., Macura, K., Bläss, G., Kellis, M., Werber, M., & Herrmann, B. G. (2013). The tissue-specific lncRNA Fendrr is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse. *Developmental Cell*, 24(2), 206–214. <https://doi.org/10.1016/J.DEVCEL.2012.12.012>
- Gu, L., Zhang, J., Shi, M., Zhan, Q., Shen, B., & Peng, C. (2017). lncRNA MEG3 had anti-cancer effects to suppress pancreatic cancer activity. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 89, 1269–1276. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2017.02.041>
- Guameri, V., & Conte, P. (2009). Metastatic breast cancer: therapeutic options according to molecular subtypes and prior adjuvant therapy. *The Oncologist*, 14(7), 645–656. <https://doi.org/10.1634/THEONCOLOGIST.2009-0078>
- Guil, S., & Esteller, M. (2015). RNA-RNA interactions in gene regulation: the coding and noncoding players. *Trends in Biochemical Sciences*, 40(5), 248–256. <https://doi.org/10.1016/J.TIBS.2015.03.001>
- Hall, J. M., Lee, M. K., Newman, B., Morrow, J. E., Anderson, L. A., Huey, B., & King, M. C. (1990). Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science (New York, N.Y.)*, 250(4988), 1684–1689. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.2270482>
- Hamajima, N., Hirose, K., Tajima, K., Rohan, T., Friedenreich, C. M., Calle, E. E., Gapstur, S. M., Patel, A. V., Coates, R. J., Liff, J. M., Talamini, R., Chantarakul, N., Koetsawang, S., Rachawat, D., Marcou, Y., Kakouri, E., Duffy, S. W., Morabia, A., Schuman, L., ... Fukao, A. (2012). Menarche, menopause, and breast cancer risk: Individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *The Lancet Oncology*, 13(11), 1141–1151. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70425-4/ATTACHMENT/DBF3E2F6-E657-4BDD-913D-F5209AABB20B/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70425-4/ATTACHMENT/DBF3E2F6-E657-4BDD-913D-F5209AABB20B/MMC1.PDF)
- Han, L., Yan, Y., Zhao, L., Liu, Y., Lv, X., Zhang, L., Zhao, Y., Zhao, H., He, M., & Wei, M. (2020). lncRNA HOTTIP facilitates the stemness of breast cancer via regulation of miR-148a-3p/WNT1 pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(11), 6242–6252. <https://doi.org/10.1111/JCMM.15261>
- Harris, H. R., Willett, W. C., Vaidya, R. L., & Michels, K. B. (2017). An Adolescent and Early Adulthood Dietary Pattern Associated with Inflammation and the Incidence of Breast Cancer. *Cancer Research*, 77(5), 1179–1187. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2273>
- Harris, J. R. (2005). Radiation therapy for invasive breast cancer: not just for local control.

- Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 23(8), 1607–1608. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.11.048>
- Hartford, C. C. R., & Lal, A. (2020). When Long Noncoding Becomes Protein Coding. *Molecular and Cellular Biology*, 40(6). <https://doi.org/10.1128/MCB.00528-19>
- Hassan, M. S. U., Ansari, J., Spooner, D., & Hussain, S. A. (2010). Chemotherapy for breast cancer (Review). *Oncology Reports*, 24(5), 1121–1131. [https://doi.org/10.3892/OR\\_00000963](https://doi.org/10.3892/OR_00000963)
- Hauner, K., Maisch, P., & Retz, M. (2017). [Side effects of chemotherapy]. *Der Urologe. Ausg. A*, 56(4), 472–479. <https://doi.org/10.1007/S00120-017-0338-Z>
- He, J., Zhu, S., Liang, X., Zhang, Q., Luo, X., Liu, C., & Song, L. (2021). LncRNA as a multifunctional regulator in cancer multi-drug resistance. *Molecular Biology Reports* 2021 48:8, 48(8), 1–15. <https://doi.org/10.1007/S11033-021-06603-7>
- He, Y., Luo, Y., Liang, B., Ye, L., Lu, G., & He, W. (2017). Potential applications of MEG3 in cancer diagnosis and prognosis. *Oncotarget*, 8(42), 73282–73295. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.19931>
- Heitz, F., Harter, P., Lueck, H. J., Fissler-Eckhoff, A., Lorenz-Salehi, F., Scheil-Bertram, S., Traut, A., & Bois, A. du. (2009). Triple-negative and HER2-overexpressing breast cancers exhibit an elevated risk and an earlier occurrence of cerebral metastases. *European Journal of Cancer*, 45(16), 2792–2798. <https://doi.org/10.1016/J.EJCA.2009.06.027>
- Hennequin, C., Belkacémi, Y., Bourcier, C., Cowen, D., Cutuli, B., Fourquet, A., Hannoun-Lévi, J. M., Pasquier, D., Racadot, S., & Rivera, S. (2022). Radiotherapy of breast cancer. *Cancer Radiotherapie : Journal de La Societe Francaise de Radiotherapie Oncologique*, 26(1–2), 221–230. <https://doi.org/10.1016/J.CANRAD.2021.11.013>
- Higgins, M. J., & Baselga, J. (2011). Targeted therapies for breast cancer. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(10), 3797. <https://doi.org/10.1172/JCI57152>
- Hilal, T., & Romond, E. H. (2016). ERBB2 (HER2) Testing in Breast Cancer. *JAMA*, 315(12), 1280–1281. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2015.17463>
- Hobuß, L., Bär, C., & Thum, T. (2019). Long Non-coding RNAs: At the Heart of Cardiac Dysfunction? *Frontiers in Physiology*, 10(JAN). <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2019.00030>
- Hofvind, S., Holen, Aas, T., Roman, M., Sebuødegård, S., & Akslén, L. A. (2015). Women treated with breast conserving surgery do better than those with mastectomy independent of detection mode, prognostic and predictive tumor characteristics. *European Journal of Surgical Oncology : The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, 41(10), 1417–1422. <https://doi.org/10.1016/J.EJSO.2015.07.002>
- Holick, C. N., Newcomb, P. A., Trentham-Dietz, A., Titus-Ernstoff, L., Bersch, A. J., Stampfer, M. J., Baron, J. A., Egan, K. M., & Willett, W. C. (2008). Physical activity and survival after diagnosis of invasive breast cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention : A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 17(2), 379–386. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0771>
- Holloway, R. W., & Marignani, P. A. (2021). Targeting mTOR and Glycolysis in HER2-Positive Breast Cancer. *Cancers*, 13(12). <https://doi.org/10.3390/CANCERS13122922>
- Hortobagyi, G. N., de la Garza Salazar, J., Pritchard, K., Amadori, D., Haidinger, R., Hudis, C. A., Khaled, H., Liu, M. C., Martin, M., Namer, M., O’Shaughnessy, J. A., Shen, Z. Z., & Albain, K. S. (2005). The global breast cancer burden: variations in epidemiology and survival. *Clinical Breast Cancer*, 6(5), 391–401. <https://doi.org/10.3816/CBC.2005.N.043>
- Hu, B., Zhong, L., Weng, Y., Peng, L., Huang, Y., Zhao, Y., & Liang, X. J. (2020). Therapeutic siRNA: state of the art. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/S41392-020-0207-X>
- Hu, H., Hu, J., Yang, Y., Zhou, W., & Ye, C. (2021). Assessment of circulating HISLA as a potential biomarker for breast cancer diagnosis and prognosis. *Clinical and*



*Experimental Medicine*, 21(1), 29–34. <https://doi.org/10.1007/S10238-020-00670-Z/METRICS>

- Hu, Z., Fan, C., Oh, D. S., Marron, J. S., He, X., Qaqish, B. F., Livasy, C., Carey, L. A., Reynolds, E., Dressler, L., Nobel, A., Parker, J., Ewend, M. G., Sawyer, L. R., Wu, J., Liu, Y., Nanda, R., Tretiakova, M., Orrico, A. R., ... Perou, C. M. (2006). The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics*, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-96>
- Huang, B., Yu, M., Guan, R., Liu, D., & Hou, B. (2020). A Comprehensive Exploration of the lncRNA CCAT2: A Pan-Cancer Analysis Based on 33 Cancer Types and 13285 Cases. *Disease Markers*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5354702>
- Huang, Q.-Y., Liu, G.-F., Qian, X.-L., Tang, L.-B., Huang, Q.-Y., & Xiong, L.-X. (2019). *Long Non-Coding RNA: Dual Effects on Breast Cancer Metastasis and Clinical Applications*. <https://doi.org/10.3390/cancers11111802>
- Hunt, K. N. (2021). Molecular Breast Imaging: A Scientific Review. *Journal of Breast Imaging*, 3(4), 416–426. <https://doi.org/10.1093/JBI/WBAB039>
- Huober, J., & Thürlimann, B. (2009). The Role of Combination Chemotherapy in the Treatment of Patients with Metastatic Breast Cancer. *Breast Care*, 4(6), 367. <https://doi.org/10.1159/000262808>
- Iwasaki, Y. W., Siomi, M. C., & Siomi, H. (2015). PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions. *Annual Review of Biochemistry*, 84, 405–433. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-060614-034258>
- Jafari, S. H., Saadatpour, Z., Salmaninejad, A., Momeni, F., Mokhtari, M., Nahand, J. S., Rahmati, M., Mirzaei, H., & Kianmehr, M. (2018). Breast cancer diagnosis: Imaging techniques and biochemical markers. *Journal of Cellular Physiology*, 233(7), 5200–5213. <https://doi.org/10.1002/JCP.26379>
- Jarroux, J., Morillon, A., & Pinskaya, M. (2017). History, discovery, and classification of lncRNAs. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1008, 1–46. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3\\_1/COVER](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_1/COVER)
- Jatoi, I., Anderson, W. F., Rao, S. R., & Devesa, S. S. (2005). Breast cancer trends among black and white women in the United States. *Journal of Clinical Oncology*, 23(31), 7836–7841. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.01.0421>
- Jemal, A., Ward, E., & Thun, M. J. (2007). Recent trends in breast cancer incidence rates by age and tumor characteristics among U.S. women. *Breast Cancer Research : BCR*, 9(3). <https://doi.org/10.1186/BCR1672>
- Jiang, L., Li, Z., & Wang, R. (2019). Long non-coding RNAs in lung cancer: Regulation patterns, biologic function and diagnosis implications (Review). *International Journal of Oncology*, 55(3), 585. <https://doi.org/10.3892/IJO.2019.4850>
- Jiang, M.-C., Ni, J.-J., Cui, W.-Y., Wang, B.-Y., & Zhuo, W. (2019). Emerging roles of lncRNA in cancer and therapeutic opportunities. *American Journal of Cancer Research*, 9(7), 1354–1366. <https://europepmc.org/articles/PMC6682721>
- Jiang, X., Zhou, Y., Sun, A. J., & Xue, J. L. (2018). NEAT1 contributes to breast cancer progression through modulating miR-448 and ZEB1. *Journal of Cellular Physiology*, 233(11), 8558–8566. <https://doi.org/10.1002/JCP.26470>
- Jiao, F., Hu, H., Yuan, C., Wang, L., Jiang, W., Jin, Z., Guo, Z., & Wang, L. (2014). Elevated expression level of long noncoding RNA MALAT-1 facilitates cell growth, migration and invasion in pancreatic cancer. *Oncology Reports*, 32(6), 2485–2492. <https://doi.org/10.3892/OR.2014.3518>
- Jin, H., Du, W., Huang, W., Yan, J., Tang, Q., Chen, Y., & Zou, Z. (2021a). lncRNA and breast cancer: Progress from identifying mechanisms to challenges and opportunities of clinical treatment. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*, 25, 613–637. <https://doi.org/10.1016/J.OMTN.2021.08.005>
- Jin, H., Du, W., Huang, W., Yan, J., Tang, Q., Chen, Y., & Zou, Z. (2021b). lncRNA and breast cancer: Progress from identifying mechanisms to challenges and opportunities of clinical treatment. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 25, 613–637. <https://doi.org/10.1016/J.OMTN.2021.08.005>

- Jin, H., Du, W., Huang, W., Yan, J., Tang, Q., Chen, Y., & Zou, Z. (2021c). lncRNA and breast cancer: Progress from identifying mechanisms to challenges and opportunities of clinical treatment. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*, 25, 613–637. <https://doi.org/10.1016/J.OMTN.2021.08.005>
- Jin, H., Du, W., Huang, W., Yan, J., Tang, Q., Chen, Y., & Zou, Z. (2021d). lncRNA and breast cancer: Progress from identifying mechanisms to challenges and opportunities of clinical treatment. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*, 25, 613–637. <https://doi.org/10.1016/J.OMTN.2021.08.005>
- Jin, H., Du, W., Huang, W., Yan, J., Tang, Q., Chen, Y., & Zou, Z. (2021e). lncRNA and breast cancer: Progress from identifying mechanisms to challenges and opportunities of clinical treatment. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*, 25, 613. <https://doi.org/10.1016/J.OMTN.2021.08.005>
- Kai-xing, L., Cheng, C., Rui, L., Zheng-wei, S., Wen-wen, T., & Peng, X. (2021). Roles of lncRNA MAGI2-AS3 in human cancers. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 141. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2021.111812>
- Kallen, A. N., Zhou, X. B., Xu, J., Qiao, C., Ma, J., Yan, L., Lu, L., Liu, C., Yi, J. S., Zhang, H., Min, W., Bennett, A. M., Gregory, R. I., Ding, Y., & Huang, Y. (2013). The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs. *Molecular Cell*, 52(1), 101–112. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2013.08.027>
- Kambara, H., Niazi, F., Kostadinova, L., Moonka, D. K., Siegel, C. T., Post, A. B., Carnero, E., Barriocanal, M., Fortes, P., Anthony, D. D., & Valadkhan, S. (2014). Negative regulation of the interferon response by an interferon-induced long non-coding RNA. *Nucleic Acids Research*, 42(16), 10668–10681. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKU713>
- Katsushima, K., Jallo, G., Eberhart, C. G., & Perera, R. J. (2021). Long non-coding RNAs in brain tumors. *NAR Cancer*, 3(1). <https://doi.org/10.1093/NARCAN/ZCAA041>
- Katz, S. J., Lantz, P. M., Janz, N. K., Fagerlin, A., Schwanz, R., Liu, L., Deapen, D., Salem, B., Lakhani, I., & Morrow, M. (2005). Patient involvement in surgery treatment decisions for breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 23(24), 5526–5533. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.06.217>
- Kawachi, A., Yamashita, S., Okochi-Takada, E., Hirakawa, A., Tsuda, H., Shimomura, A., Kojima, Y., Yonemori, K., Fujiwara, Y., Kinoshita, T., Ushijima, T., & Tamura, K. (2020). BRCA1 promoter methylation in breast cancer patients is associated with response to olaparib/eribulin combination therapy. *Breast Cancer Research and Treatment*, 181(2), 323–329. <https://doi.org/10.1007/S10549-020-05647-W>
- Kazimierczyk, M., Kasprowicz, M. K., Kasprzyk, M. E., & Wrzesinski, J. (2020). Human Long Noncoding RNA Interactome: Detection, Characterization and Function. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3). <https://doi.org/10.3390/IJMS21031027>
- Kennecke, H., Yerushalmi, R., Woods, R., Cheang, M. C. U., Voduc, D., Speers, C. H., Nielsen, T. O., & Gelmon, K. (2010). Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *Journal of Clinical Oncology*, 28(20), 3271–3277. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.9820>
- Kerlikowske, K., Hubbard, R. A., Miglioretti, D. L., Geller, B. M., Yankaskas, B. C., Lehman, C. D., Taplin, S. H., & Sickles, E. A. (2011). Comparative Effectiveness of Digital Versus Film-Screen Mammography in Community Practice in the United States: A Cohort Study. *Annals of Internal Medicine*, 155(8), 493. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00005>
- Khalil, A. M., Guttman, M., Huarte, M., Garber, M., Raj, A., Morales, D. R., Thomas, K., Presser, A., Bernstein, B. E., Van Oudenaarden, A., Regev, A., Lander, E. S., & Rinn, J. L. (2009). Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(28), 11667–11672. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0904715106>
- Khan, M. R., Wellinger, R. J., & Laurent, B. (2021). Exploring the Alternative Splicing of

- Long Noncoding RNAs. *Trends in Genetics*, 37(8), 695–698.  
<https://doi.org/10.1016/J.TIG.2021.03.010>
- Kim, J., Piao, H. L., Kim, B. J., Yao, F., Han, Z., Wang, Y., Xiao, Z., Siverly, A. N., Lawhon, S. E., Ton, B. N., Lee, H., Zhou, Z., Gan, B., Nakagawa, S., Ellis, M. J., Liang, H., Hung, M. C., You, M. J., Sun, Y., & Ma, L. (2018). Long noncoding RNA MALAT1 suppresses breast cancer metastasis. *Nature Genetics*, 50(12), 1705–1715.  
<https://doi.org/10.1038/S41588-018-0252-3>
- Kim, S. H., Lim, K. H., Yang, S., & Joo, J. Y. (2021). Long non-coding RNAs in brain tumors: roles and potential as therapeutic targets. *Journal of Hematology & Oncology*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/S13045-021-01088-0>
- Kim, Y. A., Park, K. K., & Lee, S. J. (2020). LncRNAs Act as a Link between Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(8). <https://doi.org/10.3390/IJMS21082883>
- Kim, Y., Yoo, K. Y., & Goodman, M. T. (2015). Differences in incidence, mortality and survival of breast cancer by regions and countries in Asia and contributing factors. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 16(7), 2857–2870.  
<https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.7.2857>
- Klee, G. G., & Schreiber, W. E. (2004). MUC1 gene-derived glycoprotein assays for monitoring breast cancer (CA 15-3, CA 27.29, BR): are they measuring the same antigen? *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 128(10), 1131–1135.  
<https://doi.org/10.5858/2004-128-1131-MGGAFM>
- Kloc, M., Foreman, V., & Reddy, S. A. (2011). Binary function of mRNA. *Biochimie*, 93(11), 1955–1961. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2011.07.008>
- Koboldt, D. C., Fulton, R. S., McLellan, M. D., Schmidt, H., Kalicki-Veizer, J., McMichael, J. F., Fulton, L. L., Dooling, D. J., Ding, L., Mardis, E. R., Wilson, R. K., Ally, A., Balasundaram, M., Butterfield, Y. S. N., Carlsen, R., Carter, C., Chu, A., Chuah, E., Chun, H. J. E., ... Palchik, J. D. (2012). Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 490(7418), 61–70. <https://doi.org/10.1038/NATURE11412>
- Kong, X., Yan, K., Deng, P., Fu, H., Sun, H., Huang, W., Jiang, S., Dai, J., Zhang, Q. C., Liu, J. J. G., & Xi, Q. (2022). LncRNA-Smad7 mediates cross-talk between Nodal/TGF- $\beta$  and BMP signaling to regulate cell fate determination of pluripotent and multipotent cells. *Nucleic Acids Research*, 50(18), 10526–10543.  
<https://doi.org/10.1093/NAR/GKAC780>
- Kornienko, A. E., Guenzl, P. M., Barlow, D. P., & Pauler, F. M. (2013). Gene regulation by the act of long non-coding RNA transcription. *BMC Biology*, 11, 59.  
<https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-59>
- Krishnamurti, U., & Silverman, J. F. (2014). HER2 in breast cancer: a review and update. *Advances in Anatomic Pathology*, 21(2), 100–107.  
<https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000015>
- Lagarde, J., Uszczyńska-Ratajczak, B., Carbonell, S., Pérez-Lluch, S., Abad, A., Davis, C., Gingeras, T. R., Frankish, A., Harrow, J., Guigo, R., & Johnson, R. (2017). High-throughput annotation of full-length long noncoding RNAs with Capture Long-Read Sequencing. *Nature Genetics*, 49(12), 1731. <https://doi.org/10.1038/NG.3988>
- Lai, F., Orom, U. A., Cesaroni, M., Beringer, M., Taatjes, D. J., Blobel, G. A., & Shiekhattar, R. (2013). Activating RNAs associate with Mediator to enhance chromatin architecture and transcription. *Nature*, 494(7438), 497–501. <https://doi.org/10.1038/NATURE11884>
- Latowska, J., Grabowska, A., Zarębska, Z., Kuczyński, K., Kuczyńska, B., & Rolle, K. (2020). Non-coding RNAs in Brain Tumors, the Contribution of lncRNAs, circRNAs, and snoRNAs to Cancer Development-Their Diagnostic and Therapeutic Potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 1–31.  
<https://doi.org/10.3390/IJMS21197001>
- Lee, B., Mazar, J., Aftab, M. N., Qi, F., Shelley, J., Li, J. L., Govindarajan, S., Valerio, F., Rivera, I., Thurn, T., Tran, T. A., Kameh, D., Patel, V., & Perera, R. J. (2014). Long noncoding RNAs as putative biomarkers for prostate cancer detection. *The Journal of Molecular Diagnostics : JMD*, 16(6), 615–626.

- <https://doi.org/10.1016/J.JMOLDX.2014.06.009>
- Lee, J. (2019). A Meta-analysis of the Association Between Physical Activity and Breast Cancer Mortality. *Cancer Nursing*, 42(4), 271–285.  
<https://doi.org/10.1097/NCC.0000000000000580>
- Lein, B. C., Alex, W. R., Zebley, D. M., & Pezzi, C. M. (1996). Results of needle localized breast biopsy in women under age 50. *American Journal of Surgery*, 171(3), 356–359.  
[https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(97\)89641-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(97)89641-9)
- Li, C. I., Beaver, E. F., Tang, M. T. C., Porter, P. L., Daling, J. R., & Malone, K. E. (2013). Reproductive factors and risk of estrogen receptor positive, triple-negative, and HER2-neu overexpressing breast cancer among women 20–44 years of age. *Breast Cancer Research and Treatment*, 137(2), 579. <https://doi.org/10.1007/S10549-012-2365-1>
- Li, G., Deng, L., Huang, N., & Sun, F. (2021). The Biological Roles of lncRNAs and Future Prospects in Clinical Application. *Diseases (Basel, Switzerland)*, 9(1), 8.  
<https://doi.org/10.3390/DISEASES9010008>
- Li, P., Zhou, B., Lv, Y., & Qian, Q. (2019). lncRNA HEIH regulates cell proliferation and apoptosis through miR-4458/SOCS1 axis in triple-negative breast cancer. *Human Cell*, 32(4), 522–528. <https://doi.org/10.1007/S13577-019-00273-1>
- Li, X., Chen, N., Zhou, L., Wang, C., Wen, X., Jia, L., Cui, J., Hoffman, A. R., Hu, J.-F., & Li, W. (2019). Genome-wide target interactome profiling reveals a novel EEF1A1 epigenetic pathway for oncogenic lncRNA MALAT1 in breast cancer. *American Journal of Cancer Research*, 9(4), 714. [/pmc/articles/PMC6511647/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36511647/)
- Li, Yang, Ma, H. Y., Hu, X. W., Qu, Y. Y., Wen, X., Zhang, Y., & Xu, Q. Y. (2020). lncRNA H19 promotes triple-negative breast cancer cells invasion and metastasis through the p53/TNFAIP8 pathway. *Cancer Cell International*, 20(1), 1–14.  
<https://doi.org/10.1186/S12935-020-01261-4/FIGURES/6>
- Li, Yiwei, Al Hallak, M. N., Philip, P. A., Azmi, A. S., & Mohammad, R. M. (2021). Non-Coding RNAs in Pancreatic Cancer Diagnostics and Therapy: Focus on lncRNAs, circRNAs, and piRNAs. *Cancers*, 13(16). <https://doi.org/10.3390/CANCERS13164161>
- Li, Z., Qian, J., Li, J., & Zhu, C. (2019). Knockdown of lncRNA-HOTAIR downregulates the drug-resistance of breast cancer cells to doxorubicin via the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 18(1), 435.  
<https://doi.org/10.3892/ETM.2019.7629>
- Liang, Y., Li, Y., Song, X., Zhang, N., Sang, Y., Zhang, H., Liu, Y., Chen, B., Zhao, W., Wang, L., Guo, R., Yu, Z., & Yang, Q. (2018). Long noncoding RNA LINP1 acts as an oncogene and promotes chemoresistance in breast cancer. *Cancer Biology & Therapy*, 19(2), 120–131. <https://doi.org/10.1080/15384047.2017.1394543>
- Liang, Y., Song, X., Li, Y., Chen, B., Zhao, W., Wang, L., Zhang, H., Liu, Y., Han, D., Zhang, N., Ma, T., Wang, Y., Ye, F., Luo, D., Li, X., & Yang, Q. (2020). lncRNA BCRT1 promotes breast cancer progression by targeting miR-1303/PTBP3 axis. *Molecular Cancer*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-020-01206-5>
- Lim, W., Olschwang, S., Keller, J. J., Westerman, A. M., Menko, F. H., Boardman, L. A., Scott, R. J., Trimbath, J., Giardiello, F. M., Gruber, S. B., Gille, J. J. P., Offerhaus, G. J. A., De Rooij, F. W. M., Wilson, J. H. P., Spigelman, A. D., Phillips, R. K. S., & Houlston, R. S. (2004). Relative frequency and morphology of cancers in STK11 mutation carriers. *Gastroenterology*, 126(7), 1788–1794.  
<https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2004.03.014>
- Lin, D. C., & Genzen, J. R. (2018). Concordance analysis of paired cancer antigen (CA) 15-3 and 27.29 testing. *Breast Cancer Research and Treatment*, 167(1), 269–276.  
<https://doi.org/10.1007/S10549-017-4513-0>
- Litwack, G. (2018). Nucleic Acids and Molecular Genetics. *Human Biochemistry*, 257–317.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-383864-3.00010-7>
- Liu, C., Wu, H. T., Zhu, N., Shi, Y. N., Liu, Z., Ao, B. X., Liao, D. F., Zheng, X. L., & Qin, L. (2016). Steroid receptor RNA activator: Biologic function and role in disease. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 459, 137–146.  
<https://doi.org/10.1016/J.CCA.2016.06.004>

- Liu, M., Xing, L. Q., & Liu, Y. J. (2017). A three-long noncoding RNA signature as a diagnostic biomarker for differentiating between triple-negative and non-triple-negative breast cancers. *Medicine*, *96*(9). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000006222>
- Liu, X.-M., Yang, B., & Han, J. (n.d.). *LncRNA LINP1 expression in breast cancer*.
- Liu, Yin, Sharma, S., & Watabe, K. (2015). Roles of lncRNA in breast cancer. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, *7*(1), 94. <https://doi.org/10.2741/S427>
- Liu, Yungyong, Li, M., Yu, H., & Piao, H. (2020). LncRNA CYTOR promotes tamoxifen resistance in breast cancer cells via sponging miR-125a-5p. *International Journal of Molecular Medicine*, *45*(2), 497–509. <https://doi.org/10.3892/IJMM.2019.4428/HTML>
- Løberg, M., Lousdal, M. L., Bretthauer, M., & Kalager, M. (2015). Benefits and harms of mammography screening. *Breast Cancer Research : BCR*, *17*(1). <https://doi.org/10.1186/S13058-015-0525-Z>
- Loi, S., Sotiriou, C., Haibe-Kains, B., Lallemand, F., Conus, N. M., Piccart, M. J., Speed, T. P., & McArthur, G. A. (2009). Gene expression profiling identifies activated growth factor signaling in poor prognosis (Luminal-B) estrogen receptor positive breast cancer. *BMC Medical Genomics*, *2*, 37–37. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-2-37>
- Lorenzi, L., Avila Cobos, F., Decock, A., Everaert, C., Helsmoortel, H., Lefever, S., Verboom, K., Volders, P. J., Speleman, F., Vandesompele, J., & Mestdagh, P. (2019). Long noncoding RNA expression profiling in cancer: Challenges and opportunities. *Genes, Chromosomes and Cancer*, *58*(4), 191–199. <https://doi.org/10.1002/GCC.22709>
- Lovelace, D. L., McDaniel, L. R., & Golden, D. (2019). Long-Term Effects of Breast Cancer Surgery, Treatment, and Survivor Care. *Journal of Midwifery & Women's Health*, *64*(6), 713–724. <https://doi.org/10.1111/JMWH.13012>
- Lu, T. X., & Rothenberg, M. E. (2018). MicroRNA. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *141*(4), 1202–1207. <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2017.08.034>
- Lukas, J., & Altmeyer, M. (2015). A lncRNA to repair DNA. *EMBO Reports*, *16*(11), 1413–1414. <https://doi.org/10.15252/EMBR.201541309>
- Luo, J., Qu, L., Gao, F., Lin, J., Liu, J., & Lin, A. (2021). LncRNAs: Architectural Scaffolds or More Potential Roles in Phase Separation. *Frontiers in Genetics*, *12*. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2021.626234>
- Luo, M., Jeong, M., Sun, D., Park, H. J., Rodriguez, B. A. T., Xia, Z., Yang, L., Zhang, X., Sheng, K., Darlington, G. J., Li, W., & Goodell, M. A. (2015). Long non-coding RNAs control hematopoietic stem cell function. *Cell Stem Cell*, *16*(4), 426–438. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2015.02.002>
- Lyu, Y., Bai, L., & Qin, C. (2019). Long noncoding RNAs in neurodevelopment and Parkinson's disease. *Animal Models and Experimental Medicine*, *2*(4), 239. <https://doi.org/10.1002/AME2.12093>
- Ma, H., Bernstein, L., Pike, M. C., & Ursin, G. (2006). Reproductive factors and breast cancer risk according to joint estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis of epidemiological studies. *Breast Cancer Research : BCR*, *8*(4). <https://doi.org/10.1186/BCR1525>
- Ma, L., Bajic, V. B., & Zhang, Z. (2013). On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biology*, *10*(6), 924–933. <https://doi.org/10.4161/RNA.24604>
- Mansell, J., Weiler-Mithoff, E., Stallard, S., Doughty, J. C., Mallon, E., & Romics, L. (2017). Oncoplastic breast conservation surgery is oncologically safe when compared to wide local excision and mastectomy. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, *32*, 179–185. <https://doi.org/10.1016/J.BREAST.2017.02.006>
- Mansoori, Y., Tabei, M. B., Askari, A., Izadi, P., Daraci, A., Bastami, M., Naghizadeh, M. M., Nariman-Saleh-Fam, Z., Mansoori, B., & Tavakkoly-Bazzaz, J. (2018). Expression levels of breast cancer-related GAS5 and LSINCT5 lncRNAs in cancer-free breast tissue: Molecular associations with age at menarche and obesity. *The Breast Journal*, *24*(6), 876–882. <https://doi.org/10.1111/TBJ.13067>
- Marchiò, C., Lambros, M. B., Gugliotta, P., Di Cantogno, L. V., Botta, C., Pasini, B., Tan, D. S. P., Mackay, A., Fenwick, K., Tamber, N., Bussolati, G., Ashworth, A., Reis-Filho, J. S., & Sapino, A. (2009). Does chromosome 17 centromere copy number predict

- polysomy in breast cancer? A fluorescence in situ hybridization and microarray-based CGH analysis. *The Journal of Pathology*, 219(1), 16–24.  
<https://doi.org/10.1002/PATH.2574>
- Md Pauzi, S. H., Masir, N., Yahaya, A., Mohammed, F., Tizen Laim, N. M. S., Mustangin, M., Aizudin, A. N., Talib, A., Teoh, K. H., Karim, N., Oy-Leng, J. W., & Rajadurai, P. (2021). HER2 testing by immunohistochemistry in breast cancer: A multicenter proficiency ring study. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*, 64(4), 677–682.  
[https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM\\_983\\_20](https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM_983_20)
- Meijers-Heijboer, H., Van den Ouweland, A., Klijn, J., Wasielewski, M., De Shoo, A., Oldenburg, R., Hollestelle, A., Houben, M., Crepin, E., Van Veghel-Plandsoen, M., Elstrodt, F., Van Duijn, C., Barrels, C., Meijerette, C., Schutte, M., McGuffog, L., Thompson, D., Easton, D. F., Sodha, N., ... Stratton, M. R. (2002). Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2\*1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations: The CHEK2-breast cancer consortium. *Nature Genetics*, 31(1), 55–59. <https://doi.org/10.1038/NG879>
- Melé, M., Mattioli, K., Mallard, W., Shechner, D. M., Gerhardinger, C., & Rinn, J. L. (2017). Chromatin environment, transcriptional regulation, and splicing distinguish lincRNAs and mRNAs. *Genome Research*, 27(1), 27–37. <https://doi.org/10.1101/GR.214205.116>
- Menstrual factors in relation to breast cancer risk - PubMed*. (n.d.). Retrieved April 26, 2022, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9752986/>
- Mody, V. V., Nounou, M. I., & Bikram, M. (2009). Novel nanomedicine-based MRI contrast agents for gynecological malignancies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(10), 795–807. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2009.04.020>
- Mohit, E., Hashemi, A., & Allahyari, M. (2014). Breast cancer immunotherapy: monoclonal antibodies and peptide-based vaccines. *Expert Review of Clinical Immunology*, 10(7), 927–961. <https://doi.org/10.1586/1744666X.2014.916211>
- Momenimovahed, Z., & Salehiniya, H. (2019a). Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer (Dove Medical Press)*, 11, 151–164. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S176070>
- Momenimovahed, Z., & Salehiniya, H. (2019b). <p>Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world</p>. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 11, 151–164. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S176070>
- Morrow, M., Waters, J., & Morris, E. (2011). MRI for breast cancer screening, diagnosis, and treatment. *The Lancet*, 378(9805), 1804–1811. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61350-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61350-0)
- Mozdarani, H., Ezzatizadeh, V., & Rahbar Parvaneh, R. (2020). The emerging role of the long non-coding RNA HOTAIR in breast cancer development and treatment. *Journal of Translational Medicine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S12967-020-02320-0>
- Narayanan, D., Madsen, K. S., Kalinyak, J. E., & Berg, W. A. (2011). Interpretation of positron emission mammography: feature analysis and rates of malignancy. *AJR. American Journal of Roentgenology*, 196(4), 956–970.  
<https://doi.org/10.2214/AJR.10.4748>
- National Cancer Institute. (2017). Breast Cancer Screening: Patient Version. *PDQ Cancer Information Summaries*, 22–24. <https://www.cancer.gov/types/breast>
- Ni, J., Samarsky, D. A., Liu, B., Ferbeyre, G., Cedergren, R., & Fournier, M. J. (1997). SnoRNAs as tools for RNA cleavage and modification. *Nucleic Acids Symposium Series*, 36, 61–63.
- Nicolini, A., Tartarelli, G., Carpi, A., Metelli, M. R., Ferrari, P., Anselmi, L., Conte, M., Berti, P., & Miccoli, P. (2006). Intensive post-operative follow-up of breast cancer patients with tumour markers: CEA, TPA or CA15.3 vs MCA and MCA-CA15.3 vs CEA-TPA-CA15.3 panel in the early detection of distant metastases. *BMC Cancer*, 6. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-6-269>
- Nojima, T., & Proudfoot, N. J. (2022). Mechanisms of lincRNA biogenesis as revealed by nascent transcriptomics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 23:6, 23(6), 389–406. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00447-6>

- Noller, H. F., Green, R., Heilek, G., Hoffarth, V., Hüttenhofer, A., Joseph, S., Lee, I., Lieberman, K., Mankin, A., & Merryman, C. (1995). Structure and function of ribosomal RNA. *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie et Biologie Cellulaire*, 73(11–12), 997–1009. <https://doi.org/10.1139/O95-107>
- Nounou, M. I., Elamrawy, F., Ahmed, N., Abdelraouf, K., Goda, S., & Syed-Sha-Qhattal, H. (2015). Breast Cancer: Conventional Diagnosis and Treatment Modalities and Recent Patents and Technologies. *Breast Cancer : Basic and Clinical Research*, 9(Suppl 2), 17. <https://doi.org/10.4137/BCBCR.S29420>
- Novikova, I. V., Hennelly, S. P., & Sanbonmatsu, K. Y. (2012). Structural architecture of the human long non-coding RNA, steroid receptor RNA activator. *Nucleic Acids Research*, 40(11), 5034–5051. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKS071>
- O'Connor, M. K., Phillips, S. W., Hruska, C. B., Rhodes, D. J., & Collins, D. A. (2007). Molecular breast imaging: advantages and limitations of a scintimammographic technique in patients with small breast tumors. *The Breast Journal*, 13(1), 3–11. <https://doi.org/10.1111/J.1524-4741.2006.00356.X>
- Ørom, U. A., Derrien, T., Beringer, M., Gumireddy, K., Gardini, A., Bussotti, G., Lai, F., Zytnicki, M., Notredame, C., Huang, Q., Guigo, R., & Shiekhattar, R. (2010). Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell*, 143(1), 46–58. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2010.09.001>
- Ozata, D. M., Gainetdinov, I., Zoch, A., O'Carroll, D., & Zamore, P. D. (2019). PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions. *Nature Reviews. Genetics*, 20(2), 89–108. <https://doi.org/10.1038/S41576-018-0073-3>
- Palmer, A. C., Barry Egan, J., & Shearwin, K. E. (2011). Transcriptional interference by RNA polymerase pausing and dislodgement of transcription factors. *Transcription*, 2(1), 9–14. <https://doi.org/10.4161/TRNS.2.1.13511>
- Palmer, M. L., & Tsangaris, T. N. (1993). Breast biopsy in women 30 years old or less. *American Journal of Surgery*, 165(6), 708–712. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(05\)80793-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(05)80793-7)
- Pang, B., Wang, Q., Ning, S., Wu, J., Zhang, X., Chen, Y., & Xu, S. (2019a). Landscape of tumor suppressor long noncoding RNAs in breast cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 38(1). <https://doi.org/10.1186/S13046-019-1096-0>
- Pang, B., Wang, Q., Ning, S., Wu, J., Zhang, X., Chen, Y., & Xu, S. (2019b). Landscape of tumor suppressor long noncoding RNAs in breast cancer. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 38(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/S13046-019-1096-0/FIGURES/10>
- Paraskevopoulou, M. D., & Hatzigeorgiou, A. G. (2016). Analyzing MiRNA-LncRNA Interactions. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1402, 271–286. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3378-5\\_21](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3378-5_21)
- Park, M. K., Zhang, L., Min, K. W., Cho, J. H., Yeh, C. C., Moon, H., Hormacchea-Agulla, D., Mun, H., Ko, S., Lee, J. W., Jathar, S., Smith, A. S., Yao, Y., Giang, N. T., Vu, H. H., Yan, V. C., Bridges, M. C., Kourtidis, A., Muller, F., ... Song, M. S. (2021). NEAT1 is essential for metabolic changes that promote breast cancer growth and metastasis. *Cell Metabolism*, 33(12), 2380-2397.e9. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2021.11.011>
- Pecero, M. L., Salvador-Bofill, J., & Molina-Pinelo, S. (2019). Long non-coding RNAs as monitoring tools and therapeutic targets in breast cancer. *Cellular Oncology*, 42(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/S13402-018-0412-6/FIGURES/2>
- Pedersen, J. W., & Wandall, H. H. (2011). Autoantibodies as Biomarkers in Cancer. *Laboratory Medicine*, 42(10), 623–628. <https://doi.org/10.1309/LM2T3OU3RZRTHKSN>
- Peng, F., Wang, R., Zhang, Y., Zhao, Z., Zhou, W., Chang, Z., Liang, H., Zhao, W., Qi, L., Guo, Z., & Gu, Y. (2017). Differential expression analysis at the individual level reveals a lncRNA prognostic signature for lung adenocarcinoma. *Molecular Cancer*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-017-0666-Z>
- Peng, X., Gralinski, L., Armour, C. D., Ferris, M. T., Thomas, M. J., Proll, S., Bradel-Tretheway, B. G., Korth, M. J., Castle, J. C., Biery, M. C., Bouzek, H. K., Haynor, D.

- R., Frieman, M. B., Heise, M., Raymond, C. K., Baric, R. S., & Katze, M. G. (2010). Unique signatures of long noncoding RNA expression in response to virus infection and altered innate immune signaling. *MBio*, *1*(5). <https://doi.org/10.1128/MBIO.00206-10>
- Peperstraete, E., Lecercf, C., Collette, J., Vennin, C., Raby, L., Völkel, P., Angrand, P. O., Winter, M., Bertucci, F., Finetti, P., Lagadec, C., Meignan, S., Bourette, R. P., Bourhis, X. Le, & Adriaenssens, E. (2020). Enhancement of Breast Cancer Cell Aggressiveness by lncRNA H19 and its Mir-675 Derivative: Insight into Shared and Different Actions. *Cancers*, *12*(7), 1–20. <https://doi.org/10.3390/CANCERS12071730>
- Perou, C. M., Sorile, T., Eisen, M. B., Van De Rijn, M., Jeffrey, S. S., Ress, C. A., Pollack, J. R., Ross, D. T., Johnsen, H., Akslen, L. A., Fluge, Ø., Pergammenschlkov, A., Williams, C., Zhu, S. X., Lønning, P. E., Borresen-Dale, A. L., Brown, P. O., & Botstein, D. (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, *406*(6797), 747–752. <https://doi.org/10.1038/35021093>
- Portoso, M., Ragazzini, R., Brenčić, Ž., Moiani, A., Michaud, A., Vassilev, I., Wassef, M., Servant, N., Sargueil, B., & Margueron, R. (2017). PRC2 is dispensable for HOTAIR-mediated transcriptional repression. *The EMBO Journal*, *36*(8), 981–994. <https://doi.org/10.15252/EMBJ.201695335>
- Prat, A., & Perou, C. M. (2011). Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Molecular Oncology*, *5*(1), 5. <https://doi.org/10.1016/J.MOLONC.2010.11.003>
- Qiao, X., Hou, G., He, Y. L., Song, D. F., An, Y., Altawil, A., Zhou, X. M., Wang, Q. Y., Kang, J., & Yin, Y. (2022). The Novel Regulatory Role of the lncRNA–miRNA–mRNA Axis in Chronic Inflammatory Airway Diseases. *Frontiers in Molecular Biosciences*, *9*. <https://doi.org/10.3389/FMOLB.2022.927549>
- Quagliata, L., & Terracciano, L. M. (2014). Liver Diseases and Long Non-Coding RNAs: New Insight and Perspective. *Frontiers in Medicine*, *1*(OCT), 1–1. <https://doi.org/10.3389/FMED.2014.00035>
- Quinn, J. J., & Chang, H. Y. (2016). Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. *Nature Reviews. Genetics*, *17*(1), 47–62. <https://doi.org/10.1038/NRG.2015.10>
- Radpour, R., Barekati, Z., Kohler, C., Lv, Q., Bürki, N., Diesch, C., Bitzer, J., Zheng, H., Schmid, S., & Zhong, X. Y. (2011). Hypermethylation of Tumor Suppressor Genes Involved in Critical Regulatory Pathways for Developing a Blood-Based Test in Breast Cancer. *PLOS ONE*, *6*(1), e16080. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0016080>
- Rahman, N., Seal, S., Thompson, D., Kelly, P., Renwick, A., Elliott, A., Reid, S., Spanova, K., Barfoot, R., Chagtai, T., Jayatilake, H., McGuffog, L., Hanks, S., Evans, D. G., Eccles, D., Easton, D. F., & Stratton, M. R. (2007). PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nature Genetics*, *39*(2), 165–167. <https://doi.org/10.1038/NG1959>
- Ramakrishnan, V. (2002). Ribosome structure and the mechanism of translation. *Cell*, *108*(4), 557–572. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00619-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00619-0)
- Rampogu, S., Park, C., Ravinder, D., Son, M., Baek, A., Zeb, A., Bavi, R., Kumar, R., Lee, G., Parate, S., Pawar, S. C., Park, Y., Park, S. J., & Lee, K. W. (2019). Pharmacotherapeutics and Molecular Mechanism of Phytochemicals in Alleviating Hormone-Responsive Breast Cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*. <https://doi.org/10.1155/2019/5189490>
- Rasool, M., Malik, A., Zahid, S., Basit Ashraf, M. A., Qazi, M. H., Asif, M., Zaheer, A., Arshad, M., Raza, A., & Jamal, M. S. (2016). Non-coding RNAs in cancer diagnosis and therapy. *Non-Coding RNA Research*, *1*(1), 69–76. <https://doi.org/10.1016/J.NCRNA.2016.11.001>
- Raveh, E., Matouk, I. J., Gilon, M., & Hochberg, A. (2015). The H19 Long non-coding RNA in cancer initiation, progression and metastasis - a proposed unifying theory. *Molecular Cancer*, *14*(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-015-0458-2>
- Reis, E. M., & Verjovski-Almeida, S. (2012). Perspectives of Long Non-Coding RNAs in Cancer Diagnostics. *Frontiers in Genetics*, *3*(MAR). <https://doi.org/10.3389/FGENE.2012.00032>
- Ren, Y., Jia, H. huan, Xu, Y. qi, Zhou, X., Zhao, X. hui, Wang, Y. fei, Song, X., Zhu, Z. yan,



- Sun, T., Dou, Y., Tian, W. ping, Zhao, X. lan, Kang, C. sheng, & Mei, M. (2018). Paracrine and epigenetic control of CAF-induced metastasis: The role of HOTAIR stimulated by TGF- $\beta$ 1 secretion. *Molecular Cancer*, 17(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S12943-018-0758-4/FIGURES/8>
- Renwick, A., Thompson, D., Seal, S., Kelly, P., Chagtai, T., Ahmed, M., North, B., Jayatilake, H., Barfoot, R., Spanova, K., McGuffog, L., Evans, D. G., Eccles, D., Easton, D. F., Stratton, M. R., & Rahman, N. (2006). ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nature Genetics*, 38(8), 873–875. <https://doi.org/10.1038/NG1837>
- Rhodes, D. J., O'Connor, M. K., Phillips, S. W., Smith, R. L., & Collins, D. A. (2005). Molecular breast imaging: a new technique using technetium Tc 99m scintimammography to detect small tumors of the breast. *Mayo Clinic Proceedings*, 80(1), 24–30. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(11\)62953-4](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(11)62953-4)
- Rizvi, N. F., & Smith, G. F. (2017). RNA as a small molecule druggable target. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27(23), 5083–5088. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2017.10.052>
- Robinson, E. K., Covarrubias, S., & Carpenter, S. (2020). The how and why of lncRNA function: An innate immune perspective. *Biochimica et Biophysica Acta. Gene Regulatory Mechanisms*, 1863(4). <https://doi.org/10.1016/J.BBAGRM.2019.194419>
- Rojas, K., & Stuckey, A. (2016a). Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 59(4), 651–672. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000239>
- Rojas, K., & Stuckey, A. (2016b). Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 59(4), 651–672. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000239>
- Samuels, T. H. (1992). Mammography: Unravelling the mystery. *Canadian Family Physician*, 38, 132. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/145599/>?report=abstract
- Saxena, A., & Carninci, P. (2011). Long non-coding RNA modifies chromatin: Epigenetic silencing by long non-coding RNAs. *Bioessays*, 33(11), 830. <https://doi.org/10.1002/BIES.201100084>
- Schettini, F., Pascual, T., Conte, B., Chic, N., Brasó-Maristany, F., Galván, P., Martínez, O., Adamo, B., Vidal, M., Muñoz, M., Fernández-Martinez, A., Rognoni, C., Griguolo, G., Guarneri, V., Conte, P. F., Locci, M., Brase, J. C., Gonzalez-Farre, B., Villagrasa, P., ... Prat, A. (2020). HER2-enriched subtype and pathological complete response in HER2-positive breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treatment Reviews*, 84. <https://doi.org/10.1016/J.CTRV.2020.101965>
- Schneider-Kolsky, M. E., Hart, S., Fox, J., Midolo, P., Stuckey, J., Hofman, M., & Ganju, V. (2010). The role of chemotherapeutic drugs in the evaluation of breast tumour response to chemotherapy using serial FDG-PET. *Breast Cancer Research : BCR*, 12(3), R37. <https://doi.org/10.1186/BCR2591>
- Schootman, M., Jeffe, D. B., Gillanders, W. E., Yan, Y., & Aft, R. (2007). The effects of radiotherapy for the treatment of contralateral breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 103(1), 77–83. <https://doi.org/10.1007/S10549-006-9354-1>
- Seale, K. N., & Tkaczuk, K. H. R. (2022). Circulating Biomarkers in Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer*, 22(3), e319–e331. <https://doi.org/10.1016/J.CLBC.2021.09.006>
- Sha, S., Yuan, D., Liu, Y., Han, B., & Zhong, N. (2017). Targeting long non-coding RNA DANCR inhibits triple negative breast cancer progression. <https://doi.org/10.1242/bio.023135>
- Sharma, U., Barwal, T. S., Khandelwal, A., Malhotra, A., Rana, M. K., Singh Rana, A. P., Imyanitov, E. N., Vasquez, K. M., & Jain, A. (2021). LncRNA ZFAS1 inhibits triple-negative breast cancer by targeting STAT3. *Biochimie*, 182, 99–107. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2020.12.026>
- Shi, T., Gao, G., & Cao, Y. (2016). Long Noncoding RNAs as Novel Biomarkers Have a Promising Future in Cancer Diagnostics. *Disease Markers*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9085195>

- Shiovitz, S., & Korde, L. A. (2015). Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 26(7), 1291–1299. <https://doi.org/10.1093/ANNONC/MDV022>
- Shoemaker, M. L., White, M. C., Wu, M., Weir, H. K., & Romieu, I. (2018). Differences in breast cancer incidence among young women aged 20–49 years by stage and tumor characteristics, age, race, and ethnicity, 2004–2013. *Breast Cancer Research and Treatment*, 169(3), 595–606. <https://doi.org/10.1007/S10549-018-4699-9>
- Shu, J., Li, S., Chen, Y. B., Zhu, Q. F., & Yu, X. H. (2018). Long non-coding RNA EPB41L4A-AS2 inhibited non-small cell lung cancer proliferation, invasion and promoted cell apoptosis. *Neoplasma*, 65(5), 664–672. [https://doi.org/10.4149/NEO\\_2018\\_170713N480](https://doi.org/10.4149/NEO_2018_170713N480)
- Sideris, N., Dama, P., Bayraktar, S., Stiff, T., & Castellano, L. (2022). *LncRNAs in breast cancer: a link to future approaches*. <https://doi.org/10.1038/s41417-022-00487-w>
- Sigova, A. A., Abraham, B. J., Ji, X., Molinie, B., Hannett, N. M., Guo, Y. E., Jangi, M., Giallourakis, C. C., Sharp, P. A., & Young, R. A. (2015). Transcription factor trapping by RNA in gene regulatory elements. *Science (New York, N.Y.)*, 350(6263), 978–991. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAD3346>
- Silva, J. M., Boczek, N. J., Berres, M. W., Ma, X., & Smith, D. I. (2011). LSINCT5 is over expressed in breast and ovarian cancer and affects cellular proliferation. *RNA Biology*, 8(3), 496–505. <https://doi.org/10.4161/RNA.8.3.14800>
- Silva, J. M., Perez, D. S., Pritchett, J. R., Halling, M. L., Tang, H., & Smith, D. I. (2010). Identification of long stress-induced non-coding transcripts that have altered expression in cancer. *Genomics*, 95(6), 355–362. <https://doi.org/10.1016/J.YGENO.2010.02.009>
- Simon, A., & Robb, K. (2021). Breast Cancer. *Cambridge Handbook of Psychology, Health and Medicine, Second Edition*, 577–580. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511543579.131>
- Singh, D., Assaraf, Y. G., & Gacche, R. N. (2022). Long non-coding RNA mediated drug resistance in breast cancer. *Drug Resistance Updates*, 63, 100851. <https://doi.org/10.1016/J.DRUP.2022.100851>
- Sinha, S., & Sinha, U. (2009). Recent advances in breast MRI and MRS. *NMR in Biomedicine*, 22(1), 3–16. <https://doi.org/10.1002/NBM.1270>
- Slade, D. (2020). PARP and PARG inhibitors in cancer treatment. *Genes & Development*, 34(5–6), 360–394. <https://doi.org/10.1101/GAD.334516.119>
- Sørlie, T., Perou, C. M., Tibshirani, R., Aas, T., Geisler, S., Johnsen, H., Hastie, T., Eisen, M. B., Van De Rijn, M., Jeffrey, S. S., Thorsen, T., Quist, H., Matese, J. C., Brown, P. O., Botstein, D., Lønning, P. E., & Børresen-Dale, A. L. (2001). Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(19), 10869–10874. <https://doi.org/10.1073/PNAS.191367098>
- Sotiriou, C., Neo, S. Y., McShane, L. M., Korn, E. L., Long, P. M., Jazaeri, A., Martiat, P., Fox, S. B., Harris, A. L., & Liu, E. T. (2003). Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(18), 10393–10398. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1732912100>
- Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L., & Huarte, M. (2020). Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2020 22:2, 22(2), 96–118. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00315-9>
- Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L., & Huarte, M. (2021). Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 22(2), 96–118. <https://doi.org/10.1038/S41580-020-00315-9>
- Stoss, O. C., Scheel, A., Nagelmeier, I., Schildhaus, H. U., Henkel, T., Viale, G., Jasani, B., Untch, M., & Rüschoff, J. (2015). Impact of updated HER2 testing guidelines in breast cancer—re-evaluation of HERA trial fluorescence in situ hybridization data. *Modern Pathology* 28:12, 28(12), 1528–1534. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2015.112>
- Strasser, A., O'Connor, L., & Dixit, V. M. (2000). Apoptosis signaling. *Annual Review of*

- Biochemistry*, 69, 217–245. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.BIOCHEM.69.1.217>
- Su, M., Wang, H., Wang, W., Wang, Y., Ouyang, L., Pan, C., Xia, L., Cao, D., & Liao, Q. (2018). LncRNAs in DNA damage response and repair in cancer cells. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 50(5), 433–439. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmy022>
- Sun, L., & Lin, J. D. (2019). Function and Mechanism of Long Noncoding RNAs in Adipocyte Biology. *Diabetes*, 68(5), 887–896. <https://doi.org/10.2337/DBI18-0009>
- Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P. P., & Zhu, H. P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 13(11), 1387. <https://doi.org/10.7150/IJBS.21635>
- Szyf, M., Pakneshan, P., & Rabbani, S. A. (2004). DNA methylation and breast cancer. *Biochemical Pharmacology*, 68(6), 1187–1197. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2004.04.030>
- TA(E)C-GP Versus A(E)C-T for the High Risk TNBC Patients and Validation of the mRNA-lncRNA Signature - Full Text View - ClinicalTrials.gov*. (n.d.). Retrieved January 30, 2023, from <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02641847?term=lncRNAs&cond=Breast+Cancer&draw=2&rank=1>
- Taherian, A., Li, X., Liu, Y., & Haas, T. A. (2011). Differences in integrin expression and signaling within human breast cancer cells. *BMC Cancer*, 11(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-293/FIGURES/7>
- Tamakoshi, K., Yatsuya, H., Wakai, K., Suzuki, S., Nishio, K., Lin, Y., Niwa, Y., Kondo, T., Yamamoto, A., Tokudome, S., Toyoshima, H., Tamakoshi, A., Mori, M., Motohashi, Y., Tsuji, I., Nakamura, Y., Iso, H., Mikami, H., Inaba, Y., ... Fukuda, K. (2005). Impact of menstrual and reproductive factors on breast cancer risk in Japan: results of the JACC study. *Cancer Science*, 96(1), 57–62. <https://doi.org/10.1111/J.1349-7006.2005.00010.X>
- Tan, M. H., Mester, J. L., Ngeow, J., Rybicki, L. A., Orloff, M. S., & Eng, C. (2012). Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 18(2), 400–407. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-2283>
- Tang, S., Zheng, K., Tang, Y., Li, Z., Zou, T., & Liu, D. (2019). Overexpression of serum exosomal HOTAIR is correlated with poor survival and poor response to chemotherapy in breast cancer patients. *Journal of Biosciences*, 44(2), 1–8. <https://doi.org/10.1007/S12038-019-9861-Y/METRICS>
- Tang, T., Guo, C., Xia, T., Zhang, R., Zen, K., Pan, Y., & Jin, L. (2019). LncCCAT1 Promotes Breast Cancer Stem Cell Function through Activating WNT/ $\beta$ -catenin Signaling. *Theranostics*, 9(24), 7384–7402. <https://doi.org/10.7150/THNO.37892>
- Taylor, E. F., Burley, V. J., Greenwood, D. C., & Cade, J. E. (2007). Meat consumption and risk of breast cancer in the UK Women's Cohort Study. *British Journal of Cancer*, 96, 1139–1146. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603689>
- Taylor, L. J., Decker, M. R., & Steiman, J. G. (2022). Breast Biopsy. *Illustrative Handbook of General Surgery: Second Edition*, 87–96. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24557-7\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24557-7_8)
- Thakur, P., Seam, R. K., Gupta, M. K., Gupta, M., Sharma, M., & Fotedar, V. (2017a). Breast cancer risk factor evaluation in a Western Himalayan state: A case-control study and comparison with the Western World. *South Asian Journal of Cancer*, 6(3), 106. [https://doi.org/10.4103/SAJC.SAJC\\_157\\_16](https://doi.org/10.4103/SAJC.SAJC_157_16)
- Thakur, P., Seam, R. K., Gupta, M. K., Gupta, M., Sharma, M., & Fotedar, V. (2017b). Breast cancer risk factor evaluation in a Western Himalayan state: A case-control study and comparison with the Western World. *South Asian Journal of Cancer*, 6(3), 106. [https://doi.org/10.4103/SAJC.SAJC\\_157\\_16](https://doi.org/10.4103/SAJC.SAJC_157_16)
- Thebault, P., Boutin, G., Bhat, W., Rufiange, A., Martens, J., & Nourani, A. (2011). Transcription regulation by the noncoding RNA SRG1 requires Spt2-dependent chromatin deposition in the wake of RNA polymerase II. *Molecular and Cellular Biology*, 31(6), 1288–1300. <https://doi.org/10.1128/MCB.01083-10>
- Tosello, G., Torloni, M. R., Mota, B. S., Neeman, T., & Riera, R. (2018). Breast surgery for

- metastatic breast cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3(3).  
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD011276.PUB2>
- Tran, B., & Bedard, P. L. (2011). Luminal-B breast cancer and novel therapeutic targets. *Breast Cancer Research : BCR*, 13(6). <https://doi.org/10.1186/BCR2904>
- Tsai, M. C., Manor, O., Wan, Y., Mosammaparast, N., Wang, J. K., Lan, F., Shi, Y., Segal, E., & Chang, H. Y. (2010). Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5992), 689–693.  
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1192002>
- Tu, S., Yuan, G. C., & Shao, Z. (2017). The PRC2-binding long non-coding RNAs in human and mouse genomes are associated with predictive sequence features. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep41669>
- Velanovich, V., Lewis, F. R., Nathanson, S. D., Strand, V. F., Talpos, G. B., Bhandarka, S., Elkus, R., Szymanski, W., & Ferrara, J. J. (1999). Comparison of mammographically guided breast biopsy techniques. *Annals of Surgery*, 229(5), 625–633.  
<https://doi.org/10.1097/00000658-199905000-00004>
- Victora, C. G., Bahl, R., Barros, A. J. D., França, G. V. A., Horton, S., Krasevec, J., Murch, S., Sankar, M. J., Walker, N., Rollins, N. C., Allen, K., Dharmage, S., Lodge, C., Peres, K. G., Bhandari, N., Chowdhury, R., Sinha, B., Taneja, S., Giugliani, E., ... Richter, L. (2016). Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet (London, England)*, 387(10017), 475–490. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01024-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01024-7)
- Viereck, J., & Thum, T. (2017). Circulating Noncoding RNAs as Biomarkers of Cardiovascular Disease and Injury. *Circulation Research*, 120(2), 381–399.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308434>
- Volovat, S. R., Volovat, C., Hordila, I., Hordila, D. A., Mirestean, C. C., Miron, O. T., Lungulescu, C., Scripcariu, D. V., Stolniceanu, C. R., Konsoulova-Kirova, A. A., Grigorescu, C., Stefanescu, C., Volovat, C. C., & Augustin, I. (2020). MiRNA and LncRNA as Potential Biomarkers in Triple-Negative Breast Cancer: A Review. *Frontiers in Oncology*, 10, 1. <https://doi.org/10.3389/FONC.2020.526850>
- Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019). Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 321(3), 288–300.  
<https://doi.org/10.1001/JAMA.2018.19323>
- Wang, D., & Farhana, A. (2022). Biochemistry, RNA Structure. *StatPearls*.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558999/>
- Wang, J., Sun, J., & Yang, F. (2020). The role of long non-coding RNA H19 in breast cancer (Review). *Oncology Letters*, 19(1), 7–16.  
<https://doi.org/10.3892/OL.2019.11093/HTML>
- Wang, K., & Tepper, J. E. (2021). Radiation therapy-associated toxicity: Etiology, management, and prevention. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(5), 437–454.  
<https://doi.org/10.3322/CAAC.21689>
- Wang, N., Hou, M., Zhan, Y., & Sheng, X. (2019). LncRNA PTCSC3 inhibits triple-negative breast cancer cell proliferation by downregulating lncRNA H19. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(9), 15083–15088. <https://doi.org/10.1002/JCB.28769>
- Wang, W., Min, L., Qiu, X., Wu, X., Liu, C., Ma, J., Zhang, D., & Zhu, L. (2021). Biological Function of Long Non-coding RNA (LncRNA) Xist. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2021.645647>
- Wang, X., Pei, X., Guo, G., Qian, X., Dou, D., Zhang, Z., Xu, X., & Duan, X. (2020). Exosome-mediated transfer of long noncoding RNA H19 induces doxorubicin resistance in breast cancer. *Journal of Cellular Physiology*, 235(10), 6896–6904.  
<https://doi.org/10.1002/JCP.29585>
- Wang, Y., Zhang, G., & Han, J. (2019). HIF1A-AS2 predicts poor prognosis and regulates cell migration and invasion in triple-negative breast cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(6), 10513–10518. <https://doi.org/10.1002/JCB.28337>
- Wapinski, O., & Chang, H. Y. (2011). Long noncoding RNAs and human disease. *Trends in Cell Biology*, 21(6), 354–361. <https://doi.org/10.1016/J.TCB.2011.04.001>

- Waters, L. S., & Storz, G. (2009). Regulatory RNAs in Bacteria. *Cell*, 136(4), 615–628. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2009.01.043>
- Wei, C. W., Luo, T., Zou, S. S., & Wu, A. S. (2018). The Role of Long Noncoding RNAs in Central Nervous System and Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2018.00175>
- White, M. C., Holman, D. M., Boehm, J. E., Peipins, L. A., Grossman, M., & Jane Henley, S. (2014). Age and Cancer Risk: A Potentially Modifiable Relationship. *American Journal of Preventive Medicine*, 46(3 0 1), S7. <https://doi.org/10.1016/J.AMEPRE.2013.10.029>
- Wooster, R., Neuhausen, S. L., Mangion, J., Quirk, Y., Ford, D., Collins, N., Nguyen, K., Seal, S., Tran, T., Averill, D., Fields, P., Marshall, G., Narod, S., Lenoir, G. M., Lynch, H., Feunteun, J., Devilee, P., Cornelisse, C. J., Menko, F. H., ... Stratton, M. R. (1994). Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science (New York, N.Y.)*, 265(5181), 2088–2090. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.8091231>
- Wright, S. E. (2012). Immunotherapy of breast cancer. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 12(4), 479–490. <https://doi.org/10.1517/14712598.2012.665445>
- Wu, D., Zhu, J., Fu, Y., Li, C., & Wu, B. (2021). LncRNA HOTAIR promotes breast cancer progression through regulating the miR-129-5p/FZD7 axis. *Cancer Biomarkers : Section A of Disease Markers*, 30(2), 203–212. <https://doi.org/10.3233/CBM-190913>
- Wu, H., Yang, L., & Chen, L. L. (2017). The Diversity of Long Noncoding RNAs and Their Generation. *Trends in Genetics : TIG*, 33(8), 540–552. <https://doi.org/10.1016/J.TIG.2017.05.004>
- Wu, M. H., Chou, Y. C., Yu, J. C., Yu, C. P., Wu, C. C., Chu, C. M., Yang, T., Lai, C. H., Hsieh, C. Y., You, S. L., Chen, C. J., & Sun, C. A. (2006). Hormonal and body-size factors in relation to breast cancer risk: a prospective study of 11,889 women in a low-incidence area. *Annals of Epidemiology*, 16(3), 223–229. <https://doi.org/10.1016/J.ANNEPIDEM.2005.02.015>
- Wu, M., Yang, L. Z., & Chen, L. L. (2021). Long noncoding RNA and protein abundance in lncRNPs. *RNA (New York, N.Y.)*, 27(12), 1427–1440. <https://doi.org/10.1261/RNA.078971.121>
- Xiu, D. H., Liu, G. F., Yu, S. N., Li, L. Y., Zhao, G. Q., Liu, L., & Li, X. F. (2019). Long non-coding RNA LINC00968 attenuates drug resistance of breast cancer cells through inhibiting the Wnt2/ $\beta$ -catenin signaling pathway by regulating WNT2. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 38(1). <https://doi.org/10.1186/S13046-019-1100-8>
- Xu, Q., Song, Z., Zhu, C., Tao, C., Kang, L., Liu, W., He, F., Yan, J., & Sang, T. (2017). Systematic comparison of lncRNAs with protein coding mRNAs in population expression and their response to environmental change. *BMC Plant Biology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/S12870-017-0984-8>
- Xu, S., Wang, P., You, Z., Meng, H., Mu, G., Bai, X., Zhang, G., Zhang, J., & Pang, D. (2016). The long non-coding RNA EPB41L4A-AS2 inhibits tumor proliferation and is associated with favorable prognoses in breast cancer and other solid tumors. *Oncotarget*, 7(15), 20704. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.8007>
- Xu, X., Yuan, X., Ni, J., Guo, J., Gao, Y., Yin, W., Li, F., Wei, L., & Zhang, J. (2021). MAGI2-AS3 inhibits breast cancer by downregulating DNA methylation of MAGI2. *Journal of Cellular Physiology*, 236(2), 1116–1130. <https://doi.org/10.1002/JCP.29922>
- Y, L., S, S., & K, W. (2015). Roles of lncRNA in breast cancer. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, 7(1), 94–108. <https://doi.org/10.2741/S427>
- Yakovchuk, P., Goodrich, J. A., & Kugel, J. F. (2009). B2 RNA and Alu RNA repress transcription by disrupting contacts between RNA polymerase II and promoter DNA within assembled complexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(14), 5569–5574. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0810738106>
- Yan, R., Wang, K., Peng, R., Wang, S., Cao, J., Wang, P., & Song, C. (2016). Genetic variants in lncRNA SRA and risk of breast cancer. *Oncotarget*, 7(16), 22486.

- <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.7995>
- Yang, J., Meng, X., Yu, Y., Pan, L., Zheng, Q., & Lin, W. (2019). LncRNA POU3F3 promotes proliferation and inhibits apoptosis of cancer cells in triple-negative breast cancer by inactivating caspase 9. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 83(6), 1117–1123. <https://doi.org/10.1080/09168451.2019.1588097>
- Yang, J. X., Rastetter, R. H., & Wilhelm, D. (2016). Non-coding RNAs: An introduction. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 886, 13–32. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-7417-8\\_2/COVER](https://doi.org/10.1007/978-94-017-7417-8_2/COVER)
- Yang, X., Wu, D., & Yuan, S. (2020). Tyrosine Kinase Inhibitors in the Combination Therapy of HER2 Positive Breast Cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 19. <https://doi.org/10.1177/1533033820962140>
- Yang, Y. H., Liu, J. W., Lu, C., & Wei, J. F. (2022). CAR-T Cell Therapy for Breast Cancer: From Basic Research to Clinical Application. *International Journal of Biological Sciences*, 18(6), 2609–2626. <https://doi.org/10.7150/IJBS.70120>
- Yao, Q., Chen, Y., & Zhou, X. (2019). The roles of microRNAs in epigenetic regulation. *Current Opinion in Chemical Biology*, 51, 11–17. <https://doi.org/10.1016/J.CBPA.2019.01.024>
- Yaziji, H., Goldstein, L. C., Barry, T. S., Werling, R., Hwang, H., Ellis, G. K., Gralow, J. R., Livingston, R. B., & Gown, A. M. (2004). HER-2 testing in breast cancer using parallel tissue-based methods. *JAMA*, 291(16), 1972–1977. <https://doi.org/10.1001/JAMA.291.16.1972>
- Yersal, O., & Barutca, S. (2014). Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(3), 412–424. <https://doi.org/10.5306/WJCO.V5.I3.412>
- Yoon, J. H., Abdelmohsen, K., & Gorospe, M. (2013). Post-transcriptional gene regulation by long noncoding RNA. *Journal of Molecular Biology*, 425(19), 3723. <https://doi.org/10.1016/J.JMB.2012.11.024>
- Yoshida, K., & Miki, Y. (2004). Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Science*, 95(11), 866–871. <https://doi.org/10.1111/J.1349-7006.2004.TB02195.X>
- You, J., & Wang, P. (2022). Radiation Therapy For Early Stage Breast Cancer. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 36(16), 957–960. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-8179.2009.16.017>
- Youness, R. A., Hafez, H. M., Khallaf, E., Assal, R. A., Abdel Motaal, A., & Gad, M. Z. (2019). The long noncoding RNA sONE represses triple-negative breast cancer aggressiveness through inducing the expression of miR-34a, miR-15a, miR-16, and let-7a. *Journal of Cellular Physiology*, 234(11), 20286–20297. <https://doi.org/10.1002/JCP.28629>
- Yung, R. L., & Davidson, N. E. (2021). Optimal adjuvant endocrine therapy for breast cancer. *The Lancet Oncology*, 22(10), 1357–1358. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00420-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00420-4)
- Zhang, C. Y., Yu, M. S., Li, X., Zhang, Z., Han, C. R., & Yan, B. (2017). Overexpression of long non-coding RNA MEG3 suppresses breast cancer cell proliferation, invasion, and angiogenesis through AKT pathway. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 39(6). <https://doi.org/10.1177/1010428317701311>
- Zhang, F., Lammi, M. J., Tan, S., Meng, P., Wu, C., & Guo, X. (2020). Cell cycle-related lncRNAs and mRNAs in osteoarthritis chondrocytes in a Northwest Chinese Han Population. *Medicine*, 99(24), e19905. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000019905>
- Zhang, Hanwen, Zhang, N., Liu, Y., Su, P., Liang, Y., Li, Y., Wang, X., Chen, T., Song, X., Sang, Y., Duan, Y., Zhang, J., Wang, L., Chen, B., Zhao, W., Guo, H., Liu, Z., Hu, G., & Yang, Q. (n.d.). *Molecular Cell Biology Epigenetic Regulation of NAMPT by NAMPT-AS Drives Metastatic Progression in Triple-Negative Breast Cancer*. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3418>
- Zhang, Haomeng, Wang, J., Yin, Y., Meng, Q., & Lyu, Y. (2021). The role of EMT-related

- lncRNA in the process of triple-negative breast cancer metastasis. *Bioscience Reports*, 41(2), 20203121. <https://doi.org/10.1042/BSR20203121>
- Zhang, M., He, P., & Bian, Z. (2021). Long Noncoding RNAs in Neurodegenerative Diseases: Pathogenesis and Potential Implications as Clinical Biomarkers. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2021.685143>
- Zhao, D., Zhang, Y., Wang, N., & Yu, N. (2017). NEAT1 negatively regulates miR-218 expression and promotes breast cancer progression. *Cancer Biomarkers : Section A of Disease Markers*, 20(3), 247–254. <https://doi.org/10.3233/CBM-170027>
- Zhao, W., Geng, D., Li, S., Chen, Z., & Sun, M. (2018). LncRNA HOTAIR influences cell growth, migration, invasion, and apoptosis via the miR-20a-5p/HMGA2 axis in breast cancer. *Cancer Medicine*, 7(3), 842–855. <https://doi.org/10.1002/CAM4.1353>
- Zhao, Y., Liu, H., Zhang, Q., & Zhang, Y. (2020). The functions of long non-coding RNAs in neural stem cell proliferation and differentiation. *Cell and Bioscience*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S13578-020-00435-X/TABLES/3>
- Zheng, P., Dong, L., Zhang, B., Dai, J., Zhang, Y., Wang, Y., & Qin, S. (2019). Long noncoding RNA CASC2 promotes paclitaxel resistance in breast cancer through regulation of miR-18a-5p/CDK19. *Histochemistry and Cell Biology*, 152(4), 281–291. <https://doi.org/10.1007/S00418-019-01794-4>
- Zhou, X., Ao, X., Jia, Z., Li, Y., Kuang, S., Du, C., Zhang, J., Wang, J., & Liu, Y. (2022a). Non-coding RNA in cancer drug resistance: Underlying mechanisms and clinical applications. *Frontiers in Oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FONC.2022.951864>
- Zhou, X., Ao, X., Jia, Z., Li, Y., Kuang, S., Du, C., Zhang, J., Wang, J., & Liu, Y. (2022b). Non-coding RNA in cancer drug resistance: Underlying mechanisms and clinical applications. *Frontiers in Oncology*, 12, 4424. <https://doi.org/10.3389/FONC.2022.951864/BIBTEX>
- Zhu, L., Cui, K., Weng, L., Yu, P., Du, Y., Zhang, T., Liu, H., Li, B., & Ma, W. (2021). A panel of 8-lncRNA predicts prognosis of breast cancer patients and migration of breast cancer cells. *PLOS ONE*, 16(6), e0249174. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0249174>