

Papel de Par-4 en tumores de cáncer de mama en etapas tardías y recurrentes

Pablo Zapata-Benavides*, Norma Cesilia Arellano-Rodríguez, María Cristina Rodríguez-Padilla.

Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

ABSTRACT

Role of Par-4 in late-stage and recurrent breast cancer tumors.

Deaths in patients with breast cancer occur mainly due to recurrence and metastasis and not by the primary tumor, the aggressiveness of the tumor is associated with hormonal status, and estrogen receptor negative or triple negative tumors are neoplasms of poor prognosis that can induce metastasis or recurrence the low expression of Par-4 is associated with a poor prognosis, for this reason, we analyzed the involvement of Par-4 in tumor recurrence. A search was carried out for articles related to breast cancer, recurrence, and Par-4 in PubMed and other databases, to understand the relationship of *Par-4* as a tumor suppressor gene with the carcinogenic process and recurrence of breast cancer. Low Par-4 expression is associated with estrogen receptor negative tumors or with a high degree of transformation, the expression of Par-4 decreases or is blocked in the remaining cells after chemotherapy and during the process of epithelial mesenchymal transition (EMT) in tumor recurrence, noting that Par-4 is necessary and essential for the recurrence of breast cancer. The understanding of the biology of Par-4 in breast cancer opens the possibility of being used as a therapeutic strategy to contribute to the elimination of resistant or recurrent breast cancer tumors.

RESUMEN

Las muertes en los pacientes con cáncer de mama ocurren principalmente por la recurrencia y metástasis y no por el tumor primario. La agresividad del tumor se asocia al estatus hormonal; tumores receptores de estrógeno o triple negativos son neoplasias de mal pronóstico que tienen la capacidad de inducir metástasis o recurrencia.

Historial del artículo

Recibido: 26 nov 2022

Aceptado: 31 mar 2023

Disponible en línea: 1 may 2023

Palabras clave

Par-4, cáncer de mama, recurrencia

Keywords

Par-4, breast cancer, recurrence

Copyright © 2023 por autores y Revista Biomédica.

Este trabajo está licenciado bajo las atribuciones de la *Creative Commons* (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

*Autor para correspondencia:

Pablo Zapata Benavides, Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad Autónoma de Nuevo León, Pedro de Alba s/n. Facultad de Ciencias Biológicas, San Nicolás de los Garza. Nuevo León 66450, México.
Tel: +52-818-329-4115
E-mail: pablo.zapatabn@uanl.edu.mx
<https://revistabiomedica.mx>.

La baja expresión de la proteína Par-4 se asocia a un mal pronóstico, por esa razón analizamos la participación de la proteína de respuesta de apoptosis protática (Par-4) en la recurrencia tumoral. Se realizó una búsqueda de artículos relacionados con cáncer de mama, recurrencia y Par-4 en el PubMed y en otros bancos de datos, con la finalidad de comprender la relación de *Par-4* como gen supresor de tumor con el proceso carcinogénico y recurrencia de cáncer de mama. La baja expresión de Par-4 está asociado con tumores receptor de estrógeno negativo o con alto grado de transformación. La expresión de Par-4 disminuye o es bloqueada en las células remanentes después de la quimioterapia y durante el proceso de la transición epitelial a mesenquimal (EMT, por sus siglas en inglés) en la recurrencia del tumor, observándose que Par-4 es necesaria y esencial para la recurrencia del cáncer de mama. El entendimiento de la biología del Par-4 en el cáncer de mama abre la posibilidad de ser empleado como una estrategia terapéutica para que coadyuve con la eliminación de los tumores resistentes o recurrentes de cáncer de mama.

INTRODUCCIÓN

Epidemiología del cáncer de mama

El cáncer de mama es un conjunto de enfermedades que se caracteriza por una proliferación excesiva de las células como consecuencia de una inestabilidad genómica y se clasifican en cuatro subtipos moleculares y 21 histológicos distintos, de acuerdo con el tipo de tejido donde se originó el tumor.

El número de casos de cáncer de mama va en aumento constante, a nivel mundial ha superado al cáncer de pulmón como el tipo de cáncer más comúnmente diagnosticado. La probabilidad de que una mujer desarrolle cáncer de mama invasivo es de 12.9%. El número de casos nuevos diagnosticados en 2021 en los Estados Unidos fue de 290,560 de los cuales el 99.7% se presentó en mujeres y el 0.93% en hombres. La mortalidad en mujeres fue de 98.79% mientras que en hombres fue de 1.21% (1, 2).

La mortalidad por cáncer de mama en mujeres norteamericanas de raza negra es un 41% más alto

que en mujeres blancas, a pesar de tener tasas de incidencia similares o más bajas, superando al cáncer de pulmón (1, 2). La severidad del cáncer depende de su carácter invasivo o no invasivo; el cáncer de mama *in situ* representa el 19 % del total, siendo el carcinoma ductal y el carcinoma lobular los dos tipos principales de cáncer de mama *in situ*. Por otro lado, el cáncer invasivo o infiltrante se presenta alrededor del 81 a 82% de los casos, y es el carcinoma globular invasivo el subtipo histológico más común (2).

Clasificación del cáncer de mama

Con base en el conocimiento de la biología del cáncer de mama y con la finalidad de contar con herramientas que permitan un mejor diagnóstico, pronóstico y estrategias terapéuticas, se clasifica de acuerdo con su estatus hormonal. Existe una serie de biomarcadores de cáncer de mama asociados a la evolución tumoral, como son: receptor de estrógeno (RE), receptor de progesterona (RP) y receptor-2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2, por sus siglas en inglés); que se usan en forma rutinaria en la evaluación clínica y permiten clasificarlos en tipo luminal con expresión de RE y cuya frecuencia que oscila entre el 75 y 80% de los tumores de mama y los no luminales que no expresan RE, tienen un comportamiento más agresivo y representan entre el 20 y el 25% de los tumores de mama. La proteína Par-4 se encuentra disminuida en tumores receptor estrógeno negativo y tumores triple negativos indicando que puede ser considerado como un biomarcador predictivo del pronóstico del paciente (Figura 1). De acuerdo con esta clasificación surgen cuatro subtipos diferentes descritos de forma ascendente de acuerdo con su agresividad (3-5):

Luminal A [receptor hormonal (HR, por sus siglas en inglés)+/HER2-): es el tipo más común de cáncer de mama y se asocian a un pronóstico más favorable, responde mejor a la terapia hormonal, presenta menor recurrencia y su incidencia es del 50 al 60%.

Luminal B (HR+/HER2+/-): este grupo se caracteriza por ser HR+ y HER2+/-, se asocian con un peor pronóstico en comparación con el tipo

luminal A y se presenta entre un 10 y un 20% del cáncer de mama.

HER-2 +: tiene un pobre pronóstico, responde a las terapias anti HER-2 y a los inhibidores de Tirosina quinasa.

Basal o triple negativo (HR-/HER2-): este tipo de cáncer se denominan triple negativo porque no cuenta con expresión de RE, RP y HER2. Se caracteriza por ser más agresivo y tener un mal pronóstico. El cáncer de mama triple-negativo (TNBC) representa del 15 al 20% de los casos de cáncer de mama.

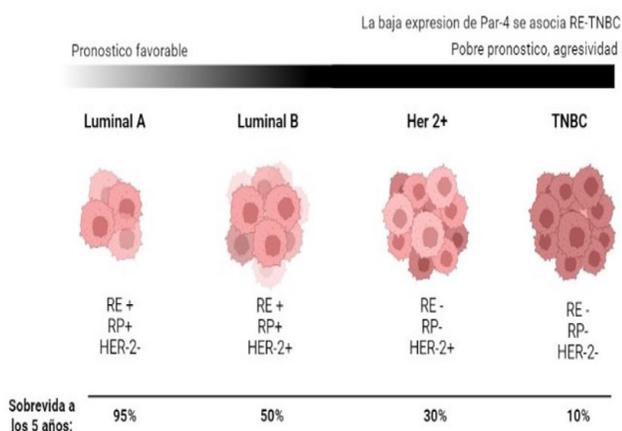


Figura 1. Expresión de Par-4 y su relación con el pronóstico en cáncer de mama. Tumores RE+, RP+ y HER2- tienen un mejor pronóstico que aquellos tumores con RE-, RP- y HER2+, sin embargo, los tumores TNBC son más agresivos, por lo cual los pacientes tienen un pronóstico pobre.

Recurrencia de cáncer de mama

Los avances tecnológicos han impactado en el diagnóstico y la terapia del cáncer de mama, disminuyendo la mortalidad hasta en un 38% de los casos (6). La mayoría de las muertes no son consecuencia del tumor primario, sino como consecuencia de la metástasis y la recurrencia del tumor, que suelen invadir órganos vitales y generar resistencia a la quimioterapia. Estas dos características tumorales son los dos aspectos más desafiantes en el tratamiento del cáncer de mama, que la hacen ser una enfermedad incurable. La tasa

de supervivencia a 5 años para las mujeres con cáncer de mama invasivo localizado es del 90 %, para cáncer invasivo regional diseminado en ganglios linfáticos regionales de 86% y para la recurrencia metastásica diseminada a partes distantes del cuerpo de 29 % (7).

La recurrencia del cáncer de mama es la reaparición del tumor después de cierto periodo, que puede ir de meses a años después de su tratamiento. Como se ha mencionado previamente la recurrencia puede ser local si presenta en la misma área donde se originó el tumor, regional si aparece cerca del área donde se originó o metastásico si la aparición del tumor es en áreas distantes al sitio de aparición original, como son pulmones, hueso y cerebro (8-10). Por años se ha tratado de establecer el patrón de recurrencia de cáncer de mama, hasta el momento se sugiere que el cáncer de mama con RE negativo se asocia a un mayor riesgo de recurrencia durante los primeros 5 años desde su diagnóstico, en comparación con los cánceres de mama RE positivo. El subtipo luminal A muestra tasas más bajas de recurrencia en comparación con los otros, el luminal B es de riesgo intermedio y TNBC el de mayor riesgo después de la conservación de la mama o mastectomía (11). Los tumores TNBC se relacionan con alto riesgo de recurrencias distales a cerebro y metástasis visceral en comparación con los tumores que tiene expresión positiva de receptores hormonales (12). Los tumores recurrentes de cáncer de mama por lo general tienen las mismas características del tumor original en su estatus hormonal; sin embargo, en algunos casos éste puede cambiar, por ejemplo, el cáncer de mama RE positivo en la recurrencia puede convertirse en estatus hormonal negativo (8, 9).

Las recurrencias regionales han disminuido con el tiempo debido al diagnóstico clínico y molecular oportunos, así como a los avances en el tratamiento. Los factores que predisponen a la recurrencia están asociados con la aparición del cáncer en etapas tempranas, tumores grandes con receptores hormonales negativos e invasión en los ganglios (8, 9). La obesidad juega un papel importante como factor de riesgo que reduce significativamente la supervivencia en los pacientes obesos con cáncer de

mama se incrementa el riesgo de recurrencia del 30 al 40%, debido a que se asocia con el aumento de la supervivencia y persistencia de las células tumorales residuales (13-16). En personas obesas se ha observado una menor expresión de la proteína Par-4 en comparación con los delgados; tanto en tejido adiposo como a niveles plasmáticos (17). Conforme avanza el proceso carcinogénico los factores genéticos y epigenéticos influyen en la recurrencia tumoral por la pérdida de la expresión de genes supresores de tumor como es el caso del gen *Par-4* (18).

Par-4

La proteína Par-4 fue identificada como un producto de genes tempranos durante la apoptosis en cáncer de próstata mediante una selección diferencial, por el grupo del Dr. V M Rangnekar (19). *Par-4* es un gen supresor de tumor que codifica una proteína de 40 kDa que contiene 340 aminoácidos, y se caracteriza por tener en su extremo carboxilo terminal una estructura de cremallera de leucinas, se encuentra en la región 12q21 y está altamente conservada en humanos, ratones y ratas (20). Recientemente se le han descubierto múltiples funciones; no obstante, la más estudiada es su capacidad de inducir apoptosis en células cancerígenas, pero no en células normales (21, 22). Par-4 es una proteína que se encuentra principalmente en citoplasma y se transloca al núcleo, y su estructura cuenta con dos secuencias de localización nuclear y una secuencia de exportación al núcleo, además, de una secuencia corta de 52 aminoácidos denominada dominio selectivo para la inducción de apoptosis en células cancerosas (SAC), que es la responsable de la actividad apoptótica. En su extremo carboxilo terminal donde se encuentra la cremallera de leucinas, interacciona con varias proteínas induciendo su autoregulación o la regulación de otras proteínas, por ejemplo, con la proteína del tumor de *Wilms* (WT1) a través de sus dedos de zinc modula la transcripción y suprimiendo la expresión de la proteína 2 del linfoma de células B (Bcl-2) uniéndose directamente a su promotor (23-25). Existe una relación estrecha entre Par-4 y Bcl-2, la inducción de Par-4 en líneas celulares de

cáncer de mama disminuye la expresión de Bcl-2, así como la reducción del crecimiento y la invasión celular; por el contrario, la inhibición de la expresión de Par-4 con RNA de interferencia (iRNA) induce un incremento de Bcl-2 (26, 27).

Par-4 es una proteína pro apoptótica que se encuentra de forma basal en muchos tipos de células normales y tumorales, e induce apoptosis después de un estímulo de muerte por drogas (22). Cuando se encuentra presente en las células tumorales puede sensibilizar a las células a diferentes tipos de drogas anticancerígenas induciendo apoptosis tanto por vía intrínseca como por vía extrínseca (28). Por la vía intrínseca, Par-4 endógeno migra del citoplasma al núcleo donde ejerce su acción apoptótica a través de su dominio SAC (29), mientras que Par-4 soluble ejerce su efecto en forma exógena mediante la interacción con la proteína 78 regulada por glucosa (GRP78) (22). GRP78 es una proteína chaperona del retículo endoplásmico (ER, por sus siglas en inglés) que ejerce su función en el control de calidad durante el plegamiento de las proteínas y en la señalización transmembrana del ER (22). Esta proteína incrementa su nivel de expresión conforme incrementa el proceso carcinogénico en cáncer de mama (29). GRP78 se encuentra en la superficie celular y manda una señal que promueve la apoptosis a través de los dominios de muerte y la activación de caspasas 8 y 3 (30, 31). En las células trofoblásticas se ha visto una relación entre la expresión de Par-4 y la localización de GRP78 en la superficie celular (32). Por otro lado, las células cancerígenas se caracterizan por tener una elevada expresión de GRP78 relacionada con la agresividad lo cual lo hace un blanco ideal para que Par-4 induzca muerte celular a través de esta vía (31). Otra particularidad de la proteína Par-4 es que está expresada en las células sanas (no cancerígenas) y puede ser secretada por secretagogos que inducen la activación de la secreción vía p53, después de una estimulación del ER (33).

Par-4 en recurrencia

La pérdida de la expresión del gen *Par-4* se ha reportado como un marcador de pobre pronóstico

en pacientes con cáncer de mama (34). Su expresión se encuentra disminuida en cáncer de páncreas, carcinoma renal, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de próstata y cáncer de mama (34-37). Su expresión disminuida es necesaria y suficiente

para promover la recurrencia y la resistencia a la quimioterapia (Figura 2a); por lo tanto, su baja expresión se asocia con una respuesta deficiente a la quimioterapia y con una posible recaída en los pacientes con cáncer de mama (18).

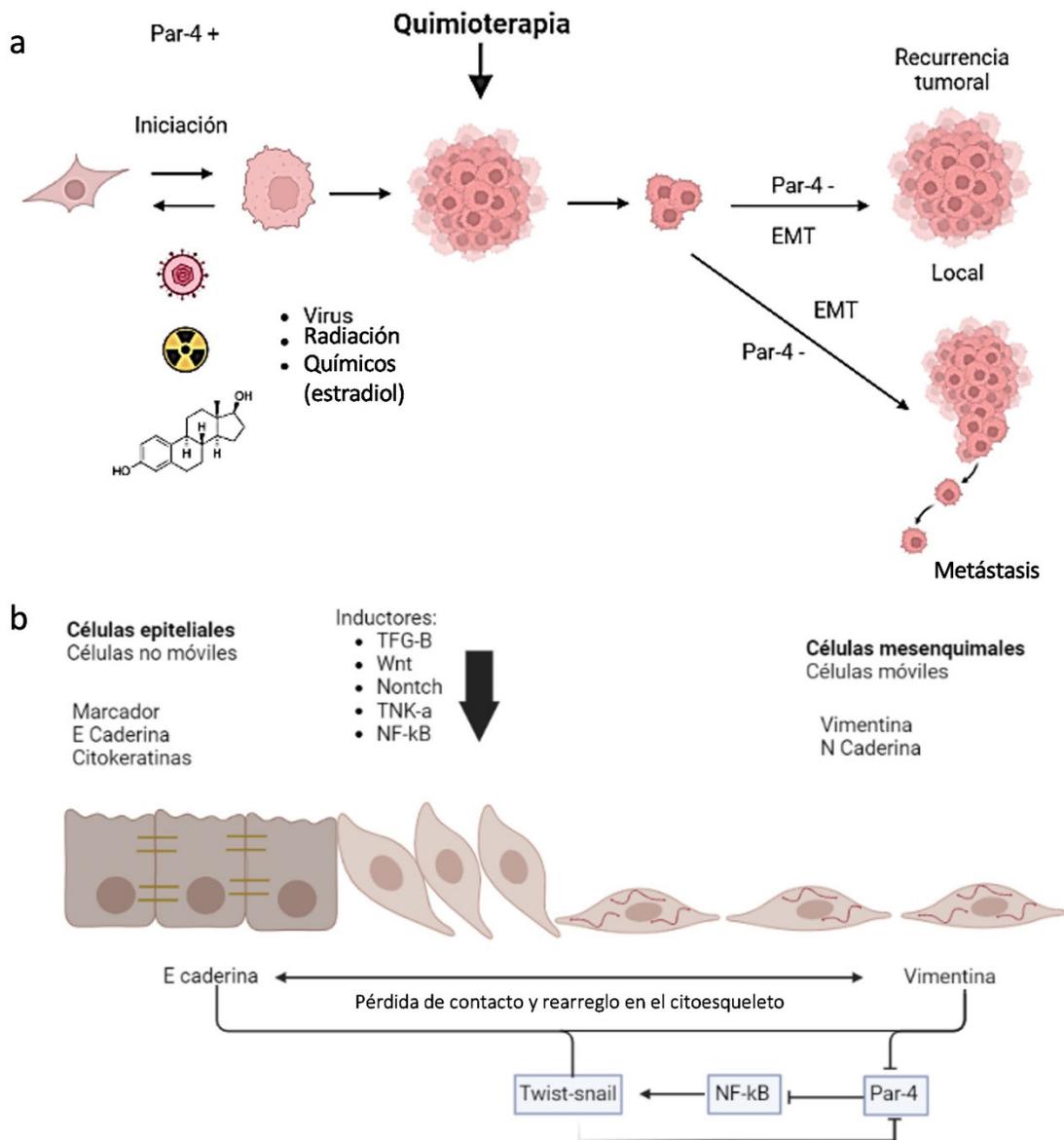


Figura 2. Pérdida de la expresión de Par-4 y la promoción de la recurrencia y/o metástasis en cáncer de mama. a: La pérdida de la expresión de Par-4 después de la administración de quimioterapia puede inducir recurrencia tumoral y/o metástasis generando células cancerígenas con características especiales que incrementan su agresividad. b: La transición epitelial mesotelial está implicada en el silenciamiento de Par-4 en a través del factor de transcripción de Twist y el secuestro por los filamentos de vimentina en tumores recurrentes y metastásicos

La baja expresión de Par-4 está asociada con los subtipos de cáncer de mama agresivos y los diferentes estudios muestran, una menor expresión de la proteína en tumores receptores de estrógeno negativo, tumores grado 3 y de tipo basal (38). Estos tipos presentan mayor riesgo de recurrencia (10-12). Los trabajos realizados por nuestro equipo sugieren que los bajos niveles de expresión de Par-4 están relacionados con un pronóstico desfavorable, ya que se encontró baja reactividad de Par-4 en tejidos de pacientes con una sobrevida corta comparado con los pacientes con tumor benigno o con una sobrevida larga, sugiriendo que Par-4 puede jugar un papel como gen supresor de tumor (39, 40).

La regulación de Par-4 es un proceso complejo ya que existen factores que modulan su expresión génica vía promotor o a través de modificaciones epigenéticas, además de las postraduccionales y la interacción con otras proteínas que activan o reprimen su función (18, 36, 41).

La fosforilación juega un papel importante en la actividad proapoptótica, localización y escisión de la proteína Par-4 por las caspasas 3 y 8, así como la capacidad de inducir apoptosis selectivamente en células cancerígenas (20). La apoptosis selectiva en células cancerígenas y no de las células normales está dada en parte por la alta expresión de la proteína quinasa A (PKA), que juega un papel precanceroso en las células tumorales. PKA induce la capacidad proapoptótica de Par-4 al fosforilar el residuo de treonina 155 (T155) en el dominio SAC en células cancerosas, el cual es esencial para la apoptosis (41,42). La translocación nuclear de Par-4 es fundamental para la inhibición de la actividad de supervivencia celular por el factor nuclear κ B [NF- κ B, por sus siglas en inglés] (20). Por el contrario, la fosforilación en los residuos de serina 124 y 231 (S124 y S231) por la caseína cinasa 2 (CK2, por sus siglas en inglés) impide la escisión de Par-4 mediada por caspasas (43, 44). Además, la fosforilación en el residuo de serina 249 (S249) por proteína quinasa B (Akt1) bloquea la traslocación de Par-4 al núcleo, alterando la función proapoptótica de la proteína, por lo que promueve así la supervivencia celular (41).

Se ha observado la disminución de la expresión de Par-4 en las células residuales después de la administración de quimioterapia (30). Además, en un modelo murino genéticamente modificado con una baja expresión de la proteína Par-4, se observó la aparición y recurrencia de cáncer de mama, por lo que Par-4 es considerado un regulador negativo de la recurrencia del cáncer de mama (38).

Par-4 en la transición epitelial a mesenquimal

La EMT se ha identificado como un impulsor crítico de la patología del cáncer, como son carcinogénesis, metástasis y la resistencia a los medicamentos por lo que promueve un pobre pronóstico clínico (45-48).

La EMT es un proceso biológico involucrado en la embriogénesis, en el que las células epiteliales inmóviles adquieren las características de movilidad de las células mesenquimales. Para que se lleve a cabo el proceso de transición de células epiteliales a células mesenquimatosas, se requiere una reprogramación genética donde se reprimen los genes epiteliales y se activan los genes mesenquimales (48). Existen tres grupos principales de genes que intervienen en el desarrollo de la EMT, los inductores como factor de crecimiento transformante β (TGF- β), Wnt (el nombre del gen proviene de la fusión de las palabras Wingless e integrated), Notch (nombre del gen proviene de la cepa de la mosca Notch donde se observó por primera vez), factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y factor inducible por hipoxia (HIF) (49-52), que activan a los factores de transcripción dedos de Zinc de la caja E vinculantes con la caja homeótica (Zeb, por sus siglas en inglés), Twist [también conocida como class A basic helix-loop-helix protein 38 (bHLHa38 por sus siglas en inglés)] y Snail, denominados reguladores (53-55), y estos a su vez modulan la expresión de E-cadherina y vimentina, genes efectores que reorganizan a las proteínas de unión y de citoesqueleto (Figura 2b) para disociar el arreglo de las células epiteliales (56, 57).

Se ha propuesto que la EMT contribuye a la diseminación metastásica de las células de cáncer de mama. Los factores de transcripción que

promueven la EMT determinan un continuo cambio de diferentes estados del proceso. Por el contrario, el receptor de estrógeno α (RE α) ayuda a mantener el fenotipo epitelial de las células de cáncer de mama, afectando los factores de transcripción que modulan la EMT y su expresión es crucial para las terapias endocrinas eficaces (54, 55).

Durante el proceso de transición de las células epiteliales a mesenquimatosas en tumores recurrentes de cáncer de mama se promueve el silenciamiento epigenético, a través de modificaciones bivalentes de las histonas de *Par-4* y de la represión de *Twist* sobre el promotor de *Par-4*. Se ha observado que el silenciamiento de *Par-4* puede revertirse con inhibidores farmacológicos de la modificación de las histonas y sensibiliza a los tumores recurrentes a la quimioterapia tanto *in vivo* como *in vitro* (18). Por otra parte, en células de cáncer de páncreas metastásico se ha observado una doble función de *Par-4* en la anulación de la EMT y el cambio en la transición mesenquimal a epitelial (58).

Uno de los principales problemas en cáncer de mama es la resistencia a la quimioterapia en células triples negativas; el cisplatino o cis-diaminodicloroplatino (CDDP, quimioterapéutico que inhibe la síntesis de DNA y se usa para diferentes tipos de cáncer, puede revertir la metástasis del cáncer de mama mediante el bloqueo de la EMT (59). La sobreexpresión de *Par-4* combinada con CDDP ejerce un efecto sinérgico en líneas celulares y suprime el crecimiento del xenoinjerto en ratones desnudos (60). La curcumina incrementa la expresión de *Par-4* y sensibiliza la línea celular de cáncer de mama murino 4T1 al CDDP (61). Por otra parte, Tan y col. observaron que la regulación negativa de *Par-4* confiere resistencia a CDDP a través de la EMT dependiente de la vía fosfatidilinositol-3-kinasa (PI3K/Akt) en la línea celular primaria de tumor pancreático humano (BXPC-3); por lo tanto, *Par-4* puede ser un objetivo potencial para superar la resistencia a CDDP en el cáncer de páncreas. Además, la expresión ectópica de *Par-4* revirtió la resistencia a EMT y CDDP en células BXPC-3/CDDP (62). Durante la apoptosis

inducida por CDDP y otros compuestos en líneas celulares humanas normales y tumorales, *Par-4* es cortado por las caspasas 3 y 8 en el ácido aspártico (D) de la posición 131 de la proteína generando dos productos, el fragmento de 25 kDa se acumula en el núcleo generando apoptosis y bloqueando la actividad de NF- κ B (63-65).

El restablecimiento en la expresión de *Par-4* revierte el proceso de la EMT, restringe la resistencia a la quimioterapia y promueve la regresión tumoral. En un modelo murino y en pacientes con cáncer renal se ha observado un incremento en la expresión de la proteína *Par-4*, en suero o plasma, después de la administración de cloroquina o hidroxicloroquina, induciendo una marcada reducción del volumen tumoral o inhibición de la metástasis (66). Por otro lado, la regulación ascendente de *Par-4* por *Forkhead box O3* (Foxo3a, por sus siglas en inglés) después del tratamiento con medicamentos, dirigidos hacia la vía de señalización fosfatidilinositol-3-kinasa/proteína kinasa B/diana de rapamicina en células de mamífero (PI3K/Akt/mTOR, por sus siglas en inglés), limita la supervivencia a largo plazo de las células de cáncer residuales (67). El incremento de *Par-4* mediado por el fármaco 1,1'- β -d-glucopiranosil-3,3'-bis(5-bromoindolil)-octilmetano (NGD16) inhibe la capacidad de las células de cáncer de mama triple negativo (MDA-MB-231) para migrar e invadir (68).

Por lo tanto, la proteína *Par-4* puede ser una buena propuesta terapéutica contra diferentes tipos de cáncer (69-71), como el cáncer de mama agresivo (HER-2 positivo o triple negativo), por su capacidad de inducir apoptosis selectivamente en células cancerígenas, su capacidad de quimio sensibilizar y bloquear o revertir los procesos de recurrencia y metástasis a través de la sobreexpresión de la proteína con plásmidos o vectores virales, así como la inducción de *Par-4* soluble por secretagogos (72, 73).

REFERENCIAS

1. Giaquinto AN, Miller KD, Tossas KY, Winn RA, Jemal A, Siegel RL. Cancer statistics for African American/Black people 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022 Feb;72(3):202–29. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21718>

2. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022 Jan;72(1):7–33. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21708>
3. Alcaide-Lucena M, Rodríguez-González CJ, de Reyes-Lartategui S, Gallart-Aragón R, Sánchez-Barrón MT, García-Rubio J, et al. Molecular classification of breast cancer. Treatment and prognosis implications. *Cir Andal.* 2021 May;32(2):155–9. doi: 10.37351/2021322.9
4. Marchiò C, Annaratone L, Marques A, Casorzo L, Berrino E, Sapino A. Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: Heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond. *Semin Cancer Biol.* 2021 Jul; 72: 123–135. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.02.016>
5. Sakach E, O'Regan R, Meisel J, Li X. Molecular Classification of Triple Negative Breast Cancer and the Emergence of Targeted Therapies. *Clin Breast Cancer.* 2021 Sep;21(6): 509–520. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2021.09.003>
6. DeSantis CE, Ma J, Goding-Sauer A, Newman LA, Jemal A. Breast cancer statistics, 2017, racial disparity in mortality by state: Breast Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin.* 2017 Oct;67(6):439–48. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21412>
7. Scully OJ, Bay BH, Yip G, Yu Y. Breast cancer metastasis. *Cancer genomics & proteomics.* 2012 Oct; 9(5): 311–320. <https://cgp.iiarjournals.org/content/9/5/311.long>
8. He XM, Zou DH. The association of young age with local recurrence in women with early-stage breast cancer after breast-conserving therapy: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2017 Sep;7(1):11058. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-10729-9>
9. Fragomeni SM, Sciallis A, Jeruss JS. Molecular subtypes and local-regional control of breast cancer. *Surg Oncol Clin N Am.* 2018 Jan; 27(1): 95–120. doi: 10.1016/j.soc.2017.08.005
10. Jin L, Han B, Siegel E, Cui Y, Giuliano A, Cui X. Breast cancer lung metastasis: Molecular biology and therapeutic implications. *Cancer Biol. Ther.* 2018 Mar; 19(10): 858–868. doi: 10.1080/15384047.2018.1456599
11. Belkacemi Y, Hanna NE, Besnard C, Majdoul S, Gligorov J. Local and regional breast cancer recurrences: Salvage therapy options in the new era of molecular subtypes. *Front Oncol.* 2018 Apr; 8: 112. doi: 10.3389/fonc.2018.00112
12. O'Reilly D, Al Sendi M, Kelly CM. Overview of recent advances in metastatic triple negative breast cancer. *World J Clin Oncol.* 2021 Mar; 12(3): 164. doi: 10.5306/wjco.v12.i3.164
13. Lee K, Kruper L, Dieli-Conwright CM, Mortimer JE. The impact of obesity on breast cancer diagnosis and treatment. *Curr Oncol Rep.* 2019 Mar;21(5):41. <http://dx.doi.org/10.1007/s11912-019-0787-1>
14. Ecker BL, Lee JY, Sterner CJ, Solomon AC, Pant DK, Shen, F, et al. Impact of obesity on breast cancer recurrence and minimal residual disease. *Breast Cancer Res.* 2019 Mar; 21(1): 1–16. doi: 10.1186/s13058-018-1087-7
15. Kothari C, Diorio C, Durocher F. The Importance of Breast Adipose Tissue in Breast Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug; 21(16): 5760. <https://doi.org/10.3390/ijms21165760>
16. Jiralerspong S, Goodwin PJ. Obesity and Breast Cancer Prognosis: Evidence, Challenges, and Opportunities. *J Clin Oncol: official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2016 Dec; 34(35): 4203–4216. doi: 10.1200/JCO.2016.68.4480
17. Araujo N, Sledziona J, Noothi SK, Burikhanov R, Hebbar N, Ganguly S, et al. Tumor Suppressor Par-4 Regulates Complement Factor C3 and Obesity. *Front Oncol.* 2022 Mar; 12: 860446. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.860446>
18. Mabe NW, Fox DB, Lupo R, Decker AE, Phelps SN, Thompson JW, et al. Epigenetic silencing of tumor suppressor Par-4 promotes chemoresistance in recurrent breast cancer. *J Clin Invest.* 2018 Aug;128(10):4413–28. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI99481>
19. Sells SF, Wood DP Jr, Joshi-Barve SS, Muthukumar S, Jacob RJ, Crist SA, et al. Commonality of the gene programs induced by effectors of apoptosis in androgen-dependent and -independent prostate cells. *Cell Growth Differ.* 1994 Apr;5(4):457–66. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8043520/>
20. Cheratta AR, Thayyullathil F, Pallichankandy S, Subburayan K, Alakkal A, Galadari S. Prostate apoptosis response-4 and tumor suppression: it's not just about apoptosis anymore. *Cell Death Dis.* 2021 Jan;12(1):47. <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-020-03292-1>
21. Tiruttani Subhramanyam UK, Kubicek J, Eidhoff UB, Labahn J. Structural basis for the regulatory interactions of proapoptotic Par-4. *Cell Death Differ.* 2017 Jun; 24(9): 1540–1547. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.76>
22. Ghosalkar J, Sonawane V, Pisal T, Achrekar S, Pujari R, Chugh A. Prostate Apoptosis Response-4 (Par-4): A Novel Target in Pyronaridine-Induced Apoptosis in Glioblastoma (GBM) Cells. *Cancers.* 2022 Jun; 14(13): 3198. <https://doi.org/10.3390/cancers14133198>
23. Zhang J, Sun A, Dong Y, Wei D. Recombinant production and characterization of SAC, the core domain of par-4, by SUMO fusion system. *Appl Biochem Biotechnol.* 2018 Oct;184(4):1155–67. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-017-2599-9>
24. Santiago SA, Pablo ZB, Edgar MG, Karina CA, Mariela AR, Cristina RP. Truncated WT1 Protein Isoform Expression Is Increased in MCF-7 Cells with Long-Term Estrogen Depletion. *Int J Breast Cancer.* 2021 Nov; 2021:6282514. doi: 10.1155/2021/6282514.

25. Cheema SK, Mishra SK, Rangnekar VM, Tari A M, Kumar R, Lopez-Berestein G. Par-4 transcriptionally regulates Bcl-2 through a WT1-binding site on the bcl-2 promoter. *J Biol Chem*. 2003 May;278(22): 19995–20005. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205865200>
26. Satherley LK, Sun PH, Ji KE, Mason M, Hargest R, Jiang WG, et al. Prostate Apoptosis Response-4 (PAR4) Suppresses Growth and Invasion of Breast Cancer Cells and Is Positively Associated with Patient Survival. *Anticancer Res*. 2016 Mar; 36(3): 1227–1235. <https://ar.iiarjournals.org/content/36/3/1227>
27. de Bessa Garcia SA, Pavanelli AC, Cruz E Melo N, Nagai MA. Prostate apoptosis response 4 (PAR4) expression modulates WNT signaling pathways in MCF7 breast cancer cells: A possible mechanism underlying PAR4-mediated docetaxel chemosensitivity. *Int J Mol Med*. 2017 Feb; 39(4): 809–818. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.2900>
28. Burikhanov R, Zhao Y, Goswami A, Qiu S, Schwarze SR, Rangnekar VM. The tumor suppressor Par-4 activates an extrinsic pathway for apoptosis. *Cell*. 2009 Jul;138(2):377–88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2009.05.022>
29. Shrestha-Bhattarai T, Rangnekar VM. Cancer-selective apoptotic effects of extracellular and intracellular Par-4. *Oncogene*. 2010 May;29(27):3873–80. <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2010.141>
30. Guo H, Treude F, Krämer OH, Lüscher B, Hartkamp J. PAR-4 overcomes chemo-resistance in breast cancer cells by antagonizing cIAP1. *Sci Rep*. 2019 Jun;9(1):8755. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-45209-9>
31. Yao X, Liu H, Zhang X, Zhang L, Li X, Wang C, et al. Cell surface GRP78 accelerated breast cancer cell proliferation and migration by activating STAT3. *PLoS One*. 2015 May;10(5):e0125634. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0125634>
32. Cohen M, Ribaux P, Epiney M, Irion O. Role of prostate apoptosis response 4 in translocation of GRP78 from the endoplasmic reticulum to the cell surface of trophoblastic cells. *PLoS One*. 2013 Nov;8(11):e80231. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0080231>
33. Burikhanov R, Shrestha-Bhattarai T, Hebbar N, Qiu S, Zhao Y, Zambetti GP, et al. Paracrine apoptotic effect of p53 mediated by tumor suppressor par-4. *Cell Rep*. 2014 Jan;6(2):271–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2013.12.020>
34. Nagai MA, Gerhard R, Salaorni S, Fregnani JHTG, Nonogaki S, Netto MM, et al. Down-regulation of the candidate tumor suppressor gene PAR-4 is associated with poor prognosis in breast cancer. *Int J Oncol*. 2010 Jul;37(1):41–9. http://dx.doi.org/10.3892/ijo_00000651
35. Ahmed MM, Sheldon D, Fruitwala MA, Venkatasubbarao K, Lee EY, Gupta S, et al. Downregulation of PAR-4, a pro-apoptotic gene, in pancreatic tumors harboring K-ras mutation. *Int J Cancer*. 2008 Jan;122(1):63–70. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.23019>
36. Cook J, Krishnan S, Ananth S, Sells SF, Shi Y, Walther MM, et al. Decreased expression of the pro-apoptotic protein Par-4 in renal cell carcinoma. *Oncogene*. 1999 Feb;18(5):1205–8. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1202416>
37. Brasseur K, Gévry N, Asselin E. Chemoresistance and targeted therapies in ovarian and endometrial cancers. *Oncotarget*. 2017 Dec; 8(3): 4008–4042. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14021>
38. Alvarez JV, Pan T-C, Ruth J, Feng Y, Zhou A, Pant D, et al. Par-4 downregulation promotes breast cancer recurrence by preventing multinucleation following targeted therapy. *Cancer Cell*. 2013 Jun;24(1):30–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2013.05.007>
39. Méndez-López LF, Zapata-Benavides P, Zavala-Pompa A, Aguado-Barrera ME, Pacheco-Calleros J, Rodríguez-Padilla C, et al. Immunohistochemical analysis of prostate apoptosis response-4 (Par-4) in Mexican women with breast cancer: a preliminary study. *Arch Med Res*. 2010 May;41(4):261–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcmed.2010.05.005>
40. Zapata-Benavides P, Méndez-Vázquez JL, González-Rocha TR, Zamora-Avila DE, Franco-Molina MA, Garza-Garza R, et al. Expression of prostate apoptosis response (Par-4) is associated with progesterone receptor in breast cancer. *Arch Med Res*. 2009 Oct;40(7):595–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcmed.2009.08.007>
41. Goswami A, Burikhanov R, de Thonel A, Fujita N, Goswami M, Zhao Y, et al. Binding and phosphorylation of par-4 by akt is essential for cancer cell survival. *Mol Cell*. 2005 Oct;20(1):33–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2005.08.016>
42. Gurumurthy S, Goswami A, Vasudevan KM, Rangnekar VM. Phosphorylation of Par-4 by protein kinase A is critical for apoptosis. *Mol Cell Biol*. 2005 Feb;25(3): 1146–1161. DOI: 10.1128/MCB.25.3.1146-1161.2005
43. de Thonel A, Hazoume A, Kochin V, Isoniemi K, Jego G, Fourmaux E, et al. Regulation of the proapoptotic functions of prostate apoptosis response-4 (Par-4) by casein kinase 2 in prostate cancer cells. *Cell Death Dis*. 2014 Jan;5(1):e1016-e1016. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.532>
44. Ganguly S, Burikhanov R, Qiu S, Rangnekar VM. Discovery and Overview of Par-4. In: Rangnekar, V.M. (eds) *Tumor Suppressor Par-4*. Springer, Cham. 2022 Jan. https://doi.org/10.1007/978-3-030-73572-2_1
45. Du B, Shim JS. Targeting Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) to Overcome Drug Resistance in Cancer. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2016 Jul;21(7):965. <https://doi.org/10.3390/molecules21070965>
46. Baulida J. Epithelial-to-mesenchymal transition transcription factors in cancer-associated fibroblasts.

- Mol Oncol. 2017 May;11(7): 847–859. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12080>
47. Georgakopoulos Soares I, Chartoumpakis DV, Kyriazopoulou V, Zaravinos A. EMT Factors and Metabolic Pathways in Cancer. *Front Oncol*. 2020 Apr; 10: 499. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00499>
 48. Oghbaei F, Zarezadeh R, Jafari-Gharabaghlu D, Ranjbar M, Nouri M, Fattahi A, et al. Epithelial-mesenchymal transition process during embryo implantation. *Cell Tissue Res*. 2022 Jan; 388(1): 1–17. <https://doi.org/10.1007/s00441-021-03574-w>
 49. Francesco EM, Maggiolini M, Musti AM. Crosstalk between Notch, HIF-1 α and GPER in Breast Cancer EMT. *Int J Mol Sci*. 2018 Jul;19(7): 2011. <https://doi.org/10.3390/ijms19072011>
 50. Xu X, Zhang L, He X, Zhang P, Sun C, Xu X, et al. TGF- β plays a vital role in triple-negative breast cancer (TNBC) drug-resistance through regulating stemness, EMT and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Jul;502(1):160–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.139>
 51. Yoshimatsu Y, Wakabayashi I, Kimuro S, Takahashi N, Takahashi K, Kobayashi M, et al. TNF- α enhances TGF- β -induced endothelial-to-mesenchymal transition via TGF- β signal augmentation. *Cancer science*. 2020 May;111(7): 2385–2399. <https://doi.org/10.1111/cas.14455>
 52. Takatani-Nakase T, Matsui C, Hosotani M, Omura M, Takahashi K, Nakase I. Hypoxia enhances motility and EMT through the Na⁺/H⁺ exchanger NHE-1 in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Exp Cell Res*. 2022 Mar;412(1):113006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.113006>
 53. Xu Y, Qin L, Sun T, Wu H, He T, Yang Z, et al. Twist1 promotes breast cancer invasion and metastasis by silencing Foxa1 expression. *Oncogene*. 2017 Feb;36(8):1157–66. <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2016.286>
 54. Mohammadi-Ghahhari N, Sznurkowska MK, Hulo N, Bernasconi L, Aceto N, Picard D. Cooperative interaction between ER α and the EMT-inducer ZEB1 reprograms breast cancer cells for bone metastasis. *Nat Commun*. 2022 Apr;13(1):2104. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-022-29723-5>
 55. Karamanou K, Franchi M, Vynios D, Brézillon S. Epithelial-to-mesenchymal transition and invadopodia markers in breast cancer: Lumican a key regulator. *Semin Cancer Biol*. 2020 May; 62: 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.003>
 56. Na TY, Schecterson L, Mendonsa AM, Gumbiner BM. The functional activity of E-cadherin controls tumor cell metastasis at multiple steps. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Mar;117(11):5931–7. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1918167117>
 57. Naderi R, Aziz SGG, Haghigi Asl AS. Evaluating the effect of Alantolactone on the expression of N-cadherin and Vimentin genes effective in epithelial-mesenchymal transition (EMT) in breast cancer cell line (MDA-MB-231). *Ann Med Surg*. 2022 Jan; 73: 103240. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.103240>
 58. Katoch A, Suklabaidya S, Chakraborty S, Nayak D, Rasool RU, Sharma D, et al. Dual role of Par-4 in abrogation of EMT and switching on Mesenchymal to Epithelial Transition (MET) in metastatic pancreatic cancer cells. *Mol Carcinog*. 2018 Apr;57(9):1102–1115. <https://doi.org/10.1002/mc.22828>
 59. Wang H, Guo S, Kim SJ, Shao F, Ho JWK, Wong KU, et al. Cisplatin prevents breast cancer metastasis through blocking early EMT and retards cancer growth together with paclitaxel. *Theranostics*. 2021 Jan;11(5):2442–59. <http://dx.doi.org/10.7150/thno.46460>
 60. Wang J, Li Y, Ma F, Zhou H, Ding R, Lu B, et al. Inhibitory effect of Par-4 combined with cisplatin on human Wilms' tumor cells. *Tumour Biol*. 2017 Jul;39(7):1010428317716689. DOI: 10.1177/1010428317716689
 61. Arellano-Rodríguez NC, Alvarez-Quezada OA, Benavides PZ, Vargas-Alanís G, Franco-Molina M, Zamora-Ávila D, et al. Curcumin Sensitizes 4T1 Murine Breast Cancer Cells to Cisplatin Through PAR4 Secretion. In vivo (Athens, Greece). 2022 Nov;36(6): 2767–2773. <https://doi.org/10.21873/invivo.13013>
 62. Tan J, You Y, Xu T, Yu P, Wu D, Deng H, et al. Par-4 downregulation confers cisplatin resistance in pancreatic cancer cells via PI3K/Akt pathway-dependent EMT. *Toxicol Lett*. 2014 Jan;224(1):7–15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.10.008>
 63. Thayyullathil F, Pallichankandy S, Rahman A, Kizhakkayil J, Chathoth S, Patel M, et al. Caspase-3 mediated release of SAC domain containing fragment from Par-4 is necessary for the sphingosine-induced apoptosis in Jurkat cells. *J Mol Signal*. 2013 Feb; 8(1): 2. DOI: 10.1186/1750-2187-8-2
 64. Chaudhry P, Singh M, Parent S, Asselin E. Prostate apoptosis response 4 (Par-4), a novel substrate of caspase-3 during apoptosis activation. *Mol Cell Biol*. 2012 Jan;32(4):826–39. <http://dx.doi.org/10.1128/MCB.06321-11>
 65. Clark AM, Ponniah K, Warden MS, Raitt EM, Smith BG, Pascal SM. Tetramer formation by the caspase-activated fragment of the Par-4 tumor suppressor. *The FEBS journal*. 2019 Jun; 286(20): 4060–4073. <https://doi.org/10.1111/febs.14955>
 66. Burikhanov R, Hebbar N, Noothi SK, Shukla N, Sledziona J, Araujo N, et al. Chloroquine-inducible par-4 secretion is essential for tumor cell apoptosis and inhibition of metastasis. *Cell Rep*. 2017 Jan;18(2):508–19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.051>

67. Damrauer JS, Phelps SN, Amuchastegui K, Lupo R, Mabe NW, Walens A, et al. Foxo-dependent Par-4 Upregulation Prevents Long-term Survival of Residual Cells Following PI3K–Akt InhibitionFoxo-Driven Par-4 Expression Limits Residual Cell Survival. *Mol Cancer Res.* 2018 Apr;16(4): 599-609. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-17-0492
68. Ahmad SM, Nayak D, Mir KB, Faheem MM, Nawaz S, Yadav G, et al. Par-4 activation restrains EMT-induced chemoresistance in PDAC by attenuating MDM-2. *Pancreatology.* 2020 Oct;20(8): 1698-1710. DOI: 10.1016/j.pan.2020.09.021
69. McKenna MK, Noothi SK, Alhakeem SS, Oben KZ, Greene JT, Mani R et al. Novel role of prostate apoptosis response-4 tumor suppressor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2018 Jun; 131(26): 2943–2954. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-10-813931>
70. Santos RVC, de Sena WLB, Dos Santos FA, da Silva Filho AF, da Rocha Pitta MG, da Rocha Pitta MG. Potential Therapeutic Agents Against Par-4 Target for Cancer Treatment: Where Are We Going?. *Curr. Drug Targets.* 2019; 20(6): 635–654. <https://doi.org/10.2174/1389450120666181126122440>
71. Zhang J, Dong W, Ren Y, Wei D. SAC-TRAIL, a novel anticancer fusion protein: expression, purification, and functional characterization. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2022 Feb; 106(4): 1511–1520. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11807-3>
72. Kim K, Araujo P, Hebbar N, Zhou Z, Zheng X, Zheng Fet al. Development of a novel prostate apoptosis response-4 (Par-4) protein entity with an extended duration of action for therapeutic treatment of cancer. *Protein engineering, design & selection: PEDS.* 2019 Nov; 32(3): 159–166. <https://doi.org/10.1093/protein/gzz034>
73. Chen YT, Tseng TT, Tsai HP, Huang MY. Arylquin 1 (Potent Par-4 Secretagogue) Inhibits Tumor Progression and Induces Apoptosis in Colon Cancer Cells. *Int J Mol Sci.* 2022 May;23(10): 5645. <https://doi.org/10.3390/ijms23105645>