



Biotecnia

E-ISSN: 1665-1456

biotecnia@ciencias.uson.mx

Universidad de Sonora

México

Anduro Corona, Iván; Astiazaran García, Humberto
RNF8: ¿BLANCO TERAPÉUTICO POTENCIAL PARA TRATAR EL CÁNCER DE
MAMA?

Biotecnia, vol. 20, núm. 1, enero-abril, 2018, pp. 47-52

Universidad de Sonora

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672971085008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org



RNF8: ¿BLANCO TERAPÉUTICO POTENCIAL PARA TRATAR EL CÁNCER DE MAMA?

RNF8: POTENTIAL THERAPEUTIC TARGET FOR BREAST CANCER TREATMENT?

Iván Anduro Corona*, Humberto Astiazaran García

Departamento de Nutrición y Metabolismo, Coordinación de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a La Victoria Km. 0.6, Col. La Victoria. Hermosillo, Sonora, C.P.83304.

RESUMEN

El cáncer de mama hereditario se ha asociado con alteraciones en el gen *BRCA1*, imposibilitando a la célula tumoral reparar las lesiones de doble cadena del ADN por recombinación homóloga. En la célula normal la RH es necesaria para el mantenimiento de la integridad del ADN. Sin embargo, en las células con *BRCA1* disfuncional, el ADN es reparado por el sistema de unión de extremos no homólogos propenso a errores en la reparación del ADN. Esta condición involucra a 53BP1, cuya función es esencial para el sistema UENH, favoreciendo la inestabilidad genómica y la tumorigénesis mamaria. RNF8 es una E3 ubiquitina ligasa que promueve el enlace de *BRCA1* y 53BP1 ubicándolas en los sitios de ADN dañado. Se presentan una serie de alternativas con el objetivo de reconocer y promover la eliminación de RNF8. Estas aproximaciones presentan a RNF8 como blanco en estrategias farmacológicas para eliminar la inestabilidad genómica dependiente de 53BP1 y la resistencia farmacológica promovida por la inactivación de 53BP1 en células mamarias carentes de *BRCA1*.

Palabras clave: 53bp1, brca1, rnf8, cáncer de mama.

ABSTRACT

Hereditary breast cancer has been associated with alterations in the *BRCA1* gene, making it impossible to repair DNA double-strand breaks by homologous recombination. This condition involves 53BP1, frequently altered in cancer, which function is essential for the non-homologous end joining mechanism, promoting genomic instability and mammary tumorigenesis. RNF8 is an E3 ubiquitin-protein ligase whose function promotes the binding of *BRCA1* and 53BP1 locating them at sites of DNA damage. Some approaches are presented with the aim to recognize and promote the elimination of RNF8, which could be used as a pharmacological strategy to eliminate both the 53BP1-dependent genomic instability and drug resistance promoted by its inactivation in *BRCA1*-deficient mammary cells.

Keywords: 53bp1, brca1, rnf8, breast cancer.

GLOSARIO

Ki67: marcador de proliferación Ki67

HER2: factor de crecimiento epidérmico humano 2

CMTN: cáncer de mama triple negativo

BRCA1: cáncer de mama de inicio temprano 1

RDC: rompimiento de ADN de doble cadena

RNF8: proteína 8 dedo RING, proteína ligasa de ubiquitina E3

53BP1: proteína 1 de unión a p53

ATM: ataxia telangiectasia mutada

MDC1: mediador del punto de control de daños al ADN

FHA: dominio asociado a la cabeza de horquilla

RDA: respuesta al daño del ADN

RH: recombinación homóloga

CHK2: cinasa de punto de control 2

UENH: unión de extremos no homólogos

PARP-1: Polimerasa 1 Poli (ADP ribosa)

1CPO: cloroperoxidasa

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más frecuente entre las mujeres en el mundo (Ferlay *et al.*, 2012), y en México representa la segunda causa de muerte (14.36/100 000 mujeres) por cáncer en mujeres (INEGI, 2015). Durante el desarrollo del cáncer de mama las células acumulan alteraciones moleculares que después de proliferar, favorecen la invasión y migración celular. El estudio del cáncer ha permitido identificar algunas características patológicas y moleculares entre los tumores mamarios humanos. Así, se han identificado los subtipos intrínsecos de cáncer de mama, que incluye los subtipos Luminal A (receptor de estrógeno RE+ y/o receptor de progesterona RP+, Ki67- y el factor de crecimiento epidérmico humano 2 HER2-), Luminal B (RE+ y/o RP+, Ki67+ y HER2+), HER2+ (RE- y/o RP-, Ki67++ y HER2+) y triple negativo (RE-, RP- y HER2-) (Dai *et al.*, 2015).

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es el más agresivo entre los subtipos intrínsecos, ya que no responde a la terapia hormonal, ni a la inmunológica. Este subtipo representa en promedio 15% de los casos de cáncer de mama (Li *et al.*, 2016), sin embargo, la incidencia del cáncer de mama varía entre los grupos étnicos/raciales. De acuerdo con esto, las mujeres hispanas presentan una incidencia de 23% de CMTN (Lara-Medina *et al.* 2011), mismas que comparten la característica tipo-basal que está fuertemente ligado a alteraciones en el gen cáncer de mama de inicio temprano 1 (*BRCA1*) (Toffoli *et al.*, 2014). Las mutaciones en el gen *BRCA1* generan una pérdida de su función, que está presente en aproximadamente 23% de las pacientes con cáncer de mama triple negativo, dificultando el tratamiento de la enfermedad (Villareal-Garza *et al.*, 2015).

La función de la proteína BRCA1 es crítica para la reparación del rompimiento de ADN de doble cadena (RDC) por recombinación homóloga (RH). La inactivación de BRCA1 promueve el “arresto” celular en la fase G2/M del ciclo celular (Draga *et al.*, 2015), mientras que la proteína 1 de unión a p53 (53BP1) inhibe la recombinación homóloga en células deficientes en BRCA1 (Bouwman *et al.*, 2010). Por su parte, la proteína 8 dedo-RING (RNF8) es una proteína ligasa de ubiquitina E3 que funciona de andamiaje para la retención de proteínas mediadoras de la respuesta al daño del ADN (RDA) como BRCA1 y 53BP1, cuyo desbalance funcional de estas proteínas, genera inestabilidad genómica y cáncer de mama (Giunta y Jackson *et al.*, 2011).

La inestabilidad genómica se caracteriza por rearranglos cromosómicos, sustitución de bases, firmas de rearranglos caracterizados por repeticiones de duplicaciones y delecciones y mutaciones genéticas (Nik-Zainal *et al.*, 2016). Se conocen muchos agentes genotóxicos naturales y sintéticos, con capacidad de alterar la estructura del ADN impidiendo su interacción con proteínas esenciales para la recombinación, replicación y transcripción. En respuesta, hay un gran número de proteínas involucradas en mecanismos de reparación del ADN, que procesan diferentes tipos de lesiones con el fin de salvar la integridad de la información genética (Gavande *et al.*, 2016). El objetivo de este trabajo de revisión, es describir los mecanismos moleculares de reparación del ADN dependientes de RNF8 alterados en el CMTN, que sustentan potenciales estrategias terapéuticas para el tratamiento de esta enfermedad.

Ciclo celular e inestabilidad genómica

El progreso a través del ciclo celular está regulado por un grupo de mecanismos que mantienen la integridad genómica. En las células cancerosas, estos mecanismos están frecuentemente alterados y favorecen la carcinogénesis.

Las células de los vertebrados no solo pueden retrasar la mitosis (Tuttle *et al.*, 2007), sino revertirla (Chin y Yeong, 2010). En particular, la proteína RNF8 participa activamente en el control del ciclo celular, sus principales funciones las realiza durante la mitosis tardía y la fase G2/M; se propone que durante la mitosis tardía RNF8 prepara los sitios de unión de 53BP1 en la cromatina al iniciar G1 (Doil *et al.*, 2009; Giunta *et al.*, 2010). RNF8 es requerido durante la fase G2/M para controlar la sensibilidad a las radiaciones ionizantes y evitar el avance a la fase M de células dañadas (Huen *et al.*, 2007; Kolas *et al.*, 2007), si este daño es detectado, la célula es capaz de revertir la compactación de los cromosomas a la fase G2 hasta corregir el defecto (Chin y Yeong, 2010). Se ha observado que la sobreexpresión de RNF8 retraza la citoquinesis y provoca la aparición de figuras mitóticas aberrantes (Plans *et al.*, 2008). En particular, los resultados de un estudio en cáncer de mama sugieren que tales figuras mitóticas aberrantes se asocian con el subtipo molecular de cáncer mamario, presentando mayor frecuencia de figuras mitóticas en el CMTN (Anduro-Corona, 2012).

Los eventos mitóticos aberrantes han sido asociados a una disminución de la proteína cinasa tipo Polo 1 (PIK1). RNF8 regula de manera negativa a PIK1, evitando la formación de los usos mitóticos bipolares e impidiendo fijar los cinetócoros a los microtúbulos (Yoshioka *et al.*, 2011). La eliminación de RNF8 retrasa la salida del arresto mitótico ocasionado por toxinas para microtúbulos (Doil *et al.*, 2009) generando desfasamientos durante la mitosis. Los detalles de la relación entre el ciclo celular y el cáncer se revisan en Giunta y Jackson, 2011.

El desarrollo tumoral está asociado a cambios en la proliferación celular normal hacia un crecimiento maligno mediante alteraciones en la fisiología normal de la célula (Hanahan y Weinberg, 2011). Sin embargo, la integridad genómica de un individuo puede verse comprometida debido a fallas en la reparación del ADN en las células cancerosas (Bernstein y Bernstein, 2015).

El RDC puede ser reparado por dos vías, la elección dependerá de la fase del ciclo celular en la que el daño pretende ser reparado. Si la lesión se detectó en G1 se utiliza la unión de extremos no homólogos; en el caso que el defecto se haya detectado en la fase G2/M será reparado usando el proceso de recombinación homóloga (Bee *et al.*, 2013). La evidencia sugiere que en el cáncer de mama hay preferencia por la recombinación homóloga sobre la unión de extremos no homólogos (Mao *et al.*, 2009).

Mecanismo de respuesta temprana al daño al ADN

La respuesta al daño al ADN inicia con la retención temporal del complejo multiprotéico Mre11-Rad50-Nbs1 en los sitios de RDC, que une y activa a la proteína ataxia telangiectasia mutada (ATM) (Kim *et al.*, 2017). Posteriormente, ATM activada une de forma fosfodependiente a la proteína histona H2AX, que una vez fosforilada γ-H2AX enlaza a la proteína mediadora del daño al ADN 1 (MDC1) por su dominio BRCT (Eliezer *et al.*, 2014) y esta a su vez retiene a RNF8 de forma fosfodependiente por el dominio asociado a cabeza de horquilla (FHA) de su extremo N-terminal (Kolas *et al.*, 2007). Adicionalmente, RNF8 tiene un dominio dedo-RING en su extremo C-terminal con actividad ubiquitina ligasa con la que retiene a proteínas mediadoras de la RDA como BRCA1 y 53BP1 (Doil *et al.*, 2009) como se muestra en la figura 1. La formación de cadenas de ubiquitina dependientes de RNF8, le confieren la capacidad de controlar el destino de proteínas blanco. De tal forma que si la función de la modificación es la activación de la inflamación o la reparación del ADN, se utilizará la vía K63 (Hodge *et al.*, 2016), pero si el marcaje será utilizado para la degradación de la proteína blanco, se dará través de K48 (Guo *et al.*, 2016).

Recombinación homóloga

La recombinación homóloga es un fenómeno que le confiere a la célula capacidad de experimentar rearranglos en su genoma. En este proceso, los rompimientos de doble cadena de ADN son reparados al ser alineados con secuencias de ADN homólogas, donde BRCA1 favorece la activación de

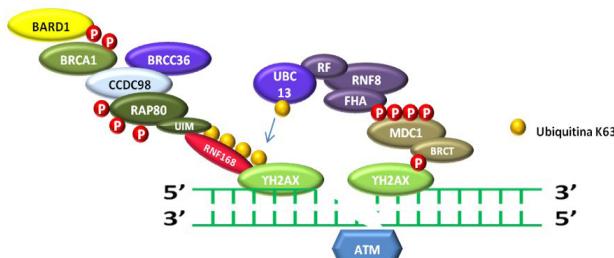


Figura 1. Modelo de la función jerárquica de la respuesta temprana al ADN dañado.

Figure 1. Model of the hierarchical function of the early response to damaged DNA.

BRCA2 mediante su enlace con PALB2 (Zhang *et al.*, 2009). Por su parte, BRCA2 se encarga de posicionar a la recombinasa Rad51 en la lesión del ADN (Chatterjee *et al.*, 2016), para dirigir a la maquinaria de la recombinación homóloga.

Se han reportado mutaciones en los genes *PALB2* y *BRCA2*, en pacientes con cáncer de mama, (Nelson-Moseke *et al.*, 2013; Tischkowitz *et al.*, 2013) que podrían evitar la formación de los filamentos pre-sinápticos de Rad51 necesarios para la recombinación homóloga (Reuter *et al.*, 2014). Por su parte, algunas mutaciones de *Rad51* asociadas a tumores generan alteraciones físicas y bioquímicas de Rad51 (Chen *et al.*, 2015), lo que muestra el alto grado de regulación en esta vía.

La función de BRCA1 y su vía resultan esenciales para la recombinación homóloga, de ahí que sus mutaciones produzcan inestabilidad genómica y cáncer de mama (Comen *et al.*, 2011 y Pern *et al.*, 2012). Se ha demostrado que 53BP1 inhibe la recombinación homóloga en células deficientes en BRCA1, a través de la reparación de los cortes en las hebras sencillas de ADN por medio de la poli ADP ribosa polimerasa-1 (PARP-1) (Woodhouse y Dianov, 2008) dependiente de

53BP1, sugiriendo una interacción entre BRCA1 y 53BP1 en la resección del ADN de cadena sencilla (Bunting *et al.*, 2010). Este principio se explora usando inhibidores de la enzima PARP-1. Sin embargo, la disfunción de 53BP1 resulta en la resistencia a inhibidores de PARP-1, en algunos casos debido a la actividad residual de recombinación homóloga, usando la vía de reparación paralela en la que participan CHK2 y BRCA2 (Bouwman *et al.*, 2010). Una nueva generación de fármacos promete aumentar la efectividad de la eliminación de la recombinación homóloga residual, manteniendo la viabilidad del uso de los inhibidores de PARP-1 como estrategia para combatir el cáncer (Jaspers *et al.*, 2013). Nakada sugiere que RNF8 controla la interacción entre BRCA1 y 53BP1, ya que en las células humanas deficientes en RNF8, BRCA1 y 53BP1 la recombinación homóloga fue menos eficiente que en aquellas deficientes en BRCA1 y 53BP1 (Nakada *et al.*, 2012).

Unión de extremos no homólogos

La unión de extremos no homólogos (UENH) es un proceso de reparación de RDC de ADN que se realiza sin la necesidad de homología entre los extremos del ADN que serán unidos. La UENH involucra algunas moléculas con capacidad de unión a los extremos del ADN como el heterodímero formado por Ku70 y Ku80, los cuales activan la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de ADN (DNA-PKc) a través de su interacción con los extremos del ADN (Fattah *et al.*, 2010). Posteriormente, una serie de moléculas efectoras completan la unión de los fragmentos de ADN recién sintetizados (Figura 2).

La reparación del ADN por UENH es potenciado por el efecto de 53BP1 (Iwabuchi *et al.*, 2006) a través de un mecanismo estrictamente coordinado, que incluye la ubiquitinación de los residuos lisina 13 y 15 de la histona H2A por RNF168, este evento dirige la unión de 53BP1 a la cromatina

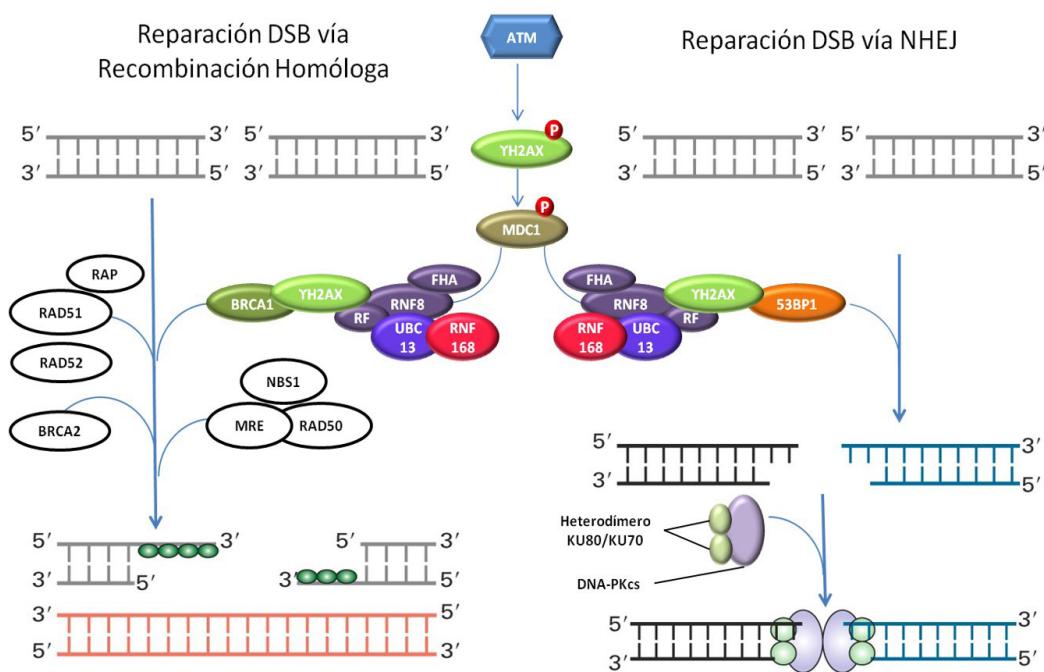


Figura 2. Modelo jerárquico del complejo multiprotéico de reparación del ADN dañado.

Figure 2. Hierarchical model of multiprotein repair complex of damaged DNA.

que circunda la RDC (Frader-Turcotte et al., 2013). 53BP1 se une específicamente a los nucleosomas con la modificación H2AK15ub a través del motivo de reclutamiento dependiente de ubiquitinación (RDU). Para estabilizar la unión de 53BP1 a la cromatina es necesaria la unión simultánea al residuo de lisina 20, dimetilada de la histona 4 (H4K20me2) por su dominio Tudor (Botuvan et al., 2006). Esta capacidad está relacionada con la habilidad de RNF8 para facilitar la acumulación de 53BP1 y de ATM fosforilada en los extremos desprotegidos de los telómeros, así como su capacidad para promover la UENH en estas regiones teloméricas en ausencia de Tpp1 (Rai et al., 2011).

Más allá de la promoción de UENH a través de 53BP1, RNF8 podría estar relacionada con el desarrollo del cáncer de mama, dada la inducción de la inestabilidad genómica asociada a su sobreexpresión (Anduro-Corona, 2012). Esta noción se refuerza con los resultados de Wang y colaboradores, ya que afirman que RNF8 promueve funcionalmente la proliferación celular del cáncer de mama, asociado a la transactivación del receptor de estrógenos α (ERα). Tales resultados sugieren la potenciación de la expresión de ERα por acción de RNF8 (Wang et al., 2017). La poliubiquitinación de Twist vía K63 le confiere funciones de transición de epitelial a mesenquimal (TEM), proceso de reprogramación de células epiteliales diferenciadas a un fenotipo mesenquimal, así como de células troncales de cáncer (CTC). Los fenotipos antes mencionados están asociados a la quimioresistencia, invasión, migración y metástasis del cáncer de mama (Lee et al., 2016^a; Lee et al., 2016^b). Complementariamente, en células MCF-7 se encontró que la sobreexpresión de RNF8 promueve el fenotipo TEM facilitando la migración celular, pero el silenciamiento de RNF8 en células MDA-MB-231 indujo el fenotipo de transición de mesenquimal a epitelial (TME) e inhibió la migración celular (Kuang et al., 2016). Estos resultados sugieren que los efectos carcinogénicos de RNF8 pueden ser revertidos o al menos detenidos.

Por otro lado, recientemente se descubrió que la activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) fosforila a la piruvato cinasa M2 (PKM2) en el residuo treonina 11 de la H3, que subsecuentemente liga a RNF8 por su dominio FHA. Posteriormente, RNF8 poliubiquitina a la K4 de H3 vía K48, estableciendo una marca para la degradación de H3 por el proteosoma 26S. Como resultado la RNA polimerasa II se puede acoplar a la cromatina relajada para transcribir a los genes MYC y CCND1, mismos que promueven la proliferación celular, tumorigénesis y glucólisis tumoral (Xia et al., 2017). Los reportes previamente expuestos son evidencia de las múltiples interacciones que RNF8 establece para la tumorigénesis.

RNF8 como blanco terapéutico

Se ha comprobado que 53BP1 afecta la estabilidad cromosómica en células deficientes en BRCA1, frecuentemente asociados con los CMTN (Villarreal-Garza et al., 2015). Otros resultados sugieren que la HR puede ser regulada por las proteínas BRCA y 53BP1 de forma dependiente de RNF8

(Nakada et al., 2012). Así, RNF8 parece un blanco farmacológico para eliminar la actividad remanente de recombinación homóloga tras la inactivación de BRCA1 y 53BP1, considerando que la recombinación homóloga residual promueve la supervivencia tumoral por la resistencia a inhibidores de PARP-1 (Bouwman et al., 2010; Nakada et al., 2012). Una opción para la inactivación de RNF8 es el uso de ICPO, una proteína del Virus del Herpes Simple tipo 1, que posee actividad de E3 ubiquitina ligasa y es un transactivador requerido para un cambio eficiente de la infección latente a la fase lítica. ICPO tiene la propiedad de ubiquitinizar vía K48 a las E3 ubiquitina ligasas RNF8 y RNF168, facilita su degradación y causa la desregulación de la ubiquitinación de la histona H2A, previniendo la acumulación de las proteínas del RDA (Lilley et al., 2010).

Por otro lado, se han desarrollado algunas estrategias de búsqueda de estructuras inhibitorias de la interacción proteína-proteína de RNF8 con la enzima conjugadora de ubiquitina E2 (Ubc13) (Weber et al., 2016). Con base en estas herramientas, ha sido posible el diseño de moléculas pequeñas que antagonizan con la interacción de Ubc13 con Uev1 y Uev2, variantes inactivas de E2. Tales moléculas inhiben la poliubiquitinación ligada a K63 y los resultados muestran que al menos una de ellas puede ser utilizada en esquemas terapéuticos combinados para modelos experimentales de cáncer. La molécula "1a" inhibe la invasividad, clonogenicidad y el crecimiento tumoral de células de cáncer de próstata (Scheper et al., 2010).

Se reevalúa la actividad de moléculas originalmente diseñadas para combatir otras patologías. La ouabaína es una molécula utilizada en el tratamiento de falla cardíaca y fibrilación atrial que ha mostrado propiedades antitumorales. Los resultados del estudio muestran que este glucósido cardíaco interactúa en el sistema de reparación RDA posterior a la activación de γH2AX, pero anterior a 53BP1 (Surovtseva et al., 2016), lo que permite inferir que se trate del mismo blanco con el que interviene la molécula "1a" descrita por Scheper. Se propone una forma adicional de inactivar a RNF8, a través de miR214 que elimina el RDA reprimiendo la expresión de RNF8 a través de la unión directa a la región 3' no traducida del ARNm de RNF8. Esta estrategia ha mostrado la inhibición de la inestabilidad cromosómica en cáncer de ovario (Wang et al., 2014), el cáncer de mama es regulado por un mecanismo similar, lo que permite inferir su potencial regulación por esta molécula.

CONCLUSIONES

Con base en la cascada de señales de la respuesta al daño al ADN, activada por el rompimiento de doble cadena del ADN en el CMTN, se identificó a RNF8 como un potencial blanco terapéutico. En este trabajo se abordaron tres estrategias generales para la inactivación de RNF8. La primera involucra a ICPO, que es capaz de ubiquitinizar a RNF8 vía K48 (Lilley et al., 2010). Otra estrategia, propone la inhibición de la interacción de RNF8 con la E2 Ubc13 (Scheper et al., 2010; Surovtseva et al., 2016; Weber et al., 2016). Por último,

se presenta el miR214 como opción para la inhibición de la transcripción de RNF8 (Wang *et al.*, 2014). Es posible que la inactivación de RNF8 presentara un efecto significativo en México, ya que hasta el 23% de los casos de cáncer de mama están categorizados como CMTN (Lara-Medina *et al.*, 2011), el más agresivo entre los subtipos intrínsecos y a la fecha no existe un tratamiento específico para estas pacientes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la lectura crítica al manuscrito por la Dra. Maricela Montalvo Corral del Departamento de Nutrición y Metabolismo, Coordinación de Nutrición, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

REFERENCIAS

- Anduro-Corona, I. 2012. Efecto del gen RNF8 en el desarrollo del cáncer de mama. [Tesis doctoral inédita]. Universidad de Sonora, Hermosillo.
- Bee, L., Fabris, S., Cherubini, R., Mognato, M. y Celotti, L. 2013. The Efficiency of Homologous Recombination and Non Homologous End Joining Systems in Repairing Double Strand Breaks during Cell Cycle Progression. *PLoS ONE*. 8: e69061. doi: 10.1371/journal.pone.0069061.
- Bernstein, C. y Bernstein, H. 2015. Epigenetic reduction of DNA repair in progression to gastrointestinal cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 7: 30–46.
- Bunting, S. F., Callen, E., Wong, N., Chen, H. T., Polato, F., Gunn, A., *et al.* 2010. 53BP1 inhibits homologous recombination in Brca1-deficient cells by blocking resection of DNA breaks. *Cell*. 141: 243–254. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.012.
- Botuyan, M. V., Lee, J., Ward, I. M., Kim, J. E., Thompson, J. R., Chen, J., *et al.* 2006. Structural Basis for the Methylation State-Specific Recognition of Histone H4-K20 by 53BP1 and Crb2 in DNA Repair. *Cell*. 127: 1361–1373. doi: 10.1016/j.cell.2006.10.043.
- Bouwman, P., Aly, A., Escandell, J. M., Pieterse, M., Bartkova, J., van der Gulden, H., *et al.* 2010. 53BP1 loss rescues BRCA1 deficiency and is associated with triple-negative and BRCA-mutated breast cancers. *Nature Structural & Molecular Biology*. 17: 688–695. doi: 10.1038/nsmb.1831.
- Chatterjee, G., Jimenez-Sainz, J., Presti, T., Nguyen, T. y Jensen, R. B. 2016. Distinct binding of BRCA2 BRC repeats to RAD51 generates differential DNA damage sensitivity. *Nucleic Acids Research*. 44: 5256–5270. doi: 10.1093/nar/gkw242.
- Chen, J., Morrical, M. D., Donigan, K. A., Weidhaas, J. B., Sweasy, J. B., Averill, A. M., *et al.* 2015. Tumor-associated mutations in a conserved structural motif alter physical and biochemical properties of human RAD51 recombinase. *Nucleic Acids Research*. 43: 1098–1111. doi: 10.1093/nar/gku1337.
- Chin, C. F. y Yeong, F. M. 2010. Safeguarding entry into mitosis: the antephase checkpoint. *Molecular and Cellular Biology*. 30: 22–32.
- Comen, E., Davids, M., Kirchhoff, T., Hudis, C., Offit, K. y Robson, M. 2011. Relative contributions of BRCA1 and BRCA2 mutations to “triple-negative” breast cancer in Ashkenazi Women. *Breast Cancer Research and Treatment*. 129: 185–190.
- Dai, X., Li, T., Bai, Z., Yang, Y., Liu, X., *et al.* 2015. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *American Journal of Cancer Research*. 5: 2929–2943.
- Doil, C., Mailand, N., Bekker-Jensen, S., Menard, P., Larsen, D. H., Pepperkok, R., *et al.* 2009. RNF168 binds and amplifies ubiquitin conjugates on damaged chromosomes to allow accumulation of repair proteins. *Cell*. 136: 435–446.
- Draga, M., Madgett, E. B., Vandenberg, C. J., du Plessis, D., Kaufmann, A., Werler, P., *et al.* 2015. BRCA1 Is Required for Maintenance of Phospho-Chk1 and G2/M Arrest during DNA Cross-Link Repair in DT40 Cells. *Molecular and Cellular Biology*. 35: 3829–3840.
- Eliezer, Y., Argaman, L., Kornowsky M., Roniger, M. y Goldberg M. 2014. Interplay between the DNA Damage Proteins MDC1 and ATM in the Regulation of the Spindle Assembly Checkpoint. *The Journal of Biological Chemistry*. 289: 8182–8193.
- Fattah, F., Lee, E. H., Weisensel, N., Wang, Y., Lichter, N. y Hendrickson, E. A. 2010. Ku Regulates the Non-Homologous End Joining Pathway Choice of DNA Double-Strand Break Repair in Human Somatic Cells. *PLoS Genetics*. 6: e1000855. doi: 10.1371/journal.pgen.1000855.
- Freray, J., Soerjomataram, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., *et al.* GLOBOCAN. [Consultado el 17 de julio 2017] 2014. v1.0. *Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11*. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>.
- Fradet-Turcotte, A., Canny, M. D., Escribano-Díaz, C., Orthwein, A., Leung, C. C. Y., Huang, H., *et al.* 2013. 53BP1 is a reader of the DNA-damage-induced H2A lys 15 ubiquitin mark. *Nature*. 499: 50–54.
- Gavande, N. S., VanderVere-Carozza, P. S., Hinshaw, H. D., Jalal, S. I., Sears, C. R., Pawelczak, K. S., *et al.* 2016. DNA repair targeted therapy: the past or future of cancer treatment?. *Pharmacology & Therapeutics*. 160: 65–83. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.02.003.
- Giunta, S., Belotserkovskaya, R. y Jackson, S. P. 2010. DNA damage signaling in response to double-strand breaks during mitosis. *The Journal of Cell Biology*. 190: 197–207.
- Giunta, S., y Jackson, S. P. 2011. Give me a break, but not in mitosis: the mitotic DNA damage response marks DNA double strand breaks with early signaling events. *Cell Cycle*. 10: 1215–1221.
- Guo, X., Wang, X., Wang, Z., Benerjee, S., Yan, J., Huang, L., *et al.* 2016. Site-specific Proteasome Phosphorylation Controls Cell Proliferation and Tumorigenesis. *Nature Cell Biology*. 18: 202–212. doi: 10.1038/ncb3289.
- Hanahan, D. y Weinberg, R. A. 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 144: 646–674.
- Hodge, C. D., Spyrapoulos, L. y Grover, J. N. M. 2016. Ubc13: the Lys63 ubiquitin chain building machine. *Oncotarget*. 7: 64471–64504.
- Huen, M. S., Grant, R., Manke, I., Minn, K., Yu, X., Yaffe, M. B., *et al.* 2007. RNF8 transduces the DNA-damage signal via histone ubiquitylation and checkpoint protein assembly. *Cell*. 131: 901–14.
- INEGI. 2015. Estadísticas de mortalidad. Cubos dinámicos.
- Iwabuchi, K., Hashimoto, M., Matsui, T., Kurihara, T., Shimizu, H., Adachi, N. *et al.* 2006. 53BP1 contributes to survival of cells irradiated with X-ray during G1 without Ku70 or Artemis. *Genes to Cells*. 11: 935–948.
- Jaspers, J. E., Kersbergen, A., Boon, U., Sol, W., van Deemter, L., Zander, S. A., *et al.* 2013. Loss of 53BP1 Causes PARP Inhibitor Resistance in Brca1-Mutated Mouse Mammary Tumors. *Cancer Discovery*. 3: 68–81.

- Kim, J. H., Grosbart, M., Anand, R., Wyman, C., Cejka, P. y Petrini, H. J. H. 2017. The Mre11-Nbs1 interface is essential for viability and tumor suppression. *Cell Reports*. 18: 496–507. doi: 10.1016/j.celrep.2016.12.035.
- Kolas, N. K., Chapman, J. R., Nakada, S., Ylanko, J., Chahwan, R., Sweeney, F. D., et al. 2007. Orchestration of the DNA-damage response by the RNF8 ubiquitin ligase. *Science*. 318: 1637–1640.
- Kuang, J., Li, L., Guo, L., Su, Y., Wang, Y., Xu, Y., et al. 2016. RNF8 promotes epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 35: 88. doi: 10.1186/s13046-016-0363-6.
- Lara-Medina, F., Perez-Sanchez, V., Saavedra-Perez, D., Blake-Cerda, M., Arce, C., Motola-Kuba, D., et al. 2011. Triple-negative breast cancer in Hispanic patients: high prevalence, poor prognosis, and association with menopausal status, body mass index, and parity. *Cancer*. 117: 3658–3669.
- Lee, H. J., Li, C. F., Ruan, D., Power, S., Thompson, P. A., Frohman, M. A., et al. 2016^a. The DNA Damage Transducer RNF8 Facilitates Cancer Chemoresistance and Progression through Twist Activation. *Molecular Cell*. 63: 1021–1033.
- Lee, H. J., Ruan, D., He, J. y Chan, C. H. 2016^b. Two-faced activity of RNF8: What “twists” it from a genome guardian to a cancer facilitator?. *Molecular & Cellular Oncology*. 3: e1242454. doi: 10.1080/23723556.2016.1242454.
- Li, L., Zhong, Y., Zhang, H., Yu, H., Huang, Y., Li, Z., et al. 2017. Association between oral contraceptive use as a risk factor and triple-negative breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Molecular and Clinical Oncology*. 7: 76–80. doi: 10.3892/mco.2017.1259.
- Lilley, C. E., Chaurushiya, M. S., Boutell, C., Landry, S., Suh, J., Panier, S., et al. 2010. A viral E3 ligase targets RNF8 and RNF168 to control histone ubiquitination and DNA damage responses. *The EMBO Journal*. 29: 943–955.
- Mao, Z., Jiang, Y., Liu, X., Seluanov, A., Gorbunova, V. 2009. DNA repair by homologous recombination, but not by non-homologous end joining, is elevated in breast cancer cells. *Neoplasia*. 11: 683–691.
- Nelson-Moseke, A. C., Jeter, J. M., Cui, H., Roe, D. J. Chambers, S. K. y Laukaitis, C. M. 2013. An Unusual BRCA Mutation Distribution in a High Risk Cancer Genetics Clinic. *Familial Cancer*. 12: 83–87. doi: 10.1007/s10689-012-9581-z.
- Nik-Zainal, S., Davies, H., Staaf, J., Ramakrishna, M., Glodzik, D., Zou, X., et al. 2016. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences. *Nature*. 534: 47–54. doi: 10.1038/nature17676.
- Plans, V., Guerra-Rebollo, M. y Thomson, T. M. 2008. Regulation of mitotic exit by the RNF8 ubiquitin ligase. *Oncogene*. 27: 1355–1365.
- Pern, F., Bogdanova, N., Schurmann, P., Lin, M., Ay, A., Langer, F., Hillemanns, P. et al. 2012. Mutation analysis of BRCA1, BRCA2, PALB2 and BRD7 in a hospital-based series of german patients with Triple-Negative breast cancer. *PLOS ONE*. 7: e47993. doi: 10.1371/journal.pone.0047993.
- Rai, R., Li, J. M., Zheng, H., Lok, G. T., Deng, Y., Huen, M. S., et al. 2011. The E3 ubiquitin ligase Rnf8 stabilizes Tpp1 to promote telomere end protection. *Nature Structural & Molecular Biology*. 18: 1400–1407.
- Reuter, M., Zelensky, A., Smal, I., Meijering, E., van Cappellen, W. A., de Gruiter, M. H., et al. 2014. BRCA2 diffuses as oligomeric clusters with RAD51 and changes mobility after DNA damage in live cells. *The Journal of Cell Biology*. 207: 599–613.
- Scheper, J., Guerra-Rebollo, M., Sanclimens, G., Moure, A., Masip, I., González-Ruiz, D., et al. 2010. Protein-Protein Interaction Antagonists as Novel Inhibitors of Non-Canonical Polyubiquitylation. *PLOS ONE*. 5: e11403. doi: 10.1371/journal.pone.0011403.
- Soruvtseva, Y. V., Jairan, V., Salem, A. F., Sundaram, R. K., Bindra, R. S. y Herzon, S. V. 2016. Characterization of Cardiac Glycoside Natural Products as Potent Inhibitors of DNA Double-Strand Break Repair by a Whole-Cell Double Immunofluorescence Assay. *Journal of the American Chemical Society*. 23: 3844–3855. doi: 10.1021/jacs.6b00162.
- Tischkowitz, M., Sabbaghian, N., Hamel, N., Pouchet, C., Foulkes, W. D., Mes-Masson, A. M., et al. 2013. Contribution of the PALB2 c.2323C>T [p.Q775X] founder mutation in well-defined breast and/or ovarian cancer families and unselected ovarian cancer cases of French Canadian descent. *BMC Medical Genetics*. 14. doi: 10.1186/1471-2350-14-5.
- Toffoli, S., Bar, I., Abdel-Sater, F., Delrée, P., Hilbert, P., Cavallin, F., et al. 2014. Identification by array comparative genomic hybridization of a new amplicon on chromosome 17q highly recurrent in BRCA1 mutated triple negative breast cancer. *Breast Cancer Research* 2014, 16: 466.
- Tuttle, R. L., Bothos, J., Summers, M. K., Luca, F. C., y Halazonetis, T. D. 2007. Defective in mitotic arrest 1/RING finger 8 is a checkpoint protein that antagonizes the human mitotic exit network. *Molecular Cancer Research*. 5: 1304–1311.
- Villareal-Garza, C., Weitzel, J. N., Llacuachaqui, M., Sifuentes, E., Magallanes-Hoyos, M. C., Gallardo, L., et al. 2015. The prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations among young Mexican women with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 150: 389–394. doi: 10.1007/s10549-015-3312-8.
- Wang, S., Luo, H., Wang, C., Sun, H., Sun, G., Sun, N., et al. 2017. RNF8 identified as a co-activator of estrogen receptor α promotes cell growth in breast cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1863: 1615–1628.
- Wang, Z., Yin, H., Zhang, Y., Feng, Y., Yan, Z., Jiang, X., et al. 2014. miR-214-mediated downregulation of RNF8 induces chromosomal instability in ovarian cancer cells. *Cell Cycle*. 13: 3519–3528. doi: 10.4161/cc.2014.958413.
- Weber, E., Rothenaigner, I., Brandner, S., Hadian, K. y Schorpp, K. 2017. A High-Throughput Screening Strategy for Development of RNF8-Ubc13 Protein-Protein Interaction Inhibitors. *SLAS Discovery*. 22: 316–323. doi: 10.1177/1087057116681408.
- Xia, J., Yang, W., Fa, M., Li, X., Wang, W., Jiang, Y., et al. 2017. RNF8 mediates histone H3 ubiquitylation and promotes glycolysis and tumorigenesis. *J. Exp. Med.* doi: 10.1084/jem.20170015.
- Yan, Y., Spieker, R. S., Kim, M., Stoeger, S. M. y Cowan, K. H. 2005. BRCA1-mediated G2/M cell cycle arrest requires ERK1/2 kinase activation. *Oncogene*. 24: 3285–3296.
- Yoshioka, T., Kimura, M., Saio, M., Era, S. y Okano, Y. 2011. PIK1 is negatively regulated by RNF8. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 410: 57–61.
- Zhang, F., Ma, J., Wu, J., Ye, L., Cai, H., Xia, B., et al. 2009. PALB2 links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-damage response. *Current Biology*. 19: 524–529.