

**DIAGNÓSTICO MOLECULAR POR REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE
PARA O GENE DO CÂNCER DE MAMA TRIPLO-NEGATIVO. UMA REVISÃO DE
ESCOPO.**

**MOLECULAR DIAGNOSIS BY POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE
TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER GENE. A SCOPE REVIEW**

Camilly Maria Guedes Santana

Estudante de Biomedicina, Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: camillyguedes1@gmail.com

Maria Eduarda De Melo Lins

Estudante de Biomedicina, Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: dudaamelolins@gmail.com

Moezio de Vasconcellos Costa Santos Filho

Doutor em Genética, Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: moezio.vasconcellos@cesmac.edu.br

Gustavo Reis Branco de Souza

Mestre em Ciências de Saúde, Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: Gustavo.bsouza@cesmac.edu.br

Resumo

O câncer de mama é uma das apresentações neoplásicas mais comuns entre as mulheres, atingindo principalmente as de classe social mais elevada, porém tendo maior mortalidade nas pacientes de estratos socioeconômicos mais baixos. Dentre as formas de apresentação dessa neoplasia, o triplo-negativo é uma das variações com pior prognóstico e maior recidiva. A atual revisão de escopo buscou evidenciar os fatores que contribuem para o diagnóstico diferencial do câncer de mama triplo-negativo por meio da técnica molecular de reação em cadeia da polimerase (PCR). Para isso, uma busca nas bases de dados Pubmed, Embase, Scopus, Web of Science e

Cochrane Library foi realizada com base na questão norteadora “Qual o papel da Reação em Cadeia da Polimerase para o diagnóstico molecular precoce do câncer de mama triplo-negativo?”. Oito artigos foram incluídos em nossa pesquisa o qual destacava a presença de VEGFA, SRC, PARP1, PTK2, RAF1, FGR3, KRAS, AZGP1, KRT19 e PIGR como principais genes envolvidos no diagnóstico diferencial desse subtipo cancerígeno. A PCR é uma técnica rápida e pouco invasiva que contribui para o acompanhamento e diagnóstico do câncer de mama triplo-negativo. Novas pesquisas devem estabelecer níveis específicos para padronização do exame com foco principalmente nos genes VEGFA, KRAS, AZGP1, KRT19 e PIGR.

Palavras-chave: Reação em Cadeia da Polimerase; Neoplasias de Mama Triplo Negativas; Diagnóstico.

Abstract

Breast cancer is one of the most common neoplastic presentations among women, primarily affecting those from higher social classes but showing higher mortality rates among patients from lower socioeconomic strata. Among its various forms, triple-negative breast cancer (TNBC) is known for having the worst prognosis and highest recurrence rate. This scoping review aimed to highlight factors contributing to the differential diagnosis of TNBC using the molecular technique of polymerase chain reaction (PCR). A search was conducted in databases such as PubMed, Embase, Scopus, Web of Science, and Cochrane Library, guided by the question: "What is the role of PCR in the early molecular diagnosis of TNBC?" Eight studies were included, identifying the presence of genes such as VEGFA, SRC, PARP1, PTK2, RAF1, FGR3, KRAS, AZGP1, KRT19, and PIGR as key to distinguishing this subtype of cancer. PCR is a rapid and minimally invasive technique that contributes to the diagnosis and monitoring of TNBC. Future research should focus on establishing specific thresholds to standardize the test, particularly emphasizing genes like VEGFA, KRAS, AZGP1, KRT19, and PIGR.

Keywords: Polymerase Chain Reaction; Triple Negative Breast Neoplasms; Diagnosis.

1. Introdução

O câncer é uma grande preocupação de saúde pública, tendo características e nível de mortalidade variados a depender de sua origem e tecidos afetados. Entre as mulheres, a neoplasia maligna mais comum é o câncer

de mama, também associado a um alto grau de mortalidade (Akram et al., 2017; Wilkinson & Gathani, 2021). O câncer de mama está associado a fatores socioeconômicos, tendo maior incidência em mulheres de classe social elevada e de países com maior nível socioeconômico, além disso, histórico familiar, predisposição genética, estilo de vida, hábitos reprodutivos e avanço de idade também são fatores de risco para a neoplasia (Klassen & Smith, 2011; Akram et al., 2017). Apesar de mais comum em extratos sociais economicamente mais elevados, as taxas de sobrevivência são menores em áreas menos favorecidas, sobretudo em virtude do diagnóstico tardio e ao acesso insuficiente a tratamentos especializados (Wilkinson & Gathani, 2021).

Apesar de popularmente os diversos tipos de neoplasias que afetam a região de seios serem conhecidos genericamente como câncer de mama, diversos subtipos dessa doença são registrados, variando suas apresentações biológicas e contribuindo para diferentes abordagens terapêuticas e prognóstico (Boyle, 2012). Dentre os diferentes tipos, o triplo-negativo (TNBC) é caracterizado pela ausência de expressão dos receptores hormonais de estrogênio, progesterona e do receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2 (HER2), apresentando-se como um subtipo de maior agressividade e de pior prognóstico (Zaharia & Gómez, 2014; Foulkes et. Al, 2010). O TNBC corresponde a 15-20% dos casos de câncer de mama e também apresenta altas taxas de recorrência, ao contrário do aspecto geral do câncer de mama, o TNBC afeta, principalmente, a população jovem e de fenótipo negro (Gomes et al., 2020). Sua agressividade e potencial metastático, seu difícil diagnóstico, além de falta de alvos terapêuticos específicos faz com que seu tratamento seja desafiador.

Neste cenário, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) emerge como um método promissor para o diagnóstico molecular, proporcionando uma possível resposta para a detecção de marcadores genéticos ligados ao TNBC. A PCR possibilita a amplificação de partes específicas do DNA, facilitando a identificação de mutações genéticas importantes para o diagnóstico e tratamento do TNBC (Vodithala & Bhake, 2024). A PCR, graças à sua sensibilidade e especificidade, tem sido eficiente na detecção de mutações em genes como BRCA1/2, PALB2, e KRAS, que são comuns em situações de TNBC (Afghahi et al., 2016; Vodithala &

Bhake, 2024). Além disso, a técnica tem sido aplicada na validação de painéis de genes ligados ao TNBC, tais como ANP32E, DSC2 e IL6ST, proporcionando um método mais exato para a caracterização (Pariyar et al., 2022).

Dessa forma, o presente estudo busca elucidar, por meio de uma revisão de literatura, evidências para subsidiar a Reação em Cadeia da Polimerase como uma alternativa rápida e efetiva na detecção do câncer de mama triplo-negativo.

1.1 Objetivos Gerais

Descrever o diagnóstico molecular por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o gene do câncer de mama triplo-negativo, visando contribuir para a detecção precoce e o tratamento eficaz dessa forma agressiva de câncer de mama.

2. Revisão da Literatura

MÉTODOS

Trata-se de uma revisão de escopo da literatura que objetivou responder a seguinte pergunta: “Qual o papel da Reação em Cadeia da Polimerase para o diagnóstico molecular precoce do câncer de mama triplo-negativo?”.

Para isso, uma busca foi realizada nos buscadores eletrônicos: Pubmed, Web of Science, Embase, Scopus, Science Direct e Cochrane Library utilizando a seguinte estratégia de busca: “Triple Negative Breast Neoplasms” AND “Diagnosis” AND “Polymerase Chain Reaction”.

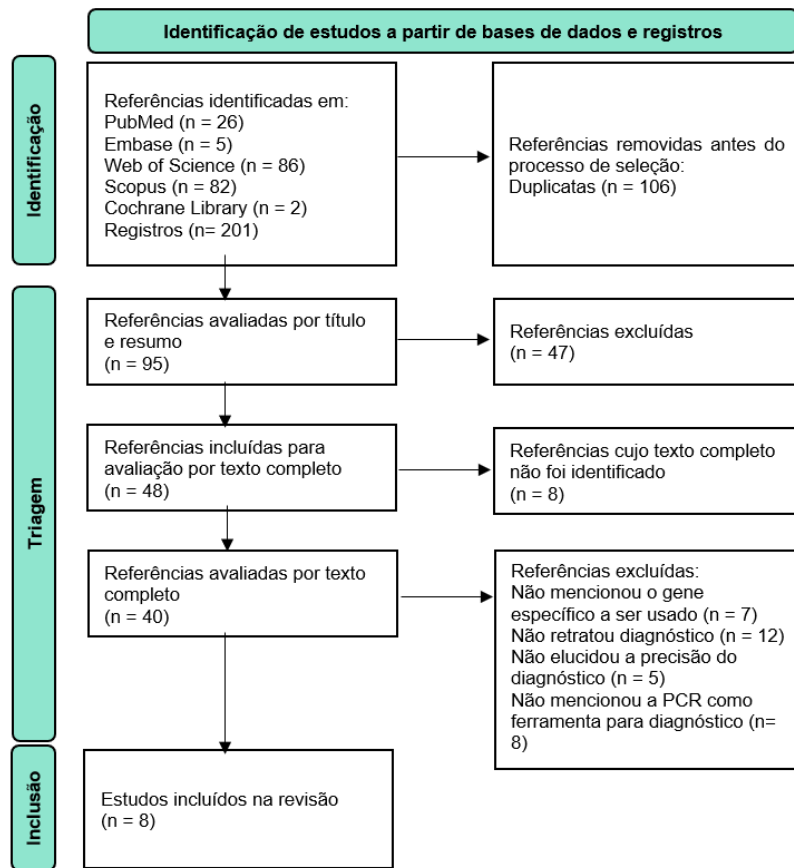
Como critérios de inclusão, o artigo deveria abordar ao menos um gene a ser descrito em PCR para diagnóstico do câncer de mama triplo-negativo e elencar as caracterizações do procedimento. Como critérios de exclusão, artigos que mencionem qualquer outro subtipo de câncer de mama de forma conjunta ao triplo-negativo seriam excluídos.

Foram resgatados artigos nos idiomas inglês, espanhol e português até julho de 2024 quando nossas buscas foram realizadas. Esses critérios foram escolhidos de forma a possibilitar a leitura crítica dos revisores. Os artigos resgatados foram inseridos no gerenciador de referências Mendeley (versão 1.19.8) de forma a viabilizar a remoção de duplicatas. Depois foram selecionados quanto a seus títulos e resumos. Os que se enquadraram em nossos critérios de seleção foram então lidos na íntegra e seu conteúdo foi sumarizado em uma tabela de excel contendo: autores e ano, tipo de estudo, resumo geral do trabalho, principais achados.

RESULTADOS

Após as buscas e seleção dos artigos, oito permaneceram para a extração completa de seus dados. O processo de seleção pode ser visto na figura 1.

Figura 1: Fluxograma de seleção dos artigos resgatados



Os artigos resgatados variaram de 2012 a 2024 e seus principais achados delimitaram-se a elucidar novos genes ou partes de RNA relacionados ao câncer de mama triplo-negativo. A sumarização dos achados pode ser descrita no quadro 1.

Quadro 1: Sumarização qualitativa dos dados

Estudo	Desenho de Estudo	Resumo do trabalho	Principais achados
Glénisson et al (2012)	Estudo observacional retrospectivo	Identifica novos potenciais genes-alvo terapêuticos no câncer de mama triplo-negativo, mas não discute o papel da PCR no diagnóstico ou a precisão diagnóstica deste método.	Seis genes (VEGFA, SRC, PARP1, PTK2, RAF1 e FGFR3) foram significativamente regulados positivamente em 13% a 46% das amostras de câncer de mama triplo negativo (TNBC). Nenhum dos Seis genes regulados positivamente foi especificamente regulado positivamente em TNBCs em comparação a outros subtipos de câncer de mama. Mutações PIK3CA foram detectadas em 9,5% dos TNBCs, e houve uma associação positiva entre a superexpressão de FGFR3 e o status de mutação PIK3CA.

Wang et al (2019)	Estudo observacional do tipo coorte	Uma assinatura de expressão de 90 genes pode identificar com precisão a origem do câncer de mama triplo-negativo, incluindo tumores primários e metastáticos.	A assinatura de expressão de 90 genes teve uma precisão geral de 97,4% na identificação correta da origem das amostras de TNBC, incluindo 97,6% de precisão para tumores primários e metástases de linfonodos, e 96,8% de precisão para metástases distantes. O estudo identificou um conjunto de genes, incluindo AZGP1, KRT19 e PIGR, que foram expressos diferencialmente entre TNBC e outros tipos de tumores, sugerindo seu uso potencial como marcadores discriminatórios para TNBC.
Vodithala Bhake (2024)	Estudo retrospectivo observacional transversal	A PCR pode detectar mutações do KRAS em 65% dos casos de câncer de mama triplo-negativo, sugerindo potencial para tratamento com inibidor de EGFR.	65% dos 40 casos de câncer de mama triplo-negativo (TNBC) tiveram mutações KRAS detectadas por PCR em tempo real. Mutações do KRAS foram detectadas em TNBCs, e os inibidores do EGFR podem ser eficazes no tratamento desses tumores, que superexpressam o EGFR em cerca de 65% dos casos.
Li et al (2019)	Estudo retrospectivo, observacional	Identifica 54 genes potencialmente relacionados ao TNBC e desenvolve um modelo de previsão de câncer de mama de alto risco com 95% de precisão, mas não discute o papel da PCR no diagnóstico do TNBC.	Muitos dos 54 genes identificados estão associados ao câncer de mama triplo-negativo e envolvidos na invasão e metástase do câncer. A resposta celular a compostos orgânicos cíclicos é um processo biológico importante no câncer de mama. Os genes identificados podem estar envolvidos na carcinogênese induzida por vírus no câncer de mama.
Pern et al (2012)	Estudo retrospectivo, observacional	O estudo usou PCR e sequenciamento para identificar mutações da linha germinativa nos genes BRCA1, BRCA2, PALB2 e BRD7 em 17,5% dos pacientes alemães com câncer de mama triplo-negativo.	Mutações truncadas em BRCA1 foram encontradas em 15% dos pacientes com TNBC, enquanto mutações truncadas em BRCA2 e PALB2 foram encontradas em 2,5% cada. Nenhuma mutação truncada foi encontrada em BRD7. Um paciente era duplo heterozigoto para uma mutação PALB2 e uma mutação BRCA1. O estudo confirma que uma proporção substancial (17,5%) de pacientes alemães com TNBC apresentam mutações na linha germinativa em genes envolvidos no reparo de DNA direcionado por homologia, sendo as mutações BRCA1 as mais comuns.
Shimelis et al (2018)	Estudo retrospectivo, observacional	O teste de painel de câncer hereditário multigênico pode identificar mulheres com risco elevado de câncer de mama triplo-negativo devido a mutações em BARD1, BRCA1, BRCA2, PALB2 e RAD51D.	Variante patogênica da linha germinativa em BARD1, BRCA1, BRCA2, PALB2 e RAD51D foram associadas a alto risco (razão de chances > 5,0) de câncer de mama triplo-negativo (TNBC) e risco vitalício maior que 20% para câncer de mama geral entre caucasianos. Variantes patogênicas em BRIP1, RAD51C e TP53 foram associadas a risco moderado (razão de chances > 2) de TNBC. Variantes patogênicas nesses genes TNBC foram detectadas em 12,0% (3,7% não-BRCA1/2) de todos os pacientes com TNBC.
Turner et al (2022)	Ensaio Clínico	Deteção pós-tratamento de DNA tumoral circulante prevê alto risco de recidiva e é uma ferramenta importante para controle posterior da doença	A taxa de detecção de ctDNA por PCR foi de 27,3%. Sete pacientes tiveram recidiva sem detecção ctDNA associado a alta taxa de doença metastática. Regimes e testes devem ser mais frequentes na população com histórico de câncer de mama triplo-negativo.
Abdel-Sater et al (2020)	Estudo retrospectivo, observacional	O perfil de expressão de miR em tumores TNBC forneceu um elo entre o nível de	miR-96 e miR-10b como discriminadores significativos entre TNBC com BRCA1 mutado e TNBC com BRCA1 de tipo

expressão de miR e o status de BRCA1. Essa observação garante validação em grandes estudos prospectivos e exige estudos mecanísticos aprofundados sobre as contribuições moleculares de miR 96, miR-10b e BRCA1 no tipo selvagem e no estágio mutado.

selvagem.

Para a análise de PCR, RNU44 foi usado como um controle de normalização para garantir a precisão dos resultados. A validação dos miRNAs diferencialmente expressos por meio de PCR em tempo real confirmou as descobertas iniciais dos TLDA, reforçando a confiabilidade dos dados. Os resultados da análise de PCR não apenas fornecem insights sobre os perfis de expressão de miRNA no TNBC, mas também abrem caminho para pesquisas futuras sobre os mecanismos subjacentes do desenvolvimento do TNBC e potenciais alvos terapêuticos

DISCUSSÃO

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem ganho destaque na investigação molecular de diversas patologias com fatores de risco genéticos, tal qual o câncer de mama triplo-negativo (TNBC), uma das formas de pior prognóstico e grande índice de recidiva de neoplasias mamárias. Nesse contexto, a PCR surge como uma ferramenta poderosa para a amplificação de material genético, permitindo a identificação de mutações específicas e perfis de expressão gênica associados ao TNBC, com impacto direto no diagnóstico precoce e na escolha de intervenções terapêuticas mais eficazes.

A PCR pode ser utilizada para discriminar o TNBC de outros subtipos de câncer de mama com elevada precisão. Wang et al. (2019) demonstraram que uma assinatura de expressão composta por 90 genes foi capaz de identificar corretamente amostras do subtipo triplo-negativo com uma precisão geral de 97,4%. Essa tecnologia permite a distinção entre tumores primários, metástases de linfonodos e metástases distantes, com precisão superior a 96%. Ressaltando, portanto, a importância da PCR e seu notório grau de sensibilidade, não apenas

para o diagnóstico inicial, mas também para o monitoramento da progressão tumoral e a estratificação de pacientes.

Além de sua capacidade de discriminação molecular, a reação em cadeia da polimerase mostrou-se eficiente para detectar mutações somáticas e germinativas em genes específicos no TNBC, como KRAS, PIK3CA e BRCA1/2. Vodithala e Bhake (2024) evidenciaram mutações em KRAS em 65% dos casos do subtipo de câncer de mama estudado, viabilizando o uso de inibidores de EGFR como possibilidade terapêutica. Detectar esses fatores de maneira rápida auxilia a escolha específica de terapia de acordo com o perfil e necessidades do paciente, otimizando seu tratamento. Outrossim, Glénisson et al. (2012) identificaram a regulação positiva dos genes VEGFA, SRC, PARP1, PTK2, RAF1 e FGFR3 em 13% a 46% das amostras de câncer de mama triplo negativo. Embora tais genes não sejam específicos para esse subtipo, a sua expressão em maiores concentrações, possível de ser detectada por utilizando a técnica molecular, pode ofertar evidências sobre os mecanismos relativos à agressividade e à resistência ao tratamento.

O impacto da detecção de mutações nos genes de reparo de DNA, como BRCA1 e BRCA2, também é um uso reconhecido da técnica de PCR para especificação de subtipos cancerígenos. Pern et al. (2012) relataram a presença de mutações truncadas em BRCA1 de 15% das pacientes com TNBC, elucidando a escolha de inibidores de PARP como estratégia terapêutica. Além disso, Shimelis et al. (2018), identificou variantes patogênicas em outros genes, como PALB2, RAD51D e TP53, demonstrando o uso da técnica de reação em cadeia para triagem diagnóstica e escolha da conduta terapêutica.

Outro aspecto relevante do uso da PCR no TNBC está relacionado à detecção de DNA tumoral circulante (ctDNA). Turner et al. (2022) relataram uma taxa de detecção de 27,3% de ctDNA em pacientes com TNBC, monitorando a doença em tempo real e prevenindo recidivas. Os autores destacam que a tecnologia molecular possibilita uma abordagem não invasiva para o acompanhamento do tratamento, fornecendo informações sobre a resposta frente ao tratamento e a progressão do tumor. Esse monitoramento especialmente impactante para subtipos cancerígenos de alta taxa de recidiva e agressividade, tal qual o triplo negativo.

Além disso, Abdel-Sater et al. (2020) elucidaram o papel de microRNAs como biomarcadores no TNBC, destacando miR-96 e miR-10b como discriminadores entre pacientes com mutações em BRCA1 e aquelas com BRCA1 do tipo selvagem. A PCR, nesse contexto, foi utilizada para validar a expressão diferencial desses microRNAs, reforçando sua utilidade não apenas no diagnóstico, mas também na identificação de potenciais alvos terapêuticos e na compreensão dos mecanismos moleculares que regem o desenvolvimento e a progressão do TNBC.

3. Considerações Finais

Deste modo, é possível concluir que a PCR é uma ferramenta primordial no diagnóstico molecular do câncer de mama triplo-negativo. A amplificação e a detecção das mutações e dos perfis de expressão gênica proporcionaram um maior nível de precisão quanto ao diagnóstico, a estratificação do paciente e o acompanhamento do desdobramento da doença. Adicionalmente, o seu uso relacionado ao TNBC não apenas exerce a função de identificação de biomarcadores moleculares, mas possibilita um tratamento personalizado,

contribuindo para a melhora das taxas de sobrevida e prognóstico. Em virtude do caráter altamente agressivo do câncer de mama triplo negativo, a incorporação da tecnologia de identificação molecular no fluxo de diagnóstico e tratamento torna-se uma ferramenta de grande valor para a oncologia de precisão.

Referências

Abdel-Sater F, Najjar M, Fayyad-Kazan H. Triple negative breast cancer: microRNA expression profile and novel discriminators according to BRCA1 status. *J Cell Physiol.* 2020 Jun;235(6):5204-5212. doi: 10.1002/jcp.29398. Epub 2019 Nov 17. PMID: 31736084.

Afghahi A, Telli ML, Kurian AW. Genetics of triple-negative breast cancer: Implications for patient care. *Curr Probl Cancer.* 2016 Mar-Aug;40(2-4):130-140. doi: 10.1016/j.currproblcancer.2016.09.007. Epub 2016 Sep 23. PMID: 28340968.

Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biol Res.* 2017 Oct 2;50(1):33. doi: 10.1186/s40659-017-0140-9. PMID: 28969709; PMCID: PMC5625777.

Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2010 Nov 11;363(20):1938-48. doi: 10.1056/NEJMra1001389. PMID: 21067385.

Glénisson M, Vacher S, Callens C, Susini A, Cizeron-Clairac G, Le Scodan R, Meseure D, Lerebours F, Spyrtos F, Lidereau R, Bièche I. Identification of new candidate therapeutic target genes in triple-negative breast cancer. *Genes Cancer.* 2012 Jan;3(1):63-70. doi: 10.1177/1947601912449832. PMID: 22893791; PMCID: PMC3415670.

Gomes AL de FM, Whyte MP de M, Paz WA, Rangel KK, Salles PG de O. CLINICAL-EPIDEMIOLOGICAL PROFILE OF PATIENTS WITH TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER AT INSTITUTO MÁRIO PENNA, BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS. *MAST [Internet].* 2020 Apr. 4 [cited 2024 Sep. 20];30:54. Available from:

<https://revistamastology.emnuvens.com.br/revista/article/view/416>

Klassen AC, Smith KC. The enduring and evolving relationship between social class and breast cancer burden: a review of the literature. *Cancer Epidemiol.* 2011 Jun;35(3):217-34. doi: 10.1016/j.canep.2011.02.009. Epub 2011 Apr 5. PMID: 21470929.

Li M, Guo Y, Feng YM, Zhang N. Identification of Triple-Negative Breast Cancer Genes and a Novel High-Risk Breast Cancer Prediction Model Development Based on PPI Data and Support Vector Machines. *Front Genet.* 2019 Mar 15;10:180. doi: 10.3389/fgene.2019.00180. PMID: 30930932; PMCID: PMC6428707.

Pariyar M, Thorne RF, Scott RJ, Avery-Kiejda KA. Verification and Validation of a Four-Gene Panel as a Prognostic Indicator in Triple Negative Breast Cancer. *Front Oncol.* 2022 Mar 21;12:821334. doi: 10.3389/fonc.2022.821334. PMID: 35387118; PMCID: PMC8977600.

Pern F, Bogdanova N, Schürmann P, Lin M, Ay A, Länger F, Hillemanns P, Christiansen H, Park-Simon TW, Dörk T. Mutation analysis of BRCA1, BRCA2, PALB2 and BRD7 in a hospital-based series of German patients with triple-negative breast cancer. *PLoS One.* 2012;7(10):e47993. doi: 10.1371/journal.pone.0047993. Epub 2012 Oct 24. PMID: 23110154; PMCID: PMC3480465.

Shimelis H, LaDuca H, Hu C, Hart SN, Na J, Thomas A, Akinhanmi M, Moore RM, Brauch H, Cox A, Eccles DM, Ewart-Toland A, Fasching PA, Fostira F, Garber J, Godwin AK, Konstantopoulou I, Nevanlinna H, Sharma P, Yannoukakos D, Yao S, Feng BJ, Tippin Davis B, Lilyquist J, Pesaran T, Goldgar DE, Polley EC, Dolinsky JS, Couch FJ. Triple-Negative Breast Cancer Risk Genes Identified by Multigene Hereditary Cancer Panel Testing. *J Natl Cancer Inst.* 2018 Aug 1;110(8):855-862. doi: 10.1093/jnci/djy106. PMID: 30099541; PMCID: PMC6093350.

Turner NC, Swift C, Jenkins B, Kilburn L, Coakley M, Beaney M, Fox L, Goddard K,

Garcia-Murillas I, Proszek P, Hall P, Harper-Wynne C, Hickish T, Kernaghan S, Macpherson IR, Okines AFC, Palmieri C, Perry S, Randle K, Snowdon C, Stobart H, Wardley AM, Wheatley D, Waters S, Winter MC, Hubank M, Allen SD, Bliss JM; c-TRAK TN investigators. Results of the c-TRAK TN trial: a clinical trial utilising ctDNA mutation tracking to detect molecular residual disease and trigger intervention in patients with moderate- and high-risk early-stage triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2023 Feb;34(2):200-211. doi: 10.1016/j.annonc.2022.11.005. Epub 2022 Nov 22. PMID: 36423745.

Vodithala, Sahitya; Bhake, Arvind. Detection of KRAS Mutations in Triple-negative Breast Cancers by Polymerase Chain Reaction. *Journal of Datta Meghe Institute of Medical Sciences University* 19(1):p 71-76, Jan–Mar 2024. | DOI: 10.4103/jdmimsu.jdmimsu_703_23

Wang Q, Xu M, Sun Y, Chen J, Chen C, Qian C, Chen Y, Cao L, Xu Q, Du X, Yang W. Gene Expression Profiling for Diagnosis of Triple-Negative Breast Cancer: A Multicenter, Retrospective Cohort Study. *Front Oncol.* 2019 May 7;9:354. doi: 10.3389/fonc.2019.00354. PMID: 31134153; PMCID: PMC6513966.

Wilkinson L, Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern. *Br J Radiol.* 2022 Feb 1;95(1130):20211033. doi: 10.1259/bjr.20211033. Epub 2021 Dec 14. PMID: 34905391; PMCID: PMC8822551.

Wilkinson L, Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern. *Br J Radiol.* 2022 Feb 1;95(1130):20211033. doi: 10.1259/bjr.20211033. Epub 2021 Dec 14. PMID: 34905391; PMCID: PMC8822551.

Zaharia M, Gómez H. Triple negative breast cancer: a difficult disease to diagnose and treat. *Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet].* 2014 Mar. 11 [cited 2024 Sep. 19];30(4). Available from: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/247>