

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOINFORMÁTICA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ELABORAÇÃO DE VIA DE DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA
MAMÁRIA E ESTIMATIVA DA ORIGEM DOS SEUS GENES E DO
SISTEMA**

LISSUR AZEVEDO ORSINE

BELO HORIZONTE
2016

LISSUR AZEVEDO ORSINE

**ELABORAÇÃO DE VIA DE DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA
MAMÁRIA E ESTIMATIVA DA ORIGEM DOS SEUS GENES E DO
SISTEMA**

Dissertação de mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Bioinformática da
Universidade Federal de Minas
Gerais como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em
Bioinformática

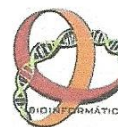
Orientador: Prof. Dr. José Miguel Ortega
Coorientadora: Dra. Elisa Rennó Donnard Moreira

BELO HORIZONTE

2016



Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática da UFMG
Avenida Presidente Antônio Carlos, 6627 – Pampulha
31270-901 - Belo Horizonte – MG
Endereço eletrônico: bioinfo@icb.ufmg.br 55 31 3409-2554

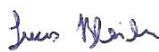


**"Elaboração de via de desenvolvimento da glândula mamária e estimativa da
origem dos seus genes e do sistema"**

Lissur Azevedo Orsine

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. José Miguel Ortega - Orientador
UFMG


Prof. Lucas Bleicher
UFMG


Profa Marina de Brot Andrade
UFMG

Belo Horizonte, 07 de abril de 2016.

RESUMO

Via é o conjunto de interações biológicas hierarquizadas em um sistema biológico. Isso significa que as vias são compostas por nós, que representam as entidades biológicas, e arestas, que representam as interações entre as entidades biológicas, sendo que as interações obedecem a uma hierarquia. Representações gráficas de vias são de grande utilidade porque apresentam a informação biológica em um formato conciso, intuitivo e didático. Apesar disso, não existia uma via de desenvolvimento da glândula mamária em nenhuma das principais bases de vias, como KEGG Pathway, Reactome ou WikiPathways. Outra demanda em relação ao estudo da glândula mamária se refere à necessidade de elucidar sua origem e evolução. Dessa maneira, o objetivo desse trabalho era elaborar uma via de desenvolvimento da glândula mamária e estimar a origem dos seus genes e do sistema. Para isso, o primeiro passo consistiu em realizar um levantamento dos genes (e das interações entre eles) envolvidos no desenvolvimento da glândula mamária através de ferramentas de mineração de texto, e elaborar um diagrama de via e uma descrição para cada fase de desenvolvimento da glândula mamária (desenvolvimento embrionário, puberdade, gravidez & lactação e involução). Em seguida, a origem de cada gene foi estimada através de ferramentas para o agrupamento de homólogos e para a inferência do ancestral comum mais recente, e a origem do sistema foi estimada com base na origem dos seus genes. Neste trabalho foram produzidas quatro vias, uma para cada etapa de desenvolvimento da mama, as quais são acompanhadas por suas respectivas descrições. Ao todo 310 genes e 795 biointerações foram encontrados. Com relação à origem dos genes foram encontrados genes com origem predita desde organismos celulares até boreoeutheria, sendo que de 80 a 97% dos genes já existiam nos peixes (entre Gnathostomata, Teleostomi e Euteleostomi). A comparação entre as subvias mostrou que as subvias do desenvolvimento embrionário e da puberdade possuem genes com origem predita até Tetrapoda-Aminiota, enquanto as subvias da gravidez & lactação e da involução possuem genes com origem predita até Mammalia-Eutheria-Boreoeutheria. Este trabalho contribui para a compreensão da biologia e evolução da glândula mamária, bem como fornece material base para outros estudos.

ABSTRACT

Pathway is a set of hierarchical biological interactions on a biological system. That means that pathways are constituted by nodes, which represent the biological entities, and edges, which represent the hierarchical interactions between those biological entities. Graphical representations of a pathway are of great usefulness because they display the biological information in a concise, intuitive and didactic way. Despite that, there was no pathway describing the development of the mammary gland on any of the main pathway databases, like KEGG Pathway, Reactome or WikiPathways. Another demand regarding the study of the mammary gland refers to the need of elucidating its origin and evolution. Thus, the objective of this work was to create a pathway of the development of the mammary gland and to estimate the origin of its genes and of the system as a whole. For that, the first step consisted in discovering the genes (and the interactions they establish between each other) involved in the development of the mammary gland through text-mining tools, followed by the creation of a graphical pathway and a description for each phase of the gland's development (embryonic development, puberty, pregnancy & lactation and involution). Following, the origin of each gene was estimated by determining the lowest common ancestor of the organisms containing copies of each gene, discovered with homologue-clustering tools; the origin of the system was inferred based on the origin of the genes. In this work, four pathways were created, one for each stage of the mammary gland development, which are accompanied by their respective descriptions. Among all of them, 310 genes and 795 biointeractions were found. Gene origin estimation inferred genes originating all the way from the cellular organisms through Boreoeutheria, with 80 to 97% already existing among the fishes (between the clades of Gnathostomata, Teleostomi and Euteleostomi). Comparison between the subpathways revealed that embryonic development and puberty have genes with predicted origin up to Tetrapoda-Amniota, whereas the subpathways of pregnancy & lactation and involution have genes with predicted origin up to Mammalia-Eutheria-Boreoeutheria. This work contributes for the comprehension of the biology and evolution of the mammary gland, as well as provides source material for other studies.

LISTA DE ABREVIATURAS

ARCoBALeno - *Application for Rapidly COloring Biological pathways by Ancestrality or gene ontoLogy-Enriched iNformatiOn*

BBH - *Bidirectional Best Hit* - Melhor alinhamento recíproco

BOWS - *Bioinformatics Open Web Services*

ECM - *ExtraCellular Matrix* - Matriz extracelular

EMT - *Epithelial–Mesenchymal Transition* - Transição epitélio-mesenquimal

KEGG - *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*

KO - *KEGG Orthology*

LBP - *Last Biological Process*

LCA - *Lowest Common Ancestor* - Ancestral comum mais recente

LMF - *Last Molecular Function*

NCBI-Taxonomy - *National Center for Biotechnology Information-Taxonomy*

NLM-NCBI - *National Library of Medicine-National Center for Biotechnology Information*

PESCADOR - *Platform for Exploration of Significant Concepts AssociateD to co-Occurrence Relationships*

PID - *Process IDentifier* - Número de processo

PMID - *PubMed Identifier*

PSI-BLAST - *Position-Specific Iterated BLAST*

TEB - *Terminal End Bud*

txid - *NCBI-Taxonomy IDentifier* - Identificador taxonômico

UEKO - *UniRef50 Enriched KEGG Orthology*

UE-Seed - *UniRef50 Enriched-Seed*

UniProt - *Universal Protein Resource*

UniProtKB - *UniProt Knowledgebase*

UniRef - *UniProt Reference Clusters*

SUMÁRIO

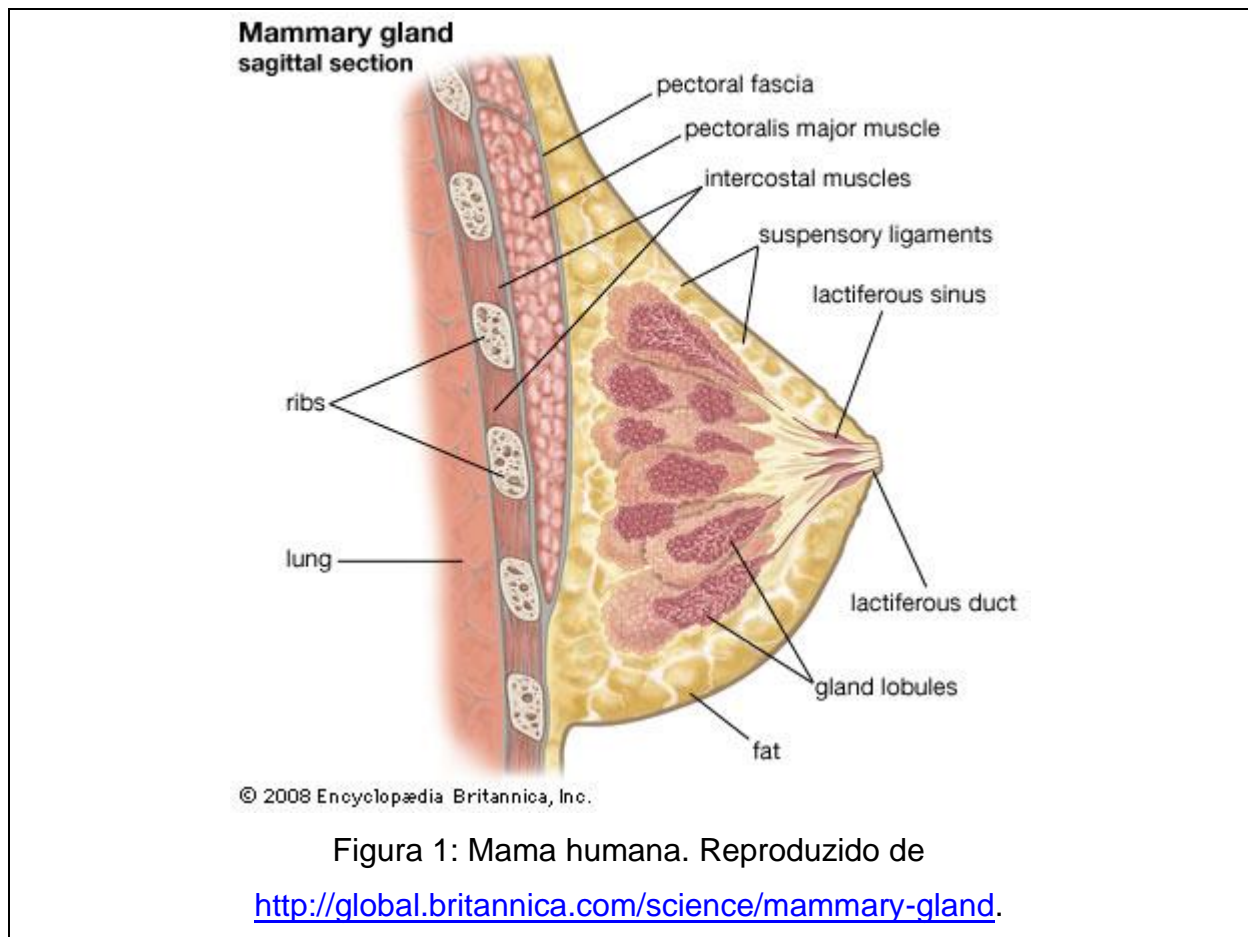
1. INTRODUÇÃO	8
1.1. ANATOMIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA	8
1.2. BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA	9
1.2.1. <i>DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO</i>	9
1.2.2. <i>PUBERDADE</i>	10
1.2.3. <i>GRAVIDEZ E LACTAÇÃO</i>	12
1.2.4. <i>INVOLUÇÃO</i>	13
1.3. LINHAGEM EVOLUTIVA HUMANA	14
1.4. ORIGEM EVOLUTIVA DA GLÂNDULA MAMÁRIA	17
1.5. BIOINFORMÁTICA	19
1.5.1. <i>MEDLINE RANKER</i>	19
1.5.2. <i>PESCADOR</i>	20
1.5.3. <i>PATHVISIO</i>	21
1.5.4. <i>SEEDSERVER</i>	22
1.5.4.1. Bancos de dados usados pelo SeedServer	24
1.5.4.2. Programas usados pelo SeedServer	25
1.5.5. <i>ALGORITMO LCA</i>	26
1.5.6. <i>ARCOBALENO</i>	26
2. OBJETIVOS	28
2.1. OBJETIVO GERAL	28
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1. TRAINING SET, TEST SET E MEDLINE RANKER	29
3.2. PESCADOR E TABELA DE BIOINTERAÇÕES	30
3.3. ELABORAÇÃO DO DIAGRAMA DA VIA USANDO PATHVISIO	31
3.4. ESTIMATIVA DA ORIGEM DOS GENES USANDO SEEDSERVER E ALGORITMO LCA	31
3.5. COLORINDO A VIA DE ACORDO COM A ORIGEM DOS SEUS GENES USANDO ARCOBALENO	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. DESCRIÇÃO DA VIA DE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO	36
4.1.1. <i>LINHAS MAMÁRIAS</i>	38
4.1.2. <i>PLACÓDIOS</i>	38
4.1.2.1. <i>Indução e manutenção</i>	38
4.1.2.2. <i>Ordem de indução</i>	39
4.1.3. <i>TRANSIÇÃO EPITÉLIO-MESENQUIMAL</i>	39
4.1.4. <i>INTERAÇÃO ENTRE EPITÉLIO E MESÊNQUIMA</i>	41
4.1.5. <i>DIFERENCIAÇÃO</i>	42
4.1.5.1. <i>Via Hedgehog</i>	42
4.1.6. <i>POSICIONAMENTO DORSOVENTRAL</i>	42
4.1.7. <i>SISTEMA NERVOSO NA GLÂNDULA MAMÁRIA</i>	43
4.2. ORIGEM DA VIA DE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO	44
4.3. DESCRIÇÃO DA VIA DE PUBERDADE	46
4.3.1. <i>TEBs</i>	48
4.3.2. <i>FORMAÇÃO DO LÚMEN</i>	50
4.3.3. <i>CÉLULAS EPITELIAIS LUMINAIS E CÉLULAS MIOEPITELIAIS</i>	51
4.3.4. <i>BICAMADA</i>	51
4.3.5. <i>PARTICIPAÇÃO DO ESTROMA</i>	52
4.3.6. <i>PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO</i>	53
4.3.7. <i>REGULAÇÃO NEGATIVA</i>	54
4.4. ORIGEM DA VIA DE PUBERDADE	54
4.5. DESCRIÇÃO DA VIA DE GRAVIDEZ E LACTAÇÃO	56
4.5.1. <i>PROLIFERAÇÃO EPITELIAL</i>	58

4.5.2.	<i>FENÓTIPO EPITELIAL</i>	59
4.5.3.	<i>AUTOFAGIA</i>	59
4.5.4.	<i>VASCULARIZAÇÃO</i>	60
4.5.5.	<i>STAT5</i>	60
4.5.5.1.	Via de sinalização da prolactina.....	60
4.5.5.2.	Via de sinalização da família EGF e NRGs	61
4.5.5.3.	Via de sinalização da leptina	61
4.5.5.4.	STAT5 e ELF5	62
4.5.5.5.	Alvos de STAT5.....	62
4.5.6.	<i>REGULAÇÃO DE STAT5</i>	63
4.5.6.1.	Regulação da via de sinalização da prolactina	63
4.5.6.2.	Regulação de JAK2.....	64
4.5.6.3.	Regulação de STAT5.....	65
4.5.7.	<i>VIA DE PI3K/AKT</i>	65
4.5.8.	<i>COMPONENTES DO LEITE</i>	66
4.5.8.1.	Proteínas do leite.....	66
4.5.8.2.	Lactose.....	67
4.5.8.3.	Cálcio	67
4.5.8.4.	Ferro	67
4.5.8.5.	Imunoglobulinas.....	68
4.5.8.6.	Vitaminas	68
4.5.8.7.	Lipídeos	68
4.5.9.	<i>REGULAÇÃO NEGATIVA</i>	70
4.6.	ORIGEM DA VIA DE GRAVIDEZ E LACTAÇÃO	71
4.7.	DESCRIÇÃO DA VIA DE INVOLUÇÃO	73
4.7.1.	<i>DESLIGAMENTO DO APARATO NECESSÁRIO À LACTAÇÃO</i>	75
4.7.2.	<i>PRIMEIRA FASE: MORTE CELULAR</i>	75
4.7.2.1.	Morte celular mediada por lisossomo.....	75
4.7.2.2.	Apoptose mediada por mitocôndria	76
4.7.3.	<i>SEGUNDA FASE: REMODELAÇÃO TECIDUAL</i>	77
4.7.4.	<i>PREPARAÇÃO PARA A PRÓXIMA GRAVIDEZ</i>	78
4.7.5.	<i>PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO</i>	79
4.7.5.1.	Fagocitose	79
4.7.5.2.	Processo inflamatório	79
4.7.5.3.	Defesa contra infecção	79
4.7.6.	<i>REGULAÇÃO NEGATIVA</i>	80
4.8.	ORIGEM DA VIA DE INVOLUÇÃO	80
4.9.	COMPARANDO AS VIAS	82
5.	CONTRIBUIÇÕES	86
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
	ANEXOS	110

1. INTRODUÇÃO

1.1. ANATOMIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA

A mama é composta por tecido epitelial (parênquima) inserido em um estroma composto por tecido adiposo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos, outros tipos de tecido conjuntivo e nervos. Na espécie humana (Figura 1), a parte epitelial da mama é composta por 15-20 lobos, os quais são compostos por unidades ainda menores chamadas lóbulos. Cada lobo desemboca em um ducto lactífero, o qual desemboca, por sua vez, no mamilo.



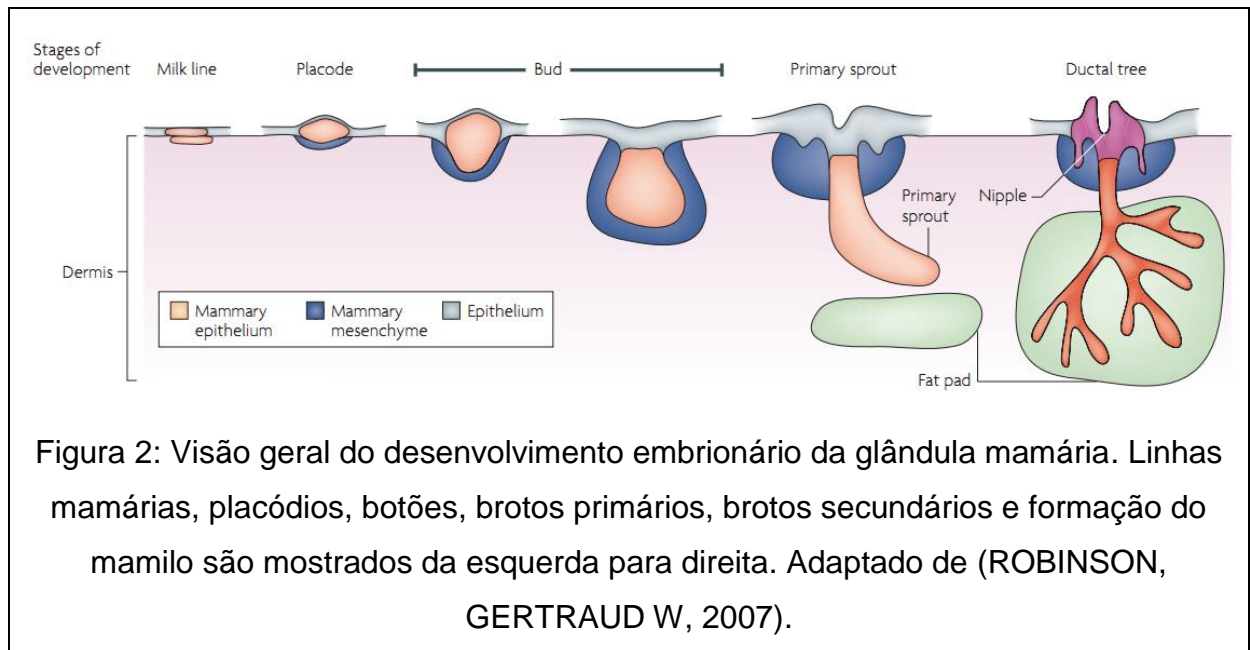
1.2. BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO DA GLÂNDULA MAMÁRIA

1.2.1. DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

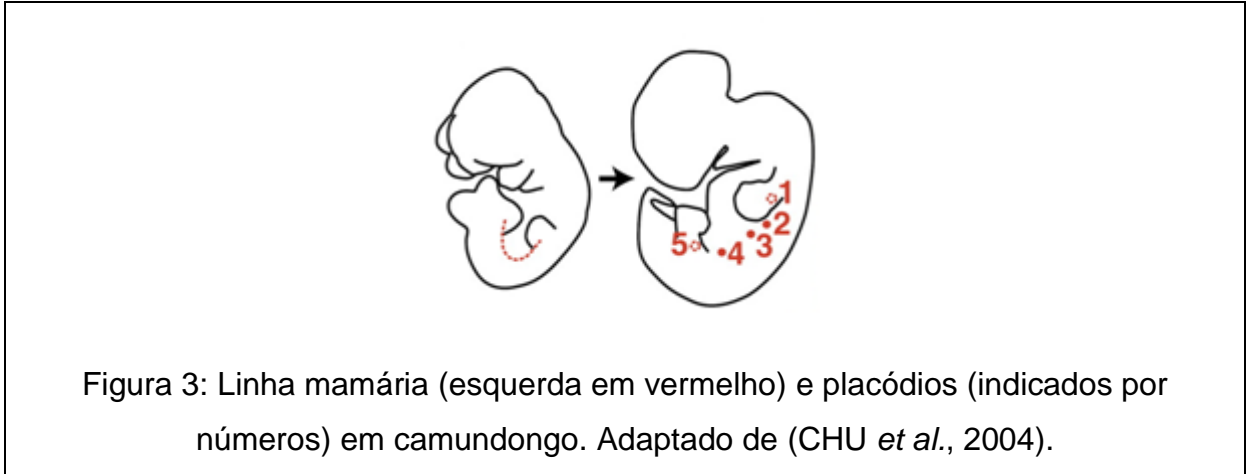
O desenvolvimento embrionário da glândula mamária se estende da quarta semana de gestação no homem (PARMAR; CUNHA, 2004) e do dia 10 de gestação (E10) no camundongo (ROBINSON, GERTRAUD W, 2007) até o nascimento.

A parte epitelial da mama é de origem ectodérmica, enquanto os demais componentes da mama (tecido adiposo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e outros tipos de tecido conjuntivo) são de origem mesodérmica (JAVED; LTEIF, 2013).

De um modo geral, o desenvolvimento embrionário da porção glandular da mama progride através dos seguintes estágios: linhas mamárias, placódios, botões, brotos primários, brotos secundários e formação do mamilo. Concomitantemente ao desenvolvimento do parênquima, há o desenvolvimento do estroma (Figura 2).



As linhas mamárias são regiões de espessamento do ectoderma localizadas na superfície ventral do embrião, estendendo-se entre a região de formação dos membros anteriores e a região de formação dos membros posteriores (Figura 3).



Posteriormente, as células ectodérmicas se concentram em áreas restritas, dando origem aos placódios (LEE *et al.*, 2011). No homem, há a formação de somente um par de placódios (na região torácica), enquanto no camundongo, há a formação de cinco pares de placódios (um par na região torácica, três pares na região abdominal e um par na região inguinal) (Figura 3).

Em seguida, as células ectodérmicas penetram o mesênquima adjacente, culminando na formação dos botões. Para a invasão do mesênquima pelo epitélio, há o requerimento de um processo conhecido como transição epitélio-mesenquimal (EMT, *Epithelial–Mesenchymal Transition*). Esse processo possibilita que uma célula epitelial adquira um fenótipo de célula mesenquimal, o que implica na aquisição da capacidade migratória necessária à invasão (KALLURI; WEINBERG, 2009). A ramificação dos botões dá origem aos brotos primários (os quais darão origem aos ductos que desembocam diretamente no mamilo). Já a ramificação dos brotos primários dá origem aos brotos secundários. Simultaneamente, há o desenvolvimento do mamilo (Figura 2).

O resultado é uma estrutura em árvore, chamada árvore primária, que permanece praticamente inalterada do nascimento até a puberdade, quando se desenvolverá a árvore secundária.

1.2.2. PUBERDADE

A puberdade se inicia por volta de 10 anos para as mulheres e 12 anos para os homens, embora exista considerável variação entre indivíduos e entre populações (DUNKEL; QUINTON, 2014). Já no camundongo, a puberdade se inicia

por volta da 4ª semana de vida, atingindo-se a maturidade sexual por volta da 8ª semana de vida (CAMDEN *et al.*, 1967).

Uma estrutura importante para o desenvolvimento da glândula mamária durante a puberdade é o *Terminal End Bud* (TEB) (Figura 4).

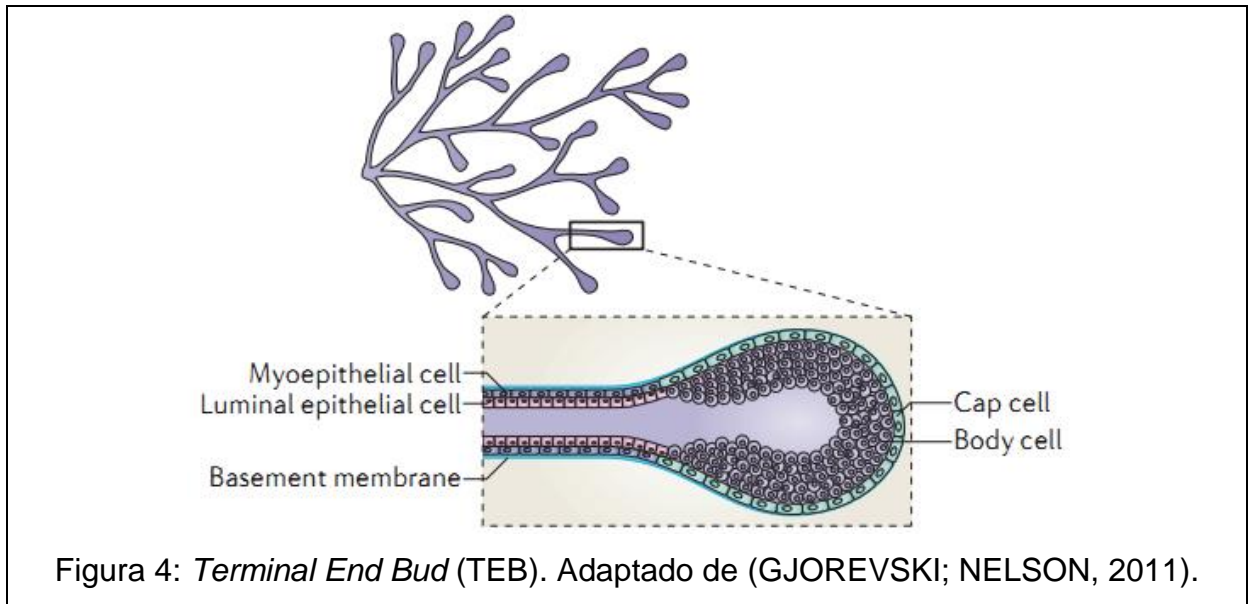


Figura 4: *Terminal End Bud* (TEB). Adaptado de (GJOREVSKI; NELSON, 2011).

Os TEBs são constituídos por “cabeça” e “pescoço” e estão localizados na porção terminal dos ductos. A “cabeça” dos TEBs é composta por uma camada externa de células, as *cap cells*, precursoras das células epiteliais luminais, e uma camada interna de células, as *body cells*, precursoras das células mioepiteliais. Já no “pescoço” dos TEBs são encontradas as células diferenciadas.

A ramificação primária dos TEBs (ou bifurcação; isso é, a ramificação na “cabeça” dos TEBs) leva à formação dos ductos primários, enquanto a ramificação secundária (ou ramificação lateral; isso é, a ramificação no “pescoço” dos TEBs) leva à formação dos ductos secundários.

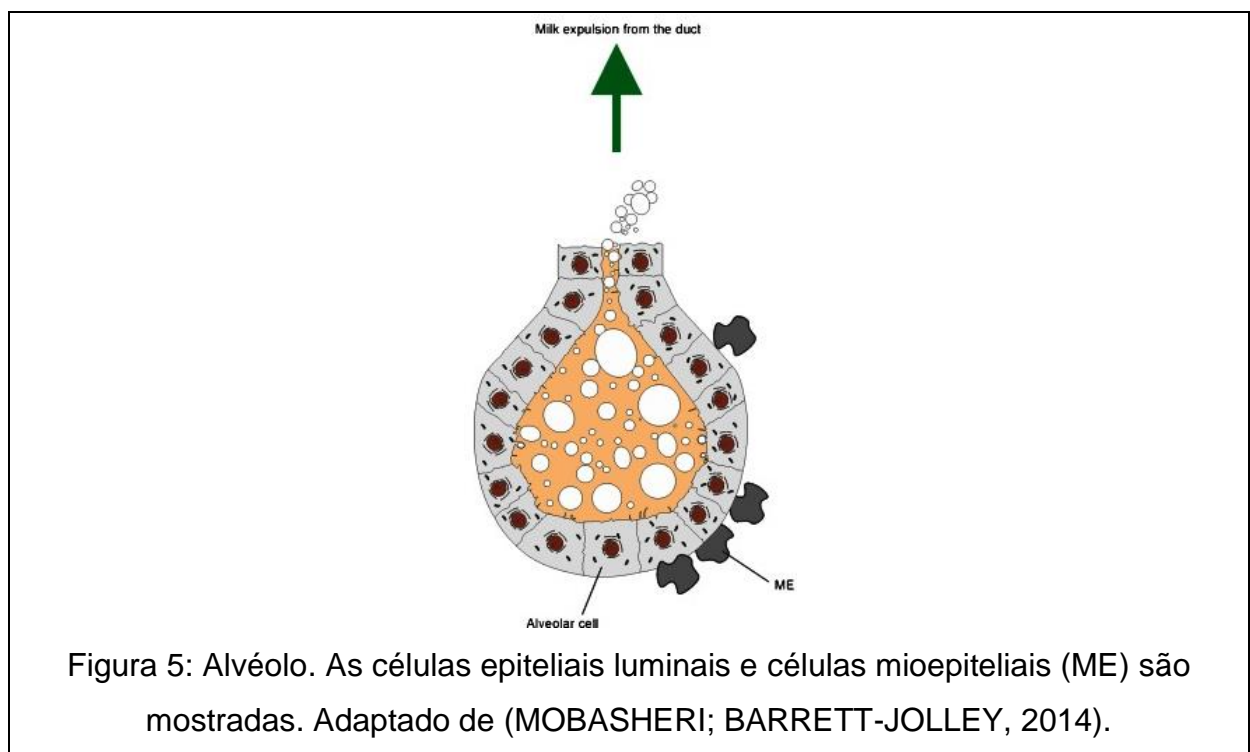
Através de sucessivas ramificações primárias e secundárias dos TEBs, o tecido epitelial preenche completamente o estroma, resultando em uma árvore completa, chamada árvore secundária.

A participação do estroma é essencial para o desenvolvimento da mama durante a puberdade. No estroma estão presentes diversos tipos celulares – adipócitos, fibroblastos, mastócitos, células do sistema imunológico (macrófagos e eosinófilos) – que tanto recebem sinais do epitélio quanto enviam sinais a ele. Outro componente importante do estroma é a matriz extracelular (ECM, *ExtraCellular*

Matrix). Dentre os vários integrantes da matriz extracelular estão: colágeno, laminina, fibronectina, proteoglicanos e metaloproteinases de matriz. As integrinas são receptores que comumente interagem com a matriz extracelular. Dentre as várias funções associadas à matriz extracelular estão: orientação espacial da glândula mamária, possibilitar o avanço do epitélio no estroma (degradação da matriz extracelular e tração celular) e sinalização (KIM, HYE YOUNG; NELSON, [S.d.]).

1.2.3. GRAVIDEZ E LACTAÇÃO

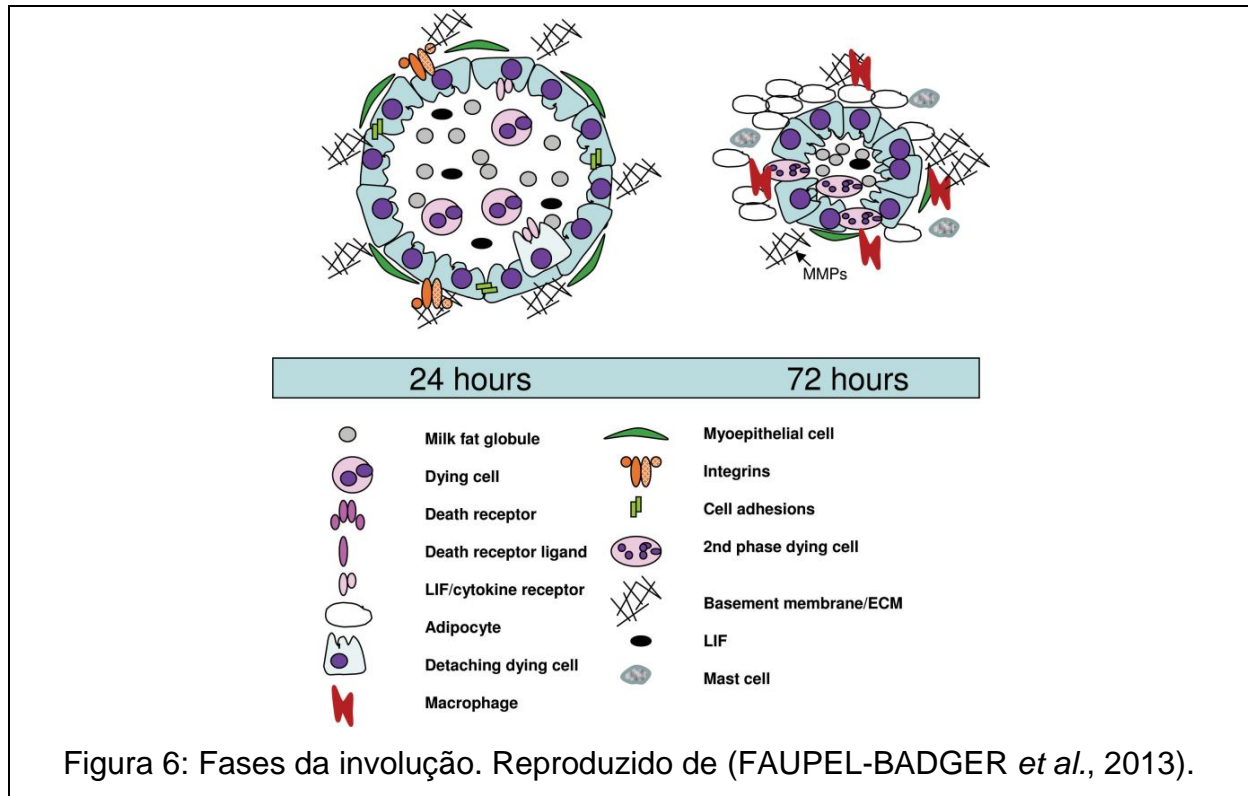
Durante a gravidez e lactação, a glândula mamária se torna competente para cumprir a sua função primordial: a produção de leite. A estrutura responsável pela síntese e pela secreção de leite é o alvéolo (Figura 5).



O alvéolo é composto pelas células epiteliais luminiais, responsáveis pela produção do leite, e pelas células mioepiteliais (ME, figura 5), responsáveis pela contração para a ejeção do leite. O alvéolo conta ainda com um lúmen no qual o leite é lançado.

1.2.4. INVOLUÇÃO

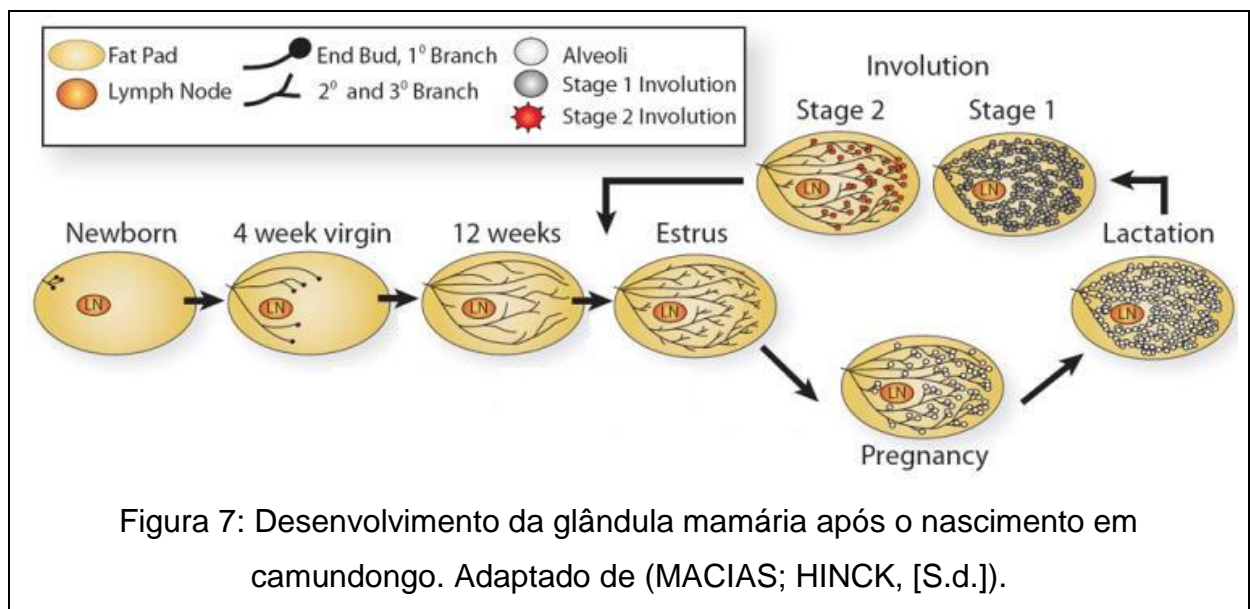
A involução é o processo responsável pelo retorno da glândula mamária ao estado pré-gravidez. A involução é dividida em duas fases (Figura 6).



A primeira fase da involução é caracterizada pela morte celular das células dos alvéolos. Em camundongo, essa fase ocorre nas primeiras 48 horas após o desmame, sendo reversível (WATSON, CHRISTINE J; KREUZALER, 2011). Ainda, a primeira fase pode ser dividida em duas subfases: nas primeiras 24 horas ocorre morte celular mediada por lisossomo, enquanto entre 24 e 48 horas ocorre apoptose mediada por mitocôndria. Na morte celular mediada por lisossomo, há a permeabilização da membrana do lisossomo com consequente liberação do conteúdo do lisossomo no citoplasma, onde este promove a degradação de compostos orgânicos. Na apoptose mediada por mitocôndria, há a permeabilização da membrana externa da mitocôndria com consequente liberação de fatores pró-apoptóticos (MCCORMICK *et al.*, 2014). A primeira fase da involução é controlada por fatores locais (WATSON, CHRISTINE J; KREUZALER, 2011).

Já a segunda fase da involução é caracterizada pela remodelação da mama. Dentre os processos que acontecem nessa fase estão a degradação da membrana basal e da matriz extracelular (ECM), a desorganização das junções celulares, a fagocitose das células mortas, o repovoamento por adipócitos e a reorganização dos vasos sanguíneos. Em camundongo, essa fase ocorre após as primeiras 48 horas após o desmame (entre 2 e 6 dias após o desmame), sendo irreversível. A segunda fase da involução é controlada por fatores sistêmicos (WATSON, CHRISTINE J; KREUZALER, 2011).

A figura 7 mostra um resumo do desenvolvimento da glândula mamária após o nascimento em camundongo.



1.3. LINHAGEM EVOLUTIVA HUMANA

A linhagem evolutiva humana aqui utilizada é composta por 31 níveis (Figura 8). Cada nível é descrito de maneira simplificada a seguir.

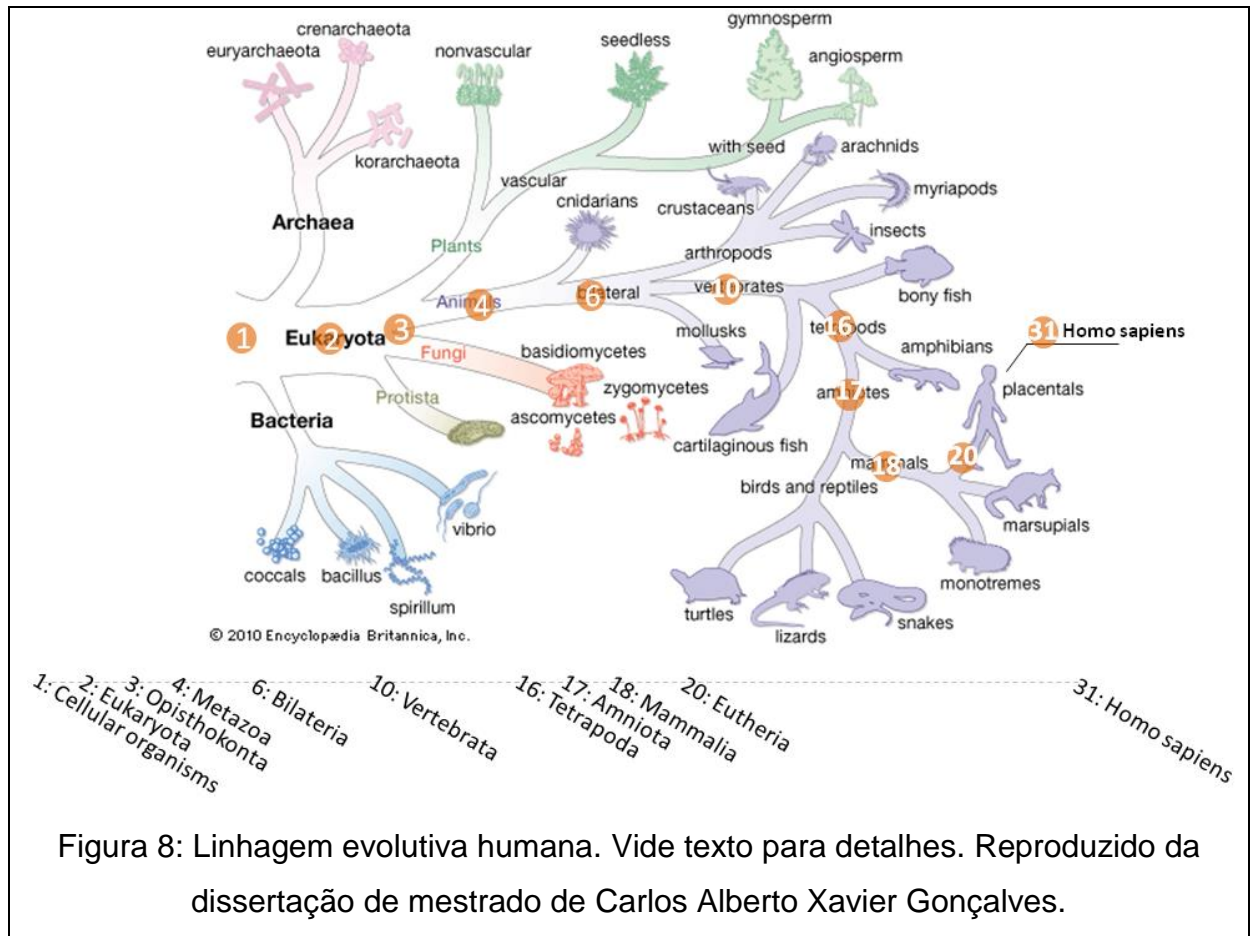


Figura 8: Linhagem evolutiva humana. Vide texto para detalhes. Reproduzido da dissertação de mestrado de Carlos Alberto Xavier Gonçalves.

Nível 1 – Organismos celulares. É o táxon mais ancestral da árvore da vida. Compreende todos os organismos constituídos por células. Isso significa que esse táxon agrupa bactérias, arqueas e eucariotos.

Nível 2 – Eukaryota. Compreende todos os organismos que possuem membrana nuclear (carioteca). Isso significa que esse táxon agrupa protistas, plantas, fungos e animais.

Nível 3 – Opisthokonta. Engloba fungos e animais.

Nível 4 – Metazoa. Engloba todos os animais. Isso significa que esse táxon agrupa tanto os animais basais (poríferos, placozoários) quanto os animais verdadeiros.

Nível 5 – Eumetazoa. Contém os animais verdadeiros, isso é, os animais que possuem tecidos verdadeiros. Isso significa que esse táxon agrupa tanto os animais com simetria radial (cnidários e ctenóforos) quanto os animais com simetria bilateral.

Nível 6 – Bilateria. Contém os animais com simetria bilateral. Estão incluídos nesse táxon artrópodes, moluscos, anelídeos, platelmintos, nematelmintos e deuterostomados.

Nível 7 – Deuterostomia. Engloba equinodermos (ouriços e estrelas-do-mar) e cordados.

Nível 8 – Chordata. Compreende todos os animais que apresentam notocorda durante o desenvolvimento embrionário. Isso significa que esse táxon agrupa cefalocordados (anfioxo), tunicados e craniados.

Nível 9 – Craniata. Compreende todos os animais que desenvolvem crânio. No entanto, devido à incerteza na classificação taxonômica, todos os craniados atualmente são classificados como vertebrados.

Nível 10 – Vertebrata. Compreende todos os animais que possuem esqueleto. Isso significa que esse táxon agrupa peixes sem mandíbula (lampreias e peixes-bruxa) e vertebrados com mandíbula.

Nível 11 – Gnathostomata. Contém os vertebrados com mandíbula. Estão incluídos nesse táxon tanto os peixes de esqueleto cartilaginoso (tubarão e raia) quanto os vertebrados de esqueleto ósseo.

Nível 12 – Teleostomi. Todos os teleostomi atualmente são classificados como euteleostomi.

Nível 13 – Euteleostomi. Engloba os peixes extintos Acanthodii e os vertebrados com esqueleto ósseo verdadeiro.

Nível 14 – Sarcopterygii. Contém os vertebrados com membros lobados com suporte muscular.

Nível 15 – Dipnotetrapodomorpha. Engloba peixes pulmonados e tetrápodes.

Nível 16 – Tetrapoda. Compreende todos os vertebrados com quatro membros. Isso significa que esse táxon agrupa anfíbios e amniotas.

Nível 17 – Amniota. Compreende todos os vertebrados que apresentam âmnio durante o desenvolvimento embrionário. Estão incluídos nesse táxon répteis, aves e mamíferos.

Nível 18 – Mammalia. Engloba todos os mamíferos. Isso significa que esse táxon agrupa prototérios (ou monotremados, ornitorrinco e équidna), metatérios e eutérios.

Nível 19 – Theria. Engloba metatérios (ou marsupiais, canguru, coala, gambá e outros) e eutérios.

Nível 20 – Eutheria. Contém os placentários verdadeiros. Alguns exemplos são elefante, peixe-boi (Afrotheria) e boreoeutérios.

Nível 21 – Boreoeutheria. Contém placentários agrupados a partir de dados moleculares, excluindo os Afrotheria. Alguns exemplos são carnívoros, baleia,

ruminantes, porco, camelo, morcegos, cavalo, rinoceronte, anta (todos Laurasiatheria) e euarchontoglires.

Nível 22 – Euarchontoglires. Contém lêmures, coelhos, roedores, musaranhos e primatas.

Nível 23 – Primates. Engloba todos os primatas.

Nível 24 – Haplorrhini. Engloba tarsos e símios.

Nível 25 – Simiiformes. Contém os símios, isto é, macacos do novo mundo, macacos do velho mundo e hominoídeos.

Nível 26 – Catarrhini. Engloba macacos do velho mundo e hominoídeos.

Nível 27 – Hominoidea. Contém os hominoídeos, isto é, gibões, orangotangos e hominíneos.

Nível 28 – Hominidae. Engloba orangotangos e hominíneos.

Nível 29 – Homininae. Contém os hominíneos, isto é, gorilas, bonobos, chimpanzés e humanos.

Nível 30 – Homo. Engloba humanos extintos e humano atual.

Nível 31 – *Homo sapiens*. Humano atual.

1.4. ORIGEM EVOLUTIVA DA GLÂNDULA MAMÁRIA

Embora a presença de glândula mamária seja uma característica distintiva dos mamíferos, os principais estudos sugerem que a sua origem é anterior à origem do táxon. A glândula mamária teria se originado a mais de 300 milhões de anos atrás, no período Carbonífero, enquanto os mamíferos só teriam surgido por volta de 190 milhões de anos atrás, no período Jurássico. Naquele tempo, os primeiros vertebrados completamente terrestres, os amniotas, estavam evoluindo a partir de seus ancestrais tetrápodes (ancestrais dos vertebrados terrestres e anfíbios) (OFTEDAL; DHOUAILLY, 2013). Os amniotas teriam herdado dos tetrápodes uma pele com glândulas, sendo que uma dessas glândulas seria a ancestral da glândula mamária. Dessa maneira, de acordo com a hipótese atualmente aceita, a origem evolutiva da glândula mamária seria em Tetrapoda-Amniota (níveis 16 e 17 da linhagem evolutiva humana).

Já em relação à origem tecidual da glândula mamária, há consenso de que a glândula mamária teria evoluído a partir de uma glândula da pele, como indicado acima. A discussão é sobre qual glândula da pele teria dado origem à glândula

mamária. Gegenbauer (GEGENBAUER, 1886) propôs que a glândula mamária dos prototérios (ou monotremados, ornitorrinco e équidna) seria derivada das glândulas sudoríparas, enquanto a glândula mamária dos metatérios (ou marsupiais, canguru, coala, gambá e outros) e dos eutérios (ou placentários, homem, camundongo, cavalo e outros) seria derivada das glândulas sebáceas. Já Bresslau (BRESSLAU, 1920) sugeriu que a glândula mamária seria derivada de glândulas sudoríparas associadas a folículos capilares. Por outro lado, Blackburn (BLACKBURN, 1991) propôs que a glândula mamária seria um híbrido, tendo sido originada a partir de vários tipos de glândulas da pele. Oftedal e Dhouailly (OFTEDAL; DHOUILLY, 2013) propuseram que a glândula mamária poderia ter se originado de uma glândula apócrina ou de um complexo glandular (apócrina e pilosebácea e depois mamária e pilosebácea).

A função primária da glândula mamária seria a produção de uma secreção cuja função seria a proteção do ovo dos amniotas basais contra o ressecamento. Ao contrário do ovo dos répteis e das aves, o qual apresenta parede calcificada (o que reduz a perda de umidade), o ovo dos amniotas basais era permeável (e, portanto, sujeito à perda de umidade) (OFTEDAL; DHOUILLY, 2013; WIDELITZ *et al.*, 2007). O advento da viviparidade teria tornado essa função da glândula mamária obsoleta, possibilitando a aquisição de uma nova função, a nutrição do recém-nascido (WIDELITZ *et al.*, 2007).

Em outra linha de raciocínio, há a teoria de que a glândula mamária teria evoluído a partir do sistema imunológico inato. Essa teoria foi proposta por Vorbach *et al.* em (VORBACH; CAPECCHI; PENNINGER, 2006). Nesse trabalho, os autores citam vários exemplos de genes relacionados à glândula mamária ou ao leite que apresentam função tanto imunológica quanto nutritiva. Segundo essa teoria, a glândula mamária seria derivada de uma glândula produtora de muco (ainda uma glândula da pele) e sua função primária seria a proteção da pele, do ovo ou do recém-nascido (VORBACH; CAPECCHI; PENNINGER, 2006).

1.5. BIOINFORMÁTICA

1.5.1. MEDLINE RANKER

O acesso à base de dados de literatura Medline, do NLM-NCBI, se dá por meio da PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) através do uso de palavras-chave. No entanto, essa metodologia apresenta algumas limitações quanto à identificação de artigos relevantes sobre um determinado tema (como número excessivo de artigos retornado em uma busca mais geral ou dificuldade na escolha das palavras-chave) (FONTAINE *et al.*, 2009). O Medline Ranker (FONTAINE *et al.*, 2009) é uma ferramenta de mineração de texto que classifica a literatura disponível na base de dados Medline de acordo com um tópico de interesse.

O princípio de funcionamento do Medline Ranker é a comparação entre dois conjuntos de resumos: um conjunto de resumos representativo do assunto em questão, chamado *training set*, e o conjunto de resumos a ser classificado, chamado *test set*, que pode ser a base toda se necessário. Os resumos em ambos os conjuntos são identificados por seus *PubMed IDentifiers* (PMIDs). Especificamente, o primeiro passo consiste na extração dos substantivos de cada resumo (incluindo o título) e na atribuição de peso a cada substantivo. Em seguida, o peso de cada resumo é calculado como a soma dos pesos de seus substantivos e a classificação é produzida com base nos pesos dos resumos. Por fim, *p-values* são definidos com base na proporção de resumos com pontuação elevada dentro de 10000 resumos recentes.

O Medline Ranker está disponível para uso em interface web em http://cbdm-01.zdv.uni-mainz.de/~jfontain/cms/?page_id=4 (Figura 9).

Medline Ranker

The query topic (the training set) is defined by:

- the following PubMed query
- all the following MeSH terms ([MeSH browser](#))
- the following list of PMIDs

one per line

Examples: [Mitochondria](#), [Neoplasms](#), [Stem Cells](#), [Alzheimer Disease](#), [Computational Biology](#), [Randomized Controlled Trials as Topic](#)

The abstracts to be ranked (the test set) are defined by:

- the training set
- the background set
- 10 000 randomly chosen recent abstracts
- publications of the last month(s)
- the -year(s) old abstracts
- the following list of PMIDs

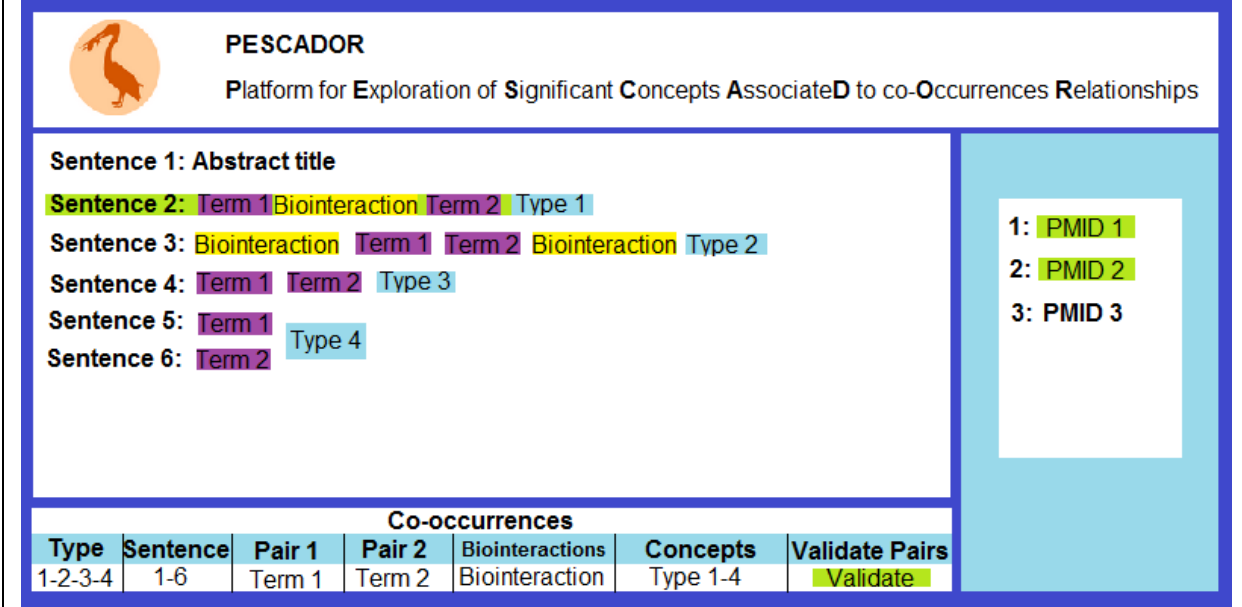
one per line

Figura 9: Página de pesquisa do Medline Ranker.

1.5.2. PESCADOR

O PESCADOR (*Platform for Exploration of Significant Concepts Associated to co-Occurrence Relationships*) (BARBOSA-SILVA *et al.*, 2011) é uma ferramenta de mineração de texto que extrai redes de biointerações entre entidades biológicas (genes e produtos gênicos) de resumos da PubMed.

O PESCADOR assinala co-ocorrências de entidades biológicas (termos) e biointerações em cada resumo (Figura 10).



PESCADOR
Platform for Exploration of Significant Concepts Associated to co-Occurrences Relationships

Sentence 1: Abstract title

Sentence 2: Term 1 Biointeraction Term 2 Type 1

Sentence 3: Biointeraction Term 1 Term 2 Biointeraction Type 2

Sentence 4: Term 1 Term 2 Type 3

Sentence 5: Term 1 Type 4

Sentence 6: Term 2 Type 4

Co-occurrences

Type	Sentence	Pair 1	Pair 2	Biointeractions	Concepts	Validate Pairs
1-2-3-4	1-6	Term 1	Term 2	Biointeraction	Type 1-4	Validate

1: PMID 1
2: PMID 2
3: PMID 3

Figura 10: Página do resumo no PESCADOR. Resumos (coluna à direita) e sentenças com co-ocorrências são destacados em verde. Termos são destacados em roxo e biointerações são destacadas em amarelo. As biointerações podem ser do tipo 1 a 4 (vide texto para detalhes).

As co-ocorrências podem ser de quatro tipos (Figura 10): tipo 1, dois termos aparecem na mesma sentença e com biointeração entre eles; tipo 2, dois termos aparecem na mesma sentença, mas a biointeração não está entre eles; tipo 3, dois termos aparecem na mesma sentença, mas sem biointeração; e tipo 4, dois termos aparecem no mesmo resumo.

Opcionalmente, uma lista de conceitos pode ser inserida. Os conceitos são palavras que o usuário deseja que o PESCADOR trate como termos. Por exemplo, a inserção da palavra “apoptose” como conceito possibilita que biointerações do tipo “BCL2 inibe apoptose” sejam indicadas pelo PESCADOR.

O PESCADOR está disponível para uso em interface web em <http://cbdm.mdc-berlin.de/~pescador/>.

1.5.3. PATHVISIO

O PathVisio (KUTMON *et al.*, 2015; VAN IERSEL *et al.*, 2008) (Figura 11) é um programa para edição, visualização e análise de vias.

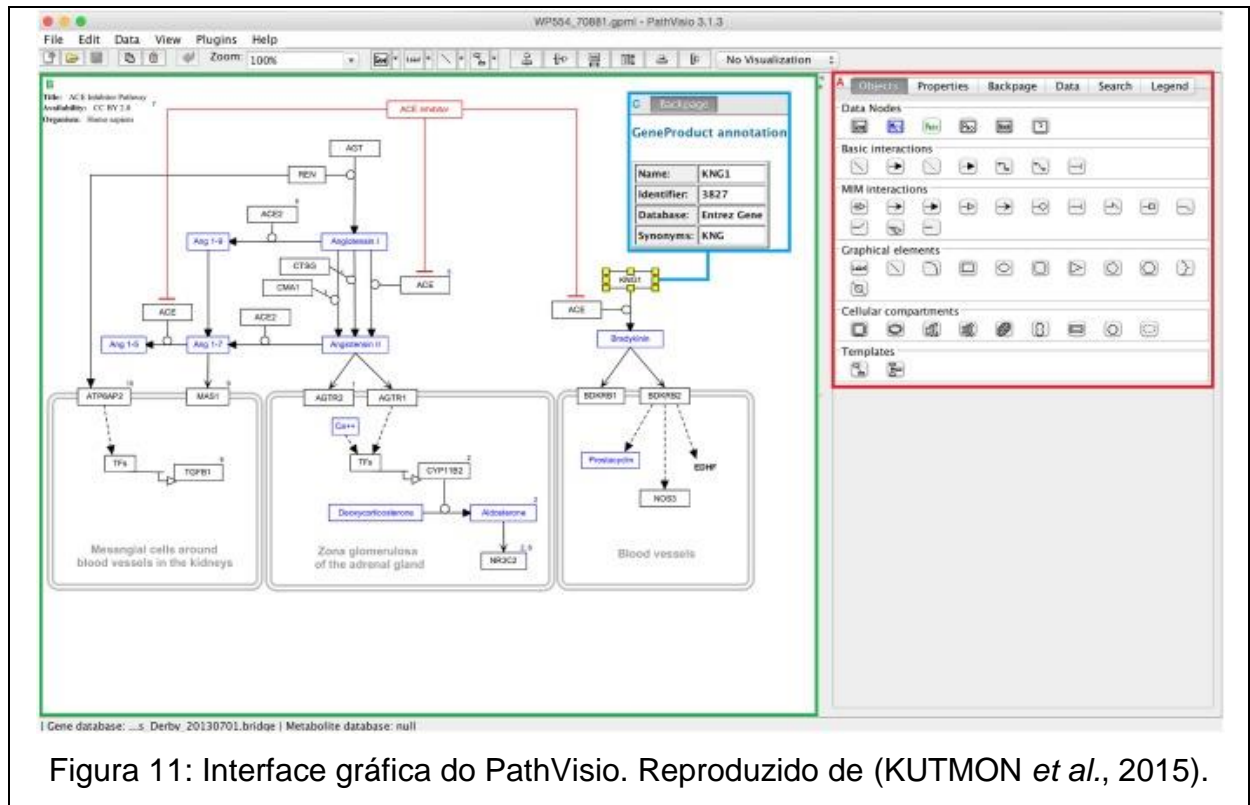


Figura 11: Interface gráfica do PathVisio. Reproduzido de (KUTMON *et al.*, 2015).

Este programa apresenta três tipos principais de objetos: *DataNode*, *Line* e *Shape*. *DataNodes* representam as entidades biológicas (podem ser genes, produtos gênicos ou substâncias), *Lines* representam as interações entre as entidades biológicas (podem ser linhas, setas ou *TBars*) e *Shapes* são utilizados para a anotação gráfica (por exemplo, organela) (VAN IERSEL *et al.*, 2008). Informações adicionais podem ser associadas aos *DataNodes* (por exemplo, identificador do gene) ou às interações (por exemplo, referência bibliográfica).

Além de seu uso na elaboração de diagramas de vias, o PathVisio dispõe de recursos para a visualização de dados e análise estatística (KUTMON *et al.*, 2015).

Além disso, as funcionalidades básicas do programa podem ser acrescidas com o uso de *plugins* e há opções disponíveis para a interação com outras linguagens de programação e outras aplicações (KUTMON *et al.*, 2015).

O PathVisio está disponível para download em <http://www.pathvisio.org/>.

1.5.4. SEEDSERVER

O SeedServer é um programa para o agrupamento de proteínas homólogas. Para isso, o SeedServer realiza a integração de bancos de dados e de programas.

No primeiro passo, o SeedServer recebe um ou mais identificadores UniProtKB (*seeds*), obtém as respectivas sequências, associa a elas os seus respectivos identificadores taxonômicos e obtém a taxonomia completa da proteína (reino, filo, classe, etc.). No passo seguinte, o SeedServer executa o programa Seed Linkage em busca de homólogos de maneira programática e posteriormente consulta o banco de dados KO/UEKO resultando em um agrupamento de homólogos às sequências *seed* utilizadas. Caso a *seed* não seja encontrada no banco de dados KO/UEKO, o procedimento UE-Seed é realizado. Por fim, o programa realiza a validação do cluster produzido através do PSI-BLAST. Em seguida, informações sobre as proteínas são adicionadas: descrição, se possui curadoria manual (Swiss-Prot) e tamanho da proteína (quantidade de resíduos de aminoácidos). A tabela 1 mostra um exemplo de resultado do SeedServer.

Tabela 1: Exemplo de resultado do SeedServer. Proteína caseína alfa s1 (CSN1S1).

uniprot_ID	cluster_number	SL	KO	size	txi	clade	validated	PSI	description
P47710	1	2	1	185	9606	1	1	1	CASA1_HUMAN Alpha-S1-casein OS=Homo sapiens GN=CSN1S1 PE=1 SV=1
H2QPK8	1	1	1	185	9598	1	1	1	H2QPK8_PANTR Uncharacterized protein OS=Pan troglodytes GN=CSN1S1 PE=4 SV=1
H2PDG9	1	1	2	185	9601	1	1	1	H2PDG9_PONAB Uncharacterized protein OS=Pongo abelii GN=CSN1S1 PE=4 SV=1
G3RGP3	1	1	1	185	9595	1	1	1	G3RGP3_GORGO Uncharacterized protein OS=Gorilla gorilla GN=101142843 PE=4 SV=1
G1R7Y2	1	1	2	183	61853	1	1	1	G1R7Y2_NOMLE Uncharacterized protein OS=Nomascus leucogenys GN=CSN1S1 PE=4 SV=1
P09115	1	1	0	215	9986	1	1	1	CASA1_RABIT Alpha-S1-casein OS=Orctolagus cuniculus GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
P04656	1	1	0	198	10141	1	1	1	CASA1_CAVPO Alpha-S1-casein OS=Cavia porcellus GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
J9P7W6	1	1	0	158	9615	1	1	1	J9P7W6_CANFA Uncharacterized protein OS=Canis familiaris GN=CSN1S1 PE=4 SV=1
P18626	1	1	2	214	9925	1	1	1	CASA1_CAPHI Alpha-S1-casein OS=Capra hircus GN=CSN1S1 PE=1 SV=2
Q8MIH4	1	1	2	2235	9925	1	1	1	Q8MIH4_CAPHI Alpha s1 casein OS=Capra hircus GN=csn1S1 PE=4 SV=1
Q69EZ6	1	1	1	213	9925	1	1	1	Q69EZ6_CAPHI CSCN1 OS=Capra hircus PE=2 SV=1
I6WY32	1	1	2	213	9925	1	1	1	I6WY32_CAPHI Alpha s1 casein OS=Capra hircus GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
P02662	1	1	2	214	9913	1	1	1	CASA1_BOVIN Alpha-S1-casein OS=Bos taurus GN=CSN1S1 PE=1 SV=2
B5B3R8	1	1	2	214	9913	1	1	1	B5B3R8_BOVIN Alpha S1 casein OS=Bos taurus GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
Q4F6X6	1	1	2	364	89462	1	1	1	Q4F6X6_BUBBU Alpha-S1 casein OS=Bubalus bubalis PE=2 SV=1
O62823	1	1	2	214	89462	1	1	1	CASA1_BUBBU Alpha-S1-casein OS=Bubalus bubalis GN=CSN1S1 PE=2 SV=2
B6ZBP2	1	1	2	274	89462	1	1	1	B6ZBP2_BUBBU Alpha S1 casein OS=Bubalus bubalis GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
B5KLC3	1	0	1	206	9823	1	1	1	B5KLC3_PIG Alpha S1 casein OS=Sus scrofa GN=CSN1S1 PE=4 SV=1
P39035	1	0	1	206	9823	1	1	1	CASA1_PIG Alpha-S1-casein OS=Sus scrofa GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
Q8SPR1	1	0	1	212	9796	1	1	1	Q8SPR1_HORSE Alpha s1 casein OS=Equus caballus PE=2 SV=1
C3W972	1	0	2	6230	582580	1	1	1	C3W972_EQUAS Alpha s1 casein (Precursor) OS=Equus asinus africanus GN=csn1S1 PE=4 SV=1
D2D3I8	1	0	2	241	9940	1	1	1	D2D3I8_SHEEP Alpha s1 casein (Precursor) OS=Ovis aries GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
D2DRB7	1	0	2	378	9940	1	1	1	D2DRB7_SHEEP Alpha-s1-casein variant (Precursor) OS=Ovis aries GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
D3TU01	1	0	2	369	9940	1	1	1	D3TU01_SHEEP Alpha s1 casein variant (Precursor) OS=Ovis aries GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
F7DGH6	1	0	2	212	9796	1	1	1	F7DGH6_HORSE Uncharacterized protein OS=Equus caballus GN=CSN1S1 PE=4 SV=1
G3LUQ4	1	0	2	344	9940	1	1	1	G3LUQ4_SHEEP Alpha s1 casein OS=Ovis aries GN=CSN1S1 PE=4 SV=1
K7DXB9	1	0	2	1091	9838	1	1	1	K7DXB9_CAMDR Alpha-s1-casein (Precursor) OS=Camelus dromedarius GN=CSN1S1 PE=2 SV=1
O97943	1	0	2	230	9838	1	1	1	CASA1_CAMDR Alpha-S1-casein OS=Camelus dromedarius GN=CSN1S1 PE=1 SV=2
P04653	1	0	2	214	9940	1	1	1	CASA1_SHEEP Alpha-S1-casein OS=Ovis aries GN=CSN1S1 PE=1 SV=3
P86272	1	0	2	202	9793	1	1	1	CASA1_EQUAS Alpha-S1-casein OS=Equus asinus GN=CSN1S1 PE=1 SV=1
Q95KZ7	1	0	2	208	9796	1	1	1	Q95KZ7_HORSE AlphaS1-casein OS=Equus caballus PE=2 SV=1
D6RF34	1	0	2	169	9606	1	1	1	D6RF34_HUMAN Alpha-S1-casein OS=Homo sapiens GN=CSN1S1 PE=1 SV=1
E9PDQ1	1	0	2	177	9606	1	1	1	E9PDQ1_HUMAN Alpha-S1-casein OS=Homo sapiens GN=CSN1S1 PE=1 SV=1
F7HVD1	1	0	2	178	9483	1	1	1	F7HVD1_CALIA Uncharacterized protein OS=Callithrix jacchus GN=CSN1S1 PE=4 SV=1
G3S8D2	1	0	2	185	9595	1	1	1	G3S8D2_GORGO Uncharacterized protein OS=Gorilla gorilla GN=101142843 PE=4 SV=1

Nessa tabela, a primeira coluna corresponde ao identificador UniProtKB da proteína, a segunda coluna corresponde ao número do cluster, a terceira coluna corresponde ao resultado do Seed Linkage (0 para não recrutada pelo Seed Linkage, 1 para recrutada pelo Seed Linkage e 2 para identificar a *seed*), a quarta coluna corresponde ao KO/UEKO (0 para não encontrada no KO/UEKO, 1 para

encontrada no KO, 2 para encontrada no UEKO e 3 para procedimento UE-Seed), a quinta coluna corresponde ao tamanho da proteína, a sexta coluna corresponde ao identificador taxonômico da proteína, a sétima coluna corresponde ao clado filtrado (1 para todos os clados), a oitava coluna corresponde à existência de curadoria manual (0 para ausência de curadoria manual, 1 para curadoria manual (Swiss-Prot)), a nona coluna corresponde à validação pelo PSI-BLAST (0 para não validada e 1 para validada) e a décima coluna corresponde à descrição da proteína.

O SeedServer foi desenvolvido por Rafael Lucas Muniz Guedes durante seu doutorado em Bioinformática (não publicado).

1.5.4.1. Bancos de dados usados pelo SeedServer

O UniProt (*Universal Protein Resource*) (“UniProt: a hub for protein information”, 2014) é um banco de dados de proteínas. Um componente do UniProt é o UniProtKB (*UniProt Knowledgebase*), onde estão depositadas as sequências das proteínas e as informações sobre as proteínas. O UniProtKB é usado pelo SeedServer para a obtenção tanto das sequências das proteínas quanto das informações sobre as proteínas. Outro componente do UniProt é o UniRef (*UniProt Reference Clusters*), onde estão depositados clusters de proteínas do UniProt com três níveis de identidade (50%, 90% e 100%). O cluster UniRef50 é usado pelo SeedServer no procedimento UE-Seed (*UniRef50 Enriched-Seed*). Nesse procedimento, o alinhamento entre a *seed* e os demais integrantes de seu cluster UniRef50 é realizado, sendo exigido que o tamanho do alinhamento seja superior a 50% do tamanho da *seed* para o recrutamento da proteína. O acesso ao UniProt se dá via web em <http://www.uniprot.org/>.

O NCBI-Taxonomy (FEDERHEN, 2012) é um banco de dados que abriga classificação e nomenclatura para todos os organismos com sequências depositadas em repositórios públicos. Os dados taxonômicos usados pelo SeedServer foram obtidos desse banco de dados. O acesso ao NCBI-Taxonomy se dá via web em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>.

O KO (*KEGG Orthology*) é parte da base de dados KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) (KANEHISA; GOTO, 2000), onde estão depositados grupos de ortólogos. Já o UEKO (*UniRef50 Enriched KEGG Orthology*) é uma base de dados que abriga os grupos de ortólogos do KO enriquecidos com

proteínas advindas dos *clusters* UniRef50. Para a criação do UEKO foram realizados alinhamentos entre as sequências originais dos grupos de ortólogos do KO e as sequências dos respectivos *clusters* UniRef50, sendo exigido mínimo de 50% de recobrimento (tamanho do alinhamento dividido pelo tamanho da sequência original). O acesso ao KO se dá via web em <http://www.genome.jp/kegg/ko.html>. O UEKO foi desenvolvido por Gabriel da Rocha Fernandes durante seu doutorado em Bioinformática (não publicado), utilizando técnica desenvolvida por ele e colaboradores para enriquecer a base COG (FERNANDES *et al.*, 2008).

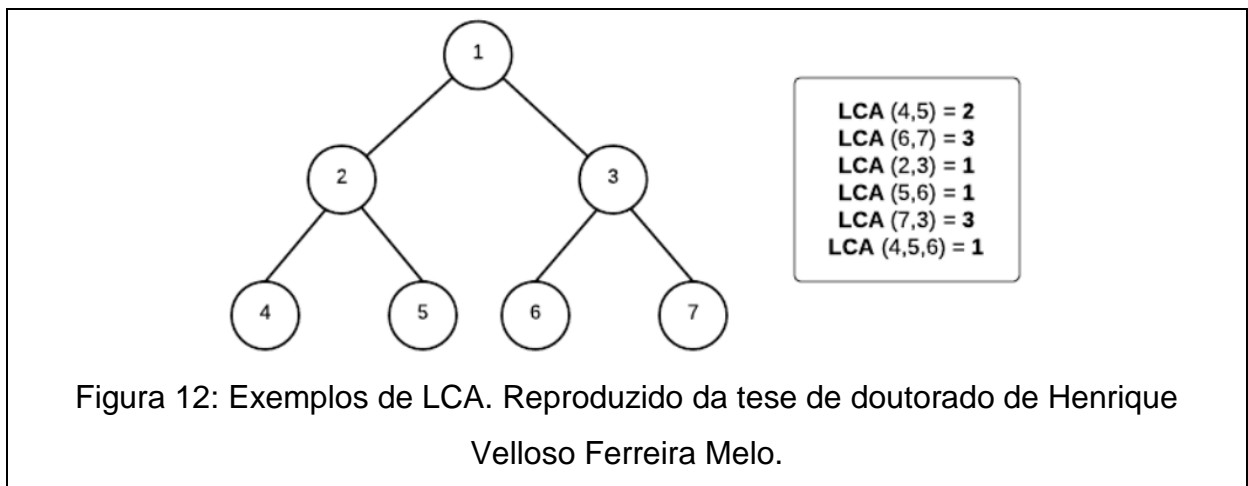
1.5.4.2. Programas usados pelo SeedServer

Assim como o SeedServer, o Seed Linkage (BARBOSA-SILVA *et al.*, 2008) é um programa para o agrupamento de proteínas homólogas. O Seed Linkage usa relações de melhor alinhamento recíproco (BBH, *Bidirectional Best Hit*) para a determinação dos homólogos. Especificamente, o programa realiza o alinhamento de uma sequência de interesse com sequências de outros organismos e usa os valores de BBH com outros organismos para a determinação de *out*-parálogos e o melhor valor BBH para a determinação de *in*-parálogos (parálogos propriamente ditos). O Seed Linkage apresenta como vantagens a criação de grupos de homólogos a partir de uma única proteína de interesse e a inclusão de sequências de genomas incompletos.

O PSI-BLAST (*Position-Specific Iterated BLAST*) (ALTSCHUL *et al.*, 1997) é um tipo de BLAST em que alinhamentos sucessivos são realizados, sendo que, após cada alinhamento e com base no *score* do alinhamento, a matriz de pontuação é refeita e utilizada no alinhamento seguinte. No SeedServer, o primeiro passo consiste na realização de um alinhamento entre a *seed* e ela mesma para a obtenção do chamado *auto-score*, o qual servirá de referência para parar as iterações do PSI-BLAST. Em seguida, a *seed* é usada em iterações sucessivas contra as proteínas recrutadas pelo SeedServer até que o *score* do alinhamento seja superior a 70% do *auto-score*. Nesse momento, o PSI-BLAST para e as sequências presentes são consideradas validadas. O módulo do PSI-BLAST usado no SeedServer foi desenvolvido por Henrique de Assis Lopes Ribeiro durante seu doutorado em Bioinformática (não publicado).

1.5.5. ALGORITMO LCA

Em uma dada árvore, o LCA (*Lowest Common Ancestor* ou ancestral comum mais recente) de dois nós a e b é o nó mais próximo das folhas que possui a e b como descendentes. A figura 12 mostra alguns exemplos de LCA para uma árvore hipotética.



O algoritmo LCA carrega a árvore taxonômica completa na memória, encontra os identificadores taxonômicos fornecidos como *input* e então retorna o LCA.

O algoritmo LCA foi desenvolvido por Henrique Velloso Ferreira Melo durante seu doutorado em Bioinformática (não publicado).

1.5.6. ARCOBALENO

O ARCoBALEno (*Application for Rapidly COloring Biological pathways by Ancestrality or gene ontoLogY-Enriched iNformatiOn*) é uma ferramenta que colore automaticamente arquivos do PathVisio (extensão .gpml) com foco em estudos de evolução. Essa ferramenta atribui cor aos genes de uma via de acordo com sua origem. Alternativamente, o ARCoBALEno permite que a via seja colorida de acordo com a origem da função molecular mais recente do gene (LMF, *Last Molecular Function*) ou do processo biológico mais recente em que o gene está envolvido (LBP, *Last Biological Process*). Ainda, a via pode ser colorida segundo a quantidade de processos biológicos em que os genes estão envolvidos.

O ARCoBALeno foi desenvolvido por Carlos Alberto Xavier Gonçalves durante seu mestrado em Bioinformática (não publicado) e está disponível para uso em interface web em <http://maxixe.icb.ufmg.br/arcobaleno/>.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

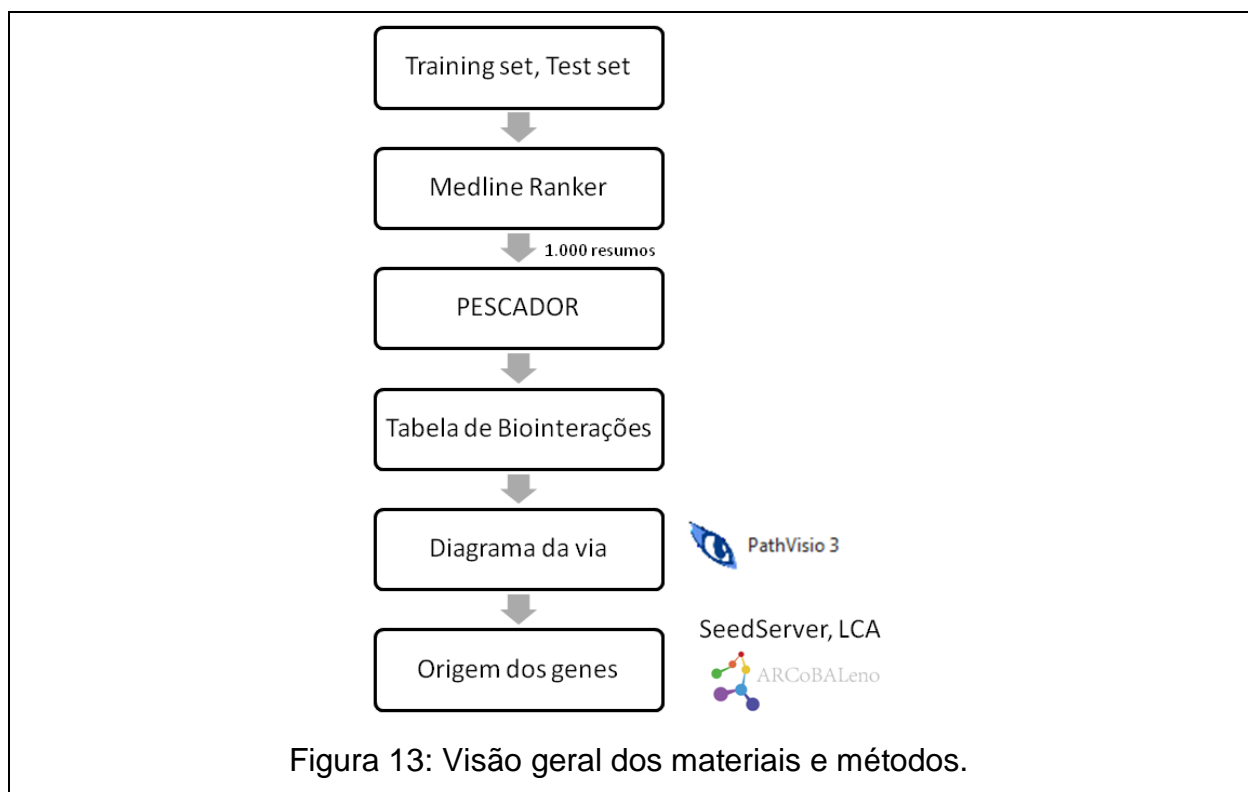
Elaborar via de desenvolvimento da glândula mamária e estimar a origem dos seus genes e do sistema.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter os genes (e as biointerações entre eles) envolvidos em cada fase de desenvolvimento da glândula mamária (desenvolvimento embrionário, puberdade, gravidez e lactação e involução) a partir da literatura usando uma metodologia baseada em mineração de texto.
- Elaborar uma subvia para cada fase de desenvolvimento da glândula mamária.
- Escrever uma descrição para cada subvia.
- Estimar a origem de cada gene usando uma metodologia baseada no agrupamento de homólogos e inferência do ancestral comum mais recente.
- Estimar a origem da glândula mamária com base na origem dos seus genes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para este trabalho, cinco análises foram realizadas seguindo o desenho experimental mostrado na figura 13. A primeira análise teve como objetivo a aquisição de uma visão geral sobre o desenvolvimento da glândula mamária. Em seguida, cada fase de desenvolvimento foi investigada separadamente. Para cada análise, o *training set* e o *test set* foram submetidos ao Medline Ranker e os 1000 melhores resumos foram submetidos ao PESCADOR. As biointerações validadas no PESCADOR foram armazenadas em tabela de biointerações a partir da qual o diagrama da via foi produzido usando o PathVisio. A origem dos genes de cada subvia foi predita usando o SeedServer e o algoritmo LCA. Por fim, as subvias foram coloridas de acordo com a origem dos seus genes usando o ARCoBALeno.



3.1. TRAINING SET, TEST SET E MEDLINE RANKER

Para cada análise, o *training set* foi escolhido a partir de busca avançada manual sobre o tema na PubMed, sendo selecionados de cinco a dez resumos, especificados na tabela 2.

Já o *test set* foi obtido a partir de busca simples na PubMed. Para a primeira análise, a *query* utilizada foi “(breast AND development) NOT cancer”, totalizando 10897 resumos. Para as demais análises, a *query* utilizada foi “(molecular AND developmental AND biology AND mammary AND gland) NOT cancer”, totalizando 2476 resumos.

Logo após, as listas de PMIDs referentes ao *training set* e ao *test set* foram submetidas ao Medline Ranker.

Tabela 2: *Training set*, *Test set* e ID PESCADOR para cada análise.

Análise	Tema	PMIDs Training set	Query Test set	Nº resumos Test set	ID PESCADOR
1ª	Visão geral	15351091 17877612 16807800 16861925 18947364 15351091 15886886	“(breast AND development) NOT cancer”	10897	1388700840
2ª	Desenvolvimento embrionário	22387209 17071745 23677624 22046263 23591968 15342465	“(molecular AND developmental AND biology AND mammary AND gland) NOT cancer”	2476	1408969747
3ª	Puberdade	11018751 9012521 10804170 11739006 10525347 12636918 12070083 16278680 16315096 12637587			1435578403
4ª	Gravidez e lactação	12952963 19298785 12438700 25589271 17452747			1448882510
5ª	Involução	1638991 12538768 10862748 9854140 25358350 24902901 17139252 22129827			1441017648

3.2. PESCADOR E TABELA DE BIOINTERAÇÕES

Os 1000 melhores resumos ($p\text{-value} < 10^{-2}$) no *ranking* do Medline foram enviados para inspeção manual no PESCADOR. Além da lista dos PMIDs dos 1000 melhores resumos, uma lista de conceitos (ANEXO I) específica para cada etapa de desenvolvimento foi adicionada e a espécie-alvo foi definida como *Homo sapiens*.

Em seguida, procedeu-se ao trabalho de curadoria manual que consiste em ler o resumo e avaliar se as biointerações propostas são verdadeiras.

As biointerações consideradas verdadeiras foram guardadas em tabela de biointerações no seguinte formato: termo 1 na primeira coluna, palavra de biointeração na segunda coluna, termo 2 na terceira coluna e PMID do resumo que contém essa informação na quarta coluna.

As análises realizadas neste estudo podem ser consultadas informando-se o identificador do PESCADOR (ID PESCADOR) para cada análise, o qual está especificado na tabela 2. Já as tabelas de biointerações encontram-se anexas (ANEXO II).

3.3. ELABORAÇÃO DO DIAGRAMA DA VIA USANDO PATHVISIO

Com base na tabela de biointerações, o diagrama de cada subvia foi elaborado usando o software PathVisio versão 3.2.1. Uma simbologia simplificada foi criada e empregada na via. Segundo essa simbologia, genes, produtos gênicos e substâncias são representados por retângulos, cuja cor indica se o símbolo para o gene ou produto gênico é o oficial (retângulos pretos) ou não (retângulos vermelhos, também aplicáveis a substâncias), e se aparece mais de uma vez na via (retângulos azuis). Seta significa relação positiva ou direção, *TBar* significa relação negativa e linha significa relação neutra. Texto em azul indica fenótipo e texto em verde indica subvia. Outras estruturas presentes foram identificadas na figura ou na descrição da subvia.

3.4. ESTIMATIVA DA ORIGEM DOS GENES USANDO SEEDSERVER E ALGORITMO LCA

Para a estimativa da origem dos genes de cada subvia foi utilizada a ferramenta para agrupamento de homólogos SeedServer e, em seguida, o algoritmo para determinação do ancestral comum mais recente (LCA, *Lowest Common Ancestor*).

O *input* para o programa SeedServer é o identificador UniProtKB da proteína. Os identificadores UniProtKB foram obtidos a partir de busca manual na base de dados UniProtKB, fornecendo-se o símbolo oficial do gene, considerando-se apenas

proteínas de *Homo sapiens* e dando-se preferência a identificadores curados manualmente (Swiss-Prot). A lista de genes com os respectivos identificadores UniProtKB e LCA predito encontra-se anexa (ANEXO III).

Já o *output* do programa SeedServer é a lista dos identificadores UniProtKB das proteínas recrutadas.

O SeedServer está disponível para acesso local ou por meio do *Bioinformatics Open Web Services* (BOWS) (<http://maxixe.icb.ufmg.br:8080/BOWSWeb/index.jsp>). No caso de acesso local é necessário fornecer um arquivo de texto especificando o *input* (identificador UniProtKB), o nome do *output* (arquivo que receberá o *cluster* de proteínas recrutadas) e os parâmetros do programa. Neste trabalho foram utilizados os parâmetros *default* do SeedServer. O formato do arquivo de texto é o seguinte:

```
<processID>output</processID>
  <SLtable>allorg</SLtable>
  <input>uniprotkb_id</input>
  <parameter_r>50</parameter_r>
  <parameter_c>50</parameter_c>
  <parameter_s>50</parameter_s>
  <parameter_l>0.3</parameter_l>
  <e_value>10</e_value>
  <self_score>0.7</self_score>
```

O comando para executar o SeedServer é

```
perl runSeedServer\_1.0.pl input.txt
```

Já no caso de acesso por meio do BOWS, o primeiro passo consiste em realizar o *download* do cliente java de submissão ao SeedServer (<http://maxixe.icb.ufmg.br:8080/BOWSWeb/appDetails.jsp?app=SeedServer>). A partir daí o comando para executar o programa é

```
java -jar SeedServerSubmitJob.jar uniprotkb_id
```

A consulta do *status* do processo (*Done*, *Running*, *Queued*) pode ser feita através do número de processo (PID, *Process Identifier*) pelo comando

```
java -jar getresults.jar PID
```

Já o *output* do SeedServer pode ser recuperado através da interface gráfica SeedServerGUI

(<http://maxixe.icb.ufmg.br:8080/BOWSWeb/appDetails.jsp?app=SeedServer>).

Uma vez gerados os *clusters* de homólogos, o próximo passo consistiu no uso do algoritmo LCA para a determinação do LCA.

O *input* para o algoritmo LCA é o conjunto dos identificadores taxonômicos das proteínas recrutadas pelo SeedServer, enquanto o *output* é o táxon inferido para a origem do gene (LCA).

Há dois algoritmos para a obtenção do LCA: LCA simples e LCA múltiplo. A diferença entre esses dois algoritmos é que o LCA simples considera origem única para o gene enquanto o LCA múltiplo considera que o gene pode ter surgido mais de uma vez durante a evolução, útil em casos de transferência lateral ou de inclusão inapropriada de artefatos (ocorrência em organismos distantes que não suportariam a transferência vertical do gene).

Para o acesso ao LCA simples é necessário fornecer os identificadores taxonômicos no seguinte endereço:

```
http://merengue.icb.ufmg.br:8080/BioToolsService/lca/txid1+txid2+txid3+...
```

onde txid1, txid2, txid3, etc. são os identificadores taxonômicos das proteínas recrutadas pelo SeedServer.

Já o LCA múltiplo é obtido a partir da inserção dos identificadores taxonômicos em <http://biodados.icb.ufmg.br:8080/Genesis/multiLCATree/index> seguida pela análise da árvore filogenética gerada.

3.5. COLORINDO A VIA DE ACORDO COM A ORIGEM DOS SEUS GENES USANDO ARCOBALENO

A ferramenta ARCoBALEno foi utilizada para colorir o diagrama de cada subvia de acordo com a origem dos seus genes. Uma vez que, neste trabalho, a predição do LCA foi feita usando SeedServer e algoritmo LCA, a opção “Use AutoLCA method” disponível no ARCoBALEno foi desmarcada. Dois arquivos foram fornecidos ao ARCoBALEno: o arquivo PathVisio de cada subvia (extensão .gpml) e um arquivo de texto com a lista dos genes ou produtos gênicos contidos em cada subvia e os respectivos níveis do LCA predito (o nível do LCA é o número correspondente ao nível hierárquico do táxon na linhagem evolutiva humana). Além disso, a espécie foi definida como *Homo sapiens*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi produzida uma via de desenvolvimento da glândula mamária, retratando o papel dos genes envolvidos. O desenvolvimento da mama foi dividido em quatro etapas, tendo sido produzida uma subvia para cada etapa: (1) desenvolvimento embrionário, (2) puberdade, (3) gravidez e lactação e (4) involução. Para cada subvia foi produzido um diagrama e uma descrição. Ao todo 310 genes e 795 biointerações foram encontrados.

Além disso, a origem de cada um dos genes da via foi estimada, tendo sido encontrados genes com origem desde organismos celulares até boreoeutheria. A distribuição dos genes pelos táxons aproxima-se da distribuição de todos os genes de *Homo sapiens*, como mostrado na figura 14, com algumas exceções (menor proporção de genes originados em eucariotos e pouca participação de genes originados em placentários).

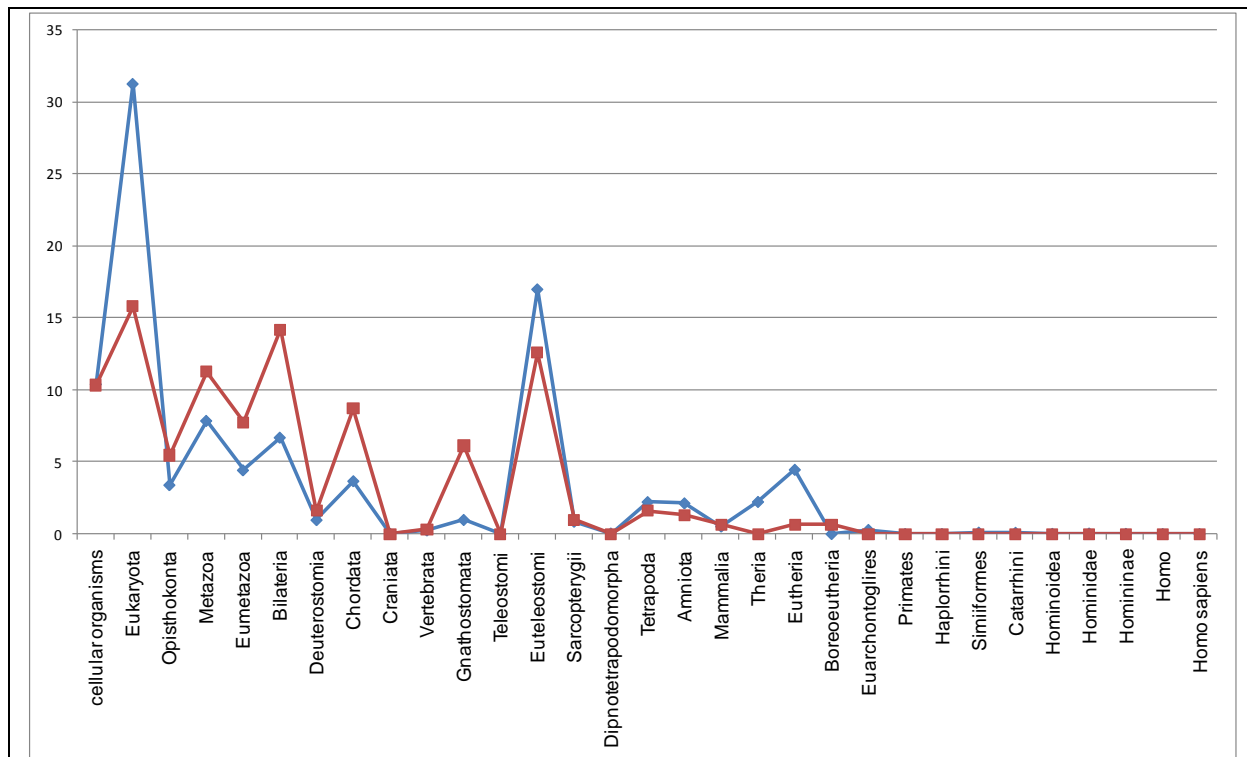


Figura 14: Comparação da distribuição dos genes pelos táxons em *Homo sapiens* (azul) e na glândula mamária (vermelho). Valores em porcentagem do total de genes.

4.1. DESCRIÇÃO DA VIA DE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

O desenvolvimento embrionário da glândula mamária (Figura 15) é regulado por várias vias de sinalização como FGF, WNT, BMP, TGFB, EDA, PTHLH, IGF, TBX, GLI, via de sinalização Hedgehog e via de sinalização do ácido retinóico. Algumas dessas vias de sinalização estão relacionadas ao desenvolvimento embrionário de outros anexos da pele como FGF, WNT, BMP, EDA e via de sinalização Hedgehog, adquirindo função específica na glândula mamária. Por outro lado, vias de sinalização como GLI e TBX, até onde se sabe, estão comprometidas especificamente com o desenvolvimento embrionário da mama.

Title: Embryonic development
 Organism: Homo sapiens

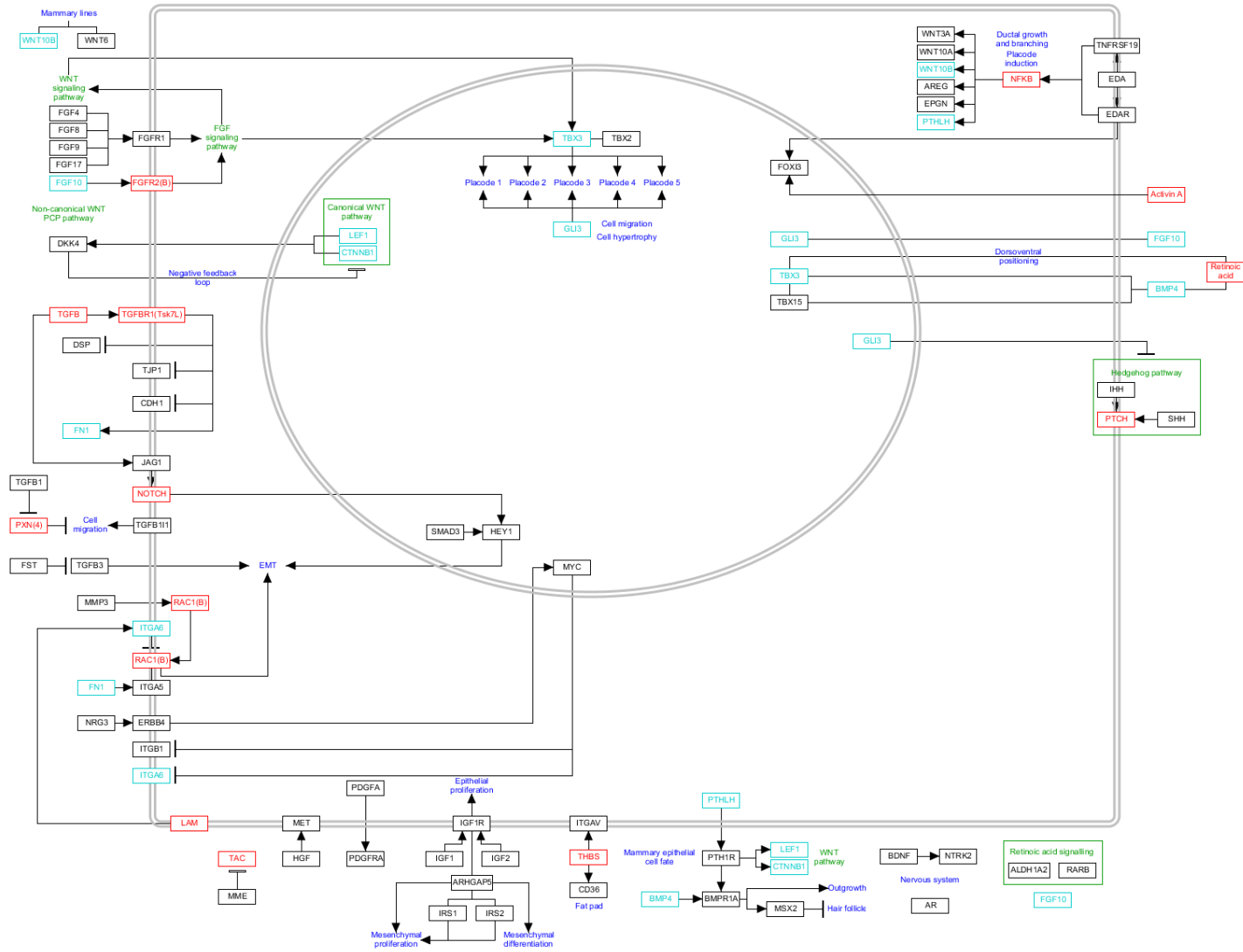


Figura 15: Via de desenvolvimento embrionário.

4.1.1. LINHAS MAMÁRIAS

As linhas mamárias podem ser identificadas como linhas de expressão de WNT10B e WNT6 no ectoderma. Posteriormente, a expressão de WNT10B e WNT6 se torna restrita aos placódios (VELTMAAT *et al.*, 2004).

4.1.2. PLACÓDIOS

4.1.2.1. Indução e manutenção

Dois genes essenciais para os placódios são TBX3 e GLI3, sendo que ambos codificam fatores de transcrição.

Não há dúvida quanto à importância de TBX3 para a indução e a manutenção dos placódios (JEROME-MAJEWSKA *et al.*, 2005), embora as vias moleculares que conduzem a tais efeitos ainda não estejam totalmente esclarecidas. Um parceiro sugerido de TBX3 é TBX2 dado que o efeito da perda conjunta de TBX3 e TBX2 na manutenção dos placódios é mais grave que o efeito da perda de TBX3 isoladamente (JEROME-MAJEWSKA *et al.*, 2005).

A expressão de TBX3 pode ser induzida tanto pela via de sinalização de FGF quanto pela via de sinalização de WNT: a ligação dos FGFs (FGF4, FGF8, FGF9 e FGF17) ao receptor FGFR1 conduz à ativação de TBX3 tanto diretamente quanto através da ativação da via de sinalização de WNT (EBLAGHIE *et al.*, 2004).

Em camundongo, a via de FGF10/FGFR2(B) está associada à indução dos placódios 1, 2, 3 e 5, enquanto a indução do placódio 4 está associada a uma via independente. No entanto, na falta de FGF10 ou FGFR2(B), o desenvolvimento da glândula mamária é prejudicado. Isso indica que a indução do placódio 4 não depende de FGF, mas a sua manutenção sim (MAILLEUX, ARNAUD ANDRÉ *et al.*, 2002).

GLI3 também apresenta função na indução dos placódios. Isso porque a migração celular e a hipertrofia celular necessárias à formação dos placódios não ocorrem na ausência de GLI3. No entanto, a contribuição de GLI3 para a formação de cada placódio é variável (LEE *et al.*, 2011).

Outro gene envolvido na indução e na manutenção dos placódios é LEF1, componente do sinal canônico de WNT. Em camundongo, os placódios 2 e 3 não se

formam na ausência de LEF1. Os placódios 1, 4 e 5 desaparecem progressivamente na ausência de LEF1. Esse desaparecimento é acompanhado por apoptose no mesênquima adjacente. A transição do sinal de WNT do mesênquima para o epitélio nesses placódios também é bloqueada quando LEF1 está ausente (BORASGRANIC *et al.*, 2006; CHU *et al.*, 2004).

Além disso, o complexo LEF1/CTNNB1 interage fisicamente com o promotor de DKK4, inibidor de WNT, estimulando-o. Assim, DKK4 parece atuar como um *feedback* negativo para atenuar o sinal canônico de WNT e possibilitar a mudança para o sinal não canônico de WNT, o qual está associado à migração necessária à formação dos placódios (BAZZI *et al.*, 2007).

Por fim, EDA, através de NFkB, é o principal regulador independente de hormônio do desenvolvimento da mama (até a puberdade, o desenvolvimento da mama é independente de hormônio). O sinal de EDA está associado à indução dos placódios e ao crescimento e à ramificação da glândula mamária. Dentre os alvos de EDA/NFkB estão WNT3A, WNT10A, WNT10B, AREG, EPGN e PTHLH (LINDFORS; VOUTILAINEN; MIKKOLA, 2013; VOUTILAINEN *et al.*, 2012). Como citado acima, a via de sinalização de WNT está envolvida na formação dos placódios; AREG e EPGN tem atividade mitogênica; e PTHLH está envolvido na diferenciação da glândula mamária, como exposto a seguir. O receptor EDAR apresenta sobreposição de expressão com TNFRSF19, indicando possível redundância de função (MUSTONEN *et al.*, 2003; PISPA *et al.*, 2003). EDA e activina A são também reguladores de FOXI3, o qual tem sido associado à formação dos placódios em vários anexos da pele (SHIROKOVA *et al.*, 2013).

4.1.2.2. Ordem de indução

Em camundongo, o padrão de expressão dos genes DUSP6 (relacionado ao sinal de FGF), LEF1 e TBX3 sugere que os placódios possuem uma ordem de indução específica, sendo esta: 3, 4, 1, 2 e 5 (EBLAGHIE *et al.*, 2004).

4.1.3. TRANSIÇÃO EPITÉLIO-MESENQUIMAL

Durante a transição epitélio-mesenquimal (EMT), marcadores epiteliais têm expressão diminuída, enquanto marcadores mesenquimais têm expressão

aumentada. Além disso, genes relacionados à adesão são inibidos, enquanto genes relacionados à migração são estimulados.

TGFB, através de seu receptor tipo I Tsk7L, TGFBR1 Tsk7L, diminui a expressão de marcadores epiteliais, como DSP, TJP1 e CDH1, e aumenta a expressão de marcadores mesenquimais, como FN1, contribuindo para a transição epitélio-mesenquimal (MIETTINEN *et al.*, 1994). TGFB também provoca a transição epitélio-mesenquimal através de HEY1. De início, SMAD3 ativa HEY1 (ativação independente de JAG1/ NOTCH). Em seguida, TGFB induz JAG1, o qual se liga ao seu receptor, NOTCH, e ativa HEY1 (ativação dependente de JAG1/ NOTCH). HEY1 é um repressor transcricional. Na ausência da ativação independente de JAG1/ NOTCH, a transição epitélio-mesenquimal não ocorre (ZAVADIL *et al.*, 2004). Além disso, TGFB1 regula negativamente a isoforma 4 de PXN. A isoforma 4 é obtida a partir de um sítio de início de tradução interno evolutivamente conservado no mRNA de PXN. A superfamília PXN está, em geral, associada à mobilidade. No entanto, a isoforma 4 é um regulador negativo do sinal de PXN. Assim, a isoforma 4 suprime a migração, enquanto outro membro da superfamília, TGFB1I1, estimula a migração. A isoforma 4 de PXN e TGFB1I1 tem expressão recíproca. Portanto, TGFB1, ao regular negativamente a isoforma 4 de PXN, possibilita a migração (TUMBARELLO *et al.*, 2005). Por fim, FST se liga diretamente a TGFB3 e bloqueia a transição epitélio-mesenquimal induzida por TGFB3. Na transição epitélio-mesenquimal induzida por TGFB3 há mudança de expressão de genes reguladores da apoptose (NOGAI *et al.*, 2008).

Além disso, a proteína MMP3 aumenta a expressão da isoforma B de RAC1, a qual se desloca para a membrana celular. FN1 contribui para a transição epitélio-mesenquimal ao se ligar ao seu receptor, ITGA5, o qual conserva a isoforma B de RAC1 na membrana celular. Por outro lado, LAM impede esse processo ao se ligar ao seu receptor, ITGA6, o qual sequestra a isoforma B de RAC1 (CHEN, QIKE K *et al.*, 2013).

Por fim, NRG3 se liga e ativa seu receptor, ERBB4, e induz MYC. Este é responsável pela redução de expressão de ITGB1 e ITGA6. Como ITGB1 e ITGA6 são moléculas de adesão, a redução de expressão por MYC causa redução de adesão e conseqüente aumento de migração, contribuindo para a indução do placódio (PANCHAL *et al.*, 2007).

4.1.4. INTERAÇÃO ENTRE EPITÉLIO E MESÊNQUIMA

Embora muitos genes já tenham sido associados à interação entre epitélio e mesênquima durante o desenvolvimento embrionário da mama, a função de alguns genes nesse processo permanece desconhecida. O que se pode afirmar com certeza é que essa interação apresenta papel essencial na formação do placódio e na diferenciação da glândula mamária.

Algumas vias de sinalização envolvidas na interação entre epitélio e mesênquima são TAC, HGF, PDGFA, IGF e THBS. O mRNA do precursor de TAC é co-expresso espacialmente e temporalmente com o mRNA de MME no mesênquima denso. MME é responsável pela degradação de TAC. Em geral, TAC atua como neurotransmissor e neuromodulador no sistema nervoso central e no sistema nervoso periférico. No entanto, há evidência de que TAC pode ter função também no desenvolvimento de órgãos não-neuronais que apresentam interação entre epitélio e mesênquima (como glândula mamária, dentes, membros, ouvido e genitália externa) (WEIL; ITIN; KESHET, 1995). MET e seu ligante, HGF, também estão envolvidos na interação entre epitélio e mesênquima durante o desenvolvimento embrionário da glândula mamária (MATSUMOTO; NAKAMURA, 1996). PDGFA é expresso no epitélio, enquanto seu receptor PDGFRA é expresso no mesênquima (ORR-URTREGER; LONAI, 1992). IGF1 e IGF2 são expressos no tecido conectivo adjacente ao epitélio, enquanto seu receptor IGF1R é expresso no epitélio. A perda de IGF1R provoca redução de proliferação no epitélio. Já a perda de ARHGAP5, um gene relacionado à sinalização de IGF, ocasiona redução de proliferação e diferenciação no mesênquima. A ausência de IRS1 e IRS2, ambos associados a ARHGAP5, causa também diminuição na proliferação do mesênquima (FORSYTH; GABAI; MORGAN, 1999; HECKMAN *et al.*, 2007). THBS está localizado no limite entre epitélio e mesênquima, sendo expresso tanto no epitélio quanto no mesênquima. Seu receptor CD36 é expresso, por outro lado, na camada de gordura adjacente, e seu outro receptor, ITGAV, embora expresso no epitélio, não colocaliza com THBS. THBS é uma glicoproteína de adesão envolvida em interações célula-célula e célula-matriz extracelular (PÉCHOUX *et al.*, 1994).

4.1.5. DIFERENCIAÇÃO

PTHLH é produzido no epitélio e, em seguida, interage com o mesênquima, estimulando a formação do mesênquima denso. Em contrapartida, o mesênquima envia sinais para o epitélio para a manutenção do comprometimento deste com a formação da glândula mamária, induzindo a formação dos ductos e do mamilo (FOLEY *et al.*, 2001; HENS *et al.*, 2007). PTHLH aumenta a expressão do receptor de BMP4, BMPR1A, no mesênquima, tornando as células mesenquimais responsivas à via de sinalização de BMP. Por um lado, a via de sinalização de BMP é necessária para a invasão do mesênquima pelas células epiteliais. Ao mesmo tempo, a via de sinalização de BMP promove o aumento na expressão de MSX2, o qual leva à inibição da formação dos folículos capilares (HENS *et al.*, 2007). Portanto, BMP ao mesmo tempo reprime a formação do pelo e contribui para a formação da mama. Além disso, o sinal de PTHLH, perpetuado a partir de seu receptor, PTH1R, regula a expressão de LEF1 e CTNNB1 no mesênquima, sugerindo interação entre esse sinal e o sinal de WNT (BORAS-GRANIC *et al.*, 2014; FOLEY *et al.*, 2001).

4.1.5.1. Via Hedgehog

A via Hedgehog é essencial para o desenvolvimento do pelo, mas não para o desenvolvimento da glândula mamária. Os integrantes da via Hedgehog SHH e IHH são expressos nos placódios. A função de SHH e IHH é a mesma: ativar PTCH. Na ausência de um ou de outro, o desenvolvimento dos placódios é normal, comprovando que a via Hedgehog não é vital para o desenvolvimento da glândula mamária (GALLEGO, MARTA I *et al.*, 2002; MICHNO *et al.*, 2003). O responsável por reprimir a via Hedgehog é GLI3 (HATSELL; COWIN, 2006).

4.1.6. POSICIONAMENTO DORSOVENTRAL

A interação entre TBX3 e BMP4 está associada ao posicionamento dorsoventral da glândula mamária. TBX3 e TBX15 são expressos no dorso, enquanto BMP4 é expresso no ventre. A expressão aumentada de TBX3 causa a extensão do placódio ao longo do eixo dorsoventral, comprovando a importância

desse gene para a fixação de limite para a área do placódio. A expressão aumentada de BMP4 provoca a inibição da expressão de TBX3 e TBX15, atestando a interação entre TBX3 e BMP4 (CHO *et al.*, 2006).

O ácido retinóico regula esse processo de posicionamento. A quantidade reduzida de ácido retinóico prejudica a expressão de TBX3, ao passo que a quantidade excessiva provoca a inibição de BMP4 e do sinal de WNT (a inibição do sinal de BMP por NOG causa a perda de expressão de LEF1). A expressão de ALDH1A2 (envolvido na síntese do ácido retinóico), de RARB (um dos receptores do ácido retinóico) e de FGF10 (reconhecido por sua importância na formação da glândula mamária) pode ser observado nos somitos adjacentes aos placódios 2, 3 e 4 em camundongo. Da mesma maneira, a expressão de RARB pode ser observada no epitélio, no mesênquima e na camada de gordura em camundongo. Esse padrão de expressão sugere a participação do sinal do ácido retinóico na interação entre epitélio e mesênquima. Já a expressão de CYP26A1 e CYP26B1 (responsáveis pela degradação do ácido retinóico) não é observada na região onde a glândula mamária se desenvolve (CHO *et al.*, 2006, 2012).

FGF10 é expresso nos somitos adjacentes aos placódios 2 e 3 em camundongo. Entretanto, a expressão de FGF10 varia de um placódio para o outro e dentro do mesmo placódio. Assim, propõem-se que a expressão de FGF10 corregulada por GLI3 é necessária para a determinação do padrão antero-posterior (VELTMAAT *et al.*, 2006).

4.1.7. SISTEMA NERVOSO NA GLÂNDULA MAMÁRIA

BDNF, produzido no mesênquima, e seu receptor, NTRK2, são necessários para o estabelecimento do sistema nervoso na glândula mamária em ambos os sexos. Posteriormente, no entanto, andrógenos promovem a expressão mesenquimal de NTRK2 truncado nos machos. Isso conduz à perda da inervação independente de apoptose neuronal na glândula mamária dos machos (LIU, YIN *et al.*, 2012). A expressão do receptor de andrógeno, AR, já foi comprovada na glândula mamária (WASNER; HENNERMANN; KRATOCHWIL, 1983).

4.2. ORIGEM DA VIA DE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

A figura 16 mostra a via dedesenvolvimento embrionário colorida de acordo com a origem de seus genes.

Title: Embryonic development
 Organism: Homo sapiens

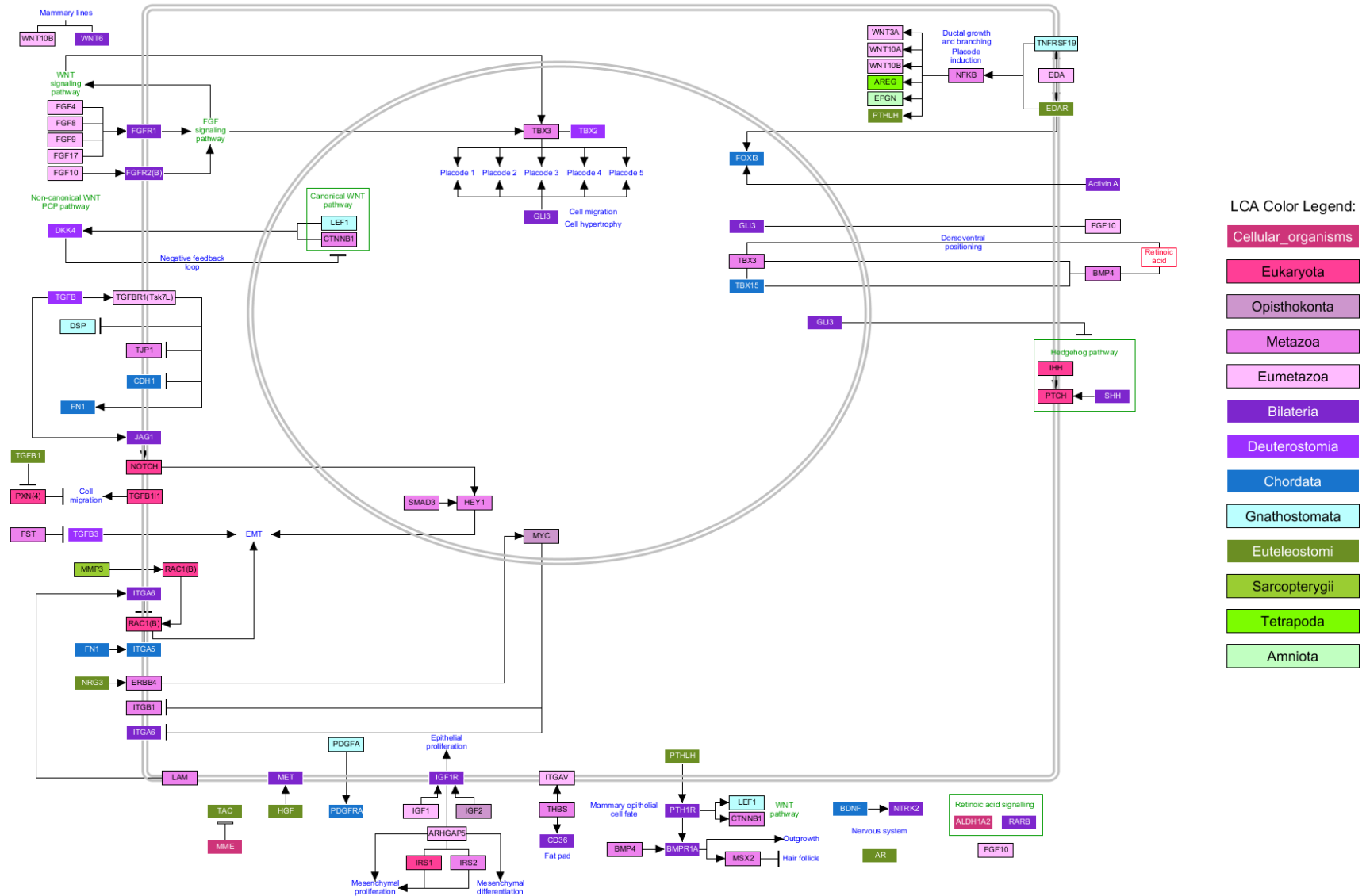


Figura 16: Via de desenvolvimento embrionário colorida de acordo com a origem dos seus genes.

De modo geral, as vias necessárias ao desenvolvimento embrionário da glândula mamária já estavam presentes em Euteleostomi (isto é, a maioria dos genes da via já havia surgido em Euteleostomi). Alguns exemplos são as vias de FGF e de WNT e os genes comprometidos na transição epitélio-mesenquimal (EMT). Alguns genes importantes para essa etapa de desenvolvimento só aparecem em Euteleostomi, como NRG3, HGF, PTHLH e EDAR. As adições posteriores a Euteleostomi são marginais: MMP3 em Sarcopterygii, AREG em Tetrapoda e EPGN em Amniota. Um caso curioso é o de NRG3 e de seu receptor, ERBB4: o receptor teve origem em Metazoa, enquanto o ligante só surgiu em Euteleostomi. Isso acontece também para os outros pares de receptores e ligantes: os ERBBs tiveram origem entre Opisthokonta e Gnathostomata, enquanto os NRGs tiveram origem entre Euteleostomi e Amniota (vide ANEXO III). Como a busca é iniciada pelo gene atual, pode ter ocorrido que um dos membros do par evoluiu para a forma atual mais recentemente, ou que realmente um dos membros passa a existir em período mais recente.

4.3. DESCRIÇÃO DA VIA DE PUBERDADE

A figura 17 mostra a via de puberdade.

Title: Puberty
Organism: Homo sapiens

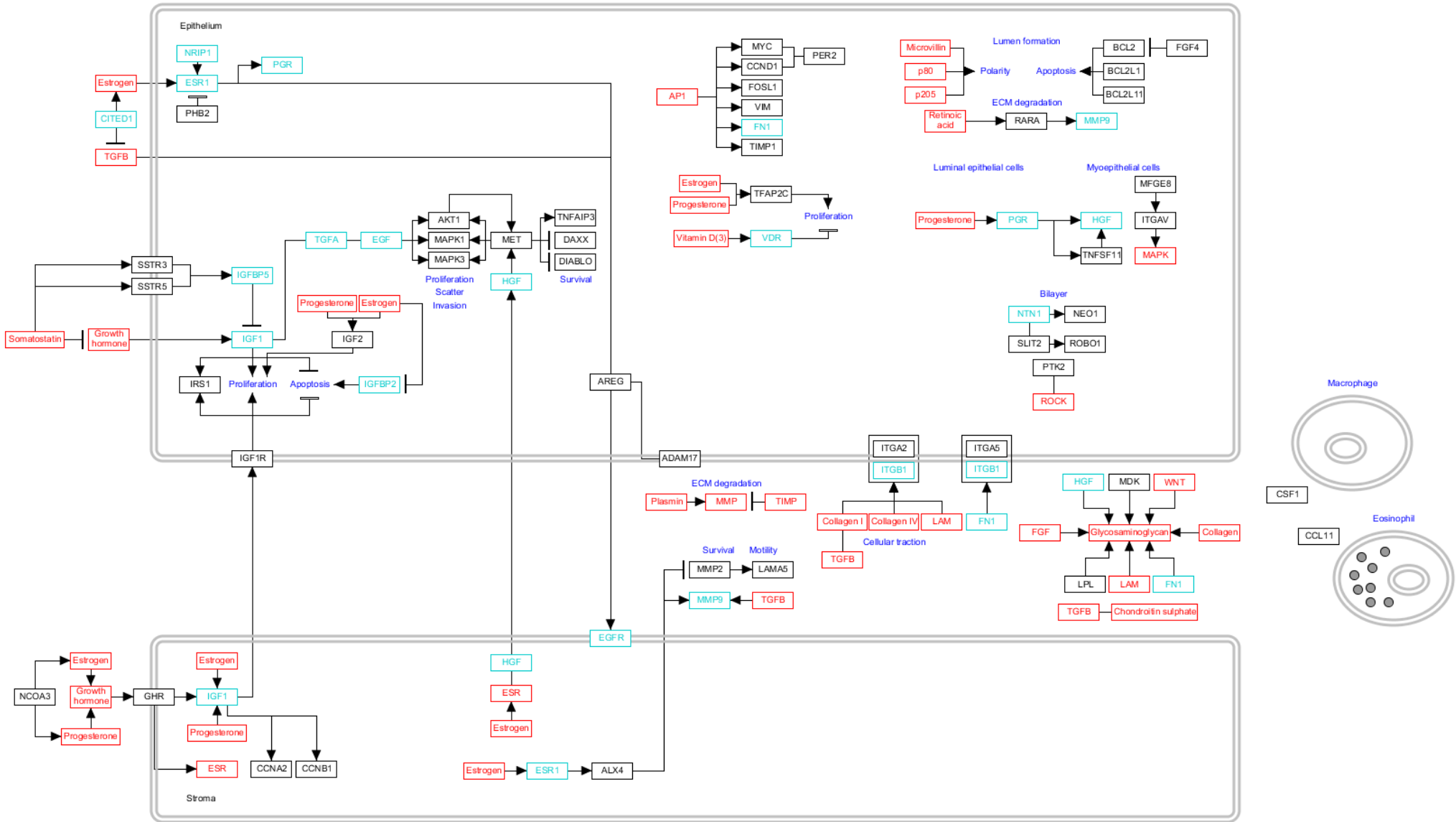


Figura 17: Via de puberdade.

4.3.1. TEBs

Uma via de sinalização essencial para os TEBs é a via de GH/IGF em que IGF está no nível mais baixo na hierarquia da via sendo, portanto, o responsável pelo efeito biológico associado à via. O objetivo dessa via é, por um lado, o estímulo à proliferação, e, por outro lado, a inibição da apoptose nos TEBs (RUAN, WEIFENG *et al.*, 2006). GH sinaliza através de seu receptor GHR no estroma, estimulando a produção de IGF1 (KLEINBERG, DAVID L; RUAN, 2008; KLEINBERG, D L; FELDMAN; RUAN, 2000; WALDEN *et al.*, 1998). Este último pode ser produzido tanto no estroma quanto no epitélio (RICHERT; WOOD, 1999; WOOD *et al.*, 2000) e dentre seus alvos estão IRS1 (RUAN, WEIFENG *et al.*, 2006), integrante da via de sinalização da insulina, e as ciclinas A2 (CCNA2) e B1 (CCNB1) (LOLADZE *et al.*, 2006), associadas ao controle do ciclo celular. IGF1 também sinergiza com TGFA e EGF para promover proliferação (PLAUT, 1993; STULL *et al.*, 2002). IGF2 teve sua expressão detectada apenas no epitélio, especificamente nos TEBs (RICHERT; WOOD, 1999; WOOD *et al.*, 2000), e essa expressão estava positivamente correlacionada com a proliferação desse tecido (ZHOU *et al.*, 2001).

A via de sinalização de GH/IGF é regulada por diversos fatores. Estrogênio e progesterona regulam tanto GH quanto IGF1 e IGF2 (KLEINBERG, DAVID L; RUAN, 2008; LANTINGA-VAN LEEUWEN; TIMMERMANS-SPRANG; MOL, 2002; RUAN, W *et al.*, 1995; WALDEN *et al.*, 1998; ZHOU *et al.*, 2001). Ainda, estrogênio diminui a expressão de um dos moduladores negativos das IGFs, IGFBP2 (ZHOU *et al.*, 2001). Em um *feedback* positivo, GH também regula a ação do estrogênio porque promove o aumento na expressão de ESR (FELDMAN *et al.*, 1999; KLEINBERG, D L; FELDMAN; RUAN, 2000). Outro regulador positivo da via de sinalização de GH/IGF é NCOA3 (XU *et al.*, 2000). Uma vez que NCOA3 é coativador de receptores de esteróides, a sua influência na via de sinalização de GH/IGF deve-se dar, possivelmente, por intervenção na ação dos hormônios esteróides (estrogênio e progesterona).

Em contrapartida, um regulador negativo da via de sinalização de GH/IGF é a somatostatina. Esse hormônio pode atuar de duas maneiras: uma sistêmica e uma local. No primeiro caso, a somatostatina diminui a secreção de GH pela hipófise e, conseqüentemente, a quantidade de IGF1 sistêmico. Já no segundo caso, a somatostatina se liga aos seus receptores, SSTR3 e SSTR5 e induz IGFBP5

(RUAN, WEIFENG *et al.*, 2006). IGFBPs são reconhecidas por modularem a ação das IGFs através de ligação de alta afinidade a estas proteínas (SURESHBABU; TONNER; FLINT, 2011). Durante a puberdade, a expressão de algumas IGFBPs foi identificada tanto no epitélio, especificamente nos TEBs, como IGFBP3 e IGFBP5, quanto no estroma, como IGFBP2, IGFBP3, IGFBP4 e IGFBP5 (ALLAR; WOOD, 2004; WOOD *et al.*, 2000). A expressão de IGFBP2 foi positivamente correlacionada à apoptose no epitélio (ZHOU *et al.*, 2001) e já foi demonstrado que IGFBP5 inibe o desenvolvimento da mama na puberdade por meio da inibição da via de sinalização de GH/IGF, especificamente atuando em IGF1 (RUAN, WEIFENG *et al.*, 2006).

Outro gene importante para os TEBs é HGF. Uma função desse gene é promover a proliferação nos TEBs. HGF é produzido no estroma e se liga ao seu receptor, MET, no epitélio (ACCORNERO *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 1995). HGF interage com EGF para ativar AKT1, MAPK1 e MAPK3. EGF também aumenta, através de AKT1, a expressão de MET. A ação conjunta de HGF e EGF promove, além da proliferação nos TEBs, a dispersão e a invasão do estroma pelas células epiteliais (ACCORNERO *et al.*, 2010; HASLAM, S Z; COUNTERMAN; NUMMY, 1993). Outra função de HGF está relacionada à sobrevivência das células epiteliais, visto que aumenta a expressão de TNFAIP3, gene antiapoptótico, e reduz a expressão de DIABLO, gene pró-apoptótico. A expressão de DAXX também é reduzida por HGF, mas não existe consenso se este gene apresenta função anti ou pró-apoptótica (LEROY *et al.*, 2006). HGF é regulado principalmente pelo estrogênio (ZHANG, HONG-ZHENG *et al.*, 2002).

Da mesma maneira que IGF e HGF, AREG é fundamental para o estabelecimento da interação entre epitélio e estroma. Uma vez produzido no epitélio, AREG precisa ser processado por ADAM17 na membrana das células epiteliais para que possa se ligar ao seu receptor, EGFR, no estroma (STERNLICHT *et al.*, 2005). AREG é regulado por estrogênio (através de ESR1), TGFB e CITED1. Este último é corregulador tanto de ESR quanto de SMAD4, um componente da via TGFB. Portanto, o efeito de CITED1 em AREG deve ser indireto através da mediação positiva da ação do estrogênio e negativa da ação de TGFB (HOWLIN *et al.*, 2006). Também de maneira indireta, AREG é regulado por NRIP e PHB2. NRIP atua como um coativador de ESR1, sendo recrutado juntamente com este para os promotores de seus genes-alvo. Além de AREG, NRIP corregula PGR, levando à

indução de vias mitogênicas (NAUTIYAL *et al.*, 2013). Já PHB2 é um correpressor de ESR1 (PARK, SUNGHEE *et al.*, 2011).

O fator de transcrição AP1 também é regulador chave da proliferação na glândula mamária. AP1 é um dímero composto por diferentes combinações de proteínas das famílias JUN, FOS e ATF. Esse fator de transcrição promove a proliferação porque regula os fatores de crescimento MYC e CCND1 (SHEN *et al.*, 2006). O gene associado ao controle do ciclo circadiano PER2 também está correlacionado a MYC e CCND1 (METZ *et al.*, 2006). Além disso, em um *feedback* positivo, AP1 regula FOSL1, um membro da família FOS. Ainda, AP1 regula os genes VIM, relacionado ao citoesqueleto, FN1, relacionado à adesão celular, e TIMP1, relacionado à remodelação da matriz extracelular (SHEN *et al.*, 2006).

Outro gene relacionado ao desenvolvimento dos TEBs é TFAP2C que codifica o fator de transcrição AP2 γ . Este gene é expresso nas *body cells* e nas *cap cells* e sua ausência provoca redução na proliferação nos TEBs. TFAP2C é regulado por estrogênio e progesterona (JÄGER *et al.*, 2010). A vitamina D, detectada pelo seu receptor VDR presente nos TEBs e também no estroma, apresenta, por outro lado, associação negativa com os TEBs, regulando o seu crescimento (ZINSER; PACKMAN; WELSH, 2002).

4.3.2. FORMAÇÃO DO LÚMEN

A formação do lúmen se dá através de apoptose nas *body cells*. BCL2, BCL2L1 e BCL2L11 estão envolvidos nesse processo (HUMPHREYS, R C, 1999; HUMPHREYS, R C *et al.*, 1996; MAILLEUX, ARNAUD A *et al.*, 2007). O gene BAX, outro regulador do processo apoptótico, não se correlaciona com a ocorrência de apoptose, embora também seja expresso nos TEBs (HUMPHREYS, R C *et al.*, 1996). FGF4 interfere na ação de BCL2, diminuindo a ocorrência de apoptose, o que sugere a participação desse gene no controle de apoptose (ASTIGIANO; DAMONTE; BARBIERI, 2003).

Além disso, as células luminais precisam adquirir polaridade durante a formação do lúmen. Microvilina, p80 e p205 estão co-localizadas nas células dos TEBs. Com a diferenciação do lúmen, microvilina, p80 e p205 são redistribuídas: microvilina e p80 vão para o pólo apical das células luminais, enquanto p205 migra

para a base das células luminais (em contato com as células mioepiteliais) (DULBECCO; ALLEN; BOWMAN, 1984).

O ácido retinóico é conhecido por induzir a organização do lúmen. O ácido retinóico cumpre essa função, provavelmente, através da regulação positiva de MMP9. As metaloproteinases de matriz, como MMP9, estão envolvidas na degradação de componentes da matriz extracelular (MONTESANO; SOULIÉ, 2002).

4.3.3. CÉLULAS EPITELIAIS LUMINAIS E CÉLULAS MIOEPITELIAIS

HGF aumenta a proliferação das células epiteliais luminais e das células mioepiteliais sob o controle da progesterona. Nas células epiteliais luminais, a progesterona se liga ao seu receptor, PGR, e induz HGF e TNFSF11. Em seguida, TNFSF11 migra para as células mioepiteliais (as quais não expressam PGR) e também induz HGF (HASLAM, SANDRA Z *et al.*, 2008).

MFGE8 também influencia a proliferação das células epiteliais luminais e das células mioepiteliais. MFGE8 é expresso em ambos os tipos celulares. Nas células mioepiteliais, MFGE8 se liga ao seu receptor, ITGAV, conduzindo à ativação de MAPK e à proliferação (ENSSLIN; SHUR, 2007).

4.3.4. BICAMADA

O padrão de expressão de NTN1 e seu receptor NEO, o primeiro expresso nas *body cells* e o segundo nas *cap cells*, sugere a participação desse par na adesão entre esses tipos celulares precursores das células constituintes da bicamada (SRINIVASAN *et al.*, 2003). Após a diferenciação das *body cells* e das *cap cells* em células epiteliais luminais e células mioepiteliais, respectivamente, NTN1 ainda contribui para a produção da bicamada através de sinergismo com SLIT2 (STRICKLAND *et al.*, 2006). Este último e seu receptor, ROBO1, contribuem para a adesão porque o primeiro é expresso nas células epiteliais luminais e nas células mioepiteliais enquanto o segundo é expresso apenas nas células mioepiteliais (STRICKLAND *et al.*, 2006). PTK2, de uma maneira dependente de ROCK, mantém essa organização em bicamada (VAN MILTENBURG *et al.*, 2009).

4.3.5. PARTICIPAÇÃO DO ESTROMA

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são indispensáveis ao desenvolvimento da glândula mamária durante a puberdade. Como citado anteriormente, MMPs participam da remodelação da matriz extracelular, sendo reguladas positivamente por plasmina e negativamente por TIMP (SIMIAN *et al.*, 2001; URIA; WERB, 1998). O padrão de distribuição das MMPs está relacionado à organização espacial da glândula mamária durante a puberdade. A quantidade de MMP14 em torno dos TEBs é grande, enquanto a quantidade de MMP2 em torno da região de ramificação lateral (“pescoço” dos TEBs) é pequena, e a expressão de MMP3 e MMP9 é homogênea ao longo do estroma (GJOREVSKI; NELSON, 2011). ALX4 sob a intervenção do estrogênio através de ESR1 provoca alteração na expressão de MMP2 e MMP9: há correspondência negativa entre a expressão de ALX4 e MMP2 e correspondência positiva entre a expressão de ALX4 e MMP9 (JOSHI; CHANG; HAMEL, 2006). MMP2 contribui para a ramificação tanto porque promove a sobrevivência celular quanto a mobilidade através da clivagem de LAMA5 (GIANNELLI *et al.*, 1999; GJOREVSKI; NELSON, 2011).

O colágeno tipo I, o colágeno tipo IV e a laminina (LAM) se ligam ao receptor composto por ITGA2 e ITGB1. A expressão de colágeno tipo I e LAM é controlada espacialmente: o colágeno tipo I é abundante em torno dos ductos, enquanto LAM é abundante próximo aos TEBs. Esse padrão de expressão espacial sugere a participação do colágeno tipo I na formação dos ductos e de LAM no desenvolvimento dos TEBs. A expressão desses genes também é regulada temporalmente: a expressão de colágeno tipo I precede a expressão de colágeno tipo IV que precede, por sua vez, a expressão de LAM (CHEN, JIANCHUN *et al.*, 2002; KEELY; WU; SANTORO, 1995). É proposto que esses genes são necessários para permitir a tração celular através do estroma (KLINOWSKA *et al.*, 1999). A tubulogênese induzida por HGF é dependente de ITGB1 (KLINOWSKA *et al.*, 1999).

FN1 se liga ao receptor composto por ITGA5 e ITGB1. FN1 está sob influência do estrogênio e da progesterona. É proposto que FN1 está envolvido na regulação da proliferação (WOODWARD *et al.*, 2001).

Proteoglicanos são constituídos pela associação de uma proteína a uma cadeia de glicosaminoglicano (a cadeia de glicosaminoglicano pode ser constituída por sulfato de heparan, sulfato de condroitina, sulfato de dermatan, sulfato de

keratan ou ácido hialurônico). Fatores de crescimento e fatores de morfogênese, tais como FGF, HGF, MDK e WNT, proteínas da matriz extracelular, tais como colágeno, FN1 e LAM, e enzimas, como LPL, se ligam às cadeias de glicosaminoglicanos. Uma vez que diversas proteínas podem se ligar a um único proteoglicano, sugere-se que os proteoglicanos atuam como multirreceptores integrando vários sinais celulares (DELEHEDDE *et al.*, 2001). A distribuição espacial dos glicosaminoglicanos está associada ao crescimento. Próximo à “cabeça” dos TEBs, região de crescimento, há a síntese de ácido hialurônico, enquanto próximo ao “pescoço” dos TEBs, região de formação dos ductos, há a síntese de glicosaminoglicanos sulfatados (SILBERSTEIN; DANIEL, 1984).

4.3.6. PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

A presença de macrófagos e eosinófilos está associada ao desenvolvimento dos TEBs e à ramificação da glândula mamária durante a puberdade (GOUON-EVANS; ROTHENBERG; POLLARD, 2000). Macrófagos e eosinófilos são recrutados para a mama a partir de sinais disparados pelo epitélio: CSF1 está implicado no recrutamento de macrófagos e CCL11 (eotaxina) está implicado no recrutamento de eosinófilos (GJOREVSKI; NELSON, 2011; VAN NGUYEN; POLLARD, 2002). Dentre as funções dos macrófagos está a promoção da formação de fibras longas de colágeno em torno do “pescoço” dos TEBs (o que, por sua vez, está relacionado ao crescimento dos ductos) (GJOREVSKI; NELSON, 2011; INGMAN *et al.*, 2006). Além disso, os macrófagos também realizam fagocitose de células epiteliais apoptóticas (o que, por sua vez, está relacionado ao desenvolvimento dos ductos) (GOUON-EVANS; ROTHENBERG; POLLARD, 2000). Enquanto os macrófagos são mais abundantes na região do “pescoço” dos TEBs, os eosinófilos encontram-se predominantemente em torno da “cabeça” dos TEBs. Na ausência dos eosinófilos, a ramificação da glândula mamária é afetada, mas o crescimento dos ductos não. Isso indica que o papel dos eosinófilos é mais relevante para a ramificação (GOUON-EVANS; ROTHENBERG; POLLARD, 2000).

4.3.7. REGULAÇÃO NEGATIVA

TGFB tanto inibe quanto estimula o desenvolvimento da glândula mamária durante a puberdade. A quantidade de TGFB determina seu efeito: grande quantidade tem efeito inibitório enquanto pequena quantidade tem efeito estimulante (MONTESANO; CARROZZINO; SOULIÉ, 2007; SORIANO; ORCI; MONTESANO, 1996). A ação negativa de TGFB consiste em inibir a proliferação das *cap cells*, tornando os TEBs inativos e conduzindo à suspensão do crescimento e da ramificação dos ductos (PLAUT, 1993; ROBINSON, S D *et al.*, 1991; SILBERSTEIN; DANIEL, 1987). A matriz extracelular é rica em TGFB ao redor dos TEBs inativos (SILBERSTEIN *et al.*, 1992, p. 1). TGFB também interage com a matriz extracelular ao mediar a deposição de colágeno tipo I e sulfato de condroitina (um glicosaminoglicano) (HOWLETT; BISSELL, 1993). Há evidências de que as isoformas de TGFB (TFB1, TGFB2 e TGFB3) são funcionalmente equivalentes (DANIEL; ROBINSON, 1992; ROBINSON, S D *et al.*, 1991). TGFB3 é a única isoforma encontrada nas *cap cells* e nas células mioepiteliais (DANIEL; ROBINSON, 1992; ROBINSON, S D *et al.*, 1991). O efeito negativo de TGFB é reversível (DANIEL; ROBINSON, 1992; ROBINSON, S D *et al.*, 1991; SILBERSTEIN; DANIEL, 1987). Já o efeito estimulante de TGFB se dá através de MMP9 (MONTESANO; CARROZZINO; SOULIÉ, 2007).

4.4. ORIGEM DA VIA DE PUBERDADE

A figura 18 mostra a via de puberdade colorida de acordo com a origem de seus genes.

Title: Puberty
 Organism: Homo sapiens

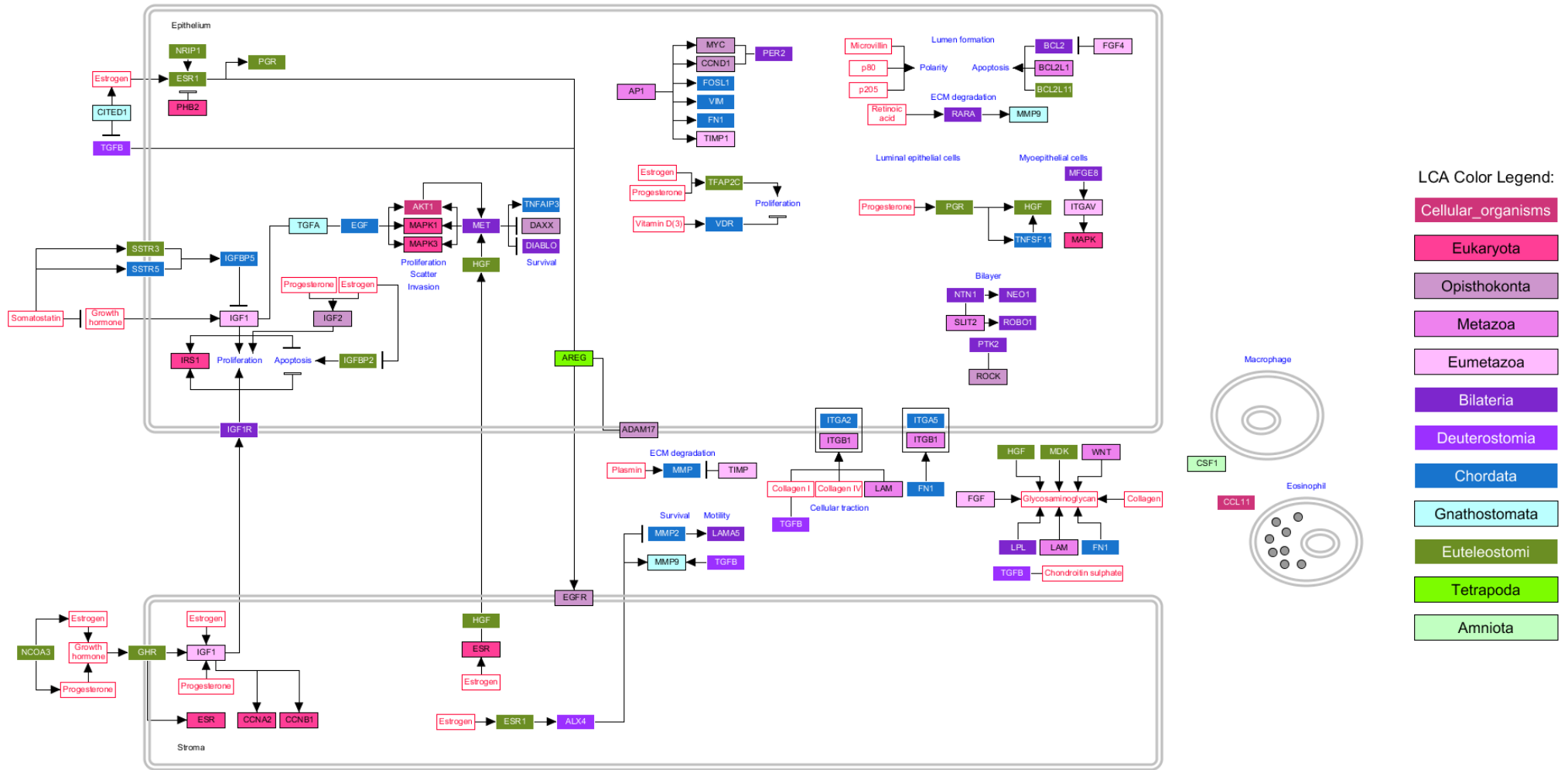


Figura 18: Via de puberdade colorida de acordo com a origem dos seus genes.

Do mesmo modo que a via de desenvolvimento embrionário, a via de puberdade já podia existir em Euteleostomi, visto que a maioria dos seus genes já estava presente. Vale destacar que em Euteleostomi surgiu o receptor do hormônio de crescimento, GHR, o que possibilitou a sinalização intracelular da via de GH/IGF, via crucial para essa fase de desenvolvimento. Também como na via de desenvolvimento embrionário, os genes com origem após Euteleostomi são marginais: AREG em Tetrapoda e CSF1 em Amniota.

4.5. DESCRIÇÃO DA VIA DE GRAVIDEZ E LACTAÇÃO

A figura 19 mostra a via de gravidez e lactação.

Title: Pregnancy and lactation
Organism: Homo sapiens

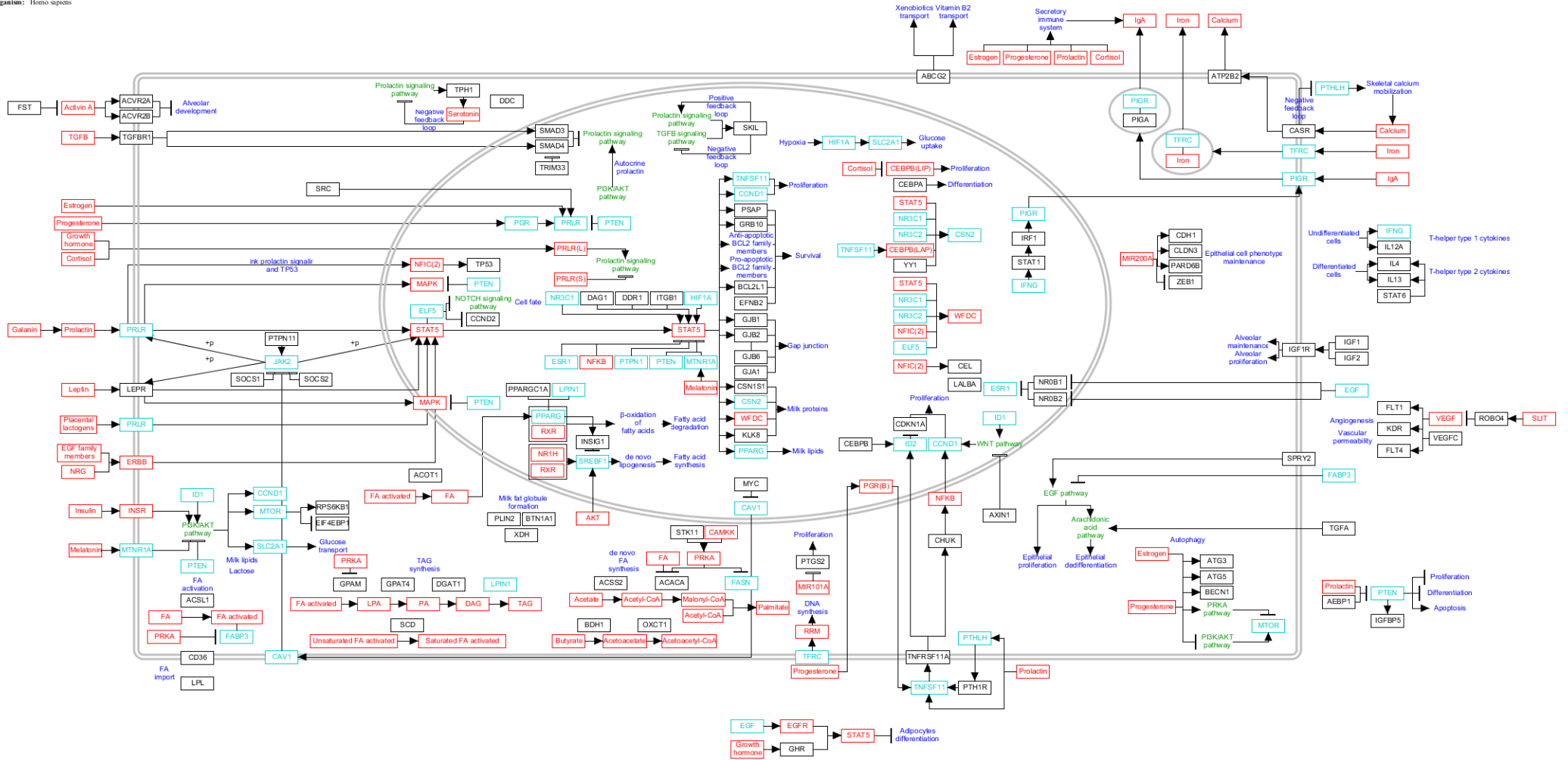


Figura 19: Via de gravidez e lactação.

4.5.1. PROLIFERAÇÃO EPITELIAL

TNFSF11 se liga ao seu receptor, TNFRSF11A, levando à ativação de CHUK. Este último faz parte de um complexo que inibe o inibidor de NFκB, ou seja, a ativação de CHUK resulta na ativação de NFκB. O alvo de NFκB é CCND1, o qual promove a proliferação do epitélio. CCND1 também é alvo da via de WNT, a qual é modulada positivamente por ID1 e negativamente por AXIN1. Por outro lado, TNFSF11 promove a translocação de ID2 para o núcleo, onde este inibe CDKN1A, o que também conduz à proliferação do epitélio. CEBPB também ativa ID2. Progesterona e prolactina tem relação positiva com TNFSF11. Progesterona, através de seu receptor tipo B, PGR(B), estimula TNFSF11. O receptor tipo A da progesterona, PGR(A), também é expresso na glândula mamária. No entanto, as redes de genes reguladas por cada tipo de receptor são parcialmente distintas. A prolactina pode agir sobre TNFSF11 diretamente ou indiretamente através de PTHLH (CAO *et al.*, 2001; CONNEELY; MULAC-JERICEVIC; ARNETT-MANSFIELD, 2007; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; HOFBAUER; HEUFELDER, 2001; HSU; SHAKYA; COSTANTINI, 2001; KARAYA *et al.*, 2005; KIM, NAM-SHIK *et al.*, 2006, p. 2; MARTIN; GILLESPIE, 2001; MULAC-JERICEVIC *et al.*, 2003; SANTOS; HASLAM; CONRAD, 2010; SHIN *et al.*, 2011).

IGF2 (através de seu receptor, IGF1R) está associado à proliferação das células dos alvéolos durante a gestação, enquanto IGF1 (através de seu receptor, IGF1R) está associado à manutenção dos alvéolos durante a lactação (BERLATO; DOPPLER, 2009; HADSELL; BONNETTE; LEE, 2002; RICHERT; WOOD, 1999).

Outra via de sinalização envolvida na proliferação do epitélio é a via de EGF. Essa via tanto está vinculada à proliferação quanto à desdiferenciação do epitélio, embora as rotas moleculares que conduzem a um ou a outro efeito sejam independentes. A desdiferenciação é impulsionada também por TGFA, sendo mediada pela via do ácido araquidônico em ambos os casos. Dessa maneira, EGF e TGFA contribuem para a alveologênese e previnem, ao mesmo tempo, o início prematuro da lactação. A expressão de SPRY2 se correlaciona com a ativação da via de EGF. Já FABP3 suprime EGF, o que está em conformidade com o entendimento de que FABP3 inibe a proliferação e estimula a diferenciação do epitélio. EGF também influencia a ação do estrogênio na medida em que regula

negativamente os corepressores de ESR1, NR0B1 e NR0B2 (FAULDS *et al.*, 2004; SIGURDSSON *et al.*, 2013; SPITZER *et al.*, 1995; YANG *et al.*, 1994).

O microRNA MIR101A influencia a proliferação do epitélio possivelmente por meio da repressão de PTGS2 (TANAKA *et al.*, 2009).

TFRC influencia a proliferação do epitélio possivelmente por tratar-se de um transportador de ferro, sendo o ferro necessário para a atividade de RRM, enzima essencial para a síntese de DNA (SCHULMAN *et al.*, 1989).

4.5.2. FENÓTIPO EPITELIAL

O microRNA MIR200A está positivamente relacionado à marcadores epiteliais, como CDH1, CLDN3 e PARD6B, e negativamente relacionado ao marcador de transição epitélio-mesenquimal ZEB1. Isso significa que MIR200A contribui para a manutenção do fenótipo epitelial (BOUSSADIA *et al.*, 2002; NAGAOKA *et al.*, 2013).

Há mudança no padrão de expressão de citocinas comumente associadas ao sistema imunológico durante a diferenciação das células epiteliais: as células epiteliais não-diferenciadas expressam citocinas de T-helper tipo 1, como IFNG e IL12A, e as células epiteliais diferenciadas expressam citocinas de T-helper tipo 2, como IL4 e IL13. STAT6 também influencia a expressão de IL4 e IL13 (WATSON, C. J., 2009).

4.5.3. AUTOFAGIA

Estrogênio e progesterona estimulam a expressão dos genes relacionados à autofagia ATG3, ATG5 e BECN1. Ao mesmo tempo, esses hormônios regulam positivamente a via de PRKA e negativamente a via de PI3K/AKT, as quais conduzem à inativação e à ativação de MTOR, respectivamente, e, por sua vez, a inativação de MTOR conduz à autofagia. A autofagia está envolvida na formação do lúmen dos alvéolos (ZIELNIOK; MOTYL; GAJEWSKA, 2014).

4.5.4. VASCULARIZAÇÃO

Os genes implicados no estabelecimento da vascularização durante a gravidez são VEGF, cujos receptores são FLT1 e KDR, e VEGFC, cujos receptores são KDR e FLT4. É proposto também que esse conjunto de genes regula a permeabilidade vascular durante a lactação. O controle do crescimento dos vasos sanguíneos é executado por SLIT, o qual reprime, através de ROBO4, a via de sinalização de VEGF (MARLOW *et al.*, 2010; PEPPER *et al.*, 2000).

4.5.5. STAT5

Um agente primordial para o desenvolvimento da glândula mamária durante a gravidez e a lactação é STAT5. A associação entre STAT5A e o desenvolvimento da mama tem sido amplamente estudada, enquanto a função de STAT5B, membro da família STAT mais próximo a STAT5A, é menos clara. No entanto, já foi demonstrado que STAT5B pode compensar a ausência de STAT5A em certas condições, demonstrando a plasticidade da glândula mamária (LIU, X. *et al.*, 1998). Várias vias de sinalização conduzem à ativação de STAT5 durante a gravidez e a lactação: via de sinalização da prolactina, via de sinalização da família EGF e NRGs e via de sinalização da leptina.

4.5.5.1. Via de sinalização da prolactina

Tanto a prolactina (produzida pela hipófise) quanto o lactogênio placentário (produzido pela placenta) podem se ligar a seu receptor, PRLR, e conduzir à ativação de STAT5. No primeiro caso, particularmente, a prolactina se liga a PRLR, levando à fosforilação deste por JAK2 e consequente acoplamento de STAT5. No início da gestação, a prolactina cumpre a função de indução do desenvolvimento da glândula mamária. Já do meio da gravidez até o parto, o lactogênio placentário cumpre essa função. Após o parto, há o retorno da prolactina (GALLEGO, M. I. *et al.*, 2001; HENNIGHAUSEN, L. *et al.*, 1997; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; LIU, X. *et al.*, 1997, 1998; OLIVER; WATSON, 2013, p. 1; SHILLINGFORD *et al.*, 2002).

Além de seu papel na ativação de STAT5, a prolactina também é responsável pela ativação da via de MAPK (HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005).

Por fim, há uma conexão entre a prolactina e TP53. Durante a gravidez, a prolactina mantém altos os níveis proteicos da isoforma 2 de NFIC, a qual é responsável pela ativação de TP53. Como TP53 é supressor de tumor, a prolactina controla também a proliferação durante a gestação (JOHANSSON *et al.*, 2005).

4.5.5.2. Via de sinalização da família EGF e NRGs

Outro caminho para a ativação de STAT5 é através da via de sinalização iniciada por membros da família EGF ou por NRGs a partir de ligação a receptores ERBB. Alguns exemplos de fatores de crescimento tipo EGF ligantes a receptores ERBB são EGF, TGFA, AREG, HBEGF, BTC e EREG. Já o grupo das NRGs é composto por quatro integrantes: NRG1, NRG2, NRG3 e NRG4. Não há consenso sobre quais membros da família EGF se ligam a quais receptores ERBB. Da mesma maneira, não há consenso sobre quais NRGs se ligam a quais receptores ERBB. O grupo de receptores ERBB é composto por quatro integrantes (EGFR, ERBB2, ERBB3 e ERBB4), os quais sofrem homodimerização ou heterodimerização. Quais dímeros são formados e em quais circunstâncias também não está esclarecido. A dimerização leva à autofosforilação da parte citoplasmática dos receptores ERBB e consequente acoplamento de moléculas sinalizadoras, como SHC, GRB2, SRC, PTPN6 e PTPN11, e ativação de vias, como RAS-MAPK, PI3K e STAT. Especificamente, já foi relatado que NRG1 está positivamente relacionada à fosforilação de STAT5 e ERBB4 ativa STAT5 (GENG; LI, 2010; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; JONES; STERN, 1999; JUNTILA *et al.*, 2000; TROYER; LEE, 2001).

4.5.5.3. Via de sinalização da leptina

A leptina se liga ao seu receptor, LEPR, levando à fosforilação deste por JAK2 e consequente acoplamento de STAT5. Além disso, do mesmo modo que a prolactina, a leptina também ativa a via de MAPK. Na gravidez, a leptina estimula a proliferação e diferenciação das células epiteliais ductais através da via de sinalização de MAPK. Já na lactação, a leptina induz a expressão de CSN2 através

da via de sinalização JAK2-STAT5 (BARATTA; GROLLI; TAMANINI, 2003; KOCH *et al.*, 2013; LAUD *et al.*, 1999; LI; LI; GAO, 2010; LIN; LI, 2007).

4.5.5.4. STAT5 e ELF5

Outro agente primordial para o desenvolvimento da glândula mamária durante a gravidez e a lactação é ELF5. Há a participação desse gene em, pelo menos, dois processos durante essa fase de desenvolvimento da mama: na alveologênese através da via de PRLR/JAK2/STAT5 e na determinação do destino das células através da via de sinalização de NOTCH. Muitos estudos já demonstraram a interação entre STAT5 e ELF5 para a expressão de proteínas do leite, e também que ELF5 está sob o controle da via de sinalização da prolactina. Por outro lado, ELF5 regula as células-tronco/células progenitoras através da repressão da via de sinalização de NOTCH. ELF5 também reprime CCND2 (CHAKRABARTI *et al.*, 2012; CHOI *et al.*, 2009, p. 5; ESCAMILLA-HERNANDEZ *et al.*, 2010; HARRIS *et al.*, 2006; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005).

4.5.5.5. Alvos de STAT5

Dentre os alvos de STAT5, descritos a seguir, estão genes relacionados à proliferação, à sobrevivência e às junções celulares, e à produção das proteínas e dos lipídeos do leite.

TNFSF11 e CCND1 estão associados à proliferação das células dos alvéolos durante a gravidez (HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; HOFBAUER; HEUFELDER, 2001; SANTOS; HASLAM; CONRAD, 2010).

Já PSAP e GRB10 são fatores de sobrevivência para as células dos alvéolos. STAT5 ainda regula tanto membros pró-apoptóticos quanto antiapoptóticos da família BCL2. Um exemplo de membro da família BCL2 regulado por STAT5 é BCL2L1 (CLARKSON *et al.*, 2006; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; REICHENSTEIN; RAUNER; BARASH, 2011).

Outro fator de sobrevivência para as células dos alvéolos é EFNB2. Esse fator está envolvido na manutenção dos contatos entre as células dos alvéolos. Desse modo, a ausência de EFNB2 leva a apoptose das células dos alvéolos durante a lactação (WEILER *et al.*, 2009).

STAT5 também está associado aos componentes de junções do tipo *gap* GJB1 e GJB2. As junções do tipo *gap* permitem a passagem de moléculas solúveis em água entre as células dos alvéolos. A localização dos diferentes componentes de junções do tipo *gap* e a composição dessas junções variam ao longo da gravidez e da lactação. GJB1 e GJB2 estão localizadas nas células luminais e GJB2 colocaliza com GJB6, enquanto GJA1 está localizada nas células mioepiteliais. A expressão de GJB1 é restrita ao parto. Dentre os diferentes componentes de junções do tipo *gap*, GJB2 é comprovadamente essencial para a gravidez e para a lactação (BRY *et al.*, 2004; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; LOCKE *et al.*, 2007; REICHENSTEIN; RAUNER; BARASH, 2011; STEWART *et al.*, 2014).

As proteínas do leite sob o controle de STAT5 são CSN1S1, CSN2, WFDC e KLK8. Já o gene relacionado aos lipídeos do leite sob o controle de STAT5 é PPARG (BIONAZ; LOOR, 2008; CLARKSON *et al.*, 2006; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; OLIVER; WATSON, 2013, p. 1; ROSEN *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 2014).

STAT5 também está envolvido na inibição da diferenciação dos adipócitos. Uma possível razão para tal inibição reside no fato de que, durante a gravidez, há retrocesso do tecido adiposo para ocupação pelo tecido epitelial. Enquanto no epitélio a ativação de STAT5 é disparada principalmente pela prolactina, no estroma o hormônio do crescimento e EGF são os responsáveis por tal ativação (GALLEGO, M. I. *et al.*, 2001; NAKATANI *et al.*, 2010).

4.5.6. REGULAÇÃO DE STAT5

Uma vez que há várias rotas para a ativação de STAT5, a regulação desse agente é resultado da regulação dessas várias rotas. Dessa maneira, há vários pontos de regulação. Além disso, alguns genes regulam STAT5 diretamente.

4.5.6.1. Regulação da via de sinalização da prolactina

A regulação da via de sinalização da prolactina se dá principalmente pela regulação de seu receptor, PRLR. Estrogênio, progesterona (através de PGR), hormônio do crescimento e cortisol estimulam PRLR. Hormônio do crescimento e cortisol especificamente aumentam a proporção de isoforma longa para isoforma

curta de PRLR através de influência no *splicing* alternativo que leva à expressão da isoforma longa de PRLR. Apenas a isoforma longa de PRLR é capaz de estimular a expressão de proteínas do leite. Ainda, a isoforma curta de PRLR é dominante-negativa e a sua expressão compromete, portanto, a função da mama durante a lactação (ALLAN *et al.*, 2002; CASSY *et al.*, 2000; CONNEELY; MULAC-JERICEVIC; ARNETT-MANSFIELD, 2007; OLIVER; WATSON, 2013, p. 1; SAUNIER *et al.*, 2003).

Outro hormônio que regula a prolactina é a galanina. Esse hormônio tem ação indireta no desenvolvimento da mama visto que estimula as células produtoras de prolactina, na hipófise. Porém, um efeito direto já foi relatado (HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005).

SRC também influencia positivamente PRLR (WATKIN *et al.*, 2008).

É importante ressaltar a existência de ligação entre a via de PI3K/AKT e a via de sinalização da prolactina. Especificamente, a via de PI3K/AKT ativa a produção autócrina de prolactina. Portanto, alterações na via de PI3K/AKT tem impacto na via de sinalização da prolactina e, conseqüentemente, no desenvolvimento da glândula mamária durante a gravidez e a lactação (OLIVER; WATSON, 2013, p. 1).

A via de TGFB também interage com a via de sinalização da prolactina. TGFB, através de seu receptor tipo I, TGFBR1, ativa SMAD3 e SMAD4, os quais são os responsáveis pela inibição da via de sinalização da prolactina (HESLING *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2008).

Outro gene envolvido na interação entre as vias da prolactina e de TGFB é TRIM33, o qual libera a via de sinalização da prolactina na medida em que inibe SMAD4 (HESLING *et al.*, 2013).

Além disso, em um *feedback* positivo, a via de sinalização da prolactina estimula SKIL, o qual, em contrapartida, promove a via de sinalização da prolactina através da estabilização de STAT5. Por outro lado, em um *feedback* negativo, a via de TGFB estimula SKIL, o qual é regulador negativo da via de TGFB (JAHCHAN *et al.*, 2012).

4.5.6.2. Regulação de JAK2

Outro ponto de regulação de STAT5 é JAK2. PTPN11 e MYC favorecem JAK2, enquanto SOCS1, SOCS2 e CAV1 se opõem a ele. Em geral, PTPNs tem

relação negativa com STATs, visto que essas enzimas são fosfatases que catalisam a desfosforilação dos STATs, impedindo a sua translocação para o núcleo (e a sua ação, conseqüentemente). No entanto, PTPN11 contribui para a estabilização da associação entre PRLR e JAK2 através do bloqueio da associação de JAK2 com SOCS1, o qual é regulador negativo da ativação de STAT5, conforme descrito a seguir. De maneira semelhante, MYC colabora com a ativação de STAT5 porque reprime a expressão de CAV1, o qual sequestra JAK2. Por outro lado, SOCS1 e SOCS2 interagem com JAK2 impossibilitando a sua ação (BLAKELY *et al.*, 2005; HARRIS *et al.*, 2006; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; KE *et al.*, 2006; LINDEMAN *et al.*, 2001; PARK, DAVID S. *et al.*, 2002).

4.5.6.3. Regulação de STAT5

Glicocorticóides contribuem para a produção das proteínas do leite através da associação de seu receptor comum, NR3C1, com STAT5. A interação com a matriz extracelular também está envolvida na regulação de STAT5. DAG1, que codifica distroglicano, DDR1, que codifica um tipo de receptor de colágeno, e ITGB1, que codifica a subunidade beta 1 das integrinas, tem relação positiva com a ativação de STAT5. Ainda, HIF1A, mediador de hipóxia, aumenta a fosforilação de STAT5 (CELLA; GRONER; HYNES, 1998; FARACI-ORF; MCFADDEN; VOGEL, 2006; GRONER, 2002; LEONOUDAKIS *et al.*, 2010; NAYLOR *et al.*, 2005; ROSEN *et al.*, 1998; SHAO; ZHAO, 2014).

Já ESR1 interage fisicamente com STAT5 para impedir a sua atividade. Também NFkB e PTPN1 impedem a ação de STAT5. O objetivo da inibição de STAT5 é evitar a diferenciação prematura da glândula mamária, ou seja, evitar que a lactação comece ainda no período de gestação (FAULDS *et al.*, 2004; GEYMAYER; DOPPLER, 2000; MILANI *et al.*, 2013; REICHENSTEIN; RAUNER; BARASH, 2011).

4.5.7. VIA DE PI3K/AKT

Insulina (através de seu receptor, INSR) e ID1 ativam a via de PI3K/AKT. Dentre os alvos da via de PI3K/AKT estão genes relacionados à proliferação e à diferenciação da glândula mamária. CCND1 e MTOR pertencem ao primeiro conjunto de genes. Os alvos de MTOR são RPS6KB1 e EIF4EBP1, sendo que o

primeiro está relacionado à proliferação e a progressão do ciclo celular. Já SLC2A1 pertence ao segundo grupo. Além disso, como exposto acima, essa via está intimamente ligada à via de sinalização da prolactina. A via de PI3K/AKT também é importante para a produção dos lipídeos do leite e da lactose, como exposto a seguir. Portanto, a via de PI3K/AKT influencia tanto processos que ocorrem na gravidez quanto na lactação (BERLATO; DOPPLER, 2009; OLIVER; WATSON, 2013, p. 1; SCHWERTFEGER, KATHRYN L. *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2011).

4.5.8. COMPONENTES DO LEITE

Os principais componentes do leite são proteínas, lipídeos, carboidratos, água, sais minerais e vitaminas. O leite ainda pode ter em sua composição hormônios e fatores de crescimento, enzimas e proteínas celulares, metabólitos celulares, células (tanto leucócitos quanto células somáticas), imunoglobulinas e, inclusive, agentes infecciosos e toxinas.

4.5.8.1. Proteínas do leite

As principais proteínas do leite são CSN2 e WFDC. CSN2 é alvo de STAT5, conforme descrito acima. CSN2 também pode ser induzido diretamente por NR3C1 ou indiretamente através da influência de NR3C1 sobre STAT5, conforme descrito acima. NR3C2 também é capaz de induzir CSN2. NR3C2 pode, inclusive, compensar a ausência de NR3C1. O promotor de CSN2 possui sítios de ligação para YY1, o que implica na participação deste gene na indução daquele. Por fim, TNFSF11 favorece CSN2 através das isoformas LAP de CEBPB. CEBP pode ser A (alfa) ou B (beta). CEBPB possui três isoformas: isoformas LAP (LAP1 e LAP2, ou isoformas A e B) e isoforma LIP (ou isoforma C). A isoforma LIP de CEBPB é dominante-negativa. Isso significa que essa isoforma forma heterodímeros com os outros CEBPs conduzindo à inibição da atividade deles. Em resumo, a isoforma LIP de CEBPB se correlaciona com a proliferação durante a gravidez, enquanto as isoformas LAP de CEBPB e também CEBPA se correlacionam com a diferenciação durante a lactação. O cortisol favorece o início da lactação na medida em que inibe a isoforma LIP de CEBPB (HENNIGHAUSEN, L. *et al.*, 1991; KIM, HYUN-JU *et al.*,

2002; KINGSLEY-KALLESEN *et al.*, 2002; RAUGHT; LIAO; ROSEN, 1995; ROSEN *et al.*, 1998; SEAGROVES *et al.*, 1998).

De maneira análoga a CSN2, WFDC é regulado por STAT5, NR3C1 e NR3C2. WFDC também é regulado diretamente por ELF5 e pela isoforma 2 de NFIC (HENNIGHAUSEN, L. *et al.*, 1991; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; JOHANSSON *et al.*, 2005; KINGSLEY-KALLESEN *et al.*, 2002; ROSEN *et al.*, 1998).

Outra proteína do leite é CEL, a qual é ativada pela isoforma 2 de NFIC, assim como WFDC (JOHANSSON *et al.*, 2005; KANNIUS-JANSON *et al.*, 2002).

Por fim, a proteína do leite LALBA é induzida pela prolactina (AKERS, 1985).

4.5.8.2. Lactose

Durante a gravidez e a lactação, há um aumento no metabolismo da glândula mamária (para dar suporte ao crescimento, lactogênese e lactação) com consequente aumento no consumo de oxigênio, gerando uma condição de hipóxia. A hipóxia é mediada principalmente pelo fator de transcrição HIF1A. Na mama, HIF1A promove a expressão do transportador de glicose SLC2A1 e, conseqüentemente, a captação de glicose necessária à síntese de lactose. A via de PI3K/AKT também está relacionada à produção de lactose porque também estimula SLC2A1 (OLIVER; WATSON, 2013; SHAO *et al.*, 2014; SHAO; ZHAO, 2014).

4.5.8.3. Cálcio

CASR é receptor sensível ao cálcio. Por um lado, dada a presença de cálcio extracelular, CASR estimula a atividade do transportador de cálcio para o leite, ATP2B2. Por outro lado, em um *feedback* negativo, CASR inibe PTHLH, o qual é responsável pela mobilização de cálcio dos ossos para o leite (MAMILLAPALLI *et al.*, 2013; VANHOUTEN *et al.*, 2003).

4.5.8.4. Ferro

O transporte de ferro é realizado a partir da associação do ferro extracelular ao transportador de ferro, TFRC. Em seguida, há a formação de vesícula e a liberação de ferro no leite (SCHULMAN *et al.*, 1989).

4.5.8.5. Imunoglobulinas

O transporte de IgA é análogo ao de ferro: há a associação entre IgA e o transportador de IgA, PIGR, seguida por formação de vesícula e liberação de IgA no leite. A expressão de PIGR é aumentada por IFNG: IFNG ativa STAT1 que ativa IRF1 que ativa PIGR. Estrogênio, progesterona, prolactina e cortisol também tem influência na secreção das imunoglobulinas (RINCHEVAL-ARNOLD *et al.*, 2002; VAN DER FELTZ *et al.*, 2001; WEISZ-CARRINGTON *et al.*, 1978).

4.5.8.6. Vitaminas

O transportador de membrana ABCG2 está envolvido na secreção de riboflavina (vitamina B2). Esse transportador de membrana também está associado à secreção de xenobióticos (BIONAZ; LOOR, 2008).

4.5.8.7. Lipídeos

Os lipídeos são transportados na corrente sanguínea associados a proteínas, constituindo quilomícrons, lipoproteínas de baixa densidade (VLDL) ou lipoproteínas de alta densidade (VHDL). Quando atingem a glândula mamária, essas associações são reconhecidas por receptores contidos no endotélio. Então, LPL, enzima encontrada próxima a esses receptores, catalisa a quebra dos lipídeos, liberando ácidos graxos que podem entrar nas células epiteliais a partir da ação de transportadores de membrana como CD36. Os ácidos graxos são, em seguida, convertidos a uma forma ativa pela atividade de ACSL1 e transportados intracelularmente por FABP3. Os ácidos graxos ativados podem seguir diretamente para a síntese de triacilglicerol. Nesse caso, há uma sequência de quatro reações: GPAM catalisa a conversão dos ácidos graxos ativados em ácido lisofosfatídico (LPA), GPAT4 converte LPA para ácido fosfatídico (LA), DGAT1 converte LA para diacilglicerol (DAG) e LPIN1 converte DAG para triacilglicerol (TAG). Alternativamente, SCD pode catalisar a inserção de ligações duplas (saturações) nos ácidos graxos ativados antes de eles serem conduzidos à síntese de triacilglicerol. Tanto FABP3 quanto GPAM são regulados negativamente por PRKA,

o qual é um sensor de energia celular que se torna ativado quando a razão de ATP para AMP diminui (BIONAZ; LOOR, 2008; MCFADDEN; CORL, 2009).

Os ácidos graxos também podem ser sintetizados *de novo* na glândula mamária. Nesse caso, há a atuação sequencial de duas enzimas: ACACA catalisa a formação de malonil-CoA a partir de acetil-CoA e FASN catalisa a formação de palmitato a partir de malonil-CoA e acetil-CoA. O palmitato assim produzido pode seguir para a síntese de triacilglicerol. Alternativamente, o acetil-CoA para a síntese *de novo* de ácidos graxos pode ser obtido a partir do acetato pela atividade de ACSS2. O butirato também pode ser utilizado para a síntese de ácidos graxos na mitocôndria a partir da atividade de BDH1 (β -hidroxibutirato para acetoacetato) e OXCT1 (acetoacetato para acetoacetil-CoA). As enzimas para a síntese *de novo* de ácidos graxos ACACA e FASN são reguladas negativamente por PRKA. Por sua vez, PRKA é regulado por duas cinases: STK11 e CAMKK. ACACA é regulada negativamente também pela presença de ácidos graxos não ativados (BIONAZ; LOOR, 2008; MCFADDEN; CORL, 2009; NEVILLE; PICCIANO, 1997).

Durante a lactação, há um controle do balanço entre a síntese e a degradação dos lipídeos. Uma enzima chave nesse processo é ACOT1. Essa enzima catalisa a conversão de ácidos graxos ativados em ácidos graxos não ativados que, por sua vez, ativam o fator de transcrição PPARG/RXR. Esse fator de transcrição, então, juntamente com outros cofatores, como PPARGC1A e LPIN1, aumenta a expressão de genes necessários à beta-oxidação dos ácidos graxos. Na ausência de ACOT1, o fator de transcrição NR1H/RXR é ativado, conduzindo à ativação de SREBF1, o qual regula a expressão de genes envolvidos na síntese *de novo* de ácidos graxos. SREBF1 é regulado negativamente por PPARG através de INSIG1 e positivamente por AKT (BIONAZ; LOOR, 2008; RUDOLPH; NEVILLE; ANDERSON, 2007).

Uma vez sintetizados, os lipídeos são envoltos por uma camada simples de fosfolipídeos para o transporte intracelular e, posteriormente, por uma camada dupla de fosfolipídeos (isso é, por um fragmento da membrana plasmática) para o transporte extracelular. O conjunto composto por lipídeos, camada simples e camada dupla de fosfolipídeos é designado glóbulo de gordura do leite. As proteínas envolvidas na formação dos glóbulos de gordura do leite são PLIN2, XDH e BTN1A1. PLIN2 (presente na camada simples de fosfolipídeos) é reconhecido por BTN1A1 (presente na superfície interna da membrana plasmática) com a

participação de XDH. A interação entre PLIN2 e BTN1A1 leva ao envolvimento dos lipídeos com a camada dupla de fosfolipídeos (BIONAZ; LOOR, 2008; RUSSELL *et al.*, 2007).

4.5.9. REGULAÇÃO NEGATIVA

Alguns reguladores negativos da gravidez e da lactação são activina A, PTEN e os hormônios melatonina e serotonina. Activina A inibe, através de seus receptores ACVR2A e ACVR2B, a proliferação e a diferenciação dos alvéolos. Já FST neutraliza o efeito da activina A. Em conformidade com o efeito da activina A durante a gravidez e a lactação, a expressão da subunidade beta B da activina A e de ACVR2A e ACVR2B diminui, enquanto a expressão de FST aumenta nessa etapa de desenvolvimento da mama (BUSSMANN; LANUZA; BUSSMANN, 2004).

PTEN atua na via de sinalização da prolactina, tendo relação negativa com PRLR e STAT5, na via de PI3K/AKT e na via de MAPK. PTEN tem também relação positiva com IGFBP5, o qual está associado ao processo de regressão da glândula mamária. A superexpressão de PTEN provoca redução na proliferação do epitélio e aumento de apoptose, o que compromete também a diferenciação do epitélio. Em contrapartida, a prolactina e AEBP1 regulam negativamente PTEN (DUPONT *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2014; ZHANG, LEI *et al.*, 2011).

A melatonina influencia a ação do estrogênio e da progesterona na medida em que se correlaciona negativamente com os receptores desses hormônios (ESR1 e PGR, respectivamente). Ainda, assim como PTEN, a melatonina (através de seu receptor, MTNR1A) tem relação negativa com STAT5 e com a via de PI3K/AKT. A expressão elevada de MTNR1A acarreta no bloqueio do desenvolvimento da glândula mamária estimulado por estrogênio e progesterona, o que compromete o desenvolvimento dos alvéolos e a expressão das proteínas do leite CSN2 e WFDC (XIANG *et al.*, 2012).

A glândula mamária estimulada pela prolactina expressa TPH1 e DDC, os quais são necessários à síntese de serotonina. Por sua vez, a serotonina causa a supressão da expressão de CSN2 e a retração dos alvéolos. Ou seja, a prolactina estabelece um *feedback* negativo ao estimular TPH1. Também a estase do leite leva à expressão de TPH1. Como a estase do leite é gatilho para o início da involução,

sugere-se que a serotonina participa na transição da lactação para a involução (MATSUDA *et al.*, 2004).

4.6. ORIGEM DA VIA DE GRAVIDEZ E LACTAÇÃO

A figura 20 mostra a via de gravidez e lactação colorida de acordo com a origem de seus genes.

Title: Pregnancy and lactation
 Organism: Homo sapiens

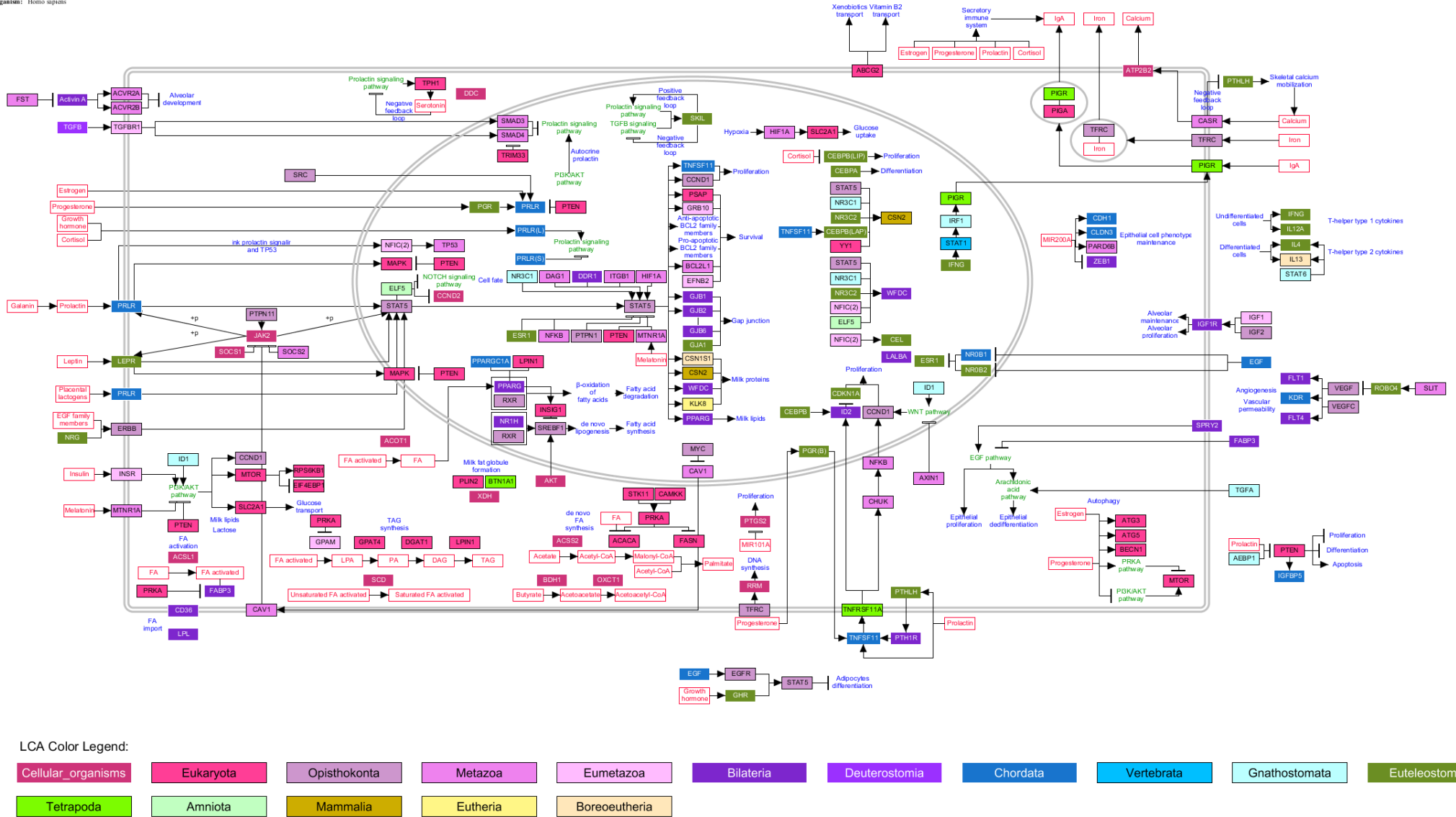


Figura 20: Via de gravidez e lactação colorida de acordo com a origem dos seus genes.

Assim como ocorre nas vias anteriores, a maior parte dos genes da via de gravidez e lactação já havia se originado em Euteleostomi. A diferença aqui é que, embora marginais, muitos genes acrescentados depois de Euteleostomi são importantes do ponto de vista biológico. Em Tetrapoda, há a origem de TNFRSF11A, o receptor de TNFSF11. A via de sinalização de TNFSF11/TNFRSF11A é importante tanto para a proliferação quanto para a diferenciação durante a gravidez e lactação e a associação entre essa via e essa fase de desenvolvimento é fortemente apoiada pela literatura. Vale notar que o ligante, TNFSF11, surgiu antes do receptor, TNFRSF11A, indicando que a sinalização intracelular como é hoje só poderia ocorrer após Tetrapoda. Em Amniota, há a origem de ELF5. Nos últimos anos, ELF5 ganhou espaço no cenário do desenvolvimento da mama devido à sua interação com STAT5, um fator essencial ao desenvolvimento desse órgão. Em Mammalia, Eutheria e Boreoeutheria, há a origem de, respectivamente, CSN2, KLK8 e CSN1S1. Todos esses genes codificam proteínas do leite, implicando em modificações recentes na composição do leite.

4.7. DESCRIÇÃO DA VIA DE INVOLUÇÃO

A figura 21 mostra a via de involução.

4.7.1. DESLIGAMENTO DO APARATO NECESSÁRIO À LACTAÇÃO

NOS2 (através de STAT5) suprime CSN2 (ZARAGOZÁ *et al.*, 2010).

Além disso, a atividade das enzimas relacionadas à produção dos carboidratos do leite é reduzida durante o processo de regressão da mama. Em particular, a atividade de ALP, BDH, LDH, MDH e SDH é reduzida nessa etapa (KORFSMEIER, 1976).

A expressão de algumas enzimas associadas ao metabolismo dos lipídeos também é alterada durante a involução. A expressão de FABP3 é reduzida, enquanto a expressão de ABCG5 e de seu regulador, NR1H3, é aumentada (POLITIS *et al.*, 1992; SHARMA *et al.*, 2014).

4.7.2. PRIMEIRA FASE: MORTE CELULAR

4.7.2.1. Morte celular mediada por lisossomo

Durante a morte celular mediada por lisossomo, há o acúmulo de zinco nos lisossomos. Isso sugere a participação de transportadores de zinco na involução. A responsabilidade pelo influxo de zinco para o lisossomo tem sido atribuída a SLC30A2 e SLC30A4, enquanto o efluxo, a SLC39A8 e ao canal iônico MCOLN1. Há duas hipóteses sobre a função do zinco na morte celular mediada por lisossomo: o zinco pode ser necessário para a ativação de enzimas lisossomais envolvidas tanto na permeabilização da membrana lisossomal quanto na própria morte celular mediada por lisossomo, ou o zinco pode ser necessário para a ativação de enzimas envolvidas na apoptose subsequente à morte celular mediada por lisossomo (MCCORMICK *et al.*, 2014).

As enzimas lisossomais promovem a degradação de diversos compostos orgânicos durante a morte celular mediada por lisossomo: GUSB é responsável pela degradação de glicosaminoglicanos, LAP3 é responsável pela degradação de proteínas, e ACP2 é responsável pela degradação de fosfatos orgânicos (KORFSMEIER, 1976).

Um grupo de enzimas frequentemente associado à morte celular durante a involução é o grupo das catepsinas. Especificamente, CTSD e CTSL já foram vinculadas à morte celular nessa etapa do desenvolvimento da glândula mamária.

CTSD cliva a prolactina, gerando um fragmento N-terminal de prolactina. Como a prolactina é sinal negativo para a involução, CSTD auxilia na remoção de uma importante barreira ao desencadeamento da involução. Ao mesmo tempo, como o fragmento N-terminal de prolactina favorece a morte celular, CTSD contribui para a morte celular (BURKE *et al.*, 2003; ISHIDA *et al.*, 2014; IWASAKA *et al.*, 2000).

4.7.2.2. Apoptose mediada por mitocôndria

Um gene importante para a apoptose mediada por mitocôndria é IGFBP5. Por um lado, IGFBP5 anula a ação de fatores antiapoptóticos, como IGF1, AKT, BCL2 e a variante longa de BCL2L1, BCL2L1(L). A variante curta de BCL2L1, BCL2L1(S), é pró-apoptótica. Por outro lado, IGFBP5 estimula a expressão do fator pró-apoptótico CASP3. IGFBP2 e IGFBP3 também tem efeito negativo sobre a via de sinalização de IGF1 (ALLAR; WOOD, 2004; FLINT; TONNER; ALLAN, 2000; HADSELL *et al.*, 1996; HADSELL; BONNETTE; LEE, 2002; HEERMEIER *et al.*, 1996; LEROITH *et al.*, 1995; MARSHMAN *et al.*, 2003; MODHA *et al.*, 2004; NEUENSCHWANDER *et al.*, 1996; SAKAMOTO *et al.*, 2007; TONNER *et al.*, 2002; WALTON *et al.*, 2001).

TGFB1 e TGFB3 também induzem a apoptose: o primeiro ao inibir AKT e o segundo ao promover a translocação de SMAD4 para o núcleo (BAILEY *et al.*, 2004; NGUYEN; POLLARD, 2000; PLATH *et al.*, 1997).

Outro gene relacionado à apoptose mediada por mitocôndria é STAT3. LIF, leptina, NRG1 e NOS2 são reguladores positivos de STAT3. LIF se liga ao seu receptor, IL6ST, levando à fosforilação deste por JAK e consequente acoplamento de STAT3. De maneira análoga, a leptina se liga ao seu receptor, LEPR, levando à fosforilação deste por JAK e consequente acoplamento de STAT3. Além disso, NRG1 induz, através de seu receptor, ERBB, a fosforilação de STAT3. Por fim, NOS2 apresenta relação positiva com a atividade de STAT3. Em contrapartida, SOCS3 é regulador negativo de STAT3. STAT5 induz SOCS3, o qual se liga a IL6ST impedindo a fosforilação deste por JAK e consequente acoplamento de STAT3. Dentre os genes-alvo de STAT3 estão MYC e os genes-alvo de MYC, TP53, E2F1 e BAX, e CEBPD, os quais são todos reguladores pró-apoptóticos durante a regressão da glândula mamária. Outro gene relacionado à apoptose mediada por mitocôndria é NFkB, o qual apresenta relação positiva com NOS2 (ANDRECHEK *et al.*, 2008; CLARKSON; WATSON, 2003; GENG; LI, 2010; HEERMEIER *et al.*, 1996;

HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; HUMPHREYS, ROBIN C. *et al.*, 2002; KRITIKOU *et al.*, 2003; LE PROVOST *et al.*, 2005; LIN; LI, 2007; SAGSOZ; KETANI, 2010; SUTHERLAND *et al.*, 2006; SUTHERLAND; LINDEMAN; VISVADER, 2007; ZARAGOZÁ *et al.*, 2010).

Finalmente, CDKN2A está relacionado a apoptose durante a involução. Em particular, a isoforma 4 de CDKN2A apresenta relação positiva com CDKN1A e regula a apoptose possivelmente através da via de TP53. A expressão elevada da isoforma 1 de CDKN2A sugere também a participação desta isoforma na involução. NFIC e CLU, FASLG e seu receptor FAS, e CASP1 estão também relacionados a apoptose nessa etapa de desenvolvimento da glândula mamária (BAIK; LEE; CHOI, 1998; BURSCH *et al.*, 1995; JOHANSSON *et al.*, 2005; KANE *et al.*, 2002; LUND *et al.*, 1996; MURTAGH; MARTIN; GRONOSTAJSKI, 2003; SONG *et al.*, 2000; TSELLOU *et al.*, 2008; YI *et al.*, 2004).

4.7.3. SEGUNDA FASE: REMODELAÇÃO TECIDUAL

Para prevenir o início prematuro da segunda fase da regressão da glândula mamária, AKT estimula TIMP1, um inibidor de MMPs. Com o declínio de AKT, TIMP1 também declina, o que possibilita a liberação das MMPs e sua ação, consequentemente (LUND *et al.*, 1996; SCHWERTFEGER, K. L.; RICHERT; ANDERSON, 2001).

Um fator envolvido na remodelação tecidual é PLG. PLAU e KLKB1 são responsáveis pela conversão de PLG para sua forma ativa, plasmina, sendo a expressão de ambos aumentada durante a regressão da glândula mamária. A plasmina pode atuar diretamente na degradação da matriz extracelular ou na liberação de fragmentos bioativos da matriz extracelular ou de fatores de crescimento ou na ativação de MMPs (FLINT; BEATTIE; ALLAN, 2003; LILLA *et al.*, 2009; LUND *et al.*, 1996, 2000; TONNER *et al.*, 2002).

As MMPs também são essenciais para a remodelação tecidual. Especificamente, a atividade de MMP2, MMP3 e MMP9 já foi relacionada a essa fase da involução. MMP2 é ativada por ITGB1, enquanto MMP9 por CHI3L1. CHI3L1 também suprime CDH1. De um modo geral, a função das MMPs é a degradação da membrana basal das células dos alvéolos. Em particular, a atividade de MMP3 tem sido atribuída à clivagem da glicoproteína NID, evento fundamental para a

degradação da membrana basal (HO *et al.*, 2008; LUND *et al.*, 1996; SCULLY *et al.*, 2011; SOULIER *et al.*, 1996; SYMPSON *et al.*, 1994).

4.7.4. PREPARAÇÃO PARA A PRÓXIMA GRAVIDEZ

Algumas células epiteliais estão destinadas a sobreviver ao processo de regressão da glândula mamária com o objetivo de proporcionar a regeneração do aparato necessário à lactação em uma próxima gravidez. Um gene associado à sobrevivência desse conjunto de células é ELF3. Este gene exibe expressão máxima durante a involução e sua expressão é regulada possivelmente por EGF e NRG1 através de seu receptor comum, ERBB. ELF3 regula a transcrição de proteases da matriz extracelular (NEVE *et al.*, 1998; SAGSOZ; KETANI, 2010).

Outro agente implicado na sobrevivência desse conjunto de células é o antígeno tipo B. Um anticorpo contra esse antígeno foi preliminarmente descrito na inibição do crescimento de células de carcinoma de mama. Posteriormente, a expressão desse antígeno foi avaliada durante o desenvolvimento normal da glândula mamária: a sua expressão se restringia às células epiteliais não-apoptóticas na involução e se devia, pelo menos em parte, a FUT1 (o qual é encarregado de uma etapa na síntese desse antígeno). Não está esclarecido como o antígeno tipo B participa na regulação da apoptose e do crescimento, mas alguns estudos sugerem que seja através de galectinas. Muitas galectinas já foram relacionadas à regulação da apoptose e do crescimento e, pelo menos uma dentre estas, a galectina 3, já teve a ligação a antígenos ABH demonstrada (MENGWASSER; SLEEMAN, 2001).

A expressão de SPP1 também é limitada às células epiteliais não-apoptóticas na involução. Isso sugere que SPP1 ajuda na proteção desse grupo de células contra a apoptose: SPP1 promoveria a adesão celular permitindo a manutenção desse grupo de células (BAIK; LEE; CHOI, 1998).

O nível elevado de TGFA sugere a sua participação na regressão da mama. TGFA seria responsável pela manutenção do epitélio basal e viabilizaria, sob o estímulo de fatores adequados, a diferenciação do epitélio em uma gravidez futura (PLATH *et al.*, 1997).

4.7.5. PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

A participação do sistema imunológico durante a involução se resume a três funções principais: fagocitose das células mortas, mediação do processo inflamatório resultante da morte celular e defesa contra infecção.

4.7.5.1. Fagocitose

As células encarregadas da fagocitose das células dos alvéolos são as células epiteliais vizinhas (fagócitos não profissionais) e macrófagos (fagócitos profissionais). PF4 induz a diferenciação dos macrófagos e a fagocitose. A presença dos macrófagos pode ser constatada pelo nível elevado de TNF, citocina pró-inflamatória secretada por esse tipo celular. MFGE8, expresso tanto pelas células epiteliais vizinhas quanto pelos macrófagos durante a involução, se liga a fosfatidilserina exposta na membrana celular das células dos alvéolos, conduzindo a sua fagocitose. A fagocitose dos glóbulos de gordura do leite também é executada dessa maneira (ATABAI *et al.*, 2005; HANAYAMA; NAGATA, 2005; NAKAMURA *et al.*, 2006; REWINSKI; YANG, 1994).

4.7.5.2. Processo inflamatório

Além de seu papel na apoptose, STAT3 e NFκB são também reguladores da inflamação na involução (CLARKSON; WATSON, 2003; WATSON, C. J., 2009).

Além disso, no processo inflamatório, há a geração de espécies reativas de oxigênio, o que justifica o acréscimo na expressão de genes envolvidos na defesa contra estresse oxidativo, como CP, EPHX1 e FTH1 (BAIK; LEE; CHOI, 1998; NAKAMURA *et al.*, 2006).

4.7.5.3. Defesa contra infecção

Na involução, há o estímulo de genes envolvidos na defesa contra infecção por bactéria, como LTF e LYZ, bem como de genes envolvidos no sistema complemento, como CFP (BAIK; LEE; CHOI, 1998; NAKAMURA *et al.*, 2006; SCHANBACHER; GOODMAN; TALHOUK, 1993; SHARMA *et al.*, 2014).

4.7.6. REGULAÇÃO NEGATIVA

Hormônios com função reconhecida na gravidez e lactação tem ação na regulação negativa da involução. A prolactina previne a apoptose induzida por TGFB1: a prolactina, através de PIK3, inibe TGFB1; isso resulta na retirada da inibição que TGFB1 exerce sobre AKT. Por sua vez, o hormônio do crescimento colabora com IGF1 na fosforilação de AKT ao inibir IGFBP5: o hormônio do crescimento inibe IGFBP5; isso resulta na retirada da inibição que IGFBP5 exerce sobre IGF1 e, conseqüentemente, sobre AKT. Por fim, cortisol afeta a expressão de MMP2, MMP3 e PLA2, o que possivelmente explica o efeito inibitório do cortisol sobre a regressão da glândula mamária (BAILEY *et al.*, 2004; LUND *et al.*, 1996; SAKAMOTO *et al.*, 2007).

FGF4 também é regulador negativo da involução: FGF4 inibe a apoptose através da inibição dos membros pró-apoptóticos da família BCL2 (ASTIGIANO; DAMONTE; BARBIERI, 2003).

4.8. ORIGEM DA VIA DE INVOLUÇÃO

A figura 22 mostra a via de involução colorida de acordo com a origem de seus genes.

Title: Involution
 Organism: Homo sapiens

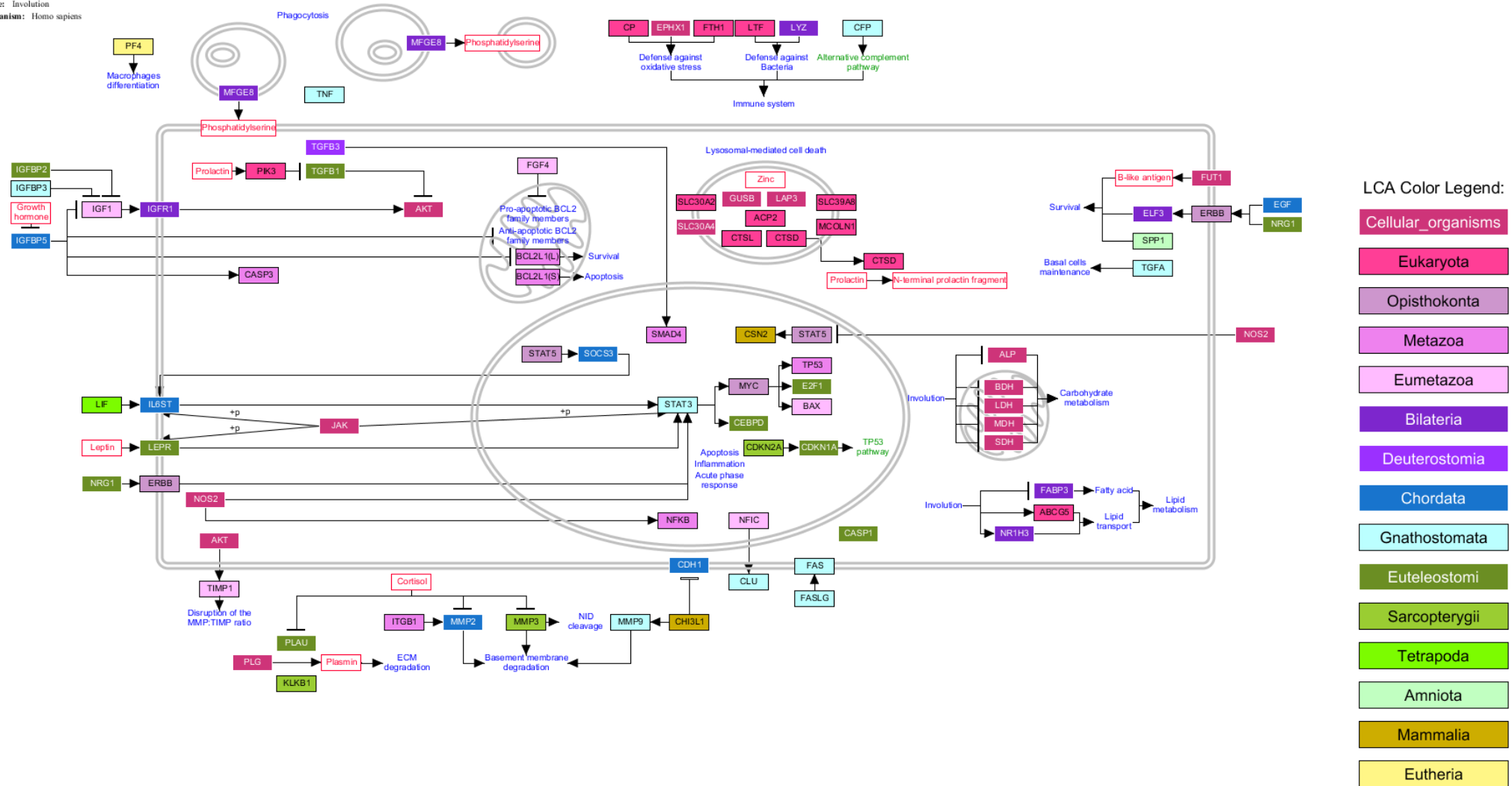


Figura 22: Via de involução colorida de acordo com a origem dos seus genes.

A via de involução também apresenta um cerne consolidado em Euteleostomi com adições periféricas depois: CDKN2A, KLKB1 e MMP3 em Sarcopterygii, LIF em Tetrapoda, SPP1 em Amniota, CHI3L1 e CSN2 em Mammalia e PF4 em Eutheria. É interessante notar que os genes associados à morte celular mediada por lisossomo são, em geral, mais antigos que os genes associados à apoptose mediada por mitocôndria: no primeiro caso, genes em organismos celulares (SLC30A4, GUSB e LAP3) e Eukaryota (SLC30A2, SLC39A8, MCOLN1, ACP2, CTSL e CTSD) e, no segundo caso, genes em Metazoa (CASP3 e BCL2L1) e Euteleostomi (CASP1).

4.9. COMPARANDO AS VIAS

Para cada subvia é possível apontar um ou mais “reguladores-mestre”: genes cuja função é essencial à subvia e cuja associação com a subvia é fortemente apoiada pela literatura. Para o desenvolvimento embrionário, os “reguladores-mestre” são os fatores de transcrição TBX3 e GLI3. Na puberdade, IGF cumpre essa função. Os “reguladores-mestre” da gravidez e lactação e da involução são também fatores de transcrição, ambos de uma mesma família: STAT5 e STAT3, respectivamente.

Os genes que são compartilhados entre as subvias estão associados aos processos biológicos que são compartilhados entre as subvias. Dessa maneira, genes envolvidos na interação entre epitélio e mesênquima/estroma são compartilhados pelas subvias do desenvolvimento embrionário e da puberdade (como MET e seu ligante, HGF). As subvias sob intenso controle hormonal, puberdade e gravidez e lactação, compartilham receptores de hormônios (como ESR, PGR e GHR). Já as subvias onde há remodelação tecidual intensa, puberdade e involução, compartilham genes implicados nesse processo (como MMPs e seus inibidores, TIMPs).

A análise do LCA predito mostrou que a maioria dos genes da via se originou muito antes da origem dos mamíferos. Entre 80-97% dos genes já estava presente nos peixes (entre Gnathostomata, Teleostomi e Euteleostomi), conforme mostrado na figura 23. Especificamente em Euteleostomi, 96% dos genes envolvidos no desenvolvimento embrionário, 97% dos genes envolvidos na puberdade, 94% dos genes envolvidos na gravidez e lactação e 90% dos genes envolvidos na involução já haviam surgido.

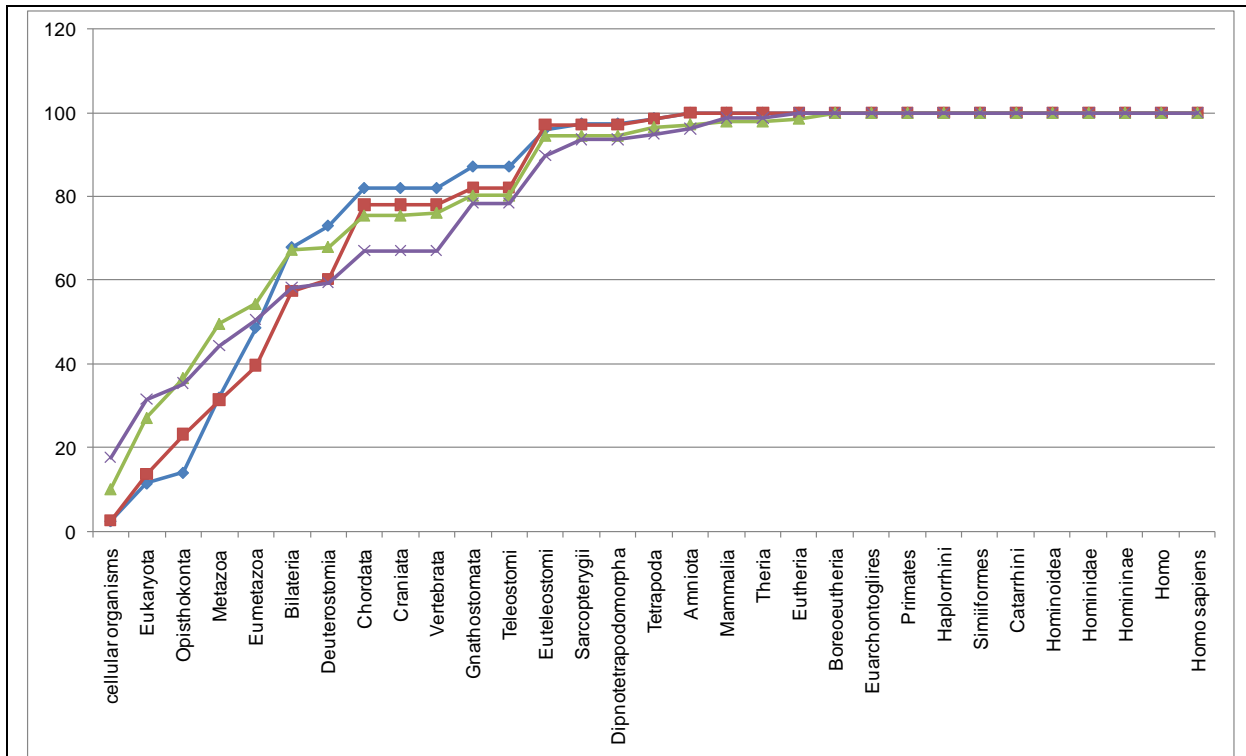


Figura 23: Distribuição acumulada dos genes pelos táxons para cada subvia. Desenvolvimento embrionário em azul, puberdade em vermelho, gravidez e lactação em verde e involução em roxo. Valores em porcentagem do total de genes de cada subvia.

Isso sugere que a origem da glândula mamária é antiga, o que está em conformidade com a opinião de Oftedal e Dhouailly (OFTEDAL; DHOUAILLY, 2013). Para tais autores, no entanto, a origem da mama teria ocorrido em Tetrapoda-Amniota e seria, portanto, mais recente do que a origem dos genes. Uma explicação possível para a divergência reside no fato de que o estudo de Oftedal e Dhouailly foi realizado em nível molecular e também em nível tecidual (anatomia comparada, embriologia comparada, paleontologia), enquanto este estudo foi realizado apenas em nível molecular. O fato de os componentes do sistema já estarem presentes não implica necessariamente na existência do sistema, mas sim na possibilidade da existência do sistema.

Se, por um lado, o cerne da via de desenvolvimento da glândula mamária é antigo, por outro lado, adições periféricas recentes são perceptíveis. A comparação entre as subvias mostra que, para as subvias da gravidez e lactação e involução, há o surgimento de genes em Mammalia e, inclusive, em clados filhos de Mammalia

(Eutheria e Boreoeutheria) (Figura 24). Isto sugere que as duas primeiras subvias poderiam ter sido originadas antes, em Tetrapoda-Aminiota, e as duas últimas acomplam genes não existentes até então.

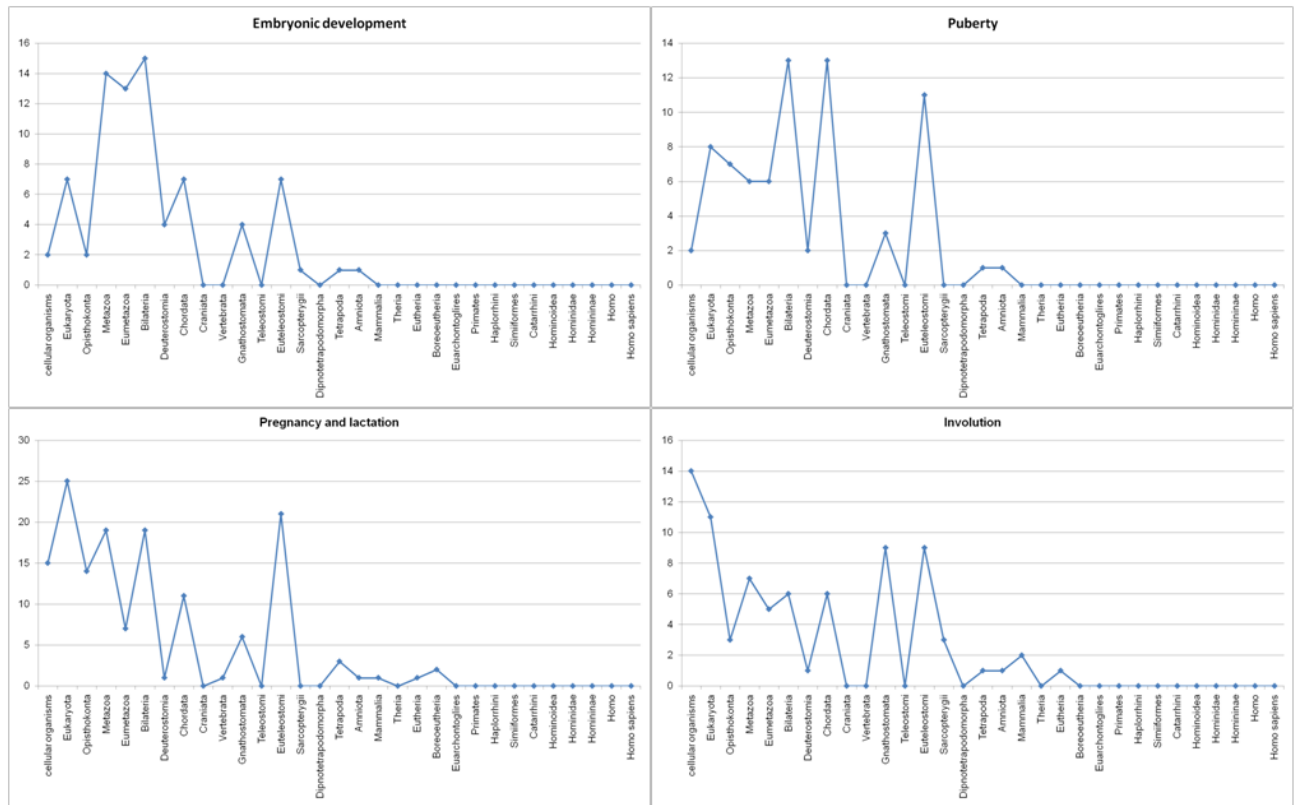


Figura 24: Comparação da distribuição dos genes pelos táxons nas subvias do desenvolvimento embrionário (superior, esquerda), da puberdade (superior, direita), da gravidez e lactação (inferior, esquerda) e da involução (inferior, direita). Valores absolutos.

Embora periféricos no sistema, os genes originados em Mammalia são importantes do ponto de vista biológico. Isso porque muitos deles codificam proteínas do leite, tais como caseína alfa s1 (CSN1S1, Boreoeutheria), caseína beta (CSN2, Mammalia), calicreína 8 (KLK8, Eutheria) e muitas “proteínas ácidas do soro” ou WFDCs (ainda que a WFDC mais antiga seja de Bilateria, a maioria das WFDCs são de Eutheria ou Boreoeutheria, vide ANEXO III).

Observando as figuras 23 e 24 é possível perceber que as subvias do desenvolvimento embrionário e da puberdade apresentam menor quantidade de genes com origem em organismos celulares. Analisando o conjunto total de genes com origem inferida em organismos celulares deste trabalho, nota-se que esses

genes codificam, predominantemente, enzimas (como cinases, fosfatases, sintetases, hidrolases e desidrogenases). A atividade enzimática é importante para as subvias da gravidez e lactação e da involução porque, no primeiro caso, há a síntese de diversas substâncias e, no segundo caso, há a degradação de diversas substâncias. Contudo, a atividade enzimática é menos relevante para as demais subvias porque nessas subvias o foco não é a síntese ou a degradação de substâncias. Nesses casos, o destaque é para a sinalização (dentro da célula ou entre a célula e o microambiente) e para a regulação da expressão gênica, o que conduz, em última instância, à morfogênese do órgão.

5. CONTRIBUIÇÕES

Muitos pesquisadores realizaram levantamentos dos genes (e das relações entre eles) envolvidos no desenvolvimento da glândula mamária. Alguns exemplos de trabalhos são (GJOREVSKI; NELSON, 2011; HENNIGHAUSEN, LOTHAR; ROBINSON, 2005; MCNALLY; MARTIN, 2011; ROBINSON, GERTRAUD W, 2007; WATSON, CHRISTINE J; KREUZALER, 2011). Todavia, este trabalho se destaca porque se trata de um relatório completo, organizado e centralizado. O fato de um único trabalho reunir informação sobre as quatro fases de desenvolvimento abre caminho tanto para a compreensão do processo como um todo quanto das particularidades de cada fase.

Além disso, este trabalho se diferencia pelo modo de apresentação da informação. Em um único diagrama de via estão contidas muitas páginas de texto sob um formato conciso, intuitivo e didático. Ainda, o diagrama de via possibilita a visualização sistêmica do fenômeno, assim como a visualização de um gene de interesse em um contexto sistêmico. Por fim, cada diagrama de via é acompanhado por uma descrição, o que maximiza o entendimento do fenômeno representado.

Este trabalho também traz contribuições para o campo de estudo da evolução da mama. Aliado a estudos de anatomia comparada, embriologia comparada, paleontologia e outros estudos em nível molecular, este estudo soma conhecimento ao que já se sabe sobre a origem da glândula mamária. Quando comparado a outras pesquisas em nível molecular, este trabalho merece destaque quanto à quantidade de genes analisados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCORNERO, Paolo *et al.* Epidermal growth factor and hepatocyte growth factor cooperate to enhance cell proliferation, scatter, and invasion in murine mammary epithelial cells. *Journal of molecular endocrinology*, PMID: 19850646, v. 44, n. 2, p. 115–25, fev. 2010.

AKERS, R. M. Lactogenic hormones: binding sites, mammary growth, secretory cell differentiation, and milk biosynthesis in ruminants. *Journal of Dairy Science*, PMID: 3886733, v. 68, n. 2, p. 501–519, fev. 1985.

ALLAN, Gordon J. *et al.* Growth hormone, acting in part through the insulin-like growth factor axis, rescues developmental, but not metabolic, activity in the mammary gland of mice expressing a single allele of the prolactin receptor. *Endocrinology*, PMID: 12399427, v. 143, n. 11, p. 4310–4319, nov. 2002.

ALLAR, Michael A; WOOD, Teresa L. Expression of the insulin-like growth factor binding proteins during postnatal development of the murine mammary gland. *Endocrinology*, PMID: 14749361, v. 145, n. 5, p. 2467–77, maio 2004.

ALTSCHUL, S F *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic acids research*, v. 25, n. 17, p. 3389–402, 1 set. 1997.

ANDRECHEK, Eran R. *et al.* Patterns of cell signaling pathway activation that characterize mammary development. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 18550711PMCID: PMC3615553, v. 135, n. 14, p. 2403–2413, ago. 2008.

ASTIGIANO, Simonetta; DAMONTE, Patrizia; BARBIERI, Ottavia. Inhibition of ductal morphogenesis in the mammary gland of WAP -fgf4 transgenic mice. *Anatomy and embryology*, PMID: 12707773, v. 206, n. 6, p. 471–8, maio 2003.

ATABAI, Kamran *et al.* Mfge8 is critical for mammary gland remodeling during involution. *Molecular Biology of the Cell*, PMID: 16195353PMCID: PMC1289399, v. 16, n. 12, p. 5528–5537, dez. 2005.

BAIK, M. G.; LEE, M. J.; CHOI, Y. J. Gene expression during involution of mammary gland (review). *International Journal of Molecular Medicine*, PMID: 9854140, v. 2, n. 1, p. 39–44, jul. 1998.

BAILEY, Jason P. *et al.* Prolactin and transforming growth factor-beta signaling exert opposing effects on mammary gland morphogenesis, involution, and the Akt-forkhead pathway. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 14963111, v. 18, n. 5, p. 1171–1184, maio 2004.

BARATTA, Mario; GROLLI, Stefano; TAMANINI, Carlo. Effect of leptin in proliferating and differentiated HC11 mouse mammary cells. *Regulatory Peptides*, PMID: 12686468, v. 113, n. 1-3, p. 101–107, 15 maio 2003.

BARBOSA-SILVA, Adriano *et al.* Clustering of cognate proteins among distinct proteomes derived from multiple links to a single seed sequence. *BMC bioinformatics*, v. 9, p. 141, jan. 2008.

BARBOSA-SILVA, Adriano *et al.* PESCADOR, a web-based tool to assist text-mining of biointeractions extracted from PubMed queries. *BMC bioinformatics*, v. 12, p. 435, jan. 2011.

BAZZI, Hisham *et al.* The Wnt inhibitor, Dickkopf 4, is induced by canonical Wnt signaling during ectodermal appendage morphogenesis. *Developmental biology*, v. 305, n. 2, p. 498–507, 15 maio 2007.

BERLATO, Chiara; DOPPLER, Wolfgang. Selective response to insulin versus insulin-like growth factor-I and -II and up-regulation of insulin receptor splice variant B in the differentiated mouse mammary epithelium. *Endocrinology*, PMID: 19246539, v. 150, n. 6, p. 2924–2933, jun. 2009.

BIONAZ, Massimo; LOOR, Juan J. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC genomics*, PMID: 18671863PMCID: PMC2547860, v. 9, p. 366, 2008.

BLACKBURN, D G. Evolutionary origins of the mammary-gland. *Mammal Review*, v. 21, p. 81–96, 1991.

BLAKELY, Collin M. *et al.* Developmental stage determines the effects of MYC in the mammary epithelium. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 15689376, v. 132, n. 5, p. 1147–1160, mar. 2005.

BORAS-GRANIC, Kata *et al.* Deletion of the nuclear localization sequences and C-terminus of PTHrP impairs embryonic mammary development but also inhibits PTHrP production. *PloS one*, v. 9, n. 5, p. e90418, jan. 2014.

BORAS-GRANIC, Kata *et al.* Lef1 is required for the transition of Wnt signaling from mesenchymal to epithelial cells in the mouse embryonic mammary gland. *Developmental biology*, v. 295, n. 1, p. 219–31, 1 jul. 2006.

BOUSSADIA, Oréda *et al.* E-cadherin is a survival factor for the lactating mouse mammary gland. *Mechanisms of Development*, PMID: 12049767, v. 115, n. 1-2, p. 53–62, jul. 2002.

BRESSLAU, E. *The Mammary Apparatus of the Mammals in Light of Ontogenesis and Phylogenesis*. London: Methuen, 1920.

BRY, Céline *et al.* Loss of connexin 26 in mammary epithelium during early but not during late pregnancy results in unscheduled apoptosis and impaired development. *Developmental Biology*, PMID: 15013803, v. 267, n. 2, p. 418–429, 15 mar. 2004.

BURKE, Michael A. *et al.* Cathepsin L plays an active role in involution of the mouse mammary gland. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, PMID: 12815617, v. 227, n. 3, p. 315–322, jul. 2003.

BURSCH, W. *et al.* Expression of clusterin (testosterone-repressed prostate message-2) mRNA during growth and regeneration of rat liver. *Archives of Toxicology*, PMID: 7755486, v. 69, n. 4, p. 253–258, 1995.

BUSSMANN, Ursula A.; LANUZA, Guillermo M.; BUSSMANN, Leonardo E. Activin and follistatin in rat mammary gland. *Molecular and Cellular Endocrinology*, PMID: 15223128, v. 221, n. 1-2, p. 9–19, 30 jun. 2004.

CAMDEN, R W *et al.* Age of laboratory mice at puberty. ANL-7409. *ANL*, p. 228–9, jan. 1967.

CAO, Y. *et al.* IKK α provides an essential link between RANK signaling and cyclin D1 expression during mammary gland development. *Cell*, PMID: 11747812, v. 107, n. 6, p. 763–775, 14 dez. 2001.

CASSY, S. *et al.* Increase in prolactin receptor (PRL-R) mRNA level in the mammary gland after hormonal induction of lactation in virgin ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, PMID: 10701763, v. 18, n. 1, p. 41–55, jan. 2000.

CELLA, N.; GRONER, B.; HYNES, N. E. Characterization of Stat5a and Stat5b homodimers and heterodimers and their association with the glucocorticoid receptor in mammary cells. *Molecular and Cellular Biology*, PMID: 9528750 PMID: PMC121408, v. 18, n. 4, p. 1783–1792, abr. 1998.

CHAKRABARTI, Rumela *et al.* Elf5 regulates mammary gland stem/progenitor cell fate by influencing notch signaling. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, PMID: 22523003, v. 30, n. 7, p. 1496–1508, jul. 2012.

CHEN, Jianchun *et al.* The $\alpha(2)$ integrin subunit-deficient mouse: a multifaceted phenotype including defects of branching morphogenesis and hemostasis. *The American journal of pathology*, PMID: 12107118, v. 161, n. 1, p. 337–44, jul. 2002.

CHEN, Qike K *et al.* Extracellular matrix proteins regulate epithelial-mesenchymal transition in mammary epithelial cells. *Differentiation; research in biological diversity*, v. 86, n. 3, p. 126–32, out. 2013.

CHOI, Yeon Sook *et al.* Elf5 conditional knockout mice reveal its role as a master regulator in mammary alveolar development: failure of Stat5 activation and functional differentiation in the absence of Elf5. *Developmental Biology*, PMID: 19269284, v. 329, n. 2, p. 227–241, 15 maio 2009.

CHO, Kyoung-Won *et al.* Molecular interactions between Tbx3 and Bmp4 and a model for dorsoventral positioning of mammary gland development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 103, n. 45, p. 16788–93, 7 nov. 2006.

CHO, Kyoung-Won *et al.* Retinoic acid signaling and the initiation of mammary gland development. *Developmental biology*, v. 365, n. 1, p. 259–66, 1 maio 2012.

CHU, Emily Y *et al.* Canonical WNT signaling promotes mammary placode development and is essential for initiation of mammary gland morphogenesis. *Development (Cambridge, England)*, v. 131, n. 19, p. 4819–29, out. 2004.

CLARKSON, Richard W. E. *et al.* The genes induced by signal transducer and activators of transcription (STAT)3 and STAT5 in mammary epithelial cells define the roles of these STATs in mammary development. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 16293640, v. 20, n. 3, p. 675–685, mar. 2006.

CLARKSON, Richard W. E.; WATSON, Christine J. Microarray analysis of the involution switch. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, PMID: 14973375, v. 8, n. 3, p. 309–319, jul. 2003.

CONNELLY, O. M.; MULAC-JERICEVIC, B.; ARNETT-MANSFIELD, R. Progesterone signaling in mammary gland development. *Ernst Schering Foundation Symposium Proceedings*, PMID: 18543434, n. 1, p. 45–54, 2007.

DANIEL, C W; ROBINSON, S D. Regulation of mammary growth and function by TGF-beta. *Molecular reproduction and development*, PMID: 1637552, v. 32, n. 2, p. 145–51, jun. 1992.

DELEHEDDE, M *et al.* Proteoglycans: pericellular and cell surface multireceptors that integrate external stimuli in the mammary gland. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, PMID: 11547896, v. 6, n. 3, p. 253–73, jul. 2001.

DULBECCO, R; ALLEN, W R; BOWMAN, M. Lumen formation and redistribution of inframembranous proteins during differentiation of ducts in the rat mammary gland. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, PMID: 6385003, v. 81, n. 18, p. 5763–6, set. 1984.

DUNKEL, Leo; QUINTON, Richard. Transition in endocrinology: induction of puberty. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, v. 170, n. 6, p. R229–39, jun. 2014.

DUPONT, Joëlle *et al.* PTEN overexpression suppresses proliferation and differentiation and enhances apoptosis of the mouse mammary epithelium. *The Journal of Clinical Investigation*, PMID: 12235113PMCID: PMC151121, v. 110, n. 6, p. 815–825, set. 2002.

EBLAGHIE, Maxwell C *et al.* Interactions between FGF and Wnt signals and Tbx3 gene expression in mammary gland initiation in mouse embryos. *Journal of anatomy*, v. 205, n. 1, p. 1–13, jul. 2004.

ENSSLIN, Michael A; SHUR, Barry D. The EGF repeat and discoidin domain protein, SED1/MFG-E8, is required for mammary gland branching morphogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, PMID: 17299048, v. 104, n. 8, p. 2715–20, fev. 2007.

ESCAMILLA-HERNANDEZ, Rosalba *et al.* Genome-wide search identifies Ccnd2 as a direct transcriptional target of Elf5 in mouse mammary gland. *BMC molecular biology*, PMID: 20831799PMCID: PMC2949602, v. 11, p. 68, 2010.

FARACI-ORF, Elena; MCFADDEN, Catherine; VOGEL, Wolfgang F. DDR1 signaling is essential to sustain Stat5 function during lactogenesis. *Journal of Cellular Biochemistry*, PMID: 16167341, v. 97, n. 1, p. 109–121, 1 jan. 2006.

FAULDS, Malin Hedengran *et al.* Estrogen receptor functional activity changes during differentiation of mammary epithelial cells. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 14605098, v. 18, n. 2, p. 412–421, fev. 2004.

FAUPEL-BADGER, Jessica M *et al.* Postpartum remodeling, lactation, and breast cancer risk: summary of a National Cancer Institute-sponsored workshop. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 105, n. 3, p. 166–74, 6 fev. 2013.

FEDERHEN, Scott. The NCBI Taxonomy database. *Nucleic acids research*, v. 40, n. Database issue, p. D136–43, jan. 2012.

FELDMAN, M *et al.* The effect of GH on estrogen receptor expression in the rat mammary gland. *The Journal of endocrinology*, PMID: 10588825, v. 163, n. 3, p. 515–22, dez. 1999.

FERNANDES, G R *et al.* A procedure to recruit members to enlarge protein family databases--the building of UECOG (UniRef-Enriched COG Database) as a model. *Genetics and molecular research : GMR*, v. 7, n. 3, p. 910–24, jan. 2008.

FLINT, D. J.; BEATTIE, J.; ALLAN, G. J. Modulation of the actions of IGFs by IGFBP-5 in the mammary gland. *Hormone and Metabolic Research = Hormon- Und Stoffwechselforschung = Hormones Et Métabolisme*, PMID: 14710362, v. 35, n. 11-12, p. 809–815, dez. 2003.

FLINT, D. J.; TONNER, E.; ALLAN, G. J. Insulin-like growth factor binding proteins: IGF-dependent and -independent effects in the mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, PMID: 10791769, v. 5, n. 1, p. 65–73, jan. 2000.

FOLEY, J *et al.* Parathyroid hormone-related protein maintains mammary epithelial fate and triggers nipple skin differentiation during embryonic breast development. *Development (Cambridge, England)*, v. 128, n. 4, p. 513–25, fev. 2001.

FONTAINE, Jean-Fred *et al.* MedlineRanker: flexible ranking of biomedical literature. *Nucleic acids research*, v. 37, n. Web Server issue, p. W141–6, jul. 2009.

FORSYTH, I A; GABAI, G; MORGAN, G. Spatial and temporal expression of insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-II and the insulin-like growth factor-I receptor in the sheep fetal mammary gland. *The Journal of dairy research*, v. 66, n. 1, p. 35–44, fev. 1999.

GALLEGO, Marta I *et al.* Differential requirements for shh in mammary tissue and hair follicle morphogenesis. *Developmental biology*, v. 249, n. 1, p. 131–9, 1 set. 2002.

GALLEGO, M. I. *et al.* Prolactin, growth hormone, and epidermal growth factor activate Stat5 in different compartments of mammary tissue and exert different and overlapping developmental effects. *Developmental Biology*, PMID: 11133161, v. 229, n. 1, p. 163–175, 1 jan. 2001.

GEGENBAUER, C. *Zur Kenntniss der Mammarorgane der Monotremen*. Leipzig: W. Engelmann, 1886.

GENG, LiJing; LI, QingZhang. Expression and function of heregulin-alpha and its receptors in the mouse mammary gland. *Science China. Life Sciences*, PMID: 20821301, v. 53, n. 8, p. 1015–1024, ago. 2010.

GEYMAYER, S.; DOPPLER, W. Activation of NF-kappaB p50/p65 is regulated in the developing mammary gland and inhibits STAT5-mediated beta-casein gene expression. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, PMID: 10834938, v. 14, n. 9, p. 1159–1170, jun. 2000.

GIANNELLI, G *et al.* Expression of matrix metalloprotease-2-cleaved laminin-5 in breast remodeling stimulated by sex steroids. *The American journal of pathology*, PMID: 10233857, v. 154, n. 4, p. 1193–201, abr. 1999.

GJOREVSKI, Nikolce; NELSON, Celeste M. Integrated morphodynamic signalling of the mammary gland. *Nature reviews. Molecular cell biology*, v. 12, n. 9, p. 581–93, set. 2011.

GOUON-EVANS, V; ROTHENBERG, M E; POLLARD, J W. Postnatal mammary gland development requires macrophages and eosinophils. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 10804170, v. 127, n. 11, p. 2269–82, jun. 2000.

GRONER, Bernd. Transcription factor regulation in mammary epithelial cells. *Domestic Animal Endocrinology*, PMID: 12142223, v. 23, n. 1-2, p. 25–32, jul. 2002.

HADSELL, D. L. *et al.* Targeted expression of des(1-3) human insulin-like growth factor I in transgenic mice influences mammary gland development and IGF-binding protein expression. *Endocrinology*, PMID: 8536631, v. 137, n. 1, p. 321–330, jan. 1996.

HADSELL, D. L.; BONNETTE, S. G.; LEE, A. V. Genetic manipulation of the IGF-I axis to regulate mammary gland development and function. *Journal of Dairy Science*, PMID: 11913696, v. 85, n. 2, p. 365–377, fev. 2002.

HANAYAMA, Rikinari; NAGATA, Shigekazu. Impaired involution of mammary glands in the absence of milk fat globule EGF factor 8. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, PMID: 16275924PMCID: PMC1277971, v. 102, n. 46, p. 16886–16891, 15 nov. 2005.

HARRIS, Jessica *et al.* Socs2 and elf5 mediate prolactin-induced mammary gland development. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 16469767, v. 20, n. 5, p. 1177–1187, maio 2006.

HASLAM, Sandra Z *et al.* Progesterone-regulated luminal cell and myoepithelial cell-specific responses in mammary organoid culture. *Endocrinology*, PMID: 18218689, v. 149, n. 5, p. 2098–107, maio 2008.

HASLAM, S Z; COUNTERMAN, L J; NUMMY, K A. Effects of epidermal growth factor, estrogen, and progesterone on DNA synthesis in mammary cells in vivo are determined by the developmental state of the gland. *Journal of cellular physiology*, PMID: 8468371, v. 155, n. 1, p. 72–8, abr. 1993.

HATSELL, Sarah J; COWIN, Pamela. Gli3-mediated repression of Hedgehog targets is required for normal mammary development. *Development (Cambridge, England)*, v. 133, n. 18, p. 3661–70, set. 2006.

HECKMAN, Brandy M *et al.* Crosstalk between the p190-B RhoGAP and IGF signaling pathways is required for embryonic mammary bud development. *Developmental biology*, v. 309, n. 1, p. 137–49, 1 set. 2007.

HEERMEIER, K. *et al.* Bax and Bcl-xs are induced at the onset of apoptosis in involuting mammary epithelial cells. *Mechanisms of Development*, PMID: 8798158, v. 56, n. 1-2, p. 197–207, maio 1996.

HENNIGHAUSEN, L. *et al.* Developing a mammary gland is a stat affair. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, PMID: 10935024, v. 2, n. 4, p. 365–372, out. 1997.

HENNIGHAUSEN, L. *et al.* Regulation of expression of genes for milk proteins. *Biotechnology (Reading, Mass.)*, PMID: 2007204, v. 16, p. 65–74, 1991.

HENNIGHAUSEN, Lothar; ROBINSON, Gertraud W. Information networks in the mammary gland. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, PMID: 16231422, v. 6, n. 9, p. 715–725, set. 2005.

HENS, J. R. *et al.* BMP4 and PTHrP interact to stimulate ductal outgrowth during embryonic mammary development and to inhibit hair follicle induction. *Development*, v. 134, n. 6, p. 1221–1230, 7 fev. 2007.

HESLING, Cédric *et al.* Tif1 γ is essential for the terminal differentiation of mammary alveolar epithelial cells and for lactation through SMAD4 inhibition. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 23154409, v. 140, n. 1, p. 167–175, 1 jan. 2013.

HOFBAUER, L. C.; HEUFELDER, A. E. Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, PMID: 11485016, v. 79, n. 5-6, p. 243–253, jun. 2001.

HO, Matthew S. P. *et al.* Nidogens-Extracellular matrix linker molecules. *Microscopy Research and Technique*, PMID: 18219668, v. 71, n. 5, p. 387–395, maio 2008.

HOWLETT, A R; BISSELL, M J. The influence of tissue microenvironment (stroma and extracellular matrix) on the development and function of mammary epithelium. *Epithelial cell biology*, PMID: 8353596, v. 2, n. 2, p. 79–89, abr. 1993.

HOWLIN, J *et al.* CITED1 homozygous null mice display aberrant pubertal mammary ductal morphogenesis. *Oncogene*, PMID: 16278680, v. 25, n. 10, p. 1532–42, mar. 2006.

HSU, W.; SHAKYA, R.; COSTANTINI, F. Impaired mammary gland and lymphoid development caused by inducible expression of Axin in transgenic mice. *The Journal of Cell Biology*, PMID: 11739413 PMID: PMC2150907, v. 155, n. 6, p. 1055–1064, 10 dez. 2001.

HUMPHREYS, R C *et al.* Apoptosis in the terminal endbud of the murine mammary gland: a mechanism of ductal morphogenesis. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 9012521, v. 122, n. 12, p. 4013–22, dez. 1996.

HUMPHREYS, R C. Programmed cell death in the terminal endbud. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, PMID: 10426400, v. 4, n. 2, p. 213–20, abr. 1999.

HUMPHREYS, Robin C. *et al.* Deletion of Stat3 blocks mammary gland involution and extends functional competence of the secretory epithelium in the absence of lactogenic stimuli. *Endocrinology*, PMID: 12193580, v. 143, n. 9, p. 3641–3650, set. 2002.

INGMAN, Wendy V *et al.* Macrophages promote collagen fibrillogenesis around terminal end buds of the developing mammary gland. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, PMID: 17029292, v. 235, n. 12, p. 3222–9, dez. 2006.

ISHIDA, Michiyo *et al.* Vasoinhibins, N-terminal mouse prolactin fragments, participate in mammary gland involution. *Journal of Molecular Endocrinology*, PMID: 24598201, v. 52, n. 3, p. 279–287, jun. 2014.

IWASAKA, T. *et al.* Expression of prolactin mRNA in rat mammary gland during pregnancy and lactation. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, PMID: 10681392, v. 48, n. 3, p. 389–396, mar. 2000.

JÄGER, Richard *et al.* Loss of transcription factor AP-2gamma/TFAP2C impairs branching morphogenesis of the murine mammary gland. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, PMID: 20131354, v. 239, n. 3, p. 1027–33, mar. 2010.

JAHCHAN, Nadine S. *et al.* SnoN regulates mammary gland alveologenesis and onset of lactation by promoting prolactin/Stat5 signaling. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 22833129, PMID: PMC3413161, v. 139, n. 17, p. 3147–3156, set. 2012.

JAVED, Asma; LTEIF, Aida. Development of the human breast. *Seminars in plastic surgery*, v. 27, n. 1, p. 5–12, fev. 2013.

JEROME-MAJEWSKA, Loydie A *et al.* Tbx3, the ulnar-mammary syndrome gene, and Tbx2 interact in mammary gland development through a p19Arf/p53-independent pathway. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, v. 234, n. 4, p. 922–33, dez. 2005.

JOHANSSON, Eva M. *et al.* Nuclear factor 1-C2 is regulated by prolactin and shows a distinct expression pattern in the mouse mammary epithelial cells during development. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 15637146, v. 19, n. 4, p. 992–1003, abr. 2005.

JONES, F. E.; STERN, D. F. Expression of dominant-negative ErbB2 in the mammary gland of transgenic mice reveals a role in lobuloalveolar development and lactation. *Oncogene*, PMID: 10376526, v. 18, n. 23, p. 3481–3490, 10 jun. 1999.

JOSHI, Purna A; CHANG, Hong; HAMEL, Paul A. Loss of Alx4, a stromally-restricted homeodomain protein, impairs mammary epithelial morphogenesis. *Developmental biology*, PMID: 16916507, v. 297, n. 1, p. 284–94, set. 2006.

JUNTTILA, T. T. *et al.* Erbb4 and its isoforms: selective regulation of growth factor responses by naturally occurring receptor variants. *Trends in Cardiovascular Medicine*, PMID: 11343971, v. 10, n. 7, p. 304–310, out. 2000.

KALLURI, Raghu; WEINBERG, Robert A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of clinical investigation*, v. 119, n. 6, p. 1420–8, jun. 2009.

KANEHISA, M; GOTO, S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic acids research*, v. 28, n. 1, p. 27–30, 1 jan. 2000.

KANE, Rosemary *et al.* Transcription factor NFIC undergoes N-glycosylation during early mammary gland involution. *The Journal of Biological Chemistry*, PMID: 11991954, v. 277, n. 29, p. 25893–25903, 19 jul. 2002.

KANNIUS-JANSON, Marie *et al.* Nuclear factor 1-C2 contributes to the tissue-specific activation of a milk protein gene in the differentiating mammary gland. *The Journal of Biological Chemistry*, PMID: 11877413, v. 277, n. 20, p. 17589–17596, 17 maio 2002.

KARAYA, Kazuhiro *et al.* Regulation of Id2 expression by CCAAT/enhancer binding protein beta. *Nucleic Acids Research*, PMID: 15809228PMCID: PMC1074397, v. 33, n. 6, p. 1924–1934, 2005.

KEELY, P J; WU, J E; SANTORO, S A. The spatial and temporal expression of the alpha 2 beta 1 integrin and its ligands, collagen I, collagen IV, and laminin, suggest important roles in mouse mammary morphogenesis. *Differentiation; research in biological diversity*, PMID: 7589890, v. 59, n. 1, p. 1–13, jul. 1995.

KE, Yuehai *et al.* Conditional deletion of Shp2 in the mammary gland leads to impaired lobulo-alveolar outgrowth and attenuated Stat5 activation. *The Journal of Biological Chemistry*, PMID: 16959766PMCID: PMC1761121, v. 281, n. 45, p. 34374–34380, 10 nov. 2006.

KIM, Hye Young; NELSON, Celeste M. Extracellular matrix and cytoskeletal dynamics during branching morphogenesis. *Organogenesis*, v. 8, n. 2, p. 56–64, [S.d.].

KIM, Hyun-Ju *et al.* Osteoprotegerin ligand induces beta-casein gene expression through the transcription factor CCAAT/enhancer-binding protein beta. *The Journal of Biological Chemistry*, PMID: 11726661, v. 277, n. 7, p. 5339–5344, 15 fev. 2002.

KIM, Nam-Shik *et al.* Receptor activator of NF-kappaB ligand regulates the proliferation of mammary epithelial cells via Id2. *Molecular and Cellular Biology*, PMID: 16428453PMCID: PMC1347028, v. 26, n. 3, p. 1002–1013, fev. 2006.

- KINGSLEY-KALLESEN, Michelle *et al.* The mineralocorticoid receptor may compensate for the loss of the glucocorticoid receptor at specific stages of mammary gland development. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 12198239, v. 16, n. 9, p. 2008–2018, set. 2002.
- KLEINBERG, David L; RUAN, Weifeng. IGF-I, GH, and sex steroid effects in normal mammary gland development. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, PMID: 19034633, v. 13, n. 4, p. 353–60, dez. 2008.
- KLEINBERG, D L; FELDMAN, M; RUAN, W. IGF-I: an essential factor in terminal end bud formation and ductal morphogenesis. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, PMID: 10791764, v. 5, n. 1, p. 7–17, jan. 2000.
- KLINOWSKA, T C *et al.* Laminin and beta1 integrins are crucial for normal mammary gland development in the mouse. *Developmental biology*, PMID: 10525347, v. 215, n. 1, p. 13–32, nov. 1999.
- KOCH, Emmanuelle *et al.* Leptin gene in rabbit: cloning and expression in mammary epithelial cells during pregnancy and lactation. *Physiological Genomics*, PMID: 23715260, v. 45, n. 15, p. 645–652, 1 ago. 2013.
- KORFSMEIER, K. H. [Microdensitometric measurement enzyme activities in the mammary gland of the mouse]. *Acta Histochemica. Supplementband*, PMID: 830021, v. 16, p. 275–279, 1976.
- KRITIKOU, Ekaterini A. *et al.* A dual, non-redundant, role for LIF as a regulator of development and STAT3-mediated cell death in mammary gland. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 12810593, v. 130, n. 15, p. 3459–3468, ago. 2003.
- KUTMON, Martina *et al.* PathVisio 3: an extendable pathway analysis toolbox. *PLoS computational biology*, v. 11, n. 2, p. e1004085, fev. 2015.
- LANTINGA-VAN LEEUWEN, Irma S; TIMMERMANS-SPRANG, Elpetra A P; MOL, Jan A. Cloning and characterization of the 5'-flanking region of the canine growth hormone gene. *Molecular and cellular endocrinology*, PMID: 12431806, v. 197, n. 1-2, p. 133–41, nov. 2002.
- LAUD, K. *et al.* Detection and regulation of leptin receptor mRNA in ovine mammary epithelial cells during pregnancy and lactation. *FEBS letters*, PMID: 10601666, v. 463, n. 1-2, p. 194–198, 10 dez. 1999.
- LEE, May Yin *et al.* Ectodermal influx and cell hypertrophy provide early growth for all murine mammary rudiments, and are differentially regulated among them by Gli3. *PloS one*, v. 6, n. 10, p. e26242, jan. 2011.
- LEONOUDAKIS, Dmitri *et al.* Dystroglycan controls signaling of multiple hormones through modulation of STAT5 activity. *Journal of Cell Science*, PMID: 20940259PMCID: PMC2964112, v. 123, n. Pt 21, p. 3683–3692, 1 nov. 2010.
- LE PROVOST, Fabienne *et al.* SOCS3 promotes apoptosis of mammary differentiated cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, PMID: 16289036, v. 338, n. 4, p. 1696–1701, 30 dez. 2005.

LEROITH, D. *et al.* Insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 inhibit involution of the mammary gland following lactation: studies in transgenic mice. *Progress in Growth Factor Research*, PMID: 8817687, v. 6, n. 2-4, p. 433–436, 1995.

LEROY, Catherine *et al.* HGF/SF regulates expression of apoptotic genes in MCF-10A human mammary epithelial cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, PMID: 17384262, v. 1090, p. 188–202, dez. 2006.

LILLA, Jennifer N. *et al.* Active plasma kallikrein localizes to mast cells and regulates epithelial cell apoptosis, adipocyte differentiation, and stromal remodeling during mammary gland involution. *The Journal of Biological Chemistry*, PMID: 19297327PMCID: PMC2679480, v. 284, n. 20, p. 13792–13803, 15 maio 2009.

LI, Meng; LI, Qingzhang; GAO, Xuejun. Expression and function of leptin and its receptor in dairy goat mammary gland. *The Journal of Dairy Research*, PMID: 20181296, v. 77, n. 2, p. 213–219, maio 2010.

LINDEMAN, G. J. *et al.* SOCS1 deficiency results in accelerated mammary gland development and rescues lactation in prolactin receptor-deficient mice. *Genes & Development*, PMID: 11445538PMCID: PMC312725, v. 15, n. 13, p. 1631–1636, 1 jul. 2001.

LINDFORS, Päivi H; VOUTILAINEN, Maria; MIKKOLA, Marja L. Ectodysplasin/NF- κ B signaling in embryonic mammary gland development. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, v. 18, n. 2, p. 165–9, jun. 2013.

LIN, Ye; LI, QingZhang. Expression and function of leptin and its receptor in mouse mammary gland. *Science in China. Series C, Life Sciences / Chinese Academy of Sciences*, PMID: 17879067, v. 50, n. 5, p. 669–675, out. 2007.

LIU, X. *et al.* Functional rescue of Stat5a-null mammary tissue through the activation of compensating signals including Stat5b. *Cell Growth & Differentiation: The Molecular Biology Journal of the American Association for Cancer Research*, PMID: 9751123, v. 9, n. 9, p. 795–803, set. 1998.

LIU, X. *et al.* Stat5a is mandatory for adult mammary gland development and lactogenesis. *Genes & Development*, PMID: 9009201, v. 11, n. 2, p. 179–186, 15 jan. 1997.

LIU, Yin *et al.* Sexually dimorphic BDNF signaling directs sensory innervation of the mammary gland. *Science (New York, N.Y.)*, v. 338, n. 6112, p. 1357–60, 7 dez. 2012.

LOCKE, Darren *et al.* Nature of Cx30-containing channels in the adult mouse mammary gland. *Cell and Tissue Research*, PMID: 17120054, v. 328, n. 1, p. 97–107, abr. 2007.

LOLADZE, Aimee V *et al.* Epithelial-specific and stage-specific functions of insulin-like growth factor-I during postnatal mammary development. *Endocrinology*, PMID: 16901968, v. 147, n. 11, p. 5412–23, nov. 2006.

LUND, L. R. *et al.* Lactational competence and involution of the mouse mammary gland require plasminogen. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 11003846, v. 127, n. 20, p. 4481–4492, out. 2000.

LUND, L. R. *et al.* Two distinct phases of apoptosis in mammary gland involution: proteinase-independent and -dependent pathways. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 8565829PMCID: PMC2933211, v. 122, n. 1, p. 181–193, jan. 1996.

MACIAS, Hector; HINCK, Lindsay. Mammary gland development. *Wiley interdisciplinary reviews. Developmental biology*, v. 1, n. 4, p. 533–57, [S.d.].

MAILLEUX, Arnaud A *et al.* BIM regulates apoptosis during mammary ductal morphogenesis, and its absence reveals alternative cell death mechanisms. *Developmental cell*, PMID: 17276340, v. 12, n. 2, p. 221–34, fev. 2007.

MAILLEUX, Arnaud André *et al.* Role of FGF10/FGFR2b signaling during mammary gland development in the mouse embryo. *Development (Cambridge, England)*, v. 129, n. 1, p. 53–60, jan. 2002.

MAMILLAPALLI, Ramanaiah *et al.* Mammary-specific ablation of the calcium-sensing receptor during lactation alters maternal calcium metabolism, milk calcium transport, and neonatal calcium accrual. *Endocrinology*, PMID: 23782944PMCID: PMC3749485, v. 154, n. 9, p. 3031–3042, set. 2013.

MARLOW, Rebecca *et al.* Vascular Robo4 restricts proangiogenic VEGF signaling in breast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, PMID: 20498081PMCID: PMC2890778, v. 107, n. 23, p. 10520–10525, 8 jun. 2010.

MARSHMAN, Emma *et al.* Insulin-like growth factor binding protein 5 and apoptosis in mammary epithelial cells. *Journal of Cell Science*, PMID: 12538768, v. 116, n. Pt 4, p. 675–682, 15 fev. 2003.

MARTIN, T. J.; GILLESPIE, M. T. Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL): another link between breast and bone. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, PMID: 11137033, v. 12, n. 1, p. 2–4, fev. 2001.

MATSUDA, Manabu *et al.* Serotonin regulates mammary gland development via an autocrine-paracrine loop. *Developmental Cell*, PMID: 14960274, v. 6, n. 2, p. 193–203, fev. 2004.

MATSUMOTO, K; NAKAMURA, T. Emerging multipotent aspects of hepatocyte growth factor. *Journal of biochemistry*, v. 119, n. 4, p. 591–600, abr. 1996.

MCCORMICK, Nicholas H *et al.* The biology of zinc transport in mammary epithelial cells: implications for mammary gland development, lactation, and involution. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, v. 19, n. 1, p. 59–71, mar. 2014.

MCFADDEN, Joseph W.; CORL, Benjamin A. Activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) inhibits fatty acid synthesis in bovine mammary epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, PMID: 19747896, v. 390, n. 3, p. 388–393, 18 dez. 2009.

MCNALLY, Sara; MARTIN, Finian. Molecular regulators of pubertal mammary gland development. *Annals of Medicine*, PMID: 21417804, v. 43, n. 3, p. 212–234, maio 2011.

MENGWASSER, J.; SLEEMAN, J. P. Expression of M-N#1, a histo-blood group B-like antigen, is strongly up-regulated in nonapoptosing mammary epithelial cells during rat mammary gland involution. *Glycobiology*, PMID: 11445549, v. 11, n. 6, p. 441–449, jun. 2001.

METZ, Richard P *et al.* Circadian clock and cell cycle gene expression in mouse mammary epithelial cells and in the developing mouse mammary gland. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, PMID: 16261617, v. 235, n. 1, p. 263–71, jan. 2006.

MICHNO, Kinga *et al.* Shh expression is required for embryonic hair follicle but not mammary gland development. *Developmental biology*, v. 264, n. 1, p. 153–65, 1 dez. 2003.

MIETTINEN, P J *et al.* TGF-beta induced transdifferentiation of mammary epithelial cells to mesenchymal cells: involvement of type I receptors. *The Journal of cell biology*, v. 127, n. 6 Pt 2, p. 2021–36, dez. 1994.

MILANI, Emanuela S. *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B restrains mammary alveologenesis and secretory differentiation. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 23154416, v. 140, n. 1, p. 117–125, 1 jan. 2013.

MOBASHERI, Ali; BARRETT-JOLLEY, Richard. Aquaporin water channels in the mammary gland: from physiology to pathophysiology and neoplasia. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, v. 19, n. 1, p. 91–102, mar. 2014.

MODHA, Geetanjalee *et al.* Developmental changes in insulin-like growth factor I receptor gene expression in the mouse mammary gland. *Endocrine Research*, PMID: 15098926, v. 30, n. 1, p. 127–140, fev. 2004.

MONTESANO, Roberto; CARROZZINO, Fabio; SOULIÉ, Priscilla. Low concentrations of transforming growth factor-beta-1 induce tubulogenesis in cultured mammary epithelial cells. *BMC developmental biology*, PMID: 17288590 PMID: PMC1802066, v. 7, p. 7, 2007.

MONTESANO, Roberto; SOULIÉ, Priscilla. Retinoids induce lumen morphogenesis in mammary epithelial cells. *Journal of cell science*, PMID: 12414989, v. 115, n. Pt 23, p. 4419–31, dez. 2002.

MULAC-JERICEVIC, Biserka *et al.* Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, PMID: 12897242 PMID: PMC187836, v. 100, n. 17, p. 9744–9749, 19 ago. 2003.

MURTAGH, Janice; MARTIN, Finian; GRONOSTAJSKI, Richard M. The Nuclear Factor I (NFI) gene family in mammary gland development and function. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, PMID: 14635798, v. 8, n. 2, p. 241–254, abr. 2003.

MUSTONEN, Tuija *et al.* Stimulation of ectodermal organ development by Ectodysplasin-A1. *Developmental biology*, v. 259, n. 1, p. 123–36, 1 jul. 2003.

NAGAOKA, Kentaro *et al.* Epithelial cell differentiation regulated by MicroRNA-200a in mammary glands. *PLoS One*, PMID: 23750238PMCID: PMC3672172, v. 8, n. 6, p. e65127, 2013.

NAKAMURA, Mayuko *et al.* Antioxidant and antibacterial genes are upregulated in early involution of the mouse mammary gland: sharp increase of ceruloplasmin and lactoferrin in accumulating breast milk. *DNA and cell biology*, PMID: 16989572, v. 25, n. 9, p. 491–500, set. 2006.

NAKATANI, Hajime *et al.* Establishment of a mammary stromal fibroblastic cell line for in vitro studies in mice of mammary adipocyte differentiation. *Biology of Reproduction*, PMID: 19684333, v. 82, n. 1, p. 44–53, jan. 2010.

NAUTIYAL, Jaya *et al.* The transcriptional co-factor RIP140 regulates mammary gland development by promoting the generation of key mitogenic signals. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 23404106, v. 140, n. 5, p. 1079–89, mar. 2013.

NAYLOR, Matthew J. *et al.* Ablation of beta1 integrin in mammary epithelium reveals a key role for integrin in glandular morphogenesis and differentiation. *The Journal of Cell Biology*, PMID: 16301336PMCID: PMC2171573, v. 171, n. 4, p. 717–728, 21 nov. 2005.

NEUENSCHWANDER, S. *et al.* Involution of the lactating mammary gland is inhibited by the IGF system in a transgenic mouse model. *The Journal of Clinical Investigation*, PMID: 8636401PMCID: PMC507301, v. 97, n. 10, p. 2225–2232, 15 maio 1996.

NEVE, R. *et al.* The epithelium-specific ets transcription factor ESX is associated with mammary gland development and involution. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, PMID: 9806763, v. 12, n. 14, p. 1541–1550, nov. 1998.

NEVILLE, M. C.; PICCIANO, M. F. Regulation of milk lipid secretion and composition. *Annual Review of Nutrition*, PMID: 9240924, v. 17, p. 159–183, 1997.

NGUYEN, A. V.; POLLARD, J. W. Transforming growth factor beta3 induces cell death during the first stage of mammary gland involution. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 10862748, v. 127, n. 14, p. 3107–3118, jul. 2000.

NOGAI, Hendrik *et al.* Follistatin antagonizes transforming growth factor-beta3-induced epithelial-mesenchymal transition in vitro: implications for murine palatal development supported by microarray analysis. *Differentiation; research in biological diversity*, v. 76, n. 4, p. 404–16, abr. 2008.

OFTEDAL, Olav T; DHOUAILLY, Danielle. Evo-devo of the mammary gland. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, v. 18, n. 2, p. 105–20, jun. 2013.

OLIVER, Carrie H.; WATSON, Christine J. Making milk: A new link between STAT5 and Akt1. *JAK-STAT*, PMID: 24058804PMCID: PMC3710317, v. 2, n. 2, p. e23228, 1 abr. 2013.

ORR-URTREGER, A; LONAI, P. Platelet-derived growth factor-A and its receptor are expressed in separate, but adjacent cell layers of the mouse embryo. *Development (Cambridge, England)*, v. 115, n. 4, p. 1045–58, ago. 1992.

PANCHAL, Heena *et al.* Neuregulin3 alters cell fate in the epidermis and mammary gland. *BMC developmental biology*, v. 7, p. 105, jan. 2007.

PARK, David S. *et al.* Caveolin-1-deficient mice show accelerated mammary gland development during pregnancy, premature lactation, and hyperactivation of the Jak-2/STAT5a signaling cascade. *Molecular Biology of the Cell*, PMID: 12388746PMCID: PMC129955, v. 13, n. 10, p. 3416–3430, out. 2002.

PARK, Sunghee *et al.* Repressor of estrogen receptor activity (REA) is essential for mammary gland morphogenesis and functional activities: studies in conditional knockout mice. *Endocrinology*, PMID: 21862609, v. 152, n. 11, p. 4336–49, nov. 2011.

PARMAR, Hema; CUNHA, Gerald R. Epithelial-stromal interactions in the mouse and human mammary gland in vivo. *Endocrine-related cancer*, v. 11, n. 3, p. 437–58, set. 2004.

PÉCHOUX, C *et al.* Localization of thrombospondin, CD36 and CD51 during prenatal development of the human mammary gland. *Differentiation; research in biological diversity*, v. 57, n. 2, p. 133–41, ago. 1994.

PEPPER, M. S. *et al.* Regulation of VEGF and VEGF receptor expression in the rodent mammary gland during pregnancy, lactation, and involution. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, PMID: 10878616, v. 218, n. 3, p. 507–524, jul. 2000.

PISPA, Johanna *et al.* Ectodysplasin, Edar and TNFRSF19 are expressed in complementary and overlapping patterns during mouse embryogenesis. *Gene expression patterns : GEP*, v. 3, n. 5, p. 675–9, out. 2003.

PLATH, A. *et al.* Expression of transforming growth factors alpha and beta-1 messenger RNA in the bovine mammary gland during different stages of development and lactation. *The Journal of Endocrinology*, PMID: 9487995, v. 155, n. 3, p. 501–511, dez. 1997.

PLAUT, K. Role of epidermal growth factor and transforming growth factors in mammary development and lactation. *Journal of dairy science*, PMID: 8326026, v. 76, n. 6, p. 1526–38, jun. 1993.

POLITIS, I. *et al.* Mammary-derived growth inhibitor in lactation and involution. *Domestic Animal Endocrinology*, PMID: 1582202, v. 9, n. 1, p. 89–94, jan. 1992.

RAUGHT, B.; LIAO, W. S.; ROSEN, J. M. Developmentally and hormonally regulated CCAAT/enhancer-binding protein isoforms influence beta-casein gene expression.

Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.), PMID: 7491114, v. 9, n. 9, p. 1223–1232, set. 1995.

REICHENSTEIN, Moshe; RAUNER, Gat; BARASH, Itamar. Conditional repression of STAT5 expression during lactation reveals its exclusive roles in mammary gland morphology, milk-protein gene expression, and neonate growth. *Molecular Reproduction and Development*, PMID: 21688337, v. 78, n. 8, p. 585–596, ago. 2011.

REWINSKI, M. J.; YANG, T. J. Lactation stage-dependent changes in levels of tumor necrosis factor/cachectin in milk. *American Journal of Reproductive Immunology (New York, N.Y.: 1989)*, PMID: 8060499, v. 31, n. 4, p. 170–176, maio 1994.

RICHERT, M M; WOOD, T L. The insulin-like growth factors (IGF) and IGF type I receptor during postnatal growth of the murine mammary gland: sites of messenger ribonucleic acid expression and potential functions. *Endocrinology*, PMID: 9886857, v. 140, n. 1, p. 454–61, jan. 1999.

RINCHEVAL-ARNOLD, A. *et al.* Up-regulation of polymeric immunoglobulin receptor mRNA in mammary epithelial cells by IFN-gamma. *Molecular and Cellular Endocrinology*, PMID: 12242032, v. 194, n. 1-2, p. 95–105, 30 ago. 2002.

ROBINSON, Gertraud W. Cooperation of signalling pathways in embryonic mammary gland development. *Nature reviews. Genetics*, v. 8, n. 12, p. 963–72, dez. 2007.

ROBINSON, S D *et al.* Regulated expression and growth inhibitory effects of transforming growth factor-beta isoforms in mouse mammary gland development. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 1821856, v. 113, n. 3, p. 867–78, nov. 1991.

ROSEN, J. M. *et al.* Composite response elements mediate hormonal and developmental regulation of milk protein gene expression. *Biochemical Society Symposium*, PMID: 9513715, v. 63, p. 101–113, 1998.

RUAN, W *et al.* Estradiol enhances the stimulatory effect of insulin-like growth factor-I (IGF-I) on mammary development and growth hormone-induced IGF-I messenger ribonucleic acid. *Endocrinology*, PMID: 7867584, v. 136, n. 3, p. 1296–302, mar. 1995.

RUAN, Weifeng *et al.* SOM230 inhibits insulin-like growth factor-I action in mammary gland development by pituitary independent mechanism: mediated through somatostatin subtype receptor 3? *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 16223973, v. 20, n. 2, p. 426–36, fev. 2006.

RUDOLPH, Michael C.; NEVILLE, Margaret C.; ANDERSON, Steven M. Lipid synthesis in lactation: diet and the fatty acid switch. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, PMID: 18027074, v. 12, n. 4, p. 269–281, dez. 2007.

RUSSELL, Tanya D. *et al.* Cytoplasmic lipid droplet accumulation in developing mammary epithelial cells: roles of adipophilin and lipid metabolism. *Journal of Lipid Research*, PMID: 17452747, v. 48, n. 7, p. 1463–1475, jul. 2007.

SAGSOZ, Hakan; KETANI, Muzaffer Aydin. The role of estrogen receptors, erbB receptors, vascular endothelial growth factor and its receptors, and vascular endothelial growth inhibitor in the development of the rat mammary gland. *Growth Factors (Chur, Switzerland)*, PMID: 20572782, v. 28, n. 6, p. 379–393, dez. 2010.

SAKAMOTO, Kazuhito *et al.* Growth hormone suppresses the expression of IGFBP-5, and promotes the IGF-I-induced phosphorylation of Akt in bovine mammary epithelial cells. *Domestic Animal Endocrinology*, PMID: 16698222, v. 32, n. 4, p. 260–272, maio 2007.

SANTOS, Sarah J.; HASLAM, Sandra Z.; CONRAD, Susan E. Signal transducer and activator of transcription 5a mediates mammary ductal branching and proliferation in the nulliparous mouse. *Endocrinology*, PMID: 20392833PMCID: PMC2875824, v. 151, n. 6, p. 2876–2885, jun. 2010.

SAUNIER, Elise *et al.* Targeted expression of the dominant-negative prolactin receptor in the mammary gland of transgenic mice results in impaired lactation. *Endocrinology*, PMID: 12746331, v. 144, n. 6, p. 2669–2675, jun. 2003.

SCHANBACHER, F. L.; GOODMAN, R. E.; TALHOUK, R. S. Bovine mammary lactoferrin: implications from messenger ribonucleic acid (mRNA) sequence and regulation contrary to other milk proteins. *Journal of Dairy Science*, PMID: 8132889, v. 76, n. 12, p. 3812–3831, dez. 1993.

SCHULMAN, H. M. *et al.* Transferrin receptor and ferritin levels during murine mammary gland development. *Biochimica Et Biophysica Acta*, PMID: 2642388, v. 1010, n. 1, p. 1–6, 17 jan. 1989.

SCHWERTFEGER, Kathryn L. *et al.* Expression of constitutively activated Akt in the mammary gland leads to excess lipid synthesis during pregnancy and lactation. *Journal of Lipid Research*, PMID: 12700340, v. 44, n. 6, p. 1100–1112, jun. 2003.

SCHWERTFEGER, K. L.; RICHERT, M. M.; ANDERSON, S. M. Mammary gland involution is delayed by activated Akt in transgenic mice. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 11376107, v. 15, n. 6, p. 867–881, jun. 2001.

SCULLY, Steve *et al.* Inhibitory activity of YKL-40 in mammary epithelial cell differentiation and polarization induced by lactogenic hormones: a role in mammary tissue involution. *PloS One*, PMID: 21991364PMCID: PMC3185048, v. 6, n. 10, p. e25819, 2011.

SEAGROVES, T. N. *et al.* C/EBPbeta, but not C/EBPalpha, is essential for ductal morphogenesis, lobuloalveolar proliferation, and functional differentiation in the mouse mammary gland. *Genes & Development*, PMID: 9637692PMCID: PMC316914, v. 12, n. 12, p. 1917–1928, 15 jun. 1998.

SHAO, Yong *et al.* Differential regulation of GLUT1 and GLUT8 expression by hypoxia in mammary epithelial cells. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, PMID: 24920730, v. 307, n. 3, p. R237–247, 1 ago. 2014.

SHAO, Yong; ZHAO, Feng-Qi. Emerging evidence of the physiological role of hypoxia in mammary development and lactation. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, PMID: 24444333PMCID: PMC3929241, v. 5, n. 1, p. 9, 2014.

SHARMA, Ankita *et al.* Stage specific expression of ATP-binding cassette and solute carrier superfamily of transporter genes in mammary gland of riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animal Biotechnology*, PMID: 24669870, v. 25, n. 3, p. 200–209, 2014.

SHEN, Qiang *et al.* The AP-1 transcription factor regulates postnatal mammary gland development. *Developmental biology*, PMID: 16678816, v. 295, n. 2, p. 589–603, jul. 2006.

SHILLINGFORD, Jonathan M. *et al.* Jak2 is an essential tyrosine kinase involved in pregnancy-mediated development of mammary secretory epithelium. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, PMID: 11875116, v. 16, n. 3, p. 563–570, mar. 2002.

SHIN, Dong-Hui *et al.* Constitutive overexpression of Id-1 in mammary glands of transgenic mice results in precocious and increased formation of terminal end buds, enhanced alveologenesis, delayed involution. *Journal of Cellular Physiology*, PMID: 20945346, v. 226, n. 5, p. 1340–1352, maio 2011.

SHIROKOVA, Vera *et al.* Expression of Foxi3 is regulated by ectodysplasin in skin appendage placodes. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, v. 242, n. 6, p. 593–603, jun. 2013.

SIGURDSSON, Valgardur *et al.* Expression and functional role of sprouty-2 in breast morphogenesis. *PloS One*, PMID: 23573284PMCID: PMC3616012, v. 8, n. 4, p. e60798, 2013.

SILBERSTEIN, G B *et al.* Regulation of mammary morphogenesis: evidence for extracellular matrix-mediated inhibition of ductal budding by transforming growth factor-beta 1. *Developmental biology*, PMID: 1644225, v. 152, n. 2, p. 354–62, ago. 1992.

SILBERSTEIN, G B; DANIEL, C W. Glycosaminoglycans in the basal lamina and extracellular matrix of serially aged mouse mammary ducts. *Mechanisms of ageing and development*, PMID: 6717086, v. 24, n. 2, p. 151–62, fev. 1984.

SILBERSTEIN, G B; DANIEL, C W. Reversible inhibition of mammary gland growth by transforming growth factor-beta. *Science (New York, N.Y.)*, PMID: 3474783, v. 237, n. 4812, p. 291–3, jul. 1987.

SIMIAN, M *et al.* The interplay of matrix metalloproteinases, morphogens and growth factors is necessary for branching of mammary epithelial cells. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 11688561, v. 128, n. 16, p. 3117–31, ago. 2001.

SONG, J. *et al.* Roles of Fas and Fas ligand during mammary gland remodeling. *The Journal of Clinical Investigation*, PMID: 11086022PMCID: PMC381435, v. 106, n. 10, p. 1209–1220, nov. 2000.

SORIANO, J. V.; ORCI, L.; MONTESANO, R. TGF-beta1 induces morphogenesis of branching cords by cloned mammary epithelial cells at subpicomolar concentrations. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, PMID: 8607860, v. 220, n. 3, p. 879–885, 27 mar. 1996.

SOULIER, S. *et al.* Developmental regulation of murine integrin beta 1 subunit- and Hsc73-encoding genes in mammary gland: sequence of a new mouse Hsc73 cDNA. *Gene*, PMID: 8682318, v. 172, n. 2, p. 285–289, 26 jun. 1996.

SPITZER, E. *et al.* EGF and TGF alpha modulate structural and functional differentiation of the mammary gland from pregnant mice in vitro: possible role of the arachidonic acid pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, PMID: 7768984, v. 57, n. 3, p. 495–508, mar. 1995.

SRINIVASAN, Karpagam *et al.* Netrin-1/neogenin interaction stabilizes multipotent progenitor cap cells during mammary gland morphogenesis. *Developmental cell*, PMID: 12636918, v. 4, n. 3, p. 371–82, mar. 2003.

STERNLICHT, Mark D *et al.* Mammary ductal morphogenesis requires paracrine activation of stromal EGFR via ADAM17-dependent shedding of epithelial amphiregulin. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 16079154, v. 132, n. 17, p. 3923–33, set. 2005.

STEWART, Michael K. G. *et al.* Mammary gland specific knockdown of the physiological surge in Cx26 during lactation retains normal mammary gland development and function. *PloS One*, PMID: 24988191PMCID: PMC4079510, v. 9, n. 7, p. e101546, 2014.

STRICKLAND, Phyllis *et al.* Slit2 and netrin 1 act synergistically as adhesive cues to generate tubular bi-layers during ductal morphogenesis. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 16439476, v. 133, n. 5, p. 823–32, mar. 2006.

STULL, Malinda A *et al.* Requirement for IGF-I in epidermal growth factor-mediated cell cycle progression of mammary epithelial cells. *Endocrinology*, PMID: 11956170, v. 143, n. 5, p. 1872–9, maio 2002.

SURESHBABU, Angara; TONNER, Elizabeth; FLINT, David J. Insulin-like growth factor binding proteins and mammary gland development. *The International Journal of Developmental Biology*, PMID: 22161834, v. 55, n. 7-9, p. 781–789, 2011.

SUTHERLAND, Kate D. *et al.* c-myc as a mediator of accelerated apoptosis and involution in mammary glands lacking Socs3. *The EMBO journal*, PMID: 17139252PMCID: PMC1698901, v. 25, n. 24, p. 5805–5815, 13 dez. 2006.

SUTHERLAND, Kate D.; LINDEMAN, Geoffrey J.; VISVADER, Jane E. Knocking off SOCS genes in the mammary gland. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, PMID: 17377501, v. 6, n. 7, p. 799–803, 1 abr. 2007.

SYMPSON, C. J. *et al.* Targeted expression of stromelysin-1 in mammary gland provides evidence for a role of proteinases in branching morphogenesis and the requirement for an intact basement membrane for tissue-specific gene expression.

The Journal of Cell Biology, PMID: 8175886PMCID: PMC2119999, v. 125, n. 3, p. 681–693, maio 1994.

TANAKA, Tetsuya *et al.* A microRNA, miR-101a, controls mammary gland development by regulating cyclooxygenase-2 expression. *Differentiation; Research in Biological Diversity*, PMID: 19281778, v. 77, n. 2, p. 181–187, fev. 2009.

TONNER, Elizabeth *et al.* Insulin-like growth factor binding protein-5 (IGFBP-5) induces premature cell death in the mammary glands of transgenic mice. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 12223411, v. 129, n. 19, p. 4547–4557, out. 2002.

TROYER, K. L.; LEE, D. C. Regulation of mouse mammary gland development and tumorigenesis by the ERBB signaling network. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, PMID: 11467454, v. 6, n. 1, p. 7–21, jan. 2001.

TSELLOU, Erasmia *et al.* DNA methylation-independent regulation of p16 in epithelial cells during mouse mammary gland development. *Epigenetics*, PMID: 18567945, v. 3, n. 3, p. 143–148, jun. 2008.

TUMBARELLO, David A *et al.* Regulation of paxillin family members during epithelial-mesenchymal transformation: a putative role for paxillin delta. *Journal of cell science*, v. 118, n. Pt 20, p. 4849–63, 15 out. 2005.

UniProt: a hub for protein information. *Nucleic Acids Research*, v. 43, n. Database issue, p. D204–12, 27 out. 2014.

URIA, J A; WERB, Z. Matrix metalloproteinases and their expression in mammary gland. *Cell research*, PMID: 9791732, v. 8, n. 3, p. 187–94, set. 1998.

VAN DER FELTZ, M. J. *et al.* Lymphocyte homing and Ig secretion in the murine mammary gland. *Scandinavian Journal of Immunology*, PMID: 11555393, v. 54, n. 3, p. 292–300, set. 2001.

VANHOUTEN, Joshua N. *et al.* Mammary-specific deletion of parathyroid hormone-related protein preserves bone mass during lactation. *The Journal of Clinical Investigation*, PMID: 14597768PMCID: PMC228471, v. 112, n. 9, p. 1429–1436, nov. 2003.

VAN IERSEL, Martijn P *et al.* Presenting and exploring biological pathways with PathVisio. *BMC bioinformatics*, v. 9, p. 399, jan. 2008.

VAN MILTENBURG, Martine H A M *et al.* Complete focal adhesion kinase deficiency in the mammary gland causes ductal dilation and aberrant branching morphogenesis through defects in Rho kinase-dependent cell contractility. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, PMID: 19584305, v. 23, n. 10, p. 3482–93, out. 2009.

VAN NGUYEN, Andrew; POLLARD, Jeffrey W. Colony stimulating factor-1 is required to recruit macrophages into the mammary gland to facilitate mammary ductal outgrowth. *Developmental biology*, PMID: 12074549, v. 247, n. 1, p. 11–25, jul. 2002.

- VELTMAAT, Jacqueline M *et al.* Gli3-mediated somitic Fgf10 expression gradients are required for the induction and patterning of mammary epithelium along the embryonic axes. *Development (Cambridge, England)*, v. 133, n. 12, p. 2325–35, jun. 2006.
- VELTMAAT, Jacqueline M *et al.* Identification of the mammary line in mouse by Wnt10b expression. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, v. 229, n. 2, p. 349–56, fev. 2004.
- VORBACH, Claudia; CAPECCHI, Mario R; PENNINGER, Josef M. Evolution of the mammary gland from the innate immune system? *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, v. 28, n. 6, p. 606–16, jun. 2006.
- VOUTILAINEN, Maria *et al.* Ectodysplasin regulates hormone-independent mammary ductal morphogenesis via NF- κ B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 109, n. 15, p. 5744–9, 10 abr. 2012.
- WALDEN, P D *et al.* Evidence that the mammary fat pad mediates the action of growth hormone in mammary gland development. *Endocrinology*, PMID: 9449638, v. 139, n. 2, p. 659–62, fev. 1998.
- WALTON, K. D. *et al.* Conditional deletion of the bcl-x gene from mouse mammary epithelium results in accelerated apoptosis during involution but does not compromise cell function during lactation. *Mechanisms of Development*, PMID: 11731240, v. 109, n. 2, p. 281–293, dez. 2001.
- WANG, Zhuoran *et al.* Pten regulates development and lactation in the mammary glands of dairy cows. *PloS One*, PMID: 25009983PMCID: PMC4092105, v. 9, n. 7, p. e102118, 2014.
- WASNER, G; HENNERMANN, I; KRATOCHWIL, K. Ontogeny of mesenchymal androgen receptors in the embryonic mouse mammary gland. *Endocrinology*, v. 113, n. 5, p. 1771–80, nov. 1983.
- WATKIN, Harriet *et al.* Lactation failure in Src knockout mice is due to impaired secretory activation. *BMC developmental biology*, PMID: 18215306PMCID: PMC2266720, v. 8, p. 6, 2008.
- WATSON, Christine J; KREUZALER, Peter A. Remodeling mechanisms of the mammary gland during involution. *The International journal of developmental biology*, v. 55, n. 7-9, p. 757–62, jan. 2011.
- WATSON, C. J. Immune cell regulators in mouse mammary development and involution. *Journal of Animal Science*, PMID: 18849387, v. 87, n. 13 Suppl, p. 35–42, abr. 2009.
- WEILER, Stéphanie *et al.* Mammary epithelial-specific knockout of the ephrin-B2 gene leads to precocious epithelial cell death at lactation. *Development, Growth & Differentiation*, PMID: 19843150, v. 51, n. 9, p. 809–819, dez. 2009.

WEIL, M; ITIN, A; KESHET, E. A role for mesenchyme-derived tachykinins in tooth and mammary gland morphogenesis. *Development (Cambridge, England)*, v. 121, n. 8, p. 2419–28, ago. 1995.

WEISZ-CARRINGTON, P. *et al.* Hormonal induction of the secretory immune system in the mammary gland. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, PMID: 275864PMCID: PMC392679, v. 75, n. 6, p. 2928–2932, jun. 1978.

WIDELITZ, Randall B *et al.* Mammary glands and feathers: comparing two skin appendages which help define novel classes during vertebrate evolution. *Seminars in cell & developmental biology*, v. 18, n. 2, p. 255–66, abr. 2007.

WOOD, T. L. *et al.* The insulin-like growth factors (IGFs) and IGF binding proteins in postnatal development of murine mammary glands. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, PMID: 10791766, v. 5, n. 1, p. 31–42, jan. 2000.

WOODWARD, T. L. *et al.* Fibronectin and the alpha(5)beta(1) integrin are under developmental and ovarian steroid regulation in the normal mouse mammary gland. *Endocrinology*, PMID: 11416044, v. 142, n. 7, p. 3214–3222, jul. 2001.

WU, Wen-Jun *et al.* TGF-beta inhibits prolactin-induced expression of beta-casein by a Smad3-dependent mechanism. *Journal of Cellular Biochemistry*, PMID: 18335503, v. 104, n. 5, p. 1647–1659, 1 ago. 2008.

XIANG, Shulin *et al.* Impaired mouse mammary gland growth and development is mediated by melatonin and its MT1G protein-coupled receptor via repression of ER α , Akt1, and Stat5. *Journal of Pineal Research*, PMID: 22582905PMCID: PMC3422609, v. 53, n. 3, p. 307–318, out. 2012.

XU, J. *et al.* The steroid receptor coactivator SRC-3 (p/CIP/RAC3/AIB1/ACTR/TRAM-1) is required for normal growth, puberty, female reproductive function, and mammary gland development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, PMID: 10823921PMCID: PMC18611, v. 97, n. 12, p. 6379–6384, 6 jun. 2000.

YANG, Y. *et al.* Members of the fatty acid binding protein family are differentiation factors for the mammary gland. *The Journal of Cell Biology*, PMID: 7962070PMCID: PMC2200063, v. 127, n. 4, p. 1097–1109, nov. 1994.

YANG, Y. *et al.* Sequential requirement of hepatocyte growth factor and neuregulin in the morphogenesis and differentiation of the mammary gland. *The Journal of Cell Biology*, PMID: 7559778PMCID: PMC2120590, v. 131, n. 1, p. 215–226, out. 1995.

YI, Yijun *et al.* p19ARF determines the balance between normal cell proliferation rate and apoptosis during mammary gland development. *Molecular Biology of the Cell*, PMID: 15105443PMCID: PMC404024, v. 15, n. 5, p. 2302–2311, maio 2004.

ZARAGOZÁ, Rosa *et al.* Nitric oxide triggers mammary gland involution after weaning: remodelling is delayed but not impaired in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *The Biochemical Journal*, PMID: 20345368, v. 428, n. 3, p. 451–462, 15 jun. 2010.

ZAVADIL, Jiri *et al.* Integration of TGF-beta/Smad and Jagged1/Notch signalling in epithelial-to-mesenchymal transition. *The EMBO journal*, v. 23, n. 5, p. 1155–65, 10 mar. 2004.

ZHANG, Hong-Zheng *et al.* Estrogen mediates mammary epithelial cell proliferation in serum-free culture indirectly via mammary stroma-derived hepatocyte growth factor. *Endocrinology*, PMID: 12193555, v. 143, n. 9, p. 3427–3434, set. 2002.

ZHANG, Lei *et al.* Lactation defect with impaired secretory activation in AEBP1-null mice. *PloS One*, PMID: 22114697PMCID: PMC3218051, v. 6, n. 11, p. e27795, 2011.

ZHOU, J. *et al.* Primate mammary gland insulin-like growth factor system: cellular localization and regulation by sex steroids. *Journal of Investigative Medicine: The Official Publication of the American Federation for Clinical Research*, PMID: 11217147, v. 49, n. 1, p. 47–55, jan. 2001.

ZIELNIOK, Katarzyna; MOTYL, Tomasz; GAJEWSKA, Malgorzata. Functional interactions between 17 β -estradiol and progesterone regulate autophagy during acini formation by bovine mammary epithelial cells in 3D cultures. *BioMed Research International*, PMID: 24895572PMCID: PMC4033348, v. 2014, p. 382653, 2014.

ZINSER, Glendon; PACKMAN, Kathryn; WELSH, JoEllen. Vitamin D(3) receptor ablation alters mammary gland morphogenesis. *Development (Cambridge, England)*, PMID: 12070083, v. 129, n. 13, p. 3067–3076, jul. 2002.

ANEXOS

ANEXO I

LISTAS DE CONCEITOS

LISTA DE CONCEITOS PARA DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Mammary line

Mammary lines

Placode

Placodes

Mammary rudiment

Mammary rudiments

Epithelium

Mesenchyme

Epithelial mesenchymal interaction

Epithelial mesenchymal interactions

Epithelial-mesenchymal transition

Epithelial to mesenchymal transition

EMT

End bud

End buds

Terminal end bud

Terminal end buds

TEB

TEBs

LISTA DE CONCEITOS PARA PUBERDADE

Puberty

Pubertal

End bud

End buds

Terminal end bud

Terminal end buds

TEB

TEBs

Body cell

Body cells

Cap cell

Cap cells

Luminal epithelial cell

Luminal epithelial cells

Epithelial cell

Epithelial cells

Myoepithelial cell

Myoepithelial cells

Stromal cell

Stromal cells

Oestrogen

Estrogen

Estradiol

Progesterone

Prolactin

Branching

Side-branching

Elongation

Ductal

Duct

Ducts

LISTA DE CONCEITOS PARA GRAVIDEZ E LACTAÇÃO

Pregnancy

Gestation

Lactation

Alveolus

Alveoli

Alveolar cell

Alveolar cells

Acinus
Acini
Milk
Oestrogen
Estrogen
Estradiol
Progesterone
Prolactin
Differentiation
Alveologenesis
Mammogenesis
Lactogenesis
Galactopoiesis

LISTA DE CONCEITOS PARA INVOLUÇÃO

Involution
Apoptosis
Apoptotic
Cell death
Programmed cell death
Remodel
Remodelling
Regress
Regression
Survival
Oestrogen
Estrogen
Estradiol
Progesterone
Prolactin

ANEXO II

TABELAS DE BIOINTERAÇÕES

TABELA DE BIOINTERAÇÕES PARA DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Term 1	Biointeraction	Term 2	PMID
NRG3	binds	ERBB4	17880691
NRG3	induces	MYC	17880691
MYC	decreases expression	ITGA6	17880691
MYC	decreases expression	ITGB1	17880691
FGFR1	induces	TBX3	15255957
FGFR1	associated	LEF1	15255957
FGFR1	associated	DUSP6	15255957
FGF8	express	Ectoderm	15255957
FGF8	express	Epithelium	15255957
FGF9	express	Ectoderm	15255957
FGF9	express	Epithelium	15255957
FGF4	express	Epithelium	15255957
FGF17	express	Epithelium	15255957
WNT signalling pathway	associated	TBX3	15255957
FGFR1	associated	FGF signalling pathway	15255957
FGFR1	associated	WNT signalling pathway	15255957
FGF10	associated	FGFR2(B)	11782400
PTHLH	interacts	PTH1R	24785493
BDNF	binds	NTRK2	23224557
MMP3	upregulates	RAC1(B)	23660532
RAC1(B)	induces	EMT	23660532
ITGA6	sequesters	RAC1(B)	23660532
LAM	suppresses	EMT	23660532
ITGA5	maintains	RAC1(B)	23660532
FN1	promotes	EMT	23660532
IGF1	binds	IGF1R	10191471
IGF1	associated	Mesenchyme epithelium interaction	10191471
IGF2	associated	Mesenchyme epithelium interaction	10191471
EDA	upregulates	FOXI3	23441037
Activin A	upregulates	FOXI3	23441037
WNT	associated	LEF1	16678815
SHH	associated	Hedgehog pathway	14623238
IHH	associated	Hedgehog pathway	14623238
SHH	expressed in	Mammary gland rudiment	14623238
IHH	expressed in	Mammary gland rudiment	14623238
GLI3	represses	Hedgehog pathway	16914490
EDA	binds	EDAR	12812793
DKK4	inhibits	Canonical WNT signaling	17397822

Canonical WNT signaling	associated	DKK4	17397822
LEF1	induces	DKK4	17397822
CTNNB1	induces	DKK4	17397822
DKK4	expressed in	Pre-placodes	17397822
EDA	induces	NFKB	22451941
EDA/NFKB	induces	PTHLH	22451941
EDA/NFKB	induces	WNT10A	22451941
EDA/NFKB	induces	WNT10B	22451941
EDA/NFKB	induces	AREG	22451941
EDA/NFKB	induces	EPGN	22451941
EDA/NFKB	induces	WNT3A	22451941
TNFRSF19	overlapping expression	EDAR	12972005
PTHLH	upregulates	BMPR1A	17301089
BMP4	binds	BMPR1A	17301089
PTHLH/BMP signaling	upregulates	MSX2	17301089
MSX2	inhibites	Hair follicle formation	17301089
PTHLH	induces	Dense mesenchyme	11171335
PTHLH	regulates	LEF1	11171335
PTHLH	regulates	CTNNB1	11171335
SHH	binds	PTCH	12217324
GLI3	co-regulates	FGF10	16720875
WNT10B	express	Mammary line	14745960
WNT10B	express	Placode	14745960
WNT6	express	Mammary line	14745960
WNT6	express	Placode	14745960
TGFB	binds	TGFBR1(Tsk7L)	7806579
TGFB	decreases expression	CDH1	7806579
TGFB	decreases expression	TJP1	7806579
TGFB	decreases expression	DSP	7806579
TGFB	increases expression	Mesenchymal markers	7806579
TGFB	increases expression	FN1	7806579
Canonical WNT signaling	promotes	Placode	15342465
EDA	associated	Placode induction	23591968
EDA	associated	Ductal growth and branching	23591968
TBX3	associated	TBX15	17071745
BMP4	associated	TBX3	17071745
BMP4	associated	TBX15	17071745
NOG	inhibites	BMP	17071745
BMP	associated	LEF1	17071745
GLI3	regulates	Cell migration	22046263
GLI3	regulates	Cell hypertrophy	22046263

GLI3	associated	Mammary rudiment 1	22046263
GLI3	associated	Mammary rudiment 2	22046263
GLI3	associated	Mammary rudiment 3	22046263
GLI3	associated	Mammary rudiment 4	22046263
GLI3	associated	Mammary rudiment 5	22046263
ARHGAP5	associated	Mesenchymal proliferation and differentiation	17662267
IGF1R	associated	Epithelial proliferation	17662267
ARHGAP5	affects	IRS1	17662267
ARHGAP5	affects	IRS2	17662267
IGF1R	affects	IRS1	17662267
IGF1R	affects	IRS2	17662267
IRS1	associated	Mesenchymal proliferation	17662267
IRS2	associated	Mesenchymal proliferation	17662267
TAC	expressed	Condensing mesenchyme	7545574
MME	degrades	TAC	7545574
MME	co-express	TAC	7545574
TBX3	interacts	TBX2	16222716
TBX3	associated	Placode induction and maintenance	16222716
TBX3	associated	Ductal branching	16222716
TGFB	induces	EMT	14976548
TGFB	induces	HEY1	14976548
TGFB	induces	JAG1	14976548
SMAD3	activates	HEY1	14976548
NOTCH	activates	HEY1	14976548
JAG1	binds	NOTCH	14976548
PDGFA	expressed	Epithelium	1451656
PDGFRA	express	Mesenchyme	1451656
PDGFA	binds	PDGFRA	1451656
Retinoic acid	binds	RAR	22387209
ALDH1A2	produces	Retinoic acid	22387209
CYP26A1	degrades	Retinoic acid	22387209
CYP26B1	degrades	Retinoic acid	22387209
Retinoic acid	binds	RARB	22387209
ALDH1A2	overlapping expression	RARB	22387209
ALDH1A2	overlapping expression	FGF10	22387209
RARB	overlapping expression	FGF10	22387209
Retinoic acid	induces	TBX3	22387209
Retinoic acid	inhibits	BMP4	22387209
Retinoic acid	represses	WNT signaling	22387209
RARB	express	Mesenchyme	22387209
RARB	express	Epithelium	22387209

RARB	express	Fat pad	22387209
AR	express	Mammary gland	6605242
HGF	associated	Mammary gland embryonic development	8743556
HGF	binds	MET	8743556
THBS	express	Dense mesenchyme	7520877
THBS	express	Budding epithelial cells	7520877
THBS	express	Myoepithelial-stromal junction of mammary ducts	7520877
THBS	binds	CD36	7520877
THBS	binds	ITGAV	7520877
CD36	express	Fat pad	7520877
ITGAV	express	Epithelial cells	7520877
TGFB1	downregulates	PXN(4)	16219691
PXN(4)	associated	TGFB11	16219691
PXN(4)	suppress	Cell migration	16219691
TGFB11	stimulates	Cell migration	16219691
FST	binds	TGFB3	18028449
FST	blocks	EMT	18028449

TABELA DE BIOINTERAÇÕES PARA PUBERDADE

Term 1	Biointeraction	Term 2	PMID
AP1	associated	TIMP1	16678816
AP1	associated	VIM	16678816
AP1	associated	FOSL1	16678816
AP1	associated	FN1	16678816
AP1	associated	MYC	16678816
AP1	associated	CCND1	16678816
NRIP1	co-regulates	AREG	23404106
NRIP1	co-regulates	PGR	23404106
ESR1	regulates	AREG	23404106
ESR1	regulates	PGR	23404106
TFAP2C	express	Cap cells	20131354
TFAP2C	express	Body cells	20131354
TFAP2C	associated	Branching	20131354
TFAP2C	associated	Elongation	20131354
Ovarian hormones	associated	TFAP2C	20131354
ESR1	induces	ALX4	16916507
ALX4	associated	Branching	16916507
ALX4	associated	TEBs	16916507
ALX4	associated	Developmental timing	16916507
ALX4	associated	MMP2	16916507
ALX4	associated	MMP9	16916507
GH	binds	GHR	10791764
GH	stimulates	IGF1	10791764

IGF1	stimulates	TEBs	10791764
GH	increases expression	ESR	10791764
GH	binds	GHR	19034633
GH	stimulates	IGF1	19034633
IGF1	stimulates	TEBs	19034633
Estrogen	synergizes	IGF1	19034633
Estrogen + IGF1	enhances	TEBs	19034633
Estrogen + IGF1	enhances	Ductal morphogenesis	19034633
Estrogen + IGF1	increases phosphorylation	IRS1	19034633
Estrogen + IGF1	increases	Cell proliferation	19034633
Estrogen + IGF1	inhibits	Apoptosis	19034633
IGF1	synergizes	Progesterone	19034633
IGF1 + Progesterone	stimulates	Ductal morphogenesis	19034633
GH	stimulates	IGF1	9449638
IGF1	stimulates	TEBs	9449638
GH	synergizes	Estrogen	9449638
GH	increases expression	ESR	10588825
PHB2	associated	Ductal elongation	21862609
PHB2	associated	TEBs	21862609
PHB2	associated	AREG	21862609
Collagen I	binds	Alpha 2 beta 1 integrin	7589890
Collagen IV	binds	Alpha 2 beta 1 integrin	7589890
LAM	binds	Alpha 2 beta 1 integrin	7589890
Collagen I	precedes expression	Collagen IV	7589890
Collagen IV	precedes expression	LAM	7589890
CSF1	required	Branching	12074549
TGFB1	overlapping expression	TGFB2	1821856
TGFB1	overlapping expression	TGFB3	1821856
TGFB2	overlapping expression	TGFB1	1821856
TGFB2	overlapping expression	TGFB3	1821856
TGFB3	overlapping expression	TGFB1	1821856
TGFB3	overlapping expression	TGFB2	1821856
SLIT2	express	Myoepithelial cells	16439476
SLIT2	express	Luminal epithelial cells	16439476
ROBO1	express	Myoepithelial cells	16439476
SLIT2	synergizes	NTN1	16439476
ESR	regulates	HGF	12193555
IGF1	express	TEBs	10791766

IGF2	express	TEBs	10791766
IGF1R	express	TEBs	10791766
IGFBP3	express	TEBs	10791766
IGFBP5	express	TEBs	10791766
IGFBP2	express	Stromal cells	10791766
IGFBP4	express	Stromal cells	10791766
IGF1	express	TEBs	9886857
IGF2	express	TEBs	9886857
IGF1R	express	TEBs	9886857
TGFB	mediates deposition	Collagen I	8353596
TGFB	mediates deposition	Chondroitin sulphate	8353596
IGFBP3	express	Epithelial cells	14749361
IGFBP5	express	Epithelial cells	14749361
IGFBP3	express	Stromal cells	14749361
IGFBP5	express	Stromal cells	14749361
IGFBP3	express	Cap cells	14749361
IGFBP5	express	Body cells	14749361
IGFBP2	express	Stromal cells	14749361
IGFBP4	express	Stromal cells	14749361
FN1	associated	Alpha 5 beta 1 integrin	11416044
Alpha 5 beta 1 integrin	express	Myoepithelial cells	11416044
HGF	binds	MET	7559778
HGF	binds	MET	19850646
HGF	associated	MAPK3	19850646
HGF	associated	MAPK1	19850646
HGF	associated	AKT1	19850646
EGF	associated	MAPK3	19850646
EGF	associated	MAPK1	19850646
EGF	associated	AKT1	19850646
EGF	increases expression	MET	19850646
HGF	cooperates	EGF	19850646
MAPK3	associated	MET/EGFR	19850646
MAPK1	associated	MET/EGFR	19850646
Estrogen	associated	HGF	18218689
Progesterone	associated	HGF	18218689
HGF	associated	Luminal epithelial cells	18218689
Progesterone + HGF	associated	Myoepithelial cells	18218689
Progesterone	induces	TNFSF11	18218689
TNFSF11	interacts	HGF	18218689
BCL2L1	regulates	Apoptosis in the TEBs	10426400
BCL2	regulates	Apoptosis in the TEBs	10426400
BCL2	regulates	Apoptosis in the TEBs	9012521
BCL2L1	regulates	Apoptosis in the TEBs	9012521
BAX	express	TEBs	9012521
TGFB1	inhibits	Ductal growth	1637552
TGFB2	inhibits	Ductal growth	1637552

TGFB3	inhibits	Ductal growth	1637552
MFGE8	binds	ITGAV	17299048
MFGE8	activates	MAPK	17299048
MFGE8	associated	TEBs	17299048
MFGE8	associated	Branching	17299048
Vitamin D(3)	binds	VDR	12070083
VDR	express	TEBs	12070083
VDR	express	Stromal cells	12070083
Vitamin D(3)	associated	Branching	12070083
Vitamin D(3)	associated	Elongation	12070083
CSF1	required	Branching	10804170
CSF1	associated	TEBs	10804170
CSF1	associated	Outgrowth	10804170
CCL11	associated	TEBs	10804170
CCL11	associated	Branching	10804170
RARA	induces	Lumen formation	12414989
Retinoic acid	increases	MMP9	12414989
FGF4	inhibites	BCL2	12707773
FGF4	regulates	Apoptosis in the TEBs	12707773
BCL2L11	associated	Apoptosis in the TEBs	17276340
IGFBP	inhibits	IGF	22161834
IGFBP	enhances	IGF	22161834
IGFBP	associated	Extracellular matrix proteins	22161834
IGFBP	associated	Integrin	22161834
IGF1	associated	CCNA2	16901968
IGF1	associated	CCNB1	16901968
PTK2	associated	ROCK	19584305
TGFB1	inhibits	Mammary gland development	8326026
TGFA	stimulates	Mammary growth	8326026
EGF	stimulates	Mammary growth	8326026
ITGA2	associated	Branching	12107118
FGF	binds	Glycosaminoglycan	11547896
HGF	binds	Glycosaminoglycan	11547896
WNT	binds	Glycosaminoglycan	11547896
MDK	binds	Glycosaminoglycan	11547896
Collagen	binds	Glycosaminoglycan	11547896
FN1	binds	Glycosaminoglycan	11547896
LAM	binds	Glycosaminoglycan	11547896
LPL	binds	Glycosaminoglycan	11547896
TGFB1	promotes	MMP9	17288590
AREG	binds	EGFR	16079154
ADAM17	cleaves	AREG	16079154
HGF	upregulates	TNFAIP3	17384262
HGF	downregulates	DAXX	17384262
HGF	downregulates	DIABLO	17384262
EGF	promotes	Epithelial cell proliferation	8468371

EGF	promotes	Stromal cell proliferation	8468371
EGF	associated	TEBs	8468371
Estrogen	induces	Proliferation	11217147
Estrogen	upregulates	IGF1	11217147
Estrogen	upregulates	IGF2	11217147
Estrogen	downregulates	IGFBP2	11217147
IGF1	positively correlated	Epithelial cell proliferation	11217147
IGF2	positively correlated	Epithelial cell proliferation	11217147
IGFBP2	positively correlated	Apoptosis	11217147
CSF1	reduces	Collagen I	17029292
ITGB1	associated	TEBs	10525347
LAM	associated	TEBs	10525347
HGF	associated	ITGB1	10525347
CITED1	localizes	Luminal epithelial cells	16278680
CITED1	localizes	Body cells	16278680
Estrogen	associated	AREG	16278680
TGFB	associated	AREG	16278680
CITED1	regulates	AREG	16278680
NTN1	express	Body cells	12636918
NEO1	express	Cap cells	12636918
NTN1	binds	NEO1	12636918
PGR	induces	GH	12431806
NCOA3	associated	GH	10823921
NCOA3	associated	Estrogen	10823921
TGFB1	stimulates	Elongation	8607860
TGFB1	stimulates	Branching	8607860
EGF	stimulates	Branching	11688561
HGF	stimulates	Branching	11688561
MMP3	associated	Branching	11688561
MMP	associated	Branching	11688561
Plasmin	activates	MMP	11688561
TGFB1	produced	Epithelial cells	1644225
TGFB1	produced	Stromal cells	1644225
TGFB1	associated	Extracellular matrix (ECM)	1644225
TGFB1	inhibits	TEBs	1644225
MMP2	cleaves	LAMA5	10233857
Estrogen	associated	IGF1	7867584
Estrogen	synergizes	GH	7867584
GH	associated	IGF1	7867584
Hyaluronate	associated	TEBs	6717086
Sulfated glycosaminoglycan	associated	TEBs	6717086
Glycosaminoglycan	associated	TEBs	6717086
IGF1	synergizes	EGF	11956170
IGF1	synergizes	TGFA	11956170
TGFB	inhibites	Mammary growth	3474783
TGFB	inhibites	Mammary morphogenesis	3474783

TIMP	inhibites	MMP	9791732
Microvillin	associated	Apical pole of the luminal epithelial cells	6385003
p80	associated	Apical pole of the luminal epithelial cells	6385003
p205	associated	Basal pole of the luminal epithelial cells	6385003
Somatostatin	lowers	GH	16223973
GH	associated	IGF1	16223973
IGF1	inhibites	Apoptosis	16223973
IGF1	phosphorylates	IRS1	16223973
IGF1	associated	Cell division	16223973
Somatostatin	binds	SSTR3	16223973
Somatostatin	binds	SSTR5	16223973
Somatostatin	stimulates	IGFBP5	16223973
IGFBP5	associated	IGF1	16223973
IGFBP5	inhibites	GH-induced mammary development	16223973
PER2	express	Mammary gland	16261617
PER2	correlated	MYC	16261617
PER2	correlated	CCND1	16261617

TABELA DE BIOINTERAÇÕES PARA GRAVIDEZ E LACTAÇÃO

Term 1	Biointeraction	Term 2	PMID
STAT5	binds	CSN2	9513715
YY1	binds	CSN2	9513715
NR3C1	binds	CSN2	9513715
CEBP	binds	CSN2	9513715
NFI	binds	WFDC	9513715
NR3C1	binds	WFDC	9513715
STAT5	binds	WFDC	9513715
CEBPB	associated	Pregnancy	9513715
CEBPA	associated	Lactation	9513715
MYC	downregulates	CAV1	15689376
MYC	activates	STAT5	15689376
PTPN1	associated	PGR	23154416
PTPN1	associated	STAT5	23154416
PTPN1	regulates	Alveologenesi	23154416
PTPN1	regulates	Lactogenesis	23154416
Fatty acid	regulates	Lipid synthesis	9240924
Fatty acid	associated	ACAC	9240924
NFKB	requires	CHUK	11747812
CCND1	requires	NFKB	11747812
CCND1	requires	CHUK	11747812
PRL	regulates	PIGR	12242032
Cortisol	regulates	PIGR	12242032

PIGR	mediates	PIGA	12242032
IFNG	upregulates	PIGR	12242032
IFNG	activates	STAT1	12242032
IFNG	correlates	IRF1	12242032
ITGB1	associated	Alveologenesi	16301336
ITGB1	associated	Lactation	16301336
ITGB1	associated	Differentiation	16301336
ITGB1	associated	STAT5	16301336
TNFSF11	regulates	Mammary gland development	11485016
ELF5	regulates expression	PRLR/JAK2/STAT5 signaling pathway	19269284
Progesterone	activates	STAT5	24058804
PRL	activates	STAT5	24058804
STAT5	regulates	Milk proteins	24058804
PI3K/AKT pathway	associated	Milk lipids	24058804
PI3K/AKT pathway	associated	Lactose	24058804
STAT5	linked	PI3K/AKT pathway	24058804
PI3K/AKT pathway	induces	PRL	24058804
PRL	associated	JAK	9751123
JAK	associated	STAT5A	9751123
STAT5B	associated	Lactation	9751123
NFKB	cross talk	PRLR/JAK2/STAT5 pathway	10834938
PRL	induces phosphorylation	STAT5	11133161
GH	activates	STAT5	11133161
EGF	activates	STAT5	11133161
PRL	activates	JAK/STAT pathway	10935024
STAT5	linked	Alveolar proliferation and differentiation	10935024
CDH1	associated	Differentiation	12049767
Progesterone	induces	PRLR	18543434
PGR(A)	co-expression	PGR(B)	18543434
Estrogen + Progesterone	associated	STAT5A	20392833
TNFSF11	mediates	STAT5A	20392833
TNFSF11	associated	ID2	20392833
TNFSF11	associated	CCND1	20392833
TNFSF11	associated	CDKN1A	20392833
HIF1A	associated	Differentiation	24444333
HIF1A	associated	Lipid secretion	24444333
Hypoxia	induces	HIF1A	24444333
HIF1A	induces	Glucose uptake	24444333
Hypoxia	induces	SLC2A1	24444333
Hypoxia	increases phosphorylation	STAT5A	24444333
HIF1A	increases phosphorylation	STAT5A	24444333
SOCS2	regulates	PRL signaling pathway	16469767
PRL	regulates	ELF5	16469767

NFIC(2)	activates	TP53	15637146
NFIC(2)	activates	CEL	15637146
NFIC(2)	activates	WFDC	15637146
PRLR	maintains	NFIC(2)	15637146
MTNR1A	correlates with	AKT1	22582905
MTNR1A	correlates with	STAT5	22582905
MTNR1A	correlates with	ESR1	22582905
MTNR1A	correlates with	PGR	22582905
MTNR1A	correlates with	CSN2	22582905
MTNR1A	correlates with	WFDC	22582905
LEP	express	Pregnancy	23715260
LEP	express	Lactation	23715260
AKT	associated	Lipid synthesis	12700340
PGR(B)	associated	TNFSF11 signaling pathway	12897242
JAK2	phosphorylates	PRLR	11875116
JAK2	phosphorylates	STAT5	11875116
PTHLH	associated	Lactation	14597768
NR3C1	enhances	STAT5	12142223
PRL	suppresses	Adipocyte differentiation	19684333
STAT5	suppresses	Adipocyte differentiation	19684333
PRL	enhances	TNFSF11	11137033
PTHLH	enhances	TNFSF11	11137033
PRLR signaling pathway	associated	ELF5	22523003
ELF5	associated	JAK/STAT pathway	22523003
ELF5	associated	NOTCH signaling pathway	22523003
IGF1	associated	Lactation	11913696
PRL	induces	Mammopoiesis	9009201
PRL	induces	Lactogenesis	9009201
PRL	binds	PRLR	9009201
PRLR	phosphorylates	STAT	9009201
PRLR	activates	STAT	9009201
STAT5A	associated	ESR1	21688337
STAT5A	associated	GJB1	21688337
STAT5A	associated	Anti-apoptotic BCL2 family members	21688337
STAT5A	associated	Pro-apoptotic BCL2 family members	21688337
TNFSF11	associated	CEBPB	11726661
CEBPB	associated	CSN2	11726661
TGFB	associated	SMAD3	18335503
SMAD3	associated	CSN2	18335503
CAV1	associated	STAT5A	12388746
PTEN	suppresses	Proliferation	12235113
PTEN	suppresses	Differentiation	12235113
PTEN	enhances	Apoptosis	12235113
PTEN	associated	IGFBP5	12235113
PTEN	decreases	AKT	12235113

TNFSF11	associated	ID2	16428453
AEBP1	regulates	PTEN	22114697
LEP	positively correlates	LEPR	17879067
LEP	associated	JAK-MAPK signal pathway	17879067
LEP	associated	JAK-STAT5 signal pathway	17879067
LEP	induces	CSN2	17879067
SRC	associated	Lactation	18215306
PTEN	downregulates	MAPK	25009983
PTEN	downregulates	CCND1	25009983
PTEN	downregulates	AKT	25009983
PTEN	downregulates	MTOR	25009983
PTEN	downregulates	RPS6KB1	25009983
PTEN	downregulates	STAT5	25009983
PTEN	downregulates	SREBF1	25009983
PTEN	downregulates	PPARG	25009983
PTEN	downregulates	PRLR	25009983
PTEN	downregulates	SLC2A1	25009983
PTEN	upregulates	EIF4EBP1	25009983
PRL	decreases	PTEN	25009983
GJB2	associated	GJB6	24988191
GJB2	express	Pregnancy	24988191
GJB2	express	Lactation	24988191
STAT6	associated	Pregnancy	18849387
STAT6	associated	IL4	18849387
STAT6	associated	IL13	18849387
Undifferentiated mammary epithelial cells	secrete	T-helper type 1 cytokines	18849387
Differentiated mammary epithelial cells	secrete	T-helper type 2 cytokines	18849387
DAG1	associated	STAT5	20940259
STAT5	associated	CSN1S1	16293640
STAT5	associated	KLK8	16293640
STAT5	associated	PSAP	16293640
STAT5	associated	GRB10	16293640
CEBP	interacts	CSN2	9637692
Differentiation	requires	CEBPB	9637692
DDR1	associated	STAT5	16167341
AXIN1	attenuates	CCND1	11739413
EGF	associated	Proliferation	7768984
Arachidonic acid-dependent pathways	associated	Dedifferentiation	7768984
Differentiation	requires	IGF	19246539
Differentiation	requires	Insulin	19246539
IGF1R	associated	Pregnancy	19246539
Differentiation	upregulates	INSR	19246539
Differentiation	downregulates	IGF1R	19246539
Insulin	induces	Milk proteins	19246539

Insulin	induces	Milk lipids	19246539
Insulin	induces	Lactate production	19246539
Insulin	induces phosphorylation	AKT	19246539
GH	associated	PRLR	12399427
PRLR(S)	associated	Differentiation	12746331
PRLR(S)	associated	Lactation	12746331
TPH1	express	Mammary gland	14960274
DDC	express	Mammary gland	14960274
TPH1	associated	Serotonin	14960274
DDC	associated	Serotonin	14960274
Serotonin	associated	Mammary gland	14960274
Serotonin	associated	Milk	14960274
PRL	induces	TPH1	14960274
Serotonin	suppresses	CSN2	14960274
Estrogen + Progesterone	increases	PRLR	10701763
Cortisol	increases	PRLR(L)	10701763
GH	enhances	PRLR(L)	10701763
Estrogen	associated	IgA	275864
Progesterone	associated	IgA	275864
PRL	associated	IgA	275864
Differentiation	increases	MIR101A	19281778
MIR101A	associated	CSN2	19281778
MIR101A	associated	PTGS2	19281778
Lactogenic hormones	stimulates	MIR200A	23750238
MIR200A	associated	CSN2	23750238
MIR200A	associated	CDH1	23750238
MIR200A	associated	ZEB1	23750238
MIR200A	associated	CLDN3	23750238
MIR200A	associated	PARD6B	23750238
HIF1A	associated	SLC2A1	24920730
NR3C1	physically associated	STAT5	9528750
EGF	associated	ESR	14605098
ESR1	physical interaction	STAT5	14605098
LEP	associated	JAK-MAPK signaling pathway	20181296
LEP	associated	JAK-STAT5 signaling pathway	20181296
EFNB2	associated	Lactation	19843150
CEBPB	binds	ID2	15809228
CEBPA	express	Lactation	7491114
CEBPB	express	Lactation	7491114
Cortisol	inhibites	CEBPB	7491114
PTPN11	promotes	STAT5	16959766
Activin A	inhibits	Acini	15223128
Pregnancy	decreases	ACVR2A	15223128
Pregnancy	decreases	ACVR2B	15223128
Lactogenesis	decreases	ACVR2A	15223128

Lactogenesis	decreases	ACVR2B	15223128
Pregnancy	decreases	INHBB	15223128
Pregnancy	associated	FST	15223128
PRL	induces	LALBA	3886733
IgA	binds	PIGR	11555393
Lactation	associated	PIGR	11555393
Lactation	associated	IgA-producing plasma cell	11555393
CASR	coordinates	PTHLH	23782944
CASR	associated	PTHLH	23782944
NRG1	positively regulates	ERBB2	20821301
NRG1	positively regulates	ERBB3	20821301
NRG1	enhances phosphorylation	STAT5	20821301
NRG1	increases	CSN2	20821301
NRG1	maintains	CSN2	20821301
SPRY2	express	Pregnancy	23573284
Lactation	increases expression	SPRY2	23573284
SPRY2	associated	EGFR pathway	23573284
ID1	modulates expression	AKT	20945346
ID1	modulates expression	BMP2	20945346
ID1	modulates expression	FGF3	20945346
ID1	modulates expression	RARB	20945346
WFDC	requires	Insulin	2007204
WFDC	requires	Cortisol	2007204
WFDC	requires	PRL	2007204
CSN2	requires	Insulin	2007204
CSN2	requires	Cortisol	2007204
CSN2	requires	PRL	2007204
NR3C2	induces	CSN2	12198239
LEP	positively influences	CSN2	12686468
TFRC	increases	Pregnancy	2642388
TFRC	increases	Lactation	2642388
TFRC	correlates	Proliferation	2642388
VEGF	increases	Pregnancy	10878616
VEGF	increases	Lactation	10878616
VEGFC	moderately increases	Pregnancy	10878616
VEGFC	moderately increases	Lactation	10878616
VEGF	associated	Milk	10878616
KDR	increases	Pregnancy	10878616
FLT4	increases	Pregnancy	10878616
FLT1	increases	Lactation	10878616
KDR	increases	Lactation	10878616
FLT4	increases	Lactation	10878616
FABP3	inhibits	Mammary epithelial cells growth	7962070
FABP3	promotes	Milk proteins	7962070
FABP3	associated	CSN2	7962070

FABP3	suppresses	EGF	7962070
EGF	antagonizes	FABP3	7962070
GJB2	is present	Pregnancy	17120054
GJB2	is present	Lactation	17120054
GJB6	is abundant	Pregnancy	17120054
GJB6	is abundant	Lactation	17120054
GJB2	co-localizes	GJB6	17120054
GJB1	restricted to	Parturition	17120054
SOCS1	negatively regulates	PRL	11445538
TGFB	negatively regulates	PRLR	23154409
TGFB	negatively regulates	STAT5	23154409
TRIM33	associated	TGFB	23154409
TRIM33	inhibits	SMAD4	23154409
TGFB	induces	SKIL	22833129
PRL	induces	SKIL	22833129
SKIL	promotes	STAT5 signaling	22833129
IGF2	express	Pregnancy	9886857
IGF1R	express	Pregnancy	9886857
IGF1	express	Pregnancy	9886857
ELF5	repress	CCND2	20831799
LEPR	express	Pregnancy	10601666
LEPR	express	Lactation	10601666
LEPR	express	Mammary epithelial cells	10601666
Lactation	upregulates	LPL	18671863
Lactation	upregulates	CD36	18671863
Lactation	upregulates	FABP3	18671863
Lactation	upregulates	ACSL1	18671863
Lactation	upregulates	ACSS2	18671863
Lactation	upregulates	ACACA	18671863
Lactation	upregulates	FASN	18671863
Lactation	upregulates	SCD	18671863
Lactation	upregulates	GPAT4	18671863
Lactation	upregulates	GPAM	18671863
Lactation	upregulates	LPIN1	18671863
Lactation	upregulates	BTN1A1	18671863
Lactation	upregulates	XDH	18671863
Lactation	upregulates	BDH1	18671863
Lactation	upregulates	INSIG1	18671863
Lactation	upregulates	PPARG	18671863
Lactation	upregulates	PPARGC1A	18671863
Lactation	upregulates	ABCG2	18671863
SREBF1	associated	Milk	18671863
SCD	associated	Milk	18671863
GJB2	is present	Secretory epithelium	15013803
GJB1	is present	Secretory epithelium	15013803
GJA1	is localized	Myoepithelium	15013803

Pregnancy	induces	GJB2	15013803
Lactation	induces	GJB1	15013803
PRKA	inactivates	ACACA	19747896
PRKA	modifies expression	FASN	19747896
PRKA	modifies expression	GPA	19747896
PRKA	modifies expression	FABP3	19747896
STK11	associated	PRKA	19747896
CAMKK	associated	PRKA	19747896
ACOT1	associated	PPARG	18027074
AKT	associated	SREBF1	18027074
SLIT	associated	ROBO4	20498081
NFIC(2)	regulates	CEL	11877413
Lactation	requires	ERBB2	10376526
PLIN2	associated	Differentiation	17452747
Estrogen	enhances expression	ATG3	24895572
Estrogen	enhances expression	ATG5	24895572
Estrogen	enhances expression	BECN1	24895572
Progesterone	enhances expression	ATG3	24895572
Progesterone	enhances expression	ATG5	24895572
Progesterone	enhances expression	BECN1	24895572
Estrogen + Progesterone	increases	PRKA	24895572
Estrogen + Progesterone	diminishes	AKT	24895572
Estrogen + Progesterone	diminishes	MTOR	24895572

TABELA DE BIOINTERAÇÕES PARA INVOLUÇÃO

Term 1	Biointeraction	Term 2	PMID
CHI3L1	increases	MMP9	21991364
CHI3L1	suppress	CDH1	21991364
STAT5	controls	SOCS3	16231422
SOCS3	binds	IL6ST	16231422
IL6ST	activates	STAT3	16231422
STAT3	associated	MYC	17377501
MYC	binds	TP53	17377501
MYC	binds	BAX	17377501
MYC	binds	E2F1	17377501
STAT3	associated	Involution	12193580
MYC pathway	increases	Involution	18550711
E2F pathway	declines	Involution	18550711
GH	reduces	IGFBP5	16698222
IGFBP5	inhibits	AKT	16698222
IGF1	enhances	AKT	16698222
IGFBP3	inhibits	AKT	16698222
Involution	upregulates	CP	16989572
Involution	upregulates	PF4	16989572
Involution	upregulates	EPHX1	16989572

Involution	upregulates	LTF	16989572
Involution	upregulates	CFP	16989572
Involution	induces	LTF	8132889
Involution	associated	TGFA	9487995
Involution	increases	TGFB1	9487995
Involution	decreases activity	ALP	830021
Involution	loose activity	BDH	830021
Involution	loose activity	LDH	830021
Involution	loose activity	MDH	830021
Involution	loose activity	SDH	830021
Involution	increases activity	GUSB	830021
Involution	increases activity	LAP3	830021
Involution	increases activity	ACP2	830021
MFGE8	mediates phagocytosis	Apoptotic epithelial cells	16275924
MFGE8	mediates phagocytosis	Milk fat globules	16275924
Involution	decreases expression	AKT	11376107
AKT	associated	TIMP1	11376107
ABCG5	associated	Involution	24669870
NR1H3	associated	Involution	24669870
LTF	associated	Involution	24669870
EGFR	associated	Involution	20572782
ERBB2	associated	Involution	20572782
ERBB3	associated	Involution	20572782
ERBB4	associated	Involution	20572782
Involution	declines	PRL	10681392
NFI	express	Involution	14635798
Involution	reduces	FABP3	1582202
LIF	activates	STAT3	12810593
STAT3	upregulates	CEBPD	12810593
Involution	induces	PLAU	11003846
Involution	requires	PLG	11003846
BCL2L1	associated	Survival	11731240
BCL2L1	associated	Cell death	11731240
Involution	upregulates	CLU	8565829
Involution	upregulates	CASP1	8565829
Involution	upregulates	TIMP1	8565829
Involution	upregulates	MMP2	8565829
Involution	upregulates	MMP3	8565829
Involution	upregulates	PLAU	8565829
Cortisol	associated	MMP2	8565829
Cortisol	associated	MMP3	8565829
Cortisol	associated	PLAU	8565829
STAT3	regulates	Acute phase inflammatory response	18849387
NFKB	regulates	Acute phase inflammatory response	18849387

IGFBP5	sequestration	IGF1	10791769
IGFBP5	increases	CASP3	12223411
IGFBP5	increases	Plasmin	12223411
IGFBP5	decreases	BCL2	12223411
IGFBP5	decreases	BCL2L1	12223411
NRG1	induces	ELF3	9806763
EGF	induces	ELF3	9806763
Involution	upregulates	ELF3	9806763
NFI-C2	associated	Involution	15637146
NOS2	associated	STAT5	20345368
NOS2	associated	CSN2	20345368
NOS2	associated	STAT3	20345368
NOS2	associated	NFKB	20345368
MMP3	associated	Involution	8175886
IGF1	associated	Involution	8636401
MFGE8	regulates	Apoptotic epithelial cells	16195353
LEP	associated	JAK-STAT3 pathway	17879067
IGF1	associated	Involution	11913696
Involution	induces	STAT3	14973375
Involution	induces	NFKB	14973375
SOCS3	associated	STAT3	16289036
FAS	induces	Apoptosis	11086022
FASLG	induces	Apoptosis	11086022
CTSD	cleaves	PRL	24598201
Involution	increases	BAX	8798158
BCL2L1 (S)	associated	Apoptosis	8798158
TGFB	inhibites	AKT	14963111
PRL	associated	PIK3	14963111
FGF4	inhibites	BCL2	12707773
CDKN2A	associated	Apoptosis	15105443
CDKN2A	associated	CDKN1A	15105443
Involution	induces	CLU	9854140
Involution	induces	LTF	9854140
Involution	induces	FTH1	9854140
Involution	induces	LYZ	9854140
Involution	induces	SPP1	9854140
TGFB3	translocation	SMAD4	10862748
SOCS3	associated	MYC	17139252
MYC	associated	E2F1	17139252
MYC	associated	BAX	17139252
MYC	associated	TP53	17139252
Involution	increases	IGFBP2	14749361
Involution	increases	IGFBP5	14749361
NRG1	induces phosphorylation	STAT3	20821301
Involution	triggers	NFIC	11991954

NFIC	binds	CLU	11991954
KLKB1	express	Involution	19297327
Involution	elevates	CDKN2A	18567945
IGFBP5	associated	PLG	14710362
IGFBP5	regulates	Apoptosis	12538768
Involution	elevates	TNF	8060499
CLU	associated	Apoptosis	7755486
Involution	increases	ITGB1	8682318
Involution	upregulates	CTSL	12815617
FUT1	regulates	B-like antigen	11445549
Nonapoptosing mammary epithelial cells	express	B-like antigen	11445549
Involution	breakdown	NID	18219668
IGF1	associated	Involution	8536631
Involution	downregulates	IGFR1	15098926
Mitochondrial- mediated apoptosis	requires	Zinc	24338187
Lysosomal-mediated cell death	requires	Zinc	24338187
SLC39A8	import	Zinc	24338187
SLC30A2	export	Zinc	24338187
SLC30A4	export	Zinc	24338187
MCOLN1	associated	Zinc	24338187
IGF1	inhibites	Involution	8817687

ANEXO III

LISTA DE GENES

Gene - Símbolo	Gene - Nome	UniProtKB	LCA - Táxon	LCA - Nivel
ABCG2	ATP binding cassette subfamily G member 2 (Junior blood group)	Q9UNQ0	Eukaryota	2
ABCG5	ATP binding cassette subfamily G member 5	Q9H222	Eukaryota	2
ACACA	acetyl-CoA carboxylase alpha	Q13085	Eukaryota	2
ACOT1	acyl-CoA thioesterase 1	Q86TX2	cellular organisms	1
ACP2	acid phosphatase 2, lysosomal	P11117	Eukaryota	2
ACSL1	acyl-CoA synthetase long-chain family member 1	P33121	cellular organisms	1
ACSS2	acyl-CoA synthetase short-chain family member 2	Q9NR19	cellular organisms	1
Activin A	Activin A	-	Bilateria	6
INHBA	inhibin beta A	P08476	Bilateria	6
ACVR2A	activin A receptor type IIA	P27037	Metazoa	4
ACVR2B	activin A receptor type IIB	Q13705	Metazoa	4
ADAM17	ADAM metallopeptidase domain 17	P78536	Opisthokonta	3
AEBP1	AE binding protein 1	Q8IUX7	Gnathostomata	11
AKT	v-akt murine thymoma viral oncogene		cellular organisms	1
AKT1	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	P31749	cellular organisms	1
AKT2	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2	P31751	cellular organisms	1
AKT3	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 3	Q9Y243	cellular organisms	1
ALDH1A2	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A2	O94788	Cellular organisms	1
ALP	alkaline phosphatase		cellular organisms	1
ALPI	alkaline phosphatase, intestinal	P09923	cellular organisms	1
ALPL	alkaline phosphatase, liver/bone/kidney	P05186	cellular organisms	1
ALPP	alkaline phosphatase, placental	P05187	cellular organisms	1
ALPPL2	alkaline phosphatase, placental like 2	P10696	cellular organisms	1
ALX4	ALX homeobox 4	Q9H161	Deuterostomia	7
AP1	AP1		Metazoa	4
JUN	jun proto-oncogene	P05412	Metazoa	4
JUNB	jun B proto-oncogene	P17275	Metazoa	4
JUND	jun D proto-oncogene	P17535	Eumetazoa	5
ATF1	activating transcription factor 1	P18846	Vertebrata	10
ATF2	activating transcription factor 2	P15336	Metazoa	4

ATF3	activating transcription factor 3	P18847	Eumetazoa	5
ATF4	activating transcription factor 4	P18848	Metazoa	4
ATF5	activating transcription factor 5	Q9Y2D1	Eumetazoa	5
ATF6	activating transcription factor 6	P18850	Metazoa	4
ATF6B	activating transcription factor 6 beta	Q99941	Bilateria	6
ATF7	activating transcription factor 7	P17544	Chordata	8
FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog	P01100	Chordata	8
FOSB	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B	P53539	Gnathostomata	11
FOSL1	FOS-like antigen 1	P15407	Chordata	8
FOSL2	FOS-like antigen 2	P15408	Gnathostomata	11
AR	androgen receptor	P10275	Euteleostomi	13
AREG	amphiregulin	P15514	Tetrapoda	16
ARHGAP5	Rho GTPase activating protein 5	Q13017	Eumetazoa	5
ATG3	autophagy related 3	Q9NT62	Eukaryota	2
ATG5	autophagy related 5	Q9H1Y0	Eukaryota	2
ATP2B2	ATPase plasma membrane Ca ²⁺ transporting 2	Q01814	cellular organisms	1
AXIN1	axin 1	Q15169	Metazoa	4
BAX	BCL2-associated X protein	Q07812	Eumetazoa	5
BCL2	B-cell CLL/lymphoma 2	P10415	Bilateria	6
BCL2L1	BCL2-like 1	Q07817	Metazoa	4
BCL2L1(L)	BCL2-like 1 long isoform	-	Metazoa	4
BCL2L1(S)	BCL2-like 1 short isoform	-	Metazoa	4
BCL2L11	BCL2-like 11 (apoptosis facilitator)	Q43521	Euteleostomi	13
BDH	3-hydroxybutyrate dehydrogenase		cellular organisms	1
BDH1	3-hydroxybutyrate dehydrogenase, type 1	Q02338	cellular organisms	1
BDH2	3-hydroxybutyrate dehydrogenase, type 2	Q9BUT1	cellular organisms	1
BDNF	brain-derived neurotrophic factor	P23560	Chordata	8
BECN1	beclin 1, autophagy related	Q14457	Eukaryota	2
BMP4	bone morphogenetic protein 4	P12644	Metazoa	4
BMPR1A	bone morphogenetic protein receptor type 1A	P36894	Bilateria	6
BTN1A1	butyrophilin subfamily 1 member A1	Q13410	Tetrapoda	16
CAMKK	calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase		Eukaryota	2
CAMKK1	calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 1	Q8N5S9	Eukaryota	2
CAMKK2	calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2	Q96RR4	Eukaryota	2
CASP1	caspase 1	P29466	Euteleostomi	13
CASP3	caspase 3	P42574	Metazoa	4
CASR	calcium sensing receptor	P41180	Metazoa	4
CAV1	caveolin 1	Q03135	Metazoa	4
CCL11	C-C motif chemokine ligand 11	P51671	cellular organisms	1
CCNA2	cyclin A2	P20248	Eukaryota	2
CCNB1	cyclin B1	P14635	Eukaryota	2
CCND1	cyclin D1	P24385	Opisthokonta	3

CCND2	cyclin D2	P30279	cellular organisms	1
CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	P16671	Bilateria	6
CDH1	cadherin 1, type 1	P12830	Chordata	8
CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	P38936	Euteleostomi	13
CDKN2A	cyclin-dependent kinase inhibitor 2A	Q8N726	Sarcopterygii	14
CEBPA	CCAAT/enhancer binding protein alpha	P49715	Euteleostomi	13
CEBPB	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta	P17676	Euteleostomi	13
CEBPB(LAP)	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta isoform LAP (liver-enriched activating protein)	-	Euteleostomi	13
CEBPB(LIP)	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), beta isoform LIP (liver-enriched inhibiting protein)	-	Euteleostomi	13
CEBPD	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), delta	P49716	Euteleostomi	13
CEL	carboxyl ester lipase	P19835	Euteleostomi	13
CFP	complement factor properdin	P27918	Gnathostomata	11
CHI3L1	chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)	P36222	Mammalia	18
CHUK	conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase	Q15111	Metazoa	4
CITED1	Cbp/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain, 1	Q99966	Gnathostomata	11
CLDN3	claudin 3	Q15551	Chordata	8
CLU	clusterin	P10909	Gnathostomata	11
CP	ceruloplasmin (ferroxidase)	P00450	Eukaryota	2
CSF1	colony stimulating factor 1 (macrophage)	P09603	Amniota	17
CSN1S1	casein alpha s1	P47710	Boreoeutheria	21
CSN2	casein beta	P05814	Mammalia	18
CTNNB1	catenin (cadherin-associated protein), beta 1, 88kDa	P35222	Metazoa	4
CTSD	cathepsin D	P07339	Eukaryota	2
CTSL	cathepsin L	P07711	Eukaryota	2
DAG1	dystroglycan 1	Q14118	Metazoa	4
DAXX	death-domain associated protein	Q9UER7	Opisthokonta	3
DDC	dopa decarboxylase	P20711	cellular organisms	1
DDR1	discoidin domain receptor tyrosine kinase 1	Q08345	Bilateria	6
DGAT1	diacylglycerol O-acyltransferase 1	Q75907	Eukaryota	2
DIABLO	diablo, IAP-binding mitochondrial protein	Q9NR28	Bilateria	6
DKK4	dickkopf WNT signaling pathway inhibitor 4	Q9UBT3	Deuterostomia	7
DSP	desmoplakin	P15924	Gnathostomata	11
E2F1	E2F transcription factor 1	Q01094	Euteleostomi	13
EDA	ectodysplasin A	Q92838	Eumetazoa	5
EDAR	ectodysplasin A receptor	Q9UNE0	Euteleostomi	13
EFNB2	ephrin-B2	P52799	Eumetazoa	5
EGF	epidermal growth factor	P01133	Chordata	8
EIF4EBP1	eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1	Q13541	Eukaryota	2
ELF3	E74-like factor 3 (ets domain transcription factor, epithelial-specific)	P78545	Bilateria	6
ELF5	E74-like factor 5 (ets domain transcription factor)	Q9UKW6	Amniota	17
EPGN	epithelial mitogen	A0PK19	Amniota	17

EPHX1	epoxide hydrolase 1, microsomal (xenobiotic)	P07099	cellular organisms	1
ERBB	erb-b receptor tyrosine kinase		Opisthokonta	3
EGFR	epidermal growth factor receptor	P00533	Opisthokonta	3
ERBB2	erb-b2 receptor tyrosine kinase 2	P04626	Chordata	8
ERBB3	erb-b2 receptor tyrosine kinase 3	P21860	Gnathostomata	11
ERBB4	v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4	Q15303	Metazoa	4
ESR	estrogen receptor		Eukaryota	2
ESR1	estrogen receptor 1	P03372	Euteleostomi	13
ESR2	estrogen receptor 2 (ER beta)	Q92731	Eukaryota	2
FABP3	fatty acid binding protein 3, muscle and heart	P05413	Bilateria	6
FAS	Fas cell surface death receptor	P25445	Gnathostomata	11
FASLG	Fas ligand (TNF superfamily, member 6)	P48023	Gnathostomata	11
FASN	fatty acid synthase	P49327	Eukaryota	2
FGF	fibroblast growth factor		Eumetazoa	5
FGF1	fibroblast growth factor 1 (acidic)	P05230	Eumetazoa	5
FGF2	fibroblast growth factor 2 (basic)	P09038	Eumetazoa	5
FGF3	fibroblast growth factor 3	P11487	Eumetazoa	5
FGF4	fibroblast growth factor 4	P08620	Eumetazoa	5
FGF5	fibroblast growth factor 5	P12034	Eumetazoa	5
FGF6	fibroblast growth factor 6	P10767	Eumetazoa	5
FGF7	fibroblast growth factor 7	P21781	Eumetazoa	5
FGF8	fibroblast growth factor 8 (androgen-induced)	P55075	Eumetazoa	5
FGF9	fibroblast growth factor 9	P31371	Eumetazoa	5
FGF10	fibroblast growth factor 10	O15520	Eumetazoa	5
FGF11	fibroblast growth factor 11	Q92914	Eumetazoa	5
FGF12	fibroblast growth factor 12	P61328	Eumetazoa	5
FGF13	fibroblast growth factor 13	Q92913	Eumetazoa	5
FGF14	fibroblast growth factor 14	Q92915	Eumetazoa	5
FGF16	fibroblast growth factor 16	O43320	Eumetazoa	5
FGF17	fibroblast growth factor 17	O60258	Eumetazoa	5
FGF18	fibroblast growth factor 18	O76093	Eumetazoa	5
FGF19	fibroblast growth factor 19	O95750	Eumetazoa	5
FGF20	fibroblast growth factor 20	Q9NP95	Eumetazoa	5
FGF21	fibroblast growth factor 21	Q9NSA1	Eumetazoa	5
FGF22	fibroblast growth factor 22	Q9HCT0	Eumetazoa	5
FGF23	fibroblast growth factor 23	Q9GZV9	Eumetazoa	5
FGFR1	fibroblast growth factor receptor 1	P11362	Bilateria	6
FGFR2	fibroblast growth factor receptor 2	P21802	Bilateria	6
FGFR2(B)	fibroblast growth factor receptor 2 isoform B	-	Bilateria	6
FLT1	fms related tyrosine kinase 1	P17948	Bilateria	6
FLT4	fms related tyrosine kinase 4	P35916	Bilateria	6
FN1	fibronectin 1	P02751	Chordata	8
FOXI3	forkhead box I3	A8MTJ6	Chordata	8
FST	follistatin	P19883	Metazoa	4
FTH1	ferritin, heavy polypeptide 1	P02794	Eukaryota	2

FUT1	fucosyltransferase 1 (H blood group)	P19526	cellular organisms	1
GHR	growth hormone receptor	P10912	Euteleostomi	13
GJA1	gap junction protein, alpha 1, 43kDa	P17302	Euteleostomi	13
GJB1	gap junction protein beta 1	P08034	Bilateria	6
GJB2	gap junction protein beta 2	P29033	Bilateria	6
GJB6	gap junction protein beta 6	Q95452	Bilateria	6
GLI3	GLI family zinc finger 3	P10071	Bilateria	6
GPAM	glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial	Q9HCL2	Eumetazoa	5
GPAT4	glycerol-3-phosphate acyltransferase 4	Q86UL3	Eukaryota	2
GRB10	growth factor receptor bound protein 10	Q13322	Eumetazoa	5
GUSB	glucuronidase, beta	P08236	cellular organisms	1
HEY1	hes-related family bHLH transcription factor with YRPW motif 1	Q9Y5J3	Metazoa	4
HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	P14210	Euteleostomi	13
HIF1A	hypoxia inducible factor 1 alpha subunit	Q16665	Metazoa	4
ID1	inhibitor of DNA binding 1, dominant negative helix-loop-helix protein	P41134	Gnathostomata	11
ID2	inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein	Q02363	Bilateria	6
IFNG	interferon, gamma	P01579	Euteleostomi	13
IGF1	insulin-like growth factor 1 (somatomedin C)	P05019	Eumetazoa	5
IGF1R	insulin-like growth factor 1 receptor	P08069	Bilateria	6
IGF2	insulin-like growth factor 2	P01344	Opisthokonta	3
IGFBP2	insulin-like growth factor binding protein 2, 36kDa	P18065	Euteleostomi	13
IGFBP3	insulin-like growth factor binding protein 3	P17936	Gnathostomata	11
IGFBP5	insulin-like growth factor binding protein 5	P24593	Chordata	8
IGFR1	insulin like growth factor 1 receptor	P08069	Bilateria	6
IHH	indian hedgehog	Q14623	Eukaryota	2
IL12A	interleukin 12A	P29459	Euteleostomi	13
IL13	interleukin 13	P35225	Boreoeutheria	21
IL4	interleukin 4	P05112	Euteleostomi	13
IL6ST	interleukin 6 signal transducer	P40189	Chordata	8
INSIG1	insulin induced gene 1	O15503	Eukaryota	2
INSR	insulin receptor	P06213	Eumetazoa	5
IRF1	interferon regulatory factor 1	P10914	Gnathostomata	11
IRS1	insulin receptor substrate 1	P35568	Eukaryota	2
IRS2	insulin receptor substrate 2	Q9Y4H2	Metazoa	4
ITGA2	integrin, alpha 2 (CD49B, alpha 2 subunit of VLA-2 receptor)	P17301	Chordata	8
ITGA5	integrin, alpha 5 (fibronectin receptor, alpha polypeptide)	P08648	Chordata	8
ITGA6	integrin, alpha 6	P23229	Bilateria	6
ITGAV	integrin, alpha V	P06756	Eumetazoa	5
ITGB1	integrin, beta 1 (fibronectin receptor, beta polypeptide, antigen CD29 includes MDF2, MSK12)	P05556	Metazoa	4
JAG1	jagged 1	P78504	Bilateria	6
JAK	Janus kinase	-	cellular organisms	1

JAK1	Janus kinase 1	P23458	Gnathostomata	11
JAK2	Janus kinase 2	O60674	cellular organisms	1
JAK3	Janus kinase 3	P52333	cellular organisms	1
KDR	kinase insert domain receptor	P35968	Chordata	8
KLK8	kallikrein related peptidase 8	O60259	Eutheria	20
KLKB1	kallikrein B1	P03952	Sarcopterygii	14
LALBA	lactalbumin alpha	P00709	Bilateria	6
LAM	laminin		Metazoa	4
LAMA1	laminin, alpha 1	P25391	Metazoa	4
LAMA2	laminin, alpha 2	P24043	Metazoa	4
LAMA3	laminin, alpha 3	Q16787	Bilateria	6
LAMA4	laminin, alpha 4	Q16363	Gnathostomata	11
LAMA5	laminin, alpha 5	O15230	Bilateria	6
LAMB1	laminin, beta 1	P07942	Eumetazoa	5
LAMB2	laminin, beta 2 (laminin S)	P55268	Bilateria	6
LAMB3	laminin, beta 3	Q13751	Gnathostomata	11
LAMB4	laminin, beta 4	A4D0S4	Euteleostomi	13
LAMC1	laminin, gamma 1	P11047	Metazoa	4
LAMC2	laminin, gamma 2	Q13753	Euteleostomi	13
LAMC3	laminin, gamma 3	Q9Y6N6	Euteleostomi	13
LAP3	leucine aminopeptidase 3	P28838	cellular organisms	1
LDH	lactate dehydrogenase		cellular organisms	1
LDHA	lactate dehydrogenase A	P00338	cellular organisms	1
LDHB	lactate dehydrogenase B	P07195	cellular organisms	1
LEF1	lymphoid enhancer-binding factor 1	Q9UJU2	Gnathostomata	11
LEPR	leptin receptor	P48357	Euteleostomi	13
LIF	leukemia inhibitory factor	P15018	Tetrapoda	16
LPIN1	lipin 1	Q14693	Eukaryota	2
LPL	lipoprotein lipase	P06858	Bilateria	6
LTF	lactotransferrin	P02788	Eukaryota	2
LYZ	lysozyme	P61626	Bilateria	6
MAPK	mitogen-activated protein kinase		Eukaryota	2
MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1	P28482	Eukaryota	2
MAPK3	mitogen-activated protein kinase 3	P27361	Eukaryota	2
MAPK4	mitogen-activated protein kinase 4	P31152	Chordata	8
MAPK6	mitogen-activated protein kinase 6	Q16659	Chordata	8
MAPK7	mitogen-activated protein kinase 7	Q13164	Eukaryota	2
MAPK8	mitogen-activated protein kinase 8	P45983	Metazoa	4
MAPK9	mitogen-activated protein kinase 9	P45984	Metazoa	4
MAPK10	mitogen-activated protein kinase 10	P53779	Metazoa	4
MAPK11	mitogen-activated protein kinase 11	Q15759	Eukaryota	2
MAPK12	mitogen-activated protein kinase 12	P53778	Opisthokonta	3

MAPK13	mitogen-activated protein kinase 13	Q15264	Opisthokonta	3
MAPK14	mitogen-activated protein kinase 14	Q16539	Opisthokonta	3
MAPK15	mitogen-activated protein kinase 15	Q8TD08	Eukaryota	2
MCOLN1	mucolipin 1	Q9GZU1	Eukaryota	2
MDH	malate dehydrogenase		cellular organisms	1
MDH1	malate dehydrogenase 1	P40925	cellular organisms	1
MDH2	malate dehydrogenase 2	P40926	cellular organisms	1
MDK	midkine (neurite growth-promoting factor 2)	P21741	Euteleostomi	13
MET	MET proto-oncogene, receptor tyrosine kinase	P08581	Bilateria	6
MFGE8	milk fat globule-EGF factor 8 protein	Q08431	Bilateria	6
MME	membrane metallo-endopeptidase	P08473	Cellular organisms	1
MMP	matrix metallopeptidase		Chordata	8
MMP2	matrix metallopeptidase 2	P08253	Chordata	8
MMP3	matrix metallopeptidase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	P08254	Sarcopterygii	14
MMP9	matrix metallopeptidase 9	P14780	Gnathostomata	11
MSX2	msh homeobox 2	P35548	Metazoa	4
MTNR1A	melatonin receptor 1A	P48039	Metazoa	4
MTOR	mechanistic target of rapamycin (serine/threonine kinase)	P42345	Eukaryota	2
MYC	v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog	P01106	Opisthokonta	3
NCOA3	nuclear receptor coactivator 3	Q9Y6Q9	Euteleostomi	13
NEO1	neogenin 1	Q92859	Bilateria	6
NFIC	nuclear factor I/C (CCAAT-binding transcription factor)	P08651	Eumetazoa	5
NFIC(2)	nuclear factor I/C (CCAAT-binding transcription factor) isoform 2		Eumetazoa	5
NFKB	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells	-	Metazoa	4
NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	P19838	Metazoa	4
NFKB2	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 2 (p49/p100)	Q00653	Euteleostomi	13
NOS2	nitric oxide synthase 2	P35228	cellular organisms	1
NOTCH	notch	-	Eukaryota	2
NOTCH1	notch 1	P46531	Metazoa	4
NOTCH2	notch 2	Q04721	Eukaryota	2
NOTCH3	notch 3	Q9UM47	Metazoa	4
NOTCH4	notch 4	Q99466	Metazoa	4
NR0B1	nuclear receptor subfamily 0 group B member 1	P51843	Chordata	8
NR0B2	nuclear receptor subfamily 0 group B member 2	Q15466	Euteleostomi	13
NR1H	nuclear receptor subfamily 1 group H	-	Bilateria	6
NR1H2	nuclear receptor subfamily 1 group H member 2	P55055	Bilateria	6
NR1H3	nuclear receptor subfamily 1 group H member 3	Q13133	Bilateria	6
NR3C1	nuclear receptor subfamily 3 group C member 1	P04150	Gnathostomata	11
NR3C2	nuclear receptor subfamily 3 group C member 2	P08235	Euteleostomi	13

NRG	neuregulin		Euteleostomi	13
NRG1	neuregulin 1	Q02297	Euteleostomi	13
NRG2	neuregulin 2	O14511	Euteleostomi	13
NRG3	neuregulin 3	P56975	Euteleostomi	13
NRG4	neuregulin 4	Q8WWG1	Amniota	17
NRIP1	nuclear receptor interacting protein 1	P48552	Euteleostomi	13
NTN1	netrin 1	O95631	Bilateria	6
NTRK2	neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2	Q16620	Bilateria	6
OXCT1	3-oxoacid CoA-transferase 1	P55809	cellular organisms	1
PARD6B	par-6 family cell polarity regulator beta	Q9BYG5	Metazoa	4
PDGFA	platelet-derived growth factor alpha polypeptide	P04085	Gnathostomata	11
PDGFRA	platelet-derived growth factor receptor, alpha polypeptide	P16234	Chordata	8
PER2	period circadian clock 2	O15055	Bilateria	6
PF4	platelet factor 4	P02776	Eutheria	20
PGR	progesterone receptor	P06401	Euteleostomi	13
PGR(B)	progesterone receptor isoform B	-	Euteleostomi	13
PHB2	prohibitin 2	Q99623	Eukaryota	2
PIGA	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class A	P37287	Eukaryota	2
PIGR	polymeric immunoglobulin receptor	P01833	Tetrapoda	16
PIK3	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase		Eukaryota	2
PIK3CA	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha	P42336	Eukaryota	2
PIK3CB	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit beta	P42338	Eukaryota	2
PIK3CD	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit delta	O00329	Eukaryota	2
PIK3CG	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma	P48736	Eukaryota	2
PLAU	plasminogen activator, urokinase	P00749	Euteleostomi	13
PLG	plasminogen	P00747	cellular organisms	1
PLIN2	perilipin 2	Q99541	Eukaryota	2
PPARG	peroxisome proliferator activated receptor gamma	P37231	Bilateria	6
PPARGC1A	PPARG coactivator 1 alpha	Q9UBK2	Chordata	8
PRKA	protein kinase AMP-activated	-	Eukaryota	2
PRKAA1	protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 1	Q13131	Eukaryota	2
PRKAA2	protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 2	P54646	Eukaryota	2
PRKAB2	protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit beta 2	O43741	Eukaryota	2
PRLR	prolactin receptor	P16471	Chordata	8
PRLR(L)	prolactin receptor long isoform	-	Chordata	8
PRLR(S)	prolactin receptor short isoform	-	Chordata	8
PSAP	prosaposin	P07602	Eukaryota	2
PTCH	patched		Eukaryota	2
PTCH1	patched 1	Q13635	Eukaryota	2
PTCH2	patched 2	Q9Y6C5	Eukaryota	2

PTEN	phosphatase and tensin homolog	P60484	Eukaryota	2
PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2	P35354	cellular organisms	1
PTH1R	parathyroid hormone 1 receptor	Q03431	Bilateria	6
PTHLH	parathyroid hormone-like hormone	P12272	Euteleostomi	13
PTK2	protein tyrosine kinase 2	Q05397	Bilateria	6
PTPN1	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1	P18031	Opisthokonta	3
PTPN11	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11	Q06124	Opisthokonta	3
PXN	paxillin	P49023	Eukaryota	2
PXN(4)	paxillin isoform 4	-	Eukaryota	2
RAC1	ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (rho family, small GTP binding protein Rac1)	P63000	Eukaryota	2
RAC1(B)	ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (rho family, small GTP binding protein Rac1) isoform B	-	Eukaryota	2
RARA	retinoic acid receptor, alpha	P10276	Bilateria	6
RARB	retinoic acid receptor, beta	P10826	Bilateria	6
ROBO1	roundabout guidance receptor 1	Q9Y6N7	Bilateria	6
ROBO4	roundabout guidance receptor 4	Q8WZ75	Euteleostomi	13
ROCK	Rho associated coiled-coil containing protein kinase	-	Opisthokonta	3
ROCK1	Rho associated coiled-coil containing protein kinase 1	Q13464	Bilateria	6
ROCK2	Rho associated coiled-coil containing protein kinase 2	O75116	Opisthokonta	3
RPS6KB1	ribosomal protein S6 kinase, 70kDa, polypeptide 1	P23443	Eukaryota	2
RRM	ribonucleotide reductase	-	cellular organisms	1
RRM1	ribonucleotide reductase catalytic subunit M1	P23921	cellular organisms	1
RRM2	ribonucleotide reductase regulatory subunit M2	P31350	cellular organisms	1
RRM2B	ribonucleotide reductase regulatory TP53 inducible subunit M2B	Q7LG56	cellular organisms	1
RXR	retinoid X receptor	-	Opisthokonta	3
RXRA	retinoid X receptor alpha	P19793	Opisthokonta	3
RXRB	retinoid X receptor beta	P28702	Opisthokonta	3
RXRG	retinoid X receptor gamma	P48443	Opisthokonta	3
SCD	stearoyl-CoA desaturase (delta-9-desaturase)	O00767	cellular organisms	1
SDH	succinate dehydrogenase		cellular organisms	1
SDHA	succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A	P31040	cellular organisms	1
SDHB	succinate dehydrogenase complex iron sulfur subunit B	P21912	cellular organisms	1
SDHC	succinate dehydrogenase complex subunit C	Q99643	cellular organisms	1
SDHD	succinate dehydrogenase complex subunit D, integral membrane protein	O14521	Eukaryota	2
SHH	sonic hedgehog	Q15465	Bilateria	6
SKIL	SKI-like proto-oncogene	P12757	Euteleostomi	13
SLC2A1	solute carrier family 2 member 1	P11166	Eukaryota	2
SLC30A2	solute carrier family 30 (zinc transporter), member 2	Q9BRI3	Eukaryota	2

SLC30A4	solute carrier family 30 (zinc transporter), member 4	O14863	cellular organisms	1
SLC39A8	solute carrier family 39 (zinc transporter), member 8	Q9C0K1	Eukaryota	2
SLIT	slit		Metazoa	4
SLIT1	slit guidance ligand 1	O75093	Euteleostomi	13
SLIT2	slit guidance ligand 2	O94813	Metazoa	4
SLIT3	slit guidance ligand 3	O75094	Bilateria	6
SMAD3	SMAD family member 3	P84022	Metazoa	4
SMAD4	SMAD family member 4	Q13485	Metazoa	4
SOCS1	suppressor of cytokine signaling 1	O15524	cellular organisms	1
SOCS2	suppressor of cytokine signaling 2	O14508	Metazoa	4
SOCS3	suppressor of cytokine signaling 3	O14543	Chordata	8
SPP1	secreted phosphoprotein 1	P10451	Amniota	17
SPRY2	sprouty RTK signaling antagonist 2	O43597	Bilateria	6
SRC	SRC proto-oncogene, non-receptor tyrosine kinase	P12931	Opisthokonta	3
SREBF1	sterol regulatory element binding transcription factor 1	P36956	Opisthokonta	3
SSTR3	somatostatin receptor 3	P32745	Euteleostomi	13
SSTR5	somatostatin receptor 5	P35346	Chordata	8
STAT1	signal transducer and activator of transcription 1	P42224	Vertebrata	10
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3 (acute-phase response factor)	P40763	Gnathostomata	11
STAT5	signal transducer and activator of transcription 5		Opisthokonta	3
STAT5A	signal transducer and activator of transcription 5A	P42229	Opisthokonta	3
STAT5B	signal transducer and activator of transcription 5B	P51692	Opisthokonta	3
STAT6	signal transducer and activator of transcription 6, interleukin-4 induced	P42226	Gnathostomata	11
STK11	serine/threonine kinase 11	Q15831	Eukaryota	2
TAC	tachykinin	-	Euteleostomi	13
TAC1	tachykinin, precursor 1	P20366	Euteleostomi	13
TAC3	tachykinin 3	Q9UHF0	Euteleostomi	13
TAC4	tachykinin 4 (hemokinin)	Q86UU9	Eutheria	20
TBX15	T-box 15	Q96SF7	Chordata	8
TBX2	T-box 2	Q13207	Deuterostomia	7
TBX3	T-box 3	O15119	Metazoa	4
TFAP2C	transcription factor AP-2 gamma (activating enhancer binding protein 2 gamma)	Q92754	Euteleostomi	13
TFRC	transferrin receptor	P02786	Opisthokonta	3
TGFA	transforming growth factor, alpha	P01135	Gnathostomata	11
TGFB	transforming growth factor, beta	-	Deuterostomia	7
TGFB1	transforming growth factor, beta 1	P01137	Euteleostomi	13
TGFB2	transforming growth factor, beta 2	P61812	Chordata	8
TGFB3	transforming growth factor, beta 3	P10600	Deuterostomia	7
TGFB111	transforming growth factor beta 1 induced transcript 1	O43294	Eukaryota	2
TGFBR1	transforming growth factor, beta receptor 1	P36897	Eumetazoa	5
TGFBR1(Tsk7L)	transforming growth factor, beta receptor 1 Tsk7L	-	Eumetazoa	5
THBS	thrombospondin	-	Metazoa	4

THBS1	thrombospondin 1	P07996	Deuterostomia	7
THBS2	thrombospondin 2	P35442	Metazoa	4
THBS3	thrombospondin 3	P49746	Metazoa	4
THBS4	thrombospondin 4	P35443	Metazoa	4
TIMP	TIMP metalloproteinase inhibitor		Eumetazoa	5
TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	P01033	Eumetazoa	5
TIMP2	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	P16035	Bilateria	6
TIMP3	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	P35625	Eumetazoa	5
TIMP4	TIMP metalloproteinase inhibitor 4	Q99727	Bilateria	6
TJP1	tight junction protein 1	Q07157	Metazoa	4
TNF	tumor necrosis factor	P01375	Gnathostomata	11
TNFAIP3	TNF alpha induced protein 3	P21580	Chordata	8
TNFRSF11A	tumor necrosis factor receptor superfamily member 11a	Q9Y6Q6	Tetrapoda	16
TNFRSF19	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 19	Q9NS68	Gnathostomata	11
TNFSF11	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 11	O14788	Chordata	8
TP53	tumor protein p53	P04637	Metazoa	4
TPH1	tryptophan hydroxylase 1	P17752	Eukaryota	2
TRIM33	tripartite motif containing 33	Q9UPN9	Eukaryota	2
VDR	vitamin D (1,25- dihydroxyvitamin D3) receptor	P11473	Chordata	8
VEGF	vascular endothelial growth factor		Opisthokonta	3
VEGFA	vascular endothelial growth factor A	P15692	Euteleostomi	13
VEGFB	vascular endothelial growth factor B	P49765	Theria	19
VEGFC	vascular endothelial growth factor C	P49767	Opisthokonta	3
VIM	vimentin	P08670	Chordata	8
WFDC	WAP four-disulfide core domain		Bilateria	6
WFDC2	WAP four-disulfide core domain 2	Q14508	Bilateria	6
WFDC3	WAP four-disulfide core domain 3	Q8IUB2	Deuterostomia	7
WFDC5	WAP four-disulfide core domain 5	Q8TCV5	Amniota	17
WFDC6	WAP four-disulfide core domain 6	Q9BQY6	Boreoeutheria	21
WFDC8	WAP four-disulfide core domain 8	Q8IUA0	Bilateria	6
WFDC9	WAP four-disulfide core domain 9	Q8NEX5	Eutheria	20
WFDC10A	WAP four-disulfide core domain 10A	Q9H1F0	Eutheria	20
WFDC10B	WAP four-disulfide core domain 10B	Q8IUB3	Eutheria	20
WFDC11	WAP four-disulfide core domain 11	Q8NEX6	Boreoeutheria	21
WFDC12	WAP four-disulfide core domain 12	Q8WWY7	Eutheria	20
WFDC13	WAP four-disulfide core domain 13	Q8IUB5	Eutheria	20
WNT	wingless-type MMTV integration site family		Metazoa	4
WNT1	wingless-type MMTV integration site family, member 1	P04628	Eumetazoa	5
WNT2	wingless-type MMTV integration site family member 2	P09544	Eumetazoa	5
WNT2B	wingless-type MMTV integration site family, member 2B	Q93097	Eumetazoa	5
WNT3	wingless-type MMTV integration site family, member 3	P56703	Eumetazoa	5
WNT3A	wingless-type MMTV integration site family, member 3A	P56704	Eumetazoa	5
WNT4	wingless-type MMTV integration site family, member 4	P56705	Metazoa	4
WNT5A	wingless-type MMTV integration site family, member 5A	P41221	Eumetazoa	5
WNT5B	wingless-type MMTV integration site family, member 5B	Q9H1J7	Eumetazoa	5

WNT6	wingless-type MMTV integration site family, member 6	Q9Y6F9	Bilateria	6
WNT9A	wingless-type MMTV integration site family, member 9A	O14904	Eumetazoa	5
WNT9B	wingless-type MMTV integration site family, member 9B	O14905	Bilateria	6
WNT10A	wingless-type MMTV integration site family, member 10A	Q9GZT5	Eumetazoa	5
WNT10B	wingless-type MMTV integration site family, member 10B	O00744	Eumetazoa	5
WNT11	wingless-type MMTV integration site family, member 11	O96014	Metazoa	4
WNT16	wingless-type MMTV integration site family, member 16	Q9UBV4	Eumetazoa	5
XDH	xanthine dehydrogenase	P47989	cellular organisms	1
YY1	YY1 transcription factor	P25490	Eukaryota	2
ZEB1	zinc finger E-box binding homeobox 1	P37275	Bilateria	6