



Servicio de Obstetricia y Ginecología
Hospital Universitario
Virgen de las Nieves
Granada

Cáncer de mama: implicaciones pronósticas y terapéuticas de la clasificación molecular.

Manuel Garrido Martínez

20/02/2020

INTRODUCCIÓN

El avance en el conocimiento del cáncer y, en concreto, en el cáncer de mama hace que la tendencia sea cada vez más hacia la individualización del tratamiento. Debido a ello, ha sido necesario el desarrollo de técnicas capaces de caracterizar la inmunohistoquímica de las células que lo componen para así intentar prever el comportamiento que pudieran llegar a tener ciertos tipos de cáncer y realizar una terapia dirigida.

Ya en el año 2000 el grupo de Perou y col.(1) inició una búsqueda de la expresión génica de los distintos tipos de cáncer de mama que fue dando lugar a la clasificación molecular tal y como hoy día la conocemos.

La clasificación actual no se basa en el análisis genético como en el trabajo comentado en el párrafo anterior sino en las características inmunohistoquímicas de las células analizadas. Así surgen lo que se conocen como tipos subrogados teniendo en cuenta la presencia de receptores de estrógenos, progesterona, Her 2 y Ki 67 y son: luminal A, luminal B, basal-like y Her 2 sobreexpresado. Para diferenciarlos de las categorías establecidas mediante análisis genético se le suele añadir al final la terminación “-like”.

CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA(2).

Luminal A-like	Luminal B-like		Her-2 sobreexpresado	Basal - like
RE positivos	RE positivos	Re positivos	RE negativos	RE negativos
RP ≥ 20 %	RP < 20%	RP +/-	RP negativos	RP negativos
Her 2 neu negativo	Her 2 neu negativo	Her 2 neu positivo	Her 2 neu positivo	Her 2 neu negativo
Ki 67 bajo	Ki 67 alto*			

RE: receptores de estrógenos; RP: receptores de progesterona.

*Ki 67 alto: > 20 – 30 % (según laboratorio).

IMPLICACIONES PRONÓSTICAS DE LOS MARCADORES TISULARES.**Receptores hormonales.**

Entre las diferentes influencias que pueden tener los receptores de estrógenos (RE) de las células tumorales en el comportamiento de la enfermedad está una menor tasa anual de recurrencia de la enfermedad a corto plazo (por debajo de los 5 primeros años) si se compara con el grupo que no presenta estos receptores(3, 4). Sin embargo, si se realiza un seguimiento a más largo plazo esto parece no ser así. Por ejemplo, en un estudio de más de 4000 pacientes con cáncer de mama operable del *International Breast Cancer Study Group* las pacientes con RE positivos, después de esos cinco primeros años, tuvieron un mayor riesgo anual de recurrencia (5 - 10 años: 5.4 vs 3.3 %; 10 - 15 años: 2.9 vs 1.3 %; 15 - 20 años: 2.8 vs 1.2 %)(3).

Es sabido desde hace tiempo que los tumores con RE tienen una probabilidad mayor de estar bien diferenciados desde el punto de vista histológico, tener una fracción más baja de células en división y una menor probabilidad de alteración en genes relacionados con el cáncer como Her2 y p53(5-8) , lo que les confiere un mejor pronóstico.

Por otro lado, también es conocido desde hace años (aunque con un mecanismo fisiopatológico no aclarado) que los RE poseen influencia pronóstica en la enfermedad metastásica, especialmente por la tendencia a dar

metástasis en tejido óseo, partes blandas o tracto genital mientras que aquellos tumores con RE negativos lo hacen con mayor frecuencia a cerebro e hígado, implicando un peor pronóstico estos últimos(9).

Además de los RE, los receptores de progesterona (RP) tienen también importancia pronóstica. La ausencia de estos receptores se ha asociado con un peor pronóstico respecto a la supervivencia global y libre de enfermedad, incluso en el grupo con RE positivos, sin afectación ganglionar y excluyendo la influencia de la terapia endocrina(10).

HER-2.

Respecto a este marcador hay que reseñar que la mayoría de los estudios en los que se evalúa su valor pronóstico tiene una gran influencia la terapia dirigida. Pero, si se considera de forma aislada, se trata de un marcador de mal pronóstico independientemente de otros factores adicionales como el estado ganglionar(11, 12).

Ki67.

Este marcador de proliferación celular constituye otro de los marcadores pronósticos utilizados en la clasificación molecular del cáncer de mama. De Azambuja y col. realizaron un metaanálisis que incluía 46 estudios y más de 12.000 pacientes en el que se concluyó que el Ki67 constituía un factor de mal pronóstico independientemente del estado ganglionar(13).

Existe, sin embargo, cierta controversia respecto a la consideración de este marcador como adecuado a la hora de establecer el pronóstico debido a las diferencias metodológicas entre laboratorios respecto a su medición. Tanto es así que el grupo de expertos en marcadores tumorales de la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) no recomienda el uso de marcadores de proliferación como el ki67 para evaluar el pronóstico(14). Aunque, en nuestro ámbito, y siguiendo las directrices de la Oncoguía correspondiente de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO), si es tenido en cuenta a la hora de establecer el pronóstico (2).

IMPLICACIONES PRONÓSTICAS DE LOS SUBGRUPOS MOLECULARES.

Luminal A.

Las neoplasias de mama que poseen estas características inmunohistoquímicas suponen en torno al 50 % del total(15). Además de asociarse con un grado histológico bajo, es el subgrupo que tiene mejor pronóstico siendo la supervivencia en algunas series mayor del 80 % a los 5 años(16). La multifocalidad y la multicentricidad están en torno al 30 % y al 9 %, respectivamente, en este tipo de tumores con las repercusiones pronósticas que conlleva(17). El porcentaje de pacientes con afectación axilar en este tipo de tumores es del 26,3 % (42.6% en el luminal B, 38.4% en el subgrupo con sobreexpresión de HER 2 y del 28.4% en el basal-like; por tanto, inferior a los demás y con mejor pronóstico)(18). Como se describirá más adelante, parte las implicaciones pronósticas de este y los demás subgrupos de tumores radica en la posibilidad de utilizar terapia dirigida.

Luminal B.

Este tipo de tumores supone el 15 – 20 % del total(15). La tasa de supervivencia a los 5 años es de un 40 %(16). El pronóstico de este subgrupo es mejor que los que se describen a continuación pero peor que el del luminal A(19). Hay trabajos que atribuyen a estos tipos de tumores un alto índice de recurrencia (como, por ejemplo, en este trabajo de Fan y col. en el que se describe una alta tasa de recurrencia en 50 de las 55 pacientes con tumores luminal B incluidas en su estudio(20)).

Her-2 sobreexpresado.

Este tipo de subtipo representa alrededor del 15 % del total y presenta una supervivencia a los 5 años del 31 % y, por tanto, le caracteriza un peor pronóstico que los dos anteriores(15). Aunque, como se describió más arriba, el que el tumor presente Her-2 como marcador condiciona mal pronóstico en sí mismo sin tener en cuenta la terapia dirigida y el estado ganglionar, hay que resaltar que algunos trabajos encuentran asociación entre este subtipo molecular y la presencia de afectación ganglionar metastásica hasta en un 83 %, con la repercusión sobre el pronóstico que ello conlleva(21).

Basal-like.

A menudo a este subgrupo también se le denomina triple negativo (por no presentar RE, RP ni Her-2). Supone entre el 10 y el 20 % de todos los tumores diagnosticados y la supervivencia a los 5 años es prácticamente nula. Si lo comparamos con los otros subtipos, éstos son más grandes en el momento del diagnóstico (64% > 2 cm frente a 37% > 2 cm de los otros subtipos), afectan los ganglios linfáticos con mayor frecuencia (54% frente a 46%) y con mayor frecuencia son tumores de alto grado (66% frente a 28%)(15). Es por todo ello por lo que este tipo de tumor es el de peor pronóstico.

IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LA CLASIFICACIÓN MOLECULAR.

La clasificación molecular del cáncer de mama constituye una poderosa herramienta a la hora de elegir el tratamiento primario y complementario de la enfermedad. Tanto es así que representa, junto con el estadio del tumor, los dos factores principales a la hora de decidirlo. Orientado todo ello a la individualización del tratamiento.

Se describen a continuación las consideraciones de tratamiento generales y en cada subgrupo de tumor siguiendo como norma general el esquema básico de la Oncoguía de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetrica(2), haciendo referencia adicional a aquellas aportaciones que surgen de una bibliografía distinta.

Se consideran factores de buena respuesta al tratamiento con quimioterapia (QT): alto grado histológico, receptores hormonales negativos, elevada proliferación tumoral, sobreexpresión de Her-2 e infiltrado inflamatorio tumoral.

Por otro lado, los factores que implican una respuesta mayor a la hormoterapia son justo los contrarios, es decir: bajo grado histológico, receptores hormonales positivos, baja proliferación tumoral y Her-2 negativo.

Luminal A.

En pacientes con este tipo de tumores existe la posibilidad de realizar tratamiento médico primario en aquellas pacientes con cáncer localmente avanzado (T3 – T4) (Anexo 1, clasificación TNM), cualquier T con N2 o en

aquellas con enfermedad en estadio inicial en las que no es posible la cirugía conservadora (y no se puede o no se desea realizar cirugía radical). En estas pacientes se puede optar por la QT u hormonoterapia (HT) neoadyuvante. Como se ha descrito más arriba, este tipo de tumores tienen un perfil de buena respuesta a HT aunque en pacientes premenopáusicas se sigue prefiriendo la QT. En postmenopáusicas se describen tasas similares de respuesta general, respuesta patológica completa y recurrencia local a largo plazo si se compara la QT con la hormoterapia (en concreto con inhibidores de la aromatasas) pero con menos efectos secundarios y mayor tasa de cirugía conservadora en el caso de esta última(22). Como vemos, cuando exista indicación de tratamiento neoadyuvante, el subgrupo molecular condiciona la elección de dicho tratamiento.

En cuanto al tratamiento adyuvante, hay regímenes de tratamiento que incluyen hormonoterapia sola o en asociación con QT dependiendo del estadio tumoral pero las características de este subgrupo hacen que se utilice la HT prácticamente en cualquier caso.

Luminal B.

En este tipo de tumores tendremos aquellos con Her-2 negativo (y Ki67 elevado) o Her-2 positivo (independientemente del Ki67) además de la positividad en mayor o menor medida de los receptores hormonales.

Tanto en el grupo de pacientes con Her-2 positivo como en el que no lo presenta se optará por tratamiento neoadyuvante cuando el tumor mida más de 2 centímetros, existan ganglios afectados o no sea posible la cirugía conservadora. Dicho tratamiento será QT en aquellas pacientes candidatas asociando terapia dirigida con trastuzumab en caso de Her-2 positivo. Si la paciente no es candidata a QT y el Her-2 es negativo se puede plantear realizar tratamiento con HT neoadyuvante (en caso de Her-2 positivo se debe plantear la cirugía).

Respecto al tratamiento adyuvante, si el Her-2 es negativo el esquema es muy similar al luminal A (HT prácticamente en todos los casos asociándole QT en aquellos casos de tumores localmente avanzados o con afectación axilar).

Her-2 sobreexpresado.

El tratamiento neoadyuvante en este tipo de tumores se reserva para aquellos que midan más de 2 cm y/o tengan ganglios afectados o en casos donde la cirugía conservadora no es posible. Los regímenes de tratamiento están basados en quimioterapia más agentes dirigidos anti-Her-2. A este respecto es necesario remarcar que trastuzumab combinado con QT reduce a la mitad aproximadamente el riesgo de recurrencia en comparación con la quimioterapia sola representando un 10 % de mejora en la supervivencia libre de enfermedad y un aumento del 9 % en la supervivencia global a 10 años(23). Tanto es así que la Sociedad Americana de Oncología Clínica / Colegio de Patólogos Americanos (ASCO) consideran su uso incluso con resultado equívoco (incluso después de un test alternativo)(24). Especial mención merece la cardiotoxicidad de este fármaco que hace que no se deba usar en pacientes con alteración de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo ni combinarlo con antraciclinas. Sin embargo, la combinación con taxanos ha demostrado seguridad y más efectividad que el tratamiento secuencial(25).

Continuando con los aspectos del tratamiento neoadyuvante en pacientes con este tipo de tumores es necesario hacer mención a lo que se conoce como bloqueo dual con agentes anti-Her-2 asociados a quimioterapia (en concreto, trastuzumab + lapatinib y trastuzumab + pertuzumab). En el caso de la asociación con lapatinib parece mejorar la tasa de respuesta clínica en comparación con QT más trastuzumab solo aunque no los resultados a largo plazo por lo que para recomendar su uso aún necesitan más estudios(23). La asociación con pertuzumab mejora significativamente las tasas de supervivencia libre de enfermedad entre las pacientes con cáncer operable y, además, aumenta la tasa de respuesta patológica precirugía. Esta asociación con pertuzumab también ha demostrado aumentar la supervivencia global en pacientes con enfermedad metastásica(26).

Como tratamiento adyuvante (\geq T1b-T1c N0), la terapia dirigida con trastuzumab se usa asociada a QT en líneas generales en todas aquellas pacientes con tumores con sobreexpresión de este marcador (se acepta que la

duración de la terapia dirigida es de un año y con posibilidad de administración subcutánea en forma *depot* tras finalizar QT).

Basal-like.

En los mismos casos detallados para el tipo con sobreexpresión de Her-2 se debe hacer tratamiento neoadyuvante (en este caso solo QT). Para remarcar la importancia de la QT en pacientes con este tipo de tumores se hace mención al trabajo de Berry y col. en el que compararon los resultados de la QT (en pacientes con afectación axilar) entre aquellos que presentaban RE positivos y los que no lo presentaban viendo una mayor reducción en el riesgo de recurrencia (55 vs 26 %) lo que se tradujo en una mejora en la supervivencia libre de enfermedad (23 vs 7 %) además de una mayor reducción en el riesgo de muerte (55 vs 23 %) lo que significó una mejora en la supervivencia global (17 vs 4 %)(27).

Como tratamiento adyuvante se utilizará la QT en pacientes con clasificación $\geq T1c$ y/o N1a (aunque se valorará también en pacientes con T1b N0).

Enfermedad metastásica.

En el caso de la enfermedad metastásica es conveniente, en caso de ser posible, volver a filiar el tumor desde el punto de vista inmunohistoquímico puesto que existen discordancias respecto a la del tumor primario en un 13% para los RE, en un 30 % para los RP y en un 3 – 5 % para Her-2(28) con las implicaciones que ello conlleva a la hora de escoger el tratamiento más adecuado (importancia de repetir biopsia).

Si existe positividad para Her-2 el tratamiento será quimioterapia junto con terapia dirigida anti-Her-2. En caso de no haberla y existir positividad para receptores hormonales el tratamiento será HT, utilizando QT cuando exista una crisis visceral (clínica o analítica), existan receptores hormonales pero la enfermedad se haya vuelto refractaria al tratamiento con HT o se trate de un triple negativo.

OTRAS CONSIDERACIONES.

Plataformas genómicas.

Recuperando la idea de individualizar el tratamiento en cada paciente que se expuso al inicio de este documento se describe ahora este avance en el manejo de la enfermedad. Las plataformas genómicas utilizan biomarcadores en base a los cuales se toman decisiones respecto al tratamiento (además de aportar información sobre pronóstico, tasa de recurrencia, etcétera). Veremos dos(29):

- Oncotype DX: este sistema analiza el ARN de alrededor de 20 genes en el material extraído del tumor y establece un índice de recurrencia (Recurrence Score o RS). De forma que existen tres grupos: bajo riesgo (RS <18), riesgo intermedio (RS 18 - 30) y alto riesgo (RS > 31). Las tasas de recurrencia a 10 años entre los grupos de riesgo bajo, intermedio y alto fueron de 6.8%, 14.3% y 30.5%, respectivamente. Además, su mayor utilidad está en predecir la respuesta al tratamiento sabiendo que puntuaciones de riesgo bajo o intermedio indican que la paciente realizará una buena respuesta al tratamiento con HT y puntuaciones altas, lo harán al tratamiento con QT (evitando, por tanto, los efectos secundarios en aquellas pacientes que de antemano se prevea que no van a hacer una buena respuesta).
- MammaPrint: este test analiza alrededor de 70 genes implicados en la tasa de recurrencia, metástasis, etcétera. Establece dos grupos: de mal pronóstico y de buen pronóstico. El riesgo de metástasis a 10 años en pacientes catalogadas como de mal pronóstico fue significativamente mayor que en aquellas con buen pronóstico (85% vs 51%, P <0.001) y la supervivencia global a 10 años fue de 95% vs 55% en estos dos grupos. Además, las pacientes en el grupo de mal pronóstico que recibieron quimioterapia tuvieron una tasa de metástasis a distancia de 10 años significativamente reducida (HR 0.37, P <0.001). Por lo tanto, las pacientes en el grupo de mal pronóstico son subsidiarias de tratamiento con QT para reducir la tasa de metástasis a distancia.

Subtipo adicional: Bajo en Claudina.

En algunas clasificaciones se incluye un quinto subgrupo de tumores que se conoce como "bajo en claudina". Es un subtipo molecular de cáncer de mama identificado originalmente por el perfil de expresión génica asociado con una

supervivencia deficiente. Estos tumores muestran preferentemente un fenotipo triple negativo, sin embargo, solo una minoría de los cánceres triple negativo tienen bajo nivel de claudina. Este tipo de tumores se asocian con edad temprana de aparición, mayor grado y tamaño tumoral e infiltrado linfocitario extenso. Las pacientes en este subgrupo tuvieron una supervivencia global peor en comparación con el tipo luminal A aunque se asociaron con una baja tasa de recurrencia local después de la cirugía conservadora(30).

CONCLUSIONES

- En los últimos años se ha producido un cambio en la concepción de esta enfermedad tendiendo a la individualización del tratamiento en función de sus características genéticas e inmunohistoquímicas.
- Los marcadores tisulares poseen en sí mismos, y de forma general y aislada, implicaciones pronósticas: la presencia de receptores hormonales es de buen pronóstico mientras que la presencia de Her-2 y Ki 67 elevado es de mal pronóstico.
- Más allá de estos marcadores, los subtipos moleculares poseen características pronósticas distintas, yendo desde el mejor pronóstico del luminal A al peor pronóstico del basal-like.
- La clasificación en subgrupos hace que el tratamiento neoadyuvante y adyuvante varíe, existiendo la posibilidad de utilizar terapias dirigidas lo que influye a su vez directamente en el pronóstico de la enfermedad.
- En el intento de individualizar el tratamiento surgen las plataformas genómicas que permiten conocer qué pacientes se pueden beneficiar de un tratamiento evitando efectos secundarios innecesarios.
- Existen otras clasificaciones en subtipos moleculares que incluyen variantes adicionales como la baja en claudina con características pronósticas propias.

ANEXO 1

Clasificación TNM. Se presentan tabuladas las categorías T y N (para la M: Mx significa que no se puede realizar estudio de extensión, M0 es ausencia de metástasis a distancia y M1 hace alusión a presencia de metástasis).

Categoría T		Descripción
Tx		El tumor primario no puede ser evaluado
T0		No evidencia de tumor primario
Tis	<ul style="list-style-type: none"> -Tis (DCIS) -Tis (LCIS) -Tis (Paget) 	Carcinoma <i>in situ</i> -Carcinoma ductal <i>in situ</i> -Carcinoma lobulillar <i>in situ</i> -Enfermedad de Paget sin carcinoma infiltrante asociado
T1	<ul style="list-style-type: none"> -T1 mic - T1a - T1b - T1c 	Tumor de ≤ 2 cm de diámetro máximo - Microinvasión, 0,1cm de dimensión máxima - Tumor > 0.1 cm pero $\leq 0,5$ cm de dimensión máxima - Tumor > 0.5 cm pero ≤ 1 cm de dimensión máxima - Tumor > 1 cm pero ≤ 2 cm de dimensión máxima
T2		Tumor > 2 cm pero ≤ 5 cm de dimensión máxima
T3		Tumor > 5 cm de dimensión máxima
T4	T4a T4b T4c T4d	-Extensión a pared torácica (no incluye músculo pectoral) -Edema (piel de naranja), ulceración de la piel o nódulos cutáneos satélites confinados a la misma mama -T4a + T4b -Carcinoma inflamatorio

Categoría N	Descripción
Nx	No pueden ser evaluados
N0	Sin metástasis en ganglios regionales
N1	Metástasis en ganglios axilares ipsilaterales móviles nivel I, II axilar
N2	-Metástasis en ganglios ipsilaterales fijos o adheridos entre sí del nivel I,II o en mamaria interna ipsilateral detectadas clínicamente* sin evidencia de enfermedad axilar
N2a	-Metástasis en ganglios axilares ipsilaterales fijos entre sí o a otras estructuras
N2b	-Metástasis únicamente en ganglios de la cadena mamaria interna ipsilateral detectadas clínicamente* sin evidencia de enfermedad axilar
N3	-Metástasis en ganglios linfáticos infraclaviculares ipsilaterales (nivel III) con o sin afectación de los ganglios linfáticos axilares del nivel I-II o metástasis en ganglios de cadena mamaria interna ipsilaterales con afectación de los niveles I y II o metástasis supraclaviculares ipsilaterales con o sin afectación
N3a	-simultánea de ganglios axilares y/o de cadena mamaria interna -Metástasis en ganglios infraclaviculares ipsilaterales
N3b	-Metástasis en ganglios de la cadena mamaria interna ipsilateral y ganglios axilares
N3c	-Metástasis en ganglios supraclaviculares ipsilaterales

*Detectadas por técnicas de imagen, o exploración clínica

BIBLIOGRAFÍA.

1. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.
2. Oncoguía SEGO: Cáncer infiltrante de mama. Guías de práctica clínica en cáncer ginecológico y mamario. Publicaciones SEGO, 2017. 5 (12) Madrid. ISBN: 978-84-612-7418-2
3. Colleoni M, Sun Z, Price KN, Karlsson P, Forbes JF, Thurlimann B, et al. Annual Hazard Rates of Recurrence for Breast Cancer During 24 Years of Follow-Up: Results From the International Breast Cancer Study Group Trials I to V. *J Clin Oncol*. 2016;34(9):927-35.
4. Colzani E, Liljegren A, Johansson AL, Adolfsson J, Hellborg H, Hall PF, et al. Prognosis of patients with breast cancer: causes of death and effects of time since diagnosis, age, and tumor characteristics. *J Clin Oncol*. 2011;29(30):4014-21.
5. Chu KC, Anderson WF, Fritz A, Ries LA, Brawley OW. Frequency distributions of breast cancer characteristics classified by estrogen receptor and progesterone receptor status for eight racial/ethnic groups. *Cancer*. 2001;92(1):37-45.
6. Ferrero-Pous M, Hacene K, Bouchet C, Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Spyrtos F. Relationship between c-erbB-2 and other tumor characteristics in breast cancer prognosis. *Clin Cancer Res*. 2000;6(12):4745-54.
7. Elledge RM, Fuqua SA, Clark GM, Pujol P, Allred DC, McGuire WL. Prognostic significance of p53 gene alterations in node-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1993;26(3):225-35.
8. Wenger CR, Beardslee S, Owens MA, Pounds G, Oldaker T, Vendely P, et al. DNA ploidy, S-phase, and steroid receptors in more than 127,000 breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 1993;28(1):9-20.
9. Insa A, Lluch A, Prosper F, Marugan I, Martinez-Agullo A, Garcia-Conde J. Prognostic factors predicting survival from first recurrence in patients with metastatic breast cancer: analysis of 439 patients. *Breast Cancer Res Treat*. 1999;56(1):67-78.
10. Purdie CA, Quinlan P, Jordan LB, Ashfield A, Ogston S, Dewar JA, et al. Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study. *Br J Cancer*. 2014;110(3):565-72.
11. Chia S, Norris B, Speers C, Cheang M, Gilks B, Gown AM, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 overexpression as a prognostic factor in a large tissue microarray series of node-negative breast cancers. *J Clin Oncol*. 2008;26(35):5697-704.
12. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(1):18-43.
13. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Jr., Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*. 2007;96(10):1504-13.
14. Harris L, Fritsche H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(33):5287-312.

15. Trop I, LeBlanc SM, David J, Lalonde L, Tran-Thanh D, Labelle M, et al. Molecular classification of infiltrating breast cancer: toward personalized therapy. *Radiographics*. 2014;34(5):1178-95.
16. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(19):10869-74.
17. Loo CE, Straver ME, Rodenhuis S, Muller SH, Wesseling J, Vrancken Peeters MJ, et al. Magnetic resonance imaging response monitoring of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy: relevance of breast cancer subtype. *J Clin Oncol*. 2011;29(6):660-6.
18. Chas M, Boivin L, Arbion F, Jourdan ML, Body G, Ouldamer L. Clinicopathologic predictors of lymph node metastasis in breast cancer patients according to molecular subtype. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018;47(1):9-15.
19. Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol*. 2010;28(10):1684-91.
20. Fan C, Oh DS, Wessels L, Weigelt B, Nuyten DS, Nobel AB, et al. Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer. *N Engl J Med*. 2006;355(6):560-9.
21. Al-Thoubaity FK. Molecular classification of breast cancer: A retrospective cohort study. *Ann Med Surg (Lond)*. 2020;49:44-8.
22. Semiglazov VF, Semiglazov VV, Dashian GA, Zhil'tsova EK, Ivanov VG, Bozhok AA, et al. [Phase II clinical trial of neoadjuvant hormone therapy in comparison with chemotherapy of patients with breast cancer]. *Vopr Onkol*. 2007;53(4):400-8.
23. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015;26 Suppl 5:v8-30.
24. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013;31(31):3997-4013.
25. Perez EA, Romond EH, Suman VJ, Jeong JH, Sledge G, Geyer CE, Jr., et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: planned joint analysis of overall survival from NSABP B-31 and NCCTG N9831. *J Clin Oncol*. 2014;32(33):3744-52.
26. von Minckwitz G, Procter M, de Azambuja E, Zardavas D, Benyunes M, Viale G, et al. Adjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Early HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(2):122-31.
27. Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, Citron ML, Budman DR, Goldstein LJ, et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA*. 2006;295(14):1658-67.
28. de Duenas EM, Hernandez AL, Zotano AG, Carrion RM, Lopez-Muniz JI, Novoa SA, et al. Prospective evaluation of the conversion rate in the receptor status between primary breast cancer and metastasis: results from the GEICAM 2009-03 ConvertHER study. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;143(3):507-15.

29. Xin L, Liu YH, Martin TA, Jiang WG. The Era of Multigene Panels Comes? The Clinical Utility of Oncotype DX and MammaPrint. *World J Oncol.* 2017;8(2):34-40.
30. Dias K, Dvorkin-Gheva A, Hallett RM, Wu Y, Hassell J, Pond GR, et al. Claudin-Low Breast Cancer; Clinical & Pathological Characteristics. *PLoS One.* 2017;12(1):e0168669.