

## Personalized therapy for breast cancer

V. Fulga

Department of Histology, Cytology and Embryology  
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: vmfulga@usmf.md. Manuscript received July 08, 2014; accepted October 10, 2014

### Abstract

**Background:** Breast carcinoma represents the most common cancer worldwide and the second main cause of death among women. It's a complex disease characterized by many morphological, clinical and molecular features. Traditionally, this disease has been classified according to histopathologic criteria, known as the tumor, node and metastasis staging system. Because the classic concept was focusing only on the tumor morphology, it could not fully capture the diversity of the disease. Another classification system, based on hormone receptors and gene expression profiling of different breast cancers types have been developed. This classification dictates the optimal therapeutic approach and it is based on immunohistochemical markers, such as the estrogen receptor, the progesterone receptor, the human epidermal growth factor receptor 2, basal cytokeratin CK5 and proliferation marker Ki67. New technologies, polymerase chain reaction, microarrays make possible identification of new biomarkers involved in breast cancer development, survival and invasion, which can be gradually incorporated into clinical trials. The aim of this study is to highlight the progress achieved in the field of diagnosis and management of breast cancer, using molecular analysis and intrinsic subtypes, commonly accepted in oncology practice.

**Conclusions:** Mammary carcinoma represents heterogenous pathologic entity that is characterised by genetic abnormalities and specific intra/extracellular pathways, grouped in intrinsic molecular subtypes identifiable with the help of immunohistochemistry. Modern therapy is based on molecular subtypes; meanwhile their discrimination represents the initial step of personalised treatment.

**Key words:** breast cancer, personalized therapy, molecular subtypes.

## Tratamentul personalizat în carcinomul mamar

Descoperirile recente în tehnologiile moleculare pot fi considerate drept bază a unei noi viziuni în managementul tumorilor, denumită medicină personalizată. Aceasta descrie biologia tumorilor prin analiza structurii genomului în scopul descoperirii grupurilor de risc, precum și alegerea unui tratament efektiv, cu incidență minimă a reacțiilor adverse. Dezvoltarea acestei ramuri nu numai că influențează direct cercetarea și practica clinică, dar promovează integrarea cunoștințelor teoretice și practice spre binele pacientului. Astfel, medicina personalizată are următoarele sarcini: 1. evaluarea șanselor pentru o persoană de a dezvolta cancer și selectarea strategiilor de screening pentru diminuarea acestui risc; 2. alegerea unui tratament mai potrivit cu diminuarea riscului de dezvoltare a reacțiilor adverse; 3. precizarea riscului recurențelor.

Răspunsul la un anumit medicament deseori este foarte diferit, chiar și în grupuri bine ajustate, după criteriile de vârstă, sex, status hormonal și profil molecular. Divergențele înregistrate au la bază mecanisme farmacocinetice, farmacodinamice individuale fiecărui pacient.

Farmacogenomica, ramură a medicinei personalizate, are ca scop evidențierea acestor particularități prin studiul genomului, evidențiind posibilitatea apariției rezistenței la tratament și evitarea acesteia, astfel maximalizând beneficiul terapeutic [3]. Cea mai frecventă variație genomică determinată este polimorfismul uninucleotidic și interesează un singur nucleotid, A, T, C sau G, observată la doi pacienți diferiți sau pe doi cromozomi omologi ai unui individ. Tehnologia modernă "DNA microarrays" este capabilă să determine aceste variații cu acuratețe, catalogându-le apoi în calitate de markeri cu funcție predictivă [4].

Medicina personalizată are drept scop nu numai selecția tratamentului adecvat, dar presupune și o putere predictivă în apariția rezistenței la un anumit tratament al unui anumit

pacient. Sunt propuse un șir de teste genetice, cum ar fi:

**Mammostrat** – un test multigenic, capabil să prezică apariția recurențelor precoce la prescrierea tratamentului hormonal pacientelor în postmenopauză, tumori hormon-dependente, fără metastaze.

**MammaPrint** – un test care evaluează expresia a 70 de gene, implicate în ciclul celular, invazie, metastazare, angiogeneză. Acest test este destinat pacientelor tinere, delimitând 2 grupuri distincte: cu risc minor și risc major de dezvoltare a metastazelor la distanță.

**OncotypeDX** – un test de diagnostic bazat pe studiul a 21 de gene, care prevede calcularea scorului de recurențe RS (recurrence scor) ca un indicator prognostic în tumori ER pozitive, fără metastaze. Evidențierea pacientelor cu risc sporit presupune indicația precoce a chimioterapiei, pacientelor cu risc minor sugerându-li-se doar terapie hormonală.

**CompanDX** – un test diagnostic, capabil să prezică posibilitatea și timpul de metastazare după tratament chirurgical sau biopsie.

Definiția clasică "o doză pentru toți, o doză la tot", aplicată timp de mai multe decenii în farmacologie și practica clinică, s-a dovedit a fi ineficace în carcinomul mamar [5]. În pofida realizărilor tehnice, rata medie a răspunsului pozitiv în acest tip de cancer este evaluată la doar 25%. Aceasta sugerează concluzia că 75% dintre pacienți, pe lângă problemele de sănătate cauzate de boală, vor avea de suferit și din cauza efectelor adverse, deseori toxice dezvoltate la doze sporite ale medicamentelor. În plus, și aspectul economic în relația cost-eficacitate nu este tocmai în favoarea tratamentului clasic.

Medicina personalizată își propune de a structura subsecțiuni heterogene de pacienți în baza unui răspuns similar la tratamentul efectuat. Un postulat fundamental al medicinei personalizate spune că "un tratament potrivit trebuie să fie

aplicat la un timp potrivit, persoanei potrivite”. Această teorie poate fi reflectată în lumina ultimelor realizări genetice, delimitând factori prognostici și predictivi.

Un factor prognostic este asociat cu o influență semnificativ statistică asupra supraviețuirii generale, a supraviețuirii pentru o anumită perioadă fără semne clinice de boală. Un exemplu clasic ar fi numărul de nozi limfatici invadați, un număr mare fiind asociat cu o supraviețuire redusă. Însă acest factor are un impact minim privind alegerea tacticii terapeutice, incapabil totodată de a prezice și răspunsul la tratament. De-a lungul anilor, decizia de a efectua un tratament sistemic a avut la bază un șir de factori, precum dimensiunile tumorii, gradul și tipul histologic, invazia limfovaculară, vârsta, etnia etc.

Un factor predictiv este definit ca orice variabilă asociată unui anumit răspuns, pozitiv sau negativ, după o anumită terapie. Un exemplu de factor predictiv elocvent este prezența la suprafața celulelor tumorale a receptorilor hormonal, ER (estrogen) și PR (progesteron), ceea ce permite indicarea hormonoterapiei. Există și factori ai căror valoare are semnificație atât prognostică, cât și predictivă. Drept exemplu servește status-ul hormonal ER, PR și expresia receptorului Her2 (*human epidermal growth factor receptor 2*). Este demonstrat faptul că pacientele cu tumori hormon- pozitive au o rată de supraviețuire mai mare, decât ER, PR [6]. Pe de altă parte, cercetările randomizate au demonstrat eficiența tamoxifenului la prezența receptorilor hormonal [7]. Asemănător este descris și status-ul tumorilor Her2 pozitive, având pe de o parte, semnificație prognostică nefavorabilă, având și rol predictiv în răspunsul la terapia moleculară țintită cu blocați ai factorului de creștere epidermal.

Astfel, realizările contemporane sugerează utilizarea în diagnostic și tratament a profilurilor moleculare, genetice proprii fiecărui pacient, iar în cazul carcinomului mamar, terapia personalizată poate fi structurată în bază ultimelor realizări [8] în:

**A. Prezența mutațiilor BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, PTEN, p53, ATM.** Depistarea acestor aberații genetice este asociată cu un risc sporit de apariție a carcinomului. Însă datele actuale nu presupun o terapie țintită. În asemenea cazuri, este indicată o supraveghere mai riguroasă a potențialelor paciente în vederea depistării tumorii la stadii precoce. Prezența mutațiilor BRCA1/2 este considerată drept contraindicație a procedurii chirurgicale “*breast-conserving therapy*” [9].

**B. Expresia pozitivă a receptorului hormonal ER.**

Terapia țintită include:

**a. Modulatori selectivi ai receptorului ER:**

**Tamoxifen (Nolvadex)**, indicat în carcinoamele mamare ER pozitive în pre- și postmenopauză. Utilizarea acestuia este propusă și în scop de prevenire a cancerului la femeile cu risc sporit. Utilizarea acestuia în testul IBIS1 (International Breast Cancer Intervention Study 1) la femeile cu risc sporit, timp de 5 ani, a diminuat cu 48% incidența carcinomului ER<sup>+</sup>. Rezultate pozitive s-au determinat și în urma recentului studiu ATLAS (Adjuvant Tamoxifen Longer Against Shorter) care, de rând cu micșorarea riscului de recurențe

locale, a prezentat și o diminuare a riscului de dezvoltare a tumorilor contralaterale la 50% paciente cu carcinom mamar primar [10]. Aceasta a servit drept premisă pentru recomandarea Tamoxifenului timp de cel puțin 10 ani (în loc de 5) în tumori hormon-dependente.

**Raloxifen**, indicat cu scop profilactic pacientelor în postmenopauză, care suferă de osteoporoză și/sau posedă risc sporit pentru dezvoltarea unui carcinom invaziv. Utilizarea acestuia timp de 3 ani reduce incidența carcinomului invaziv cu circa 90% [11]. Recent, testul RUTH (*Raloxifen Use for The Heart*) a demonstrat că utilizarea raloxifenului timp de 5 ani reduce cu 55% riscul dezvoltării unui carcinom ER pozitiv, totodată diminuând cu 44% riscul afecțiunilor coronare [12]. Comparativ cu tamoxifenul, acesta dezvoltă mai puține reacții adverse, precum tromboze și cancere uterine [13].

**Toremifen (Fareston)** este indicat în special în tumorile ER pozitive, în postmenopauză.

Modulatorii de receptori ER își exercită funcția prin blocarea receptorului dat, ceea ce previne influența stimulatorie, proliferativă a estrogenului asupra celulei tumorale. Tamoxifenul este cel mai frecvent utilizat. Este un pro-medicament, metabolizat de citocromul P450 în 2 metaboliți activi: 4-hidroxi tamoxifen (4OH-TAM) și 4-hidroxil-N-desmetil-tamoxifen (sau endoxifen). Inactivarea acestor metaboliți are loc datorită citocromului CYP2D6. Polimorfismul uninucleotidic determinat include variații alelice, ceea ce determină un nivel diminuat de citocrom P450 și, în consecință, un nivel scăzut de metaboliți activi, fie mutații ce sporesc activitatea CYP2D6, similar micșorând efectul terapeutic. Pentru evitarea unui tratament inutil cu modulatori ER, este propus testul AmpliChipCYP450, capabil să determine circa 27 de variante de CYP2D6, implicate în rezistența la tratament hormonal. O altă cauză de rezistență la tamoxifen este domeniul ESR1/ESR2, care codifică ținta acestui medicament, receptorul ER. Discutabil este rolul deleției ER d5, determinată atât în carcinom, cât și în glanda mamară intactă. S-a determinat că recurențele timpurii, la 1 an de la începutul tratamentului, sunt asociate cu expansiunea clonală a celulelor tumorale, care posedă deleții ER d5 [14]. Ca sursă a rezistenței la tamoxifen este și amplificarea genetică a Cyclin D1 și PAK1 (p21-activated kinase 1), implicate în activarea expresiei receptorului ER, precum și supraexpresia p53 [15]. Aceste amplificări corelează cu riscul crescut de recurențe și micșorarea ratei de supraviețuire, în special la pacientele în premenopauză [16, 17].

**b. Inhibitori de aromatază:**

- *Non-steroidi*: Letrosol (Femara), Anastrozol (Arimidex);
- *Steroid*: Exemestan (Aromasin).

Cu predilecție sunt indicați în postmenopauză, tumori hormon-dependente. Acțiunea acestora este axată pe blocarea enzimei aromataza, responsabilă de conversia androgenilor în estrogeni, efect ce rezultă cu diminuarea drastică a nivelului de estrogeni în sânge, țesuturi, celule tumorale.

**c. Antagoniști ai receptorului ER**

**Fulvestrant (Faslodex)** are drept indicație carcinomul mamar metastatic, la femeile în postmenopauză, în caz de ineficiență a terapiei antiestrogenice cu alte preparate.

#### d. Inhibitori mTor

**Everolimus (Afinitor)** este indicat în carcinomul metastatic avansat, Her2 negative, la femeile în postmenopauză, în combinație cu Exemastan sau în caz de ineficiență a Anastrozolului și Letrosolului.

Drept țintă a inhibitorilor de aromatază servește enzima aromataza din familia citocromoxidazelor, codificată ca gena CYP19A1, numită și genă-aromataza. Expresia acesteia variază în limite largi în funcție de etnie. Activitatea sporită a aromatazei necesită creșterea dozei de inhibitori, astfel sporind riscul apariției reacțiilor adverse musculoscheletale [18]. Nu este încă complet definită tactica terapeutică a tumorilor hormon- pozitive în postmenopauză. Dacă tratamentul a debutat cu inhibitori de aromatază, este recomandat ca după 2 ani să fie schimbată pe tamoxifen și invers, inhibitorii sunt recomandați să substituie tamoxifenul după 5 ani în caz de prezență a metastazelor.

**C. Supraexpresia Her2/neu sau tumorile Her2 pozitive.** Her2 face parte din familia Her tirozin-kinaze: Her1 (sau EGFR), Her2, Her3, Her4. Blocarea de Her2 la nivel de genă și/sau receptor blochează proliferarea și induce apoptoza. În tumorile Her2<sup>+</sup> sunt indicați:

##### 1. Anticorpi monoclonali umanizați:

**Trastuzumab (Herceptin)** are drept țintă domeniul extracelular Her2, astfel prevenind activarea acestuia. Este indicat în combinație cu citotoxicele în terapia adjuvantă și metastatică. Din păcate, nu toate cazurile Her2<sup>+</sup> răspund la tratament cu trastuzumab. Mai mult, tumorile metastatice inițial sensibile, deseori devin rezistente. Combinarea trastuzumabului și lapatinibului face posibilă evitarea dezvoltării rezistenței [19]. Amplificarea genei Her2 se determină în 10% cazuri carcinom ER<sup>+</sup>, ceea ce presupune utilizarea de rând cu tratamentul hormonal și a herceptinei. Însă, astfel de tumori (ER<sup>+</sup>-Her2<sup>+</sup>) se caracterizează prin incidența înaltă a recurențelor. Studiul HERA (*Herceptin Adjuvant*) și PHARE (*Protocol for Herceptin as Adjuvant therapy with Reduced Exposure*) nu au elucidat vre-un beneficiu la schimbarea duratei de tratament, astfel cura de 12 luni fiind comun acceptată [9, 20].

**Trastuzumab-emtansin (T-DM1)** este un anticorp conjugat cu mertansin, un agent inhibitor de microtubuli. Este indicat în tratamentul carcinomului metastatic, anterior tratat cu trastuzumab și/sau taxani.

**Pertuzumab (Perjeta)**, fixându-se de domeniul extracelular Her2, previne dimerizarea acestuia. Are drept indicație carcinomul metastatic Her2<sup>+</sup>, în combinație cu Trastuzumab și Docetaxel, cu condiția lipsei unui tratament anti-Her2 sau citostatic antecedent.

**2. Inhibitori de tirozin-kinază. Lapatinib (Tykerb)** este mai efektiv în combinație cu Capecitabin în carcinomul metastatic Her2<sup>+</sup>, rezistent la antraciline, taxani și trastuzumab. Acționează asupra domeniului intracelular al receptorului Her2.

**D. Carcinomul metastatic, avansat, inflamator și subtipurile triplu negative** au drept indicație chimioterapia. Agenții utilizați cu predilecție sunt taxanii și antracilinele, urmați de alcaloizii de Vinca, derivații de platină.

Tratamentul personalizat contemporan, în funcție de subtipurile moleculare, acceptabil în practica cotidiană poate fi stratificat în felul următor [9]:

**1. Luminal A:** terapia endocrină este considerată de elecție pentru acest subtip. Însă, asocierea cel puțin a unuia din factori, precum și vârsta sub 35 de ani, grad histologic 3, metastaze în 4 și mai mulți nozi limfatici, recomandă asocierea citostaticelor. Deoarece aceste tumori sunt deseori refractare la chimioterapie, nu există o opinie unanim acceptabilă privind agentul citotoxic de elecție.

**2. Luminal B.** În cazurile Her2<sup>-</sup> se indică terapie hormonală în combinație cu chimioterapia, în Her2<sup>+</sup> - asocierea citotoxicelor (în special antraciline în cel puțin 6 cicluri) + anti-Her2 + tratament hormonal.

**3. Her2<sup>+</sup>.** În pofida faptului că acest subtip este bine definit molecular, tratamentul nu este unificat. Astfel, dacă pentru unii prezența supraexpresiei sau amplificării Her2 constituie o indicație absolută pentru terapia anti-Her2, există opinii ce iau în considerație și dimensiunea tumorii mai mare de 5 mm în combinație cu Her2<sup>+</sup>. Tactica terapeutică include anti-Her2+citotoxice+tratament hormonal. În chimioterapie sunt recomandate mai ales taxanii, apoi antracilinele.

**4. Basal-like:** tratament citotoxic, bazat pe antraciline și taxani.

Din cele expuse mai sus, reiese că medicina personalizată în carcinomul mamar poate fi considerată în faza sa incipientă. Un șir de studii corelează fenotipurile moleculare și beneficiile diverselor combinații de agenți terapeutici, dar sunt încă în faza evaluărilor clinice (MINDACT, TAILOR, RxPONDER). Luându-se în calcul natura multifactorială a acestui carcinom, sunt propuse un șir de medicamente "țintite" asupra diverselor mecanisme moleculare.

Grație rolului important al angiogenezei în dezvoltarea, invazia și metastazarea tumorii, sunt propuse medicamente capabile să blocheze această proprietate a neoplasmului. Categoriile de droguri cu efect anti-angiogenic:

1. inhibitori de metaloproteinaze matriceale: Marimastat, BAY 12-9566, CGS27023 A;

2. cu acțiune asupra factorilor endoteliali: Bevacizumab, SU5416, Angiozyme, Suramin;

3. inhibitori ai proliferării și migrării celulelor endoteliale: Antiintegrin avb3 Mab, TNP-470;

4. inhibitori tirozin-kinazici: SU011248 (Sunitinib Malate), PTK787/ZK (Vatalanib);

5. agenți cu diverse mecanisme de acțiune: Endostatină, Talidomid, inhibitori COX-2 (Celecoxib), antiestrogeni.

Unul din cei mai promițători agenți este bevacizumabul, un anticorp monoclonal cu acțiune asupra factorului de creștere a endotelului vascular VEGF-A. Utilizarea solo a acestuia în tratamentul carcinomului metastatic a fost raportată inițial cu 9,3% răspuns pozitiv, iar în combinație cu vinorelbina în 31% a stopat progresia tumorii. Asocierea cu capecitabină în tumorile refractare la antraciline și taxani a determinat un răspuns pozitiv la circa 19% pacienți, însă s-a asociat cu reacții adverse frecvente precum hipertensiunea, proteinuria, trombemboliile [21]. Aceleași reacții au fost în-



registrate și la combinare cu paclitaxel, unde la 28% paciente tumora a fost sensibilă la tratament [22].

Studiile *in vitro* au raportat nivelul crescut de HIF-1a (hypoxia-inducible factors1a) și VEGF în culturile celulare Her2<sup>+</sup> [23]. Presupunerea că Her2 este implicat în reglarea VEGF sugerează combinarea bevacizumabului și trastuzumabului în subtipul Her2<sup>+</sup>.

Colaborarea receptorilor VEGF-EGFR (*epidermal growth factor receptor*) este considerată drept una din cauzele rezistenței la tratament anti-EGFR, iar combinarea acestuia cu bevacizumab ar presupune evitarea dezvoltării tumorilor refractare [24].

Însă expresia VEGF nu este o indicație obligatorie pentru terapia anti-angiogenică cu bevacizumab. S-a demonstrat faptul, că acționând în calitate de mitogen, VEGF este esențial în fazele precoce ale carcinogenezei, fenotipul vascular al tumorii în stadiile avansate fiind susținut de bFGF (*basic fibroblast growth factor*), TGFβ-1 (*transforming growth factor beta-1*), PLGF (*placenta growth factor*), PDEGF (*platelet derived endothelial growth factor*), potențiale noi ținte în terapia carcinomului mamar [25].

O altă "țintă" de viitor este țesutul adipos, considerat drept sursă de celule stem și sinteză locală de estrogeni. Un șir de glitazone (rosiglitazon, pioglitazon) stimulează expresia adiponectinei, cunoscută drept adipokină cu efect anti-proliferativ asupra celulelor tumorale [26].

Deși EGFR (sau HER1- *human epidermal growth factor receptor 1*) nu este un receptor specific celulelor bazale/stem, acest marker este frecvent utilizat în delimitarea subtipului *Basal-Like* de alte fenotipuri triplu-negative. Expresia înaltă a acestui receptor a încurajat utilizarea acestuia drept "țintă" a cetuximabului, un anticorp monoclonal umanizat, precum și a inhibitorilor de tirozin-kinază, gefitinib, erlotinib [27].

În subtipul *Basal-like*, asociat cu mutații BRCA, sună promițător rezultatele utilizării combinate a BSI-201 (PARP inhibitor) cu gemcitabina/carboplatina [28].

### Concluzii

Carcinomul mamar este o entitate nosologică heterogenă, caracterizată prin aberații genetice și mecanisme intra/extracelulare specifice, grupate în subtipuri moleculare intrinseci, imunohistochimic identificabile. Tratamentul contemporan are la bază subtipurile moleculare, iar delimitarea acestora este faza incipientă a unui tratament personalizat în carcinomul mamar.

### References

1. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature*. 2000;406:747-752.
2. Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Molecular Oncology*. 2011;5(1):5-23.
3. Tan SH, Lee SC, Goh BC, et al. Pharmacogenetics in breast cancer therapy. *Clin Cancer Res*. 2008;14(24):8027-8041.
4. Shimizu C, Fujiwara Y. Personalized systemic treatment for breast cancer patients: is it a reality? *Breast Cancer*. 2008;15(2):141-144.
5. Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med*. 2001;7:201-204.
6. Grann VR, Troxel AB, Zojwalla NJ, et al. Hormone receptor status and survival in a population-based cohort of patients with breast carcinoma. *Cancer*. 2005;103:2241-2251.
7. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects

- of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005;365:1687-1717.
8. Cho SH, Jeon J, Kim SI. Personalized medicine in breast cancer: a systematic review. *J Breast Cancer*. 2012;15(3):265-72.
9. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. *Ann Oncol*. 2013;24(9):2206-23.
10. Davies C, Pan H, Godwin J, et al. Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *Lancet*. 2013;381:805-816.
11. Martino S, Cauley JA, Barrett-Connor E, et al. Continuing outcomes relevant to Evista: breast cancer incidence in postmenopausal osteoporotic women in a randomized trial of raloxifene. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96:1751-1761.
12. Barrett-Connor E, Mosca L, Collins P, et al. Effects of raloxifene on cardiovascular events and breast cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2006;355:125-137.
13. Vogel VG, Costantino JP, Wickerham DL, et al. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA*. 2006;295:2727-2741.
14. Gallacchi P, Schoumacher F, Eppenberger-Castori S, et al. Increased expression of estrogen-receptor exon-5-deletion variant in relapse tissues of human breast cancer. *Int J Cancer*. 1998;79(1):44-48.
15. Lundgren K, Holm K, Nordenskjöld B, et al. Gene products of chromosome 11q and their association with CCND1 gene amplification and tamoxifen resistance in premenopausal breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2008;10(5):R81.
16. Jirstrom K, Stendahl M, Rydén L, et al. Adverse effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer with cyclin D1 gene amplification. *Cancer Res*. 2005;65(17):8009-8016.
17. Kim HS, Yom CK, Kim HJ, et al. Overexpression of p53 is correlated with poor outcome in premenopausal women with breast cancer treated with tamoxifen after chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;121(3):777-788.
18. Hadji P, Body JJ, Aapro MS, et al. Practical guidance for the management of aromatase inhibitor-associated bone loss. *Ann Oncol*. 2008;19(8):1407-1416.
19. Blackwell KL, Burstein HJ, Storniolo AM, et al. Randomized study of lapatinib alone or in combination with trastuzumab in women with ErbB2-positive, trastuzumab-refractory metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28:1124-1130.
20. Pivot X, Romieu G, Debled M, et al. 6 months versus 12 months of adjuvant trastuzumab for patients with HER2-positive early breast cancer (PHARE): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2013;14:741-748.
21. Rugo HS. Bevacizumab in the treatment of breast cancer: rationale and current data. *Oncologist*. 2004;9(suppl 1):43-49.
22. Miller KD. The role of ErbB inhibitors in trastuzumab resistance. *Oncologist*. 2004;9(Suppl 3):16-19.
23. Laughner E, Taghavi P, Chiles K, et al. HER2 (neu) signaling increases the rate of hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) synthesis: novel mechanism for HIF-1-mediated vascular endothelial growth factor expression. *Mol Cell Biol*. 2001;21:3995-4004.
24. Clarke K, Smith K, Gullick WJ, et al. Mutant epidermal growth factor receptor enhances induction of vascular endothelial growth factor by hypoxia and insulin-like growth factor-1 via a PI3 kinase dependent pathway. *Br J Cancer*. 2001;84:1322-1329.
25. Yoshiji H, Harris SR, Thorgeirsson UP. Vascular endothelial growth factor is essential for initial but not continued *in vivo* growth of human breast carcinoma cells. *Cancer Res*. 1997;57(18):3924-3928.
26. Yee LD, Williams N, Wen P, et al. Pilot study of rosiglitazone therapy in women with breast cancer: effects of short-term therapy on tumor tissue and serum markers. *Clin Cancer Res*. 2007;13:246-252.
27. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004;10:5367-5374.
28. O'Shaughnessy J, Yoffe M, Osborne C, et al. Triple negative breast cancer: a phase 2, multi-center, open-label, randomized trial of gemcitabine/carboplatin (G/C), with or without BSI-201, a PARP inhibitor. *Cancer Res*. 2009;69:193S-S.