

ОБЗОР НА ИЗМЕНЕНИЯТА В МОЛЕКУЛЯРНАТА КЛАСИФИКАЦИЯ НА КАРЦИНОМА НА ГЪРДАТА И В ЧАСТНОСТ НА ТРОЙНО НЕГАТИВНИТЕ КАРЦИНОМИ НА МЛЕЧНАТА ЖЛЕЗА

Василена Цветкова

Катедра по клинична патология, Падуански университет, Италия

LATEST CHANGES IN THE MOLECULAR CLASSIFICATION OF BREAST CANCER AND TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER

Vassilena Tsvetkova

Department of Clinical Pathology, University of Padua, Padua, Italy

РЕЗЮМЕ

Карциномът на гърдата (КГ) е хетерогенно заболяване, включващо множество варианти с различно биологично поведение и клинично протичане. Поради тази причина са разработени класификации, с помощта на които се прилагат различни стратегии за лечението му – хистологична, TNM и молекулярна класификация. Последната е представена за първи път от Perou през 2000 година. Тя разделя КГ в 5 групи – луминал А, луминал В, свръхекспресия на HER2, група с ниски нива на клаудин и базален тип карциноми.

По-задълбочено внимание трябва да се обърне на последващата класификация на базалните КГ. Тази група също е много разнородна и включва тройно негативни карциноми. Те се характеризират с липсваща експресия на естрогенни и прогестеронови рецептори и HER2 и са най-трудната група за лечение. Въпреки лошата прогноза, част от пациентите показват много добри резултати след провеждане на неоадювантна химиотерапия. Lehman и сътрудници определят 6 молекулярни групи на тройно негативните КГ – базален тип 1 (Basal like 1), базален тип 2 (basal like 2), мезенхимален тип (mesenchymal – M), мезенхимален стволоподобен тип (mesenchymal stem-like – MSL), имуномодулаторен (immunomodulatory – IM) и луминален андроген рецепторен субтип (luminal androgen receptor – LAR).

След проведена хистологична оценка и лазер-на микродисекция през 2016 година, Lehman пре-

ABSTRACT

Breast cancer (BC) is a heterogeneous disease including multiple histological subtypes with different biological behavior and clinical outcome for the patient. Due to its heterogeneity, BC is classified into different groups, providing possibilities for target therapies and improving the outcome – histological, TNM classification, molecular classification. The molecular classification, proposed at the beginning by Perou et al in 2000, divides BC into 5 subtypes - Luminal A, Luminal B, HER 2 enriched, claudin-low and basal like.

More attention should be paid to the further classification of basal like BC. This is also a heterogeneous disease including triple negative breast cancers (TNBC). They show no expression of ER, PrR or HER2 and are considered difficult to treat. Despite the bad prognosis, some of these patients demonstrate great benefit from the traditional neoadjuvant chemotherapy. Lehman et al. identified 6 molecular subtypes of TNBC, using gene expression profiling – basal like 1 (BL1), basal like 2 (BL2), mesenchymal (M), mesenchymal stem-like (MSL), immunomodulatory (IM) and luminal androgen receptor (LAR).

However, after histopathological quantification and laser-capture microdissection they refined their classification and in 2016 the new molecular classification of TNBC excluding the IM and MSL types was published. The working group has concluded that the characteristics of the tumors in these two groups were due to tumor-infiltrating lymphocytes and tumor-associated stromal cells and not to the tumor cells. The refinement of the classification of TNBC provides a

работва съществуващата класификация. В новата са включени 4 подтипа, като са изключени IM и MSL тип. Работната група стига до заключението, че характеристиките на двата изключени типа се дължат на лимфоцитите и стромалните клетки в туморната микро среда, а не на самите туморни клетки. Прецизирането на класификацията осигурява по-добро разпределение на пациентите и по-добър отговор на проведените терапии.

Ключови думи: карцином на гърдата, тройно негативен, молекулярна класификация

Карциномът на гърдата е хетерогенно заболяване с многообразна клинична картина и хистологични варианти. Опитите на учените да класифицират това заболяване в отделни подгрупи датират от много години.

В началото те разработват класификация, базирана на основните клиникопатологични параметри (TNM classification), а именно размер на тумора, статус на лимфните възли, наличието или отсъствието на далечни метастази и степента на диференциация на тумора. Световната здравна организация (СЗО) публикува през 2012 година последната хистологична класификация на карцинома на гърдата, в която са включени повече от 18 различни подвида карциноми (10).

Освен базирайки се на вече гореспомнатите диагностични параметри (TNM и хистологичната класификация), онкологичните специалисти определят вида на лечение на своите пациенти, базирайки се на установените предиктивно-прогностични фактори – експресия на естрогенен (ER) и прогестеронов рецептор (PrR), рецептор за епидермален растежен фактор (HER2) и пролиферативен фактор (Ki67).

Вече известната хистологичната структура на млечната жлеза дава възможност на учените да класифицират карцинома на гърдата, навлизайки все по-дълбоко в молекулярните основи на това заболяване. По-задълбоченото познаване на това хетерогенно заболяване ни позволява по-ясно разбиране на неговата биология и ни предоставя множество опции за персонализирана терапия. За постигането на тази цел са разработени специфични генни панели, за да се стигне до формиране на съвременната молекулярна класификация, която с напредване на науката непрестанно търпи промени (8,17,23).

better distribution of the patients into the different groups and better response to the applied therapy.

Keywords: breast cancer, triple negative, molecular classification

За първи път Moll et al. класифицират карциномите на гърдата в две основни групи – луминален и базален тип. По-късно, след провеждане на по-задълбочени анализи, Perou et al. през 2000-та година успяват да отделят вътрешен генетичен панел, състоящ се от 465 гена, и да предоставят на научния свят своята класификация. Всички учени се обединяват около съществуването на пет основни молекулярни подтипа на карцинома на гърдата: луминал А (Luminal A), луминал В (Luminal B), тип, показващ свръхекспресия на HER2 (HER2-enriched), базален тип (Basal-like) и тип, характеризиращ се с ниски нива на клаудин (Claudin-low) (18).

Класифицирането на карцинома на гърдата в отделните подгрупи има водеща роля при вземането на решение за най-подходяща терапия, определя вероятността за положителен отговор на приложената терапия и дава важна информация за по-детайлното разбиране на различията в заболяемостта, преживяемостта и прогнозата на всеки отделен пациент. Тази необходима за успешното лечение на пациентите информация не може да бъде получена, позовавайки се само на личните до този момент класификации (17).

МОЛЕКУЛЯРНА КЛАСИФИКАЦИЯ НА КАРЦИНОМА НА ГЪРДАТА

Луминал А

В тази група попада най-голям процент от карциномите на млечната жлеза – приблизително 50%-60% (25). Характеризират се с много по-добра прогноза от всички останали групи. Карциномите от тази група експресират ER и PgR и в редки случаи HER2. Луминал А карциномите експресират характерните за луминалните клетки гени – Era, GATA3, KRT8, KRT18, XBP1,

FOXА1, TFF. Характеризират се с нисък пролиферативен индекс, определен посредством оценката на Ki-67 (<14%) и много висока степен на диференциация. Характерно за туморите в тази група са по-малкият брой TP53 мутации в сравнение с луминал Б (12% vs. 29%), приблизително еднаквият процент мутации на GATA3 гена (14% vs. 15%) и повече PIK3CA (45% vs. 29%) мутации.

Процентът на пациенти в тази група много рядко дават метастази, като те най-често се наблюдават в костите 18,7% (5).

Терапията, прилагана при тези пациенти, се определя в зависимост от статуса на лимфните възли. При негативни лимфни възли по време на диагнозата се прилага хормонална терапия. Добавянето на химиотерапия може да се обсъжда при условие, че пациентът попада в група с умерен или висок риск за рецидив или поява на далечни метастази, определен на базата на 21-генна сигнатура (Oncotype DX, GenomicHealth, Redwoodcity, CA). Според консенсуса *St. Gallen* пациентите попадат в гореспоменатите групи при наличие на поне 4 позитивни лимфни възела.

Луминал Б

Карциномите на гърдата, които попадат в тази група (10%-20% от всички диагностицирани карциноми) експресират генен панел, много близък до този, експесиран от луминал А (Era, GATA3, KRT8, KRT18, XBP1, SOLE, LAPTM4B). Въпреки това прогнозата е много по-лоша, по-често се наблюдават метастази и пациентите имат по-ниска преживяемост след рецидив на заболяването (25). Биологичното поведение на карциномите от луминал Б е по-агресивно в сравнение с това на карциномите от луминал А. Те са по-ниско диференцирани и с по-висок пролиферативен индекс (>14%). Карциномите от луминал Б имат много висока експресия на гени, свързани с пролиферацията и клетъчния цикъл, например Ki67. В резултат на високия пролиферативен индекс тези тумори биват класифицирани в групи с висок риск от рецидив от Oncotype DX платформата.

Свърхекспресия на HER2

Карциномите, които попадат в тази група, съставляват приблизително 20% от всички карциноми (9). Пациентите имат повишена активност на ген HER2 и съответно завишена експресия на протеина, кодиран от този ген. Този ген регулира пролиферативната активност на клетките и това води до значително по-неблагоприятната прогноза за тези пациенти в сравнение с пациентите от останалите групи. Представителите на тази група показват много ниски нива

на експресия на базалните гени (20). Карциномите със свърхекспресия на HER2 имат най-високи нива на мутации сред всички останали подгрупи в гените TP53 (79%) и PIK3CA (39%) (20). Въпреки че по-голямата част тези карциноми демонстрират свърхекспресия на HER2, част от представителите на групата са HER2 негативни (20).

Свърхекспресия на HER2 се наблюдава при по-млади жени, свързана е с по-голяма честота на рецидивите, с по-агресивно поведение на туморите и по-лоша прогноза. Тази група е изключително хетерогенна. В нея попадат и карциноми, които имат позитивни естрогенни рецептори, но липсата на експресия на прогестеронови такива е предпоставка за свърхекспресия на HER2 (25).

Значително подобрена прогноза имат пациентите от тази група, след като се въвежда лечение с моноклоналното антитяло – трастузумаб.

Клаудин ниска експресия

В последствие Prat et al обособяват още един молекулярен подтип на карцинома на гърдата – с ниска експресия на клаудин. В тази група се наблюдава нестабилна експресия на базални цитокератини (CK 5, CK 14, CK 17) и ниска експресия на HER2 и останалите луминални маркери (напр. ER, PR, GATA3, CK 18 и CK 19). Въпреки приликите, които демонстрират туморите от тази група с туморите от базален тип и най-често биват погрешно класифицирани като такива, използвайки 50-генна сигнатура (PAM50), първите показват много ниска пролиферативна активност. Основните гени, експесирани от карциномите, попадащи в тази група, са свързани с имунната система на организма, клетъчната комуникация, диференциация и миграция, екстраклетъчния матрикс и ангиогенеза. Карциномите с ниска експресия на клаудин имат ниска до липсваща експресия на E-Cadherin и са позитивни за мезенхимални и имунни маркери. Тези данни дават основание на учените да предположат за наличието на възможна връзка на тези карциноми с епително/мезенхимния преход (EMT) и възможността за събиране на много голям брой различни имунни клетки в туморното микроокръжение.

Прогнозата за пациенти, класифицирани в тази група е по-лоша в сравнение с пациентите от групата на луминал А, но е приблизително еднаква с пациентите от някои от останалите подгрупи (луминал Б, група, свърхекспесираща HER2 и базален тип). Може да заключим, че тези карциноми имат сравнително лоша прогноза и

проявяват характеристики, типични за мезенхималните стволови клетки (18).

Базален тип/тройно негативни карциноми

В тази група не се наблюдава експресия на естрогенни и прогестеронови рецептори и на HER2. За сметка на това се наблюдава експресия на базални маркери (напр. c-Kit, FOXC1, P-Cadherin), базални цитокератини (3,16) и експресия на гени, отговорни за клетъчната пролиферация (Ki67). Освен това наблюдаваме умерена експресия на HER2 свързани гени и много ниска, до липсваща, експресия на луминални гени. Карциномите от базален тип са втори по честота на мутации след карциномите със свръхекспресия на HER2 и най-често наблюдаваните мутации са – TP53 (80% от всички карциноми в тази група) и PIK3CA (9%) (20). Пациенти с карцином на гърдата, при които се установява мутация на гена BRCA1, попадат в гореспоменатата група (19,6).

Карциномите от тази група показват ниска степен на диференциация на туморните клетки, по-честа и по-ранна поява на далечни метастази.

Погрешно е поставянето на знак за равенство между базалния молекулярен тип и тройно негативните карциноми на гърдата, определени въз основа на липсващата експресия на ER, PR и HER2. Последната група карциноми трябва да бъде много внимателно изследвана и подходът към пациентите да е персонализиран.

Групата на тройно негативните карциноми на гърдата е изключително хетерогенна. Тук влизат всички карциноми, при които не се наблюдава експресия на естрогенен и прогестеронов рецептор и амплификация на HER2. Те съставляват 10%-20% от всички диагностицирани тумори на гърдата. Характеризират се с агресивно биологично поведение, ранна поява на метастази и повишен риск от рецидиви, засягат предимно жени в млада възраст (<35 години) и предимно от афро-американски произход (2). В резултат на множество проведени изследвания е установено, че карциномите от тази група по-често възникват при носители на мутация на гена BRCA1 (14). Поради липсата на експресия на всички хормонални рецептори, при тези тумори все още златен стандарт в лечението им е прилагането на системна химиотерапия.

Най-често срещаните хистологични варианти на тройно негативните карциноми са дуктален инвазивен карцином, медуларен карцином, сквамозен карцином, метапластичен карцином, секреторен и апокринен карцином.

От изключително голямо значение е по-нататъшното класифициране на молекулярно ниво.

Това би дало насоки на учените и фармацевтичните компании за разработване на специфични таргетни терапии, с помощта на които значително би могла да се подобри прогнозата, изходът от заболяването и да се персонализира терапията.

Lehmann et al. провеждат мащабно изследване, при което, уповавайки се на разликите в генетичната експресия, успяват да класифицират тройно негативните карциноми в шест различни молекулярни под групи – базалоиден тип 1 (basal-like BL1), базалоиден тип 2 (basal-like 2 BL2), имуномодулаторен (immunomodulatory IM), мезенхимен (mesenchymal M), мезенхимен стволородобен (mesenchymal stem-like MSL) и луминален андрогенен рецептор (luminal androgen receptor LAR).

МОЛЕКУЛЯРНА КЛАСИФИКАЦИЯ НА ТРОЙНО НЕГАТИВЕН КАРЦИНОМ НА ГЪРДАТА

Базалоиден тип 1 и тип 2 (Basal Like 1 BL1/ Basal Like 2 BL2)

Тези два субтипа кореспондират в най-голяма степен с базалоидния тип карцином на гърдата, описан по-горе. Освен това те са и най-често срещаните молекулярни субтипове на тройно негативните карциноми на гърдата. И двата варианта експресират гени, свързани с клетъчния цикъл и клетъчната пролиферация – AURKA, AURKB, CENPA, CENPF, BUB1, TTK, CCNA2, PRC1, MYC, NRAS, PLK1, BIRC5. Високият пролиферативен индекс дава обяснение на експресията и на гени, отговорни за увредата на ДНК (дезоксирибонуклинова киселина) – CHEK1, FANCA, FANCG, RAD54BP, RAD51, NBN, EXO1, MSH2, MCM10, RAD21, MDC1 (14).

Основна разлика между двата субтипа е наличието на група гени, експресирани при BL2 подтип, участващи в сигналните пътища на растежните фактори (EGF сигнален път, NGF сигнален път, MET сигнален път, Wnt/b-catenin сигнален път, IGF1R сигнален път), гликолизата и глюконеогенезата (14). Базалоидният тип тройно негативен карцином на гърдата е силно чувствителен на химиотерапевтично лечение и дава един от най-високите нива на пълен патологичен отговор (pathologic complete response pCR) след провеждането му. След детайлно разглеждане на резултатите обаче е установена огромна разлика при pCR в двете под групи BL1 (51%) и BL2 (0%). В резултат на тези данни учените изказват предположения за по-добрата успеваемост на лечение на тази отделна подгрупа, ако тя бъде класифицирана заедно с мезенхимния тип тройно нега-

тивен карцином на гърдата. Тези предположения са изказани на основата на експресията на гени, които активират пътищата на тирозин-киназните рецептори (12). Базирано на експресията на гените, лечението на тази група пациенти се провежда с химиотерапевтици като платината, което увеличава значително pCR.

Мезенхимен тип (М) и мезенхимен стволороден тип (МСЛ)

Тези две групи карциноми проявяват сходна експресия на група гени, отговорни за клетъчния мотилитет (регулация на актина чрез Rho). Хистологично се представят като нискодиференцирани метапластични карциноми на гърдата. Освен това са налични и няколко съществени разлики.

МСЛ вариантът експресира гени, свързани със сигналния път на растежния фактор (TGFB1L1, BGN SMAD6, SMAD7, NODCH1, TGFB1, TGFB2, TGFB3, TGFB1, TGFB2, TGFB3), епително-мезенхимния преход (MMP2, ACTA2, SNA12, SPARC, TAGLN, TCF4, TWIST1, ZEB1, COL3A1, COL5A2, GNG11, ZEB2). В допълнение МСЛ субтип експресира гени, отговорни за ангиогенезата (VEGFR2, TEK, TIE1, EPAS1) и имунната сигнализация. Силно намалената експресия на пролиферативни гени се съпровожда неизменно с увеличена експресия на гени, свързани със стволовите клетки (ABCA8, PROCR, ENG, ALDH1A1, PER1, ABCB1, TERF2IP, BCL2, BMP2, THY1), много HOX гени (HOXA5, HOXA10, MEIS1, MEIS2, MEOX1, MEOX2, MSX1) и мезенхимни стволороден тип специфични маркери (BMP2, ENG, ITGAV, KDR, NGFR, NTSE, PDGERB, THY1, VCAM1) (14).

Допълнително съставени класификации описват още няколко молекулярни субтипа, включващи субтип, богат на интерферон, субтип с нисък клаудин и апокринен субтип. Интересно е да се отбележи, че когато не се взема под внимание „claudin low“ подгрупата, повечето карциноми от групата на мезенхимен стволороден тип тройно негативен карцином биват класифицирани като част от групата, в която експресията на отделните видове рецептори остава в норма, а карциномите от мезенхимната група биват класифицирани като базалоидни (15).

Поради засягането на много сигнални пътища в тази група, клиничният подход към пациентите би могъл да бъде различен. С успех биха могли да се приложат таргетни терапии срещу c-MET сигналния път и TGFb инхибитори (11).

Луминален андроген рецепторен субтип (Luminal Androgen Receptor Type - LAR)

Карциномите, които попадат в тази група, експресират множество гени, свързани с хормоналните регулаторни пътища, синтеза на стероиди, порфириновия метаболизъм и андроген/естрогенния метаболизъм, заедно с това експресират и андрогенни активатори (DHCR24, ALCAM, FASN, FKBP5, APOD, PIP, SPDEF, CLDN8). Най-често наблюдаваният хистологичен вариант на този субтип е апокринно клетъчен карцином (17). Терапевтичният подход към тази група пациенти е базиран на експресията на андрогенни рецептори. Прилагат се инхибитори на гореспоменатите рецептори като бикалутамид (bicalutamide) и ензалутамид (enzalutamide). В процес на изучаване са хистондиацетилазните инхибитори (histone deacetylase HDAC inhibitors). Те регулират гените, отговорни за андрогенните рецептори и до този момент показват много ниска токсичност (11,24).

Все още не са напълно изяснени всички ефекти, които имат андрогените върху млечната жлеза, но се предполага, че те имат ключова роля в карциногенезата. Доказано е, че при провеждане на лечение с препарати, насочени срещу андрогенни рецептори при карциноми, които експресират ER, PR и AR, се наблюдава спиране на туморния растеж (7,21,22).

Освен това, проучване, проведено през 2015 година, показва че пациенти, при които съотношението между AR и ER равно или по-голямо от 2, са с повишен риск от развитие на резистентност към терапия с тамоксифен (4).

Наличието на AR при тройно негативните карциноми на гърдата се класифицират в луминален А подтип, а TNBC, при които липсва експресия на AR, се класифицират в базален молекулярен под тип. С оглед на изложените данни, е предложено създаването на допълнителна група четворно негативен карцином на гърдата (quadruple negative breast cancer – QNBC). Все още тази категория не е навлязла в клиничната практика, но е насока, която дава нови възможности за персонализираното лечение на пациентите и подобряването на преживяемостта (1).

Имуномодулаторен тип (IM)

Този субтип експресира гени, които се свързват с имунните клетъчни процеси. Това включва клетъчния имунен сигнален път (TN1/TN2 сигнален път, NK сигнален път, BCR сигнален път, DC сигнален път, Т-клетъчен сигнален път), цитокиния сигнален път (IL-12 сигнален път, IL-7 сигнален път) и други (14).

След широка и продължителна дискусия в научните среди дали характеристиките на ня-

кои под типове са присъщи за туморните клетки, които ги изграждат или отразяват имунологичните характеристики на имунния клетъчен инфилтрат в тумора, Lehmann et al. (13) преработват изработената от тях класификация за тройно негативните карциноми. Анализирайки наличието на тумор инфилтриращи лимфоцити (tumor infiltrating lymphocytes - TILs), заедно с генната експресия в отделните подгрупи тройно негативни карциноми, те успяват да предоставят убедителни доказателства, че TILs и мезенхимални клетки в голяма степен са отговорни за профила на генна експресия при IM и MSL подтип съответно (13).

В резултат на получените данни от хистологичната оценка и молекулярните изследвания първоначалната публикувана класификация бива модифицирана и от шест подтипа тройно негативни карциноми на гърдата те се свеждат до четири основни подтипа (BL1, BL2, LAR, M), които демонстрират отчетливи разлики помежду си. Новосформираните подгрупи TNBC ясно показват разлики в отговора към прилаганата неoadювантна химиотерапия. Анализите, проведени от Lehmann, показват най-висок процент pCR след проведена стандартна неoadювантна химиотерапия в BL1 групата (41%) и най-нисък в BL2 и LAR подгрупи, съответно 18% и 29% (13). Карциномите, принадлежащи към BL1 групата, се характеризират с по-ниска степен на диференциация в сравнение с останалите групи. Наблюдава се постоянство при хистологичните варианти на карциномите, класирани в отделните подгрупи. Преобладаващият хистологичен вариант в LAR подгрупата е апокринният, докато в BL2 подгрупата по-често се среща метапластичният карцином на гърдата. След хистологична и молекулярна оценка на различните подтипове TNBC се установява наличие на голямо количество тумор инфилтриращи лимфоцити при някои от групите. Според учените имунната система на организма и имунните клетки играят ключова роля в биологичното поведение на туморите и са потенциална цел за развитието на нови имунни терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

TNBC е хетерогенно заболяване, за което единствената одобрена за момента терапия е класическата химиотерапия. Поради хетерогенността на отделните карциноми, включени в тази група, приложената химиотерапия не дава достатъчно удовлетворителни резултати за всички пациенти. Освен наличието на BRCA1/2 мутация,

не съществуват все още други одобрени предиктивни маркери, които могат да предвидят успеваемостта на евентуално химиотерапевтично лечение. Вземайки предвид всички изложени данни до този момент, обновяването на съществуващата класификация ни предоставя нови възможности за прилагане на персонализирана терапия на пациенти с TNBC. Представени са убедителни доказателства, че пациенти от BL1 подгрупата ще се повлияят най-добре от класическа неoadювантна химиотерапия. По-прецизното типизиране на TNBC дава възможност на учените да провеждат клинични изпитвания, базирани на нови молекули за имунна терапия, така наречените *check point* инхибитори (PD1, PDL1, CTLA4).

ЛИТЕРАТУРА

1. Angajala A, Mothershed E, Davis MB, Tripathi S, He Q, Bedi D, Dean-Colomb W, Yates C. Quadruple Negative Breast Cancers (QNBC) Demonstrate Subtype Consistency among Primary and Recurrent or Metastatic Breast Cancer. *Transl Oncol*. 2019 Mar;12(3):493-501. doi: 10.1016/j.tranon.2018.11.008.
2. Brewster AM, Chavez-MacGregor M, Brown P. Epidemiology, biology, and treatment of triple-negative breast cancer in women of African ancestry. *Lancet Oncol*. 2014 Dec;15(13):e625-34.
3. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol* 2007; 25:1329-1333.
4. Chia K, O'Brien M, Brown M and Lim E. Targeting the androgen receptor in breast cancer. *Curr Oncol Rep* 2015; 17: 4.
5. Eroles P, Bosch A, Perez-Fidalgo JA et al. Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. *Canc Treat Rev* 2012;38:698-707.
6. Foulkes, W.D., Stefansson, I.M., Chappuis, P.O., Bégin, L.R., Goffin, J.R., Wong, N. et al, Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast Cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:1482-1485.
7. Giannos A, Filipits M, Zagouri F, Brandstetter A, Tsigginou A, Sotiropoulou M, Papaspyrou I, Sergeantanis TN, Psaltopoulou T, Rodolakis A, Antsaklis A, Dimopoulos MA and Dimitrakakis C. Expression of ARs in triple negative breast

- cancer tumors: a potential prognostic factor? *Onco Targets Ther* 2015; 8: 1843-1847.
8. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, Livasy C, Carey LA, Reynolds E, Dressler L, Nobel A, Parker J, Ewend MG, Sawyer LR, Wu J, Liu Y, Nanda R, Tretiakova M, Ruiz Orrico A, Dreher D, Palazzo JP, Perreard L, Nelson E, Mone M, Hansen H, Mullins M, Quackenbush JF, Ellis MJ, Olopade OI, Bernard PS, Perou CM. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics*. 2006; 7():96.
 9. Hudis CA. Transtuzumab – mechanism of action and use in clinical practice. *New Engl J Med* 2007;357:39-51.
 10. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, van der Vijer MJ. World Health Organization Classification of Tumors of the Breast. Lyon: IARC Press; 2012.
 11. Classification of Tumors of the Breast. Lyon: IARC Press; 2012. Le Du F, Eckhardt BL, Lim B, Litton JK, Moulder S, Meric-Bernstam F, Gonzalez-Angulo AM, Ueno NT. Is the future of personalized therapy in triple-negative breast cancer based on molecular subtype? *Oncotarget*. 2015 May 30;6(15):12890-908.
 12. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, Pietenpol JA. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest*. 2011 Jul; 121:2750-67.
 13. Lehmann BD, Jovanović B, Chen X, Estrada MV, Johnson KN, Shyr Y, Moses HL, Sanders ME, Pietenpol JA. Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. *PLoS One*. 2016 Jun 16;11(6): e0157368.
 14. Loi S, Sirtaine N, Piette F et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol* 2013; 31:860–867.
 15. Mayer IA, Abramson VG, Lehmann BD, Pietenpol JA. New Strategies for Triple-Negative Breast Cancer – Deciphering the Heterogeneity. *Clin Res*. 2014 Feb 15; 20:782-90.
 16. Melchor L, Benitez J. The complex genetic landscape of familial breast cancer. *Hum Genet* 2013; 132:845-863.
 17. Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, Davies S, Fauron C, He X, Hu Z, Quackenbush JF, Stijleman IJ, Palazzo J, Marron JS, Nobel AB, Mardis E, Nielsen TO, Ellis MJ, Perou CM, Bernard PS J. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *Clin Oncol*. 2009 Mar 10; 27(8):1160-7.
 18. Prat A, Parker J S, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, He X, Perou CM. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Research* 2010 12:R68.
 19. Prat, A., Cruz, C., Hoadley, K., Díez, O., Perou, C., Balmaña, J. Molecular features of the basal-like breast cancer subtype based on BRCA1 mutation status. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;147:185–191.
 20. Prat A, Pineda E, Adamo B, Galván P, Fernández A, Gaba L, Díez M, Viladot M, Arance A, Muñoz M. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast*. 2015 Nov;24 Suppl 2:S26-35. doi: 10.1016/j.breast. 2015.07.008. Epub 2015 Aug 5.
 21. Proverbs-Singh T, Feldman JL, Morris MJ, Autio KA and Traina TA. Targeting the androgen receptor in prostate and breast cancer: several new agents in development. *Endocr Relat Cancer* 2015; 22: R87-R106.
 22. Safarpour D, Pakneshan S and Tavassoli FA. Androgen receptor (AR) expression in 400 breast carcinomas: is routine AR assessment justified? *Am J Cancer Res* 2014; 4: 353-368.
 23. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lønning PE, Brown PO, Børresen-Dale AL, Botstein D. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jul 8; 100(14):8418-23.)
 24. Tate CR, Rhoades LV, Segar HC, Driver JL, Pounder FN, Burow ME, Collins-Burow

- BM. Targeting triple-negative breast cancer cells with the histone deacetylase inhibitor panobinostat. *Breast Cancer Res.* 2012; 14:R79
25. Tsaneva M., Kuzmanova-Valcheva S. *Endocrinology of breast cancer.* 1 st ed. Sofia: Paradigma; 2017.

Адрес за кореспонденция:
Василена Цветкова
Катедра по клинична патология,
Падуански университет
ул. Пиетро Чеолдо 11, Падуа,
Италия, п.к. 35128
e-mail: vassilena.tsvetkova@gmail.com