

Đánh giá đặc điểm giải phẫu bệnh theo nhóm phân tử ung thư vú có thụ thể nội tiết âm tính

Evaluating pathological features according to hormone receptor-negative breast cancer molecular subtypes

Nguyễn Văn Chủ

Bệnh viện K

Tóm tắt

Mục tiêu: Nhận xét một số mối liên quan giữa đặc điểm giải phẫu bệnh và nhóm phân tử ung thư vú có thụ thể nội tiết âm tính. **Đối tượng và phương pháp:** 202 bệnh nhân ung thư vú có thụ thể nội tiết âm tính được phân nhóm phân tử và đánh giá mối liên quan với đặc điểm giải phẫu bệnh. **Kết quả:** Các nhóm TNB-, TNB+ và HER2 chiếm tỷ lệ cao nhất ở chỉ số Ki67 cao (55,6%, 55,3% và 51,5%), chiếm tỷ lệ cao nhất ở p53(+)Bcl2(-), gặp phổ biến ở nhóm di căn > 3 hạch, lần lượt là 27,8%, 22,4% và 22,3%, cũng như NPI xấu ($p < 0,001$). **Kết luận:** Các nhóm phân tử của ung thư vú có thụ thể nội tiết âm tính thường kết hợp với các đặc điểm giải phẫu bệnh xấu.

Từ khóa: Ung thư vú, thụ thể nội tiết âm tính, type phân tử.

Summary

Objective: To determine some relations between pathological features and negative hormone receptor breast cancer molecular subtypes. **Subject and method:** 202 hormone receptor-negative breast cancer patients underwent immunohistochemistry (IHC) staining for molecular categories and evaluating the relationship with pathological features. **Result:** Triple negative non basal-like (TNB-), triple negative basal-like (TNB+) and HER2 types accounted for highest rates in high Ki67 (55.6%, 55.3%, and 51.5%; respectively), with highest rate in p53(+)Bcl2(-), were more common in patients with more than 3 positive nodes (27.8%, 22.4% and 22.3%, respectively), as well as in poor Nottingham prognostic index (NPI) subtype ($p < 0.001$). **Conclusion:** The hormone receptor-negative breast cancer molecular subtypes are often associated with poor pathological features.

Keywords: Breast cancer, negative hormone receptor, molecular subtypes.

1. Đặt vấn đề

Ung thư vú là một bệnh không đồng nhất. Các khối u vú với hình ảnh mô bệnh học (MBH) tương tự nhau có thể biểu hiện lâm sàng, mức độ ác tính và

đáp ứng với điều trị trái ngược nhau. Một số nghiên cứu cho thấy ung thư vú được phân nhóm MBH và đánh giá theo các thông số kinh điển sẽ có một tỷ lệ nhất định các bệnh nhân được điều trị chưa chính xác [10]. Sự phân tích khía cạnh bộc lộ gen và sự bộc lộ hóa mô miễn dịch (HMMD) cho thấy một số nhóm sinh học đã được nhận ra. Các nhóm phân tử ung thư vú khác nhau rõ rệt về chủng tộc/sắc tộc, phân

Ngày nhận bài: 04/3/2020, *ngày chấp nhận đăng:* 9/3/2020

Người phản hồi: Nguyễn Văn Chủ,

Email: chunv.nch@gmail.com - Bệnh viện K

bố các yếu tố nguy cơ, tiên lượng, đáp ứng với liệu pháp điều trị, kết quả lâm sàng, thời gian sống thêm toàn bộ và thời gian sống thêm không bệnh [8], [9]. Ở Việt Nam, đã có nhiều công trình nghiên cứu về bệnh ung thư vú cả về hình thái MBH lẫn HMMD, tuy nhiên các nghiên cứu về đặc điểm giải phẫu bệnh của các nhóm phân tử có thụ thể nội tiết âm tính chưa nhiều. Vì vậy, chúng tôi chọn đề tài “Đánh giá đặc điểm giải phẫu bệnh theo type phân tử ung thư vú có thụ thể nội tiết âm tính” với mục tiêu: *Nhận xét một số mối liên quan giữa đặc điểm giải phẫu bệnh và nhóm phân tử ung thư vú có thụ thể nội tiết âm tính.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Gồm 202 bệnh nhân ung thư vú xâm nhập được điều trị phẫu thuật cắt vú tại Bệnh viện K từ năm 2012 đến năm 2014.

Tiêu chuẩn lựa chọn

Được phẫu thuật cắt tuyến vú, có thụ thể nội tiết âm tính.

Khối u vú nguyên phát và chưa được điều trị hóa chất trước mổ cắt u.

Có chẩn đoán mô bệnh học là ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập.

Có khối nén đủ tiêu chuẩn để nhuộm HMMD.

Tiêu chuẩn loại trừ

Không đáp ứng được các tiêu chuẩn chọn trên.

Ung thư biểu mô tuyến vú tại chỗ, ung thư vú ở nam giới.

Ung thư vú tái phát hoặc ung thư cơ quan khác di căn tới vú.

2.2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Nghiên cứu về mô bệnh học và HMMD

Kỹ thuật mô học: Đánh giá khối u và hạch: Các bệnh phẩm u vú được phẫu tích đo đường kính lớn

nhất. Mỗi khối u lấy từ 2 - 3 mảnh, dày 2 - 3mm, diện tích 1 - 2cm². Phẫu tích, đếm số lượng hạch. Chuyển đúc, cắt nhuộm mẫu mô.

Kỹ thuật hóa mô miễn dịch:

Phương pháp nhuộm: Kỹ thuật HMMD được thực hiện bằng máy trên mô đúc khối nén với các dấu ấn HMMD như sau: ER, PR, Her-2/neu, trong đó 103 ca bộ ba âm tính nhuộm thêm với p63, EGFR, CK5/6, CK17.

Đánh giá kết quả HMMD:

ER, PR: Đánh giá kết quả theo tiêu chuẩn của Allred và nhà sản xuất Dako. Tính điểm theo H-score cải biên. Phản ứng dương tính khi tổng điểm > 10.

HER2 (C-erb-2): Chỉ 3+ mới được coi là dương tính.

p53 và p63: Nhuộm nhân tế bào u được chia điểm từ 0 đến 3: Dương tính khi từ 1 điểm trở lên. Ki67 chia 3 mức dương tính.

Bcl2: Dương tính khi từ 2+ trở lên.

CK5/6, CK17 và EGFR, D2-40: Bào tương và màng bào tương nhuộm màu vàng nâu (yếu hoặc mạnh) được coi là dương tính.

Phương pháp FISH: 96 khối u nhuộm HMMD có HER2 (2+) sẽ được đánh giá sự khuếch đại gen HER2 bằng phương pháp FISH.

Quy trình đọc và thẩm định các kết quả

Tác giả đọc tiêu bản nhuộm H-E, HMMD, FISH và ghi các kết quả vào chương trình quản lý số liệu.

Phân nhóm phân tử ung thư vú: Theo tiêu chuẩn được đề cập của Bhargava [3].

Các biến số được chọn để khảo sát

Phân nhóm phân tử ung thư vú: TNB+ (nhóm dạng đáy), TNB- (nhóm không dạng đáy) và nhóm HER2.

Các thông số HMMD và MBH:

Ki67 chia thành 3 mức: Thấp ($\leq 15\%$), trung bình (16 - 30%) và cao ($> 30\%$).

Bcl2-p53: Chia 4 mức: Bcl2-p53-, Bcl2+p53-, Bcl2-p53+ và Bcl2+p53+.

Tình trạng hạch: Có hoặc không di căn hạch, nhóm hạch (0, ≤ 3 và > 3 hạch).

Kích thước u: $u \leq 2\text{cm}$, $2 < u \leq 5\text{cm}$ và $u > 5\text{cm}$.
Kích thước trung bình.

Type MBH theo phân loại Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) năm 2012 và 4 nhóm MBH [7].

Độ mô học (ĐMH): I, II, III.

NPI: 3 nhóm tiên lượng tốt, trung bình và xấu.

Xâm nhập bạch mạch và lympho: Có hoặc không.

2.3. Xử lý số liệu

Các trường hợp nghiên cứu được mã hóa dữ liệu. Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0.

3. Kết quả

3.1. Phân loại phân tử ung thư biểu mô tuyến vú có thụ thể nội tiết âm tính

Bảng 1. Phân bố các nhóm phân tử

Type phân tử		n		Tỷ lệ %	
Bộ ba âm tính	Không dạng đầy	103	18	51,0	8,9
	Dạng đầy		85		42,1
Type HER2		99		49,0	
Tổng số		202		100,0	

Nhận xét: Nhóm HER2 gặp phổ biến nhất 49,0%, đứng thứ 2 là nhóm dạng đầy (TNB+): 42,1%, nhóm không dạng đầy (TNB-) chiếm tỷ lệ thấp (8,9%).

3.2. Mối liên quan giữa nhóm phân tử với sự bộc lộ hóa mô miễn dịch, MBH

Bảng 2. Sự bộc lộ Ki67 theo nhóm phân tử ($p=0,0001$)

Ki67	Thấp		Trung bình		Cao		Tổng số		Trung bình
	n	%	n	%	n	%	n	%	
TNB-	6	33,3	2	11,1	10	55,6	18	8,9	$43,8 \pm 3,2$
TNB+	23	27,1	15	17,6	47	55,3	85	42,1	
HER2	27	27,3	21	21,2	51	51,5	99	49,0	$38,4 \pm 2,9$
	56	27,7	38	18,8	108	53,5	202		

Nhận xét: Các nhóm chiếm tỷ lệ cao nhất ở chỉ số Ki67 cao là TNB- (55,6%), TNB+ (55,3%), nhóm HER2 (51,5%).

Bảng 3. Sự bộc lộ p53-Bcl2 theo các nhóm phân tử ($p=0,0001$)

P53,Bcl2	(+) (+)		(+) (-)		(-) (+)		(-) (-)		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TNB-	3	16,6	13	72,2	1	5,6	1	5,6	18	8,9
TNB+	20	23,5	32	37,7	8	9,4	25	29,4	85	42,1
HER2	13	13,1	49	49,5	9	9,1	28	28,3	99	49,0
Tổng	36	17,8	94	46,5	18	8,9	54	26,8	202	

Nhận xét: Các nhóm TNB-, TNB+ và HER2 chiếm tỷ lệ cao nhất ở p53(+)Bcl2(-), lần lượt là 72,2%, 37,7% và 49,5%.

Bảng 4. Mối liên quan giữa nhóm phân tử với nhóm kích thước u ($p=0,048$)

Kích thước	≤ 2		$2 < u \leq 5$		> 5		Tổng số		Trung bình
	n	%	n	%	n	%	n	%	
TNB-	7	38,9	9	50,0	2	11,1	18	8,9	$2,6 \pm 1,6$
TNB+	42	49,4	40	47,1	3	3,5	85	42,1	
HER2	35	35,4	58	58,5	6	6,1	99	49,0	$2,8 \pm 1,4$
Tổng	84	41,6	107	52,9	11	5,5	202		

Nhận xét: Nhóm TNB- chiếm tỷ lệ cao nhất ở $u > 5\text{cm}$ là 11,1%, tiếp đến là nhóm HER2 chiếm 6,1%.

Bảng 5. Mối liên quan giữa nhóm phân tử với số nhóm hạch ($p=0,00001$)

Nhóm hạch	0		1 - 3		> 3		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%	n	%
TNB-	9	50,0	4	22,2	5	27,8	18	8,9
TNB+	48	56,5	18	21,2	19	22,3	85	42,1
HER2	49	49,5	28	28,3	22	22,2	99	49,0
Tổng	106	52,5	50	24,7	46	22,8	202	

Nhận xét: Nhóm TNB-, TNB+ và HER2 chiếm tỷ lệ cao ở nhóm di căn > 3 hạch, lần lượt là 27,8%, 22,4% và 22,3%. Nhóm TNB và HER2: $1,9 \pm 0,3$ hạch.

Bảng 6. Mối liên quan giữa nhóm phân tử với nhóm MBH ($p=0,0644$)

Nhóm MBH	A		B		C		D		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TNB-	11	61,1	1	5,5	3	16,7	3	16,7	18	8,9
TNB+	73	85,8	4	4,7	6	7,1	2	2,4	85	42,1
HER2	83	83,8	2	2,0	10	10,2	4	4,0	99	49,0
Tổng	167	82,6	7	3,6	19	9,4	9	4,4	202	

Nhận xét: Nhóm B chỉ gồm các nhóm TNB-, TNB+ và HER2, chiếm tỷ lệ 5,5%, 4,7% và 2,0%. Nhóm TNB- chiếm tỷ lệ cao ở cả 2 nhóm C và D, đều là 16,7%.

Bảng 7. Mối liên quan giữa nhóm phân tử với độ mô học ($p=0,0001$)

Độ mô học	I		II		III		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%	n	%
TNB-	1	5,6	2	11,1	15	83,3	18	8,9
TNB+	4	4,7	20	23,5	61	71,8	85	42,1
HER2	3	3,0	30	30,3	66	66,7	99	49,0
Σ	8	4,0	52	25,7	142	70,3	202	

Nhận xét: Độ mô học III, các nhóm TNB-, TNB+ và HER2 chiếm tỷ lệ cao, là 83,3%, 71,8% và 66,7%.

Bảng 8. Mối liên quan giữa nhóm phân tử với NPI ($p=0,0001$)

NPI	$< 3,4$	$3,4 - 5,4$	$> 5,4$	Tổng số	
-----	---------	-------------	---------	---------	--

	n	%	n	%	n	%	n	%	Trung bình
TNB-	2	11,1	9	50,0	7	38,9	18	8,9	$4,8 \pm 1,1$
TNB+	11	12,9	48	56,5	26	30,6	85	42,1	
HER2	10	10,1	53	53,6	36	36,4	99	49,0	$4,9 \pm 1,2$
Tổng	23	11,3	110	54,5	69	34,2	202		

Nhận xét: Trong nhóm tiên lượng xấu, nhóm TNB-, HER2 và TNB+ chiếm tỷ lệ cao lần lượt là 38,9%, 36,4% và 30,6%.

4. Bàn luận

4.1. Phân nhóm phân tử

Sử dụng bảng phân nhóm phân tử của Bhargava và cộng sự theo tiêu chuẩn HMMD, kèm bổ sung thêm một số dấu ấn đặc trưng, Bảng 1 cho thấy nhóm HER2 chiếm tỷ lệ cao nhất (20,0%), tiếp đến là nhóm dạng ống (TNB+): 17,2%, nhóm bộ ba âm tính không phải dạng ống (TNB-) ít gặp, chiếm 3,6%. Trong nghiên cứu của Bhargava và cộng sự (2010), các tác giả nhận thấy có 57 trường hợp nhóm HER2 (16%), 79 trường hợp bộ ba âm tính (22%) [2]. Đáp ứng bệnh học hoàn toàn được xác định ở 33% u HER2, 30,3% u dạng ống ($p < 0,0001$). Các kết quả này tương tự các nghiên cứu sử dụng phân tích gen để dự báo sự đáp ứng bệnh học hoàn toàn. Do đó, các tác giả tin rằng có thể sử dụng các tiêu chuẩn HMMD trong thực hành thường quy để cung cấp các thông tin lâm sàng quan trọng [3]. Theo Cheang và cộng sự (2008), nhóm TNP (bộ ba âm tính) là 15,8% (TNB-: 7,5% và TNB+: 8,3%), HER2 là 5,5% [5]. Đối với TNB+ và TNB-, các tác giả đã chứng tỏ rằng, nhóm TNB+ thường gặp ở bệnh nhân trẻ hơn, độ mô học cao hơn. Điều này chứng tỏ nhóm TNB+ là nhóm bệnh nhân có nguy cơ cao hơn. Khi so sánh với các nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy các nhóm phân tử có tỷ lệ tương tự 2 tác giả này.

4.2. Nhóm phân tử, hóa mô miễn dịch và MBH

Chỉ số tăng sinh nhân Ki67: Mức độ tăng sinh của tế bào ung thư vú có liên quan trực tiếp với tiến triển và tiên lượng bệnh. Trong nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 2) chỉ số Ki67 trung bình ở nhóm HER2 là $38,4 \pm 2,9$ và nhóm bộ ba âm tính chiếm tỷ lệ cao nhất là $43,8 \pm 3,2$. Ở nhóm Ki67 cao, các nhóm chiếm tỷ lệ cao là TNB- (55,6%), TNB+ (55,3%), nhóm HER2 (51,5%) ($p = 0,0001$). Theo Spitale và cộng sự (2008) sự bộc lộ dấu ấn Ki67 khác biệt có ý nghĩa với các nhóm phân tử ($p < 0,0001$), chỉ số Ki67 cao ở nhóm dạng ống và HER2 (lần lượt là 75,3% và 63,2%) [10]. Các nghiên cứu phân tích đa biến chỉ số Ki67 và

cho thấy chỉ số Ki67 cao là yếu tố tiên lượng xấu trong ung thư vú.

P53 và Bcl2: Bảng 3 cho thấy ung thư vú có p53+Bcl2- (tiên lượng xấu) chiếm tỷ lệ cao nhất là 46,5%, p53-Bcl2- (trung bình) đứng thứ 2 (26,8%), p53+Bcl2+ (trung bình) chiếm tỷ lệ thứ 3 là 17,8% và p53-Bcl2+ (tiên lượng tốt) ít gặp (8,9%). Các type TNB-, TNB+ và HER2 chiếm tỷ lệ cao nhất ở p53+Bcl2-, lần lượt là 72,2%, 37,6% và 49,5%, tức là thuộc nhóm tiên lượng xấu ($p = 0,0001$). Ung thư vú ER(-) chiếm tỷ lệ cao ở nhóm p53+Bcl2- phù hợp với nhận định của Krajewski và cộng sự (1997) là sự mất ER trong quá trình phát triển ung thư vú có thể góp phần quan trọng là giảm sự bộc lộ Bcl2 ở các ung thư vú có p53(+). Cần xác định xem sự mất ER và đột biến p53 ảnh hưởng hay kích thích như thế nào tới sự bộc lộ Bcl2, có thể cả ER và p53 điều hòa sự bộc lộ của gen kháng chết tế bào theo chương trình này trong dòng tế bào ung thư vú [6].

Kích thước u: Chúng tôi nhận thấy rằng các khối u có kích thước trung bình nhóm HER2 là $2,8 \pm 1,4$ và TNP là $2,6 \pm 1,6$. Theo nghiên cứu của Bhargava và cộng sự (2010), kích thước u trung bình theo các nhóm phân tử TNP (3,0cm), HER2 (2,9cm) [2]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Bhargava. Chúng tôi thấy rằng ở nhóm u có kích thước > 5 cm, type TNB- chiếm tỷ lệ cao nhất là 11,1%, tiếp đến là nhóm HER2 chiếm 6,1% ($p = 0,048$). Theo Cheang và cộng sự (2008), các u từ 2 - 5cm, nhóm HER2 chiếm tỷ lệ cao là 49,2%. Trong khi với các u có kích thước lớn > 5 cm, các tác giả nhận thấy nhóm TNB+ và TNB- đều chiếm tỷ lệ cao là 8,3% [5].

Tình trạng hạch: Trong nghiên cứu của chúng tôi thấy rằng các nhóm TNP và HER2 có số lượng hạch di căn trung bình cao nhất: $1,9 \pm 0,3$. Theo Carey và cộng sự (2006), nhóm dạng ống (41,0%) và cao nhất là nhóm HER2 chiếm 56,0% ($p = 0,04$) [4]. Bảng 9 cho thấy rằng nhóm TNB-, TNB+ và HER2 chiếm tỷ lệ di căn hạch cao ở nhóm > 3 hạch, lần lượt là 27,8%, 22,4% và 22,3% ($p = 0,00001$). Qua so sánh các kết quả với các nghiên cứu, mặc dù có một vài nghiên cứu có kết quả khác nhau, nhưng nhìn chung đều có

điểm thống nhất là các u ER(-) có tỷ lệ di căn hạch cao, nhất là ở nhóm > 3 hạch, như nhóm HER2.

Nhóm MBH: Bảng 6 cho thấy nhóm B chỉ bao gồm các nhóm TNB-, TNB+ và HER2, chiếm tỷ lệ 5,5%, 4,7% và 2,0%. Nhóm TNB- chiếm tỷ lệ cao ở cả 2 nhóm C và D, đều là 16,7% ($p=0,0644$). Carey và cộng sự (2006) nhận thấy rằng nhóm dạng đáy chiếm tỷ lệ cao nhất ở nhóm C (nhóm B theo Spitale), là 10,0% [4]. Qua so sánh với các tác giả trên chúng tôi nhận thấy rằng các nhóm MBH có tiên lượng xấu hay nhóm B (nhóm C theo Carey) đều chiếm tỷ lệ cao ở nhóm phân tử có tiên lượng xấu đó là nhóm dạng đáy hoặc nhóm HER2.

Độ mô học: Qua Bảng 7, chúng tôi thấy rằng ở ung thư vú ĐMH III, các nhóm TNB-, TNB+ và HER2 chiếm tỷ lệ cao, lần lượt là 83,3%, 71,8% và 66,7% ($p=0,0001$). Theo nghiên cứu của Cheang và cộng sự (2008) ở độ mô học III nhóm TNB+ chiếm tỷ lệ cao nhất (87,2%) [5]. Bhargava và cộng sự (2010), nhận thấy trong các ung thư vú ĐMH III nhóm TNP chiếm tỷ lệ cao nhất là 78,0% [2]. Mặc dù có khác nhau về tỷ lệ ở các nhóm phân tử, nhưng kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự nghiên cứu của Cheang và Bhargava và các tác giả khác đó là ĐMH III các nhóm TNB-, TNB+, HER2 chiếm tỷ lệ cao.

Chỉ số tiên lượng Nottingham (NPI): Trong nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 8) tính NPI trung bình nhóm HER2 là $4,9 \pm 1,2$. Trong nhóm tiên lượng xấu nhóm TNB-, HER2 và TNB+ chiếm tỷ lệ cao lần lượt là 38,9%, 36,4% và 30,6% ($p=0,00001$). Adly và cộng sự (2010) nhận thấy rằng 2 nhóm TNP và HER2 chiếm tỷ lệ cao ở nhóm NPI có tiên lượng xấu [1].

5. Kết luận

Qua nghiên cứu 202 bệnh nhân ung thư vú có thụ thể nội tiết âm tính chúng tôi rút ra các kết luận sau:

Phân nhóm phân tử: Các nhóm phân tử mức độ phổ biến giảm dần HER2, TNB+ và TNB-.

Mối liên quan với đặc điểm lâm sàng ($p<0,05$):

Nhóm HER2: Có đặc điểm HMMD tương tự TNB+ và TNB-, nhưng với tỷ lệ thấp hơn và có tỷ lệ

cao nhất ở $u > 2 - 5\text{cm}$ và di căn hạch, hay gặp ở ĐMH III, NPI trung bình và cao.

Typ TNB+ và TNB-: Chủ yếu gặp bộc lộ ở nhóm Ki67 cao, nhóm p53+Bcl2-, NPI trung bình và cao, di căn > 3 hạch, ĐMH cao. Nhóm TNB- có tỷ lệ cao hơn TNB+ ở ĐMH III, di căn hạch, NPI cao, $u > 5\text{cm}$.

Tài liệu tham khảo

1. Adly S, Hewedi IH, Mokhtar NM (2010) *Clinicopathologic significance of molecular classification of breast cancer: Relation to Nottingham prognosis index*. Journal of the Egyptian Nat. Cancer Inst 22(4).
2. Bhargava R, Beriwal S, Dabb DJ et al (2010) *Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predict response to neoadjuvant chemotherapy: A single Institutional experience with 359 cases*. Cancer, in press.
3. Bhargava R, Esposito NN and Dabbs DJ (2010) *Immunohistology of the Breast. Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and genomic applications*. Saunders, USA: 763-819.
4. Carey LA, Perou CM, Livasy CA et al (2006) *Race, breast cancer subtypes, and survival in the carolina breast cancer study*. JAMA 295(21): 2492–2502.
5. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C et al (2008) *Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype*. Clin Cancer Res 14: 1368-1376.
6. Krajewski S, Thor AD, Edgerton SM et al (1997). *Breast cancers. Analysis of Bax and Bcl-2 expression in p53-immunopositive*. Clin Cancer Res 3: 199-208.
7. Lakhani SR, Elis IO, Schnitt SJ et al (2012) *WHO classification of tumors of the breast*. IARC, Lyon, France.
8. Perou CM, Sørli T, Eisen MB et al (2000) *Molecular portraits of human breast tumours*. Nature 406(6797): 747-752.
9. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J et al (2003) *Repeated observation of breast tumor subtypes in*

independent gene expression data sets. Proc Natl Acad Sci USA 100(14): 8418-8423.

10. Spitale A, Mazzola P, Soldini D et al (2009) *Breast cancer classification according to immunohistochemical markers: Clinicopathologic features and short-term survival analysis in a population-based study from the South of Switzerland. Annals of Oncology 20: 628-635.*