

Ανασκόπηση

Μοριακή Βιολογία και καρκίνος του μαστού: από τη βασική έρευνα στην κλινική πράξη

Μ. Ζαφράκας
Α. Λαμπρόπουλος
Β. Ταρλατζής

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αλματώδης πρόοδος της Μοριακής Βιολογίας κατά την τελευταία δεκαετία άνοιξε νέους δρόμους στον τρόπο που αντιλαμβανόμαστε τη βιολογική συμπεριφορά του καρκίνου του μαστού. Επιπρόσθετα, η πρόοδος αυτή οδήγησε στην ανάπτυξη νέων μεθόδων για την πρόληψη, διαγνωστική προσέγγιση και θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου. Η ανακάλυψη συγκεκριμένων γονιδίων που σχετίζονται αιτιολογικά με οικογενείς μορφές του καρκίνου του μαστού, ακολουθήθηκε από την ανάπτυξη ειδικών στρατηγικών για την πρωτογενή και δευτερογενή πρόληψη του κληρονομικού καρκίνου. Η μελέτη της έκφρασης διαφόρων γονιδίων στον πρωτογενή όγκο, αλλά και στις μεταστατικές εστίες οδήγησε στην εδραίωση εξειδικευμένων διαγνωστικών μεθόδων, που επιτρέπουν το σαφή διαχωρισμό των ασθενών σε διακριτές προγνωστικές κατηγορίες και την εφαρμογή των σύγχρονων μορφών στοχευμένης θεραπείας.

Λέξεις κλειδιά: Μοριακή Βιολογία, Καρκίνος μαστού, Βιοτεχνολογία, Πρόληψη, Διάγνωση, Θεραπεία.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αλματώδης πρόοδος της Μοριακής Βιολογίας κατά τα τελευταία χρόνια σε συνδυασμό με τη θεαματική εξέλιξη της βιοτεχνολογίας επέτρεψαν τη διαλεύκανση σε μοριακό επίπεδο μιας σειράς μηχανισμών που ενέχονται στην αιτιοπαθογένεια του καρκίνου του μαστού, αλλά και στην περαιτέρω εξέλιξη της νόσου μετά την πρώτη της κλινική εκδήλωση. Οι γνώσεις που αποκτήθηκαν τα τελευταία χρόνια επιτρέπουν την εφαρμογή νέων μεθόδων πρωτογενούς και δευτερογενούς πρόληψης του καρκίνου του μαστού, τη διαγνωστική κατηγοριοποίηση των ασθενών σε προγνωστικές κατηγορίες και την επιτυχή πραγματοποίηση της σύγχρονης στοχευμένης θεραπείας.

Γενετική και οικογενής καρκίνος του μαστού

Από την ανάλυση του DNA μελών οικογενειών με οικογενή καρκίνο του μαστού εντοπίστηκαν αρχικά στο ανθρώπινο γονιδίωμα δύο γονίδια, που συνδέονται αιτιολογικά με την εμφάνιση του καρκίνου του μαστού και σε μικρότερο βαθμό με τον καρκίνο των ωοθηκών:

α) Το γονίδιο BRCA1, το οποίο εντοπίζεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 (17q21), αποτελείται από 22 εξόνια και κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη αποτελούμενη από 1.863 αμινοξέα¹.

Α' Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική
 Α.Π.Θ., Γ.Ν. Παπαγεωργίου

Αλληλογραφία:
 Δρ. Μ. Ζαφράκας
 Α' Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική
 Α.Π.Θ.
 Γενικό Νοσοκομείο Παπαγεωργίου
 Περιφερειακή Οδός Θεσσαλονίκης
 Ν. Ευκαρπία, 56403, Θεσσαλονίκη
 Τηλ: 2310-693131
 E-mail: mzafrakas@gmail.com
 Κατατέθηκε: 7/1/09
 Εγκρίθηκε: 17/2/09

β) Το γονίδιο BRCA2, που βρίσκεται στο μακρύ σέ-λος του χρωμοσώματος 3 (3q12), αποτελείται από 27 εξόνια και κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη αποτελούμενη από 3.418 αμινοξέα².

Οι φορείς μεταλλάξεων των γονιδίων αυτών δεν εμφανίζουν απαραίτητος καρκίνο του μαστού, αλλά έχουν αυξημένο κίνδυνο νόσησης, ο οποίος κυμαίνεται μεταξύ 56% και 85%^{3,4}. Η μεγάλη αυτή διακύμανση στον υπολογιζόμενο κίνδυνο οφείλεται σε διαφορές στις πληθυσμιακές ομάδες που μελετήθηκαν, καθώς και σε διαφορετικές μεταλλάξεις^{5,6}. Το BRCA1 σχετίζεται συχνότερα και με καρκίνο του παχέος εντέρου και του προστάτη, ενώ το BRCA2 και με καρκίνο του μαστού σε άρρενες συγγενείς της πάσχουσας και πιθανότατα και με άλλες μορφές καρκίνου^{3,4}. Λόγω του σχετικά μεγάλου μεγέθους των γονιδίων αυτών, η διάγνωση μεταλλάξεων στο εργαστήριο δεν είναι εύκολη και απαιτεί εξειδικευμένες τεχνικές και εξοπλισμό.

Άλλα σπανιότερα οικογενή σύνδρομα, τα οποία συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του μαστού είναι⁷⁻¹⁶:

- α) Το σύνδρομο Li-Fraumeni, που σχετίζεται συχνότερα με κληρονομούμενες μεταλλάξεις του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53⁷⁻¹⁰,
- β) η αταξία-τηλαγγειεκτασία, που σχετίζεται με κληρονομούμενες μεταλλάξεις του γονιδίου ATM¹¹,
- γ) το σύνδρομο Cowden, που σχετίζεται με μεταλλάξεις του γονιδίου PTEN¹²,
- δ) το σύνδρομο Peutz-Jeghers, που σχετίζεται με μεταλλάξεις του γονιδίου STK11¹³ και
- ε) το σύνδρομο Reifstein, το οποίο οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου του υποδοχέα των ανδρογόνων και χαρακτηρίζεται από αμφίβολα γεννητικά όργανα και καρύτυπο 46 XY¹⁴⁻¹⁶.

Πιο πρόσφατα επίσης, φάνηκε ότι υπάρχουν και άλλα «χαμηλής διεισδυτικότητας» γονίδια, που ευθύνονται για περιπτώσεις οικογενούς καρκίνου του μαστού: Δύο γονίδια που αλληλεπιδρούν με τα BRCA1 και 2, το BRIP1 (BRCA1-interacting protein C-terminal helicase 1)¹⁷ και PALB2¹⁸ αντίστοιχα, συγκεκριμένες σημειακές μεταλλάξεις στα γονίδια FGFR2^{19,20}, TNRC9²⁰, MAP3K1²⁰, LSP1²⁰, CASP8²¹, καθώς και το γονίδιο CHEK2, που παλαιότερα είχε συνδεθεί με το σύνδρομο Li-Fraumeni^{22,23} και το γονίδιο AKAP9²⁴.

Οι περισσότερες περιπτώσεις καρκίνου του μαστού θεωρούνται σήμερα ως σποραδικές, αφού η συχνότητα του κληρονομούμενου καρκίνου υπολογίζεται ότι δεν ξεπερνά το 5-10%. Έτσι, ακόμη και σε γυναίκες με θετικό οικογενειακό ιστορικό, η μοριακή ανάλυση για τη διάγνωση μίας από τις παραπάνω μορφές οικογενούς καρκίνου του μαστού θα πρέπει να γίνει μόνο αφού προηγηθεί λεπτομερής υπολογισμός του εξατομικευμένου κινδύνου νόσησης²⁵⁻²⁸. Αν ο υπολογιζόμενος κίνδυ-

νος ξεπερνά το 20%, τότε η διεθνής πρακτική υπαγορεύει ότι πριν από τη διενέργεια του γενετικού τεστ, θα πρέπει να προηγηθεί εκτενής συζήτηση με ομάδα ιατρών, αποτελούμενη από γυναικολόγο, εξειδικευμένου μαστολόγο, κλινικό γενετιστή και ψυχο-ογκολόγο. Η ομάδα αυτή θα συζητήσει και θα ενημερώσει την εξεταζόμενη για τις επιπτώσεις που θα έχει μία θετική ή αρνητική διάγνωση τόσο στην ίδια όσο και στα συγγενικά της πρόσωπα, καθώς και για τα διαγνωστικά όρια της μοριακής εξέτασης. Εάν τελικά τεθεί η διάγνωση οικογενούς καρκίνου του μαστού, τότε σε επόμενη συνάντηση η φέρουσα την παθολογική μετάλλαξη θα κληθεί να αποφασίσει για την περαιτέρω παρακολούθηση ή και αντιμετώπιση της κατάστασης, διαλέγοντας ανάμεσα σε μέτρα πρωτογενούς και δευτερογενούς πρόληψης²⁵⁻²⁸.

Η πρωτογενής πρόληψη του καρκίνου του μαστού σε γυναίκες-φορείς παθολογικών μεταλλάξεων που αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου περιλαμβάνει τη χημειοπροφύλαξη με ταμοξιφένη και την αμφοτερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή ή και ωοθηκτεκτομή, που μειώνουν σημαντικά, αλλά ωστόσο δεν εκμηδενίζουν τον κίνδυνο νόσησης²⁹⁻³². Η δευτερογενής πρόληψη περιλαμβάνει τη στενή παρακολούθηση με μηνιαία αυτοεξέταση των μαστών, και σε ετήσια βάση μαστογραφία από μικρή ηλικία, κλινική εξέταση, υπερηχογράφημα και μαγνητική τομογραφία³³⁻³⁵.

Μοριακοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού

Οι προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού επιτρέπουν τον υπολογισμό της πιθανότητας επανεμφάνισης της νόσου μετά την πρωτογενή θεραπεία, είτε με τη μορφή τοπικής ή περιοχικής υποτροπής είτε με τη μορφή απομακρυσμένης ή απομακρυσμένων μεταστάσεων, καθώς επίσης και την πιθανότητα θανάτου από τη νόσο. Με άλλα λόγια, οι προγνωστικοί παράγοντες από τη χρονική στιγμή που τίθεται η αρχική διάγνωση παρέχουν πληροφορίες για την επιθετικότητα της νόσου και τους κινδύνους που αυτή ενέχει για την ασθενή στο μέλλον³⁶⁻⁴¹.

Εδραιωμένοι κλινικοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού θεωρούνται το μέγεθος του πρωτογενούς όγκου, η διασπορά ή όχι στους λεμφαδένες της μασχάλης ή της έσω μαστικής αρτηρίας, ο ιστομορφολογικός τύπος του πρωτογενούς όγκου, ο βαθμός ιστολογικής διαφοροποίησης (grading) και η διήθηση αιμοφόρων αγγείων ή λεμφαγγείων κατά την αρχική μικροσκοπική εξέταση του πρωτογενούς όγκου. Τελευταία, στους κλινικούς προγνωστικούς παράγοντες προστέθηκε και ο βαθμός ανταπόκρισης του πρωτογενούς όγκου στη χορήγηση προεγχειρητικής (neoadjuvant) κυτταροτοξικής χημειοθεραπείας⁴⁰⁻⁴⁴.

Οι παλαιότεροι και πλέον εδραιωμένοι μοριακοί

Πίνακας 1. Νεότεροι μοριακοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού

Παράγοντες που προάγουν στον πρωτογενή όγκο	
τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό	τη μεταστατική ικανότητα
ERBB2 ή HER	uPA και PAI-1
Ki-67/MIB-1	κατεψίνη-D
EGF-R	Μικρομεταστάσεις στο μυελό των οστών
p53	Νεοαγγειογένεση
Δείκτης τιτλοποίησης θυμιδίνης	Γονιδιακές «υπογραφές»*
Φάση S	
Γονιδιακές «υπογραφές»*	

*(gene signatures) βασίζονται σε αναλύσεις σε όλο το εύρος του γονιδιώματος με cDNA-microarrays

προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού είναι οι ορμονικοί υποδοχείς, συγκεκριμένα οι υποδοχείς οιστρογόνων και οι υποδοχείς προγεστερόνης. Η κατάσταση των ορμονικών υποδοχέων θεωρείται θετική όταν τουλάχιστον ο ένας από τους δύο τύπους υποδοχέων είναι θετικός (είτε οι οιστρογονικοί είτε οι προγεστερονικοί είτε και οι δύο)^{40,41,45-47}. Για την ανάλυση της κατάστασης των ορμονικών υποδοχέων στον καρκίνο του μαστού αρχικά χρησιμοποιήθηκαν βιοχημικές μέθοδοι, οι οποίες επέτρεπαν τη μέτρηση των επιπέδων του κάθε υποδοχέα σε διάλυμα που προέκυπτε από επεξεργασία και τελικά ρευστοποίηση μέρους του πρωτογενούς όγκου. Σήμερα, ο προσδιορισμός των ορμονικών υποδοχέων στον πρωτογενή όγκο γίνεται πιο εύκολα και πιο αντικειμενικά με τη χρήση ανοσοϊστοχημικών μεθόδων. Αξίζει να σημειωθεί, ότι η προγνωστική αξία των ορμονικών υποδοχέων φαίνεται να είναι μεγαλύτερη σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας από ό,τι σε εμμηνόπαυσιακές ασθενείς^{40,41,48-51}.

Οι νεότεροι μοριακοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού διακρίνονται σε δύο ομάδες, με βάση τα βιολογικά χαρακτηριστικά που προσδίδουν στον πρωτογενή όγκο, και παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα 1^{40,41,52}. Από αυτούς, οι περισσότεροι εδραιωμένοι είναι η υπερ-έκφραση του γονιδίου ERBB2 ή HER2, το οποίο προάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και η υπερ-έκφραση των πρωτεϊνών uPA και PAI-1, που αποτελούν δείκτες της μεταστατικής ικανότητας του πρωτογενούς όγκου. Οι υπόλοιποι παράγοντες που παρουσιάζονται στον πίνακα 1 είτε αξιολογούνται σε τρέχουσες κλινικές μελέτες (για παράδειγμα οι μικρομεταστάσεις στο μυελό των οστών) είτε δεν έχουν τύχει ευρείας εξάπλωσης λόγω του ότι η εφαρμογή τους δεν είναι πρακτική στην καθημερινή πράξη (για παράδειγμα ο δείκτης τιτλοποίησης θυμιδίνης)^{40, 41}.

Το γονίδιο ERBB2 ή HER2 ή HER2/neu βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει, ότι

ο πολλαπλασιασμός των αντιγράφων του γονιδίου αυτού στο γονιδίωμα των καρκινικών κυττάρων σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση και σχετική αντίσταση στην κυταροτοξική χημειοθεραπεία. Ο πολλαπλασιασμός των αντιγράφων του ERBB2 στον πρωτογενή όγκο μπορεί να διαπιστωθεί με ανοσοϊστοχημική χρώση. Η εξέταση αυτή θεωρείται αρνητική όταν η χρώση αποβεί αρνητική ή ασθενώς θετική (+) και θετική όταν η χρώση αποβεί ισχυρά θετική (+++). Όταν η χρώση αποβεί μετρίως θετική (++) , τότε θα πρέπει να πραγματοποιηθεί επιπρόσθετη ανάλυση με φθορίζοντα in situ υβριδισμό (FISH – Fluorescent in situ Hybridization). Πέρα από την προγνωστική του αξία, η πιο χρήσιμη κλινική εφαρμογή που προκύπτει από τον προσδιορισμό του ERBB2 είναι η εφαρμογή αντι- ERBB2 στοχευμένης θεραπείας όταν το αποτέλεσμα είναι θετικό. Για αυτό το λόγο, η ανοσοϊστοχημική εξέταση για την ανίχνευση του ERBB2 στον πρωτογενή όγκο θεωρείται υποχρεωτική^{40,41,53-57}.

Οι πρωτεΐνες uPA (urokinase-type Plasminogen Activator-ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης) και PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor 1- αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου) παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στην ενεργοποίηση του μηχανισμού λύσης και καταστροφής της μεσοκυττάριας ουσίας, μέσα στην οποία βρίσκονται τα καρκινικά κύτταρα. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η απελευθέρωση των καρκινικών κυττάρων στην κυκλοφορία, γεγονός που αποτελεί την πρώτη φάση στη διαδικασία της μεταστατικής διασποράς της νόσου^{40,58,59}. Ο προσδιορισμός τους γίνεται με τη μέθοδο ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) σε διάλυμα που προκύπτει μετά από επεξεργασία και τελικά ρευστοποίηση μέρους του πρωτογενούς όγκου. Αυξημένα επίπεδα των uPA και PAI-1 συσχετίζονται με πτωχή πρόγνωση. Κλινικές μελέτες έχουν εδραιώσει την προγνωστική αξία των uPA και PAI-1 στον καρκίνο του μαστού, ανεξάρτητα από άλλους προγνωστικούς παράγοντες, και μάλιστα και σε

ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες^{40,60-62}.

Η μέτρηση των uPA και PAI-1 σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες επιτρέπει την κατηγοριοποίηση των ασθενών αυτών σε δύο κατηγορίες:

- α) Ασθενείς με αυξημένα επίπεδα uPA ή και PAI-1 και πτωχή πρόγνωση, οι οποίες θα ωφεληθούν από τη χορήγηση επικουρικής (adjuvant) συστηματικής κυτταροτοξικής χημειοθεραπείας.
- β) Ασθενείς με χαμηλά επίπεδα uPA ή και PAI-1 και καλή πρόγνωση, οι οποίες μπορεί να αποφύγουν την κυτταροτοξική χημειοθεραπεία και τις ανεπιθύμητες ενέργειές της⁴⁰.

Αξίζει να σημειωθεί ότι αυτή η κατηγοριοποίηση ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες με βάση τα επίπεδα των uPA και PAI-1 και η αποφυγή της χημειοθεραπείας στις ασθενείς χαμηλού κινδύνου στηρίζονται σε στοιχεία με το υψηλότερο επίπεδο τεκμηρίωσης-επίπεδο I (Level of Evidence I)⁶³.

Στοχευμένη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού

Ιστορικά, το πρώτο παράδειγμα εφαρμογής στοχευμένης θεραπείας για την αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού αποτελεί η ενδοκρινική θεραπεία. Ασθενείς με πρωτογενείς όγκους θετικούς στους οιστρογονικούς ή στους προγεστερονικούς υποδοχείς ή και στους δύο ωφελούνται από τη λήψη ενδοκρινικής θεραπείας τόσο στα πρώιμα στάδια (ως επικουρικής-adjuvant -θεραπείας) όσο και στο πιο προχωρημένο στάδιο των μεταστάσεων. Ως ενδοκρινική θεραπεία πρώτης γραμμής χρησιμοποιήθηκε για χρόνια η ταμοξιφένη-μετά την εμμηνόπαυση ως μονοθεραπεία, ενώ πριν την εμμηνόπαυση σε συνδυασμό με GnRH-ανάλογα. Σήμερα, στις μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς κερδίζουν ολοένα και περισσότερο έδαφος οι αναστολείς αρωματάσης τρίτης γενεάς-αναστροζόλη (Arimidex[®]), λετροζόλη (Femara[®]) και εξεμεστάνη (Aromasin[®])-και ο μειορυθμιστής (down-regulator) του οιστρογονικού υποδοχέα φλοβεστράνη (Faslodex[®])⁶⁴⁻⁶⁹.

Σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού με υπερέκφραση του γονιδίου ERBB2 στον πρωτογενή όγκο εφαρμόστηκε με μεγάλη επιτυχία, αρχικά μόνο στο μεταστατικό στάδιο, η θεραπεία με το ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab (Herceptin[®]). Η αρχική επιτυχία οδήγησε στην πραγματοποίηση επιτυχών κλινικών μελετών και στα πρώιμα στάδια και έτσι το Herceptin[®] εφαρμόζεται πλέον και ως επικουρική (adjuvant) θεραπεία⁷¹⁻⁷⁵. Στο μεταστατικό στάδιο, κυρίως στις περιπτώσεις που παρατηρείται αντίσταση στο trastuzumab, αλλά και προεγχειρητικά (ως neoadjuvant θεραπεία) έχει δώσει πολύ ενθαρρυντικά μέχρι σήμερα αποτελέσματα ο αναστολέας τυροσινικής κινάσης lapatinib (Tykerb[®])⁷⁶⁻⁷⁸.

Άλλες μορφές στοχευμένης θεραπείας που δοκιμάζονται σε κλινικές μελέτες, κυρίως στο μεταστατικό στάδιο, είναι μεταξύ άλλων η θεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα bevacizumab (Avastin[®]) εναντίον του VEGF, του αυξητικού παράγοντα που προάγει την αγγειογένεση (το Avastin[®] έχει ήδη πάρει άδεια κυκλοφορίας για το μεταστατικό καρκίνο του μαστού)⁷⁹, η θεραπεία με erlotinib (Tarceva[®]) εναντίον του EGFR (epidermal growth factor receptor- υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα)⁸⁰ και η θεραπεία με sunitinib (Sutent[®]), ένα πολλαπλό αναστολέα τυροσινικής κινάσης⁸¹.

Summary

Zafrakas M, Labropoulos A, Tarlatzis B.

Molecular Biology and Breast Cancer: from basic science to clinical practice

Helen Obstet Gynecol 21(2):155-163, 2009

Progress in Molecular Biology during the last decade offered new dimensions in the way we understand the biologic behavior of breast cancer. Furthermore, this progress has led to development of new methods in prevention, diagnostic approach and therapeutic management of this disease. Discovery of certain genes, etiologically linked to familial breast cancer, was followed by development of specific strategies of primary and secondary prevention of hereditary cancer. Analysis of gene expression in the primary tumor, as well as in metastatic lesions, has led to establishment of specialized diagnostic methods, which allow a clear classification of patients in distinct prognostic categories and application of current forms of targeted therapy.

Key words: *Molecular Biology, Breast cancer, Biotechnology, Prevention, Diagnosis, Therapy.*

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W, Bell R, Rosenthal J, Hussey C, Tran T, McClure M, Frye C, Hattier T, Phelps R, Haugen-Strano A, Katcher H, Yakumo K, Gholami Z, Shaffer D, Stone S, Bayer S, Wray C, Bogden R, Dayananth P, Ward J, Tonin P, Narod S, Bristow PK, Norris FH, Helvering L, Morisson P, Rosteck P, Lai M, Barrett JC, Lewis C, Neuhausen S, Cannon-Albright L, Goldgar D, Wiseman R, Kamb R, Skolnick MH. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994; 266:66-71.
2. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, Collins N, Gregory S, Gumbs C, Mick-

- lem G. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995; 378:789-792.
3. Easton DF, Bishop DT, Ford D, Crockford GP. Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. *Am J Hum Genetics* 1993; 52:678-701.
 4. Struwing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, Timmerman MM, Brody LC, Tucker MA. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 1997; 336:1401-1408.
 5. Easton DF, Ford D, Bishop DT. Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1995; 56:265-271.
 6. Ford D, Easton DF, Bishop DT, Narod SA, Goldgar DE. Risks of cancer in BRCA1-mutation carriers. *Lancet* 1994; 343:692-695.
 7. Nussbaum R, Vogel KJ, Ready K. Susceptibility to breast cancer: hereditary syndromes and low penetrance genes. *Breast Dis.* 2006;27:21-50.
 8. Arun BK, Strong LC. Breast cancer genetic syndromes. In: *Advanced Therapy of Breast Disease*. Second Edition. Singletary, Robb, Hortobagyi (eds). BC Decker Inc. Hamilton, London 2004, p. 75-83.
 9. Li FP, Fraumeni JF, Jr., Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfus MG, Tucker MA, Miller RW. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res* 1988; 48:5358-5362.
 10. Chompret A, Brugieres L, Ronsin M, Gardes M, Dessarps-Freichay F, Abel A, Hua D, Ligot L, Dondon MG, Bressac-de Paillerets B, Fribourg T, Lemerle J, Bonaoti-Pellit C, Feunteun J. P53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carrier individuals. *Br J Cancer* 2000; 82:1932-1937.
 11. Bretsky P, Haiman CA, Gilad S, Yahalom J, Grossman A, Paglin S, Van Den Berg D, Kolonel LN, Skaliter R, Henderson BE. The relationship between twenty missense ATM variants and breast cancer risk: the Multiethnic Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12:733-738.
 12. Swift M, Morrell D, Massey RB, Chase CL. Incidence of cancer in 161 families affected by ataxia-telangiectasia. *N Engl J Med* 1991; 325:1831-1836.
 13. Thorstenson YR, Roxas A, Kroiss R, Jenkins MA, Yu KM, Bachrich T, Muhr D, Wayne TL, Chu G, Davis RW, Wagner TM, Oefner PJ. Contributions of ATM mutations to familial breast and ovarian cancer. *Cancer Res* 2003; 63:3325-3333.
 14. Eng C. Will the real Cowden syndrome please stand up: revised diagnostic criteria. *J Med Genet* 2000; 37:828-830.
 15. Boardman LA, Thibodeau SN, Schaid DJ, Lindor NM, McDonnell SK, Burgart LJ, Ahlquist DA, Podratz KC, Pittelkow M, Hartmann LC. Increased risk for cancer in patients with the Peutz-Jeghers syndrome. *Ann Intern Med* 1998; 128:896-899.
 16. Wooster R, Mangion J, Eeles R, Smith S, Dowsett M, Averill D, Barrett-Lee P, Easton DF, Ponder BA, Stratton MR. A germ line mutation in the androgen receptor gene in two brothers with breast cancer and reifenstein syndrome. *Nat Genet* 1992; 2:132-134.
 17. Seal S, Thompson D, Renwick A, Elliott A, Kelly P, Barfoot R, Chagtai T, Jayatilake H, Ahmed M, Spanova K, North B, McGuffog L, Evans DG, Eccles D; Breast Cancer Susceptibility Collaboration (UK), Easton DF, Stratton MR, Rahman N. Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet* 2006; 38:1239-1241.
 18. Rahman N, Seal S, Thompson D, Kelly P, Renwick A, Elliott A, Reid S, Spanova K, Barfoot R, Chagtai T, Jayatilake H, McGuffog L, Hanks S, Evans DG, Eccles D; Breast Cancer Susceptibility Collaboration (UK), Easton DF, Stratton MR. PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2007; 39:165-167.
 19. Hunter DJ, Kraft P, Jacobs KB, Cox DG, Yeager M, Hankinson SE, Wacholder S, Wang Z, Welch R, Hutchinson A, Wang J, Yu K, Chatterjee N, Orr N, Willett WC, Colditz GA, Ziegler RG, Berg CD, Buys SS, McCarty CA, Feigelson HS, Calle EE, Thun MJ, Hayes RB, Tucker M, Gerhard DS, Fraumeni JF Jr, Hoover RN, Thomas G, Chanock SJ. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of postmenopausal breast cancer. *Nat Genet* 2007; 39:870-874.
 20. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PD, Thompson D, Ballinger DG, Struwing JP, Morrison J, Field H, Luben R, Wareham N, Ahmed S, Healey CS, Bowman R; SEARCH collaborators, Meyer KB, Haiman CA, Kolonel LK, Henderson BE, Le Marchand L, Brennan P, Sangrajrang S, Gaborieau V, Odefrey F, Shen CY, Wu PE, Wang HC, Eccles D, Evans DG, Peto J, Fletcher O, Johnson N, Seal S, Stratton MR, Rahman N, Chenevix-Trench G, Bojesen SE, Nordestgaard BG, Axelsson CK, Garcia-Closas M, Brinton L, Chanock S, Lissowska J, Peplonska B, Nevanlinna H, Fagerholm R, Eerola H, Kang D, Yoo KY, Noh DY, Ahn SH, Hunter DJ, Hankinson SE, Cox DG, Hall P, Wedren S, Liu J, Low YL, Bogdanova N, Schürmann P, Dörk T, Tollenaar RA, Jacobi CE, Devilee P, Klijn JG, Sigurd-

- son AJ, Doody MM, Alexander BH, Zhang J, Cox A, Brock IW, MacPherson G, Reed MW, Couch FJ, Goode EL, Olson JE, Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Uitterlinden A, Rivadeneira F, Milne RL, Ribas G, Gonzalez-Neira A, Benitez J, Hopper JL, McCredie M, Southey M, Giles GG, Schroen C, Justenhoven C, Brauch H, Hamann U, Ko YD, Spurdle AB, Beesley J, Chen X; kConFab; AOCs Management Group, Mannermaa A, Kosma VM, Kataja V, Hartikainen J, Day NE, Cox DR, Ponder BA. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007; 447:1087-1093.
21. Cox A, Dunning AM, Garcia-Closas M, Balasubramanian S, Reed MW, Pooley KA, Scollen S, Baynes C, Ponder BA, Chanock S, Lissowska J, Brinton L, Peplonska B, Southey MC, Hopper JL, McCredie MR, Giles GG, Fletcher O, Johnson N, dos Santos Silva I, Gibson L, Bojesen SE, Nordestgaard BG, Axelsson CK, Torres D, Hamann U, Justenhoven C, Brauch H, Chang-Claude J, Kropp S, Risch A, Wang-Gohrke S, Schürmann P, Bogdanova N, Dörk T, Fagerholm R, Aaltonen K, Blomqvist C, Nevanlinna H, Seal S, Renwick A, Stratton MR, Rahman N, Sangrajrang S, Hughes D, Odefrey F, Brennan P, Spurdle AB, Chenevix-Trench G; Kathleen Cunningham Foundation Consortium for Research into Familial Breast Cancer, Beesley J, Mannermaa A, Hartikainen J, Kataja V, Kosma VM, Couch FJ, Olson JE, Goode EL, Broeks A, Schmidt MK, Hogervorst FB, Van't Veer LJ, Kang D, Yoo KY, Noh DY, Ahn SH, Wedrún S, Hall P, Low YL, Liu J, Milne RL, Ribas G, Gonzalez-Neira A, Benitez J, Sigurdson AJ, Stredrick DL, Alexander BH, Struewing JP, Pharoah PD, Easton DF; Breast Cancer Association Consortium. A common coding variant in *CASP8* is associated with breast cancer risk. *Nat Genet* 2007; 39:352-358.
 22. Offit K, Garber JE. Time to Check *CHEK2* in Families With Breast Cancer? *J Clin Oncol* 2008; 26:519-520.
 23. Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. *CHEK2**1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls. *J Clin Oncol* 2008; 26:542-548.
 24. Frank B, Wiestler M, Kropp S, Hemminki K, Spurdle AB, Sutter C, Wappenschmidt B, Chen X, Beesley J, Hopper JL; Australian Breast Cancer Family Study Investigators, Meindl A, Kiechle M, Slanger T, Bugert P, Schmutzler RK, Bartram CR, Flesch-Janys D, Mutschelknauss E, Ashton K, Salazar R, Webb E, Hamann U, Brauch H, Justenhoven C, Ko YD, Bróning T, Silva Idos S, Johnson N, Pharoah PP, Dunning AM, Pooley KA, Chang-Claude J, Easton DF, Peto J, Houlston R; Gene Environment Interaction and Breast Cancer in Germany Group, Kathleen Cunningham Foundation Consortium for Research into Familial Breast Cancer Investigators, Australian Ovarian Cancer Study Management Group, Chenevix-Trench G, Fletcher O, Burwinkel B. Association of a common *AKAP9* variant with breast cancer risk: a collaborative analysis. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100:437-442.
 25. Eberl MM, Sunga AY, Farrell CD, Mahoney MC. Patients with a family history of cancer: identification and management. *J Am Board Fam Pract* 2005; 18:211-217.
 26. Prucka SK, McIlvried DE, Korf BR. Cancer risk assessment and the genetic counseling process: using hereditary breast and ovarian cancer as an example. *Med Princ Pract* 2008; 17:173-189.
 27. Gulati AP, Domchek SM. The clinical management of *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *Curr Oncol Rep* 2008; 10:47-53.
 28. Guirguis-Blake J. Cancer genetic risk assessment for individuals at risk of familial breast cancer. *Am Fam Physician* 2008; 77:449-450.
 29. Hartmann LC, Schaid DJ, Woods JE, Crotty TP, Myers JL, Arnold PG, Petty PM, Sellers TA, Johnson JL, McDonnell SK, Frost MH, Jenkins RB. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in women with a family history of breast cancer. *N Engl J Med* 1999; 340:77-84.
 30. Temple WJ, Lindsay RL, Magi E. Technical considerations for prophylactic mastectomy in patients at high risk for breast cancer. *Am J Surg* 1991; 161:413-415.
 31. Dowdy SC, Stefanek M, Hartmann LC. Prophylactic mastectomy and bilateral salpingo-oophorectomy. In: *Advanced Therapy of Breast Disease*. Second Edition. Singletary, Robb, Hortobagyi (eds). BC Decker Inc. Hamilton, London 2004, p. 150-160.
 32. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond CK, Kavanah M, Cronin WM, Vogel V, Robidoux A, Dimitrov N, Atkins J, Daly M, Wieand S, Tan-Chiu E, Ford L, Wolmark N. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:1371-1388.
 33. Rashid A, Brown PH. Genetic counseling and screening. In: *Advanced Therapy of Breast Disease*. Second Edition. Singletary, Robb, Hortobagyi (eds). BC Decker Inc. Hamilton, London 2004, p. 84-96.
 34. Saslow D, Boetes C, Burke W, Harms S, Leach

- MO, Lehman CD, Morris E, Pisano 34. E, Schnall M, Sener S, Smith RA, Warner E, Yaffe M, Andrews KS, Russell CA; American Cancer Society Breast Cancer Advisory Group. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. *CA Cancer J Clin*. 2007; 57:75-89.
35. Komenaka IK, Ditkoff BA, Joseph KA, Russo D, Gorroochurn P, Ward M, Horowitz E, El-Tamer MB, Schnabel FR. The development of interval breast malignancies in patients with BRCA mutations. *Cancer*. 2004; 100:2079-2083.
 36. Clark GM. Interpreting and integrating risk factors for patients with primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001; 30:17-21.
 37. Hayes DF, Trock B, Harris A. Assessing the clinical impact of prognostic factors: when is "statistically significant" clinically useful? *Breast Cancer Res Treat* 1998; 52:305-319.
 38. Hayes DF, Bast RC, Desch CE, Fritsche H Jr, Kemeny NE, Jessup JM, Locker GY, Macdonald JS, Mennel RG, Norton L, Ravdin P, Taube S, Winn RJ. Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:1456-1466.
 39. Yarboro JW, Page DL, Fielding LP, Partridge EE, Murphy GP. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference. *Cancer* 1999; 86:2436-2446.
 40. Jaenicke F. Prognostische und prädiktive Faktoren beim Mammakarzinom. In: Management des Mammakarzinoms. 2. Auflage. Kreienderg R, Volm T, Moebus V, Alt D (Hsg). Springer. Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Tokio 2002, p. 143-159.
 41. Thor AD. Advances in therapy: Prognostic factors in Breast cancer. In: Advanced Therapy of Breast Disease. Second Edition. Singletary, Robb, Hortobagyi (eds). BC Decker Inc. Hamilton, London 2004, p. 181-188.
 42. Koscielny S, Tubiana M, Lx MG, Valleron AJ, Mouriesse H, Contesso G, Sarrazin D. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumour and the probability of metastatic dissemination. *Br J Cancer* 1984; 49:709-715.
 43. Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Hellman S. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow-up of 18 years. *J Clin Oncol* 1989; 7:1239-1251.
 44. Henson DE, Ries L, Freedman LS, Carriaga M. Relationship among outcome, stage of disease and histologic grade for 22,616 cases of breast cancer. The basis for a prognostic index. *Cancer* 1991; 68:2142-2149.
 45. Clark GM, McGuire WL. Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. *Semin Oncol* 1988; 15:20.
 46. Clark GM, McGuire WL. Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. *Semin Oncol* 1988; 15:20-25.
 47. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R. Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol B-06. *J Clin Oncol* 1988; 6:1076-1087.
 48. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17:1474-1481.
 49. Rhodes A, Jasani B, Balaton AJ, Barnes DM, Anderson E, Bobrow LG, Miller KD. Study of inter-laboratory reliability and reproducibility of estrogen and progesterone receptor assays in Europe. Documentation of poor reliability and identification of insufficient microwave antigen retrieval time as a major contributory element of unreliable assays. *Am J Clin Pathol* 2001; 115:44-58.
 50. Rhodes A, Jasani B, Balaton A, Miller K. Immunohistochemical demonstration of oestrogen and progesterone receptors: correlation of standards achieved on in house tumors with that achieved on external quality assessment material in over 150 laboratories from 26 countries. *J Clin Pathol* 2000; 53:292-301.
 51. Elias JM, Masood S. Estrogen receptor assay: are we all doing it the same way? A survey. *J Histotechnol* 1995; 18:95-96.
 52. Wirapati P, Sotiriou C, Kunkel S, Farmer P, Pradervand S, Haibe-Kains B, Desmedt C, Ignatiadis M, Sengstag T, Schutz F, Goldstein DR, Piccart M, DeIorenzi M. Meta-analysis of gene-expression profiles in breast cancer: toward a unified understanding of breast cancer sub-typing and prognosis signatures. *Breast Cancer Res* 2008; 10:R65.
 53. Hayes DF, Thor AD. c-erbB-2 in breast cancer: development of a clinically useful marker. *Semin Oncol* 2002; 29:231-245.
 54. Lenferink AE, Pinkas-Kramarski R, van de Poll ML, van Vugt MJ, Klapper LN, Tzahar E, Waterman H, Sela M, van Zoelen EJ, Yarden Y. Differential endocytotic routing of homo- and heterodimeric ErbB tyrosine kinases confer signaling superiority

- to receptor heterodimers. *EMBO J* 1998 ;17:3385–3397.
55. Stern DF. Tyrosine kinase signaling in breast cancer erbB family receptor tyrosine kinases. *Breast Cancer Rev* 2000; 2:176–183.
 56. Thor AD, Liu S, Edgerton S, Moore D 2nd, Kasowitz KM, Benz CC, Stern DF, DiGiovanna MP. Activation (tyrosine phosphorylation) of erbB-2 (HER-2/neu): a study of incidence and correlation with outcome in breast cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18:3230–3239.
 57. Press MF, Slamon DJ, Flom KJ, Park J, Zhou J-Y, Bernstein L. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *J Clin Oncol* 2002; 20:3095–3105.
 58. Andreasen PA, Kjoller L, Christensen L and Duffy MJ. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis. a review. *Int J Cancer* 1997; 72:1-22.
 59. Nykjaer A, Conese M, Christensen EI, Olson D, Cremona O, Gliemann J, Blasi F. Recycling of the urokinase receptor upon internalization of uPA: Serpin complexes. *EMBO J* 1997; 16:2610-2620.
 60. Foekens JA, Peters HA, Look MP, Portengen H, Schmitt M, Kramer MD, Brónner N, Jðnicke F, Meijer-van Gelder ME, Henzen-Logmans SC, van Putten WL, Klijn JG. The urokinase system of plasminogen activation and prognosis in 2780 breast cancer patients. *Cancer Res* 2000; 60:636-643.
 61. Janicke F, Prechtel A, Thomssen C, Harbeck N, Meisner C, Untch M, Sweep CG, Selbmann HK, Graeff H, Schmitt M; German N0 Study Group. Randomized adjuvant therapy trial in high-risk lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type-1. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:913-920.
 62. Look MP, van Putten WL, Duffy MJ, Harbeck N, Christensen IJ, Thomssen C, Kates R, Spyrtatos F, Fernö M, Eppenberger-Castori S, Sweep CG, Ulm K, Peyrat JP, Martin PM, Magdelenat H, Brónner N, Duggan C, Lisboa BW, Bendahl PO, Quillien V, Daver A, Ricolleau G, Meijer-van Gelder ME, Manders P, Fiets WE, Blankenstein MA, Brołt P, Romain S, Daxenbichler G, Windbichler G, Cufer T, Borstnar S, Kueng W, Beex LV, Klijn JG, O'Higgins N, Eppenberger U, Jðnicke F, Schmitt M, Foekens JA. Pooled analysis of prognostic impact of u-PA and PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94:116-128.
 63. Harbeck N, Thomssen C. [u-Plasminogen activator (urinary plasminogen activator, urokinase) (uPA) and its PA-1 type 1 inhibitor are not only prognostically but also predictively significant and support clinical decisions on therapy in primary carcinoma of the breast]. *Zentralbl Gynakol* 2003; 125:362-367.
 64. Gray R, Milligan K, Padmore L, on behalf of the aTTom trial steering committee. Tamoxifen: assessment of the balance of benefits and risks for long-term treatment. *Br J Cancer* 1997; 76 Suppl 1: 24.
 65. Davis C, Monaghan H, Peto R. Early breast cancer: how long should tamoxifen continue? *Eur J Cancer* 1998; 34 Suppl 5: S43.
 66. Cuzick J. Aromatase inhibitors in early breast-cancer treatment: The story so far. *Breast*. 2008; 17 Suppl 3: S2-8.
 67. Wheler J, Johnson M, Seidman A. Adjuvant therapy with aromatase inhibitors for postmenopausal women with early breast cancer: evidence and ongoing controversy. *Semin Oncol* 2006; 33:672-680.
 68. Howell A. The 'Arimidex', Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) Trial: a step forward in the treatment of early breast cancer. *Rev Recent Clin Trials* 2006;1:207-215.
 69. Perez EA, Josse RG, Pritchard KI, Ingle JN, Martino S, Findlay BP, Shenkier TN, Tozer RG, Palmer MJ, Shepherd LE, Liu S, Tu D, Goss PE. Effect of letrozole versus placebo on bone mineral density in women with primary breast cancer completing 5 or more years of adjuvant tamoxifen: a companion study to NCIC CTG MA.17. *J Clin Oncol* 2006; 24:3629-3635.
 70. Lønning PE, Geisler J, Krag LE, Erikstein B, Bremnes Y, Hagen AI, Schlichting E, Lien EA, Ofjord ES, Paolini J, Polli A, Massimini G. Effects of exemestane administered for 2 years versus placebo on bone mineral density, bone biomarkers, and plasma lipids in patients with surgically resected early breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23:5126-5137.
 71. Finn RS, Slamon DJ. Monoclonal antibody therapy for breast cancer: herceptin. *Cancer Chemother Biol Response Modif* 2003; 21:223-233.
 72. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, Slamon DJ, Murphy M, Novotny WF, Burchmore M, Shak S, Stewart SJ. First-line Herceptin monotherapy in metastatic breast cancer. *Oncology* 2001; 61 Suppl 2:37-42. Wapnir IL, Aebi S, Geyer CE, Zahrieh D, Gelber RD, Anderson SJ, Robidoux A, Bernhard J, Maibach R, Castiglione-Gertsch M, Coates AS, Piccart MJ, Clemons MJ, Costantino JP, Wolmark N; IBCSG; BIG; NSABP. A randomized clinical trial of adjuvant chemotherapy for radically resected lo-

- coregional relapse of breast cancer: IBCSG 27-02, BIG 1-02, and NSABP B-37. *Clin Breast Cancer* 2008; 8: 287-292.
73. Untch M, Gelber RD, Jackisch C, Procter M, Baselga J, Bell R, Cameron D, Bari M, Smith I, Leyland-Jones B, de Azambuja E, Wermuth P, Khasanov R, Feng-Yi F, Constantin C, Mayordomo JI, Su CH, Yu SY, Lluch A, Senkus-Konefka E, Price C, Haslbauer F, Suarez Sahui T, Srimuninnimit V, Colleoni M, Coates AS, Piccart-Gebhart MJ, Goldhirsch A; HERA Study Team. Estimating the magnitude of trastuzumab effects within patient subgroups in the HERA trial. *Ann Oncol* 2008; 19:1090-1096.
74. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE Jr, Davidson NE, Tan-Chiu E, Martino S, Paik S, Kaufman PA, Swain SM, Pisansky TM, Fehrenbacher L, Kutteh LA, Vogel VG, Visscher DW, Yothers G, Jenkins RB, Brown AM, Dakhil SR, Mamounas EP, Lingle WL, Klein PM, Ingle JN, Wolmark N. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:1673-1684.
75. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, Gianni L, Baselga J, Bell R, Jackisch C, Cameron D, Dowsett M, Barrios CH, Steger G, Huang CS, Andersson M, Inbar M, Lichinitser M, Løng I, Nitz U, Iwata H, Thomssen C, Lohrisch C, Suter TM, Röschoff J, Suto T, Gøtzsche V, Ward C, Straehle C, McFadden E, Dolci MS, Gelber RD; Herceptin Adjuvant (HERA) Trial Study Team. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:1659-1672.
76. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, Chan S, Romieu CG, Pienkowski T, Jagiello-Gruszfeld A, Crown J, Chan A, Kaufman B, Skarlos D, Campone M, Davidson N, Berger M, Oliva C, Rubin SD, Stein S, Cameron D: Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 355:2733-2743.
77. Burris HA 3rd, Hurwitz HI, Dees EC, Dowlati A, Blackwell KL, O'Neil B, Marcom PK, Ellis MJ, Overmoyer B, Jones SF, Harris JL, Smith DA, Koch KM, Stead A, Mangum S, Spector NL. Phase I safety, pharmacokinetics, and clinical activity study of lapatinib (GW572016), a reversible dual inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinases, in heavily pretreated patients with metastatic carcinomas. *J Clin Oncol* 2005; 23:5305-5313.
78. Cristofanilli M, Boussen H, Baselga J, Lluch A, Ben Ayed F, Friaha M, Ben Ahmed S, Hurley J, Johnston S, Kaufman B, Findlay M, Olopade O, Shannon C, Harris J, Stein S, Spector N: A phase II combination study of lapatinib and paclitaxel as a neoadjuvant therapy in patients with newly diagnosed inflammatory breast cancer (IBC). *Breast Cancer Res and Treat* 2006; 100:S5.
79. Miller K, Wang M, Gralow J, Dickler M, Cobleigh M, Perez EA, Shenkier T, Cella D, Davidson NE. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2007; 357:2666-2676.
80. Guix M, Granja Nde M, Meszoely I, Adkins TB, Wieman BM, Frierson KE, Sanchez V, Sanders ME, Grau AM, Mayer IA, Pestano G, Shyr Y, Muthuswamy S, Calvo B, Krontiras H, Krop IE, Kelley MC, Arteaga CL. Short Preoperative Treatment With Erlotinib Inhibits Tumor Cell Proliferation in Hormone Receptor-Positive Breast Cancers. *J Clin Oncol* 2008; 26:897-906
81. Burstein HJ, Elias AD, Rugo HS, Cobleigh MA, Wolff AC, Eisenberg PD, Lehman M, Adams BJ, Bello CL, DePrimo SE, Baum CM, Miller KD. Phase II study of sunitinib malate, an oral multitargeted tyrosine kinase inhibitor, in patients with metastatic breast cancer previously treated with an anthracycline and a taxane. *J Clin Oncol* 2008; 26:1810-1816.