



Princípios básicos da Oncologia Mamária de Precisão



Rafael Brant

Médico oncologista da Oncoclínicas & Co em Belo Horizonte (MG)



Pedro Ribeiro-Santos

Médico oncologista da Oncoclínicas & Co em Belo Horizonte (MG)



Angélica Nogueira-Rodrigues

Médica oncologista da Oncoclínicas & Co em Belo Horizonte (MG)



1. Introdução

Avanços científicos e tecnológicos vêm acontecendo de maneira acelerada na Oncologia Clínica e, conseqüentemente, a especialidade passa por uma revolução, sendo a Oncologia Mamária um dos propulsores desse cenário. Com o descobrimento de novos alvos terapêuticos e de novas moléculas direcionadas a eles e a alvos já conhecidos, além do aprimoramento e do desenvolvimento de técnicas mais refinadas para a detecção de novas alterações moleculares e um melhor entendimento da aplicação prática de marcadores preditivos de resposta, torna-se imperativo que o profissional envolvido na cadeia multidisciplinar da abordagem terapêutica do câncer de mama esteja familiarizado com os princípios básicos da Oncologia Mamária de Precisão.

Este capítulo tem como objetivo esclarecer as principais nuances biomoleculares envolvidas na tomada de decisão durante a abordagem ao paciente com câncer de mama, além de trazer perspectivas de tecnologias que podem ser incorporadas no nosso dia a dia, tornando o tratamento do câncer de mama mais preciso, individualizado, eficaz e seguro.

2. Conceitos clássicos em nova perspectiva

Subtipos histológicos

A Oncologia de Precisão começa com um diagnóstico histopatológico de qualidade, sendo este o primeiro passo para o planejamento terapêutico. Segundo dados do SEER¹, os subtipos invasivos SOE (sem outra especificação – antigo ductal invasivo), lobular invasivo e carcinomas mistos (invasivo SOE + lobular) compõem mais de 90% de todos os cânceres de mama.

O profissional deve estar ciente que a classificação histológica do câncer de mama traz implicações na apresentação, na história natural da doença, nos padrões de metastização e temporal de recidiva, nas mutações germinativas mais comumente envolvidas² e nas atribuições prognósticas e até preditivas (principalmente sensibilidade à quimioterapia).

O subtipo histológico deve ser considerado também na utilização de novas tecnologias e terapias para o câncer de mama, já que subtipos mais raros podem não ser adequadamente representados nos estudos clínicos. Por exemplo: em série retrospectiva com 57 pacientes com tumores de mama de subtipos histológicos especiais (incluídos mucinoso, tubular e papilar encapsulado e sólido)³, Turashvili *et al* não identificaram nenhuma paciente com OncoType DX de alto risco, sugerindo os autores que a utilização de assinatura genética para

determinação da terapia adjuvante nessa população pode ser desnecessária. No entanto, esse dado deve ser interpretado com cautela pelo limitado número de pacientes e subtipos incluídos.

Em estudo similar usando dados do SEER, confirmou-se significativa associação entre subtipos histológicos e categorias de risco: enquanto os subtipos medular e metaplásico apresentaram chance maior de alto risco no RS (*recurrence score*) comparado ao padrão ductal, os subtipos mucinoso, tubular, misto e carcinoma micropapilar apresentaram menor probabilidade de alto risco. No entanto, esse risco não foi nulo⁴.

Grau tumoral

A avaliação morfológica do grau de diferenciação celular dos tumores de mama foi estabelecida como conduta padrão após a publicação de artigo por Elston e Ellis em 1991, no qual foi proposta modificação do método de Nottingham e Tenovus e sua validação como um fator prognóstico independente⁵. O método consiste na avaliação de três características morfológicas: formação tubular, pleomorfismo nuclear e índice mitótico. Atribui-se pontuação de 1 a 3 para cada uma das características e o grau histológico final é obtido pelo somatório entre elas.

Além de importante fator prognóstico, o grau tumoral vem sendo utilizado em estratificação de risco visando a auxiliar na indicação de procedimentos e terapias. O estudo MINDACT⁶ utilizou o grau, em conjunto com tamanho tumoral e status linfonodal, para a estratificação de risco dos pacientes entre baixo e alto risco clínico, o que norteia a utilização do MammaPrint. Posteriormente, essa mesma classificação foi aplicada aos dados do TAILOR X⁷ para melhor interpretação dos resultados do OncoType DX em pacientes menores de 50 anos.

Publicado em 2020 no *Journal of Clinical Oncology* (JCO)⁸, o RSclin utiliza o tamanho tumoral, o grau tumoral e a idade da paciente para melhor refinar os resultados do OncoType DX. Análise retrospectiva da Northern Ontario School of Medicine, do Canadá⁹, sugere que a realização de assinaturas genéticas pode ser dispensada em pacientes na pós-menopausa, com axila pN0, com expressão de progesterona maior que 20% e graus 1 ou 2.

Mais recentemente, foi publicado o estudo MonarchE⁹, que introduziu o inibidor de ciclina abemaciclibe no tratamento adjuvante de pacientes com tumores receptores hormonais positivos e HER-2 negativo de alto risco, sendo que um dos critérios de inclusão usados foi o de tumores com grau 3 na presença de comprometimento linfonodal¹⁰.



Expressão de Ki-67

Ki-67 é uma proteína, produto proteico do gene MKI67, envolvida nas primeiras etapas da síntese de RNA, e está expressa no núcleo celular nas fases G1, S, G2 e M do ciclo celular, mas não na fase G0 (quiescência celular). A expressão de Ki-67 varia durante o ciclo celular, atingindo seu pico durante a mitose. Ela é detectada por exame de imuno-histoquímica e reportada pelo índice de Ki-67, que representa a porcentagem de células marcadas em uma determinada população celular, sendo utilizada para avaliação da proliferação¹¹.

A expressão de Ki-67 pode ter implicações prognósticas e preditivas, mas atualmente ela tem sido mais comumente utilizada na discriminação entre os subtipos luminal A e luminal B, naqueles tumores de mama RH positivo e HER-2 negativo e, conseqüentemente, para auxiliar na escolha entre quimioterapia e hormonioterapia isolada. O valor de corte para o Ki-67 é controverso na literatura, sendo que geralmente valores menores que 14% são aceitos como baixos e valores maiores que 25%, como altos¹¹.

Algumas ferramentas de estratificação de risco utilizam o Ki-67 na sua composição, como o PEPI score (abordado com mais detalhes adiante) e o OncoType DX, que utiliza o Ki-67 como um dos cinco genes relacionados à proliferação celular para a determinação do RS (ver capítulo sobre assinaturas genéticas). Além disso, recentemente, vários estudos vêm utilizando o Ki-67 como critério de inclusão e estratificação de suas populações. Por exemplo: novamente, o estudo MonarchE, que avaliou o uso de abemaciclibe adjuvante, também utilizou para definição de pacientes de alto risco o Ki-67 > 20% em pacientes com doença linfonodal¹².

O estudo LUMINA utilizou o valor menor que 13,25%, em conjunto com outros parâmetros, como critério de inclusão do estudo para a determinação de omissão de radioterapia adjuvante em pacientes com tumor luminal A de baixo risco, demonstrando baixo risco de recidiva locorregional no subgrupo de pacientes tratadas com endocrinoterapia isolada¹³.

Receptores hormonais

A determinação do status dos receptores hormonais (RH) é de fundamental importância na condução dos pacientes com câncer de mama. A expressão de RH está intimamente ligada com a história natural da doença. Tumores RH positivo tendem a apresentar recidivas mais tardiamente¹⁴ e para órgãos como ossos, tecidos moles e no trato reprodutivo¹⁵.

A expressão de RH tem valor prognóstico, com os seus níveis estando positivamente relacionados a desfechos de sobrevida e tempo para falha terapêutica,

além de seu papel preditivo de resposta à endocrinoterapia¹⁶. O receptor de estrogênio (RE) alfa foi o primeiro e mais importante alvo isolado no tratamento do câncer de mama nos últimos 30 anos, sendo que a expressão de receptores de progesterona (RP) parece ser um fator prognóstico independentemente da expressão de RE, com tumores RE positivo e RP negativo apresentando pior prognóstico¹⁷.

O Colégio Americano de Patologistas (CAP) preconiza que¹⁸:

1. Testes por imuno-histoquímica devem ser considerados positivos se apresentarem pelo menos 1% dos núcleos celulares corados com RE e/ou RP.
2. Resultados de RE entre 1% e 10% devem ser reportados como positivos baixos.
3. A utilidade da testagem de RP continua largamente prognóstica na população RE positivo.
4. Pacientes diagnosticados com CDIS devem ser testados para RE, sendo a testagem de RP opcional.

HER-2

HER-2 (ou ErbB2), produto proteico do gene HER-2, é uma glicoproteína transmembrana que pertence à família de receptores do fator de crescimento epidérmico humano (HER, EGFR e ERBB). A proteína HER-2 tem a capacidade de formar heterodímeros com HER-1, HER-3 ou HER-4 e homodímeros como outra proteína HER-2, quando seu nível de expressão é alto. A dimerização do HER-2 resulta na fosforilação da tirosina no domínio citoplasmático e inicia a sinalização das vias PI3K-AKT e Ras-Raf-MEK-MAPK, envolvidas em proliferação, migração, sobrevivência e diferenciação celular. A hiperexpressão ou amplificação de HER-2 causa aumento da proliferação celular e impulsiona tumorigênese na mama.

A determinação da hiperexpressão ou amplificação de HER-2 é feita na prática clínica por meio do exame imuno-histoquímico (IHC) e do FISH (hibridização *in situ* por fluorescência). Pelo IHC, tumores com expressão 0+ e 1+ eram classicamente classificados como negativos (veja esclarecimento a seguir sobre HER-2 *low*) e tumores com expressão 3+ são positivos. Aqueles com expressão 2+ são considerados inconclusivos, sendo necessária a realização do FISH para definição do status. Mais recentemente, o conceito HER-2 *low* foi introduzido, englobando tumores 1+ e 2+ com FISH negativo.



Cerca de 15% a 20% dos tumores de mama hiperexpressam HER-2, sendo um biomarcador prognóstico e preditivo. Enquanto os tumores tendem a ser mais agressivos, com maior grau histológico, maior índice de proliferação e maior potencial metastático, respondem muito bem à terapia anti-HER-2 (como detalhado em capítulo específico), sendo que o acesso adequado à terapia anti-HER-2 transforma o caráter prognóstico do biomarcador – pacientes HER-2 positivo com acesso adequado a drogas anti-HER-2 têm melhor prognóstico que pacientes HER-2 negativas¹⁹.

Cerca de 60% das pacientes com câncer de mama apresentam tumores HER-2 *low*. Os significativos benefícios derivados do uso do conjugado anticorpo–droga trastuzumabe–deruxtecano em pacientes com esse perfil levantaram a hipótese de ser esse um subtipo biologicamente distinto de câncer de mama. No entanto, em uma análise de uma coorte de 5.235 pacientes com HER-2 negativo, a maioria das diferenças clínico–patológicas entre os subgrupos HER-2 *low* e HER-2 zero foram associadas à expressão de receptores hormonais e a expressão de HER-2 baixo não apresentou impacto prognóstico quando ajustado por status de RH²⁰.

O conceito de HER-2 *ultra-low* foi introduzido com a apresentação do estudo Destiny-Breast 06 no congresso da American Society of Clinical Oncology (ASCO) de 2024. Nele, os autores definiram como HER-2 *ultra-low* aquele tumor com resultado de imuno–histoquímica que apresenta uma coloração fraca, incompleta da membrana em até 10% das células tumorais pelo anticorpo, status entre a ausência de coloração e o HER-2 1+, grupo que representa cerca de 20% a 25% dos tumores de mama²¹. Os resultados desse estudo são abordados em outro capítulo desta publicação.

TILs

Tumor infiltrating lymphocytes (TILs) são linfócitos presentes no estroma tumoral, diretamente associados à imunogenicidade. As células T correspondem a cerca de 75% desses linfócitos. Diversos estudos vêm mostrando que a presença de TILs indica um bom prognóstico, apesar de ainda não ser indicado para uso na prática clínica com esse objetivo²².

Além disso, os TILs parecem ter um valor preditivo de resposta à imunoterapia, especialmente para tumores triplo–negativo. Análises indicam que, além da expressão de PD–L1, a presença de TILs, de *tumor mutation burden* (TMB) e de macrófagos M1 são preditores de benefício com imunoterapia em tumores triplo–negativos. No entanto, apesar dos avanços, a ESMO Scale for Clinical Actionability of Molecular Targets (ESCAT) ainda não recomenda o uso do TILs na prática clínica para definir tratamentos²³.

Mutações germinativas

Certas mutações germinativas (ou seja, herdadas dos genitores) estão associadas à predisposição ao câncer de mama. Entre elas, as mais relevantes são as mutações nos genes BRCA-1 e BRCA-2, ligadas à síndrome do câncer de mama e ovário hereditários (SCMOH). No entanto, existe uma significativa sobreposição fenotípica entre a SCMOH e o câncer de mama causados por outros genes de alta penetrância, como TP53, PTEN, STK11 e CDH1, assim como PALB2 (re-classificado como um gene de alto risco), e genes de moderada penetrância, incluindo CHEK2, ATM, NF1, RAD51C, RAD51D and BRIP1.

BRCA-1 e BRCA-2 são genes supressores de tumor que codificam proteínas envolvidas no reparo de quebra de dupla-fita de DNA por meio da via de reparo de recombinação homóloga. Cerca de 5% das pacientes com câncer de mama possuem mutação germinativa em BRCA. Essas mutações são mais frequentemente encontradas em pacientes com histórico familiar de câncer de mama, mais jovens, com subtipo triplo-negativo ou pacientes de um grupo étnico da população judaica Ashkenazi. As mutações em BRCA-1 estão associadas mais frequentemente a câncer de mama triplo-negativo, enquanto mutação em BRCA-2 a tumores que expressam receptores de estrogênio²⁴.

Conhecer o status de BRCA é muito importante para o aconselhamento genético da paciente e de sua família. Além disso, a mutação de BRCA se tornou um alvo terapêutico, uma vez que os inibidores da enzima PARP têm eficácia terapêutica nessas pacientes. No estudo OlympiAD, em pacientes com câncer de mama metastático HER-2 negativo com mutação germinativa de BRCA, o tratamento com olaparibe isolado levou a uma redução de 42% no risco de progressão da doença (7 meses *versus* 4,2 meses) em relação à quimioterapia. Em seguida, o estudo EMBRACA demonstrou que o talazoparibe reduziu o risco de progressão da doença em 46% (8,6 meses *versus* 5,6 meses). Nenhum estudo, entretanto, mostrou uma vantagem de sobrevida global (SG) para o inibidor de PARP no contexto da doença metastática.

No cenário adjuvante, o estudo OlympiA avaliou o olaparibe em pacientes com câncer de mama inicial com mutação germinativa em BRCA e HER-2 negativo. As pacientes receberam quimioterapia neoadjuvante ou adjuvante, radioterapia (se necessária) e cirurgia, sendo então randomizadas para um ano de olaparibe ou placebo. A sobrevida livre de doença invasiva (SLDi) em três anos foi de 85,9% no grupo olaparibe e 77,1% no grupo placebo (HR: 0,58; $p < 0,001$) e a taxa de sobrevida livre de doença (SLD) em três anos foi de 87,5% e 80,4%, respectivamente (HR: 0,57; $p < 0,001$). Em atualização recente após seguimento mediano de 3,5 anos, foi demonstrado também ganho em SG, com HR de 0,68 (IC de 95%; 0,47-0,97; $p = 0,009$)²⁵⁻²⁷.



O valor preditivo de outras mutações germinativas envolvidas na via de recombinação homóloga ainda não está totalmente elucidado, mas é crescente o corpo de dados mostrando benefícios alinhados aos das mutações em BRCA, como no caso das mutações em PALB2.

Assinaturas genômicas

Recentemente, as assinaturas genômicas revolucionaram a prática clínica, passando a exercer um papel determinante na definição do benefício da quimioterapia adjuvante no câncer de mama inicial com RH positivo e HER-2 negativo. Além disso, elas podem ter utilidade na determinação daqueles pacientes que mais poderão se beneficiar da terapia endócrina estendida. Devido à relevância e à complexidade do tema, ele é tema de um capítulo específico neste livro.

3. Novos marcadores preditivos e novos alvos terapêuticos

Via PI3K-AKT-PTEN-mTOR

A via de sinalização PI3K-AKT-PTEN-mTOR desempenha um papel crítico na mediação do crescimento celular, da sobrevivência e da angiogênese. Mutações em componentes dessa via são frequentemente observadas em câncer de mama com RH positivo. Especificamente, mutações em PIK3CA, que codifica a isoforma alfa da subunidade catalítica de PI3K, são detectadas em mais de 40% dos tumores de mama com RH positivo²⁸. As alterações podem estar presentes no momento da recorrência do câncer e podem ser adquiridas por meio de tratamento prévio, inclusive com inibidores de CDK4/6²⁹.

O alpelisibe é um inibidor seletivo de PI3K que foi avaliado no estudo randomizado de fase III SOLAR-1. Nele, pacientes com doença avançada com RH positivo e HER-2 negativo e exposição prévia à terapia endócrina, independentemente do status de mutação em PIK3CA, foram randomizadas para receber alpelisibe associado ao fulvestranto *versus* placebo com fulvestranto. Nas pacientes com mutação em PIK3CA, a sobrevida livre de progressão (SLP) foi de 11 meses para terapia combinada, em comparação com 5,7 meses para placebo e fulvestranto (HR: 0,65; IC de 95%; 0,5-0,85; $p < 0,001$). Nas pacientes sem mutação, não houve diferença no desfecho. Em análise final de SG, nas pacientes com mutação em PIK3CA, a SG mediana foi de 39,3 meses para alpelisibe e fulvestranto, comparada a 31,4 meses para fulvestranto isolado (HR: 0,86; IC de 95%; 0,64-1,15; $p = 0,15$), não atingindo significância estatística³⁰.

O capivasertibe é um inibidor potente e seletivo de três isoformas AKT (pan-AKT), que demonstrou atuação sinérgica ao fulvestranto. O estudo de fase III CAPitello-291 avaliou a eficácia da adição de capivasertibe ao fulvestranto em pacientes com câncer de mama avançado com HR positivo e HER-2 negativo e resistentes a inibidores de aromatase. Na população em geral, a mediana de SLP foi de 7,2 meses no grupo capivasertibe-fulvestranto, em comparação com 3,6 meses no grupo placebo-fulvestranto (HR: 0,60; IC de 95%; 0,51-0,71; $p < 0,001$). Na população com mutação na via AKT, a SLP mediana foi de 7,3 meses no grupo capivasertibe-fulvestranto, em comparação com 3,1 meses no grupo placebo-fulvestranto (HR: 0,50; IC 95%; 0,38-0,65; $p < 0,001$)³¹.

A proteína-quinase *mammalian target of rapamycin* (mTOR), encontra-se distalmente a PI3K-AKT na via, sendo responsável por estímulo de crescimento celular³². O estudo BOLERO-2³³ mostrou benefício de 7 meses em SLP da adição de everolimus, um inibidor de mTOR análogo da rapamicina, ao exemestano em pacientes com câncer de mama metastático que progrediram ao inibidor de aromatase anastrozol.

ESR1

Um dos mecanismos de resistência endócrina é a mutação no gene ESR1, que codifica a proteína do receptor de estrogênio alfa (ER α). No cenário do câncer de mama metastático, quando o tumor adquire essa mutação, ele passa a ser resistente à terapia com inibidores da aromatase. Estudos sugerem que até 30% dos tumores de mama metastáticos com RE positivo podem ter mutações no gene ESR1^{34,35}. Nesse caso, os tumores respondem melhor a terapias com SERDs (degradadores seletivos do receptor de estrogênio), tais como fulvestranto ou elacestranto.

O estudo EMERALD é um ensaio multicêntrico, randomizado, aberto, controlado e de fase III que recrutou pacientes na pós-menopausa com câncer de mama metastático com RE positivo e HER-2 negativo que receberam uma ou duas linhas anteriores de terapia endócrina e tinham progredido na combinação com inibidores de CDK4/6. O status de mutação do ESR1 foi avaliado por meio de teste de ctDNA (DNA tumoral circulante) pela plataforma Guardant360 e limitado a mutações *missense* no domínio de ligante (localizado entre os códons 310 e 547)³⁶.

Nesse estudo, a SLP favoreceu o braço tratado com elacestranto na análise da população global (HR: 0,7; IC de 95%; 0,55-0,88; $p = 0,002$). Naquelas pacientes que apresentavam mutação em ESR1, o uso de elacestranto demonstrou um ganho ainda maior na SLP (HR: 0,55; IC de 95%; 0,39-0,77; $p = 0,0005$)³⁶.



PD-L1

O PD-1 (*programmed cell death 1*), um *immune checkpoint*, é uma proteína transmembrana encontrada nos linfócitos T que, quando ativada pelo PD-L1 (*programmed cell death ligand 1*), atua inibindo a resposta imune. A hiperexpressão de PD-L1 é um mecanismo de resistência ao sistema imune encontrada em diversos tipos de neoplasias, inclusive no câncer de mama, particularmente nos tumores triplo-negativos. Imunoterápicos como o pembrolizumabe (anti-PD-1) e o atezolizumabe (anti-PD-L1) atuam inibindo essa ativação.

Diversos estudos têm mostrado que o PD-L1 é um marcador prognóstico e preditivo de resposta à quimioterapia, em especial à imunoterapia. No cenário de doença inicial o KEYNOTE-522 demonstrou benefício da adição de pembrolizumabe à quimioterapia no cenário neoadjuvante, com aumento das taxas de resposta patológica completa vista em todos os pacientes e mais evidente naqueles tumores PD-L1 positivos³⁷. No cenário da doença metastática, os estudos IMpassion 130 e KEYNOTE-355 demonstraram que o uso de quimioterapia associado a atezolizumabe e pembrolizumabe, respectivamente, em primeira linha trouxe ganho de SG para pacientes com PD-L1 positivo.

Vale ressaltar que a verificação da expressão de PD-L1 é feita por imuno-histoquímica usando técnicas diferentes. Nos estudos KEYNOTE, o anticorpo utilizado é o Dako 22C3 usando CPS (*combined positive score*), sendo necessário PD-L1 CPS > 10 para o benefício clínico em doença avançada. O IMpassion usou o anticorpo SP142, considerando positivo aqueles tumores com expressão maior ou igual a 1%^{38,39}.

TMB

TMB (*tumor mutational burden*) é a carga de mutações somáticas encontrada no genoma do tumor. O TMB demonstra se associar à imunogenicidade tumoral, pois, quanto mais mutações, mais neoantígenos são apresentados pelo tumor. Sendo assim, o TMB surge como um possível biomarcador para imunoterapia.

O sequenciamento do exoma inteiro (*whole exome sequentiation* – WES) é o padrão-ouro para determinar o TMB, mas é de muito alto custo e demorado na prática clínica. Estudos recentes demonstraram que o sequenciamento por NGS com um painel relativamente grande pode determinar os níveis de TMB com a mesma precisão.

Os níveis de TMB variam significativamente entre os diferentes tumores. No caso do câncer de mama, a frequência de TMB alto (dez ou mais mutações/Mb) é relativamente baixa, inclusive entre os triplo-negativos. Mais estudos sobre a utilidade do TMB para selecionar pacientes com câncer de mama para a imunoterapia são necessários⁴⁰.

HER-3

O HER-3, assim como o HER-1, o HER-2 e o HER-4, é um membro da família dos receptores do fator de crescimento epidérmico humano (EGFR). Diferentemente do HER-2, o HER-3 tem pouca atividade de tirosina-quinase intrínseca e não consegue formar homodímeros, sendo necessária a ligação ao HER-2 ou outros receptores para ativar a sinalização oncogênica, especialmente a via PI3K-/AKT e a SRC quinase. A expressão de HER-3 em câncer de mama é variável de acordo com os subtipos moleculares, sendo mais importante nos subtipos luminais. No estudo SOLT1 TOT HER-3, a proporção de tumores HER-3 hiperexpressos dentro de cada subtipo de IHC variou de 4% em TNBC a 36% em RH positivo e HER-2 negativo⁴¹.

Já está bem estabelecido que a expressão aumentada de HER-3 está associada a uma pior sobrevida em pacientes com câncer de mama. Além disso, estudos indicam a expressão de HER-3 como uma das principais causas de falha do tratamento na terapia do câncer. Por esses motivos, a inativação do HER-3 e sua sinalização se tornaram uma promissora arma terapêutica. Diversas drogas estão em desenvolvimento e sendo avaliadas por estudos clínicos, como patritumabe, seribantumabe e lunretuzumabe, entre outros⁴².

Mismatch repair deficiency (dMMR) e instabilidade de microssatélites (MSI)

A deficiência de *mismatch repair* (dMMR) é causada por mutações em certos genes que estão envolvidos na correção de erros cometidos quando o DNA é transcrito. O número de bases repetidas de DNA em um microssatélite (uma sequência curta e repetida de DNA) é diferente do que era quando o microssatélite foi herdado. Quanto mais frequentes os erros, maior a instabilidade de microssatélite (MSI *high*)⁴⁰. A dMMR é mais comum em câncer colorretal, em outros tipos de cânceres gastrointestinais e em câncer de endométrio, mas também pode ser encontrada em cânceres de mama. A mutação germinativa em genes de reparos do DNA por MMR e consequente dMMR é o marco biomolecular da síndrome de Lynch.

O Food and Drug Administration (FDA) aprovou, em indicação agnóstica, a terapia anti-PD-1 (pembrolizumabe) para tumores sólidos com dMMR ou instabilidade de microssatélites alta (MSI-h). O status de reparo de incompatibilidade pode ser examinado usando imuno-histoquímica para proteínas de reparo de incompatibilidade (MLH1, PMS2, MSH2 e MSH6) ou PCR ou sequenciamento para MSI. A frequência extremamente baixa de MMR-d ou MSI-h em câncer de mama, incluindo triplo-negativos, argumenta contra a implementação rotineira de testes de MMR ou MSI para selecionar pacientes com câncer de mama para imunoterapia⁴⁰.



NTRK

Fusões são as principais alterações moleculares envolvendo os genes NTRK⁴³ e estão entre as primeiras translocações gênicas descritas no câncer³⁴. Esses rearranjos estruturais resultam em uma oncoproteína TRK de fusão que leva à superexpressão do domínio quinase ou a uma atividade constitutiva da função quinase, ambas as quais impulsionam uma reação em cascata ininterrupta, com transformação oncogênica e crescimento tumoral⁴⁴.

Essas alterações são extremamente raras em tumores mamários, presentes em apenas 0,13% dos casos⁴⁵. Para os pacientes que apresentem fusões nos genes NTRK, os inibidores de TRK larotrectinibe e entrectinibe podem ser uma opção terapêutica^{46,47}.

4. Doença residual como fator na tomada de decisão

A avaliação de resposta patológica após a terapia neoadjuvante é fundamental na tomada de decisão sobre o tratamento adjuvante, seja na troca do agente quimioterápico na população triplo-negativa, na indicação de inibidores de PARP na população com BRCA mutado, na troca do bloqueio anti-HER-2 na população HER-2 enriquecido ou na indicação de quimioterapia após endocrinoterapia neoadjuvante.

Além disso, Cortazar *et al* demonstraram, em artigo publicado no *Lancet* em 2014, o valor prognóstico da resposta patológica completa (RPC), principalmente nas populações triplo-negativa e HER-2 enriquecido⁴⁸. A seguir, discutiremos sobre algumas ferramentas que podem auxiliar na avaliação de resposta à terapia neoadjuvante do câncer de mama.

Residual cancer burden index

Desenvolvido por patologistas do MD Anderson, o Residual Cancer Burden Index (ou RCB) é uma ferramenta extremamente útil na quantificação de doença residual após quimioterapia neoadjuvante. O cálculo é feito com base em quatro variáveis, duas sobre o tumor primário e duas sobre os linfonodos axilares: (a) dimensões do leito tumoral primário; (b) fração de celularidade do câncer invasivo; (c) tamanho da maior metástase linfonodal; e (d) número de linfonodos axilares acometidos⁴⁹.

O RCB é calculado como uma variável contínua, sendo dividido em quatro classes que auxiliam na interpretação clínica do resultado: RCB 0 (0 ou RPC); RCB 1 ($\geq 0-1,36$); RCB 2 (1,37-3,28); RCB 3 ($> 3,28$). Essa estratificação possui valor

prognóstico independente em todos os subtipos moleculares de câncer de mama⁵⁰. Uma determinação acurada da resposta patológica pode ter impacto na determinação de quais pacientes podem mais se beneficiar da imunoterapia adjuvante, já que dados do estudo KEYNOTE-522, citado acima, sugerem que grande parte do benefício da incorporação de pembrolizumabe no tratamento neoadjuvante das pacientes com câncer de mama triplo-negativo se deu naquelas que não apresentaram RPC³⁷.

PEPI score

A endocrinoterapia neoadjuvante (NET) é ainda tópico controverso na Oncologia Mamária. A avaliação de resposta e determinação de qual é a melhor terapia no cenário adjuvante são pontos bastante desafiadores quando lançamos mão dessa modalidade terapêutica. Ferramentas como o Preoperative Endocrine Prognostic Index (PEPI) score pode ser útil na elucidação dessas questões.

O PEPI score pontua o nível de resposta à NET no espécimen cirúrgico utilizando quatro variáveis: (a) tamanho do tumor primário; (b) status linfonodal; (c) níveis de Ki-67; e (d) status de RE (de acordo com o Allred score). A pontuação obtida é utilizada para estratificação em três grupos de risco (0, 1-3 e ≥ 4), que estão associados a um risco de recorrência de 10%, 23% e 48% e de mortalidade por câncer de mama de 2%, 11% e 17%, respectivamente⁵¹. O estudo Z1031 sugere que pacientes com PEPI score igual a 0 podem ser poupadas de quimioterapia adjuvante⁵².

Doença residual mínima (ctDNA e células tumorais circulantes)

A avaliação de DNA tumoral circulante (ctDNA) e de células tumorais circulantes (CTCs) coletadas por biópsia líquida após tratamento neoadjuvante e cirurgia pode determinar a presença de doença residual mínima e avaliar risco de recidiva⁵³. Em um estudo retrospectivo com 20 pacientes com câncer de mama com seguimento longo, foi usada uma abordagem combinada de sequenciamento de genoma do tumor primário e quantificação de rearranjos tumor-específicos no plasma.

Os autores reportaram que, nessa pequena coorte, o monitoramento pós-operatório de ctDNA foi capaz de determinar com precisão as pacientes que evoluíram com doença metastática (sensibilidade de 93% e especificidade de 100%). Estudos prospectivos em andamento avaliam o impacto de intervenções medicamentosas em pacientes com ctDNA. Assim, a avaliação de doença residual mínima pela presença de CTCs e ctDNA por biópsia líquida pode vir a ser um direcionador à intensificação terapêutica em um futuro próximo⁵⁴.



5. Perspectivas

CTS5

O Clinical Treatment Score Post 5 Years (CTS5) é uma ferramenta simples que utiliza informações facilmente disponíveis para o médico assistente. As variáveis de idade ao início da endocrinoterapia, tamanho do tumor primário, status linfonodal (cinco grupos: 0, negativo; 1, um linfonodo positivo; 2, dois a três linfonodos positivos; 3, quatro a nove linfonodos positivos; e 4, nove ou mais linfonodos positivos) e grau tumoral (três grupos: 1, baixo; 2, intermediário; e 3, alto) são inseridas em uma fórmula matemática. O resultado obtido estratifica os pacientes em três grupos de acordo com o risco de recorrência à distância em cinco a dez anos, definidos como: < 5%, baixo risco; 5% a 10%, risco intermediário; e > 10%, risco alto⁵⁵.

Em um estudo de validação⁵⁵, o algoritmo CTS5 foi capaz de identificar 42% de mulheres com menos de 1% de risco anual de recorrência e que deveriam ser aconselhadas sobre o limitado valor potencial da endocrinoterapia estendida.

Painéis multigenes

Com o desenvolvimento de novas técnicas de processamento de DNA e RNA, como o NGS (*next generation sequencing*), os painéis multigenes estão cada vez mais acessíveis e abrangentes e têm sido usados em larga escala na prática clínica, apesar do seu benefício clínico ainda não estar estabelecido na literatura médica.

Estudo retrospectivo publicado no *JCO Precision Oncology* em 2021⁵⁶ mostrou um aumento substancial do número de testes pedidos e da quantidade de médicos utilizando a técnica, especialmente para tumores triplo-negativos, que formaram 22,3% da população testada, mas são apenas 12,2% da população americana com câncer de mama. Os dados de mundo real mostram que os testes revelam alterações acionáveis nos genes ESR1, PIK3CA, AKT, BRCA-1, BRCA-2 e outros.

Mutações gênicas são mais frequentemente detectadas em testes usando plasma, enquanto amplificações gênicas são mais frequentemente detectadas em testes usando tecido. Além disso, testes que usam plasma são particularmente úteis no monitoramento do status de mutações de resistência. Estudos como o SOLAR-1, CAPitello-291, EMERALD, OlympiA e OlympiAD citados acima mostram como a utilização desses painéis já está sendo incorporado à prática clínica^{25,26,30,31,36}.

A definição do valor preditivo de mutações somática em BRCA é ainda uma necessidade em aberto, assim como o de mutações em outros genes envolvidos

no reparo do DNA por mecanismo de recombinação homóloga e de testes de instabilidade genômica.

Biópsia líquida no diagnóstico e determinação de alvos terapêuticos

Biópsia líquida é a obtenção de materiais derivados de tumores, como DNA tumoral, RNA ou células tumorais intactas, por meio da coleta de fluidos corporais como sangue, urina, saliva, fezes ou líquido cefalorraquidiano. Por ser uma modalidade menos invasiva, se torna uma opção muito interessante para determinadas situações⁵⁴. Os potenciais usos da biópsia líquida no câncer de mama abrangem todo o curso da doença, desde o diagnóstico até o tratamento e seleção de alvos terapêuticos, passando também pela avaliação de doença residual mínima, como citado anteriormente.

Para o diagnóstico, os níveis de células tumorais circulantes (CTCs) e de DNA livre circulante (ctDNA) demonstraram ser capazes de diferenciar pacientes com câncer de mama avançado e metastático de indivíduos saudáveis, mas ainda não são capazes de identificar pacientes com doença em estágio inicial ou mesmo carcinoma *in situ*.

De forma ainda mais promissora, a biópsia líquida pode ser usada para monitorar a resposta a diferentes regimes terapêuticos e fornecer uma estimativa do risco de progressão. Estudos indicam que CTCs e ctDNA são capazes de prever a progressão da doença meses antes das manifestações de imagem. Podem também determinar se um paciente tem doença residual mínima após completar quimioterapia ou cirurgia neoadjuvante. Além disso, o sequenciamento do ctDNA também pode auxiliar na determinação do tratamento subsequente, considerando que perfil molecular do ctDNA reflete mais fidedignamente a doença recidivante ou metastática do que o tumor primário, evitando biópsias do tumor potencialmente mórbitas⁵⁴.

Inteligência artificial e *deep learning*

O uso da inteligência artificial tem sido cada dia mais explorado no cenário da Oncologia Mamária, em especial no diagnóstico por imagem e na patologia. Como exemplo, modelos de aprendizagem profunda (*deep learning*) baseados em um banco de dados de dezenas de milhares de mamografias, conseguem criar padrões de alterações precursoras de lesões malignas, podendo prever o surgimento de um câncer com até cinco anos de antecedência⁵⁷.

Da mesma maneira, usando o *deep learning*, modelos conseguem avaliar um exame de anatomia patológica simples corado com H/E e podem prever a positividade de receptores hormonais, HER-2 e até mesmo o risco de recidiva baseado em assinaturas genéticas. Ainda sem validação clínica, seu uso na prática ainda não é rotina⁵⁸⁻⁶⁰.



6. Conclusão

O câncer de mama é uma doença heterogênea que, apesar de ter inaugurado a Medicina de Precisão na Oncologia com o uso da hormonioterapia e ter galgado significativos avanços nas últimas décadas, segue com sua classificação em dinâmica e célere transformação. A despeito de significativo progresso em novas terapias para a doença RH e HER-2 positivas, a caracterização da heterogeneidade molecular e a limitação de alvos na doença triplo-negativa seguem sendo desafios. Os modelos dicotômicos de presença *versus* ausência de um determinado biomarcador vêm sendo substituídos pela sua valorização como variáveis contínuas, exemplo recente da introdução do conceito HER-2 *low* e a presença de múltiplos biomarcadores tem sido valorizada para a construção de *composite biomarkers*, principal aposta à melhor seleção de pacientes para a imunoterapia.

A definição do valor preditivo de mutações somáticas em BRCA é ainda uma necessidade em aberto, assim como o de mutações em outros genes, além do BRCA, envolvidos no reparo do DNA por mecanismo de recombinação homóloga e de testes de instabilidade genômica. Com o crescente acesso à pesquisa de ctDNA e células tumorais circulantes, resultados de estudos clínicos para definir seu valor preditivo são bastante esperados. Contudo, apesar das lacunas nesse modelo dinâmico, a Medicina de Precisão é uma realidade na prevenção, no diagnóstico e no tratamento do câncer de mama, sendo um conhecimento essencial aos profissionais envolvidos com seu cuidado.

Referências

1. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. *Br J Cancer*. 2005;93(9):1046-52.
2. Yadav S, Hu C, Nathanson KL et al. Germline pathogenic variants in cancer predisposition genes among women with invasive lobular carcinoma of the breast. *J Clin Oncol*. 2021;39(35):3918-26.
3. Turashvili G, Brogi E, Morrow M et al. The 21-gene recurrence score in special histologic subtypes of breast cancer with favorable prognosis. *Breast Cancer Res Treat*. 2017;165(1):65-76.
4. Gulbahce HE, Downs-Kelly E, Herget KA et al. The 21-gene recurrence score in special histologic subtypes of breast cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2022;146(4):478-84.
5. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403-10.
6. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J et al; MINDACT Investigators. 70-gene signature as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(8):717-29.
7. Sparano JA, Gray RJ, Ravdin PM et al. Clinical and genomic risk to guide the use of adjuvant therapy for breast cancer. *N Engl J Med*. 2019;380(25):2395-405.
8. Sparano JA, Crager MR, Tang G et al. Development and validation of a tool integrating the 21-gene recurrence score and clinical-pathological features to individualize prognosis and prediction of chemotherapy benefit in early breast cancer. *J Clin Oncol*. 2021;39(6):557-64.
9. Thibodeau S, Voutsadakis IA. Prediction of OncoType Dx recurrence score using clinical parameters: a comparison of available tools and a simple predictor based on grade and progesterone receptor. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2019;12(2):89-96.

10. Johnston SRD, Harbeck N, Hegg R et al; MonarchE Committee Members and Investigators. Abemaciclib combined with endocrine therapy for the adjuvant treatment of HR+, HER2-, node-positive, high-risk, early breast cancer (MonarchE). *J Clin Oncol*. 2020;38(34):3987-98.
11. Penault-Llorca F, Radošević-Robin N. Ki67 assessment in breast cancer: an update. *Pathology*. 2017;49(2):166-71.
12. Harbeck N, Rastogi P, Martin M et al; MonarchE Committee Members. Adjuvant abemaciclib combined with endocrine therapy for high-risk early breast cancer: updated efficacy and Ki-67 analysis from the MonarchE study. *Ann Oncol*. 2021;32(12):1571-81.
13. Whelan TJ, Smith S, Parpia S et al; LUMINA Study Investigators. Omitting radiotherapy after breast-conserving surgery in luminal A breast cancer. *N Engl J Med*. 2023;389(7):612-9.
14. Colleoni M, Sun Z, Price KN et al. Annual hazard rates of recurrence for breast cancer during 24 years of follow-up: results from the International Breast Cancer study group trials I to V. *J Clin Oncol*. 2016;34(9):927-35.
15. Insa A, Lluch A, Prosper F et al. Prognostic factors predicting survival from first recurrence in patients with metastatic breast cancer: analysis of 439 patients. *Breast Cancer Res Treat*. 1999;56(1):67-78.
16. Bartlett JM, Brookes CL, Robson T et al. Estrogen receptor and progesterone receptor as predictive biomarkers of response to endocrine therapy: a prospectively powered pathology study in the Tamoxifen and Exemestane Adjuvant Multinational trial. *J Clin Oncol*. 2011;29(12):1531-8.
17. Purdie CA, Quinlan P, Jordan LB et al. Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study. *Br J Cancer*. 2014;110(3):565-72.
18. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M et al. Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists guideline update. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;144(5):545-63.
19. Dawood S, Broglio K, Buzdar AU et al. Prognosis of women with metastatic breast cancer by HER-2 status and trastuzumab treatment: an institutional-based review. *J Clin Oncol*. 2010;28(1):92-8.
20. Tarantino P, Jin Q, Tayob N et al. Prognostic and biologic significance of ERBB2-low expression in early-stage breast cancer. *JAMA Oncol*. 2022;8(8):1177-83.
21. Curigiano G, Hu X, Dent RA et al. Trastuzumab deruxtecan (T-DXd) vs physician's choice of chemotherapy (TPC) in patients (pts) with hormone receptor-positive (HR+), human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-low or HER2-ultralow metastatic breast cancer (mBC) with prior endocrine therapy (ET): primary results from DESTINY-Breast06 (DB-06). *J Clin Oncol*. 2024;42(suppl.17):LBA1000.
22. Zgura A, Galesa L, Bratila E et al. Relationship between tumor infiltrating lymphocytes and progression in breast cancer. *Maedica (Bucur)*. 2018;13(4):317-20.
23. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol*. 2018;29(9):1895-902.
24. Yadav S, Couch FJ. Germline genetic testing for breast cancer risk: the past, present, and future. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2019;39:61-74.
25. Robson ME. PARP inhibitor update. 2022 Miami Breast Cancer Conference. Presented on March 4th, 2022.
26. Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation. *N Engl J Med*. 2017;377(17):1700.
27. Tutt ANJ, Garber J, Gelber RD et al. Pre-specified event driven analysis of Overall Survival (OS) in the OlympiA phase III trial of adjuvant olaparib (OL) in germline BRCA1/2 mutation (gBRCAm) associated breast cancer. *Ann Oncol*. 2022;33(5):P566-P568.
28. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012;490(7418):61-70.
29. Wander SA, Cohen O, Gong X et al. The genomic landscape of intrinsic and acquired resistance to cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitors in patients with hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *Cancer Discov*. 2020;10(8):1174-93.
30. André F, Ciruelos E, Rubovszky G et al; SOLAR-1 Study Group. Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2019;380(20):1929-40.
31. Turner NC, Oliveira M, Howell SJ et al; CAPItello-291 Study Group. Capivasertib in hormone receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2023;388(22):2058-70.



32. Miricescu D, Totan A, Stanescu-Spinu II et al. PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in breast cancer: from molecular landscape to clinical aspects. *Int J Mol Sci.* 2020;22(1):173.
33. Baselga J, Campone M, Piccart M et al. Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(6):520-9.
34. Fribbens C, O'Leary B, Kilburn L et al. Plasma ESR1 mutations and the treatment of estrogen receptor-positive advanced breast cancer. *J Clin Oncol.* 2016;34(25):2961-8.
35. Chandarlapaty S, Chen D, He W et al. Prevalence of ESR1 mutations in cell-free DNA and outcomes in metastatic breast cancer: a secondary analysis of the BOLERO-2 clinical trial. *JAMA Oncol.* 2016;2(10):1310-5.
36. Bidard FC, Kaklamani VG, Neven P et al. Elacestrant (oral selective estrogen receptor degrader) versus standard endocrine therapy for estrogen receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative advanced breast cancer: results from the randomized phase III EMERALD trial. *J Clin Oncol.* 2022;40(28):3246-56.
37. Schmid P, Cortes J, Pusztai L et al; KEYNOTE-522 Investigators. Pembrolizumab for early triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2020;382(9):810-21.
38. Cortes J, Cescon DW, Rugo HS et al; KEYNOTE-355 Investigators. Pembrolizumab plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy for previously untreated locally recurrent inoperable or metastatic triple-negative breast cancer (KEYNOTE-355): a randomised, placebo-controlled, double-blind, phase 3 clinical trial. *Lancet.* 2020;396(10265):1817-28.
39. Schmid P, Rugo HS, Adams S et al; IMpassion130 Investigators. Atezolizumab plus nab-paclitaxel as first-line treatment for unresectable, locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (IMpassion130): updated efficacy results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2020;21(1):44-59.
40. Hou Y, Peng Y, Li Z. Update on prognostic and predictive biomarkers of breast cancer. *Semin Diagn Pathol.* 2022;S0740-2570(22)00053-3.
41. Mishra R, Patel H, Alanazi S et al. HER-3 signaling and targeted therapy in cancer. *Oncol Rev.* 2018;12(1):355.
42. Lyu H, Han A, Polsdofer E et al. Understanding the biology of HER-3 receptor as a therapeutic target in human cancer. *Acta Pharm Sin B.* 2018;8(4):503-10.
43. Vaishnavi A, Le AT, Doebele RC. TRKing down an old oncogene in a new era of targeted therapy. *Cancer Discov.* 2015;5(1):25-34.
44. Pulciani S, Santos E, Lauver AV et al. Oncogenes in solid human tumours. *Nature.* 1982;300(5892):539-42.
45. Solomon JP, Linkov I, Rosado A et al. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Mod Pathol.* 2020;33(1):38-46.
46. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med.* 2018;378(8):731-9.
47. Demetri GD, De Braud F, Drilon A et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in patients with NTRK fusion-positive solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2022;28(7):1302-12.
48. Cortazar P, Zhang L, Untch M et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet.* 2014;384(9938):164-72.
49. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2007;25(28):4414-22.
50. Yau C, Osdoit M, van der Noordaa M et al. Residual cancer burden after neoadjuvant chemotherapy and long-term survival outcomes in breast cancer: a multicentre pooled analysis of 5,161 patients. *Lancet Oncol.* 2022;23(1):149-60.
51. Ellis MJ, Tao Y, Luo J et al. Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100(19):1380-8.
52. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J et al. Ki67 proliferation index as a tool for chemotherapy decisions during and after neoadjuvant aromatase inhibitor treatment of breast cancer: results from the American College of Surgeons Oncology Group Z1031 Trial (Alliance). *J Clin Oncol.* 2017;35(10):1061-9.
53. Olsson E, Winter C, George A et al. Serial monitoring of circulating tumor DNA in patients with primary breast cancer for detection of occult metastatic disease. *EMBO Mol Med.* 2015;7(8):1034-47.

54. Tay TKY, Tan PH. Liquid biopsy in breast cancer: a focused review. *Arch Pathol Lab Med*. 2021;145(6):678–86.
55. Dowsett M, Sestak I, Regan MM et al. Integration of clinical variables for the prediction of late distant recurrence in patients with estrogen receptor-positive breast cancer treated with 5 years of endocrine therapy: CTS5. *J Clin Oncol*. 2018;36(19):1941–8.
56. Sturgill EG, Misch A, Lachs R et al. Next-generation sequencing of patients with breast cancer in community Oncology clinics. *JCO Precis Oncol*. 2021;5:1297–311.
57. Yala A, Mikhael PG, Strand F et al. Toward robust mammography-based models for breast cancer risk. *Sci Transl Med*. 2021;13(578):eaba4373.
58. Yala A, Lehman C, Schuster T et al. A deep learning mammography-based model for improved breast cancer risk prediction. *Radiology*. 2019;292(1):60–6.
59. Shah SM, Khan RA, Arif S et al. Artificial intelligence for breast cancer analysis: trends & directions. *Comput Biol Med*. 2022;142:105221.
60. Echle A, Rindtorff NT, Brinker TJ et al. Deep learning in cancer pathology: a new generation of clinical biomarkers. *Br J Cancer*. 2021;124(4):686–96.