

Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Buenos Aires, Hospital de Morón, Provincia de Buenos Aires, Sanatorio de la Trinidad, Buenos Aires, Argentina

Resumen

La vía PI3K es de gran importancia para diversas funciones celulares, incluyendo el metabolismo celular y la proliferación, diferenciación y supervivencia. Después de p53, esta ruta es considerada como la más afectada por alteraciones genéticas en comparación con cualquier otra vía en cáncer. La identificación de alteraciones genómicas y de su frecuencia en los diferentes subtipos de cáncer de mama puede tener un importante valor terapéutico. Este es un estudio retrospectivo multicéntrico de pacientes con cáncer de mama estadio I-IV del CEMIC, Hospital de Morón y Sanatorio de la Trinidad, cuyo objetivo fue determinar el estatus mutacional de PIK3CA y valorar su asociación con variables clínico-patológicas. Fueron incluidos en total 202 pacientes, estadio I 38%, II 41%, III 19% y IV 2%. Al determinar su fenotipo por inmunohistoquímica, 72% eran luminales, 14% HER2+ y 14% triple negativo. Se detectaron 67 mutaciones, definiendo una prevalencia del 33%. Las mutaciones más frecuentemente expresadas fueron la H1047R en 19% y E542K 15%. Se observó una menor tasa de mutación en los pacientes con tumores HER2+ ($p=0.04$). El advenimiento de los inhibidores de PIK3CA y su llegada a la práctica clínica para el tratamiento del cáncer de mama genera la necesidad de conocer con detalle esta población a nivel clínico y molecular para así poder tratarla adecuadamente y de manera personalizada.

Palabras clave: cáncer de mama, PIK3CA, perfil molecular

Abstract

The PI3K signaling pathway is extremely important in multiple cellular functions, including metabolism, proliferation and survival. It is considered as one of the most affected genetic pathways after p53 in all types of cancer. The identification of genomic alterations and its frequency in different breast cancer subtypes could have an important therapeutic role. This is a retrospective multicentric study with breast cancer patients, stage I-IV from 3 hospitals from Argentina (CEMIC, Hospital de Morón and Sanatorio de la Trinidad) aiming to determine PIK3CA mutational status and its relation with clinic-pathological variables. Two hundred and two patients were included, Stage I 38%, II 41%, III 19% and IV 2%. Phenotypically, 72% were considered luminal, 14% HER2+ and 14% triple negative. We detected 67 mutations with a prevalence of 33%. The most frequent mutations were H1047R in 19% and E542K 15% of the mutated samples. A lower mutation prevalence was observed in HER2+ tumors ($p=0.04$). The advent of PI3K inhibitors and its present use in clinical practice generate the need of knowing thoroughly this population and its molecular characteristics in order to treat them adequately and in a personalized manner.

Key words: breast cancer, PIK3CA, molecular profile

Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

Introducción

El cáncer de mama es la neoplasia más frecuente en las mujeres en Argentina¹, siendo una enfermedad genéticamente heterogénea. La transformación de las células epiteliales mamarias en células neoplásicas, comprende un proceso de múltiples pasos con alteraciones en las vías de señalización que le otorgan beneficios, tanto a nivel supervivencia, como en el crecimiento de las células malignas².

La vía PI3K es de gran importancia para diversas funciones celulares, incluyendo el metabolismo celular y la proliferación, diferenciación y supervivencia. Otra evidencia clara de la importancia de esta ruta es la alta frecuencia con la que esta ruta es hiperactivada en cáncer y los múltiples sitios donde esto ocurre^{3,4}. Después de p53, esta ruta es considerada como la más afectada por alteraciones genéticas en comparación con cualquier otra vía en cáncer⁵. El papel de las proteínas PI3Ks en la oncogénesis ha sido validada por varios estudios que muestran que las aberraciones en esta ruta son causas potenciales de transformación de las células y, más importante, que la inhibición de la vía PI3K produce regresión del tumor⁶⁻⁸.

La red de señalización de PI3K es conocida por ser afectada en diferentes niveles en el cáncer de mama humano^{9,10}. Diferentes estudios sugieren que alteraciones moleculares, en los tumores de mama, varían desde un 25% en algunas series hasta un 50%. La identificación de alteraciones genómicas y de su frecuencia en los diferentes subtipos de cáncer de mama puede tener un importante valor terapéutico¹². En la actualidad existen numerosos ensayos clínicos, ya sea como monoterapia o en combinaciones, que inhiben las vías de señalización del PI3K.

El objetivo del presente estudio fue determinar el estatus mutacional de PIK3CA en un grupo de pacientes con cáncer de mama de la población argentina y valorar si la presencia de mutación se asocia con variables clínico-patológicas.

Materiales y métodos

Estudio retrospectivo multicéntrico de cohorte de pacientes con cáncer de mama tratadas por su enfermedad de base en el Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC), Hospital de Morón y Sanatorio de la Trinidad, localizados en la ciudad y provincia de Buenos Aires. Fueron incluidos pacientes con diagnóstico de cáncer de mama estadios I-IV con material de archivo en tacos de parafina suficientes y de calidad para la determinación del análisis mutacional, sexo femenino o masculino y edad mayor de 18 años.

Se los seleccionó mediante muestreo no probabilístico de las bases de datos quirúrgicas de las instituciones participantes entre el 2010 y 2018. El tamaño muestral en base al objetivo principal de definir la prevalencia de la mutación de PIK3CA, fue calculada mediante la ecuación de Daniel¹³, asumiendo una prevalencia similar a los informados en la bibliografía de 30% y con el objetivo de poseer una precisión de 0.05.

Los pacientes incluidos autorizaron su participación en el estudio mediante la firma del consentimiento informado.

Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

Los datos fueron recolectados mediante una ficha estructurada en formato papel y luego incorporadas a una base de datos informatizada creada para ese fin. Además, fueron codificados para mantener el anonimato y proteger los datos personales. El proyecto contó con la aprobación del Comité de Ética, Docencia e Investigación del CEMIC.

Los estudios de análisis mutacional fueron realizados en CEMIC en el Laboratorio de Biología Molecular del Servicio de Anatomía Patológica.

Se realizaron cortes histológicos del material de tejido embebido en parafina (FFPE) y luego se realizarán tinciones de hematoxilina-eosina para los análisis morfológicos subsecuentes y para la evaluación del porcentaje de células neoplásicas en el área tumoral en relación a las células normales. Se realizó microdissección del área de tumor más rico para extracción de cantidades suficientes de ADN. Se purificó el ADN de los cortes FFPE y desparafinó con 100% ethanol-xylol (Carlo Erba, Italy) previo a digestión enzimática con buffer- PK. La fracción de lipoportéinas fue extraída con columnas de afinidad (QIAamp DNA FFPE Tissue Kit, Qiagen GMBH, Hilden Germany). Se midió la calidad y cantidad de ADN por espectroscopía. Se amplificaron los exones 9 y 20 de PIK3CA con primers secuencia específica 5' y 3' para las mutaciones más frecuentes. El tamaño de la amplificación fue de 240 y 241 pares de bases respectivamente. La amplificación se llevó a cabo con un volumen de reacción de 25 μ l, usando entre 250 y 500 ng de ADN. A cada reacción se le agregó 20 pmol de cada *primer*, 200 μ M de cada dNTP, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, y 1U de Taq DNA polimerasa (Promega Corporation, Madison, WI, USA). El ciclado térmico fue el siguiente: denaturalización a 95 °C por 2 minutos, seguido por 35 ciclos (denaturalización a 95 °C por 30 segundos, *annealing* a 49 °C por 30 segundos, y elongación a 72 °C por 1 minuto, con una elongación final a 72 °C por 5 minutos. Todas las PCR fueron evaluadas por electroforesis en un gel de poliacrilamida 9% en 1X TBE- buffer (Tris-Boric-EDTA); y visualizadas con bromuro de etidio bajo luz ultravioleta. Los fragmentos de los exones amplificados por PCR fueron secuenciados. La secuenciación se llevó a cabo usando BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). La secuenciación fue separada con electroforesis capilar (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) y la secuencia obtenida, analizada mediante Sequencing Analysis Software v5.2 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Las variables continuas fueron expresadas como medias (DS) o medianas (rango intercuartiles) dependiendo de la distribución y las variables discretas de forma binomial o mediante porcentajes. La asociación entre las variables clínico patológicas y el resultado de la mutación de PIK3CA fue determinado inicialmente mediante análisis univariado con chi cuadrado para variables cualitativas o mediante t-test o Rank sum test dependiendo su distribución para variables continuas. Las asociadas de manera significativa ($p < 0.05$) fueron incluidas en un modelo de regresión logística para determinar su relación independiente con la presencia de mutación. Se considerarán diferencias estadísticamente significativas con una $p < 0.05$. Los datos se manejaron en *software* informático Stata v14.2 y R.

Resultados

Fueron incluidos en total 202 pacientes de los 3 centros participantes. El 99% (n=200) fueron de sexo femenino. Solo el 2% (n=5) de las pacientes eran estadio IV al diagnóstico, tratándose de una población casi en su totalidad de enfermedad temprana. El resto de las variables clínicas y patológicas se presentan en la Tabla 1.

Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

Tabla 1. Características clínicas y patológicas de los pacientes. Variables clínicas y patológicas

Edad	59 (47-67)*
Tamaño tumoral (cm)	2.0 (1.4-3.5)*
Subtipo histológico	
Ductal	84%
Lobulillar	7.5%
Ductolobular	1.5%
Otros	7%
Grado histológico	
1	14%
2	39%
3	47%
Fenotipo	
Luminal	72%
Her2	14%
Triple negativo	14%
Axila positiva	40%
Estadio	
I	38%
II	41%
III	19%
IV	2%

*Mediana (RIC)

Se detectaron 67 pacientes con mutación de PIK3CA y sólo 3 tuvieron dificultades técnicas en el análisis y no se pudo obtener un resultado del mismo. Se presenta la prevalencia mutacional en la Figura 1.

Las mutaciones más frecuentemente expresadas en esta población fueron la H1047R en el 19% de los casos mutados y la E542K en 15% de los casos. En un grupo de pacientes, se encontró presencia de más de una mutación al estudiarse ambos exones, correspondiendo a un 31% de aquellos con mutación. Toda la distribución de las mutaciones halladas se presenta en la Figura 2.

No se encontró asociación entre la presencia de mutación con ninguna de las variables clínicas. En relación a la

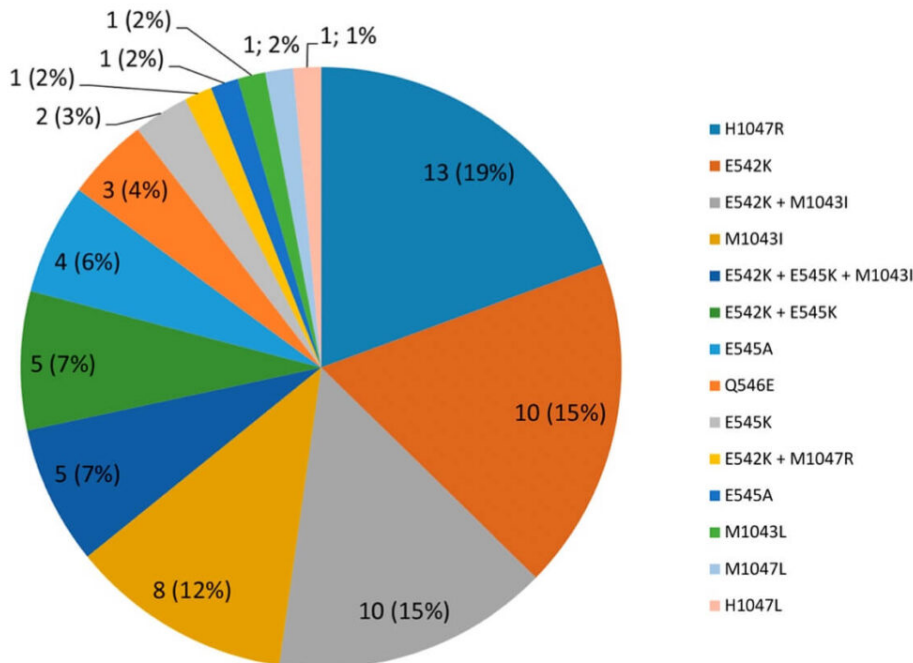
Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

asociación con variables patológicas, se determinó una prevalencia de mutación del 37.5% en los tumores luminales, 14.8% en los tumores HER2+ y 32.1% en los tumores triple negativos ($p=0.07$). Al evaluarlo en forma dicotómica, se observó un aumento de la proporción de pacientes con mutación de PIK3CA en el grupo de tumores con fenotipo luminal (RH+/ HER2-) con una prevalencia de 37.5% comparado con 23.6% en los no luminales (RH+o-/HER2+ o RH-/ HER2-). Sin embargo, esta diferencia no alcanzó a ser estadísticamente significativa ($p=0.09$). Se determinó que comparativamente los tumores HER2+ en este grupo poblacional presenta menor tasa de mutación del gen de PIK3CA que aquellos sin amplificación (14.8% vs. 36.6%, $p=0.04$). Estas comparaciones se muestran gráficamente en la Figura 3.

No se observó asociación entre la mutación de PI3KCA y otras variables como histología, grado histológico, Ki67, tamaño tumoral, compromiso axilar o estadio. Lo cual no permitió realizar estudios multivariados.

Figura 1. Estado mutacional de PIK3CA



Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

Figura 2. Distribución de las mutaciones de PIK3CA

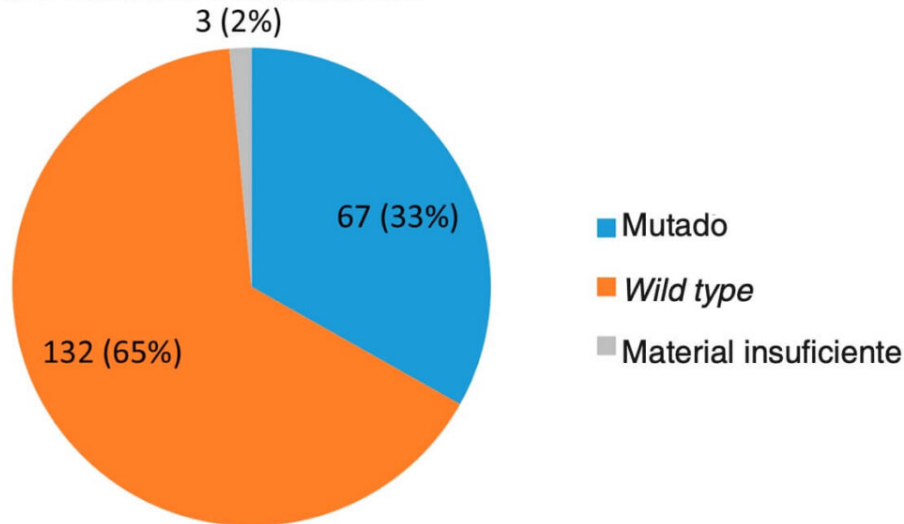
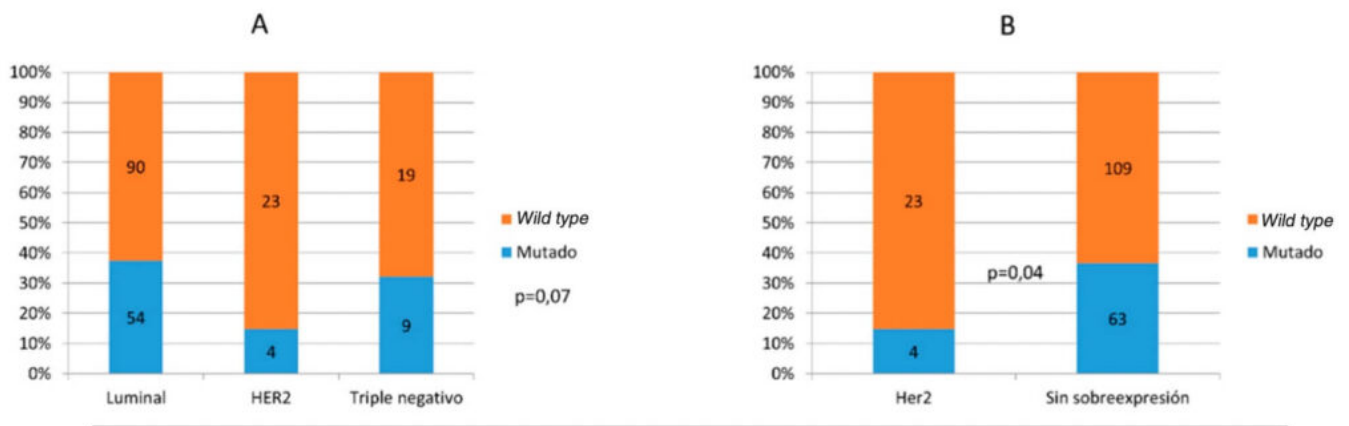


Figura 3. Prevalencia mutacional de acuerdo a: A) Fenotipo tumoral por inmunohistoquímica; B) Amplificación de HER2



Discusión

El entendimiento de la relación entre el estado mutacional de PIK3CA y los resultados clínicos es un proceso en evolución constante, tanto en enfermedad temprana¹⁴ como en pacientes metastásicas¹⁵ y podría tener variaciones de acuerdo a la población estudiada. En el presente estudio, se describe la prevalencia de la mutación de PIK3CA en

Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

una población de pacientes argentinas con cáncer de mama de todos los estadios, pero con principal foco en aquellas con enfermedad temprana. A pesar de esto, la mutación de PIK3CA es considerada un fenómeno temprano en el desarrollo del cáncer de mama y según Juric y col., es poco frecuente que pacientes con enfermedad temprana PIK3CA-WT realicen un cambio y presenten mutación en el escenario metastásico¹⁶.

En cáncer de mama, las mutaciones se dan de manera más frecuente en 2 *hot spots* correspondientes a la subunidad catalítica p110: E542K en el dominio helicoidal (exón 9) y H1047R o L en el dominio quinasa (exón 20)[17-19]. Ambos han demostrado producir una ganancia de función, y, por lo tanto, aumentar la función enzimática y activar la señal de elementos *downstream*²⁰. Como era esperable, estas alteraciones también fueron las más frecuentes en nuestra cohorte, evidenciando que se trata de un sitio común de alteración y que indica el estímulo de la vía de señalización.

En este estudio se detectaron mutaciones dobles en el gen PIK3CA, sin embargo, debido a la técnica realizada, no hay posibilidad de diferenciar si las mismas son en cis o en trans. Las mutaciones dobles en cis producen activación de la vía celular de señalización y promueven el crecimiento en mayor medida que las mutaciones simples a través de un mecanismo bioquímico combinado de mayor unión a la membrana y una desinhibición de p85α incrementada²¹. La consecuencia global de estas mutaciones en cis es un fenotipo de oncogenicidad aumentada y mayor sensibilidad a los inhibidores de PI3Kα.

Estudios previos han mostrado que la frecuencia de la mutación varía dependiendo del fenotipo tumoral^{15,19,22}. Las mutaciones se observan en 30- 40% de los tumores luminales, 20-25% de los HER2 amplificados y sólo 8-10% de los triple negativos. En nuestro estudio se presentaron condiciones similares para los luminales y HER2+, pero difiere de manera importante en los pacientes con tumores triple negativos. Estas diferencias pueden ser atribuidas a una verdadera disparidad epidemiológica o al uso de diversas técnicas de análisis con su correspondiente sensibilidad.

Inicialmente, las mutaciones PIK3CA estaban asociadas con características favorables clínico- patológicas y a mejor resultados clínicos, incluyendo una supervivencia mayor¹¹. En nuestra cohorte, no se observó esta situación ya que la presencia de la mutación no se asoció con características tumorales tradicionalmente asociadas a mejor pronóstico. Se presentarán datos pronósticos de esta población en una futura publicación con adecuado seguimiento para así poder evaluar, verdaderamente, el impacto pronóstico de esta mutación, más allá de las características patológicas.

Por el contrario, las mutaciones PIK3CA también pueden desempeñar un papel en la resistencia a algunos de los tratamientos que bloquean los receptores tirosina-quinasa *upstream*²³. Por ejemplo, han sido implicados como un mecanismo de resistencia a los agentes anti-HER2, trastuzumab y lapatinib^{24,25}. También existe evidencia que sugiere que las mutaciones PIK3CA pueden conferir resistencia a la terapia hormonal. La hiperactivación de los receptores de esta vía, como HER1, HER2, y receptor de IGF-1 también determinan la resistencia a la terapia anti-estrógena²⁶⁻²⁸. El mecanismo propuesto de resistencia es a través de la inducción directa de la transcripción del receptor de estrógeno. Este estudio no tiene la capacidad para evaluar el efecto que la mutación genera sobre la resistencia o sensibilidad a las diferentes terapéuticas.

La deficiencia principal del presente estudio radica en su carácter retrospectivo, lo que conlleva el riesgo de presentar un sesgo de selección. Esto no se traduce en inconvenientes a la hora de medir la variable de resultado, ya que se sabe que el uso de tejido de archivo no presenta complicaciones técnicas para el estudio molecular, pero

Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

si podría darse una prevalencia no completamente certera por el tipo de muestreo.

Es de vital importancia comprender que estas alteraciones moleculares pueden tener un impacto clínico dependiendo del comportamiento otorgados por sus características biomoleculares, lo cual podría permitir, en un futuro cercano, personalizar blancos de tratamiento con mejores respuestas y menos toxicidad. Su comprensión permitirá, además, avanzar en nuevas posibilidades terapéuticas y en el entendimiento de sus mecanismos de resistencia. El advenimiento de los inhibidores de PIK3CA y su llegada a la práctica clínica para el tratamiento del cáncer de mama genera la necesidad de conocer con detalle esta población a nivel clínico y molecular para así poder tratarla adecuadamente y de manera personalizada.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar

Bibliografía

1. DeSantis CE, Ma J, Gaudet MM, et al. Breast cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69: 438-51.
2. Eroles P, Bosch A, Pérez-Fidalgo JA, Lluch A. Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. *Cancer Treat Rev* 2012; 38: 698-707.
3. Fruman DA, Rommel C. PI3K and cancer: lessons, challenges and opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13: 140-56.
4. Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8: 627-44.
5. Forbes SA, Bindal N, Bamford S, et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic Acids Res* 2010; 39: D945-50.
6. Knight ZA, Shokat KM. Chemically targeting the PI3K family. *Biochem Soc Trans* 2007 35(Pt 2): 245-9.
7. Marone R, Cmiljanovic V, Giese B, Wymann MP. Targeting phosphoinositide 3-kinase-moving towards therapy. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1784: 159-85.
8. Pereira B, Chin S-F, Rueda OM, et al. The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refine their genomic and transcriptomic landscapes. *Nat Commun* 2016; 7: 11479.
9. Stemke-Hale K, Gonzalez-Angulo AM, Lluch A, et al. An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 6084-91.
10. Saal LH, Holm K, Maurer M, et al. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65: 2554-9.
11. Kalinsky K, Jacks LM, Heguy A, Patil S, Drobnyak M, Bhanot UK, et al. PIK3CA mutation associates with improved outcome in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5049-59.
12. André F, Ciruelos E, Rubovszky G, et al. Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2019; 380: 1929-40.
13. Daniel WW, Cross CL. *Biostatistics. A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. Wiley, 2018.
14. Zardavas D, Te Marvelde L, Milne RL, et al. Tumor PIK3CA genotype and prognosis in early-stage breast cancer: a pooled analysis of individual patient data. *J Clin Oncol* 2018; 36: 981.

Prevalencia de la mutación de PIK3CA en cáncer de mama en la Argentina y su asociación con variables clínico-patológicas

Pablo Mandó, Rosario Vidal, Ana Alonso, Celia Brosio, Gonzalo Recondo, Gabriel Crimi, Francisco Von Stecher, Valeria Dennighoff, y Florencia Perazzo

15. Mosele F, Stefanovska B, Lusque A, et al. Outcome and molecular landscape of patients with PIK3CA-mutated metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2020; 31: 377-86.
16. Juric D, Ciruelos E, Rubovszky G, et al. Abstract GS3-08: Alpelisib+ fulvestrant for advanced breast cancer: Subgroup analyses from the phase III SOLAR-1 trial. *Cancer Res* 2019; 69: Suppl.
17. Zhao L, Vogt PK. Hot-spot mutations in p110 α of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K): differential interactions with the regulatory subunit p85 and with RAS. *Cell Cycle* 2010; 9: 596-600.
18. Zhang Y, Ng PK-S, Kucherlapati M, et al. A pan-cancer proteogenomic atlas of PI3K/AKT/mTOR pathway alterations. *Cancer Cell* 2017; 31: 820-32. e3.
19. Martínez-Sáez O, Chic N, Pascual T, Adamo B, Vidal M, González-Farré B, et al. Frequency and spectrum of PIK3CA somatic mutations in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2020; 22: 1-9.
20. Bader AG, Kang S, Zhao L, Vogt PK. Oncogenic PI3K deregulates transcription and translation. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 921-9.
21. Vasan N, Razavi P, Johnson JL, Shao H, Shah H, Antoine A, et al. Double PIK3CA mutations in cis increase oncogenicity and sensitivity to PI3K α inhibitors. *Science* 2019; 366: 714-23.
22. Arsenic R, Lehmann A, Budczies J, et al. Analysis of PIK3CA mutations in breast cancer subtypes. *Applied Immunohistochem Mol Morphol* 2014; 22: 50-6.
23. Tao JJ, Castel P, Radosevic-Robin N, et al. Antagonism of EGFR and HER3 enhances the response to inhibitors of the PI3K-Akt pathway in triple-negative breast cancer. *Sci Signal* 2014; 7: ra29.
24. Black JD, Lopez S, Cocco E, et al. PIK3CA oncogenic mutations represent a major mechanism of resistance to trastuzumab in HER2/neu overexpressing uterine serous carcinomas. *Br J Cancer* 2015; 113: 1020-6.
25. Rimawi MF, De Angelis C, Contreras A, et al. Low PTEN levels and PIK3CA mutations predict resistance to neoadjuvant lapatinib and trastuzumab without chemotherapy in patients with HER2 over-expressing breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2018; 167: 731-40.
26. Bosch A, Li Z, Bergamaschi A, et al. PI3K inhibition results in enhanced estrogen receptor function and dependence in hormone receptor-positive breast cancer. *Sci Transl Med* 2015; 7: 283ra51.
27. Miller TW, Hennessy BT, González-Angulo AM, et al. Hyperactivation of phosphatidylinositol-3 kinase promotes escape from hormone dependence in estrogen receptor-positive human breast cancer. *J Clin Invest* 2010; 120: 2406-13.
28. Ellis MJ, Lin L, Crowder R, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase alpha catalytic subunit mutation and response to neoadjuvant endocrine therapy for estrogen receptor positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 119: 379-90.