

Nghiên cứu mối liên quan giữa Ki-67 và các đặc điểm giải phẫu bệnh, hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập

Nguyễn Phương Thảo Tiên^{1*}, Nguyễn Đình Tuấn Dũng²,
Đặng Công Thuận¹, Võ Thị Hạnh Thảo¹, Lê Thị Thu Thảo¹

(1) Bộ môn Mô-Phôi, Giải phẫu bệnh-Pháp y, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế
(2) Trung tâm Xét nghiệm Melditac Hà Tĩnh

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Ung thư vú (UTV) là ung thư thường gặp nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu do ung thư ở nữ giới. Phân nhóm phân tử ung thư vú dựa vào sự bộc lộ của các dấu ấn sinh học như là ER, PR, HER2/neu và Ki-67. Trong đó, Ki-67 là dấu ấn sinh học biểu lộ mức độ tăng sinh của tế bào ung thư vú, có liên quan trực tiếp với tiến triển, đáp ứng điều trị và tiên lượng bệnh. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm đánh giá chỉ số Ki-67 và mối liên quan của chỉ số này với các đặc điểm giải phẫu bệnh, hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 101 bệnh phẩm vùi nén của các bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập được phẫu thuật tại BV Đại học Y Dược Huế từ 10/2019 đến 06/2021. **Kết quả:** Các khối u có tỷ lệ Ki-67 $\geq 14\%$ chiếm 65,3%. Các khối u vú có kích thước ≤ 2 cm chiếm 50,5%. Độ mô học II chiếm 53,1%. Giai đoạn bệnh phổ biến là giai đoạn II (40,6%). Tỷ lệ di căn hạch nách là 48,5%; Tỷ lệ ER (+), PR (+) lần lượt là 64,4% và 47,5%. Các khối u có HER2(+) chiếm tỷ lệ 32,7%. Phân nhóm Lồng ống B chiếm tỷ lệ cao nhất (39,4%). Chỉ số Ki-67 có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với giai đoạn bệnh, độ mô học, di căn hạch nách, ER, PR, HER2 và phân nhóm phân tử. Không có mối liên quan giữa Ki 67 và độ tuổi, kích thước u và loại mô bệnh học. **Kết luận:** Các khối u có Ki-67 $\geq 14\%$ chiếm tỷ lệ cao (65,3%). Chỉ số Ki-67 có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với các đặc điểm giải phẫu bệnh và hóa mô miễn dịch: giai đoạn bệnh, độ mô học, tình trạng di căn hạch nách, thụ thể nội tiết ER/ PR, yếu tố tăng trưởng nội bì HER2 dương tính và các phân nhóm phân tử. Không có mối liên quan có ý nghĩa giữa Ki-67 với độ tuổi, kích thước u và loại mô bệnh học.

Từ khóa: ung thư biểu mô tuyến vú; Ki-67; giải phẫu bệnh; hóa mô miễn dịch.

Studying on correlation between Ki-67 index and histopathological and immunohistochemical characteristics in invasive breast carcinoma

Nguyen Phuong Thao Tien^{1*}, Nguyen Dinh Tuan Dung²,
Dang Cong Thuan¹, Vo Thi Hanh Thao¹, Le Thi Thu Thao¹

(1) Dept. of Histopathology, Pathology-Forensic Medicine, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University
(2) Melditac Ha Tinh Testing Center

Abstract

Background: Breast cancer is the most common cancer and the leading cause of cancer death in women. Molecular subtyping of breast cancer is based on the expression of biomarkers such as ER, PR, HER2/neu and Ki-67. Among them, Ki-67 is a biomarker expressing the proliferation level of breast cancer cells, directly related to disease progression, treatment response and prognosis. Our study aims to evaluate the Ki-67 index and its relationship with histopathological and immunohistochemical characteristics in invasive breast carcinoma. **Methods:** A cross-sectional descriptive study in 101 paraffin-embedded specimens of patients with invasive breast carcinoma who underwent surgery at Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital from October 2019 to June 2021. **Results:** Tumors with Ki-67 index $\geq 14\%$ account for 65.3%. Breast cancer tumors with tumor size ≤ 2 cm occupy for 50.5%. Histological grade II accounts for 53.1%. The most common disease stage is stage II (40.6%). The rate of axillary lymph node metastasis is 48.5%; The ER(+) and PR(+) rates are 64.4% and 47.5%, respectively. Tumors with HER2(+) account for 32.7%. The Luminal B accounts for the highest proportion (39.4%). The Ki-67 index has a statistically significant relationship with disease stage, histological grade, axillary lymph node metastasis, ER, PR, HER2 and molecular subtypes.

There is no relationship between Ki 67 and age, tumor size and histopathological type. **Conclusion:** Tumors with Ki-67 $\geq 14\%$ account for a high proportion (65.3%). The Ki-67 index has a statistically significant relationship with histopathological and immunohistochemical features: stage of disease, histological grade, axillary lymph node metastasis, ER/PR hormone receptors, and other factors. HER2-positive endodermal growth and molecular subtypes. There is no significant relationship between Ki-67 and age, tumor size and histopathological type.

Key words: breast carcinoma; Ki-67; histopathology; immunohistochemistry.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vú (UTV) là loại ung thư thường gặp nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở phụ nữ trên thế giới cũng như ở Việt Nam [1].

Ung thư vú có đặc điểm hình thái học rất đa dạng. Đáp ứng điều trị và tiên lượng bệnh của các phân nhóm phân tử UTV rất khác nhau, tùy thuộc vào sự bộc lộ của các dấu ấn sinh học như là ER, PR, HER2/neu và Ki-67. Trong đó, Ki-67 là một dấu ấn sinh học biểu lộ mức độ tăng sinh của tế bào ung thư vú, được sử dụng để phân biệt phân nhóm Lòng ống A và Lòng ống B- HER2 âm tính [2]. Ngoài ra, Ki-67 cũng được sử dụng như một dấu ấn để lựa chọn phác đồ, dự đoán đáp ứng điều trị và tiên lượng trong ung thư vú [3], [4]. Tỷ lệ Ki-67 cao ($\geq 14\%$) thường gặp trong các ung thư vú ở có độ mô học cao, thời gian tái phát nhanh và thời gian sống thêm ngắn [4], [5].

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá mối liên quan của Ki-67 với các đặc điểm giải phẫu bệnh và hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 101 bệnh phẩm vùi nền của các bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập được phẫu thuật tại Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế từ tháng 10/2019 đến tháng 06/2021.

Tiêu chuẩn chọn mẫu

- Chẩn đoán mô bệnh học sau mổ là UTBM tuyến vú xâm nhập.

- Có đầy đủ xét nghiệm hóa mô miễn dịch 4 dấu ấn ER, PR, HER2, Ki-67

Tiêu chuẩn loại trừ

UTBM tuyến vú tái phát hoặc đã điều trị (phẫu thuật, hóa trị, xạ trị) trước đó

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.2.2. Các biến số nghiên cứu chính

- Các yếu tố tiên lượng:
 - + Kích thước u: ≤ 2 cm, 2 - 5 cm, ≥ 5 cm.
 - + Loại mô học: theo phân loại của Tổ chức Y tế thế giới năm 2012 [6].
 - + Độ mô học áp dụng phân độ theo Elston và Ellis áp dụng cho UTBM tuyến vú thể ống xâm nhập gồm độ I, độ II, độ III [7].
 - + Tình trạng di căn hạch nách: chưa di căn, có di căn.
 - + Giai đoạn bệnh sau phẫu thuật: theo phân loại của Tổ chức Y tế thế giới năm 2012 gồm giai đoạn I, II, III, IV [6].
 - Kết quả Hóa mô miễn dịch:
 - + Nhuộm HMMMD được thực hiện tự động trên máy Ventana Benchmark Ultra, dùng bộ kit phát hiện màu Ultra View DAB của hãng Roche.
 - + ER, PR được đánh giá theo thang điểm Allred: âm tính, dương tính [8]
 - + HER2: dựa vào đậm độ bắt màu của màng bào tương tế bào ung thư theo hướng dẫn của ASCO/CAP 2013, gồm các mức: Âm tính: 0 và 1 (+); Nghi ngờ: 2 (+) và Dương tính: 3 (+) [9]. HER2 (3+) được xem như là HER2 dương tính.
 - + Ki-67: dương tính khi có bất kì nhân tế bào u bắt màu. Chỉ số Ki-67 được chia thành 2 mức độ: thấp ($< 14\%$) và cao ($\geq 14\%$) [10].
 - Phân nhóm phân tử UTBM tuyến vú theo Saint Gallen 2011 [10]:
 - + Lòng ống A: ER/PR+, HER2-, Ki-67 $< 14\%$
 - + Lòng ống B: ER/PR+, HER2-, Ki-67 $\geq 14\%$ và ER/PR+, HER2+
 - + HER2: ER-, PR-, HER2+
 - + Bộ ba âm tính: ER-, PR-, HER2-
 - Xử lý số liệu: số liệu thu thập được phân tích, xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm giải phẫu bệnh và hóa mô miễn dịch của mẫu nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm giải phẫu bệnh

Đặc điểm GPB	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Tuổi		
Mean ± SD	53,5 ± 12,1	
<30	3	3,0
30 - < 40	9	8,9
40 - < 50	26	25,7
50 - < 60	33	32,7
60 - < 70	21	20,8
≥ 70	9	8,9
Kích thước u		
≤ 2 cm	51	50,5
> 2- 5 cm	41	40,6
> 5 cm	9	8,9
Loại mô học		
UTBM xâm nhập không phải loại đặc biệt	79	78,2
UTBM thể thùy xâm nhập	13	12,9
UTBM xâm nhập khác	9	8,9
Độ mô học		
I	8	11,1
II	43	53,1
III	28	35,8
Di căn hạch nách		
Có	49	48,5
Không	50	49,5
Không đánh giá	2	2,0
Giai đoạn bệnh		
I	29	28,7
II	41	40,6
III	29	28,7
Không đánh giá	2	2,0

Bảng 1 cho thấy ung thư vú thường gặp ở độ tuổi 50-60, tuổi trung bình là 53,5 ± 12,1. Các khối u có kích thước > 2 cm chiếm tỷ lệ 49,5%. Độ mô học I chỉ chiếm 11,1%, độ II chiếm 53,1%. Tỷ lệ khối u có di căn hạch nách là 48,5%. Các khối u ở giai đoạn II chiếm tỷ lệ cao nhất (40,6%).

Bảng 2. Đặc điểm hóa mô miễn dịch và phân nhóm phân tử

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
ER		
Âm tính	37	36,6
Dương tính	64	64,4

PR			
Âm tính	53	52,5	
Dương tính	48	47,5	
Ki -67			
< 14%	35	34,7	
≥ 14%	66	65,3	
HER2			
Âm tính	61	60,4	
2+	7	6,9	
3+	33	32,7	
Phân nhóm phân tử			
Lòng ống A	26	27,7	
Lòng ống B	HER2(-)	23	24,5
	HER2(+)	14	14,9
HER2	19	20,2	
Bộ ba âm tính	12	12,8	

Bảng 2 cho thấy tỷ lệ ER (+), PR (+) lần lượt là 64,4% và 47,5%. Tỷ lệ Ki-67 ≥ 14% là 65,3%. HER2 dương tính (3+) chiếm 32,7%. Phân nhóm Lòng ống B chiếm tỷ lệ cao nhất (39,4%), phân nhóm HER2 chiếm 20,2%.

3.2. Mối liên quan giữa Ki-67 và các đặc điểm giải phẫu bệnh, hóa mô miễn dịch

Bảng 3. Mối liên quan giữa Ki-67 và các đặc điểm giải phẫu bệnh

Đặc điểm GPB	Ki-67				P
	< 14%		≥ 14%		
	n	%	n	%	
Tuổi					
< 50	11	31,4	27	40,9	0,471
≥ 50	24	68,6	39	59,1	
Kích thước u					
≤ 2 cm	17	48,6	34	51,5	0,888
> 2 - ≤ 5 cm	15	43,9	26	39,4	
> 5cm	3	8,5	6	9,1	
Giai đoạn bệnh					
I	15	44,1	14	21,5	0,041
II	13	38,2	28	43,1	
III	6	17,7	23	35,4	
Loại mô học					
UTBM xâm nhập không phải loại đặc biệt	26	74,3	53	80,3	0,657
UTBM Khác	9	25,7	13	19,7	

Độ mô học					
I	5	19,2	3	5,6	
II	17	65,4	26	49,1	0,015
III	4	15,4	24	45,3	
Di căn hạch nách					
Không	24	70,6	25	38,5	0,005
Có	10	29,4	40	61,5	

Kết quả bảng 3.3 cho thấy Ki-67 có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với độ mô học, giai đoạn bệnh và tình trạng di căn hạch nách ($p < 0,05$). Chưa tìm thấy mối liên quan giữa Ki-67 và tuổi, loại mô học và kích thước khối u.

Bảng 4. Mối liên quan giữa Ki-67 và đặc điểm hóa mô miễn dịch, phân nhóm phân tử

Đặc điểm	Ki-67				P	
	< 14%		≥ 14%			
	n	%	n	%		
ER						
Âm tính	7	20,0	30	45,5	0,021	
Dương tính	28	80,0	36	54,5		
PR						
Âm tính	12	34,3	41	62,1	0,014	
Dương tính	23	65,7	25	37,9		
HER2						
Âm tính	29	85,3	32	53,3	0,004	
Dương tính 3+	5	14,7	28	46,7		
Phân nhóm phân tử						
Lòng ống A	26	76,5	0	0,0		
Lòng ống B	HER2(-)	0	0,0	23	38,3	< 0,001
	HER2(+)	2	5,9	12	20,2	
HER2	3	8,8	16	26,7		
Bộ ba âm tính	3	8,8	9	15,0		

Kết quả bảng 4 cho thấy, tỷ lệ Ki-67 có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với các dấu ấn sinh học ER, PR, HER2 và phân nhóm phân tử ($p < 0,05$).

4. BÀN LUẬN

4.1. Về đặc điểm giải phẫu bệnh và hóa mô miễn dịch

Trong ung thư vú, các đặc điểm giải phẫu bệnh như tuổi, kích thước khối u, độ mô học, giai đoạn bệnh là các yếu tố tiên lượng kinh điển. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy độ tuổi hay gặp nhất là từ 50 đến dưới 60 tuổi, tuổi trung bình mắc bệnh: $53,5 \pm 12,1$. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Phương Thảo Tiên (2022) và Đặng Công Thuận (2018) [11], [12]. Ở các quốc gia châu Âu, độ tuổi mắc bệnh trung bình thường cao hơn ở các nước châu Á [13]. Các khối u có kích thước càng

lớn, tiên lượng bệnh càng xấu. Trong nghiên cứu của chúng tôi, các khối u có kích thước > 2 cm chiếm xấp xỉ 50%, độ mô học III chiếm 35,8%, độ I chỉ chiếm 11,1%. Tỷ lệ di căn hạch nách trong nghiên cứu của chúng tôi chiếm 48,5%, giai đoạn II chiếm 40,6%, giai đoạn 3 chiếm 28,7%, phù hợp với kết quả nghiên cứu của Đặng Công Thuận (2018), Nguyễn Phương Thảo Tiên (2022) [11], [12]. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Tagliabue G. (2021) trên các bệnh nhân ung thư vú ở Ý, đa số các khối u có kích thước nhỏ < 2 cm, độ mô học thấp (độ I), chưa có di căn và ở giai đoạn sớm của bệnh [13].

Kết quả HMMD của chúng tôi cho thấy, tỷ lệ Ki-67

≥ 14% là 65,3%, tương đương với các kết quả nghiên cứu trong nước [12],[13]. Tỷ lệ này cao hơn so với nghiên cứu của Tagliabue G. (2021) về tỷ lệ Ki-67 trong ung thư vú ở châu Âu [13]. Tỷ lệ ER, PR dương tính trong nghiên cứu của chúng tôi chiếm lần lượt 64,4% và 47,5%, tương đương với kết quả của Vũ Hồng Thăng (2015) [14] nhưng thấp hơn tỷ lệ ER/PR dương tính (82,4% và 57,3%) trong nghiên cứu của Engstrom (2013) nghiên cứu trên nhóm bệnh nhân người Mỹ [15]. Tỷ lệ HER2 dương tính trong nghiên cứu của chúng tôi là 32,7%, cao hơn so với các nghiên cứu khác ở châu Âu và Mỹ (15 - 20%) [13],[15]. Phân nhóm lòng ống B trong nghiên cứu của chúng tôi chiếm tỷ lệ đa số (39,4%), phân nhóm HER2 chiếm 20,2%, trong khi đó, phân nhóm lòng ống A chỉ chiếm 27,7%, tương đương kết quả nghiên cứu của Đặng Công Thuận (2018), Nguyễn Phương Thảo Tiên (2022), Kermani, T. A (2019) [11],[12],[16].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, đa số các khối u vú có độ mô học cao, được phát hiện ở giai đoạn muộn, khi đã có sự di căn ra hạch nách. Ngoài ra, các khối u cũng có tỷ lệ Ki-67 ≥ 14% và HER2 dương tính cao so với các nghiên cứu ở các quốc gia khác. Sự khác biệt về kết quả mô bệnh học, hóa mô miễn dịch và phân nhóm phân tử giữa các nghiên cứu có thể do sự khác nhau về đặc điểm chủng tộc, vị trí địa lý, đặc tính sinh học của khối u, thời điểm mãn kinh, chế độ dinh dưỡng, môi trường, lối sống... cũng như bệnh được chẩn đoán ở giai đoạn sớm hay muộn. Ngoài ra, hiệu quả của chương trình tầm soát phát hiện sớm ung thư vú cũng đem lại sự khác biệt kết quả giữa các quần thể nghiên cứu.

4.2. Mối liên quan giữa chỉ số Ki-67 và đặc điểm giải phẫu bệnh và hóa mô miễn dịch

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ Ki-67 không có mối liên quan với các đặc điểm như tuổi, loại mô học và kích thước khối u. Kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu khác Kermani (2019), Kamranzadeh H. (2019) [16], [17]. Tuy nhiên, tác giả Jones (2009) cho rằng có sự liên quan thuận giữa Ki-67 và kích thước u. Chỉ số Ki-67 cao (≥ 14%) được tìm thấy ở những khối u có kích thước lớn [3]. Sự khác biệt giữa giữa các nghiên cứu có thể do đặc

điểm sinh học của các quần thể nghiên cứu khác nhau và cỡ mẫu của chúng tôi chưa đủ lớn. Ngoài ra, cũng như nhiều nghiên cứu khác, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy Ki-67 có mối liên quan với độ mô học, tình trạng di căn hạch nách và giai đoạn bệnh. Sự biểu lộ Ki-67 ở mức cao thường thấy trong các ung thư vú có độ mô học cao, giai đoạn muộn với hạch nách dương tính, nhanh tái phát và thời gian sống thêm ngắn [3],[4], [5].

Bảng 4 cho thấy Ki-67 có mối tương quan nghịch với các thụ thể nội tiết ER, PR. Các khối u có ER âm tính thường có mức độ biểu hiện Ki-67 cao. Kết quả của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của của Kermani (2019), Ahadi, M. (2020), Kumar, Y. (2022) [3],[16], [17]. Ngược lại với sự biểu hiện của ER/PR, yếu tố tăng trưởng nội bì HER2 có liên quan thuận với Ki-67. Các khối u có HER2 dương tính thường có tỷ lệ Ki-67 cao. Kết quả của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu khác của Vũ Hồng Thăng (2015), Kermani (2019), Kamranzadeh H. (2019), Ahadi, M. (2020) [3], [14], [16], [18]

Trong nghiên cứu của chúng tôi, do tỷ lệ HER2 dương tính và tỷ lệ Ki-67 ≥ 14% cao nên phân nhóm lòng ống B chiếm tỷ lệ cao (39,4%), tiếp theo là phân nhóm lòng ống A (27,7%). Phân nhóm HER2 chiếm tỷ lệ 20,2%. Chỉ số Ki-67 có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với phân nhóm phân tử. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả của các tác giả trong và ngoài nước có sử dụng điểm cắt Ki-67 là 14% để phân nhóm phân tử [11], [14], [19].

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 101 bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế, chúng tôi nhận thấy:

- Các khối u có Ki-67 ≥ 14% chiếm tỷ lệ 65,3%.

- Có mối liên quan giữa chỉ số Ki-67 và các đặc điểm giải phẫu bệnh và hóa mô miễn dịch như: giai đoạn bệnh, độ mô học, tình trạng di căn hạch nách, sự biểu hiện của ER, PR, HER2 và các phân nhóm phân tử. Chưa tìm thấy mối liên quan giữa chỉ số Ki-67 với độ tuổi, kích thước u và loại mô bệnh học ung thư vú.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. GLOBOCAN (2020), <https://gco.iarc.fr/>.
2. Lê Thị Trang, Trịnh Tuấn Dũng, Nguyễn Văn Phú Thăng, Đinh Hữu Tâm, Nghiên cứu sự bộc lộ dấu ấn ER, PR, HER2, Ki-67 trong type phân tử ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập. Journal of 108-Clinical Medicine and Pharmacy, 2020; 15 (1): 115-122
3. Ahadi, M., Heibatollahi, M., & Zahedifard, S.

Comparison of ER, PR, Ki-67 and HER-2/neu Reactivity Pattern with Patients' Age, Histologic Grade, Tumor Size and Lymph Node Status in Invasive Ductal Breast Cancer. International Journal of Cancer Management. 2020; 13(6): e98325

4. Liang, Q., Ma, D., Gao, R. F., & Yu, K. D. Effect of Ki-67 expression levels and histological grade on

breast cancer early relapse in patients with different immunohistochemical-based subtypes. *Scientific reports*. 2020; 10(1): 7648.

5. Aman N.A., Doukoure B., Koffi K.D., et al. Immunohistochemical Evaluation of Ki-67 and Comparison with Clinicopathologic Factors in Breast Carcinomas. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2019; 20(1): 73–79.

6. Lakhani, S.R., WHO Classification of Tumours of the Breast. 2012: International Agency for Research on Cancer

7. Elston C, Ellis I. Pathological prognostic factors in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 2002;41(3A):154-61.

8. Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2010;134(7):48-72

9. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Archives of Pathology Laboratory Medicine*. 2014;138(2):241-56

10. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn H-J. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of oncology*. 2011;22(8):1736-47

11. Nguyen-Phuong, T. T., Nguyen-Thanh, T., Tanda, F., Marras, V., Tran-Anh, H., Le-Van, T., Vo-Thi H.T, Dang-Cong, T. Comparative Study on Clinicopathological Characteristics of Breast Cancer in Vietnam and Italy. *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*. (2022); 49(9): 204.

12. Đặng Công Thuận, Lê Trọng Lân, Nguyễn Trần Bảo Song. Nghiên cứu tình trạng HER2 và mối liên quan với một số yếu tố tiên lượng trong ung thư biểu mô tuyến vú xâm nhập. *Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y Dược Huế*. 2018, 8(4), 13–22.

13. Tagliabue G, Fabiano S, Contiero P, Barigelletti G, Castelli M, Mazzoleni G, et al. Molecular subtypes, metastatic pattern and patient age in breast cancer: An analysis of Italian network of cancer registries (Airtum) data. *Journal of Clinical Medicine*. 2021; 10 (24): 5873.

14. Thang V.H., Skoog L., Duc N.B., et al. Cell proliferation measured by Ki-67 staining and correlation to clinicopathological parameters in operable breast carcinomas from vietnamese and Swedish patients. *J Anal Oncol*. 2015; 4(2): 58–68.

15. Engstrøm M.J., Opdahl S., Hagen A.I., et al. Molecular subtypes, histopathological grade and survival in a historic cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;140 (3), 463–473.

16. Kermani, T. A., Kermani, I. A., Faham, Z., & Dolatkah, R. Ki-67 status in patients with primary breast cancer and its relationship with other prognostic factors. *Biomedical Research and Therapy*. 2019, 6(2): 2986-2991.

17. Kumar, Y. R., Sreeramulu, P. N., Hemalata, A., Manjunath, G. N., & Srinivasa, D. (2022). Correlation of prognostic factors of carcinoma breast with Ki 67 proliferation assay. *International Journal of Health Sciences*; 6(S3): 3315–3323.

18. Kamranzadeh H., Ardekani R., Kasaeian A., et al. Association between Ki-67 expression and clinicopathological features in prognosis of breast cancer: A retrospective cohort study. *J Res Med Sci*. 2019; 24(1): 30.

19. Mushtaq, M., Chaudry, S. S., Sheikh, A. K., Khan, N., Khattak, A., Akbar, A., ... & Riaz, S. K. Comparison of different molecular subtypes with 14% Ki-67 cut-off threshold in breast cancer patients of Pakistan-an indication of poor prognosis. *Archives of Iranian Medicine*. 2021; 24(11): 837-844.