

Factores pronósticos y predictivos en el cáncer de mama precoz

Dr. Miguel José Saade Aure

Miembro Correspondiente Nacional, Puesto número 44

e-mail: miguelsaade@yahoo.com

El cáncer de mama constituye un heterogéneo y complejo grupo de enfermedades que varían desde puntos de vista diversos como la clínica, presentación en las imágenes, morfología, biología, comportamiento y respuesta al tratamiento.

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más frecuente en las mujeres en el mundo (1). En Venezuela representa la primera causa con una incidencia de 21,8 % y una mortalidad de 17,8 % (2).

En la mujer con cáncer de mama precoz (estadio I-II) la enfermedad se limita a la mama o a esta y a los ganglios linfáticos regionales.

Se entiende por factor pronóstico, cualquier parámetro conocido en el momento del diagnóstico o después de la cirugía, asociado con una determinada supervivencia global o libre de enfermedad en ausencia de tratamiento adyuvante sistémico (3,4).

Un factor pronóstico aporta información sobre la evolución clínica de la enfermedad en el momento del diagnóstico independientemente del tratamiento aplicado. El valor de los factores pronósticos en estadios precoces de la enfermedad se ha confirmado en gran número de estudios; sirve para conocer la enfermedad, predecir la evolución de la misma, definir grupos de riesgo y planificar la estrategia terapéutica.

El factor predictivo está asociado a la mejor o menor respuesta de un tratamiento específico. Un factor puede ser pronóstico y predictivo a la vez.

Una vez establecido el diagnóstico de cáncer de mama los factores pronósticos y predictivos ayudarán en la toma de decisiones sobre el tratamiento.

Varios comités de expertos, revisando la evidencia disponible han señalado qué variables deben ser

aplicadas como factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama (4).

Se destacan los más utilizados en la práctica clínica. Existe acuerdo en considerar como válida una serie de factores pronósticos, algunos dependientes de la paciente y otros dependientes del tumor.

Factores pronósticos dependientes de la paciente

La edad se incluye en los factores pronósticos que determinan grupos de riesgo (4).

Estudios sugieren que las mujeres jóvenes con cáncer de mama particularmente las menores de 35 años de edad, tienen mayor probabilidad de que a su enfermedad se le asocien factores pronósticos negativos, condicionando la evolución con un peor pronóstico (5).

Las pacientes jóvenes tienen un riesgo mayor de desarrollar una recurrencia local cuando son tratadas con cirugía preservadora de la mama, en comparación con las pacientes mayores de 60 años (6).

La edad de la paciente debe ser considerada para la planificación del tratamiento, el cual va a variar de acuerdo con el estado hormonal de la paciente.

Desde la descripción de los genes (*Breast cancer 1 and Breast cancer 2*) BRCA 1 y BRCA 2 está claro que mujeres muy jóvenes tienen un riesgo mayor de tener la forma hereditaria de la enfermedad (4,7-10). Las mutaciones en los genes BRCA 1 y 2 son responsables de un gran porcentaje de casos de cáncer de mama y ovario con herencia autosómica dominante. Sin embargo, solo representan una pequeña proporción del total de cánceres con mutaciones en genes que aumentan la susceptibilidad en el cáncer de mama (11).

Factores pronósticos dependientes de las características del tumor:

1. Afectación ganglionar (estado de los ganglios axilares).
2. Tamaño tumoral.
3. Tipo y grado histológico nuclear.
4. Receptores de estrógeno y progesterona.
5. Sobre expresión del oncogén Her2-Neu.
6. Invasión vascular: linfática y sanguínea.
7. Índice de proliferación Ki67.
8. p53.
9. Perfil genómico:
 - a. "Recurrence score" creado por Paix y col.
 - b. "70 gene" Good vs Poor outcome predictor, creado por Van 't Veer y col.
 - c. "Intrinsic-Sub type model", creado por Perou y col. (4,11).

Estado de los ganglios axilares

La afectación ganglionar es el factor independiente más importante para predecir la supervivencia global y libre de enfermedad en las pacientes con cáncer de mama.

El número de ganglios afectados es un factor pronóstico muy significativo (12,13). La seguridad en el establecimiento del estado de los ganglios axilares requiere que sea examinado un número suficiente de ganglios. Las investigaciones indican que se debe obtener al menos diez ganglios de la axila para definir el estado ganglionar, especialmente si este resultado es negativo (12).

Existe relación directa entre el número de ganglios comprometidos y la evolución clínica de la enfermedad.

Se ha comprobado estadísticamente que las pacientes con axila positiva tienen tiempo libre de enfermedad y supervivencia a 10 años significativamente menor cuando se compara con pacientes con axila negativa; esto ha sido puesto en evidencia por muchos investigadores y la práctica médica (14,15).

El tamaño de las metástasis en el ganglio también merece atención especial.

Focos microscópicos metastásicos definidos con diámetro menor de 2 mm más específicamente entre 0,2 a 2 mm y células tumorales aisladas menores de 0,2 mm pueden detectarse entre 9 % y 13 % exclusivamente con hematoxilina y eosina (HE) y entre el 15 % y 20 % de los casos con técnicas de inmunohistoquímica (16).

Las pacientes con axila positiva deben recibir

alguna forma de tratamiento adyuvante; en las pacientes con axila negativa el tratamiento será seleccionado individualmente.

La clasificación por estadio de la axila a través de la evaluación patológica del primer ganglio de drenaje del área tumoral (biopsia del ganglio centinela) se ha desarrollado para evitar el vaciamiento ganglionar axilar en aquellas axilas negativas (17).

La biopsia del ganglio centinela ha demostrado ser sensible y específica para predecir el estado ganglionar (18,19). En el cáncer de mama en estadio precoz, en la mayoría de las mujeres se puede evitar un tratamiento adicional porque la biopsia de ganglios axilares es negativa.

La presencia de micrometástasis en el ganglio centinela requiere un tratamiento adicional con base en su tamaño y características tumorales.

Las pacientes con células tumorales aisladas no requieren un tratamiento adicional con características tumorales favorables.

Las pacientes con tumor grado III deben recibir tratamiento adicional para cualquier tipo de afectación ganglionar (20).

Tamaño tumoral

En pacientes con axila negativa el tamaño del tumor es el factor pronóstico más importante con muy buena correlación con la evidencia de metástasis ganglionares y tasa de supervivencia, especialmente en el estadio N0 de la clasificación TNM. El incremento del tamaño tumoral primario se asocia con un aumento en la mortalidad por cáncer de mama (3,21).

El tamaño tumoral está relacionado con el estado axilar y representa un factor pronóstico independiente y predictivo importante para la recurrencia en estas pacientes.

Pacientes con tumores pequeños (menores de 1 cm) con axila negativa presentan índices de 91 % de tiempo libre de enfermedad a 10 años mientras que para las que tienen tumores mayores este índice es de 88 % (22).

El tamaño del tumor se ha analizado además con la intención de predecir cuáles casos podrían ser preservadas del vaciamiento axilar. En una serie estudiada por Saiz y col. los tumores de 0,5 a 1 cm de diámetro con bajo grado nuclear podría ser innecesario el vaciamiento axilar, ya que ninguno de los casos de 0,5 cm o menos tenían metástasis axilar. El tumor debe ser medido al menos en dos dimensiones y la mayor es utilizada para la clasificación por estadio, configurando el parámetro T del TNM (23,24).

Tipos histológicos

El tipo histológico en el cáncer de mama influye fuertemente en el pronóstico. Los distintos diagnósticos histológicos puede ser expresión de cambios en el patrón de diferenciación.

Existen tipos histológicos especiales de cáncer de mama que tienen mejor pronóstico; aparecen asociados con un riesgo muy bajo de recidiva. En la mayoría de las series estos tumores representan menos del 6 % de los casos de cáncer de mama y se asocian a características favorables tales como: bajo grado de malignidad y negatividad axilar. Entre estos tipos especiales se puede mencionar al tubular puro, mucinoso o coloide puro, papilar puro y adenoideoquístico (22,25).

Son habitualmente receptores hormonales positivos a excepción del carcinoma adenoideoquístico con un pronóstico excelente a pesar de no expresar receptores de estrógeno (RE) (26). La aplicación de terapia adyuvante se decidirá con la asociación de otras variantes (22).

Grado de diferenciación (grado histológico de malignidad)

El grado histológico es reconocido como un importante factor pronóstico. Todos los carcinomas de mama deben ser clasificados con un grado histológico. El grado histológico combinado de Nottingham (modificación de Elston-Ellis del Sistema de Scarff Bloom Richarson) es el más utilizado en la actualidad (16,27-29).

Se determina valorando signos morfológicos: formación de túbulos, pleomorfismo nuclear y número de mitosis, asignando a cada uno de los tres

criterios una puntuación de uno a tres en función del grado de anaplasia. La suma de las puntuaciones en la clasificación de Nottingham puede ser de 3 a 9 y permite distinguir tres grados histológicos, que incluyen el bien, moderado y poco diferenciado. Cuadros 1 y 2.

Se puede aceptar como regla general, con muy pocas excepciones, que la evolución de las neoplasias es más favorable si presentan un adecuado nivel de diferenciación celular y tumoral.

En la mayoría de las series los tumores bien diferenciados presentaron mejor tasa de supervivencia, comparadas en pacientes con tumores indiferenciados (29).

Receptores hormonales

Las determinaciones de los receptores hormonales estrógenos y progesterona son procedimientos establecidos como rutinarios para el tratamiento de las pacientes con cáncer de mama (4).

La presencia de receptores hormonales en el tejido tumoral confiere a estas pacientes buen pronóstico y mejor respuesta a la terapia hormonal (16).

La técnica recomendada por todas las sociedades científicas para conocer la situación hormonal en el cáncer de mama es la inmunohistoquímica (16,30-32).

Oncogen Her2Neu

El proto oncogén C-erbB-2 o Her2Neu ha sido extensamente estudiado como biomarcador en cáncer de mama. Está localizado en el cromosoma 17 y codifica para una proteína de transmembrana tirosina kinasa de 185 kilo Daltons (185 kD) conocida como p185, semejante al receptor del factor de crecimiento

Cuadro 1. Valor combinado de Nottingham.

Puntuación	3,4,5	6,7	8,9
Grado	1	2	3
Diferenciación	Bien	Moderadamente	Poco
Pronóstico	Bueno	Intermedio	Malo

Cuadro 2. Grado histológico combinado de Nottingham, modificado de Scarff Bloom Richarson.

	GRADO 1 Bien diferenciado	GRADO 2 Moderadamente diferenciado	GRADO 3 Poco diferenciado
Formación de túbulos	Más del 75 %	10 % a 75 %	Menos del 10 %
Tamaño nuclear	Similar a célula epitelial ductal	Moderado con nucléolo	Pleomórfico, voluminoso, irregular
Número de mitosis	0 a 7	8 a 14	15 o más

epidérmico. Así se ha detectado que aproximadamente de un 20 % a 30 % de los cánceres de mama tienen amplificado y/o sobreexpresado el Her2Neu (33,34).

Se ha relacionado con tumores de mal pronóstico, gran tamaño tumoral, alto grado histológico y ganglios linfáticos positivos. Su sobreexpresión se ha asociado con un comportamiento más agresivo, riesgo mayor de recurrencia, resistencia al tratamiento con ciclofosfamida, metotrexate y fluoracilo (CMF), menor respuesta al tratamiento con tamoxifeno, pero mejor respuesta a regímenes quimioterapéuticos que incluyen antraciclinas (35-37).

Sin embargo, las pacientes RE y RP positivos deben recibir tratamiento hormonal independientemente del estado del Her2Neu (38-40).

Además estas pacientes tienen más probabilidad de responder a la terapia con trastuzumab (Herceptin®) un anticuerpo monoclonal, anti Her2Neu desarrollado para antagonizar la función anormal del receptor Her2Neu (41).

El significado de la expresión del gen Her2Neu en relación con la resistencia o sensibilidad a varios agentes quimioterapéuticos es un factor importante en los estudios actuales (33).

Los métodos disponibles para medir el oncogén incluyen la inmuno histoquímica, la positividad está dada por tinción de la membrana celular y se reporta en cruces, una cruz (1+) negativo, dos cruces (2+) dudoso y tres cruces (3+) positivo, las pacientes con puntaje de dos cruces (2+) deben someterse al método de hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) o hibridación *in situ* cromogénica (CISH) para la confirmación de la positividad, si son positivas, serán calificadas para el tratamiento con Trastuzumab (30,32). El Her2Neu tiene un valor pronóstico y predictivo.

Invasión vascular: linfática y sanguínea

La invasión vascular y linfática constituyen factores de mal pronóstico, mayor recurrencia y mortalidad, tanto para las pacientes tratadas con cirugía conservadora de la mama, como para las pacientes tratadas con mastectomía.

Se ha demostrado que existe correlación entre invasión vascular y recaída en tumores de mama con axila negativa.

La invasión linfovascular es el principal factor de difusión y predictivo de metástasis ganglionar axilar en cáncer de mama, clasificado como T_i (38,42).

Índice de proliferación celular Ki 67

El Ki67 es un anticuerpo monoclonal que identifica

antígenos en núcleos de células en fase proliferativa. Altos índices de Ki67 están asociados a un alto grado nuclear y metástasis ganglionar. Presenta relación directa con el tamaño tumoral, grado histológico, invasión vascular y estado ganglionar y relación inversa con niveles de receptores hormonales; índice de proliferación bajo RE positivo y alto en RE negativo (22).

Mutación de la proteína P53

El gen P53, ubicado en el brazo corto del cromosoma 17p es supresor y codifica una proteína de 53 kilo Daltons (53 kD). Al existir una mutación en este gen la proteína codificada es anormal, por lo que van a existir alteraciones en el proceso de supresión de la proliferación celular. Esta proteína en su condición normal no puede ser detectada debido a que su vida media es muy corta, sin embargo, al estar mutada puede demostrarse su marcaje nuclear por inmunohistoquímica y su presencia se ha relacionado con un pronóstico desfavorable en el cáncer de mama.

Las alteraciones en el gen p53 surgen como indicadores de un pobre pronóstico, lo cual justificaría una terapia adyuvante más intensa.

La expresión del marcador p53 se ha asociado a un gran valor predictivo de recaída temprana y sobrevida reducida (43-46).

Perfiles genómicos

El análisis genético de un tumor puede proporcionar datos importantes sobre su comportamiento biológico y por tanto sobre su pronóstico.

La determinación de la expresión génica de cada tumor permite una categorización individual de los tumores. Permite considerar cada caso en forma particular al instaurar un tratamiento y cada perfil de expresión génica funciona como un factor predictivo de riesgo de recurrencia y de respuesta al tratamiento.

Existen diferentes modelos de expresión génica que evalúan la expresión de los genes de un tejido. Cada modelo categoriza a los tumores según su perfil de expresión génica en cánceres de buen o mal pronóstico. Entre los modelos de expresión génica utilizados en cáncer de mama se encuentran: el *Recurrence Score* creado por Park y col., el “70 Gene” *Good vs poor outcome predictor* creado por Van't Veer y col., del Instituto Holandés del Cáncer y el *Intrinsic subtype model* (luminal A, luminal B, basal-like, Her2Neu positivo y RE negativo, normal breast-like) creado por Perou y col. (11,47-49).

Oncotype Dx[®] “Recurrence Score”

En el tejido tumoral enviado para análisis anatomopatológico se realiza estudio genético y se examinan un panel de 21 genes en las células tumorales, de los cuales 16 están relacionados con el cáncer de mama. El riesgo de recurrencia basado en la expresión genética clasifica a las pacientes en tres niveles de riesgo de recaída mediante el puntaje de recurrencia que va de cero a cien.

La probabilidad de recurrencia en 10 años aumenta directamente con el incremento del puntaje de recurrencia.

- a. Puntaje 0 a 17: riesgo bajo de recaída del cáncer de mama.
- b. Puntaje 18 a 30: riesgo intermedio de recaída del cáncer de mama.
- c. Puntaje mayor de 31: riesgo alto de recaída del cáncer de mama.

Mammaprint[®] “70 gene”

Establece dos grupos pronósticos: favorable y desfavorable, siendo la tasa de riesgo de recaída cinco veces mayor en el segundo caso. Al comparar los genes evaluados por estos modelos la coincidencia entre ellos es mínima, a pesar de que, solo coincide en la evaluación de un gen, el SCUBE2, hubo coincidencia en cuanto a la predicción de los pronósticos en un 81 % (11,47,50).

Clasificación molecular del cáncer de mama

La clasificación molecular del cáncer de mama ha definido grupos de riesgos y tratamientos diferentes (51,52).

El *Intrinsic Subtype Model* básicamente divide al cáncer de mama en cuatro tipos en función de la expresión de 500 genes aproximadamente, que incluyen *Luminal-like*, *Basal-like*, *Normal-like* y Her2Neu positivo (48,49).

La clasificación del cáncer de mama ha cambiado en los últimos años, pasando desde una clasificación de tipo morfológica utilizando técnicas de HE hasta la determinación de receptores hormonales y sobreexpresión de oncogenes (Her2Neu) que reclasifican a los mismos tipos histológicos de cáncer de mama en subtipos diferentes. Analizado desde el punto de vista de la inmunohistoquímica se divide en cuatro tipos, donde la expresión de receptores hormonales son definitivas para la clasificación, así se tiene el Luminal A, Luminal B, Basal-like y Her2Neu positivo.

El tipo luminal corresponde al 67 % de los tumores

presentando un perfil de expresión génica que se asemeja al componente epitelial luminal del tejido mamario. Suelen corresponder a un grado histológico I, son de buen pronóstico y responden al tratamiento hormonal.

El tipo luminal puede ser:

Luminal A: que son tumores receptores de estrógeno positivos, receptores de progesterona positivo o negativos, Her2Neu negativos.

Luminal B: receptores de estrógeno positivos, receptores de progesterona positivo, Her2Neu positivo.

Basal-like: receptores de estrógeno negativos, receptores de progesterona negativos, Her2Neu negativo.

Her2Neu: receptores de estrógeno negativos, receptores de progesterona negativos, Her2Neu positivo.

El tipo basal representa un perfil de expresión génica similar al de las células mioepiteliales del tejido mamario normal. Son receptores de estrógeno y progesterona negativos y presentan baja expresión del Her2Neu (llamados triple negativos). Presentan inmuno-reactividad para citoqueratina 5/6 y 17, suelen corresponder a un grado histológico 3, son de mal pronóstico, no se benefician con el tratamiento hormonal ni con el trastuzumab y solamente se puede utilizar quimioterapia en el tratamiento sistémico.

Estos tumores representan entre 10 % al 20% de todos los tipos de cáncer de mama.

Afecta a mujeres más jóvenes, se ha observado en menores de 35 años de edad, afectan a mujeres latinoamericanas y raza negra, siendo más común en la población afro americana.

El tipo Her2Neu corresponde a los tumores que suelen sobre expresar el Her2Neu al ser identificado por inmunohistoquímica o por FISH, no presentan positividad para receptores de estrógeno, suelen ser grado histológico 3. En comparación con el tipo luminal, el compromiso ganglionar es dos veces mayor, presentan una mayor sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante con antraciclinas y taxanos, puede utilizarse trastuzumab para el tratamiento (11,51,52).

REFERENCIAS

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2012, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC. OMS.
2. Capote L. Programa de Oncología. Registro Central de Cáncer. Venezuela. MPPS. 2012.

FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS EN EL CÁNCER DE MAMA

3. Clark GM. Do we really need prognostic factors for breast cancer? *Breast Cancer Res Treat.* 1994;30(2):117-126.
4. Domínguez MA, Marcos M, Meiriño R, Villafranca E, Dueñas M, Arias F, et al. Factores pronósticos y predictivos en el cáncer de mama temprano. *Anales Sis San Navarra.* 2001;24:99-110.
5. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, Connolly JL, Schmitt S, et al. Relationship of patient age to pathologic of the tumor and prognosis for patients with Stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol.* 1994;12:888-894.
6. Kim JK, Kwak BS, Lee JS, Hong SJ, Kim HJ, Son BH, et al. Do very young Korean breast cancer patients have worse outcomes? *Ann Surg Oncol.* 2007;14(12):3385-3391.
7. Hall JM, Lee MK, Newmann B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, et al. Linkage of early onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science.* 1990;250:1684-1689.
8. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature.* 1995;378:789-792
9. Offit K. Are BRCA1- and BRCA2-associated breast cancer different? *J Clin Oncol.* 2000;18(21 Suppl):104S-106S.
10. Miki I, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science.* 1994;266:66-71.
11. Abalo ER. Estrategias de prevención del cáncer de mama y su impacto sobre la evolución de la enfermedad. Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. Departamento de Ginecología y Obstetricia. Argentina. 2007.
12. Axelsson CK, Mouridsen HT, Zedeler K. Axillary dissection of level I and II lymph nodes is important in breast cancer classification. The Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). *Eur J Cancer.* 1992;28A:1415-1418.
13. Veronesi U, Galimberti V, Zurrada S, Merson M, Greco M, Luini A. Prognostic significance of number and level of axillary node metastases in breast cancer. *Breast.* 1993;2:224-228.
14. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project protocol B-06: 10 year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer.* 1993;71:2507-2514.
15. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer.* 1989;63:181-187.
16. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:966-978.
17. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrada S, Bedoni M, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet.* 1997;349:1864-1867.
18. Krag D, Weaver D, Ashikaga T, Moffat F, Klimberg VS, Shriver C, et al. The sentinel node in breast cancer. A multicenter validation study. *N Engl J Med.* 1998;339:941-946.
19. Weaver DL, Krag DN, Ashikaga T, Harlow SP, O'Connell M. Pathologic analysis of sentinel and nonsentinel lymph nodes in breast carcinoma: A multicenter study. *Cancer.* 2000;88:1099-1107.
20. Tjan-Heijnen V, Pepels M, de Boer M, Borm G, van Dijk J, van Deurzen C. Impact of omission of completion axillary lymph node dissection (cALND) or axillary radiotherapy (ax RT) in breast cancer patients with micrometastases (pN1mi) or isolated tumor cells (pN0[i+]) in the sentinel lymph node (SN): Results from the MIRROR study. American Society of Clinical Oncology (ASCO) 45th Annual Meeting. *J Clin Oncol.* 27:18s, 2009. (suppl;abstr CRA506).
21. Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, Duncan LJ, Hutter RV. Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b N0 M0). *Cancer.* 1995;76:2266-2274.
22. Morales H, Silva S, Lemos B, Ferrar M, Rocha L, Aparecida H, et al. Factores pronósticos. *Cáncer de mama.* 2^a edición. Mc Graw-Hill Interamericana; 2007;5(1):318-323.
23. Saiz E, Toonkel R, Poppiti RJ Jr, Robinson MJ. Infiltrating breast carcinoma smaller than 0.5 centimeters: Is lymph node dissection necessary? *Cancer.* 1999;85:2206-2211.
24. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Norton L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: Analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol.* 1993;11:2090-2100.
25. Pereira H, Pinder SE, Sibbering DM, Galea MH, Elston CW, Blamery RW, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. IV: Should you be a typer or a grader? A comparative study of two histological prognostic features in operable breast carcinoma. *Histopathology.* 1995;27:219-226.
26. Trendell-Smith NJ, Peston D, Shousha S. Adenoid cystic carcinoma of the breast: A tumor commonly devoid of oestrogen receptors and related proteins. *Histopathology.* 1999;35:241-248.
27. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1 409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer.* 1957;11:359-377.

28. 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;19:403-410.
29. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project protocol B-06. 10-year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer*. 1993;71:2507-2514.
30. Gómez M. Inmunohistoquímica en el cáncer de mama. Curso de patología mamaria: Cáncer de mama. XXVI Congreso Venezolano de Cirugía. 2001:28-30.
31. Hammond ME, 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. *J Clin Oncol*. 2010;28:2784-2795.
32. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*. 1998;11(2):155-168.
33. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235(4785):177-182.
34. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*. 1989;244(4905):707-712.
35. Hayes DF, Yamuchi H, Sterns V, Brozman M, Isaac C, Trock B. Should all breast cancers be tested for c-erbB-2? *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2000:257-265.
36. Benz CC, Scott GK, Sarup JC, Johnson RM, Tripathy D, Coronado E, et al. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;24(2):85-95.
37. Paik S, Bryant J, Park C, Fisher B, Tan-Chiu E, Hyams D, et al. ErbB-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90(18):1361-1370.
38. Eifel P, Axelson JA, Costa J, Crowley J, Curran WJ Jr, Deshler A, et al. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: adjuvant therapy for breast cancer, November 1-3, 2000. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93:979-989.
39. Pietras RJ, Arboleda J, Reese DM, Wongvipat N, Pegram MD, Ramos L, et al. HER-2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promotes hormone-independent growth in human breast cancer cells. *Oncogene*. 1995;10(12):2435-2446.
40. Benz CC, Scott GK, Sarup JC, Johnson RM, Tripathy D, Coronado E, et al. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;24:85-95.
41. Muss HB, Thor AD, Berry DA, Kute T, Liu ET, Koerner F, et al. C-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med*. 1994;330:1260-1266.
42. Pinder SE, Ellis IO, Galea M, O'Rourke S, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion: Relationship with recurrence and survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1994;24:41-47.
43. Michalides R, Hageman P, van Tinteren H, Houben L, Wientjens E, Klompmaaker R, et al. A clinicopathological study on overexpression of cyclin D1 and of p53 in a series of 248 patients with operable breast cancer. *Br J Cancer*. 1996;73(6):728-734.
44. Linn SC, Honkoop AH, Hoekman K, Van der Valk P, Pinedo HM, Giaccone G. P53 and P-glycoprotein are often co-expressed and are associated with poor prognosis in breast cancer. *Br J Cancer*. 1996;74(1):63-68.
45. Wakasugi E, Kobayashi T, Tamaki Y, Ito Y, Miyashiro I, Komoike Y, et al. P21(Waf1/Cip1) and p53 protein expression in breast cancer. *Am J Clin Pathol*. 1997;107:684-691.
46. Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP. Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*. 1992;84:1109-1114.
47. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002;415:530-536.
48. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406:747-752.
49. Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M, Rees CA, Eisen MB, Ross DT, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96:9212-9217.
50. Fan C, Oh DS, Wessels L, Weigelt B, Nuyten DS, Nobel AB, et al. Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer. *N Engl J Med*. 2006;355:560-569.
51. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics*. 2006;7:96.
52. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol*. 2005;23:7350-7360.