

Clasificación molecular simplificada del carcinoma ductal infiltrante unifocal pT1: identificación de subgrupos biológicamente diferenciados

J. Schneider, A. Tejerina Gómez¹, J. Sánchez¹, C. Perea¹, A. Tejerina Bernal¹, A. R. Lucas¹

Universidad Rey Juan Carlos. Facultad de Ciencias de la Salud. Alcorcón, Madrid.

¹Fundación Tejerina-Centro de Patología de la Mama. Madrid

RESUMEN

Antecedentes: Trabajos recientes, utilizando la tecnología de "microarrays" han resultado en una nueva clasificación pronóstica del cáncer de mama basada en el perfil genético de los tumores. Las diferencias en la supervivencia de las pacientes pertenecientes a los diferentes subgrupos que establece esta nueva clasificación son altamente significativas. Sin embargo, ninguno de los citados estudios ha estratificado los tumores por histologías o por tamaños. En el presente trabajo, hemos reclasificado nuestros cánceres de mama más precoces (pT1), pertenecientes exclusivamente al tipo ductal infiltrante, de acuerdo con una versión simplificada de la clasificación molecular arriba aludida, propuesta por sus propios autores.

Material y métodos: Estudiamos 346 cánceres de mama ductales infiltrantes, unifocales, pT1. De ellos, 251 (72,5%) se encuadraron en el grupo luminal A (RE+, RP+, c-erb-B2 -); 45 (13%) fueron triple-negativos, 20 (5,8%) expresaron al mismo tiempo receptores hormonales y c-erb-B2 (tipo luminal B), y 30 (8,7%) expresaron c-erb-B2 en ausencia de receptores hormonales (tipo HER2).

Resultados: Durante el análisis estadístico, resultó evidente que los tumores tipo luminal B y los HER2 presentaban idénticas, o casi idénticas correlaciones con los factores clínicos y moleculares estudiados, y fueron finalmente encuadrados en un solo grupo de tumores con expresión de c-erb-B2, sin tener en cuenta la coexpresión o no de receptores hormonales.

Comparando los tumores del grupo luminal A con el resto, los primeros mostraron una correlación significativamente inversa con un grado histológico y nuclear 3 ($r = -0,15$, $p = 0,004$ y $r = -0,40$, $p < 0,0001$, respectivamente), con la expresión de p53 ($r = -0,45$, $p < 0,0001$) y un índice de Ki67 superior al 20% ($r = -0,42$, $p < 0,0001$). Cuando, recíprocamente, se compararon los tumores triple-negativos con el resto, obtuvimos una imagen prácticamente especular: correlación significativa, directa esta vez, con grado nuclear 3 ($r =$

$0,29$, $p < 0,0001$), p53 ($r = 0,20$, $p = 0,0001$) y Ki67 superior al 20% ($r = 0,30$, $p < 0,0001$). Resultados muy similares a estos se obtuvieron al comparar los tumores del refundido grupo HER2 con el resto

Conclusión: La clasificación molecular del carcinoma ductal infiltrante pT1 identifica claramente subgrupos biológicamente distintos.

Es necesario realizar estudios en las restantes variedades histológicas menos frecuentes, estratificando por tamaño, para saber qué perfiles genéticos precisos identifican subgrupos similares.

Palabras clave: Carcinoma. Ductal. T1. Clasificación molecular.

SUMMARY

Background: Recent studies using microarray technology have resulted in a new prognostic classification of breast cancer, based on the genetic profile of the tumors. The differences in survival between the women belonging to the different subgroups established by this new classification are highly significant. However, none of the cited studies has stratified the tumors by histology or size. In the present paper, we have reclassified our early breast cancers (pT1) belonging exclusively to the ductal infiltrating variety, according to a simplified version of the above cited molecular classification, as proposed by their authors.

Materials and methods: We studied 346 unifocal, pT1 ductal infiltrating carcinomas. Of them, 251 (72.5%) were classified as luminal A type (ER+, PR+, c-erb-B2 -); 45 (13%) were triple-negative, 20 (5.8%) expressed at the same time hormonal receptors and c-erb-B2 (luminal B type), and 30 (8.7%) expressed c-erb-B2, with absent hormone receptor expression (HER2 type).

Results: During the statistical workup, it became evident that luminal B and HER2-type tumors showed identical, or almost identical correlations with the studied clinical and molecular parameters, and were finally regrouped into a single category of c-erb-B2-expressing tumors, regardless of their hormone receptor status.

Recibido: 07-09-07.
Aceptado: 20-12-07.

Correspondencia: J. Schneider. Fundación Tejerina. C/ Abascal, 40. 28003 Madrid. e-mail: jose.schneider@urjc.es

Comparing the tumors of the luminal A group with the rest, the former showed a significant inverse correlation with histologic and nuclear grade 3 ($r = -0.15$, $p = 0.004$ and $r = -0.40$, $p < 0.0001$, respectively), with p53 expression ($r = -0.45$, $p < 0.0001$), as well as with a Ki67 labelling index $>20\%$ ($r = -0.42$, $p < 0.0001$). Conversely, when triple-negative tumors were compared with the rest, we obtained a virtually specular image: a significant, this time direct correlation with nuclear grade 3 ($r = 0.29$, $p < 0.0001$), p53 ($r = 0.20$, $p = 0.0001$) and Ki67 higher than 20% ($r = 0.30$, $p < 0.0001$). Very similar results were obtained when comparing the re-grouped HER2 subclass with the rest.

Conclusion: The molecular classification of ductal infiltrating pT1 breast cancers clearly identifies biologically different subgroups.

Studies on the other, less frequent histological varieties of breast cancer, stratifying by tumor size, are necessary to disclose which precise gene-expression pattern defines similar subgroups.

Key words: Carcinoma. Ductal. T1. Molecular classification.

INTRODUCCIÓN

Aunque la base del diagnóstico en cáncer de mama sigue siendo la histología clásica, y el factor pronóstico más importante el estado de los ganglios axilares, recientemente han surgido nuevas propuestas de clasificación pronóstica del cáncer de mama utilizando el estudio completo (o casi completo) del genoma mediante la técnica de "microarrays". Dos grupos, uno estadounidense (1) y otro holandés (2) se han distinguido especialmente en este campo.

A partir de sus trabajos pioneros, han surgido nuevas clasificaciones basadas en las características moleculares de los tumores. La más ampliamente aceptada (3) identifica cinco fenotipos de cáncer de mama, con pronóstico significativamente distinto: "luminal A" (con elevada expresión del receptor de estrógenos alfa y genes asociados), "luminal B" (todavía con expresión del receptor de estrógenos alfa, pero a niveles mucho más bajos), "basal" (con expresión de genes característicos de células mioepiteliales, en especial citokeratinas 5/6 y 17), "HER-2" (con expresión de c-erb-B2) y finalmente "tejido mamario normal", aunque se debate si este último tipo es genuino, o simplemente responde a una contaminación de las muestras con RNA de tejido mamario normal, lo que parece plausible (resultaría irónica la existencia de cánceres de mama genéticamente indistinguibles del tejido a partir del cual se generan).

Una versión simplificada de esta clasificación ha sido propuesta por uno de los dos grupos pioneros arriba citados (Perou y cols.), y utiliza para el encasillamiento en los distintos subgrupos de riesgo no los datos proporcionados por el complicado y costoso análisis con "microarrays", sino aquellos suministrados por las determinaciones inmunohistoquímicas que se utilizan rutinariamente

en todos nuestros centros (4). Ellos distinguen cinco grupos en función básicamente de la expresión o no de receptores de estrógenos y progesterona, así como de c-erb-B2, quedando la clasificación como sigue: luminal A (RE+, RP+, c-erb-B2 -); luminal B (RE+/RP+ c-erbB2+); HER2+ (c-erb-B2+, receptores hormonales); "basal" (triple negativo, con la opción adicional de medir positividad para citokeratina 5/6 y/o HER1-EGFr); grupo indeterminado, negativo para los cinco marcadores.

Utilizando cualquiera de las dos clasificaciones, se obtienen supervivencias significativamente distintas entre los varios subgrupos, que se hacen especialmente acusadas cuando se compara a los tumores tipo luminal A con los basales o los HER2.

A parte de la novedad conceptual que supone el establecimiento del pronóstico a partir de factores biológicos propios de cada tumor, abandonando en cierto modo los factores pronósticos tradicionales, y en especial el estado ganglionar axilar, que no se contempla en ninguno de los citados estudios, este nuevo enfoque ha permitido aventurar explicaciones para hechos que hasta ahora carecían de ella. Entre ellos, el más llamativo era el de la diferente supervivencia asociada a la raza de las mujeres, siendo casos extremos en este sentido las mujeres americanas de raza negra (peor pronóstico) y las japonesas (mejor pronóstico). Estudios recientes (4) sugieren que estas diferencias pueden estar directamente relacionadas con la proporción de carcinomas de tipo basal y luminal A característica de cada raza. Concretamente, en mujeres americanas de raza negra premenopáusicas, se da una mayor prevalencia de tumores metaplásicos, anaplásicos o indiferenciados en la variedad de tipo basal, mientras en las mujeres japonesas se da una prevalencia significativamente mayor de tumores de tipo luminal A.

En este contexto altamente novedoso, sin embargo, sorprende enormemente un hecho: ni el grupo de Perou (1), ni el holandés de van't Veer (2) en sus dos trabajos fundamentales, que han supuesto el estímulo para todos los posteriores, han estratificado sus resultados por la variedad histológica de los tumores estudiados. Y esto es llamativo, porque sobre todo si vamos a emplear la clasificación simplificada, basada en la expresión de receptores hormonales y c-erb-B2, sabemos desde hace mucho tiempo que las diferencias de expresión en función de la variedad histológica de estos dos factores es muy grande. Así, los carcinomas lobulillares infiltrantes característicamente no suelen expresar c-erb-B2, siendo su pronóstico, sin embargo, idéntico globalmente a los ductales infiltrantes. En el otro extremo, los carcinomas medulares característicamente suelen expresar c-erb-B2, y su pronóstico, estadio por estadio, es mejor que el de las dos variedades anteriores.

Finalmente, y dando por buena la teoría universalmente aceptada del origen monoclonal del cáncer, otro factor distorsionante que no ha sido tenido en cuenta en los dos estudios citados es el tamaño tumoral, resultando obvio que, a medida que avanza el crecimiento tumoral, y au-

menta el tamaño, pueden surgir subclones con expresión génica diferenciada con respecto al clon original.

Cabe, por tanto, la posibilidad teórica de que los trabajos de Perou y cols. (1), y de van't Veer y cols. (2) posean un sesgo debido a la presencia de diferentes variedades histológicas con expresión génica intrínseca distinta, así como de tumores de gran tamaño, que hayan permitido la aparición de subclones diferenciados.

Con esto en mente, hemos decidido realizar el presente estudio, restringido a tumores de una única variedad histológica, la más frecuente (carcinomas ductales infiltrantes), y a un único tamaño tumoral, el más pequeño (tumores unifocales pT1, de menos de 2 cm en la muestra anatomopatológica), considerando que tumores de dicho tamaño son los que más probablemente reflejen las características moleculares del clon oncogénico original.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre enero de 1993 y diciembre de 2006 fueron operados en la Fundación Tejerina-Centro de Patología de la Mama de Madrid 346 carcinomas ductales infiltrantes unifocales, con un diámetro igual o inferior a 2 cm en la preparación anatomopatológica (pT1). Todos los tumores fueron diagnosticados por el mismo patólogo (ARL), y la inmunohistoquímica fue realizada por las dos mismas técnicas de laboratorio, utilizando los mismos kits y anticuerpos, y finalmente interpretada por un único patólogo (JS).

Mediante inmunohistoquímica se determinó la expresión de receptores hormonales (RE y RP), HER2 (c-erbB2), p53 y Ki67. La técnica, así como los anticuerpos empleados y las condiciones han sido descritos extensamente en trabajos anteriores (5,6), y referimos al lector a ellos para detalles que le puedan interesar. Únicamente quisiéramos destacar aquí el hecho de que el anticuerpo monoclonal empleado para detectar receptores de estrógenos (NCL-ER-6F 11), de los laboratorios Novocastra, Newcastle, Reino Unido, reconoce selectivamente el receptor de estrógenos alfa. Este dato es de suma importancia, puesto que la seña de identidad distintiva, en especial de los tumores de tipo luminal A, es precisamente la expresión del receptor alfa.

Además, estudiamos la expresión de citokeratina 5/6 en todos los tumores "triple-negativos" y en un número igual de controles elegidos al azar del resto de la serie, utilizando para ello el anticuerpo monoclonal DakoCytomation D5/16 (DakoCytomation, Glostrup, Dinamarca) a dilución 1:50 con pretratamiento térmico en buffer citrato (Figs. 1 y 2). Las muestras se consideraron positivas para citokeratina 5/6 cuando más del 10% de las células tumorales presentaron tinción específica (Fig. 2). Como control positivo interno utilizamos células mioepiteliales inmunorreactivas de tejido mamario normal de la misma muestra (Fig. 1).

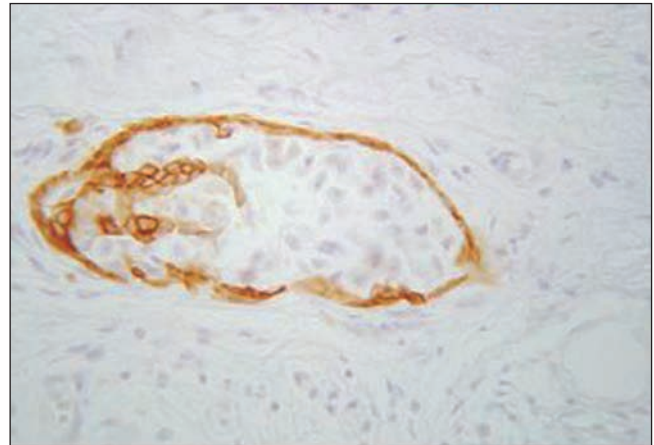


Fig. 1. Detección mediante inmunohistoquímica de citokeratina 5/6 en células del estrato basal de conductos mamarios normales. Inmunoperoxidasa x 400.

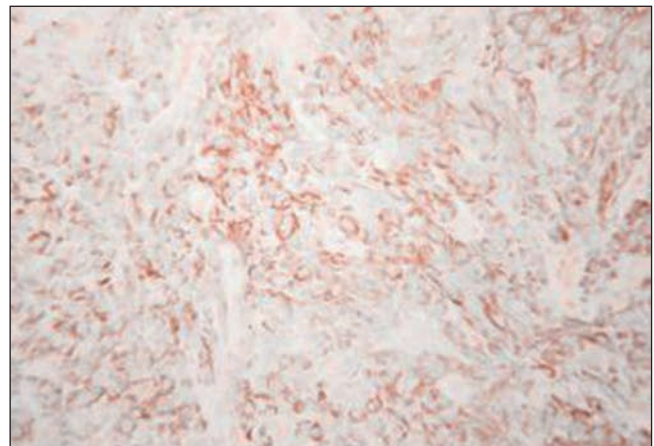


Fig. 2. Detección mediante inmunohistoquímica de citokeratina 5/6 en cáncer de mama ductal infiltrante unifocal pT1. Reacción intensa en las células tumorales, comparadas con el estroma inerte circundante. Inmunoperoxidasa x 250.

Otras variables incluidas en el análisis estadístico final fueron el tamaño tumoral y el estado ganglionar axilar. De los 346 tumores estudiados, 6 fueron T1a, 88 T1b y 252 T1c. La axila fue positiva en 99 de los 346 casos (28,6%).

La asociación entre la pertenencia a los distintos grupos pronósticos moleculares y las variables del estudio se estudió mediante tablas de contingencia y el test de chi cuadrado, y el grado de correlación mediante el test no paramétrico de Spearman, todo ello con la ayuda del programa estadístico GraphPad Prism package (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EE.UU.). Los valores se consideraron significativos, cuando la p fue inferior a 0,05.

RESULTADOS

Tras aplicar la clasificación simplificada propuesta por Carey y cols. (4), de nuestros 346 tumores, 251 (72,5%) se encuadraron en el grupo luminal A, 45 (13%) fueron triple-

Tabla I. Correlación de los diferentes subtipos moleculares de carcinomas ductales infiltrantes unifocales pT1 en función de la expresión de c-erb-B2 y receptores hormonales con parámetros clínicos y biológicos

	Luminal A		HER2 + Luminal B		"triple-negativo"	
	r	p	r	p	r	p
Tamaño < > 10 mm	- 0,04	0,45	0,03	0,49	0,1	0,06
Invasión ganglionar	0,01	0,82	0,005	0,42	0,03	0,50
Grado histológico 3	- 0,15	0,004*	0,15	0,004*	0,045	0,10
Grado nuclear 3	- 0,40	< 0,0001*	0,24	< 0,0001*	0,29	< 0,0001*
Ki67 > 20%	- 0,45	< 0,0001*	0,33	< 0,0001*	0,30	< 0,0001*
p53	- 0,45	< 0,0001*	0,48	< 0,0001*	0,20	< 0,0001*

* = valores significativos.

negativos, 20 (5,8%) expresaron al mismo tiempo receptores hormonales y c-erb-B2 (tipo luminal B), y 30 (8,7%) expresaron c-erb-B2 en ausencia de receptores hormonales (tipo HER2).

Durante el análisis estadístico, resultó evidente que los tumores tipo luminal B y los HER2 presentaban idénticas, o casi idénticas correlaciones con los factores clínicos y moleculares estudiados, y fueron finalmente encuadrados en un solo grupo de tumores con expresión de c-erb-B2, sin tener en cuenta la coexpresión o no de receptores hormonales.

Comparando los tumores del grupo luminal A con el resto, mostraron una correlación significativamente inversa con un grado histológico y nuclear 3 ($r = - 0,15$, $p = 0,004$ y $r = - 0,40$, $p < 0,0001$, respectivamente), con la expresión de p53 ($r = - 0,45$, $p < 0,0001$) y un índice de KI67 superior al 20% ($r = - 0,42$, $p < 0,0001$). Cuando, recíprocamente, se compararon los tumores triple-negativos con el resto, obtuvimos una imagen prácticamente especular: correlación significativa, directa esta vez, con grado nuclear 3 ($r = 0,29$, $p < 0,0001$), p53 ($r = 0,20$, $p = 0,0001$) y Ki67 superior al 20% ($r = 0,30$, $p < 0,0001$). Resultados muy similares a estos se obtuvieron al comparar los tumores del refundido grupo HER2 con el resto (Tabla I).

Sin embargo, en un subanálisis efectuado con respecto a la expresión de p53 estratificando por los cuatro grupos originales, llama la atención el hecho de que la mayor correlación se obtuvo con los tumores HER2 puros, sin expresión de receptores hormonales (18 de 30 casos, 60%), seguido de los triple-negativos y luminales B (ambos 35%), mientras tan sólo el 6% de los tumores de tipo luminal A expresaron p53 (Fig. 3).

Ninguno de los subgrupos estudiados, por otro lado, presentó la más mínima correlación con el estado ganglionar axilar, corroborando todos los resultados previos referidos en la bibliografía.

Sorprendentemente, cuando estudiamos la expresión de citokeratina 5/6 en el subgrupo de los tumores triple-negativo, tan sólo 15 de ellos (33,3%) mostraron algún tipo de reactividad, frente a 9 de 44 casos (20,5%) en el grupo control. De estos últimos, 40 pertenecían al subgrupo luminal A, y los 4 restantes al subgrupo HER2. La diferencia en la tasa de expresión no fue estadísticamente significativa. Sin embargo, si consideramos tan sólo aquellos casos con in-

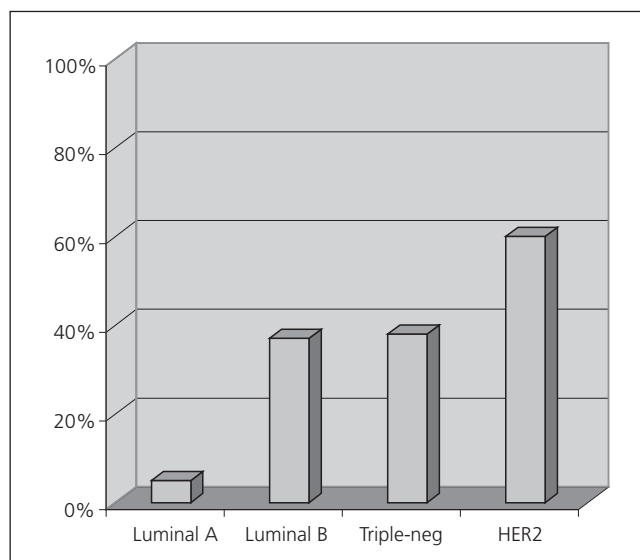


Fig. 3. Expresión de p53 en función del subtipo molecular.

munorreactividad en más del 10% de las células tumorales, hallamos 12 casos positivos (27%) en el grupo de los triple-negativo, frente a tan sólo 3 (7%) en el grupo control, y esta diferencia sí alcanzaría la significación estadística ($p = 0,02$). En cualquier caso, estos hallazgos indican que, al menos en el caso de los carcinomas ductales infiltrantes T1, el binomio triple-negativo/expresión de citokeratinas basales dista mucho de ser un axioma.

DISCUSIÓN

Este es el primer estudio sobre subgrupos moleculares de cánceres de mama pertenecientes a una única variedad histológica, y a un único grupo de la clasificación TNM (pT1). Evidentemente, no nos ha sido posible calcular curvas de supervivencia en función de los distintos subgrupos identificados, dado que la supervivencia global en cánceres de este tamaño es generalmente buena, y el identificar diferencias significativas requiere de un seguimiento muy prolongado. Sin embargo, las correlaciones establecidas con diferentes

parámetros clínicos, y sobre todo biológicos, nos permiten valorar la agresividad relativa de los tumores pertenecientes a los diferentes subgrupos. En este sentido, nuestros datos, nuevamente, muestran una gran similitud con los referidos por Carey y cols. (4) al estudiar su cohorte de tumores pertenecientes a mujeres de raza diferente a la negra norteamericana, ya que el 72,5% de los tumores analizados por nosotros pertenecían al grupo “luminal A”, que son los tumores con un mejor pronóstico intrínseco, excelente respuesta al tratamiento hormonal y mala respuesta al tratamiento con quimioterapia. Recíprocamente, el 13% de nuestros tumores pertenecieron al grupo de los “triple-negativos”, con el peor pronóstico intrínseco. Paradójicamente, en todos los estudios publicados al respecto, estos tumores son los que mejor responden a la quimioterapia (7), aunque en última instancia esto beneficie poco a las pacientes, ya que todas, o casi todas, sucumben finalmente a la enfermedad. En lo referente a este grupo de tumores, Carey y cols. (4) refieren que estos se asocian de un modo significativo a la expresión de p53, un alto índice mitótico, pleomorfismo nuclear y grado histológico alto, que es exactamente lo que nosotros también hemos encontrado (Tabla I). Sin embargo, si comparamos los índices de correlación y la “p”, vemos que nuestras correlaciones son mucho más nítidas, algo fácilmente explicable teniendo en cuenta que hemos restringido nuestro estudio a una única variedad histológica y a un tamaño tumoral pequeño, evitando de este modo los sesgos a los que hemos aludido en la introducción. Es así que hemos podido obtener diferencias significativas en las características biológicas entre todos los grupos estudiados, y no sólo entre ambos extremos (tipo luminal A y “basal”), tal y como refieren Carey y cols. (4). Todo esto indica que, al menos desde el punto de vista puramente biológico, la subdivisión propuesta por Carey y cols. identifica subgrupos claramente distintos en el cáncer de mama ductal infiltrante, ya desde sus estadios más precoces.

Un hallazgo adicional interesante de nuestro estudio es la incidencia significativamente distinta de expresión de p53 en los diferentes subgrupos moleculares estudiados. Esta fue especialmente baja en el grupo luminal A (6%), significativamente más alta en el grupo “triple-negativo” (35%), pero todavía mucho más alta (y de modo muy significativo desde el punto de vista estadístico) en el grupo HER2 puro, con sobreexpresión de c-erb-B2 y ausencia de expresión de receptores hormonales. Estos hallazgos pueden tener profundas implicaciones desde el punto de vista clínico, ya que los tumores HER2 puros, sin expresión de receptores hormonales, sólo son susceptibles en principio de tratamiento quimioterápico (a parte del tratamiento local quirúrgico y eventualmente radioterápico, por supuesto), y en este contexto resulta que p53 es un importante modulador de la resistencia a la quimioterapia, tal y como han puesto de manifiesto recientemente Sorlie y cols. (8) al estudiar las tasas de respuesta a la quimioterapia en función de los perfiles de expresión génica de los tumores.

Desde un punto de vista práctico, nuestra utilización de la clasificación molecular simplificada de Carey y

cols. (4) en el caso específico de los carcinomas ductales infiltrantes de mama pT1 (con exclusión de las demás variedades histológicas) parece identificar con claridad tres subgrupos diferenciados desde el punto de vista biológico: tumores de tipo luminal A, con un pronóstico excelente, y respuesta al mejor tratamiento existente para el cáncer de mama, cuando es eficaz, el hormonal; el grupo de tumores HER2, que teóricamente se podrían beneficiar de la adición de trastuzumab al régimen de tratamiento; y finalmente el grupo de tumores “triple-negativo”, únicamente tributarios de tratamiento quimioterápico sumado al tratamiento local.

Un rasgo llamativo de nuestro estudio, y de todos los anteriores al respecto, es que ninguno de los subgrupos identificados guarda ninguna correlación con el factor pronóstico más importante que todos hemos manejado hasta la fecha, el estado ganglionar axilar. Esto significa que, si en un futuro los tratamientos individualizados del cáncer de mama van a tener lugar básicamente en función de los patrones genéticos de los tumores, y no de los factores pronósticos clásicos, estaremos asistiendo a un cambio de paradigma comprable en magnitud al abandono de la mastectomía radical como tratamiento local estándar durante la segunda mitad del siglo XX.

En conclusión, la clasificación molecular simplificada del carcinoma ductal infiltrante pT1 de mama identifica claramente subgrupos biológicamente distintos. Es necesario realizar estudios en las restantes variedades histológicas menos frecuentes, estratificando por tamaño, para saber qué perfiles genéticos precisos identifican subgrupos similares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human tumours. *Nature* 2000; 406: 747-52.
2. 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: 530-6.
3. Sørlie T. Molecular portraits of breast cancer: Tumor subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer* 2004; 40: 2667-75.
4. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast cancer study. *JAMA* 2006; 295: 2492-502.
5. Nunez-Villar MJ, Martínez-Arribas F, Pollan M, Lucas AR, Sánchez J, Tejerina A, et al. Elevated mammaglobin (h-MAM) expression in breast cancer is associated with clinical and biological features defining a less aggressive tumour phenotype. *Breast Cancer Res* 2003; 5: R65-70.
6. Schneider J, Pollan M, Tejerina A, Sánchez J, Lucas AR. Accumulation of uPA-PAI-1 complexes inside the tumour cells is associated with axillary nodal invasion in progesterone-receptor-positive early breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88: 96-101.
7. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collicchio F, et al. The triple-negative paradox: Primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2329-34.
8. Sorlie T, Perou CM, Fan C, Geisler S, Aas T, Nobel A, et al. Gene expression profiles do not consistently predict the clinical treatment response in locally advanced breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 2194-8.