

El cáncer de mama: un desafío para el patólogo

F. I. Aranda

Servicio de Anatomía Patológica. Hospital General Universitario de Alicante

RESUMEN

Los importantes cambios que se están produciendo en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama hacen necesario, además de los parámetros morfológicos convencionales, una mayor precisión en la información aportada por el patólogo relacionada con parámetros biológicos. La utilización de procedimientos normalizados que garanticen la reproductibilidad y fiabilidad de los resultados y su integración con las características clinicoradiológicas en el seno de unidades multidisciplinarias ha contribuido a mejorar la calidad del diagnóstico anatomopatológico. La aplicación clínica de nuevas herramientas biológicas en desarrollo, como las basadas en el estudio de perfiles de expresión génica (PEG) y su incorporación a los procedimientos de evaluación rutinarios permite vislumbrar un futuro inmediato en el que la información biológica valorada en el contexto clínico y patológico contribuirá a una mejor selección de las herramientas terapéuticas de forma individualizada. Finalmente, los Servicios de Anatomía Patológica tienen un papel fundamental en la custodia del tejido tumoral paraafinado y congelado, como fuente de información con valor clínico y de investigación, y deben contribuir a su desarrollo e integración en redes que faciliten una adecuada explotación de la información generada.

Palabras clave: Cáncer de mama. Diagnóstico patológico. Nuevas herramientas biológicas.

ABSTRACT

The significant changes currently occurring in the diagnosis and therapy of breast cancer require, in addition to conventional morphological parameters, a greater accuracy in the information provided by pathologists regarding biological findings. The use of standard procedures assuring result

reproducibility and reliability, as well as result integration with clinico-radiographic characteristics in the setting of multidisciplinary units, has helped improve the quality of pathological diagnoses. The clinical application of novel biological tools currently under development, including those based on the study of gene expression profiles (GEP), and their incorporation into routine assessment procedures allows a glimpse into the near future, where biological information evaluated in the clinical and pathological setting will contribute to an improved selection of therapeutic tools on an individual basis. Finally, Pathology departments play a fundamental role in watching over frozen, paraffin-embedded tumor tissue as a source of valuable clinical and investigational information, and should contribute to its development and integration into networks to facilitate an adequate exploitation of data obtained.

Key words: Breast cancer. Pathological diagnoses. Novel biological tools.

INTRODUCCIÓN

Los últimos años han sido testigos de importantes avances en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama, generando nuevos procedimientos y sistemas de trabajo que afectan a la actividad del patólogo implicado en el diagnóstico de esta patología. Factores como la introducción de programas de diagnóstico precoz y el mayor grado de complejidad de los procedimientos quirúrgicos y diagnósticos, la especial importancia de lograr una máxima precisión diagnóstica (que debe empezar con un adecuado tratamiento de las biopsias y piezas quirúrgicas desde el quirófano), así como la sistematización de las técnicas inmunohistoquímicas y moleculares, y la integración del patólogo en unidades multidisciplinarias, conlleva importantes esfuerzos en adaptación, con un alto nivel de consumo de recursos técnicos y humanos.

Por lo anterior, merecen especial consideración algunos aspectos referentes al abordaje diagnóstico y terapéu-

tico relacionados con el nuevo papel del patólogo implicado en el estudio de la enfermedad mamaria. Entre los primeros destaca el papel de la biopsia con aguja gruesa, y la posterior clasificación molecular del cáncer basada en PEG, que puede ser reproducida mediante inmunofenotipos. En el plano terapéutico, el patólogo desempeña un papel clave como generador e integrador de información biológica del tumor, vital para la administración del tratamiento sistémico primario (neoadyuvancia). Por último, su responsabilidad en la estructura y organización de los bancos de tumores obliga al especialista en Patología a implicarse en su desarrollo y gestión, para garantizar una adecuada preservación del tejido tumoral que permita la aplicación de las nuevas tecnologías moleculares y contribuya a la investigación traslacional.

BIOPSIA CON AGUJA

Esta técnica ha modificado de forma radical la aproximación diagnóstica a la patología mamaria (1). En los años ochenta el diagnóstico inicial se basaba en la biopsia quirúrgica escisional o incisional, y con gran frecuencia, en el estudio intraoperatorio. En pocos minutos se decidía el destino de la mama de la paciente. Esta estrategia parecía razonable en un momento en que la mayoría los casos se presentaban clínicamente como masa tumoral palpable. Con la incorporación de la mamografía, y el desarrollo de los programas de diagnóstico precoz, se hizo necesario un procedimiento más preciso, que contribuyera a evitar cirugías innecesarias y, en caso de positividad, permitiera disponer de un diagnóstico histopatológico, especialmente en el caso de patología no palpable. El desarrollo de los protocolos de tratamiento sistémico primario hizo imprescindible disponer de datos morfológicos precisos (tipo histológico, grado...) y de las características biológicas del tumor. A las técnicas basadas en la obtención de cilindros con pistola automática, la tecnología añade procedimientos más sofisticados, como la biopsia asistida por vacío, que permite al radiólogo un mejor muestreo de determinadas lesiones no palpables, especialmente microcalcificaciones (2,3), con el consiguiente aumento de precisión diagnóstica gracias al control estereotáxico y a la utilización de agujas de mayor calibre (10-11 G) (4). La complejidad de los diagnósticos hace necesario que el patólogo conozca la forma de presentación y nivel de riesgo radiológico de la lesión, y la técnica utilizada en la obtención, e integre la información del examen microscópico, con una adecuada correlación patológica-radiológica. La biopsia con aguja permite el estudio seriado del tejido y la aplicación de técnicas inmunohistoquímicas que faciliten o complementen el diagnóstico, con un buen nivel de concordancia diagnóstica interobservador, con rendimientos que superan el 95% (5). En caso de diagnóstico de cáncer, se hace necesaria la determinación del estado de los receptores de estradiol, de progesterona y Her-2 (6), especialmente en el

caso de que la paciente requiera tratamiento neoadyuvante. Además del tejido destinado a diagnóstico, la biopsia con aguja o con PAAF (obtención de muestra citológica), permite obtener material para la aplicación de técnicas moleculares en el seno de ensayos clínicos o protocolos especiales de actuación (7). El nivel de concordancia entre los resultados obtenidos en la biopsia con aguja y con la pieza quirúrgica, tanto en lo referente a clasificación de la enfermedad como a parámetros inmunohistoquímicos, es excelente en la mayoría de las series (por encima del 90%), si bien existen casos discordantes atribuibles a la heterogeneidad de las lesiones (8-11). Sin embargo, en el caso de determinadas patologías como las lesiones papilares, la cicatriz radial, la atipia de epitelio plano o la neoplasia lobulillar, las limitaciones de la biopsia con aguja obligan a la escisión quirúrgica para excluir carcinoma *in situ* o infiltrante asociado (12,13). Una adecuada correlación de los resultados anatomopatológicos con los hallazgos radiológicos unida a los nuevos procedimientos basados en biopsia asistida por vacío podría evitar la cirugía en muchas de las pacientes (13-16).

CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA E INMUNOFENOTIPOS

La descripción de los subtipos moleculares del cáncer de mama ha abierto una nueva vía de aproximación diagnóstica y terapéutica de esta enfermedad (17-24). En la actualidad están disponibles diferentes plataformas de micromatrices de ADN como las firmas pronósticas basadas en la tecnología Agilent (MammaPrint®), con sondas de 75 oligonucleótidos (19), o en la Affymetrix con sondas de 25 oligonucleótidos en fotolitografía (25) y otras (Tabla I). Estas técnicas basadas en los PEG están siendo validadas en ensayos como MINDACT de TRANSBIG, basado en MammaPrint® (26-31) o el TAILORx de TBCI, basado en Oncotype DX RS® (29,31-35).

El entusiasmo inicial, sin embargo, se ha visto matizado con la publicación de resultados en ocasiones contradictorios (36), y que se relacionan con la reproductibilidad de las técnicas (37). Por el momento se está a la espera de los resultados de los ensayos en marcha, que contribuirán a que se alcancen los niveles de evidencia exigibles del valor pronóstico de las nuevas técnicas moleculares.

La relativa facilidad de reproducir los subtipos moleculares con técnicas de inmunohistoquímica asequibles en cualquier Servicio de Anatomía Patológica, unido al desarrollo de nuevas vías de tratamiento, han determinado un cambio inmediato en el abordaje diagnóstico y terapéutico de la paciente con cáncer de mama (38). La clasificación basada en las características morfológicas convencionales del tumor define tipos histopatológicos siendo el más habitual el ductal infiltrante no especial (60-70%), correspondiendo el resto a numerosos tipos especiales que constituyen un 20-30% de los casos (39).

Tabla I. Firmas moleculares con valor pronóstico o predictivo en cáncer de mama

Firma molecular	Plataforma	Nº de genes	Objetivo	Referencias
Subtipos moleculares	Agilent	510	Clasificación y pronóstico	(17,18,92)
Firma de Ámsterdam (MammaPrint®)	Agilent	70	Pronóstico. Mujeres jóvenes (< 55 años), N0	(19,23,93)
Firma de Rotterdam	Affymetrix	76	Predicción respuesta tamoxifeno	(25)
Grado genómico	Affymetrix	97	Pronóstico (RH+)	(94)
Índice de recaída (Oncotype DX®)	RT-PCR	21	Pronóstico (RH+, estadio I y II, con N0)	(95)
Firma de p53	Affymetrix	32	Pronóstico	(96,97)
Firma tipo respuesta cicatricial	cADN	512/442	Pronóstico	(98)
Firma de matriz extracelular	Agilent	278	Pronóstico	(99)
Firma célula madre	Affymetrix	11	Pronóstico	(100)
Genomic Health	RT-PCR	16	Respuesta a tamoxifeno	(87)
MD Anderson	Affymetrix	74/30	Quimioterapia neoadyuvante	(89,101)

Los métodos moleculares han permitido identificar la base biológica de subtipos como el lobulillar, caracterizado por la inactivación del gen de la E-cadherina por diferentes mecanismos. El medular y *medular-like* son tipos histológicos del grupo molecular basaloide (*basal-like*), y son los habitualmente observados en pacientes con mutación germinal BRCA1 (40,41), con la consiguiente implicación del patólogo en la identificación del cáncer de mama familiar (42). El grado histológico constituye un parámetro con valor pronóstico independiente que contribuye a una mejor predicción del comportamiento biológico, especialmente cuando se obtiene aplicando procedimientos bien definidos (43).

El desarrollo de la inmunohistoquímica en los años ochenta y noventa permitió aportar información sobre el significado biológico de parámetros como la expresión de receptores de estradiol y progesterona (44), c-erbB2 (Her-2) (45), p53, ciclina D1, bcl-2, Ki-67, citoqueratinas (46), angiogénesis (47,48), que no han demostrado en su mayoría ser factores pronósticos independientes en los análisis multivariante (49), por lo que la aplicación de muchos de estos marcadores tumorales no puede ser recomendada en la práctica clínica (50). Sin embargo, la valoración de algunos de estos parámetros desde la perspectiva aportada por la clasificación molecular basada en matrices de ADN, ha permitido un alto nivel reproductibilidad de los resultados moleculares, con paneles reducidos de anticuerpos (38). Esto ha dado origen a una clasificación en inmunofenotipos sencilla y reproducible (Tabla II), con impacto pronóstico y predictivo de respuesta. Así un 60-70% de los casos correspondería al tipo luminal, caracterizado por la expresión de receptores de estradiol y progesterona, un 18-25% al subtipo Her-2 definido por la sobreexpresión/amplificación de este receptor de factor de crecimiento, y un 15-20% al denominado "triple negativo" (TN), definido por la ausencia de expresión de receptores de estradiol, progesterona, y Her-2 (51-53), que si bien no es equivalente al sub-

tipo basaloide (54,55), puede resultar útil en el manejo clínico de pacientes candidatas a recibir tratamiento neoadyuvante (53,56).

Hasta la fecha no se han definido criterios que permitan identificar los subtipos de luminal con procedimientos inmunohistoquímicos. Algunos autores han utilizado el nivel de expresión de receptores de estradiol, el estado de los receptores de progesterona (57), la actividad proliferativa o el estado de Her-2 (58), Her-3 o Her-4 para definir grupos de riesgo en las pacientes con tumores receptores de estradiol positivos. Es bien conocida la heterogeneidad en el comportamiento y en la respuesta a tratamiento de los tumores RE positivos. El estado de los RE ha sido utilizado como marcador de respuesta a tratamiento hormonal, con un curso clínico mejor de los casos RE positivos. Sin embargo, algunos tumores RE positivos presentan recaída de la enfermedad o menor respuesta al tratamiento hormonal, lo que indica la necesidad de biomarcadores adicionales (59). La determinación del estatus de receptores de estradiol y progesterona mediante estudios inmunohistoquímicos se generalizó en los años noventa, gracias entre otras circunstancias a la disponibilidad de anticuerpos con capacidad de reconocer epítomos resistentes al proceso de inclusión en parafina. La aplica-

Tabla II. Cáncer de mama: subtipos moleculares y marcadores inmunohistoquímicos

Subtipo molecular (17,18,38)	Marcadores
Luminal A	↑ RE, ↑ RP, ↓ Ki-67
Luminal B	↑ RE, ↓ RP, ↑ Ki-67, Her-3, Her-4
Her-2	Her-2 (3+) Her-2 (2+) con amplificación FISH
Basaloide	CK 5, CK 14, CK 17, p53, p63, EGFR, c-kit, VEGF, αB-cristalina, fascina

ción de esta tecnología en la mayoría de los Servicios de Anatomía Patológica hizo accesible evaluación como su diana terapéutica, y la aplicación fundamentada del tratamiento con tamoxifeno o con inhibidores de aromatasas. La determinación del estatus de receptores de estradiol (RE- α) constituye la primera determinación de una diana terapéutica realizada por los patólogos. Sin embargo, el uso del tamoxifeno se limita en la mayoría de los casos a una media de 15 meses, y se desarrolla resistencia al tratamiento en un 80% de las pacientes. Los cambios moleculares que ocurren en este proceso no son bien conocidos (58). Más recientemente ha sido descrito el RE- β , codificado por ESR2, que parece jugar un importante papel en la función de los órganos reproductores femeninos. En el cáncer de mama, RE- β parece actuar como un represor de la actividad transcripcional de RE- α (60), y su expresión en el cáncer de mama se asocia con una mayor actividad proliferativa celular (61). Existen, por otra parte, factores que interactúan con RE- α y que podrían proporcionar nuevas dianas frente a la terapia endocrina. Es importante clarificar la regulación transcripcional mediada por RE y los cambios que pueden contribuir a la resistencia a tamoxifeno (60).

La irrupción de los tratamientos frente a receptores con actividad tirosinquinasa como trastuzumab (62) obligaron a la determinación del estatus de Her-2 mediante la valoración de la expresión inmunohistoquímica o por estudio del número de copias del gen mediante FISH (63-66) (Fig. 1). La importante variabilidad en la metodología, condicionada desde el quirófano por tiempo de demora de fijación del tejido, tiempo de fijación, tipo de recuperación antigénica, anticuerpo utilizado, sistema de detección, sistema de valoración, experiencia del observador, por citar sólo las más evidentes, hicieron necesaria la introducción de seguimientos de calidad internos y externos (67), como el desarrollado en nuestro país por la Sociedad Española de Anatomía Patológica. Estos programas contribuyen a garantizar la calidad de los procedimientos, y deben ser un requisito altamente recomendable para cualquier servicio que aplique esta tecnología. La farmacopatología constituye una rama especial de la inmunohistoquímica, que requiere un especial cuidado en la metodología con un seguimiento de la reproductibilidad de los resultados, lo que obliga a establecer criterios de tecnificación y valoración bien definidos (64,68,69).

A pesar de que en la actualidad no disponemos todavía de criterios de consenso que definan el subtipo basalioide, sus características biológicas, con una gran agresividad local y capacidad de metástasis, hacen que la única herramienta de tratamiento disponible, además de la cirugía, sea la quimioterapia, con un nivel de respuesta estimado en neoadyuvancia en torno al 20-25% (56,70). Sabemos que se trata de un subgrupo heterogéneo, con expresión variable de citoqueratinas basales, c-kit, Her-1, marcadores mioepiteliales, p53 y otros (71,72) (Fig. 2). La alteración de diferentes vías tumorales en los TN hace

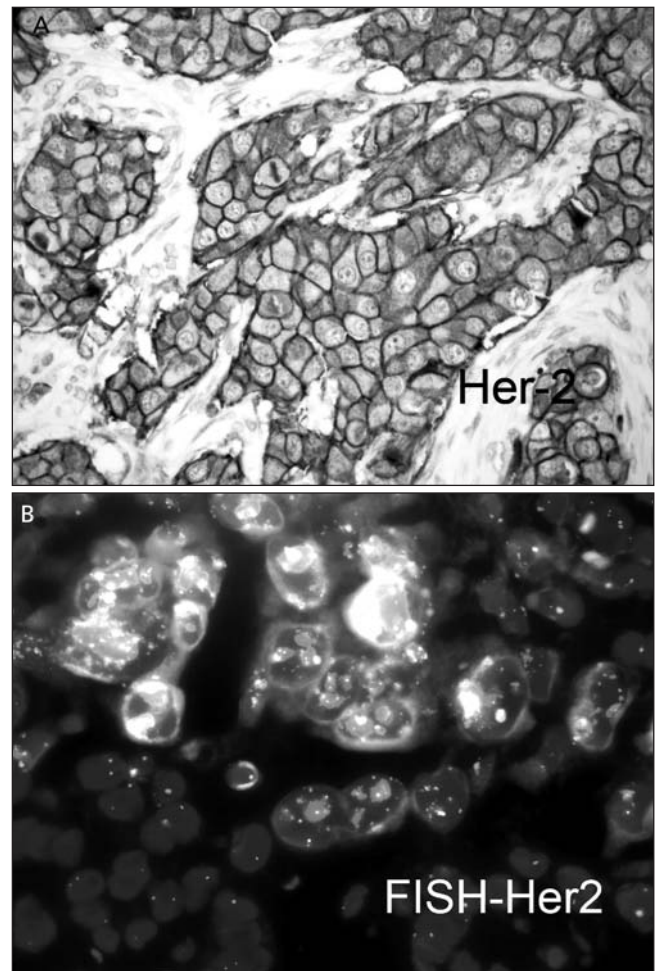


Fig. 1. Carcinoma ductal infiltrante Her-2 positivo. A: Sobrexpresión de c-erbB2, 3+ (HercepTest® x 400). B: Amplificación de Her-2 mediante FISH (Her-2 FISH PharmDx®, Dako).

necesario un mejor conocimiento de sus características moleculares para poder aplicar nuevas herramientas terapéuticas que actúen sobre dianas previamente reconocidas. En la actualidad se encuentran en fase de ensayo clínico nuevas combinaciones terapéuticas que incluyen fármacos antiangiogénicos o con actividad inhibidora de la tirosinquinasa (54).

Con independencia de la utilidad, accesibilidad y bajo coste económico de las determinaciones inmunohistoquímicas, parece clara la progresiva incorporación de la tecnología basada en PEG con micromatrices de ADN (73). Es previsible un progresivo abaratamiento y mejora de la calidad de información proporcionada por esta tecnología, lo que facilitará su incorporación a la práctica clínica, de manera similar a lo ocurrido con la inmunohistoquímica en los años noventa.

Los numerosos datos obtenidos de los estudios macroscópicos, microscópicos, inmunohistoquímicos y moleculares deben reflejarse en informes normalizados que contribuyan a una mejor interpretación de los resultados y a la

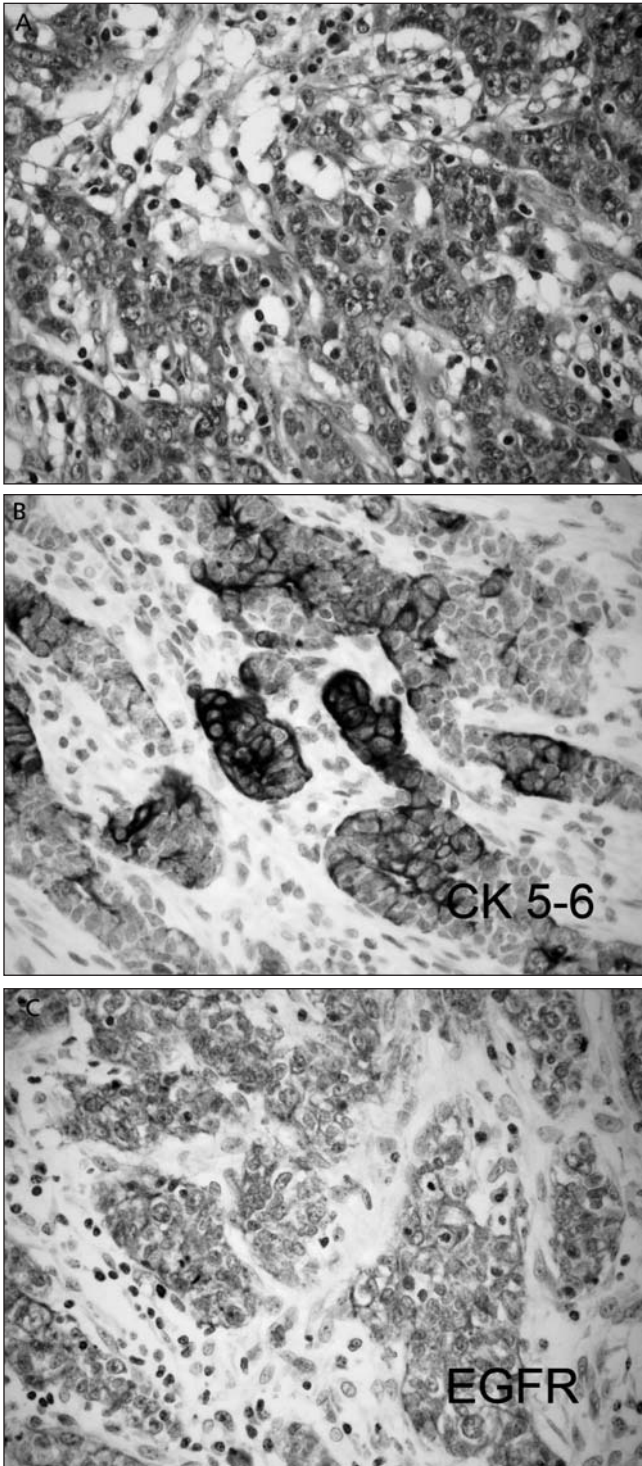


Fig. 2. Carcinoma ductal infiltrante de mama de tipo basaloide. A: Carcinoma infiltrante grado histológico III, con estroma rico en linfocitos. B: Positividad inmunohistoquímica para citoqueratina 5-6. C: Receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR/Her-1) ($\times 400$).

recuperación de la información mediante herramientas que faciliten su explotación estadística. Los programas de calidad internos y de acreditación externos, actualmente en de-

sarrollo, deberán velar por que se cumplan los niveles de calidad requeridos. La metodología inmunohistoquímica y molecular exige unos mínimos que hacen necesaria la centralización de determinados estudios, como ya se realiza en otros países de nuestro entorno. Sólo así será posible un desarrollo eficaz y eficiente de la nueva tecnología diagnóstica y un abordaje “molecular” del tratamiento del cáncer de mama.

TRATAMIENTO SISTÉMICO PRIMARIO. PAPEL DEL PATÓLOGO Y NUEVOS RETOS

El tratamiento sistémico primario (TSP), o quimioterapia neoadyuvante, constituye una alternativa en las pacientes con cáncer de mama con el objetivo de mejorar sus opciones quirúrgicas, para determinar la respuesta del tumor al tratamiento y para aumentar el tiempo libre de enfermedad (74-77). La introducción del trastuzumab (Herceptin®) en protocolos de TSP en pacientes con tumores Her-2 positivos ha permitido la obtención de respuestas patológicas completas de hasta en el 60% de los casos (78). Por otra parte, el cáncer de mama TN no se beneficia del tratamiento hormonal o con trastuzumab, ya que carece de las dianas sobre las que actúan estos fármacos (56). Sin embargo, el TN parece presentar una mayor quimiosensibilidad que los luminales (caracterizados por la expresión de receptores de estradiol, entre otros genes), con respuestas clínicas en torno al 85% y patológicas completas en torno al 27%, contra el 47 y 7% de los luminales, respectivamente (70). La biopsia con aguja es particularmente útil en el caso de TSP, ya que, además del diagnóstico, permite la clasificación histológica, graduación del tumor y obtención del estado de los receptores de estradiol y de progesterona, además del Her-2 mediante inmunohistoquímica y FISH. Esta información permite una clasificación molecular del tumor que resulta imprescindible para valorar cuál es el tratamiento más adecuado de forma individualizada.

Tras el procedimiento quirúrgico el patólogo debe valorar el nivel de respuesta en la mama y en los ganglios linfáticos al tratamiento aplicado. Para esta valoración es imprescindible contar con la información clínica y radiológica, proporcionada preferentemente a través de su participación en la unidad multidisciplinaria, y aplicar un examen macroscópico y microscópico riguroso, que en caso de tratamiento conservador, obliga a la inclusión de la práctica totalidad del tejido remitido, especialmente si el tumor no es identificado macroscópicamente. Para la valoración de la respuesta se han propuesto diferentes procedimientos, algunos en los que sólo se considera si existe respuesta patológica completa (R_{Pc}) (79-81), definida como ausencia total de carcinoma infiltrante en la mama y en los ganglios linfáticos, o que tratan de estimar el volumen tumoral residual, como el de Miller y Payne (82) con la utilización de una escala de 5 puntos, y una valoración adicional de los ganglios linfáticos, o como el índice RCB (*Residual Cancer Burden*), del MD Ander-

son (83,84). En general, los carcinomas de grado alto, alta actividad proliferativa, negatividad para receptores y positividad para Her-2 presentan más probabilidades de RPc (84). Por otra parte, la valoración dual de enfermedad residual y RPc ha sido considerada por algunos autores demasiado reduccionista. Algunos pacientes con respuesta casi completa podrían tener un curso clínico tan favorable como aquellos con RPc. Por ello se han desarrollado métodos cuantificación de respuesta siguiendo una escala continua (*Residual Cancer Burden Score*), graduada en 4 categorías (84), y que puede ser obtenida a través de una fórmula disponible en la red (85).

Además de los subtipos moleculares (86), marcadores como topoisomerasa IIA, IGFR, o proteína tau, pueden tener utilidad como indicadores de respuesta a tratamiento con taxanos o antraciclinas. Algunos test farmacogenómicos con valor pronóstico de respuesta se encuentran en fase de validación para comprobar su capacidad como test predictivos de respuesta como se mencionó anteriormente.

BANCOS DE TUMORES. RESPONSABILIDAD DEL PATÓLOGO EN SU DESARROLLO Y GESTIÓN

Una de las responsabilidades tradicionalmente asumidas por los Servicios de Anatomía Patológica ha sido el archivo y custodia del material anatomopatológico generado en forma de preparaciones microscópicas permanentes y bloques de tejido parafinado. En general, el archivo rutinario de este material en condiciones asequibles, ha facilitado la revisión de casos muchos años después del diagnóstico inicial, y la aplicación de nuevas técnicas inmunohistoquímicas o moleculares para la evaluación de factores predictivos o en el estudio de diagnóstico diferencial de segundos tumores.

Las nuevas técnicas moleculares requieren en muchos casos tejido fresco o congelado en condiciones idóneas. La política de creación de bancos de tumores (BT), de gran importancia para el desarrollo de la investigación básica y traslacional, además de su utilidad clínica, hace necesario un cambio en la estrategia de funcionamiento de los Servicios de Anatomía Patológica, que también afecta al área quirúrgica. Las piezas quirúrgicas tumorales deben ser remitidas de forma inmediata tras su obtención a los Servicios de Anatomía Patológica donde deberán ser examinadas por el patólogo, que realizará una adecuada selección del tejido a congelar (87,88). Debe disponerse, además de personal experimentado y equipamiento específico, de un adecuado soporte informático, medidas de seguridad y garantías de confidencialidad (89). Es altamente recomendable que los BT estén integrados en redes coordinadas que hagan posible el acceso al material para una adecuada explotación científica (90). Los Servicios de Anatomía Patológica deben adecuar sus estructuras y organización para hacer posible el desarro-

llo de estos BT, base de la investigación multidisciplinar del cáncer dentro de los programas de potenciación de la investigación científica que se desarrollan en nuestro país y en colaboración con la comunidad científica internacional. Un excelente ejemplo lo constituye la red de BT coordinada por el CNIO, en el que participan numerosos hospitales españoles (91), o los impulsados desde las diferentes comunidades autónomas. Estas redes contribuirán, sin duda, al desarrollo de la investigación en cáncer de mama.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Paula Toro la revisión del manuscrito y sus interesantes sugerencias.

BIBLIOGRAFÍA

- Hoda SA, Rosen PP. Practical considerations in the pathologic diagnosis of needle core biopsies of breast. *Am J Clin Pathol* 2002; 118: 101-8.
- Sigal-Zafrani B, Muller K, El Khoury C, et al. Vacuum-assisted large-core needle biopsy (VLNB) improves the management of patients with breast microcalcifications-analysis of 1009 cases. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 377-81.
- Hahn M, Okamgba S, Scheler P, et al. Vacuum-assisted breast biopsy: a comparison of 11-gauge and 8-gauge needles. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 51.
- Liberman L. Percutaneous image-guided core breast biopsy. *Radiol Clin North Am* 2002; 40: 483-500.
- Collins LC, Connolly JL, Page DL, et al. Diagnostic agreement in the evaluation of image-guided breast core needle biopsies: results from a randomized clinical trial. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 126-31.
- Kaneko S, Gerasimova T, Butler WM, et al. The use of FISH on breast core needle samples for the presurgical assessment of HER-2 oncogene status. *Exp Mol Pathol* 2002; 73: 61-6.
- Pusztai L, Anderson K, Hess KR. Pharmacogenomic predictor discovery in phase II clinical trials for breast cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 6080-6.
- Jacobs TW, Siziopikou KP, Prioleau JE, et al. Do prognostic marker studies on core needle biopsy specimens of breast carcinoma accurately reflect the marker status of the tumor? *Mod Pathol* 1998; 11: 259-64.
- Douglas-Jones AG, Collett N, Morgan JM, et al. Comparison of core oestrogen receptor (ER) assay with excised tumour: intratumoral distribution of ER in breast carcinoma. *J Clin Pathol* 2001; 54: 951-5.
- Harris GC, Denley HE, Pinder SE, et al. Correlation of histologic prognostic factors in core biopsies and therapeutic excisions of invasive breast carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 11-5.
- Taucher S, Rudas M, Mader RM, et al. Prognostic markers in breast cancer: the reliability of HER2/neu status in core needle biopsy of 325 patients with primary breast cancer. *Wien Klin Wochenschr* 2004; 116: 26-31.
- Dillon MF, McDermott EW, Hill AD, et al. Predictive value of breast lesions of "uncertain malignant potential" and "suspicious for malignancy" determined by needle core biopsy. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 704-11.
- Jacobs TW, Connolly JL, Schnitt SJ. Nonmalignant lesions in breast core needle biopsies: to excise or not to excise? *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 1095-110.
- Ivan D, Selinko V, Sahin AA, et al. Accuracy of core needle biopsy diagnosis in assessing papillary breast lesions: histologic predictors of malignancy. *Mod Pathol* 2004; 17: 165-71.
- Menon S, Porter GJ, Evans AJ, et al. The significance of lobular neoplasia on needle core biopsy of the breast. *Virchows Arch* 2008; 452: 473-9.

16. Nagi CS, O'Donnell JE, Tismenetsky M, et al. Lobular neoplasia on core needle biopsy does not require excision. *Cancer* 2008;112: 2152-8.
17. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747-52.
18. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10869-74.
19. Van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *The New England journal of medicine* 2002; 347: 1999-2009.
20. West M, Blanchette C, Dressman H, et al. Predicting the clinical status of human breast cancer by using gene expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 11462-7.
21. Buchholz TA, Stivers DN, Stec J, et al. Global gene expression changes during neoadjuvant chemotherapy for human breast cancer. *Cancer J* 2002; 8: 461-8.
22. Douglas-Jones AG, Verghese A. Diagnostic difficulty arising from displaced epithelium after core biopsy in intracystic papillary lesions of the breast. *J Clin Pathol* 2002; 55: 780-3.
23. Van't Veer LJ, Paik S, Hayes DF. Gene expression profiling of breast cancer: a new tumor marker. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1631-5.
24. Rakha EA, El-Sayed ME, Reis-Filho JS, et al. Expression profiling technology: its contribution to our understanding of breast cancer. *Histopathology* 2008; 52: 67-81.
25. Wang Y, Klijn JG, Zhang Y, et al. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet* 2005; 365: 671-9.
26. Bogaerts J, Cardoso F, Buyse M, et al. Gene signature evaluation as a prognostic tool: challenges in the design of the MINDACT trial. *Nat Clin Pract Oncol* 2006; 3: 540-51.
27. Cardoso F, Saghatelyan M, Thompson A, et al. Inconsistent criteria used in American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2058-9.
28. Desmedt C, Piette F, Loi S, et al. Strong time dependence of the 76-gene prognostic signature for node-negative breast cancer patients in the TRANSBIG multicenter independent validation series. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 3207-14.
29. Koscielny S. Critical review of microarray-based prognostic tests and trials in breast cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2008; 20: 47-50.
30. Cardoso F, Van't Veer L, Rutgers E, et al. Clinical application of the 70-gene profile: the MINDACT trial. *J Clin Oncol* 2008; 26: 729-35.
31. Mook S, Van't Veer LJ, Rutgers EJ, et al. Individualization of therapy using Mammaprint: from development to the MINDACT Trial. *Cancer Genomics Proteomics* 2007; 4: 147-55.
32. Sparano JA, Paik S. Development of the 21-gene assay and its application in clinical practice and clinical trials. *J Clin Oncol* 2008; 26: 721-8.
33. Paik S. Development and clinical utility of a 21-gene recurrence score prognostic assay in patients with early breast cancer treated with tamoxifen. *Oncologist* 2007; 12: 631-5.
34. Sparano JA. TAILORx: trial assigning individualized options for treatment (Rx). *Clin Breast Cancer* 2006; 7: 347-50.
35. Paik S. Molecular profiling of breast cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006; 18: 59-63.
36. Shi L, Reid LH, Jones WD, et al. The MicroArray Quality Control (MAQC) project shows inter- and intraplatform reproducibility of gene expression measurements. *Nat Biotechnol* 2006; 24: 1151-61.
37. Sotiriou C, Piccart MJ. Taking gene-expression profiling to the clinic: when will molecular signatures become relevant to patient care? *Nat Rev Can* 2007; 7: 545-53.
38. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5367-74.
39. Tavassoli F, Devilee P, editors. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology of the Breast and Female Genital Organs.* Lyon: IARC Press., 2003.
40. Palacios J, Honrado E, Osorio A, et al. Immunohistochemical characteristics defined by tissue microarray of hereditary breast cancer not attributable to BRCA1 or BRCA2 mutations: differences from breast carcinomas arising in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3606-14.
41. Palacios J, Honrado E, Osorio A, et al. Phenotypic characterization of BRCA1 and BRCA2 tumors based in a tissue microarray study with 37 immunohistochemical markers. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 90: 5-14.
42. Honrado E, Benitez J, Palacios J. The molecular pathology of hereditary breast cancer: genetic testing and therapeutic implications. *Mod Pathol* 2005; 18: 1305-20.
43. Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AH, et al. Prognostic significance of Nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3153-8.
44. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1474-81.
45. Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H, et al. Specificity of HercepTest in determining HER-2/neu status of breast cancers using the United States Food and Drug Administration-approved scoring system. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1983-7.
46. Cooper D, Schermer A, Sun TT. Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratins: strategies, applications, and limitations. *Lab Invest* 1985; 52: 243-56.
47. Weidner N. Tumour vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow. *J Pathol* 1998; 184: 119-22.
48. Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 324: 1-8.
49. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 966-78.
50. Harris L, Fritsche H, Mennel R, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 5287-312.
51. Tang P, Wang J, Bourne P. Molecular classifications of breast carcinoma with similar terminology and different definitions: are they the same? *Hum Pathol* 2008; 39: 506-13.
52. Siziopikou KP, Cobleigh M. The basal subtype of breast carcinomas may represent the group of breast tumors that could benefit from EGFR-targeted therapies. *Breast* 2007; 16: 104-7.
53. Bauer KR, Brown M, Cress RD, et al. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer* 2007; 109: 1721-8.
54. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: a critical review. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2568-81.
55. Rakha E, Ellis I, Reis-Filho J. Are triple-negative and basal-like breast cancer synonymous? *Clin Cancer Res* 2008; 14: 618.
56. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1275-81.
57. Arpino G, Weiss H, Lee AV, et al. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1254-61.
58. Massarweh S, Osborne CK, Creighton CJ, et al. Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function. *Cancer Res* 2008; 68: 826-33.
59. Yu J, Yu J, Cordero KE, et al. A transcriptional fingerprint of estrogen in human breast cancer predicts patient survival. *Neoplasia* 2008; 10: 79-88.
60. Green KA, Carroll JS. Oestrogen-receptor-mediated transcription and the influence of co-factors and chromatin state. *Nat Rev Can* 2007; 7: 713-22.
61. Saji S, Omoto Y, Shimizu C, et al. Expression of estrogen receptor (ER) (beta) protein in ER(alpha)-positive breast cancer: specific correlation with progesterone receptor. *Cancer Res* 2002; 62: 4849-53.
62. Hudis CA. Trastuzumab—mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med* 2007; 357: 39-51.
63. Peiro G, Adrover E, Aranda FI, et al. Prognostic implications of HER-2 status in steroid receptor-positive, lymph node-negative breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2007; 127: 7 80-6.
64. Hicks DG, Kulkarni S. HER2+ breast cancer: review of biologic rele-

- vance and optimal use of diagnostic tools. *Am J Clin Pathol* 2008; 129: 263-73.
65. Hicks DG, Tubbs RR. Assessment of the HER2 status in breast cancer by fluorescence in situ hybridization: a technical review with interpretive guidelines. *Hum Pathol* 2005; 36: 250-61.
 66. Peiro G, Aranda FI, Adrover E, et al. Analysis of HER2 by chromogenic in situ hybridization and immunohistochemistry in lymph node-negative breast carcinoma: prognostic relevance. *Hum Pathol* 2007; 38: 26-34.
 67. Vani K, Sompuram SR, Fitzgibbons P, et al. National HER2 proficiency test results using standardized quantitative controls: characterization of laboratory failures. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 211-6.
 68. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 18.
 69. Mohsin SK, Weiss H, Havighurst T, et al. Progesterone receptor by immunohistochemistry and clinical outcome in breast cancer: a validation study. *Mod Pathol* 2004; 17: 1545-54.
 70. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2329-34.
 71. Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, et al. Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype: from expression profiling to clinical practice. *Adv Anat Pathol* 2007; 14: 419-30.
 72. Lerma E, Peiro G, Ramon T, et al. Immunohistochemical heterogeneity of breast carcinomas negative for estrogen receptors, progesterone receptors and Her2/neu (basal-like breast carcinomas). *Mod Pathol* 2007; 20: 1200-7.
 73. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, et al. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005; 23: 7350-60.
 74. Kaufmann M, Hortobagyi GN, Goldhirsch A, et al. Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1940-9.
 75. Kaufmann M, von Minckwitz G, Smith R, et al. International expert panel on the use of primary (preoperative) systemic treatment of operable breast cancer: review and recommendations. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2600-8.
 76. Bear HD, Anderson S, Brown A, et al. The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4165-74.
 77. Buchholz TA, Hunt KK, Whitman GJ, et al. Neoadjuvant chemotherapy for breast carcinoma: multidisciplinary considerations of benefits and risks. *Cancer* 2003; 98: 1150-60.
 78. Buzdar AU, Ibrahim NK, Francis D, et al. Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel, and epirubicin chemotherapy: results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3676-85.
 79. Abraham BK, Fritz P, McClellan M, et al. Prevalence of CD44+/CD24-/low cells in breast cancer may not be associated with clinical outcome but may favor distant metastasis. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1154-9.
 80. Schwartz GF, Hortobagyi GN, Masood S, et al. Proceedings of the consensus conference on neoadjuvant chemotherapy in carcinoma of the breast, April 26-28, 2003, Philadelphia, PA. *Hum Pathol* 2004; 35: 781-4.
 81. Mazouzi C, Peintinger F, Wan-Kau S, et al. Residual ductal carcinoma in situ in patients with complete eradication of invasive breast cancer after neoadjuvant chemotherapy does not adversely affect patient outcome. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2650-5.
 82. Ogston KN, Miller ID, Payne S, et al. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast* 2003; 12: 320-7.
 83. Dawood S, Gonzalez-Angulo AM, Peintinger F, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant trastuzumab combined with paclitaxel and epirubicin: a retrospective review of the M. D. Anderson experience. *Cancer* 2007; 110: 1195-200.
 84. Peintinger F, Anderson K, Mazouzi C, et al. Thirty-gene pharmacogenomic test correlates with residual cancer burden after preoperative chemotherapy for breast cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4078-82.
 85. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4414-22.
 86. Goldstein NS, Decker D, Severson D, et al. Molecular classification system identifies invasive breast carcinoma patients who are most likely and those who are least likely to achieve a complete pathologic response after neoadjuvant chemotherapy. *Cancer* 2007; 110: 1687-96.
 87. Morente MM, Mager R, Alonso S, et al. TuBaFrost 2: standardising tissue collection and quality control procedures for a European virtual frozen tissue bank network. *Eur J Cancer* 2006; 42: 2684-91.
 88. Morente MM, Alonso S. Current challenges of human tumour banking. *Hematol Oncol* 2005; 23: 54-6.
 89. Qualman SJ, France M, Grizzle WE, et al. Establishing a tumour bank: banking, informatics and ethics. *Br J Cancer* 2004; 90: 1115-9.
 90. Riegman PH, Dinjens WN, Oomen MH, et al. TuBaFrost 1: uniting local frozen tumour banks into a European network: an overview. *Eur J Cancer* 2006; 42: 2678-83.
 91. Morente MM, de Aláva E, Fernández PL. Tumour banking: the Spanish design. *Pathobiology* 2007; 74: 245-50.
 92. Sorlie T, Wang Y, Xiao C, et al. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analyses across three different platforms. *BMC Genomics* 2006; 7: 127.
 93. Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530-6.
 94. Loi S, Haibe-Kains B, Desmedt C, et al. Definition of clinically distinct molecular subtypes in estrogen receptor-positive breast carcinomas through genomic grade. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1239-46.
 95. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 2817-26.
 96. Takahashi S, Moriya T, Ishida T, et al. Prediction of breast cancer prognosis by gene expression profile of TP53 status. *Cancer Sci* 2008; 99: 324-32.
 97. Miller LD, Smeds J, George J, et al. An expression signature for p53 status in human breast cancer predicts mutation status, transcriptional effects, and patient survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 13550-5.
 98. Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA, et al. Gene expression signature of fibroblast serum response predicts human cancer progression: similarities between tumors and wounds. *PLoS biology* 2004; 2: E7.
 99. Bergamaschi A, Tagliabue E, Sorlie T, et al. Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. *J Pathol* 2008; 214: 357-67.
 100. Glinsky GV, Berezovska O, Glinskii AB. Microarray analysis identifies a death-from-cancer signature predicting therapy failure in patients with multiple types of cancer. *J Clin Invest* 2005; 115: 1503-21.
 101. Ayers M, Symmans WF, Stec J, et al. Gene expression profiles predict complete pathologic response to neoadjuvant paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2284-93.