CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA Y SU CORRELACIÓN CLÍNICA

JORGE R URIBE, CARLOS A HERNÁNDEZ, FRANCISCO MENOLASCINO, JOEL E RODRÍGUEZ, LINDA M ISTÚRIZ, MARÍA E MÁRQUEZ, RAMÓN E RODRÍGUEZ, JORGE L URIBE

CLÍNICA DE MAMAS DE BARQUISIMETO, BARQUISIMETO, ESTADO LARA

RESUMEN

OBJETIVO: La clasificación molecular del cáncer de mama ha definido grupos de riesgo y tratamientos diferentes, en este trabajo investigamos como se relacionaron estos grupos. **MÉTODO:** Resultados de 320 pacientes vistas entre enero de 2007 y julio de 2009. En pacientes en las cuales se identifica un cáncer de mama en nuestra institución se realiza una evaluación inmunohistoquímica del tumor, con estos resultados se clasifican los tumores en cuatro subtipos: Luminal A y B, Her2neu y *Basal Like*. En la evaluación clínico-patológica se consideraron: método diagnóstico, edad, presentación clínica, tamaño del tumor, grado de diferenciación y tratamiento inicial. **RESULTADOS.** De 320 pacientes el tumor más frecuente fue Luminal A (60,63 %), seguido por Basal Like (28,75 %) Her2neu (9,06 %) y Luminal B (1,56 %). Los de peor pronóstico como los *Basal Like* y Her2neu, se consiguió mayor número de tumores palpables y menos diagnóstico subclínico por imágenes, mayor frecuencia en los grupos de menor edad, con mayor tamaño al examen físico y tumores más indiferenciados. Fue necesario iniciar tratamiento de quimioterapia de inducción como primera modalidad terapéutica en un 60,68 % de los *Basal Like* y 62,06 % de Her2neu, superior al 52,57 % de los tumores Luminal A. **CONCLUSIONES:** La clasificación molecular permite identificar a los tumores con peor pronóstico. Las características histológicas también han identificado grupos de riesgo, pero con connotaciones terapéuticas muy generales. La clasificación molecular determina la posibilidad de suministrar tratamientos de quimioterapia más selectivos.

PALABRAS CLAVE: Cáncer, mama, molecular, clasificación, inmunohistoquímica, pronóstico.

SUMMARY

OBJECTIVE: The molecular classification have defined risk groups and different treatments, the present study explores how these groups were related. **METHOD:** 320 patients examinee between January 2007 and July 2009 all patients in which we identify breast cancer in our institution is conducting an assessment of immunohistochemistry according to these results are classified in four subtypes: Luminal A and B, Her2nNeu and Basal Like, also evaluating clinical-pathologic characteristic: Diagnostic method, age, clinical presentation, tumor size, degree of differentiation, initial treatment. **RESULTS:** In 320 patients the most frequent tumor was Luminal A with a 60.63 %, followed by Basal Like (28.75 %) Her2 Neu (9.06 %) Luminal B (1.56 %). In relation with worst prognosis of tumors were found more palpable tumors and less subclinical diagnostic by imaging, higher frequency in groups of younger women with larger tumors to physical examination and more undifferentiated. Tumors taking all these considerations needed to initiate treatment of induction chemotherapy as first therapeutic modality in 60.68 % of the Basal and Like a Her2Neu of 62.06 %, higher than 52.57 % of the tumors more frequent Luminal A. **CONCLUSIONS:** The molecular classification of breast cancer let us identified tumors with worst prognosis. The histological features of the tumor have also identified risk groups, but with very broad therapeutic connotations, especially because it allows selection of treatments. On the other hand is only the molecular classification that determines the possibility to provide patients, selective chemotherapy treatments.

KEY WORDS: Cancer, breast, molecular, classification, immunohistochemistry, prognosis.

Recibido: 18/08/2009 Revisado: 11/11/2009
Aceptado para publicación: 06/01/2010

Correspondencia: Dr. Jorge Uribe. Clínica de Mamas de Barquisimeto. Carrera 21 entre calles 13 y 14. Barquisimeto, Estado Lara. Tel: 02512522402. E-mail:jorgeuribe@hotmail.com.

INTRODUCCIÓN

Las características clínicas, histológicas del cáncer de mama, han sido utilizadas y lo siguen siendo, como elementos importantes para la definición de los diferentes factores pronóstico y de tratamiento de esta enfermedad, sin embargo, la identificación de las características inmunohistoquímicas del tumor nos permiten diferenciar alteraciones genéticas que proporcionan la posibilidad de clasificar el cáncer de mama de una manera más adecuada en lo que se refiere a pronóstico y efectividad en el tratamiento ⁽¹⁻⁶⁾.

Analizado desde el punto de vista de la inmunohistoquímica el cáncer de mama se ha clasificado por las características del tumor en cuatro grupos fundamentales, donde la presencia o no de receptores de estrógenos son definitivos para la categorización de esta clasificación. Así tenemos:

1. Tumores con receptores de estrógenos positivos
 - a. LUMINALA: receptores de estrógeno positivos, receptores de progesterona positivos o negativos, c-erB-2 negativo.
 - b. LUMINALB: receptores de estrógeno positivos, receptores de progesterona positivos, c-erB-2 positivo.
2. Tumores con receptores de estrógeno negativos
 - a. HER2NEU: receptores de estrógenos negativos, receptores de progesterona negativos, c-erB-2 positivo.
 - b. BASALLIKE: receptores de estrógeno negativo, receptores de progesterona negativos, c-erB-2: negativo.

La determinación por microarreglo de ADN, ha permitido identificar las características genéticas del tumor, situación de alta complejidad,

y de una manera mucho más amplia permite la identificación de mayores o menores alteraciones genéticas en un tumor, proporcionando entonces una diferenciación entre bajo y alto riesgo en relación al comportamiento del mismo ⁽⁶⁻¹²⁾.

La relación pronóstica adversa de algunos factores histológicos como grado de diferenciación nuclear y celular, tamaño del tumor, presencia de metástasis axilar, entre otros ha sido, en este trabajo, relacionados con las características moleculares del tumor provenientes de la inmunohistoquímica. Además en el presente trabajo se relacionan esas características descritas, con la clasificación molecular propuesta para cáncer de mama y el tipo de respuesta obtenida al tratamiento administrado.

MÉTODOS

Durante los últimos 5 años en todos los tumores donde se ha diagnosticado cáncer de mama, se ha realizado en el servicio de patología de La Clínica de Mamas, una evaluación de las características inmunohistoquímicas del tumor, es por ello que el estudio es de tipo descriptivo transversal. Hasta la fecha se contabiliza un total de 399 pacientes y para este estudio se han tomado en cuenta 320.

En relación con la técnica de inmunohistoquímica (IMH), todos los casos fueron procesados empleando métodos físico-químicos de recuperación antigénica y el protocolo de Dako para el sistema LSAB +, empleando controles positivos y negativos.

Del resultado de la evaluación por IMH, se clasifican los tumores de acuerdo a las 4 categorías más frecuentemente utilizadas en la literatura: Luminal A y B para aquellos tumores que expresan receptores de estrógeno y *Basal Like* y Her2Neu, cuando el receptor de estrógeno es negativo.

El diagnóstico inicial del tumor y sus ganglios se realizan mediante biopsias guiadas por

ultrasonido o estereotaxia. En ningún caso se considera una biopsia abierta en pabellón para el diagnóstico histológico del tumor.

De acuerdo al protocolo de trabajo de esta institución para el manejo de las pacientes con un diagnóstico de malignidad, estas son colocadas dentro de los grupos de menor riesgo (es decir, un tamaño del tumor menor de 2 cm y factores de riesgo más favorables de acuerdo a las imágenes y la histología favorable), son intervenidas quirúrgicamente como tratamiento inicial. Por el contrario las pacientes que no llenen esos criterios son enviadas a oncología médica, para iniciar tratamiento de inducción.

La evaluación del efecto del tratamiento de inducción se realiza antes de cada ciclo de hormonoterapia o quimioterapia, utilizando una medición clínica bidimensional del tumor y volumétrica mediante el ultrasonido.

RESULTADOS

Del total de 320 pacientes, se observa como los tumores colocados dentro de la categoría Luminal A fueron los más frecuentes con un 60,94 %, para un total de 195 pacientes, le siguieron los tumores tipo *Basal Like*, con 92 pacientes (28,75 %), luego Her2Neu con 28 pacientes (8,75 %) y los de menor frecuencia los tumores Luminal B con 5 pacientes (1,56 %).

Adicionalmente observamos que la mayor expresión porcentual para las edades premenopáusicas está conformada por pacientes que pertenecen a los grupos *Basal Like* y Her2Neu, además que la mayor cantidad de pacientes posmenopáusicas fueron clasificadas en los grupos Luminales A y B.

Cuadro 1. Clasificación molecular y edad del diagnóstico.

Rango de edad	Luminal A		Basal Like		Her2Neu		Luminal B		Total general	
	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%
menor de 30 años	2	50,03	2	2,17	0	0,00	0	0,00	4	100,0
30 a 39 años	17	8,72	13	14,13	0	0,00	0	0,00	30	9,38
40 a 49 años	50	25,64	28	30,43	11	39,29	1	20,00	90	28,13
50 a 59 años	60	30,77	15	16,30	12	42,86	1	20,00	88	27,50
60 a 69 años	44	22,56	23	25,00	4	14,29	3	60,00	74	23,13
70 años o más	22	11,28	11	11,96	1	3,57	0	0,00	34	10,63
Total general	195	100,00	92	100,00	28	100,00	5	100,00	320	100,00

Cuadro 2. Clasificación molecular y el método a través del cual se realizó el diagnóstico.

Presentación clínica	Basal Like		Her2Neu		Luminal A		Luminal B		Total general	
	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%
Clínico	78	84,78	20	71,43	141	72,31	4	80,00	243	75,94
RX	2	2,17	4	14,29	9	4,62	0	0,00	15	4,69
US	1	1,09	0	0,00	7	3,59	0	0,00	8	2,50
US - RX	11	11,96	4	14,29	38	19,49	1	20,00	54	16,88
Total general	92	100,00	28	100,00	195	100,00	5	100,00	320	100,00

Del total de 320 pacientes analizados, 243 (75,94 %) se expresaron clínicamente. Del grupo de lesiones subclínicas diagnosticadas, 15 (4,69 %) pacientes lo hicieron solo mediante mamografía, 8 (2,50 %) pacientes solo mediante ultrasonido y 54 (16,88 %) pacientes mediante la combinación de mamografía y ultrasonido. Adicionalmente se observa que el grupo de Luminal A conformado por 195 pacientes fue el grupo que mayor expresión subclínica de tumor porcentual tuvo en todos los renglones (RX, US y RX+US) al momento del diagnóstico.

De 320 pacientes estudiados, 77 fueron diagnosticados solamente por métodos de imágenes (RX, US, RX+US) que corresponde a 24,06 % y 243 (75,94 %) pacientes se expresaron clínicamente al momento del diagnóstico. Observamos además que el grupo molecular Her2Neu y el Luminal A mostró los porcentajes más altos de diagnóstico subclínico (28,57 % y 27,69 % respectivamente) a diferencia del grupo *Basal Like* el cual mostró los porcentajes más altos de expresión clínica al momento del diagnóstico (84,78 %), es decir, que las pacientes de este grupo poseen menos probabilidad de ser diagnosticados en etapa subclínica.

De acuerdo al tamaño tumoral se aprecia que del grupo *Basal Like* los mayores porcentajes de pacientes están ubicados en el grupo T2 y T3 (45,65 % y 18,48 % respectivamente), en el grupo

Her2Neu los mayores porcentajes de pacientes fueron registrados en los grupos T3 y T0 (32,14 % y 28,57 % respectivamente), en los Luminales A los mayores porcentajes fueron registrados en los grupos T2, T0 y T1 (33,33 %, 25,64 % y 20,00 % respectivamente), los Luminales B fueron diagnosticados en el grupo T2 con un 60 %. Las lesiones menores de 2 cm, T0 o T1, se diagnosticaron más frecuentemente en el grupo de Luminales A, seguidos por Her2Neu, Luminal B y en menor proporción los *Basal Like*.

En el Cuadro 3 se puede observar que el grupo *Basal Like* posee 48 pacientes diagnosticados en T2 lo que representa un 52,17 %. El grupo Her2Neu presenta un mayor porcentaje en el grupo T1 con un 35,71 %, los Luminal A 108 pacientes de 195 estudiados lo que representa un 55,38 % y todos los pacientes Luminal B fueron diagnosticados en el grupo T1. Observamos como los grupos Luminales A y B muestra tendencia a diagnosticarse en etapas tempranas (menores de 2 cm T0 y T1) a diferencia de los Her2Neu y *Basal Like* quienes muestran la tendencia contraria.

La presencia de tumores más indiferenciados fue vista en los grupos *Basal Like* con un 61,54 %, además podemos apreciar que en el grupo de los bien diferenciados los Luminales A predominaron con un 82,76 %.

Cuadro 3. Clasificación molecular del cáncer de mama y el tamaño tumoral (T) ecográfico al momento del diagnóstico

T Ecográfico	Basal Like		Her2Neu		Luminal A		Luminal B		Total general	
	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%
T Desconocido	5	5,43	1	3,57	5	2,56	0	0,00	11	3,44
T0	2	2,17	3	10,71	9	4,62	0	0,00	14	4,38
T1	33	35,87	10	35,71	108	55,38	5	100,00	156	48,75
T2	48	52,17	9	32,14	62	31,79	0	0,00	119	37,19
T3	0	0,00	4	14,29	6	3,08	0	0,00	10	3,13
T4	4	4,35	1	3,57	5	2,56	0	0,00	10	3,13
Total general	92	100,00	28	100,00	195	100,00	5	100,00	320	100,00

Cuadro 4. Distribución de las pacientes con cáncer de mama según la clasificación molecular y el grado de diferenciación nuclear y celular del tumor.

Clasificación Fenotípica	1		2		3		Total general	
	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%	N° Ptes	%
Basal Like	5	8,62	47	23,86	40	61,54	92	28,75
Her2Neu	4	6,90	15	7,61	9	13,85	28	8,75
Luminal A	48	82,76	131	66,50	16	24,62	195	60,94
Luminal B	1	1,72	4	2,03	0	0,00	5	1,56
Total general	58	100,00	197	100,00	65	100,00	320	100,00

Observamos que de forma global la mayoría de las pacientes (178) fueron a quimioterapia de inducción, lo que representa 64,73 %, situación que se repite en cada uno de los grupos moleculares con una mayor expresión para los grupos *Basal Like* y *Her2Neu* con un 74,67 % y 72,00 % respectivamente y menor expresión porcentual para los grupos Luminales A y B.

DISCUSIÓN

Desde hace mucho tiempo se conoce la complejidad de la enfermedad maligna de la glándula mamaria y en muchas oportunidades las decisiones terapéuticas se han estado tomando en base a factores pronósticos que no representan la verdadera cualidad del tumor. La necesidad de identificar factores pronósticos que orienten de manera más precisa hacia tratamientos más efectivos y que mejoren los índices de curación de la enfermedad, son cada vez más necesarios, dado el significativo incremento de este tipo de cáncer, particularmente en mujeres menores de 40 años.

Los micro arreglos han permitido identificar la expresión genética del tumor y por ende un perfil más preciso de la enfermedad, proporcionando una clasificación molecular del tumor que posee consideraciones pronósticas muchas más precisas que la clasificación histopatológica.

La clasificación molecular del cáncer de mama, permitiría un uso menos frecuente y más selectivo de la quimioterapia, lo que ocasionaría menor morbilidad y mortalidad inducida por el tratamiento, menores costos, pero sobre todo la posibilidad de obtener mayores índices de curación.

Los micro arreglos de ADN son una consecuencia de la biología molecular y las ciencias genómicas, que permiten colocar de una manera ordenada sobre una superficie un número determinado de genes (10 000 x cm²), al punto de que en este momento es posible en un solo procedimiento, identificar todos los genes de un organismo ^(1,2).

En relación al perfil y la clasificación molecular del cáncer de la glándula mamaria, esto es posible mediante los micro arreglos de ADN, que son a su vez una consecuencia de la tecnología de investigación del genoma humano. Perou y col. ^(3,4) estudiaron los perfiles de expresión genética de las células epiteliales de la glándula mamaria y del cáncer. Proponen además una clasificación molecular del cáncer de mama, basado en un método de agrupación jerárquica de los genes.

No fue sino hasta el año 2002 cuando Vant Veer y col. ⁽⁵⁾ presentan sus resultados del estudio donde relacionan el perfil genético del cáncer de mama y el comportamiento

clínico, señalando mediante esta metodología, que existen grupos de pacientes que pudieran beneficiarse del tratamiento de quimioterapia y no de la hormonoterapia ⁽⁵⁾ esta experiencia fue ampliada en el año 2003 por Sorlie y col. ^(6,7).

Los estudios clínicos sobre las características moleculares del cáncer de mama, han enriquecido nuestro conocimiento sobre el comportamiento clínico de esta enfermedad, determinando de esta manera que los tumores con receptores de estrógeno (RE) y de progesterona (RP) positivos son mejor diferenciados y de mejor pronóstico. Por el contrario los tumores con estos receptores negativos, son más indiferenciados, con peor comportamiento clínico, además de tener con mayor frecuencia expresión del gen c-erB-2.

El análisis de expresión genética por micro arreglos permitirá la identificación de un panel de genes discriminatorios útiles para elaborar una clasificación, que permita predecir de manera más clara el comportamiento clínico y el pronóstico del tumor e incluso de sus metástasis ^(4,7,8).

La presencia de genes que expresen RE, se ha transformado en uno de los factores fundamentales, para dividir a los tumores de la mama en dos tipos diferentes, positivos o negativos de acuerdo a la presencia o ausencia de este receptor, pero con características moleculares de cada uno de ellos, que han permitido la clasificación molecular, con las implicaciones clínicas que hoy conocemos ⁽⁹⁾.

Con claridad se ha establecido que los tumores RE positivos se dividen a su vez en tres tipos, El Luminal A, el B y el C, siendo la definición genética de este último menos estable. Por el contrario el grupo de RE negativos comprende a su vez a los subgrupos moleculares: Her2Neu el tipo *Basal* y el normal, pareciendo que este último pudiera ser una extensión del perfil de expresión genética entre el Her2Neu el tipo *Basal Like* ^(7,9,10). La mayor experiencia relacionando la clasificación molecular con el comportamiento clínico se ha realizado con los Luminales A y B, el tipo *Basal* y el Her2Neu.

En este trabajo, se observó que de un total de 320 pacientes estudiadas, se obtuvo una mayor proporción de tumores Luminal A, seguidos de los *Basal Like*, luego los Her2Neu y los Luminal B con un menor porcentaje.

Se entiende que el cáncer de mama es una enfermedad compleja desde puntos de vista tan diversos como la clínica, su presentación en las imágenes, la histológica y los tratamientos. Se reportaron las características moleculares del tumor y la edad de las pacientes siendo el grupo más frecuente los Luminales A, que prevalece en todos los decenios de la vida, pero llama la atención, como los tumores definidos como los de mayor riesgo, *Basal Like* y Her2Neu, están presentes de manera mayoritaria en las pacientes más jóvenes. Confirmando así que son pacientes con tumores de crecimiento más rápido y por ende más agresivos.

En relación con la forma de presentación de los tumores apreciamos que de la muestra estudiada (320 pacientes), el 75,94 % fue diagnosticada clínicamente y en 24,06 % se pudo realizar el diagnóstico de una lesión subclínica, además del grupo con mayor expresión clínica al momento del diagnóstico los tumores tipo *Basal Like* mostraron un 84,78 %. De la misma manera fue en estos tumores tradicionalmente reportados como más agresivos, donde menos se pudo hacer un diagnóstico en una etapa subclínica, con solo un 15,22 %. Por el contrario la mayor capacidad de diagnosticar de manera subclínica, fue en el grupo de los subtipos de mejor pronóstico, Luminales B y A con un 20,00 % y 27,69 % respectivamente.

Los tumores dentro de la clasificación T2 clínico, fueron los más frecuentes con un 36,25 %. Se observó que el grupo de tumores pertenecientes a Luminal A mostró una tendencia a ser diagnosticado en etapa precoces de la enfermedad, contrario a lo observado en el grupo *Basal Like* el cual mostró una tendencia diagnóstica hacia etapas avanzadas. El grupo Her2Neu se expresó porcentualmente con valores

mayores en las etapas T0 y T3.

Partiendo del hecho que las mediciones ecosonográficas son más fidedignas que las clínicas, concluimos que los grupos Luminales A y B mostraron una tendencia a ser diagnosticadas en etapas precoces y los grupos Her2Neu y *Basal Like* en etapas avanzadas, siendo este último quien expresa mayor proporción porcentual.

Los tumores más indiferenciados se encontraron en los subtipos *Basal Like* y Her2Neu, los que precisamente son reportados como los tumores malignos de la glándula mamaria, con mayor agresividad y capacidad de metástasis, por el contrario los tumores con la mejor diferenciación se presentan dentro de los subtipos Luminal A y B, que de la misma manera han sido reportados como los menos agresivos.

En el 74,67 % del grupo *Basal Like*, y en el 72,00 % del subtipo Her2Neu, fue necesario comenzar el tratamiento de las pacientes mediante quimioterapia de inducción o neoadyuvancia, dada las características clínicas e histológicas de mayor agresividad de estos tumores, como hemos visto en los cuadros precedentes, relativos al tamaño del tumor, capacidad de diagnosticarlos de manera subclínica y mayor grado de diferenciación, así como la edad de las pacientes y la inherente ausencia de RE, característica molecular fundamental de estos tumores.

De la misma manera el análisis de esta situación soporta la conclusión de que en los tumores de mejor pronóstico, subtipos Luminal A y B, fue posible iniciar el tratamiento mediante cirugía y no quimioterapia, precisamente porque la características de agresividad y el tamaño de las lesiones así lo permitió, de acuerdo a nuestro protocolo de manejo de estas lesiones.

El manejo actual del cáncer de la glándula mamaria impone importantes retos para los médicos dedicados a esta enfermedad. Es fundamental diagnosticarla en una etapa lo más temprana posible, de manera que se pueda proporcionar a las pacientes una mayor

posibilidad de curación. Sin embargo, la evaluación de las características genéticas del tumor y las clasificaciones moleculares que de estas características se originan, nos colocan ante el tremendo dilema, de saber que ahora no es suficiente, diagnosticar el tumor de manera temprana, de manera subclínica. Además ni siquiera la ausencia de metástasis axilares, hasta ahora un factor determinante al momento de definir riesgos, es suficiente para proyectar el pronóstico del paciente.

La estrategia de plantearle a una paciente que un diagnóstico temprano del cáncer de mama mediante una mamografía adecuada, es indicativo de un buen comportamiento de la enfermedad, comienza incluso a presentar serios cuestionamientos y por el contrario pareciera de inminente aplicación la determinación de las características genéticas del tumor para la identificación de grupos moleculares de mal pronóstico, cuyo comportamiento es independiente del tamaño del tumor.

En el presente trabajo se observó como en las pacientes se mantiene la relación de mal pronóstico entre lo definido como tal por la clasificación molecular y las características clínicas e histológicas de los tumores. Es así como en los subtipos *Basal Like* y Her2Neu, se evidenció tumores de mayor tamaño, en mujeres más jóvenes, con menor posibilidad de diagnosticarlos de manera subclínica, más indiferenciados y donde en consecuencia fue necesario iniciar un tratamiento con quimioterapia de inducción previo al quirúrgico.

La literatura reporta un mejor conocimiento de los diferentes grupos de riesgo y sus tratamientos, mediante la utilización de micro arreglos de ADN del tumor. Pareciera que es la técnica más adecuada. Por el momento ningún laboratorio nacional ha iniciado la realización de estas pruebas, sin embargo, tenemos a la disposición procedimientos como el *Mamaprint*[®] y el *Oncotype*[®], que se realizan fuera del país y nos informan de manera más adecuada las

características genéticas de cada tumor ⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Mientras no dispongamos de estas pruebas de laboratorio más especializadas, se tiene la obligación de que cada tumor mamario, sea evaluado de manera correcta mediante técnicas

de inmunohistoquímica, que también nos proporcionan información sobre las alteraciones y características genéticas de los tumores malignos de la glándula mamaria.

REFERENCIAS

1. Flores HO. Mensaje Bioquímico. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México DF, México. Disponible en URL:<http://smog.cifn.unam.mx/microarreglosDNA>.
2. Quackenbush J. Microarray analysis and tumor classification. *N Engl J Med*. 2006;354:2463-2472.
3. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature*. 2000;406:747-752.
4. 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.
5. 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.
6. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:8418-8423.
7. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclass with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:10869-10874.
8. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population based study. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:10393-10398.
9. Pusztai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF. Molecular classification of breast cancer: Limitations and potential. *Oncologist*. 2006;11:868-877.
10. Gruvberger-Saal SK, Cunliffe HE, Carr KM, Hedenfalk IA. Microarrays in breast cancer research and clinical practice: The future lies ahead. *Endocr Relat Cancer*. 2006;13:1017-1031.
11. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of basal-like subtype of invasive breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2004;10:5367-5374.
12. Eden P, Ritz C, Rose C, Fernö M, Peterson C. Good old clinical markers have similar powers in breast cancer prognosis as microarrays gene expression profiler. *Eur J Cancer*. 2004;40:1837-1841.