



Évolution des traitements médicaux

Impact des facteurs prédictifs dans le choix de la chimiothérapie adjuvante

Predictive factors in the choice of adjuvant chemotherapy

Mots-clés : Facteurs prédictifs - Chimiothérapie adjuvante.

Keywords: Predictive factors - Adjuvant chemotherapy.

M. Spielmann, F. André*

Un facteur prédictif est un élément biologique tumoral permettant d'espérer que la chimiothérapie choisie sera efficace.

Nous n'avons que récemment compris l'importance de traiter les patientes en fonction de l'identité biopathologique de leur tumeur et de leurs conditions générales.

La différence d'efficacité de la chimiothérapie est due aux caractéristiques cellulaires et à la présence de "biomarqueurs de sensibilité", en particulier les récepteurs hormonaux, la prolifération tumorale, P53, l'expression d'UPA et PAI1, Her2 et la topoisomérase II α ...

Pour accorder le mieux possible le traitement à un profil de tumeur, nous avons besoin d'identifier ces biomarqueurs de chimiosensibilité, mais les doutes à ce sujet sont plus nombreux que les certitudes en raison d'une grande hétérogénéité des cancers du sein, comprenant de nombreux sous-groupes (plusieurs maladies) en cours d'identification.

Le tamoxifène a été le premier vrai traitement ciblé du cancer utilisé, même s'il a fallu un certain temps pour comprendre que son bénéfice était limité exclusivement aux cancers avec récepteurs hormonaux positifs.

La chimiothérapie adjuvante est devenue un des traitements majeurs au stade précoce du cancer du sein [1].

La chimiothérapie est différemment active selon les tumeurs et, comme la majorité des malades sont guéries par le seul traitement local, nous devons identifier avec des outils simples les patientes à faible risque de rechute qui n'ont pas besoin de traitement complémentaire.

* Institut Gustave-Roussy, Villejuif.

À l'inverse, en cas de mauvais pronostic, nous avons besoin de savoir si le traitement que nous proposons a de bonnes chances d'être efficace.

Si nous disposions de facteurs prédictifs de "chimiosensibilité" reproductibles d'une patiente à l'autre, nous pourrions alors faire la chimiothérapie uniquement aux patientes "chimiosensibles" et peut-être bientôt choisir les drogues à la carte, en fonction de biomarqueurs spécifiques de la tumeur.

Nous aborderons dans cet article les facteurs classiques de chimiosensibilité, et plus particulièrement les facteurs de prolifération, ainsi que les récepteurs hormonaux, puis nous traiterons ce qui apparaît aujourd'hui comme très prometteur : les sous-types moléculaires des cancers du sein et leurs biomarqueurs de sensibilité aux chimiothérapies.

Pour qui la chimiothérapie adjuvante ?

La chimiothérapie, quand elle est efficace, est essentielle, car c'est au stade adjuvant précoce qu'il est possible de guérir des malades ayant une dissémination micrométastatique.

En phase néo-adjuvante, il est actuellement admis que le taux de rémission pathologique complète est l'élément de jugement majeur, même s'il est souvent en contradiction avec le taux de réponse clinique [2, 3] ou radiologique. En revanche, en phase adjuvante à titre individuel, nous n'avons aucune mesure possible de l'efficacité.

Facteurs prédictifs thérapeutiques/Facteurs pronostiques

Les facteurs prédictifs n'ont d'intérêt que si les facteurs pronostiques ont permis d'évaluer un risque de rechute.

Depuis le consensus de Saint-Gall [4], puis surtout les recommandations de Saint-Paul [29], on estime qu'un risque de décès supérieur à 10 % à 10 ans constitue le seuil à partir duquel on doit proposer une chimiothérapie adjuvante.

Si les différents facteurs pronostiques et leur poids respectif sont bien connus, il n'en va pas de même des facteurs prédictifs de réponse aux traitements médicaux [3]. Certains sont cependant puissants et incontournables : la positivité des récepteurs hormonaux pour l'hormonothérapie et celle de la surexpression d'Her2 pour l'utilisation en phase métastatique du trastuzumab.

D'autres facteurs prédictifs de sensibilité à la chimiothérapie existent. Leur rôle exact reste encore controversé et leur niveau de preuve peu élevé.

L'association de plusieurs facteurs prédictifs de la chimiosensibilité augmenterait encore, chez la même patiente, les chances d'une efficacité de ce traitement [19].

Les récepteurs hormonaux

Aucun facteur prédictif n'est aussi pertinent que les récepteurs hormonaux pour prédire une réponse à un traitement.

Ils sont avant tout prédictifs d'une efficacité de l'hormonothérapie. Aucune hormonothérapie ne doit à présent être proposée à des patientes avec des récepteurs négatifs.

En cas de chimiothérapie adjuvante, le statut négatif des RH est un élément prédictif d'une efficacité supérieure de cette thérapeutique [1, 15]. Notons toutefois que cela n'est pas retrouvé dans la sixième méta-analyse d'Oxford de septembre 2006.

Cinétique de prolifération tumorale

L'activité mitotique évaluée sur le nombre de mitoses par 10 grands champs, la phase S et le Ki67 ont d'abord été utilisés comme facteurs pronostiques [5], puis, plus récemment, avec un niveau de preuve plus faible, comme facteurs prédictifs significatifs [6, 19, 30, 32].

La cinétique de prolifération tumorale peut être explorée par plusieurs éléments :

- le grade SBR modifié Elston-Ellis [7], dont l'index mitotique est l'élément principal ;
- l'index mitotique [2, 8, 9, 30] sur 10 champs au fort grossissement (x 400), qui semble être un facteur précis et reproductible ; il est à présent très utilisé. Le calcul du nombre de mitoses se fait sur une surface tumorale de 2 mm².

Ces deux éléments de prolifération et la négativité des récepteurs hormonaux sont les meilleurs outils de prédiction d'une efficacité de la chimiothérapie.

- Le Ki67, réalisé en immunohistochimie, évalue le nombre de cellules engagées dans le cycle de division cellulaire. Le seuil de positivité, encore discuté, est le plus souvent supérieur à 20 % [3, 10].

- La phase S est plus compliquée à réaliser et son coût est plus élevé. Elle n'est pas utilisée en pratique quotidienne [9].

En néo-adjuvant

La chimiothérapie néo-adjuvante a pour objectif principal d'accéder à un traitement chirurgical conservateur pour les tumeurs dont la taille laisse présager une impossibilité de faire un traitement conservateur en raison du volume de la tumeur par rapport au volume du sein. La chimiothérapie néo-adjuvante est un véritable laboratoire d'évaluation in vivo des drogues utilisées.

Le taux de réponse pathologique complète, étudié le plus souvent selon la méthode Sataloff [11], varie selon les études de 5 à 30 %. Il a été démontré que la réponse pathologique complète est un élément pronostique important de la survie des malades [3, 12, 13].

L'étude de Petit et al. [16] portant sur 119 malades a examiné la corrélation entre la réponse clinique à la chimiothérapie néo-adjuvante, la réponse pathologique et certains facteurs biologiques potentiellement prédictifs (grade SBR, récepteurs hormonaux, Ki67, Her2 et la surexpression de la topo-isomérase II α).

Après FEC 100, on note, en analyse multivariée, une efficacité clinique significativement plus importante chez les patientes avec récepteurs hormonaux négatifs et un Ki67 supérieur à 20 %.

– **Seul le grade SBR** élevé est significativement prédictif de la réponse pathologique complète (pCR). L'analyse n'a malheureusement pas porté spécifiquement sur l'index mitotique, qui a le plus de poids dans le grade tumoral de Elston et Ellis [7] et qui est un élément prédictif indépendant majeur de pCR dans l'étude récente de chimioradiothérapie première de Curie [30].

Le grade tumoral est le seul facteur indépendant prédictif d'une réponse pathologique complète, avec un taux de pCR selon Sataloff de 42 % pour les grades III, de 10 % pour les grades II et de 0 % pour les grades I.

En y associant statut un RH- et une prolifération cellulaire élevée (Ki67 > 20 %), le taux de réponse clinique complète atteint 64 %.

– **Les récepteurs hormonaux** négatifs sont prédictifs de la réponse uniquement en analyse univariée pour le travail de Petit et al. [16] ; cela tient peut-être au fait que le nombre de patientes est modeste, car, dans l'étude de chimiothérapie néo-adjuvante du M.D. Anderson cancer center [31], les récepteurs négatifs sont un élément prédictif majeur de réponse. Ainsi, on note un taux de pCR de 24 % pour les RH- et de seulement 8 % pour les RH+ ($p < 0,001$). Les conclusions sont les mêmes dans les travaux de Clermont-Ferrand [32], où les RH- et la surexpression de Her2 sont retrouvés en analyse multivariée comme facteur prédictifs prédominants d'une réponse pathologique complète à la chimiothérapie.

Les facteurs de prolifération semblent prendre une acuité toute particulière par rapport aux autres éléments prédictifs. L'index mitotique est pour beaucoup d'équipes un élément majeur de sensibilité à la chimiothérapie et de réponse pathologique [14, 15, 32].

Une absence de récepteurs hormonaux et une prolifération élevée paraissent être l'association la plus performante pour prédire la chimiosensibilité [6, 15, 17, 18, 31].

En adjuvant

– Étude de l'IGR

L'étude de l'IGR [19] porte sur 937 patientes randomisées entre chimiothérapie adjuvante et observation. Un des objectifs était d'évaluer l'impact de l'index mitotique dans le bénéfice de la chimiothérapie avec anthracyclines (FEC 50 ou FAC 50). La population était de mauvais pronostic selon Saint-Gall [4]. Le suivi médian est de 9 ans.

L'index mitotique disponible chez 888 patientes est retrouvé élevé dans 49 % des cas ; il est associé statistiquement à un grade SBR III ($p < 0,001$) et à des R- ($p < 0,001$).

La survie globale à 5 ans est respectivement de 91 % et de 87 % ($p = 0,09$) pour les patientes avec chimiothérapie et sans chimiothérapie, et la survie sans métastase est de 85 % et 80 % ($p = 0,08$).

Bénéfice du traitement en fonction de l'index mitotique (figures 1 et 2)

• En cas d'index mitotique faible ou moyen, la survie globale à 5 ans est de 95 % pour les patientes traitées ou non par chimiothérapie ($p = 0,56$).

FIGURE 1. *Survie globale des patientes avec index mitotique faible ou moyen en fonction du traitement.*

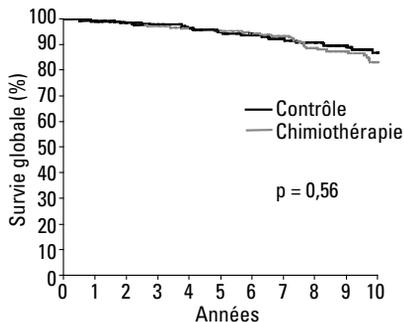
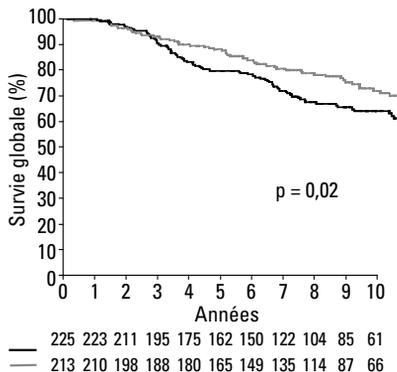


FIGURE 2. *Survie globale des patientes avec index mitotique élevé en fonction du traitement.*



- En cas d'index mitotique élevé, la survie globale est respectivement de 86 % pour le groupe chimiothérapie et de 79 % pour le groupe observation ($p = 0,02$). Dans ce même groupe, le pourcentage de métastases est respectivement de 23 % et de 33 % ($p = 0,03$).

Corrélation avec le grade SBR

- Pour les groupes SBR I et II, la survie à 5 ans est respectivement de 94 % et de 91 % ($p = 0,28$). Pour le groupe SBR III, la survie est respectivement de 84 % et de 79 % ($p = 0,25$), sans différence significative.

Cela suggère que le grade SBR n'est pas un facteur prédictif moins puissant que le seul index mitotique.

- Discussion et autres études

Dans cette étude, seules les malades avec index mitotique élevé ont bénéficié de la chimiothérapie adjuvante. Les autres ont reçu ce traitement pour rien.

La question de la dose choisie se pose évidemment, sachant que le FEC 50 est significativement inférieur au FEC 100 en termes de survie sans récurrence et de survie globale [20]. Le FEC 50 doit être considéré comme sous-dosé.

Depuis, les taxanes ont fait preuve d'une efficacité plus importante que le FAC ou le FEC 100 dans les essais du BCIRG 01 [21] et dans le PACS 01 [22]. L'intérêt de l'index mitotique a-t-il le même impact avec ces nouveaux protocoles ? Il faudra confirmer ces résultats pour situer leur importance par rapport aux autres facteurs prédictifs.

La prolifération cellulaire a été retrouvée comme étant prédictive d'une "chimiosensibilité" en néo-adjuvant, pour lequel les publications sont nombreuses [14-16, 23].

En situation adjuvante, aucune publication n'a autant de patientes que celle de l'IGR.

D'autres équipes retrouvent une corrélation entre prolifération et sensibilité à la chimiothérapie adjuvante.

C'est le cas d'Amadori et al. [24] avec le *labeling index*, qui ont retrouvé, dans un essai randomisé de chimiothérapie adjuvante N-, une amélioration significative de la survie sans récurrence en cas de prolifération élevée avec du CMF.

Dans une étude suédoise [25] sur la phase S comparant 12 cycles de CMF à radiothérapie locorégionale postopératoire (176 patientes), seules les patientes avec phase S élevée ont un bénéfice significatif en termes de survie sans récurrence et de survie globale.

Daidone et al. [6], rapportant des résultats d'analyse d'études prospectives en situation N-, concluent à un bénéfice avec des antimétabolites en cas de forte prolifération.

Pronzato et al. [26], dans une étude randomisée de 197 malades en périopératoire avec un cycle d'anthracyclines, retrouvent un *labeling index* élevé comme facteur prédictif.

Dans un travail récent réalisé sur la même base de données par Conforti et al. (IGR) [33], l'expression des récepteurs estrogéniques a été évaluée par *tissue array* en immunohistochimie, ainsi qu'une batterie d'autres biomarqueurs. En cas de négativité, ils sont les seuls facteurs indépendants de chimiosensibilité ayant un impact hautement significatif sur la survie sans récurrence et en limite de significativité en termes de survie globale, alors que Her2 ne ressort pas, ni d'ailleurs les sous-classes moléculaires.

Les sous-classes moléculaires

À côté des facteurs biologiques classiques de chimiosensibilité que sont les récepteurs et la prolifération émerge une nouvelle voie représentée par les sous-classes moléculaires identifiées par les profils génomiques et protéiques.

Les sous-classes moléculaires permettent de mieux appréhender l'hétérogénéité des cancers du sein, qui comprend en réalité plusieurs maladies.

Aujourd'hui, ce domaine est en pleine exploration grâce aux analyses génomiques à large échelle, en *micro arrays* [34-36]. Tout n'est pas encore clair, et les descriptions de certains auteurs sont sujettes à controverses. On recense 6 grandes sous-unités de cancer du sein : les cancers surexprimant Her2, les cancers basaux, les cancers luminaux types A, B, C, et les cancers *normal-like*. Pour faciliter l'identification de ces sous-classes, on se sert à présent des techniques d'immunohistochimie [37], qui permettront peut-être un jour de faire ces déterminations au quotidien.

Les sous-classes moléculaires comme facteurs pronostiques ?

Les sous-classes moléculaires doivent-elles être considérées comme des facteurs prédictifs de sensibilité aux traitements ou comme des facteurs pronostiques ?

Certain travaux [37] plaident en faveur de la détermination des sous-classes moléculaires de bon pronostic (cancers luminaux) avec un risque très faible de récurrence. Les patients concernés seraient alors de bons candidats pour ne pas recevoir de chimiothérapie. Cela demande bien sûr confirmation.

L'efficacité de la chimiothérapie est-elle différente selon les sous-types de cancer du sein ?

Les protéines de la réponse cellulaire à la chimiothérapie sont certainement différentes dans les familles Her2, "basal", "luminal" et *normal-like*, comme le suggère l'observation quotidienne, si l'on tient compte des spécificités pathologiques et biologiques. Ainsi, on sait depuis longtemps que l'efficacité de la chimiothérapie varie avec la présence des récepteurs hormonaux et que l'amplitude d'action des anthracyclines dépend de la présence de l'oncogène Her2 [38].

Les sous-types moléculaires diffèrent par leur aspect biologique : fréquence de l'expression des récepteurs, du type de prolifération, mutation BRCA et P53, de l'expression de la cytotkératine 5/6 ou de la cytotkératine 18.

Comme l'ont montré Rouzier et al. [39] en chimiothérapie néo-adjuvante, les sous-types de cancer du sein évalués par le profil génomique se comportent différemment dans leur sensibilité à la chimiothérapie, avec des taux de réponse complète pathologique différents. Les taux de pCR sont de 45 % chez les patientes avec tumeurs Her2+ et basales, de seulement 7 % pour les tumeurs lumineales, et de 0 % pour les tumeurs *normal-like*.

La responsabilité d'un seul biomarqueur prédictif du bénéfice de la chimiothérapie pour tous les sous-types de cancer du sein est improbable, voire impossible, dans cette maladie hétérogène, et les biomarqueurs sont différents selon les sous-types de tumeur.

Un biomarqueur x est le plus souvent lié à un sous-groupe moléculaire, et sa valeur prédictive va dépendre de la fréquence de ce sous-groupe dans la population étudiée. Adaptée à l'ensemble des cancers du sein, la valeur prédictive d'un seul biomarqueur est faible alors qu'elle peut être très importante au sein d'un seul sous-type moléculaire (40). Ces réflexions suggèrent donc de regarder la valeur prédictive d'un biomarqueur au sein d'un seul sous-groupe, et non sur la population générale.

Les biomarqueurs du cancer du sein qui pourraient émerger en thérapeutique

La P53 et la topo-isomérase II α sont les deux biomarqueurs les plus étudiés.

– P53

Comme le décrivent André et Pusztai [40] dans leur article, P53 est une protéine impliquée dans la réponse cellulaire aux anthracyclines. Les études translationnelles réalisées sur des échantillons humains ont généré des données contradictoires :

- les mutations de P53 sont associées au phénotype basal [41], et ce sous-type est hautement sensible aux anthracyclines, comme l'a montré Rouzier [39] ;
- les voies d'apoptose induite par les anthracyclines sont P53-dépendantes dans certains sous-types cellulaires, et P53-indépendantes dans d'autres sous-types, notamment les sous-types *basal-like* (voie liée à BRCA1 mutée).

Ces données suggèrent que la valeur prédictive de P53 est variable selon la fréquence du sous-type *basal-like* dans la population étudiée. Elles illustrent le fait que, comme un

biomarqueur est souvent lié à un sous-groupe moléculaire, sa valeur prédictive dépend de la fréquence du sous-groupe dans la population étudiée.

– La topo-isomérase II α – Cible cellulaire des anthracyclines

Il semblerait que le gène topo II α soit co-amplifié avec le gène Her2 [42], ce d'autant qu'il est situé sur le chromosome 17 à la suite du gène Her2. La sous-unité topo II α est principalement exprimée chez les patientes avec un cancer du sein Her2 [43]. La topo-isomérase II α pourrait être un très bon paramètre prédictif au sein du sous-groupe Her2+, alors que sa valeur prédictive est sujette à controverse dans les autres sous-classes moléculaires de cancer du sein.

Di Leo et al. [44] ont étudié la valeur prédictive de la combinaison des statuts de Her2 et de la sous-unité topo II α . La co-amplification des deux gènes est associée à un bénéfice de la chimiothérapie à base d'anthracyclines, comparativement à l'amplification isolée de Her2 ou de topo II α . Cette étude illustre bien comment la valeur prédictive d'un biomarqueur pourrait être liée à la sous-classe moléculaire du sein. À partir de ces données, le BCIRG [45] a regardé la valeur prédictive de l'amplification du gène topo-isomérase II α chez les patientes avec un cancer du sein surexprimant Her2 incluses dans un essai randomisé qui a comparé une chimiothérapie à base d'anthracyclines à une chimiothérapie à base de taxanes. Les données mettent en évidence que l'amplification du gène de la sous-unité topo II α prédit le bénéfice de la chimiothérapie adjuvante à base d'anthracyclines.

– Le gène Tau

Le gène Tau pourrait être impliqué dans la sensibilité aux taxanes, et en particulier au paclitaxel, comme le suggère le travail de Pusztai [46]. L'expression élevée de l'ARNm de Tau semble corrélée à l'absence de réponse complète à la chimiothérapie adjuvante. Cela s'expliquerait *in vitro* par l'inhibition partielle de la liaison paclitaxel et microtubules nécessaire au mode d'action de cette chimiothérapie.

Les combinaisons de plusieurs biomarqueurs

La combinaison de plusieurs biomarqueurs semble indispensable pour raisonner sur une population générale. En effet, l'expression d'un biomarqueur de sensibilité est liée à une sous-classe moléculaire spécifique de cancer du sein. Il ne présente une valeur prédictive que pour cette population. Cette considération limite le pouvoir d'un seul biomarqueur pour prédire avec une grande précision celles des patientes qui bénéficieront de la chimiothérapie adjuvante dans la population totale des cas de cancer du sein.

Conclusion

Les facteurs biopathologiques classiques restent importants et sont à prendre en compte dans le choix thérapeutique. La prolifération tumorale, dont l'index mitotique

est très probablement le meilleur représentant, apparaît comme un marqueur de sensibilité essentiel dans la décision d'entreprendre une chimiothérapie adjuvante.

Les biopathologistes seront prochainement les partenaires indispensables pour identifier les sous-classes moléculaires et les biomarqueurs de sensibilité, à condition toutefois que cette évaluation soit facilement obtenue à l'aide des techniques en immunohistochimie et non par une technique *micro array*, longue et difficile.

La topo-isomérase II α est un facteur peut-être intéressant, mais son expression étant rare, il faudra encore du temps pour valider son intérêt. La mutation P53 doit être interprétée avec prudence pour le moment, sachant que sa valeur prédictive est variable selon les différents types de cancer du sein.

Aujourd'hui, l'impact de ces facteurs prédictifs de sensibilité à la chimiothérapie évalués par les biopathologistes n'est pas encore très bien établi. Ainsi, les oncologues tiennent de plus en plus compte de la prolifération cellulaire et des récepteurs hormonaux, lorsqu'ils sont face à leurs patientes ou bien en consultation pluridisciplinaire. Cependant, nous n'en sommes pas encore au traitement "à la carte" basé sur les sous-types moléculaires [27, 28] et les combinaisons de biomarqueurs de sensibilité. Il faudra attendre que l'identification de ces facteurs puisse être faite par des techniques faciles et reproductibles à grande échelle. L'immunohistochimie sera certainement le moyen de passer du laboratoire de recherche à la pratique quotidienne, car on imagine difficilement de réaliser des explorations génomique par *micro array* sur un nombre important de patientes.

Références bibliographiques

- [1] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group: Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomized trials. *Lancet* 1998;352:930-42.
- [2] Faneyte IF, Schrama JG, Peterse JL et al. Breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: predictive markers and relation with outcome. *Br J Cancer* 2003;88(3):406-12.
- [3] Pierga JY, Mouret E, Laurence V et al. Prognostic factors for survival after neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer: the role of clinical response. *Eur J Cancer* 2003;39(8):1089-96.
- [4] Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD et al. Meeting highlights: updated international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:3357-65.
- [5] Stal O, Dufmats M, Hatschek T et al. S-phase fraction is a prognostic factor in stage I breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1993;11:1717-22.
- [6] Daidone MG, Silvestrini R. Prognostic and predictive role of proliferation indices in adjuvant therapy of breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001;30:27-35.
- [7] Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19(5):403-10.
- [8] Vincent-Salomon A, Rousseau A, Jouve M et al. Breast Cancer Study Group. Proliferation markers predictive of the pathological response and disease outcome of patients with breast carcinomas treated by anthracycline-based preoperative chemotherapy. *Eur J Cancer* 2004;40(10):1502-8.
- [9] Contesso G, Mouriesse H, Friedman S et al. The importance of histologic grade in long-term prognosis of breast cancer: a study of 1 010 patients, uniformly treated at the Institut Gustave-Roussy. *J Clin Oncol* 1987;5:1378-86.

- [10] Penault-Llorca F, Cayre A, Mishellany F et al. Induction chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome. *Int J Onco* 2003;(22)360:853-4.
- [11] Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ et al. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg* 1995;180(3):297-306.
- [12] Chollet P, Amat S, Cure H et al. Prognostic significance of a complete pathological response after induction chemotherapy in operable breast cancer. *Br J Cancer* 2002;86(7):1041-6.
- [13] Fischer B, Bryant J, Wolmark N et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:2672-85.
- [14] Aas T, Geisler S, Eide GE et al. Predictive value of tumour cell proliferation in locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Cancer* 2003;39:438-46.
- [15] MacGrogan G, Mauriac L, Durand M et al. Primary chemotherapy in breast invasive carcinoma: predictive value of the immunohistochemical detection of hormonal receptors, p53, c-erbB-2, MiB1, pS2 and GST pi. *Br J Cancer* 1996;74(9):1458-65.
- [16] Petit T, Vilt M, Veltlen M et al. Comparative value of tumor grade, hormonal receptors, KI-67, HER-2 and topoisomerase II alpha status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracyclines-based chemotherapy. *Eur J Cancer* 2004;40:205-11.
- [17] Remvikos Y, Joue M, Beuzebec P et al. Cell cycle modifications of breast cancers during neoadjuvant chemotherapy: a flow cytometry study on fine needle aspirates. *Eur J Cancer* 1993;29A(13):1843-8.
- [18] Colleoni M, Orvieto E, Nole F et al. Prediction of response to primary chemotherapy for operable breast cancer. *Eur J Cancer* 1999;35(4):574-9.
- [19] André F, Khalil A, Sliman K et al. Mitotic index and benefit of adjuvant anthracycline-based chemotherapy in patients with early breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;1;23(13):2996-3000.
- [20] French Adjuvant Study Group. Benefit of a high-dose epirubicin regimen in adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer patients with poor prognostic factors: 5-year follow-up results of French Adjuvant Study Group 05 randomized trial. *J Clin Oncol* 2001;19:602-11.
- [21] Pienkowski M, Mackey T, Pawlicki M et al. TAC improves DFS and OS in node positive early breast cancer patients. *BCIRG 001 2006; Abst n° 24, SABCS*.
- [22] Roché H, Fumoleau P, Spielmann M et al. Randomized trial comparing 6 cycles of FEC100 vs 3 cycles of FEC100 followed by 3 cycles of Docetaxel (D) for node positive breast cancer patients: analysis at 5 years of the t- PACS01 trial. *Abst n° 27. SABCS 2004*.
- [23] Campiglio M, Somenzi G, Olgiati C et al. Role of proliferation in HER2 status predicted response to Doxorubicin. *Int J Cancer* 2003;105:568-73.
- [24] Amadori D, Nanni O, Marangolo M et al. Disease-free survival advantage of adjuvant cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in patients with node-negative, rapidly proliferating breast cancer: a randomized multicenter study. *J Clin Oncol* 2000;18:3125-34.
- [25] Stal O, Skoog L, Rutqvist LE et al. S-phase fraction and survival benefit from adjuvant chemotherapy or radiotherapy of breast cancer. *Br J Cancer* 1994;70:1258-62.
- [26] Pronzato P, Queirolo P, Vecchio S et al. Thymidine labeling index analysis in early breast cancer patients randomized to receive perioperative chemotherapy. *Oncology* 2001;60:88-93.
- [27] Van de Vijver MJ, He YD, Van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1999-2009.
- [28] 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.
- [29] *Recommandations pour la pratique clinique. St-Paul-de-Vence. Oncologie* 2005;7(5)342-827.
- [30] Bollet MA, Sigal-Zafrani B, Gambotti L et al. For The Institut Curie Breast Cancer Study Group. Pathologic response to preoperative concurrent chemo-radiotherapy for breast cancer: Results of a phase II study. *Eur J Cancer* 2006;5.
- [31] Guarneri V, Broglio K, Kau SW et al. Prognostic value of pathologic complete response after primary chemotherapy in relation to hormone receptor status and other factors. *J Clin Oncol* 2006;24(7):103-44.

- [32] Abrial C, Bouchet-Mishellany F, Raoelfils I et al. Place of anatomopathology in evaluation of response to neoadjuvant chemotherapy. Prognostic and predictive markers: example of breast cancer. *Bull Cancer* 2006;93(7):663-8.
- [33] Conforti R, Boulet T, Tomasic G et al. Predictive value of estrogen receptor, Her2 status and molecular subclassification regarding the benefit of adjuvant anthracycline-based chemotherapy in early breast cancer 2006; In press.
- [34] Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;11;98(19):10869-74.
- [35] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000;406(6797):747-52.
- [36] Sotiriou C, Neo SY, McShane LM et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;2;100(18):10393-8.
- [37] Abd El-Rehim DM, Ball G, Pinder SE et al. High-throughput protein expression analysis using tissue microarray technology of a large well-characterised series identifies biologically distinct classes of breast cancer confirming recent cDNA expression analyses. *Int J Cancer* 2005;1;116(3):340-50.
- [38] Pritchard KI, Shepherd LE, O'Malley FP et al. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006;18;354(20):2103-11.
- [39] Rouzier R, Perou CM, Symmans WF et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;15;11(16):5678.
- [40] André F, Pusztai L. Heterogeneity of breast cancer among patients and implications for patients selection for adjuvant chemotherapy. *Pharm Res* 2006;23(9):1951-8.
- [41] Sorlie T, Tibshirani R, Parker J et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(14):8418-23.
- [42] Hicks DG, Yoder BJ, Pettay J et al. The incidence of topoisomerase II-alpha genomic alterations in adenocarcinoma of the breast and their relationship to human epidermal growth factor receptor-2 gene amplification: a fluorescence in situ hybridization study. *Hum Pathol* 2005;36(4):348-56.
- [43] Bhargava R, Lal P, Chen B. HER-2/neu and topoisomerase IIa gene amplification and protein expression in invasive breast carcinomas: chromogenic in situ hybridization and immunohistochemical analyses. *Am J Clin Pathol* 2005;123(6):889-95.
- [44] Di Leo A, Gancberg D, Larsimont D et al. HER-2 amplification and topoisomerase IIalpha gene aberrations as predictive markers in node-positive breast cancer patients randomly treated either with an anthracycline-based therapy or with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 2002;8(5):1107-16.
- [45] Press MF, Bernstein L, Sauter G et al. Topoisomerase II-alpha gene amplification as a predictor of responsiveness to anthracycline-containing chemotherapy in the Cancer International Research Group 006 clinical trial of trastuzumab (herceptin) in the adjuvant setting. *San Antonio Breast Cancer symposium, Abs* 2005;1045.
- [46] Pusztai L. Microtubule-associated protein tau: a marker of paclitaxel sensitivity in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(23):8315-20.