

**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Medicina**  
**Segunda Especialidad en Anatomía Patológica**



**MODIFICACIÓN DE LOS BIOMARCADORES Y FENOTIPO  
TRAS EL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE DE PACIENTES  
CON CÁNCER DE MAMA EN EL HOSPITAL BASE CARLOS  
ALBERTO SEGUIN ESCOBEDO DEL 2013-2018.**

Trabajo Académico presentado por:  
Dr. Figueroa Huaracha, Lenin Nicolás  
Para optar el Título de Segunda  
Especialidad en Anatomía Patológica

Asesor: Dra. Zea Sánchez, Gilda

**AREQUIPA – PERU**

**2018**

## RESUMEN

**Introducción:** En los últimos años, el cáncer de mama se ha convertido en un gran problema, debido a su rápido aumento. Además, hay que tener en cuenta que podrían ocurrir modificaciones de los biomarcadores y el fenotipo tras el tratamiento neoadyuvante de pacientes con cáncer de mama. Actualmente, la clasificación morfológica, el grado histológico, estado de los receptores de estrógenos (ER), receptor de progesterona (PR), y receptor de factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2), junto con el estadio del tumor, se utilizan para guiar la gestión clínica/oncológica.

**Objetivos** son determinar cómo se modifican los biomarcadores y el fenotipo tras el tratamiento neoadyuvante de pacientes con cáncer de mama en el Hospital Base Carlos Alberto Seguin Escobedo.

**Conclusión y recomendación** los hallazgos controvertidos sobre el impacto del tratamiento neoadyuvante en marcadores inmunohistoquímicos en especímenes de cáncer de mama, diseñamos el estudio actual para investigar los posibles cambios en la expresión de ER, PR, HER2 y Ki67 antes y después del tratamiento neoadyuvante en una cohorte de pacientes con cáncer de mama del Hospital Base Carlos Alberto Seguin Escobedo.

**Palabras clave:** Cáncer de mama, tratamiento neoadyuvante, inmunohistoquímica.

## ABSTRACT

**Introduction:** In recent years, breast cancer has become a big problem, due to its rapid increase. In addition, it should be taken into account that modifications of the biomarkers and the phenotype could occur after neoadjuvant treatment of patients with breast cancer. Currently, morphological classification, histological grade, estrogen receptor (ER) status, progesterone receptor (PR), and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), together with tumor stage, are used for guide clinical / oncological management.

**Objectives** are to determine how biomarkers and phenotype are modified after neoadjuvant treatment of patients with breast cancer at the Carlos Alberto Seguin Escobedo Base Hospital.

**Conclusion and recommendation** the controversial findings on the impact of neoadjuvant treatment on immunohistochemical markers in breast cancer specimens, we designed the current study to investigate the possible changes in the expression of ER, PR, HER2 and Ki67 before and after neoadjuvant treatment in a cohort of patients with breast cancer at the Carlos Alberto Seguin Escobedo Base Hospital

**Key words:** Breast cancer, neoadjuvant treatment, immunohistochemistry.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	5
<b>CAPÍTULO I: MARCO CONCEPTUAL</b> .....	6
<b>1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	6
1.1. Enunciado del Problema.....	6
1.2. Descripción del Problema .....	6
1.3. Interrogantes básicas .....	7
1.4. Tipo y nivel de investigación .....	7
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	7
2.1. Objetivo general:.....	7
2.2. Objetivos específicos: .....	7
<b>3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA</b> .....	7
<b>4. MARCO CONCEPTUAL</b> .....	8
4.1. Carcinoma ductal infiltrante:.....	8
4.2. Etiología .....	8
4.3. Características clínicas .....	9
4.4. Gradación .....	9
4.5. Clasificación molecular.....	11
4.6. Estadiaje .....	12
4.7. Tratamiento Neoadyuvante .....	12
<b>CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO</b> .....	14
<b>I. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL</b> .....	14
1. Técnicas, instrumentos y materiales de verificación.....	14
2. Campo de verificación .....	14
3. Estrategia de recolección de datos.....	14
4. Criterios o estrategias para manejar resultados: .....	14
<b>CAPITULO III: HIPÓTESIS</b> .....	15
<b>CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	15
1. Conclusiones: .....	15
2. Recomendaciones.....	15
<b>CAPITULO V: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	15

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el cáncer de mama se ha convertido en un gran problema, debido a su rápido aumento; el cual, se debe a múltiples factores, por lo que su diagnóstico temprano y un conocimiento adecuado de las características moleculares y variaciones son de importancia.

Además, hay que tener en cuenta que podrían ocurrir modificaciones de los biomarcadores y el fenotipo tras el tratamiento neoadyuvante de pacientes con cáncer de mama. Actualmente, la clasificación morfológica, el grado histológico, estado de los receptores de estrógenos (ER), receptor de progesterona (PR), y receptor de factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2), junto con el estadio del tumor, se utilizan para guiar la gestión clínica.

La rutina de análisis inmunohistoquímico (IHC) para ER, PR y HER2 proporciona información pronóstica y predictiva crítica para los carcinomas invasivos de mama. Tras la resección quirúrgica, el probable tumor residual puede mostrar variaciones en el inmunofenotipo que condiciona un nuevo tratamiento oncológico, por lo cual este trabajo busca evaluar la modificación de los biomarcadores y fenotipo tras el tratamiento neoadyuvante de pacientes con cáncer de mama en el Hospital Base Carlos Alberto Seguin Escobedo.

## CAPÍTULO I: MARCO CONCEPTUAL

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1. Enunciado del Problema

¿EVALUAR LA MODIFICACIÓN DE LOS BIOMARCADORES Y FENOTIPO TRAS EL TRATAMIENTO NEOADYUVANTE DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA EN EL HOSPITAL BASE CARLOS ALBERTO SEGUIN ESCOBEDO?

#### 1.2. Descripción del Problema

##### a. Área del conocimiento

- Área general: Ciencias de la Salud
- Área específica: Medicina Humana
- Especialidad: Anatomía Patológica/Patología oncológica
- Línea: cáncer de mama

##### b. Operacionalización de variables

Variable	Indicador o definición operativa	Tipo de variables	Escala de medición
<b>Biomarcadores</b> - Receptor estrógeno - Receptor progesterona - Her-2 - Ki-67	- <b>0 al 100%</b> - <b>0 al 100%</b> - <b>0 a tres cruces</b> - <b>0 al 100%</b>	<b>Cuantitativa</b>	<b>Ordinal</b>
<b>Fenotipo</b> - Cáncer de mama Luminal - Cáncer de mama Her-2 Positivo - Cáncer de mama triple negativo	- <b>RE+,RP+,HER2-</b> - <b>RE+/-,RP+/-,HER2+</b> - <b>RE-,RP-,HER2-</b>	<b>Cualitativas</b>	<b>Nominal</b>
Edad	- <b>Años</b>	<b>Cuantitativa</b>	<b>Ordinal</b>

### 1.3. Interrogantes básicas

- ¿Cuáles son las modificaciones de los biomarcadores tras el tratamiento Neoadyuvante en pacientes con cáncer de mama?
- ¿Cuáles son las modificaciones del fenotipo tras el tratamiento Neoadyuvante en pacientes con cáncer de mama?

### 1.4. Tipo y nivel de investigación

- Tipo de investigación de campo
- Nivel de investigación: Es un estudio de investigación tipo, prospectivo, comparativo y relacional de corte transversal.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general:

- Determinar cómo se modifican los biomarcadores y el fenotipo tras el tratamiento neoadyuvante de pacientes con cáncer de mama en el Hospital Base Carlos Alberto Seguin Escobedo.

### 2.2. Objetivos específicos:

- Determinar el cambio que genera el tratamiento neoadyuvante en la expresión de los biomarcadores y fenotipo en el cáncer de mama.
- Determinar en qué fenotipos se encuentra mejor respuesta al tratamiento neoadyuvante.

## 3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

### a. Justificación Científica:

Desde este punto de vista es de gran importancia evaluar y conocer el cambio del inmunofenotipo de las pacientes con cáncer de mama, tras el tratamiento Neoadyuvante; ya que estos cambios repercuten tanto en la sobrevida como en el nuevo esquema de tratamiento que deberá recibir la paciente

b. Justificación Social:

Desde este punto de vista este estudio cobra gran importancia social ya que los resultados encontrados brindaran las evidencias necesarias para el correcto manejo de pacientes con cáncer de mama residual, tras el tratamiento Neoadyuvante.

c. Factibilidad:

La aplicación del estudio desde este punto de vista es dependiente de recursos, material humano, tiempo, bibliografía especializada. Todos estos aspectos están a nuestro alcance para la realización de nuestra investigación.

## 4. MARCO CONCEPTUAL

### 4.1. Carcinoma ductal infiltrante:

El carcinoma ductal invasivo es el grupo más grande de tumores mamarios malignos, que comprende aproximadamente el 75% de los carcinomas mamarios [5]

Un término genérico que a veces se emplea es el carcinoma ductal invasivo, no especificado (NOS), o de ningún tipo especial (NST). Estas son designaciones útiles, porque reconocen la distinción entre la mayoría de los carcinomas ductales invasivos y las diversas formas "especiales" específicas e infrecuentes de carcinoma ductal, como el carcinoma quístico tubular, medular, metaplásico, mucinoso y adenoide quístico (AdCC). Existe evidencia acumulada de que muchos de los otros 25% de los carcinomas de mama invasivos no solo tienen aspectos fenotípicos especiales sino también atributos genéticos específicos; por ejemplo, AdCC tiene la translocación (6; 9) MYB-NFIB, el carcinoma secretor tiene la translocación t (12; 15) que ayuda a formar el gen de fusión ETV6-NTRK3, y el carcinoma lobular exhibe la inactivación del gen CDH13 que se refleja en la ausencia de inmunorreactividad de E-cadherina.<sup>5</sup>

### 4.2. Etiología

El origen del cáncer de mama es multifactorial e involucra dieta, factores reproductivos y hormonas. El viaje etiológico comienza en el útero y continúa durante toda la vida con una variedad de exposiciones que modulan el riesgo en diferentes momentos [6]

A partir de datos epidemiológicos descriptivos, ha surgido claramente que el cáncer de mama es una enfermedad de las sociedades opulentas que han adquirido el "estilo de vida occidental", caracterizado por una dieta alta en calorías rica en grasas y proteínas animales, combinada con la falta de ejercicio físico. Las regiones que han presentado este estilo de vida durante mucho tiempo (Australia, Norteamérica y el norte de Europa) han alcanzado una meseta de incidencia con una tasa anual de 70 a 90 casos nuevos por cada 100 000 habitantes, mientras que los países que se han industrializado y afluído relativamente recientemente muestran un aumento marcado en incidencia y mortalidad, por ejemplo, India, Japón y la República de Corea. [6]

Más que la mayoría de las otras neoplasias humanas, el cáncer de mama muestra una agrupación familiar. Se han identificado dos genes de alta penetración (BRCA1 y BRCA2) que aumentan en gran medida el riesgo de desarrollar cáncer de mama [6].

#### 4.3. Características clínicas

Una masa palpable es el signo clínico más frecuente de carcinoma de mama invasivo, aunque retracción de la piel, inversión del pezón, secreción del pezón y, con menos frecuencia, un cambio en el tamaño o forma de la mama o un cambio en el color o textura de la piel, también puede ser visto. En raras ocasiones, el carcinoma de mama se presentará como agrandamiento de los ganglios linfáticos axilares en ausencia de cualquier anomalía en el seno. Todos los síntomas del cáncer de mama también pueden ser causados por enfermedad mamaria benigna, por lo que la evaluación con imágenes y el muestreo histológico con biopsia central o citología por aspiración con aguja fina están indicados para establecer un diagnóstico definitivo. [6]

#### 4.4. Gradación

Se evalúan tres características tumorales: formación de túbulos como expresión de diferenciación glandular; pleomorfismo nuclear; y conteos mitóticos. Se utiliza un sistema de puntuación numérica de 1 a 3 para garantizar que cada factor se evalúe de forma independiente (Tabla 1). La formación glandular se evalúa en todo el tumor y es una evaluación de baja potencia. El pleomorfismo nuclear se evalúa para el área que muestra el

peor grado de pleomorfismo y se realiza el conteo mitótico para el área que presenta la mayor proliferación. [5]

**TABLA I [5]:**

<b>CARACTERÍSTICA</b>	<b>SCORE</b>
<b>Formación túbulo/glandular:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Puntuación 1:</b> &gt; 75% del área tumoral formando estructuras glandulares / tubulares</li> </ul>	1
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Puntuación 2:</b> 10% a 75% del área tumoral formando estructuras glandulares / tubulares</li> </ul>	2
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Puntuación 3:</b> &lt;10% del área tumoral formando estructuras glandulares / tubulares</li> </ul>	3
<b>Pleomorfismo nuclear</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Núcleos pequeños, contornos regulares, cromatina nuclear uniforme, poca variación en tamaño</b></li> </ul>	1
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Células más grandes con núcleos vesiculares abiertos, nucléolos visibles y variabilidad moderada en tamaño y forma</b></li> </ul>	2
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Núcleos vesiculares, nucléolos prominentes, marcada variación en tamaño y forma, ocasionalmente con formas muy grandes y extrañas.</b></li> </ul>	3
<b>Cuenta mitótica</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Menos de o igual a 7 mitosis por 10 campos de alta potencia</b></li> </ul>	1
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>8-14 mitosis por 10 campos de alta potencia</b></li> </ul>	2
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Igual o superior a 15 mitosis por 10 campos de alta potencia</b></li> </ul>	3
<b>NOTA GLOBAL</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Grado 1</b></li> </ul>	<b>Puntajes de 3, 4 o 5</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Grado 2</b></li> </ul>	<b>Puntajes de 6 o 7</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Grado 3</b></li> </ul>	<b>Puntajes de 8 o 9</b>

#### 4.5. Clasificación molecular

El año 2000 Perou y su grupo describieron subtipos moleculares del cáncer mamario, usando microarreglos de cADN. Seleccionaron 1753 genes en 65 especímenes quirúrgicos.

La clasificación molecular reveló cinco clases distintivas de carcinoma: luminal A, luminal B (incluye los inicialmente considerados luminales C), erbB 2 (HER 2), basal-símil y mamario normal símil. Este último grupo correspondería a una categoría artificial, producto de falla de muestreo.

Desde el punto de vista patológico, la inmunotipificación puede aproximarnos a los subtipos moleculares, usando tres marcadores: receptores de estrógeno, receptores de progesterona y HER 2 [7] (Tabla II).

**TABLA II [7]:**

**SUSTITUTOS INMUNOHISTOQUÍMICOS PARA LA CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE LA MAMA**

Subtipos	Luminal BC			HER2 + BC			TNBC	
	LA	LB	PR ≤ 20	Lumina I HER2 PR+	LUMINA L HER2 PR-	HER ENRIQUECI O	BLB C	NCB C
		Ki67≥14 %						
RE,%	+	+	+	+	+	-	-	-
RP,%	+	> 20	< 20	+	-	-	-	-
HER2	-	-	-	+	+	+	-	-
KI67,%	< 14	≥14	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
CK5	..	..	..	..	..	..	+	-
EGFR	..	..	..	..	..	..	+	-

BC, cáncer de mama; BLBC, subtipo basal; CK5, citoqueratina de alto peso molecular expresada en células mioepiteliales normales; EGFR, receptor del factor de crecimiento epidérmico; ER, receptor de estrógeno; HER2, receptor del factor de crecimiento epidérmico humano-2; LA, subtipo luminal A; LB, subtipo luminal B; NCBC, subtipo no clasificado; PR, receptor de progesterona; TNBC, subtipo triple negativo

#### 4.6. Estadiaje

El sistema más utilizado para clasificar el carcinoma de mama es el sistema TNM publicado por el American Joint Committee on Cancer (AJCC) / Union for International Control del cáncer (UICC). Los criterios más recientes descritos en la octava edición del sistema TNM se proporcionan al comienzo de este capítulo. Este sistema captura información sobre la extensión del cáncer en el sitio primario (tumor o T), los ganglios linfáticos regionales (nódulos o N) y su diseminación a sitios metastásico distantes (metástasis o M). No se requieren técnicas especiales de clasificación y, por lo tanto, se puede recopilar información comparable a lo largo del tiempo y en diversos lugares. [6]

#### 4.7. Tratamiento Neoadyuvante

La quimioterapia Neoadyuvante (NAC) se administra comúnmente en la práctica clínica diaria para cánceres de mama localmente avanzados y operables. La reducción del volumen del tumor inducida por NAC facilita el procedimiento quirúrgico posterior y ha llevado a mayores tasas de éxito de la cirugía de mantenimiento de la mama [1]. Además de esta ventaja para el procedimiento quirúrgico, los resultados de la evaluación clínica y patológica de las respuestas a la quimioterapia proporcionan información importante para la predicción del pronóstico en pacientes individuales. Se ha establecido que los pacientes que lograron respuesta patológica completa (PCR) después de NAC (sin cáncer residual en muestras quirúrgicas) mostraron una fuerte correlación con la supervivencia libre de enfermedad (SSE) prolongada y la supervivencia general (SG) [8]

NAC se define por la administración de quimioterapia loco-regional antes del tratamiento (con cirugía y / o irradiación). NAC seguido de citorreducción se ha convertido en parte de la atención estándar para pacientes con cáncer de mama localmente avanzado [9]. Desde un punto de vista clínico, NAC puede ofrecer varias ventajas, incluida la reducción de tumores grandes, proporcionar información sobre la respuesta tumoral a un agente o agentes quimioterapéuticos específicos y mejorar los resultados clínicos (presumiblemente a través de la eliminación temprana de micrometástasis sistémicos) [10]

ER y PR son factores de transcripción nuclear activados por hormonas que influyen directamente en el crecimiento epitelial mamario, la diferenciación y la supervivencia [11].

El estado del receptor hormonal evaluado mediante inmunohistoquímica ha sido identificado como un predictor independiente de la respuesta terapéutica [11]. En particular, la evidencia sugiere que los tumores ER-negativos tienden a responder mejor a la quimioterapia que los tumores ER-positivos [12]. Similar, La sobreexpresión inmunohistoquímica de HER2 -un miembro de la familia de receptores de tirosina cinasa del receptor del factor de crecimiento epidérmico [12] - se ha relacionado con resultados deficientes, aunque su asociación potencial con la respuesta a NAC sigue sin estar clara [13]. Ki-67, un marcador relacionado con la mitosis, es una proteína nuclear no histónica que está relacionada estrechamente con la actividad proliferativa celular. En una muestra de 148 pacientes con cáncer de mama, Nishimura et al. [14] han demostrado previamente que la expresión inmunohistoquímica reducida de Ki-67 antes de NAC se asocia significativamente con su eficacia clínica. Además, se encontró que la expresión de Ki-67 se redujo significativamente después de NAC y se asoció tanto con la respuesta clínica como con la SSE [14]. Sin embargo, el efecto de NAC en los marcadores inmunohistoquímicos de cáncer de mama sigue siendo controvertido. En esto respecto, Lee et al. [15] han informado cambios en la expresión de ER y PR en el 61% de los pacientes sometidos a NAC. Sin embargo, Arens et al. [16] no encontraron ningún impacto significativo de NAC en la expresión de ER, PR y HER2 . Del mismo modo, Pedrini et al. [16] no informaron diferencias significativas en la expresión de ER y PR antes y después de NAC. Dado los hallazgos controvertidos sobre el impacto de NAC en marcadores inmunohistoquímicos en especímenes de cáncer de mama, diseñamos el estudio actual para investigar los posibles cambios en la expresión de ER, PR, HER2 y Ki67 antes y después de NAC en una cohorte de pacientes con cáncer de mama del Hospital Base Carlos Alberto Seguin Escobedo.

## CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO

### I. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

#### 1. Técnicas, instrumentos y materiales de verificación.

- **La técnica:** mediante la aplicación de revisión de Historias Clínicas.
- **El instrumento:** Fichas de recolección de datos.

#### 2. Campo de verificación

- **Ubicación espacial:** La información para la elaboración del presente estudio se obtendrá mediante la recolección de datos de Historias Clínicas del HBCASE
- **Unidades de estudio:** La población de estudio comprenderá pacientes con el diagnóstico de cáncer de mama del 2014 al 2017 en el HBCASE
- **Criterios de inclusión:** Pacientes con diagnóstico de cáncer de mama, que recibieron y completaron tratamiento Neoadyuvante (quimioterapia) y cuentan con estudio anatomopatológico e inmunoistoquímico completo en la pieza quirúrgica.
- **Criterios de exclusión:** Pacientes que no completaron tratamiento Neoadyuvante (quimioterapia) y con estudio anatomopatológico e inmunohistoquímicos incompleto.

#### 3. Estrategia de recolección de datos.

##### 3.1. Organización:

- Autorización de las autoridades del Hospital Carlos Alberto Seguin Escobedo
- Preparación de las unidades de estudio.
- Formalización física de la muestra.

##### 3.2. Recursos:

- De personal: El encuestador y asesor
- Materiales: Bibliografía, computadora con acceso a Internet, papel, lapiceros.
- Económicos: aportados íntegramente por el autor.

#### 4. Criterios o estrategias para manejar resultados:

Se creara una base de datos en Excel, y método estadístico SPSS 9.0. Se realizara un análisis descriptivo de los datos, los cuales se presentaran en tablas.

### **CAPITULO III: HIPÓTESIS**

Dado que se realiza tratamientos neoadyuvantes a pacientes con cáncer de mama es probable que exista una modificación de los biomarcadores y el fenotipo tras dicho tratamiento en pacientes con cáncer de mama en el Hospital Base Carlos Alberto Seguin Escobedo.

### **CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **1. Conclusiones:**

- Se concluye que los estudios relacionados a la “Modificación de los Biomarcadores y Fenotipo tras el Tratamiento Neoadyuvante de Pacientes con Cáncer de Mama” en la ciudad de Arequipa, así como en el Perú son inexistentes y muy escasos a nivel de Latinoamérica.
- Se encontrara una varacion en los Biomarcadores y Fenotipo de las pacientes con cáncer de mama, por lo que el tratamiento en caso de persistencia de enfermedad continuara.

#### **2. Recomendaciones**

- Se recomienda la evaluación a nivel tanto de macro región, como a nivel nacional la evaluación de la “Modificación de los Biomarcadores y Fenotipo tras el Tratamiento Neoadyuvante de Pacientes con Cáncer de Mama.

### **CAPITULO V: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Youlden DR, Cramb SM, Dunn NA, Muller JM, Pyke CM, Baade PD. The descriptive epidemiology of female breast cancer: an international comparison of screening, incidence, survival and mortality. *Cancer Epidemiol* 2012;36:237-248.
2. DeSantis C, Siegel R, Bandi P, Jemal A. Breast cancer statistics, 2011. *CA Cancer J Clin* 2011;61:409-418.
3. Connolly RM, Stearns V. Current approaches for neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Eur J Pharmacol* 2013;717:58-66.
4. Syed A. Hoda, Edi Brogi, Frederick C. Koerner, Paul P. Rosen. Fourth edition, 2015. *Rosen’s breast pathology*. Philadelphia, PA 19103 USA by Lippincott Williams & Wilkins

5. Lakhani, S.R., Ellis. I.O., Schnitt, S.J., Tan, P.H., van de Vijver, M.J. WHO Classification of Tumours of the Breast. Fourth Edition, 2012. Edited by Lakhani SR.
6. Haiyan Liu, MD. Immunohistochemical Surrogates for Molecular Classification of Breast Carcinoma. Archives of Pathology & Laboratory Medicine (APLM), Vol 138, December 2014
7. Yukie Enomoto, Takashi Morimoto. Impact of biomarker changes during neoadjuvant chemotherapy for clinical response in patients with residual breast cancers. Japan Society of Clinical Oncology 2015
8. Avci N, Deligonul A, Tolunay S, Cubukcu E, Fatih Olmez O. Neoadjuvant chemotherapy-induced changes in immunohistochemical expression of estrogen receptor, progesterone receptor, HER2, and Ki-67 in patients with breast cancer. J BUON. 2015 Jan-Feb;20(1):45-9. PubMed
9. Bear HD. Neoadjuvant chemotherapy for operable breast cancer: individualizing locoregional and systemic therapy. Surg Oncol Clin N Am 2010;19:607- 626.
10. Walker RA. Immunohistochemical markers as predictive tools for breast cancer. J Clin Pathol 2008;61:689- 696.
11. Onitilo AA, Engel JM, Greenlee RT, Mukesh BN. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. Clin Med Res 2009;7:4-13.
12. Mitri Z, Constantine T, O'Regan R. The HER2 receptor in breast cancer: pathophysiology, clinical use, and new advances in therapy. Chemother Res Pract 2012;2012:743193.
13. Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Hayashi M, Arima. Clinical significance of Ki-67 in neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer as a predictor for chemosensitivity and for prognosis. Breast Cancer 2010;17:269-275.

14. Lee SH, Chung MA, Quddus MR, Steinhoff MM, Cady B. The effect of neoadjuvant chemotherapy on estrogen and progesterone receptor expression and hormone receptor status in breast cancer. *Am J Surg* 2003;186:348-350.
15. Arens N, Bleyl U, Hildenbrand R. HER2/neu, p53, Ki67, and hormone receptors do not change during neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Virchows Arch* 2005;446:489-496
16. Pedrini JL, Francalacci Savaris R, Casales Schorr M et al. The effect of neoadjuvant chemotherapy on hormone receptor status, HER2/neu and prolactin in breast cancer. *Tumori* 2011;97:704-710

