

# AZ EMLŐDAGANATOK PRIMER SZISZTÉMÁS KEMOTERÁPIÁRA ADOTT VÁLASZA AZ IMMUNHISZTOKÉMIAI FENOTÍPUS TÜKRÉBEN

Kulka Janina<sup>1\*</sup>, Tőkés Anna-Mária<sup>1\*</sup>, Tóth Adrienn Ildikó<sup>1</sup>, Szász Attila Marcell<sup>1</sup>, Farkas Andrea<sup>2</sup>, Borka Katalin<sup>1</sup>, Járay Balázs<sup>1</sup>, Székely Eszter<sup>1</sup>, Istók Roland<sup>1</sup>, Lotz Gábor<sup>1</sup>, Madaras Lilla<sup>1</sup>, Korompay Anna<sup>1</sup>, Harsányi László<sup>3</sup>, László Zsolt<sup>5</sup>, Rusz Zoltán<sup>6</sup>, Molnár Béla Ákos<sup>3</sup>, Molnár István Arthur<sup>3</sup>, Kenessey István<sup>1</sup>, Szentmártoni Gyöngyvér<sup>4</sup>, Székely Borbála<sup>1,4</sup>, Dank Magdolna<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, II. sz. Patológiai Intézet; <sup>2</sup>Fővárosi Önkormányzat, Szent Imre Kórház; <sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, I. sz. Sebészeti Klinika; <sup>4</sup>Radiológiai és Onkoterápiás Klinika; <sup>5</sup>MaMMA Klinika Budapest; <sup>6</sup>Schöpf-Merei Kórház Sebészeti Osztály, Budapest

1\*– egyenlő mértékben járultak hozzá a közleményhez

A neoadjuváns kemoterápiára adott patológiai választ kívántuk elemezni az emlőtumorok immunhisztokémiai fenotípusai, valamint az alkalmazott kemoterápiás protokollok tükrében. 1998 és 2009 között 92 neoadjuváns kezeléssel átesett emlőtumoros nőbeteg klinikai adatait, biopsziás és műtéti anyagát valamint túlélési mutatóit vizsgáltuk. A biopsziás- és műtéti anyagokon hormonreceptor (ER, PgR), Ki-67, p53, HER2 státusz meghatározás történt immunhisztokémiai módszerrel. A patológiai válasz megítélésére a Chevallier-osztályozást használtuk. 88 esetben elemeztük a betegségmentes- és a teljes túlélést a patológiai válasz függvényében. Patológiai komplett remisszió (pCR = Chevallier I és II) volt kimutatható 13/92 esetben (14,1%). A preoperatív daganatjellemtzők alapján a patológiai komplett remissziót mutató daganatok a tripla negatív (9/13) valamint az ER-/HER2+ (1/13) és az ER+/HER2+ (3/13) csoportokból kerültek ki. 24 beteg részesült taxán-, 30 antraciklin-, 33 taxán+antraciklin alapú terápiaiban, 2 CMF típusú neoadjuváns kezelésben, 3 esetben nem állt rendelkezésünkre ez az adat. A taxánnal kezelt betegek 29,1%-ában, az antraciklin-származékkal kezelt betegek 6,6%-ában, a kombinált kezelésben részesült betegek 12,1%-ában volt kimutatható pCR. A pCR-t mutató csoportban kevesebb volt a recidíva és a távoli áttét kialakulása, de nem tudunk szignifikáns különbséget igazolni. A kezelésre reagáló (Chevallier III) és a nem reagáló (Chevallier IV) csoport között ebben a tekintetben szignifikáns különbséget találtunk ( $p=0,006$ ). A betegségsspecifikus halálozás szignifikánsan alacsonyabb volt a pCR betegcsoportban ( $p=0,050$ ). Eredményeink alapján a patológiai komplett remissziót mutató esetek a tripla negatív és a HER2-pozitív csoportból kerültek ki. A neoadjuváns kezelés az ER+/HER2- tumorcsoportban volt a legkevésbé hatékony. Magyar Onkológia 53:335–343, 2009

**Kulcsszavak:** neoadjuváns terápia, primer szisztémás terápia, emlőrák, fenotípus

The purpose of the study was to identify breast cancer subtypes by immunohistochemistry likely to respond to neoadjuvant chemotherapy and to analyze the used chemotherapy regimen and the range of response rates. Analysis of a collected database was performed. Ninety-two patients were identified in our files who received neoadjuvant chemotherapy between 1998 and 2009. We used immunohistochemical profiles (ER, PgR, HER2, Ki-67 and p53) of NCB, FNAB and surgical breast specimens to subclassify the tumors. Pathological response rates were assessed following surgical removal of tumors by using the Chevallier classification. DFS and OS was measured in 88 cases from the date of definitive surgery to the date of last follow-up or death. Pathological complete or near-complete remission (pCR = Chevallier I and II) was observed in 13 of 92 cases (14.1%). According to the preoperative characteristics of the 13 tumors achieving pCR, 9 of the cases were triple negative, one of 13 was ER-/HER2+ and three of 13 ER+/HER2+. Twenty-four of 92 patients received taxane based neoadjuvant chemotherapy, 30 of 92 anthracyclin based neoadjuvant chemotherapy, 33 of 92 taxane + anthracyclin regimen and 2 of 92 CMF regimen. In the taxane treated group of patients the pCR rate was 29.1%, in the anthracyclin group 6.6% and in the taxane + anthracyclin treated group 12.1%. Concerning DFS, significant difference was observed between the Chevallier III and IV groups ( $p=0.006$ ), and less events were observed in the pCR group (not significant). pCR was associated with significantly better OS ( $p=0.050$ ). It seems that even limited, routinely used immunohistochemical profiling of tumors is able to predict the likelihood of pCR to neoadjuvant chemotherapy. Patients with triple negative and HER2-positive cancers are likely to achieve pCR after neoadjuvant chemotherapy. Kulka J, Tőkés A-M, Tóth AI, Szász AM, Farkas A, Borka K, Járay B, Székely E, Istók R, Lotz G, Madaras L, Korompay A, Harsányi L, László Z, Rusz Z, Molnár B, Molnár IA, Kenessey I, Szentmártoni Gy, Székely B, Dank M: Immunohistochemical phenotype of breast carcinomas predicts the effectiveness of primary systemic therapy. Hungarian Oncology 53:335–343, 2009

**Keywords:** neoadjuvant therapy, primary systemic therapy, breast cancer, phenotype

Közlésre érkezett:  
2009. október 30.

Elfogadva:  
2009. november 20.

Levelezési cím:  
Dr. Kulka Janina  
Semmelweis Egyetem  
II. sz. Patológiai Intézet  
1091 Budapest  
Üllői út 93.  
Telefon:  
(06-1) 2157-300/53430  
Fax: (06-1) 215-6921  
E-mail: kjj@korb2.sote.hu

Rövidítések:  
pCR: patológiai komplett remisszió;  
TE: docetaxel + epirubicin;  
FEC: 5-fluorouracil + epirubicin + cytoxan;  
FAC: 5-fluorouracil + adriamycin + cytoxan;  
CMF: ciklofoszfamid + metotrexát + 5-fluorouracil;  
TC: docetaxel + carboplatin;  
2wAD: 2 hetente adott adriamycin + docetaxel;  
EWGBSP: European Working Group of Breast Screening Pathologists

Munkánkhoz az alábbi pályázatok forrásait használtuk:  
NKFP-1A/0023/2002,  
AVON-EAGC 2005,  
MKOT-GSK 2006,  
MKOT-GSK 2008

Etikai engedély:  
TVKEB 139/2009

## BEVEZETÉS

A neoadjuváns, más néven primer szisztémás kemoterápia (PST) eredeti célja nagyméretű, lokálisan kiterjedt tumor reszekabilitásának, illetve operabilitásának elérése volt (21, 23). Gyulladásos emlőrák esetén a mai napig ez jelenti az ellátást. Az 1990-es évektől kezdődően a korai stádiumú tumorok terápiájában is szerepet kapott, mivel indikációs köre a daganatok biológiai viselkedésének egyre pontosabb megismerése révén folyamatosan bővült. A korai stádiumú emlőcarcinomák esetében az alábbi tapasztalatok indokolják a PST alkalmazását:

- növelheti az emlőmegtartó műtétek számát és lehetőségét (39)
- patológiai remisszió elérésével és/vagy a nyirokcsomókban lévő mikrometasztázisok eltűnésével a betegség alacsonyabb stádiumba jut (ún. down-staging) (19)
- in vivo információ nyerhető a daganatsejtek kemoterápiás szer iránti érzékenységről (19)

Több közlemény elemzi, hogy a neoadjuváns terápia alkalmazása különösen patológiai komplett remisszió (pCR) esetén

- meghosszabbíthatja a betegek össz-túlélését (overall survival – OS) és
- meghosszabbíthatja a tünetmentes periódust (disease-free survival – DFS) (2, 3, 11, 39)

Az utóbbi években számos közlemény taglalja a neoadjuváns kemoterápia szerepét és eredményességét az emlőtumorok kezelésében (29, 32). Az eredmények rutinszerű értékelésére különböző kritériumrendszerek születtek. Megkülönböztetünk klinikai és patológiai választ. A klinikai válasz megítélésére a legelterjedtebb módszer az UICC által kidolgozott séma (16), míg a patológiai válasz megítélésére többféle módszer is létezik. Ez az eredmények értékelésében ellentmondást okozhat. A legelterjedtebb patológiai értékelési rendszerek a Miller és Payne által kidolgozott ötfokozatú rendszer (25), a Chevallier, a Sataloff és a Feldman által kidolgozott módszerek (8, 10, 34). A neoadjuváns kemoterápia alkalmazásakor a pCR elérése az optimális cél, mivel ez bizonyult a legjobb túlélést előrejelző faktornak több vizsgálat alapján is (5, 30). A klinikai és a patológiai válasz értékelésének kritériumai nagymértékben különböznek egymástól. Ennek egyik oka a terápiára adott válasz mérésének eltérő módszereiben keresendő. Míg a klinikai tumorméret meghatározása fizikális vizsgálattal, UH-, rtg- és MR-mammográfiával, addig a patológiai méret meghatározása a reziduális daganat mikroszkópos kiterjedése – metszeteken mérhető mérete alapján történik. A szövettanilag hasonló emlőtumorok eltérő választ adnak a preoperatív szakaszban alkalmazott kemoterápiára. Irodalmi adatok és a saját tapasztalataink szerint a neoadjuváns kemoterápiára reagáló emlőtumorokban jellegzetes, a kezelés hatására létrejövő mennyiségi és minőségi változások

alakulnak ki a stromában is (37). Az azonos hatóanyag alapú kezelésre adott eltérő patológiai válasz hátterében az emlődaganatok eltérő genetikai profilja állhat. Irodalmi adatok alapján öt különböző emlőtumor-altípus különíthető el a genetikai profil tükrében (luminalis A, luminalis B – ER-pozitív szubtypusok, basalis – ER-, PgR-, HER2-, HER2-pozitív és ún. „normal breast like” – ER-negatív szubtypusok). Az altípusok közül jó közelítéssel az immunhisztokémiai tulajdonságaik alapján is felismerhető a luminalis A, B, HER2-pozitív és a tripla negatív típus. Az altípusok elkülönítése az alkalmazott terápia szempontjából is fontos, mivel a tripla negatív tumorok esetében a kemoterápiás kezeléssel kívül keves, még csak kísérleti fázisban lévő „célzott” kezelési protokoll létezik, szemben az ER-pozitív vagy HER2-pozitív tumorokkal. Az eddigi tapasztalatok alapján az ER-pozitív tumorok döntő többsége nem mutat jelentős regressziót neoadjuváns kemoterápiát követően (33, 35, 36). Az egyidejűleg ER-, PgR- és HER2-negatív (tripla negatív) tumorok egy része a basalis szubtypusra jellemző CK5/6-pozitivitást hordozza, és ezek a daganatok rosszabb prognózissal bírnak (6, 30). Azonban irodalmi adatok alapján a pCR-t mutató tumorok nagy része ebből az altípusból kerül ki (22, 38). Számos elemzést végeztek annak megállapítására, hogy milyen összefüggés figyelhető meg a pCR – különböző daganataltípus – betegségmentes túlélés hossza, valamint a pCR – daganataltípus – teljes túlélés hossza között (22). Több munkacsoport eredményei szerint annak ellenére, hogy az ER-negatív daganatok esetén nagyobb arányban figyelhető meg pCR, ebben a csoportban a tünetmentes periódusok rövidebbek, mint az ER-pozitív csoportban (17, 31, 32). Számos tanulmány eredménye jelenik meg a preoperatív alkalmazott kemoterápiás szerek hatékonyságával kapcsolatban is (13, 26).

Keves hazai irodalmi adattal rendelkezünk a neoadjuváns kemoterápia alkalmazásáról, eredményességéről emlőtumorokban (9, 19). Munkánkban elemezzük az 1998 és 2009 között a Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézetében vizsgált, a Radiológiai Klinika Onkoterápiás Osztályán neoadjuvánsan kezelt emlőtumorokat, a daganatok immunhisztokémiai fenotípusa alapján megállapított szubtypusai, az alkalmazott kemoterápiás protokollok, valamint a patológiai válaszok tükrében.

## BETEGANYAG ÉS VIZSGÁLATOK

A Semmelweis Egyetem I. sz. Sebészeti Klinikával és a Radiológiai és Onkoterápiás Klinikával együttműködve 1998-tól 2009-ig értékeltük 92 neoadjuvánsan kezelt emlődaganatos beteg klinikai adatait, valamint biopsziás és műtéti anyagát. Az alkalmazott kemoterápiás protokollok TE, FAC / FEC, TC és CMF voltak.

A tíz éves periódusban változtak az alkalmazott kemoterápiás protokollok. A betegek többsége antraciklin- és/vagy taxán-alapú terápiát kapott. Az

1. táblázat. Klinikai és patológiai jellemzők a kezelés előtt és után

Klinikai T stádium	Esetszám
T1	21
T2	40
T3	15
T4	16
<b>Core/FNAB diagnózis</b>	
IDC	60
ILC	3
Carcinoma NOS	18
Mastitis carcinomatosa	5
Egyéb	3
Nincs adat	3
<b>Preoperatív grade</b>	
1	7
2	32
3	34
Nincs megadva	19
<b>Műtét típusa</b>	
Emlőmegtartó	44
Radikális	47
Subcután mastectomia	1
<b>Patológiai T stádium a műtét utáni szövettani vizsgálat alapján</b>	
Tx*	2
T0	14
Tis	2
T1	32
T2	30
T3	6
T4	6

\* reziduális tumorsejtek csak néhány nyirokúton belül voltak láthatóak

adatok a valós élet kezelési szokásait tükrözik: a terápia nem "homogén". Ezért is tartottuk fontosnak, hogy nem "trial" körülmények között zajló kezeléseket értékeljünk. A rendelkezésünkre álló adatbázisok alapján az emlőcarcinoma diagnózis core-biopszia, FNAB vagy mindkettő segítségével történt. A preoperatív diagnózis alapján 60 invazív ductalis carcinoma, 18 invazív carcinoma (külön megjelölés nélkül), 3 invazív lobularis carcinoma, 3 más típusú carcinoma került elemzésre. Öt esetben – a klinikai képet alátámasztva – a biopsziás mintában mastitis carcinomát igazoltunk. Három beteg esetében más intézetben történt a diagnosztikus biopszia. A klinikai TNM-beosztás alapján T1–T4, N0

vagy N1, M0 betegek részesültek neoadjuváns kezelésben. Tizenhat beteg esetében klinikailag gyulladásoos emlőrák indokolta a primer szisztémás kezelést (1. táblázat). Az FNAB mintákon esetenként hormonreceptor – ösztrogénreceptor (ER) és progeszteronreceptor (PgR), valamint HER2, a core-biopsziás anyagokon hormonreceptor (ER, PgR) meghatározás valamint a Ki-67, p53, citokeratin 5/6 (CK5/6) és HER2 kimutatása történt immunhisztokémiai módszerrel. A neoadjuváns kezelést követően, a műtéti preparátum feldolgozása során szintén ezeket a daganatjellemzőket vizsgáltuk. Az adatokat Microsoft Excel táblázatban rögzítettük.

88 esetben rendelkezünk betegkövetési adatokkal. A betegkövetés során a loko-regionális recidíva és távoli áttét helyét és idejét jegyeztük fel. A lokális tumorkontroll, az emlőrák-specifikus túlélés és a relapszusmentes túlélés tartamát a műtét napjától számítottuk. A túlélések valószínűségét Kaplan és Meier (20) módszerével számítottuk.

### A neoadjuváns terápiára adott válasz megítélése

A terápiára adott válasz vizsgálatához a szövettani elemzéssel meghatározott tumorméret tekinthető a legpontosabb eljárásnak, ún. gold standardnak. Különböző kritériumrendszerek születtek a patológiai válasz meghatározására. Munkánkban a Chevallier-féle, illetve a Sataloff-féle beosztást alkalmaztuk (2. táblázat). Az eredmények értékelése az átláthatóság miatt csak a Chevallier osztályozás alapján történt. Alapvető különbség a két rendszer között, hogy míg a Chevallier-beosztás az elsődleges daganatot és a hónalji nyirokcsomó-státuszt is egy kombinált skálán veszi figyelembe, addig a Sataloff-rendszer külön méri a primer tumor és az axillaris áttétek változását. A Chevallier-féle klasszifikáció I-es csoportja semmilyen reziduális tumort nem enged meg, itt a patológiai teljes remisszió teljes tumormentességet jelent, míg a Sataloff-csoportosításban szereplő T-A csoportba tartozó tumor a Chevallier II-es csoportba is tartozhat, amennyiben reziduális in situ carcinoma igazolódik, de a hónalji nyirokcsomók tumormentesek. Egy vizsgálat (27), mely a Sataloff- és Chevallier-osztályozást hasonlította össze a tumorregresszió és így a prognózis megítélése szempontjából, közel azonos értékűnek találta a két rendszert.

2. táblázat. A primer tumorra vonatkozó patológiai válasz kritériumai a Chevallier-, illetve a Sataloff-osztályozás szerint

Chevallier-osztályozás	Jellemzők	Sataloff-osztályozás	Jellemzők
I	Nincs reziduális tumor az emlőben és az axillaris nyirokcsomókban	T-A	Komplett remisszió: DCIS megengedett
II	DCIS, nyirokcsomók negatívak	T-B	>50%-os terápiás hatás
III	Invazív tumor, stromalis fibrózissal (látható változás)	T-C	<50%-os terápiás hatás
IV	Nincs vagy elenyésző változás	T-D	Hatástalan kezelés

### Immunhisztokémiai vizsgálatok az ER-, PgR- és HER2-kifejeződés kimutatásához

Az immunhisztokémiai vizsgálatokat FNAB keneteken, valamint formalinfixált, paraffinba ágyazott 3–5 µm vastag metszeteken végeztük a 3. táblázatban ismertetett ellenanyagokkal és módszerekkel. Jelen munkánkban az ER, PgR és HER2 kifejeződésének részletes elemzését végeztük el.

Az immunhisztokémiai reakciók Ventana ES immunfestő automatával készültek (Ventana Medical Systems Inc., Tucson, AZ, USA), kromogénként 3,3-diaminobenzidint (DAB) alkalmaztunk, míg a háttérfestést hematoxilinnel végeztük.

A HER2-amplifikáció igazolására FISH-vizsgálatokat végeztünk 22 preoperatív mintán (19 core-biopszia és 3 FNAB), valamint 41 posztoperatív mintán fluoreszcenjelölt HER2-próbával, Ventana automata segítségével.

szerint történt (15). Az 1+ esetek negatívak, a 2+ eseteket akkor értékeltük pozitívnak, ha FISH-reakcióval igazolható volt a HER2-amplifikáció, míg a 3+ eseteket FISH-verifikáció nélkül is pozitívnak értékeltük. Mivel nem volt olyan esetünk, ahol a HER2 immunhisztokémiai reakcióval kifejezett, körkörös membránpozitivitást mutató daganatsejtek aránya 30%-nál kisebb lett volna, az időközben megváltozott értékelési séma nem befolyásolja eredményeinket (40).

### Statisztikai vizsgálatok

A kontingenciatáblák változói közötti összefüggést a viszonylag alacsony esetszámok miatt Monte Carlo teszttel vizsgáltuk, szignifikánsnak a  $p < 0,05$  értéket vettük. Az analízist Past 1.86b és SPSS 15.0 programmal végeztük el.

### Az immunhisztokémiai reakciók értékelése

ER és PgR esetében a >10% magpozitivitást mutató eseteket értékeltük pozitívnak. (Az Allred score meghatározására csak az utóbbi két évben tértünk át, ezért használtuk ezt a küszöbértéket.) A HER2 immunhisztokémiai reakció értékelése a standard diagnosztikus eljárás lépései

### EREDMÉNYEK

Mind a 92 esetünkben elemeztük a neoadjuváns terápia hatását a primer emlőtumorokban az immunhisztokémiai módszerrel elkülöníthető emlőtumoraltípusokkal (luminalis A, luminalis B – ER-pozitív altípusok, tripla negatív (ER-, PgR-, HER2-), HER2-pozitív,

3. táblázat. Az alkalmazott ellenanyagok és feltárási protokollok

Ellenanyag neve	Forgalmazó cég, ellenanyagklón	Antigénfeltárás paraffinba ágyazott metszetek esetében	Antigénfeltárás FNAB keneteken
ER	Novocastra, 6F11	TRIS-EDTA, 30 perc mikrohullámon	Vector antigen retrieval solution, 6 perc
PgR	Novocastra, 312	Vector antigen retrieval solution, 12 perc mikrohullámon	Vector antigen retrieval solution, 6 perc mikrohullámon
HER2	Novocastra, CB11	Vector antigen retrieval solution, 30 perc mikrohullámon	Nem alkalmaztunk
Ki-67	DAKO, MIB1	TRIS-EDTA, 30 perc mikrohullámon	Vector antigen retrieval solution, 6 perc mikrohullámon
p53	DAKO, DO-7	TRIS-EDTA, 30 perc mikrohullámon	Vector antigen retrieval solution, 6 perc mikrohullámon

4. táblázat. HER2-, ER- és PgR-meghatározás és összehasonlítás preoperatív és posztoperatív mintákon

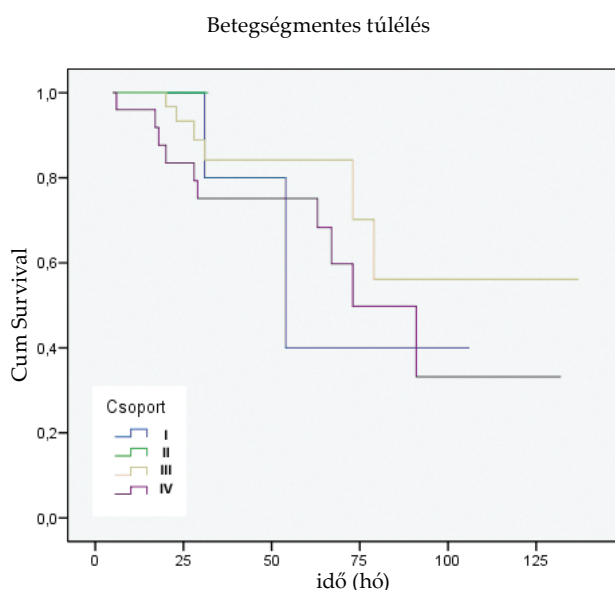
	HER2 preop.		HER2 posztop.		ER preop.		ER posztop.		PgR preop.		PgR posztop.	
	Poz.	Neg.	Poz.	Neg.	Poz.	Neg.	Poz.	Neg.	Poz.	Neg.	Poz.	Neg.
Van reziduális tumor	20	55	26	53	39	37	45	34	27	47	25	53
Hiányzó preop. adat	Nincs adat (17 eset)		9	8	Nincs adat (16 eset)		8	8	Nincs adat (18 eset)		5	13
Nincs reziduális tumor (pCR)	4	9	pCR miatt nem értékelhető (13)		3	10	pCR miatt nem értékelhető (13)		1	12	pCR miatt nem értékelhető (13)	
Hiányzó posztop. adat	0	0	Nincs adat (0)		0	0	Nincs adat (0)		1	0	Nincs adat (1)	

5. táblázat. A neoadjuvánsan alkalmazott terápiára bekövetkezett patológiai válasz megítélése a Chevallier-osztályozás alapján, a különböző hatásmechanizmusú terápiás protokollok függvényében

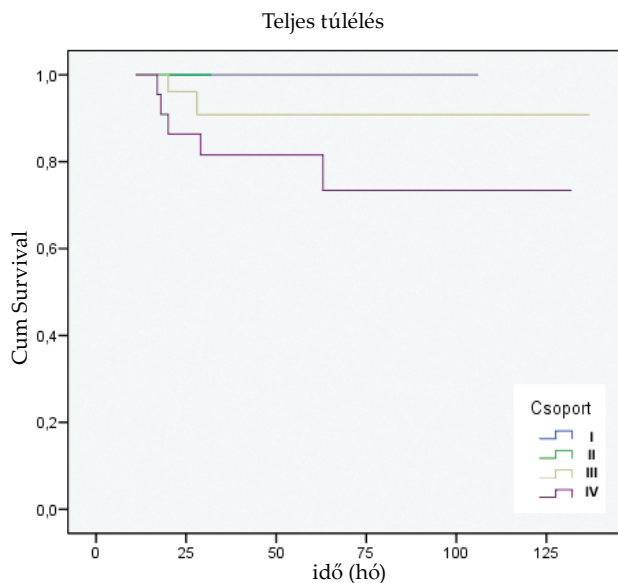
Alkalmazott kezelés (kezelt esetszám)	Chevallier I-II esetszám (arány)	Chevallier III-IV esetszám (arány)
Antraciklin (30)	2 (6,6%)	28 (93,6%)
Taxán (24)	7 (29,1%)	17 (70,9%)
Antraciklin + taxán (33)	4 (12,1%)	29 (87,9%)
Egyéb (CMF) (2)	0	2 (100%)
Nem ismert (3)	0	3 (100%)
<b>P (Monte Carlo)</b>	0,215	<0,001

ER-negatív altípusok), illetve a különböző hatásmechanizmusú kemoterápiás protokollokkal összefüggésben (4. és 5. táblázat).

A betegek átlagos életkora 52,8 év volt (min. 27 – max. 79). Öt beteg 30 éves vagy fiatalabb, további 34 beteg 50 év alatti volt a diagnózis idején. 24 beteg taxán-, 30 beteg antraciklin-, 33 beteg kombinált taxán+antraciklin-alapú kezelésben részesült. 2 beteg CMF kezelést kapott. Három esetben nem áll rendelkezésünkre kezelési adat, a betegek műtetre kerültek az I. sz. Sebészeti Klinikára, és a posztoperatív szövettani vizsgálat történt a II. sz. Patológiai Intézetben. A trastuzumab neoadjuvánsan történő alkalmazása még nem része a napi rutinnak, noha a rendelkezésre álló adatok alapján alkalmazása a HER2-overexpressziót/amplifikációt mutató tumorokban igen ígéretes (szerző megjegyzése) (1, 4, 12). A betegek medián követési ideje 38 hónap (6–137 hónap) volt, ahol eseményként a recidíva, illetve távoli áttétek megjelenését, valamint a betegség-specifikus halálozást



1. ábra. Betegségmentes túlélés elemzése a különböző patológiai válaszreakciót mutató betegcsoportokban a Chevallier-osztályozás alapján. Kaplan-Meier módszer: I+II vs. III  $p=0,126$ , III vs. IV  $p=0,006$

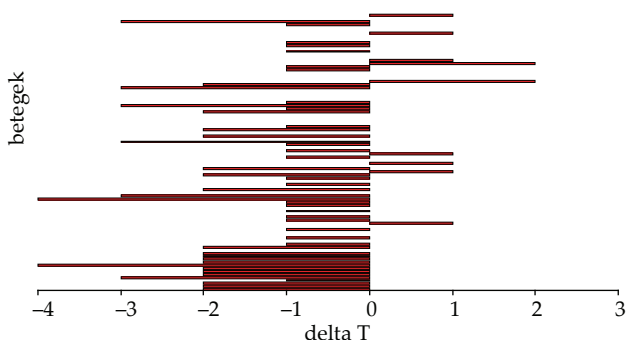


2. ábra. Teljes túlélés vizsgálata a különböző patológiai válaszreakciót mutató betegcsoportokban a Chevallier-osztályozás alapján. Kaplan-Meier módszer: I+II vs. III  $p=0,050$ , III vs. IV  $p=0,032$

vettük figyelembe. A követés alatt a pCR-t mutató betegcsoportban (13 beteg) emlőrákkal összefüggő eseményt 2 esetben észleltünk (recidíva), míg haláleset a követés lezárásáig nem történt. A Chevallier III-as csoportba sorolt betegek esetében (50 beteg) 5 esetben alakult ki távoli áttét, 1 esetben recidíva, 2 esetben exitus történt. A neoadjuváns kemoterápiára nem reagáló betegcsoportban (Chevallier IV) (25 beteg) 10 esetben alakult ki távoli metasztázis és 5 haláleset történt (1 és 2. ábra).

A 3. ábrán a vizsgált tumorokat egyenként ábrázolva a T stádium változását és a változás mértékét tüntettük fel ("delta T") A kiinduló klinikai stádiumot 0 pontnak tekintve és végpontként a műteti anyagban megállapított patológiai T stádiumot figyelembe véve látható, hogy mindössze 9 beteg esetében észleltük a kiindulási cT stádium és a pT stádium pozitív irányú eltérését. A képpalkotó vizsgálatok ezeknél a betegeknél azonban stabil állapotot mutattak. 83 beteg esetében „down-staging” következett be.

Az antraciklin-alapú kezelésben részesült betegek 6,6%-ában (2/30) a kezelés hatására komplett vagy közel komplett remisszió jött létre (Chevallier I és II). A taxán-



3. ábra. A T stádium változásának mértéke és iránya. A 0 pont a kezelés kezdetekor megállapított cT stádiumot jelzi, a változást ehhez képest a műteti anyagban észlelt pT stádium alapján állapítottuk meg.

alapú kezelésben részesült betegek 29,1%-ánál (7/24) volt megfigyelhető ehhez hasonló patológiai válasz. A kombinált kezelésben részesült betegek 12,1%-a (4/33) reagált komplett vagy közel komplett remisszióval a kezelésre (5. táblázat).

Az emlőtumor-altípusokat és a neoadjuváns kezelésre adott választ együtt értékelve – az irodalmi adatokhoz hasonlóan – megfigyelhető, hogy a tripla negatív, valamint a HER2-pozitív szubtypusokba sorolt betegeknél mutatható ki a legnagyobb válaszkészség a neoadjuvánsan alkalmazott kemoterápiára. A pCR-t mutató HER2-pozitív daganatok közül 3 beteg kombinált terápiában, egy beteg antraciklin-alapú kezelésben részesült.

A preoperatív felmért daganatjellemzők alapján a tripla negatív csoportba sorolt tumorok 33,3%-ánál (9/27) volt kimutatható pCR (Chevallier I vagy II), az ER-/HER2+ daganatok esetében ez 10% (1/10), az ER+/HER2+ szubtypusban 30% (3/10 eset), míg a luminalis A alcsoportba sorolt daganatok (ER+/HER2-) esetében pCR-t nem észleltünk. Megjegyzendő, hogy egy-egy szubtypust reprezentáló csoportba viszonylag kevés eset került (6. táblázat).

A posztoperatív tumormintákon végzett vizsgálatoknál figyelembe kell venni, hogy tizenhárom esetben pCR miatt nem tudtuk vizsgálni az ER-, PgR-, illetve HER2-státuszt. Ennek a kérdésnek feltehetően fontos szerepe lesz a jövőben a terápia megválasztásában. Vajon szükséges-e célzott terápiával illetve hormonterápi-

ával kezelni műtét után a pCR státuszú beteget? Ezzel kapcsolatban még nincsenek megbízható adatok, mivel a pCR-t mutató betegek klinikai vizsgálatokba való bevonása nehezen tervezhető (klinikus megjegyzése). A tizenhárom daganat közül a preoperatív mintákon végzett elemzések alapján 9 tripla negatív daganat volt, egy eset HER2+, három további eset pedig ER+/HER2+ altípusnak felelt meg.

A műtéti anyagon (posztoperatív mintán) végzett immunhisztokémiai vizsgálatok alapján a Chevallier III és a Chevallier IV csoportba sorolt tumorokról rendelkezünk információkkal (7. táblázat). Ezek alapján a tripla negatív tumorok 65%-ában (13/20) volt kimutatható látható elváltozás a kezelés következtében (Chevallier III), míg 35%-ban nem vagy csak elenyésző változás volt kimutatható (Chevallier IV). A HER2-pozitív daganatok 61,5%-át (8/13) Chevallier III, míg 38,5%-át (5/13) Chevallier IV csoportba soroltuk. Az ER+/HER2- szubtypusú daganatok 60,6%-ában (20/33) és az ER+/HER2+ szubtypust mutató tumorok 75%-ában (9/12) volt kimutatható látható elváltozás (Chevallier III) a neoadjuváns terápiát követően.

## MEGBESZÉLÉS

A neoadjuváns terápia kedvező hatása a daganatmentes túlélésre számos tanulmány tárgya, és számos elmentmondás forrása egyben.

Egy 1998-ban készült tanulmány eredményei alapján nem találtak különbséget a teljes és betegségmentes túlélés szempontjából a neoadjuvánsan és posztoperatívén alkalmazott (adjuváns), de ugyanolyan típusú kezelést alkalmazása során (11). Az utóbbi években bevezetett kemoterápiás szereknek köszönhetően azonban a neoadjuváns terápia hatására bekövetkező regresszió és a patológiai komplett remisszió (pCR) szignifikánsan javítja a túlélést (5, 14).

Egy 2008-ban megjelent magyar tanulmány szerint (19) a neoadjuváns terápia hatása a túlélésre nem jobb az adjuváns kezelésénél, de segítheti a multimodális kezelés időben történő elkezdését. Mauri vizsgálatai szerint (24) a neoadjuváns szisztémás terápia a daganatos halálozás, a progresszió és a távoli metasztázisok kialakulása szempontjából nem különbözik az adjuváns terápiától, viszont a kezelés hatására bekövetkezett jó regresszió, különösen a pCR szignifikánsan javítja a prognózist. Saját vizsgálati anyagunkon, azzal együtt, hogy egy-egy betegcsoportba kevés beteg került, a pCR-t mutató csoportban a követési idő alatt jelentősen kevesebb recidíva és távoli áttét alakult ki. Az ebben a csoportban észlelt betegség-specifikus halálozást összehasonlítva azokkal a csoportokkal, ahol nem, vagy elenyésző patológiai válasz volt kimutatható az alkalmazott neoadjuváns kemoterápiára, szignifikáns különbséget találtunk. Ugyanakkor eredményeinkből az is látható, hogy a túlélés vonatkozásában az értékelhető patológiai válasz (Chevallier III) kedvező összehason-

6. táblázat. A daganat preoperatív jellemzői alapján felállított immunfenotípusok és a neoadjuváns terápiára bekövetkezett patológiai válasz megítélése a Chevallier-osztályozás szerint

Emlőtumor-altípusok a preoperatív diagnózis alapján	Chevallier I–II esetszám (arány)	Chevallier III–IV esetszám (arány)
Összes eset (92)	13 (14,1%)	61 (85,9%)
Tripla negatív (27)	9 (33,3%)	18 (66,6%)
HER2+ (10)	1 (10%)	9 (90%)
ER+/HER2- (27)	0 (0%)	27 (100%)
ER+/HER2+ (10)	3 (30%)	7 (70%)
Nem áll rendelkezésre elég adat (18)		
<b>P (Monte Carlo)</b>	0,001	<0,001

7. táblázat. A posztoperatív mintán megállapított immunfenotípusok és a neoadjuváns terápiára bekövetkezett patológiai válasz megítélése a Chevallier III–IV csoportokban osztályozás szerint

Emlőtumor-altípusok a posztoperatív diagnózis alapján (összes)	Chevallier III esetszám (arány)	Chevallier IV esetszám (arány)
Tripla negatív (20)	13 (65%)	7 (35%)
HER2+ (13)	8 (61,5%)	5 (38,5%)
Luminalis A ER+/HER2- (33)	20 (60,6%)	13 (39,4%)
Luminalis B ER+/HER2+ (12)	9 (75%)	3 (25%)
Nem áll rendelkezésre elég adat (14)		

lítva a kezelésre egyáltalán nem reagáló tumorokkal. Megjegyzendő, hogy a betegek nagy része a 2007–2009-es időszakból származik, ezért a túlélési adataink csak ennek figyelembevételével értékelhetők.

A neoadjuváns terápia jövője és egyben eredményessége talán abban rejlik, hogy mennyire vagyunk képesek meghatározni a különböző kezelési típusokra várható patológiai és klinikai választ, és ki tudjuk-e választani azokat a betegeket, akiknél ez a kezelési mód az optimális terápia. Azaz tudjuk-e definiálni azt a betegcsoportot, amely egyértelműen profitál a neoadjuváns kezelésből.

A neoadjuváns terápia alkalmazása összetett feladat, szorosan együttműködő multidiszciplináris munkacsoportot igényel, mert a betegek pontos és gyakori monitorozása szükséges. A daganatok egy része a neoadjuváns kezelés alatt is progrediálhat, mely a tervezettnél korábbi műtéti beavatkozást tesz szükségessé, illetve ezeket a betegeket a továbbiakban lehetőség szerint klinikai vizsgálatok keretein belül kell kezelni. Bár saját betegeink között 9 esetben a klinikai vizsgálatokkal megállapított T stádiumhoz képest a műtéti anyagban megállapított pT stádium magasabb volt, nem tartottuk progresszióknak eseteinket, mivel a képkötők által leírt tumorméret változatlan maradt a kezelés kezdetétől a műtétiig. Tisztázatlan még, hogy a progrediáló betegek számára nem jelent-e hátrányt a "sikertelen" kezelés, rontja-e gyógyulási, túlélési esélyüket az idővesztés? Felmerül az a kérdés is, hogy mennyire hátráltatják a kezelés következtében kialakult mellékhatások a műtéti beavatkozás időpontját, bár az utolsó ciklus kemoterápia és a műtét közötti 2–3 hét szinte minden esetben elegendőnek bizonyul az esetleges eltérések rendezésére. Emellett pCR esetében a tumor pontos elhelyezkedése nehezebben ítéhető meg (29), mely miatt fontos a kezelés kezdetekor a tumor helyének pontos megjelölése, amikor még a képkötő eljárásokkal lokalizálható.

Annak ellenére, hogy a neoadjuváns terápia alkalmazásában a pCR elérése az elsődleges cél, a különböző munkacsoportok által végzett vizsgálatok összehasonlítását nehezíti, hogy nincsen konszenzus a pCR pontos megállapítására. Előreláthatóan az EU vonatkozó Guideline-jának következő kiadásában a Pinder által ajánlott (28), a Sataloff-sémával lényegében azonos beosztást fogja javasolni (az EWGBSP értekezletén elhangzott személyes közlés), amit az indokol, hogy ebben az osztályozásban a nyirokcsomóstátusz és ennek változása a kezelés hatására pontosabban tükröződik.

Az általunk vizsgált betegcsoportban az antraciklin-alapú kezelésben részesült betegek 6,6%-ánál volt kimutatható patológiai remisszió, a taxán-kezelésben részesült betegek 29,1%-ánál, míg a kombinált kezelésben részesült betegek 12,1%-ánál volt megfigyelhető a teljes vagy majdnem teljes patológiai válasz (Chevallier I vagy II). Kezdetben a hagyományos kemoterápiás kezelési protokollokat alkalmazva a pCR csupán néhány százalék volt, ami a második generációs kemoterápiás

szerek bevezetésével 20% körüli értékre emelkedett (16). A neoadjuváns kemoterápiáról megjelent NSABP B-27 tanulmányban megfigyelt pCR az alkalmazott kemoterápiás protokollok tükrében 14–26% (ACx4 vs. ACx4 → 4xD), míg a GEPAR-DUO II néven ismertté vált vizsgálatban ez az arány 23–12% (ACx4 → Dx4 vs. 2wADx4) (18).

Annak eldöntéséhez, hogy vajon a neoadjuváns terápia-e az optimális kezelési mód egy adott beteg esetében, segítségünkre lehetnek olyan markerek, melyek kellő megbízhatósággal jelzik a kedvező terápiás választ, elsősorban a pCR-t. Az ezen a téren végzett fontosabb vizsgálatok alapján három kategóriába lehet sorolni azokat az információkat és markereket, amelyek előre jelezhetik a pCR valószínűségét (29). Ezek a következők: 1) klinikai válasz megítélése két kezelési ciklust követően, 2) klinikai megjelenés (clinical phenotype), valamint 3) molekuláris markerek (HER2-, ER-, PgR-státusz, Ki-67 vagy Oncotype DX). Különböző modelleket dolgoztak ki ezeknek az adatoknak az összesítésére, a pCR valószínűségének becslésére, melyek közül az MD Anderson Cancer Center közel 1000 beteg adatának feldolgozásával dolgozott ki egy nomogramot, mely ingyenesen elérhető a [http://www.mdanderson.org/care\\_centers/breastcenter/dIndex.cfm?pn=448442B2-3-EA5-4BAC-98310076A9553E63](http://www.mdanderson.org/care_centers/breastcenter/dIndex.cfm?pn=448442B2-3-EA5-4BAC-98310076A9553E63) oldalon.

Az eddigi tapasztalatok szerint a neoadjuváns terápia hatékonysága a tripla negatív tumorokban és a HER2-pozitív daganatokban a legmagasabb, míg az ER-pozitív esetekben 10% alatt marad (29). Az általunk vizsgált betegcsoportban a preoperatív mintákon végzett elemzések alapján a tripla negatív tumorok 33,3%-ánál (9/27), míg az ER-/HER2-pozitív daganatok 10%-ánál (1/10) volt kimutatható jelentős patológiai válasz. Megfigyelhető az is, hogy az ER+/HER2+ csoportba sorolt daganatok nagyobb válaszkészséggel rendelkeznek az alkalmazott neoadjuváns terápiára, összehasonlítva az ER-/HER2- csoporttal, melyben nagy valószínűséggel szerepet játszik HER2-pozitivitásuk. Ezeknek az eredményeknek a tükrében a tumorok indirekt molekuláris biológiai jellemzése, azaz az immunfenotípuscsoportok meghatározása a napi rutin diagnosztika szintjén pontosabb prediktív információt ad egy-egy kemoterápiás séma várható eredményességéről.

Továbbra is kérdés azonban, hogy a pCR mennyire jelezheti előre a betegségmentes túlélést vagy az össz túlélést, különösen, ha a tripla negatív daganatok közismerten agresszívebb viselkedésére gondolunk. Wolff és munkacsoportja (39) megállapította, hogy a pCR jelentős prediktív faktor a betegek össz túlélését illetően. Egyes szerzők szerint a pCR prediktív lehet az össz túlélés megítélésében függetlenül attól, hogy antraciklin- vagy taxán-alapú kemoterápiát alkalmaztak (3, 11).

Továbbra is fontos kérdések várnak válaszra a neoadjuváns kemoterápia alkalmazásával és indikációival kapcsolatban. Eseteink elemzésével a pontos patológiai lelet prediktív értékére is fel szeretnénk

hívni a figyelmet. Úgy gondoljuk, hogy addig is, amíg a molekuláris tesztek a napi rutin diagnosztika szintjén elérhetővé válnak, a hagyományosan elvégzett immunhisztokémiai vizsgálatok helyes értelmezése nagy segítséget adhat a kezelések tervezésével kapcsolatban. Számos további kérdés is nyitott a neoadjuváns kemoterápia klinikai, patológiai vonatkozásait és molekuláris patológiai vonatkozásait tekintve, pl. az alkalmazott protokollokat, a neoadjuváns kemoterápia eredményességét, a terápiás hatás értékelési sémáit, a terápia rezisztenciában szerepet játszó faktorok kimutatását illetően. Klinikai szempontból talán a legérdekesebb a pCR utáni további kemoterápia, célzott illetve endokrin terápia, valamint a sugárterápia kérdése.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Munkánkhoz az alábbi pályázatok forrásait használtuk: NKFP-1A/0023/2002, AVON-EAGC 2005, MKOT-GSK 2006, MKOT-GSK 2008.

## IRODALOM

- Baselga J, Semiglazov V, Manikhas GM, et al. Efficacy of neoadjuvant trastuzumab in patients with inflammatory breast cancer: data from the NOAH (Neoadjuvant Herceptin) phase III trial. *Eur J Cancer* 5:193 [abstract 2030], 2007
- 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* 21:4165–4174, 2003
- Bear HD, Anderson S, Smith RE, et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* 24:2019–2027, 2006
- Buzdar AU, Valero V, Ibrahim NK, et al. Neoadjuvant therapy with paclitaxel followed by 5-fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide chemotherapy and concurrent trastuzumab in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer: an update of the initial randomized study population and data of additional patients treated with the same regimen. *Clin Cancer Res* 13:228–233, 2007
- Capirci C, Valentini V, Cionini L, et al. Prognostic value of pathologic complete response after neoadjuvant therapy in locally advanced rectal cancer: long-term analysis of 566 ypCR patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 72:99–107, 2008
- Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 13:2329–2334, 2007
- Carey LA, Metzger R, Dees EC, et al. American Joint Committee on Cancer tumor-node-metastasis stage after neoadjuvant chemotherapy and breast cancer outcome. *J Natl Cancer Inst* 97:1137–1142, 2005
- Chevallier B, Roche H, Olivier JP, et al. Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate. *Am J Clin Oncol* 16:223–228, 1993
- Dank M, Zergenyi E, Domotori ZS, et al. Primary systemic therapy (PST) of locally advanced breast cancer using Doxorubicin/Docetaxel combination. *Anticancer Res* 23:2879–2880, 2003
- Feldman LD, Hortobagyi GN, Buzdar AU, et al. Pathological assessment of response to induction chemotherapy in breast cancer. *Cancer Res* 46:2578–2581, 1986
- Fisher B, Bryant J, Wolmark N, et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol* 16:2672–2685, 1998
- Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, et al. Neoadjuvant trastuzumab in patients with her2-positive locally advanced breast cancer: primary efficacy analysis of the noah trial. Presented at the 31st Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, 2008 [www.abstracts2view.com/sabcs/view.php?nu=SABCS08L\\_1443&terms](http://www.abstracts2view.com/sabcs/view.php?nu=SABCS08L_1443&terms)
- Gralow JR, Burstein HJ, Wood W, et al. Preoperative therapy in invasive breast cancer: pathologic assessment and systemic therapy issues in operable disease. *J Clin Oncol* 26:814–819, 2008
- 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* 24:1037–1044, 2006
- Hammock L, Lewis M, Phillips C, et al. Strong HER-2/neu protein overexpression by immunohistochemistry often does not predict oncogene amplification by fluorescence in situ hybridization. *Hum Pathol* 34:1043–1047, 2003
- Hayward JL, Carbone PP, Heusen JC, et al. Assessment of response to therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 35:292–298, 1977
- Hennessy BT, Hortobagyi GN, Rouzier R, et al. Outcome after pathologic complete eradication of cytologically proven breast cancer axillary node metastases following primary chemotherapy. *J Clin Oncol* 23:9304–9311, 2005
- Heys SD, Sarkar T, Hutcheon AW. Primary docetaxel chemotherapy in patients with breast cancer: impact on response and survival. *Breast Cancer Res Treat* 90:169–185, 2005
- Kahán Zs, Nikolényi A, Uhercsák G, Thurzó L. Neoadjuváns szisztémás terápia emlőrákban. *Orvosi Hetilap* 150:65–71, 2009
- Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 53:457–481, 1958
- 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* 21:2600–2608, 2003
- 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* 26:1275–1281, 2008
- Mamounas EP. Overview of National Surgical Adjuvant Breast Project neoadjuvant chemotherapy studies. *Semin Oncol* 25:31–35, 1998
- Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 97:188–194, 2005
- 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* 12:320–327, 2003
- Peintinger F, Buzdar AU, Kuerer HM, et al. Hormone receptor status and pathologic response of HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy and trastuzumab. *Ann Oncol* 19:2020–2025, 2008
- Penault-Llorca F, Abrial C, Raoufils I, et al. Comparison of the prognostic significance of Chevallier and Sataloff's pathologic classifications after neoadjuvant chemotherapy of operable breast cancer. *Hum Pathol* 39:1221–1228, 2008
- Pinder SE, Provenzano E, Earl H, et al. Laboratory handling and histology reporting of breast specimens from patients who have received neoadjuvant chemotherapy. *Histopathology* 50:409–417, 2007
- Pusztai L. Preoperative systemic chemotherapy and pathologic assessment of response. *Pathol Oncol Res* 14:169–171, 2008
- Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 52:108–118, 2008
- Ring AE, Ellis PA. Predictors of response to systemic therapy in breast cancer. *Forum (Genova)* 12:19–32, 2002
- Ring AE, Smith IE, Ashley S, et al. Oestrogen receptor status, pathological complete response and prognosis in patients receiv-



- ing neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer. *Br J Cancer* 91:2012–2017, 2004
33. Sanchez-Munoz A, Garcia-Tapiador AM, Martinez-Ortega E, et al. Tumour molecular subtyping according to hormone receptors and HER2 status defines different pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer. *Clin Transl Oncol* 10:646–653, 2008
34. 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* 180:297–306, 1995
35. Straver ME, Glas AM, Hannemann J, et al. The 70-gene signature as a response predictor for neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2009
36. Straver ME, van Adrichem JC, Rutgers EJ, et al. Neoadjuvant systemic therapy in patients with operable primary breast cancer: more benefits than breast-conserving therapy. *Ned Tijdschr Geneeskd* 152:2519–2525, 2008
37. Tokes AM, Szasz AM, Farkas A, et al. Stromal matrix protein expression following preoperative systemic therapy in breast cancer. *Clin Cancer Res* 15:731–739, 2009
38. Wang S, Yang H, Tong F, et al. Response to neoadjuvant therapy and disease free survival in patients with triple-negative breast cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 36:255–258, 2009
39. Wolff AC, Davidson NE. Preoperative therapy in breast cancer: lessons from the treatment of locally advanced disease. *Oncologist* 7:239–245, 2002
40. 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. *J Clin Oncol* 25:118–145, 2007