

Małgorzata Mazur – Roszak

**„OBUSTRONNY RAK PIERSI –
wybrane elementy charakterystyki
immunohistochemicznej i molekularnej”**

Rozprawa doktorska

Promotor: Prof. dr hab. med. Sylwia Grodecka – Gazdecka

Katedra i Klinika Onkologii

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego

Poznań 2012

Rodzinie

SPIS TREŚCI

| | |
|--|----|
| Wykaz najważniejszych skrótów | 5 |
| Spis rycin | 9 |
| Spis tabel | 11 |
| 1 . Wstęp..... | 14 |
| 1.1. Rys historyczny, definicje | 14 |
| 1.2. Czynniki ryzyka obustronnego raka piersi..... | 16 |
| 1.2.1 . Przebycie jednostronnego raka piersi | 16 |
| 1.2.2 . Wiek rozpoznania raka w pierwszej piersi | 17 |
| 1.2.3 . Ekspozycja na napromienianie..... | 17 |
| 1.2.4 . Obecność raka inwazyjnego oraz komponentu przedinwazyjnego zrazikowego i przewodowego | 18 |
| 1.2.5 . Wieloogniskowość..... | 19 |
| 1.2.6 . Nadwaga, otyłość..... | 19 |
| 1.2.7 . Antykoncepcja i hormonoterapia zastępcza | 21 |
| 1.2.8 . Dziedziczny i rodzinny rak piersi..... | 23 |
| 1.3. Diagnostyka obustronnego raka piersi..... | 29 |
| 1.4. Wybrane czynniki rokownicze w obustronnym raku piersi | 32 |
| 1.4.1 . Receptory dla estrogenów i progesteronu..... | 32 |
| 1.4.2 . Białko Ki 67..... | 38 |
| 1.4.3 . Ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER-2)..... | 41 |
| 1.4.4 . Białko p53..... | 48 |
| 1.5. Profilaktyka i leczenie obustronnego raka piersi | 52 |
| 1.5.1 . Badania genetyczne | 53 |
| 1.5.2 . Terapia hormonalna | 54 |
| 1.5.3 . Chemioterapia i leczenie celowane | 55 |
| 1.5.4 . Postępowanie chirurgiczne | 57 |
| 1.5.5 . Psychologiczne aspekty w terapii obustronnego raka piersi | 59 |
| 1.6. Rokowanie w obustronnym raku piersi..... | 60 |
| 2 . Cel pracy | 63 |
| 3 . Materiał i metodyka badań | 64 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.1. | Charakterystyka badanej grupy | 64 |
| 3.1.1 . | Wybrane parametry kliniczne w metachronicznym i synchronicznym raku piersi | 66 |
| 3.1.2 . | Wybrane cechy kliniczno-histopatologiczne guzów pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi..... | 68 |
| 3.1.3 . | Rodzaj leczenia w badanej grupie z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi | 69 |
| 3.1.4 . | Ocena immunohistochemiczna guzów pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi..... | 70 |
| 3.1.5 . | Wybrane cechy kliniczne, histopatologiczne, immunohistochemiczne w metachronicznym i synchronicznym raku piersi u pacjentek poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1..... | 72 |
| 3.2. | Histopatologiczne opracowanie materiału | 76 |
| 3.3. | Metody immunohistochemiczne | 76 |
| 3.3.1 . | Odczynniki i immunoreagenty | 76 |
| 3.3.2 . | Reakcje kontrolne | 77 |
| 3.3.3 . | Oznaczenia immunohistochemiczne..... | 77 |
| 3.3.3.1 | Wykrywanie receptorów dla estrogenów i progesteronu oraz antygenu proliferacji Ki67 i białka p53 | 77 |
| 3.3.3.2 | Ocena ekspresji białka HER-2 | 78 |
| 3.3.3.3 | Wykrywanie amplifikacji genu HER-2 techniką FISH | 79 |
| 3.3.4 . | Kryteria oceny reakcji immunohistochemicznych | 80 |
| 3.3.5 . | Interpretacja wyników HER2 ocenianych metodą FISH | 81 |
| 3.4. | Ocena statystyczna | 82 |
| 4 . | Wyniki | 84 |
| 4.1. | Analiza cech klinicznych pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi | 84 |
| 4.2. | Badanie cech kliniczno-patologicznych guzów pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi | 97 |
| 4.3. | Ocena immunohistochemiczna w metachronicznym i synchronicznym raku piersi pod kątem zgodności par pomiędzy pierwszym i drugim rakiem piersi | 99 |

| | | |
|------|--|-----|
| 4.4. | Analiza parametrów klinicznych u pacjentek z metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1..... | 100 |
| 4.5. | Analiza parametrów immunohistochemicznych w grupie pacjentek z metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1..... | 107 |
| 4.6. | Analiza wybranych parametrów klinicznych, histopatologicznych, immunohistochemicznych u pacjentek z metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, pod kątem zgodności par pomiędzy pierwszym i drugim rakiem piersi..... | 109 |
| 4.7. | Analiza wybranych parametrów klinicznych, histopatologicznych, immunohistochemicznych u pacjentek z metachronicznym rakiem piersi, z uwzględnieniem fenotypów receptorów steroidowych | 111 |
| 4.8. | Analiza przeżycia w metachronicznym raku piersi..... | 113 |
| 5. | Omówienie wyników oraz dyskusja | 137 |
| 5.1. | Wybrane parametry w metachronicznym i synchronicznym raku piersi . | 138 |
| 5.2. | Cechy kliniczne, histopatologiczne, immunohistochemiczne z uwzględnieniem oceny mutacji w genie BRCA1 | 143 |
| 5.3. | Analiza przeżycia w metachronicznym raku piersi | 146 |
| 6. | Wnioski | 156 |
| 7. | Streszczenie w języku polskim | 157 |
| 8. | Streszczenie w języku angielskim..... | 160 |
| 9. | Piśmiennictwo | 163 |

WYKAZ NAJWAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW

| | |
|-----------|---|
| 3HMG-CoAR | – 3-hydroxy 3 methylglutaryl-coenzym A reduktaza |
| AIB-1 | – (augmented in breast cancer protein 1) - koaktywator receptora jądrowego |
| ALDH1 | – (aldehyde dehydrogenase 1) - dehydrogenaza aldehydowa |
| ALL | – (acute lymphoblastic leukemia) - ostra białaczka limfoblastyczna |
| AR | – amphiregulin |
| ATAC | – Arimidex and Tamoxifen Alone or in Combination |
| BCT | – (breast conserving treatment) – leczenie oszczędzające piersi |
| BMI | – (body mass index) - wskaźnik masy ciała |
| bp | – (basepair) – par zasad |
| cAMP | – cykliczny adenozyłomonofosforan |
| CAP | – the College of American Patologist |
| CGHFBC | – Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer |
| COX2 | – cyklooksygenaza typu 2 |
| DCIS | – (ductal carcinoma in situ) - przedinwazyjny rak przewodowy |
| DFS | – (disease free survival) - przeżycie wolne od choroby |
| ECD | – (extracellular domain) - domena zewnątrzkomórkowa |
| ECM | – (extracellular matrix) - macierz zewnątrzkomórkowa |
| EGFR | – (epidermal growth factor receptor) – receptor naskórkowego czynnika wzrostu |
| EORTC | – European Organization for Research and Treatment of Cancer |
| ER | – (estrogen receptor) - receptor dla estrogenów |
| ERE | – (estrogen response elements) - elementy odpowiedzi na estrogen |
| ERK | – extracellular signal-regulated kinase |
| FASN | – (fatty acid synthase) - syntaza kwasu tłuszczowego |
| G | – (grading) - stopień złośliwości histologicznej |
| GAS | – (interferon-g activated sequence) - sekwencja aktywowana interferonem |
| GATA3 | – (GATA binding protein 3) - czynnik transkrypcyjny |
| GRE | – (glucocorticoid response element) - element odpowiadający na |

| | |
|-------|--|
| | steryd |
| HER1 | – (Human Epidermal Growth Factor Receptor 1) - ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 1 |
| HER2 | – (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) - ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 |
| HER3 | – (Human Epidermal Growth Factor Receptor 3) - ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 3 |
| HER4 | – (Human Epidermal Growth Factor Receptor 4) - ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 4 |
| HET | – (heteroduplex analysis) - analiza heterodupleksów |
| HIF | – (hipoxia inductible factor) - czynnik indukowany hipoksją |
| HL | – (Hodgkin Lymphoma) - chłoniak Hodgkina |
| HRGs | – hereguliny |
| HSP | – (heat shock protein) - białko szoku termicznego |
| HTZ | – hormonalna terapia zastępcza |
| IFDC | – (infiltrating ductal carcinoma) - naciekający rak przewodowy |
| IFLC | – (infiltrating lobular carcinoma) - naciekający rak zrazikowy |
| IGF | – (insulin-like growth factor) - insulinopodobny czynnik wzrostu |
| IgG1 | – immunoglobulina G1 |
| JRP | – jednostronny rak piersi |
| LCIS | – (lobular carcinoma in situ) - przedinwazyjny rak zrazikowy |
| LCS | – (laser scanning cytometry) - cytometria skanowana laserem |
| LIF | – leucemia inhibitory factor |
| MAP | – (mitogen activated protein), białko aktywowane mitogenem |
| MIB-1 | – monoklonalne przeciwciało przeciwko rekombinowanej części antygenu Ki67 |
| MMR | – mammografia |
| MNP | – mnogie nowotwory pierwotne |
| MRI | – magnetyczny rezonans jądrowy |
| mRNA | – (messenger RNA) - informacyjny kwas rybonukleinowy |
| MRP | – metachroniczny rak piersi |
| mTOR | – mammalian target of rapamycin |

| | |
|---------|--|
| N-CoR | – (nuclear receptor corepressor) - korepresor receptora jądrowego |
| ORP | – obustronny rak piersi |
| OS | – (overall survival) - przeżycie całkowite |
| OSM | – onkostatyna M |
| PAI-1 | – (plasminogen activator inhibitor) - inhibitor aktywatora plazminogenu |
| pCR | – (pathological complete response) - patologiczna całkowita odpowiedź |
| PCR | – (polymerase chain reaction) - łańcuchowa reakcja polimerazy |
| PFS | – (progression free survival) - przeżycie wolne od progresji |
| PgR | – (progesterone receptor) - receptor dla progesteronu |
| PI-3K | – fosfatydoinozytol-3-OH kinaza |
| PIK3CA | – fosfatidyl-inositol-3-kinase alpha |
| PIP2 | – fosfatydyloinosytol 3,4,5 triphosphate |
| RECIST | – Response Evaluation Criteria In Solid Tumors |
| RQ-PCR | – real-time quantitative polymerase chain reaction |
| rRNA | – (ribosomal ribonucleic acid) - rybosomalny kwas rybonukleinowy |
| SHIP2 | – SH2 zawierające 5'- inozylofosfatę |
| SM | – scyntygrafia |
| SMRT | – silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptor |
| SRC1 | – (steroid receptor coactivator) - koaktywator receptora steroidowego |
| SRP | – synchroniczny rak piersi |
| SSCP | – (single stranded conformational polymorphism) - badanie zmian konformacji jednoniciowego DNA |
| TGFalfa | – (transforming growth faktor alfa) - transformujący czynnik wzrostu alfa |
| TGFb | – (transforming growth factor beta) - transformujący czynnik wzrostu beta |
| TNF | – (tumor necrosis factor) - czynnik martwicy guza |
| uPA | – aktywator plazminogenu |
| USG | – ultrasonografia |
| VEGF | – (vascular endothelial growth factor) - naczyniowo śródbłonkowy |

czynnik wzrostu

VPI

– (vascular peritumoral invasion) - naczyńiowa inwazja
okołoguzowa

WHO

– (World Health Organization) - Światowa Organizacja Zdrowia

SPIS RYCIN

- Rycina 1. Mediana BMI dla pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi
- Rycina 2. Mediana wieku pierwszej miesiączki u kobiet z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi
- Rycina 3. Procentowy rozkład liczby porodów w grupach pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi
- Rycina 4. Mediana zachorowania na pierwszego raka piersi w grupach metachronicznego i synchronicznego raka piersi z uwzględnieniem wywiadu rodzinnego pod kątem raka piersi
- Rycina 5. Korelacja pomiędzy stosowaniem używek a rodzajem obustronnego raka piersi (metachroniczny, synchroniczny)
- Rycina 6. Korelacja pomiędzy stanem menopauzalnym a rodzajem obustronnego raka piersi (metachroniczny, synchroniczny)
- Rycina 7. Korelacja pomiędzy obecnością raka piersi w rodzinie a rodzajem obustronnego raka piersi (metachroniczny, synchroniczny)
- Rycina 8. Mediana wieku zachorowania na pierwszego raka piersi u pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi
- Rycina 9. Wskaźnik masy ciała (BMI) u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi w zależności od mutacji w genie BRCA1
- Rycina 10. Wiek zachorowania na pierwszego raka piersi z uwzględnieniem mutacji w genie BRCA1 i wywiadu rodzinnego
- Rycina 11. Czas do wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z rakiem metachronicznym w zależności od obecności mutacji w genie BRCA1
- Rycina 12. Wiek zachorowania na pierwszego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi, w zależności od oceny mutacji w genie BRCA1
- Rycina 13. Prawdopodobieństwo przeżycia bez drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi z wykorzystaniem analizy przeżycia
- Rycina 14. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od wskaźnika masy ciała (BMI)
- Rycina 15. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z

metachronicznym obustronnym rakiem piersi w zależności od ekspresji receptorów estrogenowych (ER) raka w pierwszej piersi

- Rycina 16. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od ekspresji receptora dla progesteronu (PgR) raka w pierwszej piersi
- Rycina 17. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi w zależności od ekspresji Ki67 raka w pierwszej piersi
- Rycina 18. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od ekspresji ludzkiego receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2) raka w pierwszej piersi
- Rycina 19. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od ekspresji białka p53 raka w pierwszej piersi
- Rycina 20. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od tego, czy rodziły
- Rycina 21. Typ histopatologiczny raka pierwszej piersi a prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi
- Rycina 22. Korelacja stopnia złośliwości histopatologicznej raka pierwszej piersi do prawdopodobieństwa zachorowania na raka drugiej piersi w czterech grupach pacjentek (G1,G2,G3,Gx)
- Rycina 23. Stosowanie używek a prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi
- Rycina 24. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi w zależności od wywiadu rodzinnego pod kątem raka piersi
- Rycina 25. Zależność pomiędzy chemioterapią uzupełniającą zastosowaną w leczeniu raka pierwszej piersi a prawdopodobieństwem wystąpienia raka drugiej piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi

SPIS TABEL

- Tab. I. Dane kliniczne grupy 112 kobiet, z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety), synchroniczny obustronny rak piersi (29 kobiet)
- Tab. II. Wybrane parametry kliniczne w grupie 112 kobiet z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety) oraz synchroniczny obustronny rak piersi (29 pacjentek)
- Tab. III. Czas do wystąpienia nawrotu choroby. Dane z obserwacji całej grupy badanej 112 kobiet z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety), synchroniczny obustronny rak piersi (29 kobiet)
- Tab. IV. Przebieg obustronnego raka piersi
- Tab. V. Cechy kliniczno – histopatologiczne guzów w grupie 112 kobiet, w tym z metachronicznym (83 kobiety) i synchronicznym (29 kobiet) obustronnym rakiem piersi
- Tab. VI. Rodzaj leczenia w grupie 112 kobiet, w tym z metachronicznym (83 kobiety) i synchronicznym (29 kobiet) obustronnym rakiem piersi
- Tab. VII. Immunohistochemiczna ocena guzów u 83 kobiet (56 kobiet z metachronicznym i 27 kobiet z synchronicznym obustronnym rakiem piersi)
- Tab. VIII. Odsetek kobiet bez mutacji w genie BRCA1 oraz z obecną mutacją w genie BRCA1 w grupach z metachronicznym i synchronicznym obustronnym rakiem piersi, w grupie 36 kobiet z obustronnym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1
- Tab. IX. Wybrane parametry kliniczne w grupie 24 kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA, z uwzględnieniem dwóch podgrup: bez mutacji w genie BRCA1 (ujemne) oraz z obecną mutacją w genie BRCA1 (dodatnie)
- Tab. X. Wybrane parametry kliniczne w grupie 24 kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: bez mutacji w genie BRCA1 (ujemne) oraz z obecną mutacją w genie BRCA1 (dodatnie)
- Tab. XI. Parametry kliniczne, histopatologiczne, immunohistochemiczne, u 24 kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi (MBC) i oznaczoną mutacją w

- genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: nienosicielki mutacji (BRCA1 ujemne) oraz nosicielki mutacji (BRCA1 dodatnie)
- Tab. XII. Ocena korelacji pomiędzy wybraną cechą a rodzajem obustronnego raka piersi (ORP). Dane kliniczne grupy 112 kobiet, z uwzględnieniem dwóch podgrup: synchroniczny obustronny rak piersi (29 kobiet), metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety)
- Tab. XIII. Parametry kliniczne w grupie 112 kobiet z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 pacjentki) oraz synchroniczny obustronny rak piersi (29 pacjentek)
- Tab. XIV. Rokowanie. Dane z obserwacji całej grupy badanej 112 kobiet z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety), synchroniczny obustronny rak piersi (29 kobiet)
- Tab. XV. Cechy kliniczno – histopatologiczne guzów w grupie 112 kobiet, w tym z metachronicznym (83 kobiety) i synchronicznym (29 kobiet) rakiem piersi
- Tab. XVI. Porównanie parametrów (rodzaj histopatologicznego rozpoznania, wielkość guza oceniana klinicznie cT, patologiczna ocena węzłów chłonnych pN, stopień złośliwości histologicznej G, wieloogniskowość) w pierwszej i drugiej piersi pod kątem zgodności cech, w grupach z metachronicznym (MRP) i synchronicznym (SRP) obustronnym rakiem piersi
- Tab. XVII. Ocena zgodności par – zgodność pomiędzy pierwszym i drugim guzem w metachronicznym raku piersi (MRP) i synchronicznym (SRP) - w zakresie ekspresji receptorów estrogenowych (ER), ekspresji receptorów dla progesteronu (PgR), ekspresji białka p53, ekspresji Ki67, ekspresji ludzkiego receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2)
- Tab. XVIII. Parametry kliniczne w grupie 24 kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: bez mutacji w genie BRCA1 (ujemne) oraz z obecną mutacją w genie BRCA1 (dodatnie)
- Tab. XIX. W grupie z metachronicznym rakiem piersi analiza stanu genu BRCA1 (bez mutacji vs obecna mutacja) w korelacji do wybranych parametrów klinicznych
- Tab. XX. Wiek zachorowania na pierwszego raka piersi w grupie z metachronicznym rakiem piersi w grupie bez mutacji genu BRCA1 i obecną mutacją genu

BRCA1

- Tab. XXI. Stan receptora estrogenowego, progesteronowego, białka p53, antygenu Ki67, receptora HER2, stopnia złośliwości histopatologicznej a obecność mutacji w genie BRCA1
- Tab. XXII. Ocena zgodności par pomiędzy pierwszym i drugim guzem w grupie 24 kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: BRCA1 (ujemne) oraz BRCA1 (dodatnie)
- Tab. XXIII. Charakterystyka grupy 53 chorych na obustronnego metachronicznego raka piersi z uwzględnieniem fenotypów receptorów steroidowych

1. WSTĘP

1.1. Rys historyczny, definicje

Obustronny rak piersi (ORP) zaliczany jest do mnogich nowotworów pierwotnych (MNP), w których każdy z rozpoznanych raków traktowany jest jak nowa, niezależna choroba nowotworowa, nie będąca przerzutem lub wznową.

Po raz pierwszy przypadek obustronnego raka piersi opisał William Nisbett w 1800 roku. W doniesieniu z 1921 roku Kilgore odnotował 3-krotny wzrost ryzyka raka w drugiej piersi, w co najmniej 3-letnim okresie czasu od zachorowania na raka w piersi przeciwległej. Autor zwrócił uwagę na kliniczną odmienność raka w drugiej piersi. Poruszył zagadnienie profilaktycznej amputacji zdrowej piersi. Dalsze, istotne publikacje dotyczące problematyki ORP pochodzą z XX wieku [1, 2].

Wraz z rozwojem badań przesiewowych, pojawianiem się coraz lepszych metod oceny histopatologicznej i immunohistochemicznej oraz odkrywaniem genetycznie uwarunkowanych predyspozycji, obserwuje się wzrost zainteresowania tematyką ORP. Według danych z piśmiennictwa, częstość rozpoznań obustronnych raków piersi może się wahać od 2,4% do 20% [1].

Kilka długoterminowych badań sugeruje, że odsetki rozpoznawanych ORP w czasie 15-letnich obserwacji kształtują się między 10-15% [3].

Obustronny rak piersi może występować w postaci symultanicznej (synchronicznej) - wykrywanej jednocześnie, lub asynchronicznej, określanej jako metachroniczny ORP. Odsetek symultanicznego ORP wynosi 0,3-3,0%. Wg definicji Haagensa nowotwory synchroniczne to takie, w których rak drugiej piersi zostaje wykryty w okresie do 6 miesięcy od zdiagnozowania raka pierwszego gruczołu piersiowego [4].

W metachronicznym ORP, niezależnego raka drugiej piersi rozpoznaje się po 6 miesiącach od rozpoznania pierwszego, przy czym skumulowane ryzyko jego rozwoju w ciągu życia wynosi 7-10% ogółu raków piersi [5]. Przy przyjęciu 6-miesięcznego przedziału czasowego częstość występowania synchronicznego ORP szacowano na 37%, a metachronicznego na 45% [6] lub według innych autorów odpowiednio na 49% i 51% [7]. Według danych z piśmiennictwa, w którym zastosowano trzymiesięczne kryterium odstępu pomiędzy pierwszym i drugim rozpoznaniem, wyróżniono 44% synchronicznych obustronnych raków piersi i 56% metachronicznych ORP [8]. Natomiast przy

dwunastomiesięcznym przedziale czasowym odsetek raków synchronicznych wynosił 46% a metachronicznych 54% [9].

Przed zaplanowaniem postępowania terapeutycznego istotne jest ustalenie, czy rak w drugiej piersi jest nowotworem pierwotnym, czy przerzutem z piersi przeciwległej. O ile w pierwszej z wymienionych sytuacji możliwe jest leczenie radykalne, w drugiej postępowanie paliatywne.

Dla prawidłowego rozpoznania pomocne mogą być różnice w budowie histologicznej, niezgodność w zakresie ekspresji receptorów steroidowych oraz ludzkiego receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2), czy porównanie genetycznych odmian obydwu guzów [10].

Stwierdzenie innej budowy histologicznej w raku pierwszej i drugiej piersi jest argumentem za tym, że obydwa guzy ORP mogą być rozpatrywane jako biologicznie różne [11].

Kiedy obydwa raki piersi mają te same cechy histologiczne, immunohistochemiczne, do odróżnienia pomiędzy przerzutem a drugim pierwotnym rakiem pomocne może być porównanie genetycznych odmian obydwu guzów [10].

Przy użyciu metody łańcuchowej reakcji polimerazy – PCR, przeprowadzono analizę molekularną u chorych z synchronicznym ORP oraz jednostronnym inwazyjnym rakiem piersi z przerzutami do węzłów chłonnych.

W rakach pierwszej grupy stwierdzono niezgodność mutacji we wszystkich oznaczeniach, potwierdzając rozpoznania de novo. Natomiast ocena jednostronnych raków i przerzutów do węzłów chłonnych, wykazała obecność tych samych mutacji [12].

Stwierdzono, że synchroniczne raki obustronne mają tendencję do współwystępowania istotnych molekularnych cech, jak ekspresja receptorów hormonalnych czy amplifikacja onkogenów. Metachroniczne ORP są w tym kontekście bardziej niepodobne do siebie [13, 14, 15]. Większą zgodność zmian genetycznych w grupie synchronicznych obustronnych raków wykazano również w badaniu Park i wsp. [16]. Tym niemniej są doniesienia wskazujące na dużą niezgodność mutacji w obu guzach synchronicznego raka piersi [17]. U pacjentki z ORP przeprowadzono klonalną analizę, której celem była ocena charakteru drugiego raka piersi (pierwotny, czy wtórny). Zastosowana metoda wykazała, że były to dwa pierwotne guzy [18].

Klonalnej analizie użyto także do rozróżnienia, czy lokalny nawrót w obustronnym raku piersi jest wznową z pierwotnego czy przeciwległego guza. Wykazano, że nawrót części

powstaje z guza w pierwszej piersi [19]. Badania bliźniąt wykazały znaczne molekularne i genetyczne podobieństwo w synchronicznych obustronnych rakach piersi. Raport ten podkreśla potencjalną rolę gospodarza w definiowaniu wariantu patogenezы obustronnego raka piersi. Autorzy sugerują zbliżony naturalny przebieg obu nowotworów przez pewien czas, po którym może dojść do akumulacji mutacji genów. Należy brać pod uwagę, że choroba dotyczy tego samego gospodarza, w którym mamy taki sam poziom heterogenności, tą samą genetyczną „bazę” i historię dotyczącą narażenia na czynniki zewnętrzne i wewnętrzne [20].

Odróżnienie niezależnego raka drugiej piersi od przerzutów z guza piersi przeciwległej nie zawsze jest łatwe. W przypadkach wątpliwych, zwłaszcza jeśli brak innych ognisk rozsiewu, zmianę w drugiej piersi należy traktować jako niezależny nowotwór [5].

1.2. Czynniki ryzyka obustronnego raka piersi

1.2.1. Przebycie jednostronnego raka piersi

Ryzyko rozwoju drugiego raka piersi w ciągu życia jest wyższe u chorej na raka piersi niż u zdrowych kobiet.

Zdrowa 55-letnia kobieta ma około 2,5% ryzyko rozwoju inwazyjnego raka piersi w czasie 15 lat. 55-letnia pacjentka z przebyłym rakiem piersi ma ryzyko rozwoju raka drugiej piersi 10-15% w tym samym czasie obserwacji. Styl życia i czynniki reprodukcyjne stanowiące czynniki ryzyka pierwotnego raka, odgrywają również rolę w etiologii drugiego raka piersi [3]. Kobiety ze zdiagnozowanym rakiem piersi mają 2-6 razy wyższe ryzyko rozwoju obustronnego raka piersi w porównaniu do populacji generalnej. Szacuje się, że u 1% pacjentek leczonych z powodu raka piersi, może się rozwinąć rak w drugiej piersi [20].

Ryzyko to zwiększa się z każdym kolejnym rokiem, jaki upłynął od leczenia operacyjnego z powodu raka w pierwszej piersi [1].

1.2.2. Wiek rozpoznania raka w pierwszej piersi

Młodszy wiek w momencie rozpoznania pierwszego raka piersi podnosi ryzyko obustronnego raka piersi [7, 21, 22, 23].

Kobiety z rozpoznaniem raka piersi poniżej 45 roku życia mają ponad 5-krotny wzrost ryzyka rozwoju drugiego pierwotnego raka w porównaniu do kobiet w populacji generalnej [24]. Analiza grupy kobiet z pierwszym rakiem piersi rozpoznany poniżej 50 roku życia wykazała u nich ponad 10-krotny wzrost ryzyka obustronnego raka piersi [20]. Częstsze występowanie ORP stwierdzono u kobiet, które pierwszego raka piersi przebyły w wieku do 35 lat [25, 26]. W badaniu szwedzkim przeprowadzono analizę ryzyka u ponad 70 tysięcy kobiet z jednostronnym rakiem piersi w dwóch grupach wiekowych. Wykazano wysoką tendencję rozwoju ORP w wieku 25-49 lat oraz mniejszą w wieku 50-80 lat [27]. W innym badaniu, w grupie kobiet między 30-39 lat odnotowano 15-25-krotny wzrost ryzyka ORP. W przedziale wiekowym 40-49 lat stwierdzono 5-krotny wzrost ryzyka. W grupie 50-59 lat ryzyko wzrastało 2,5-krotnie. Natomiast ryzyko względne ORP u kobiet z przebyłym jednostronnym rakiem piersi powyżej 60 roku życia było podobne do populacji ogólnej [20]. U młodych kobiet ryzyko obustronnego raka piersi zwiększało się przy obecnej ekspresji białka c-erbB2 [24]. Wzrost nadekspresji HER-2 w tej grupie pacjentek koreluje z głównymi kryteriami agresywności guza, przez co umożliwia wyodrębnienie pacjentek z wysokim ryzykiem ORP [28].

1.2.3. Ekspozycja na napromienianie

Badano ryzyko obustronnego raka piersi związane z radioterapią u pacjentek leczonych wcześniej z powodu raka piersi. Wykazano, że w czasie pierwszych 5 lat po leczeniu, radioterapia nie zwiększała ryzyka ORP. Natomiast w okresie powyżej 5 lat notowano wzrost ryzyka o 14%, zwłaszcza u pacjentek z pierwszą diagnozą postawioną w wieku przed 45 r.ż. i po 55 r.ż. [29].

Autorzy innego badania potwierdzili, że kobiety leczone energią promienistą z powodu raka piersi poniżej 40 roku życia, miały podwyższone długoterminowe ryzyko rozwoju drugiego raka piersi [30].

Podwyższone ryzyko ORP, zależne od radioterapii, wykazano porównując leczenie oszczędzające (chirurgiczne z radioterapią uzupełniającą) do grupy kontrolnej – chorych po

totalnej mastektomii. Nie stwierdzono jednak różnic statystycznie istotnych [31].

Rak piersi jest drugim nowotworem po chorobach onkohematologicznych, który rozwija się w następstwie radioterapii śródpiersia z powodu chłoniaka Hodgkina (HL) [32, 33]. ORP zdarza się u 10-22 % pacjentek z HL, czyli znacznie częściej niż w populacji ogólnej [34]. Analiza historii 400 kobiet, które w dzieciństwie przebyły radioterapię z powodu chłoniaka Hodgkina wykazała 37-krotny wzrost ryzyka raka piersi oraz zwiększone prawdopodobieństwo rozwoju ORP. Wczesne stadium chłoniaka i wiek zachorowania powyżej 12 roku życia były niezależnymi czynnikami ryzyka ORP. Ryzyko to zwiększało się przy wyższych dawkach napromieniania [35].

W innej retrospektywnej ocenie 40 kobiet stwierdzono, że średnio po 16 latach od zakończonej radioterapii z powodu HL dochodziło do rozwoju raka piersi. Odsetek rozpoznawanych ORP wyniósł w tej grupie prawie 40% [36].

Opisano przypadek zachorowania na ORP, rozpoznanego po 10 latach od zakończonego napromieniania z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej - ALL [37].

W piśmiennictwie zaprezentowano także przypadek młodej kobiety, u której po 9 latach od radioterapii z powodu mięsaka, doszło do rozwoju obustronnego przewodowego przedinwazyjnego raka piersi [38].

1.2.4. Obecność raka inwazyjnego oraz komponentu przedinwazyjnego zrazikowego (LCIS), przewodowego (DCIS)

Kobiety z rozpoznaniem raka piersi *in situ* mają zwiększone ryzyko rozwoju raka drugiej piersi. W ciągu 20 lat zbadano ponad 4000 kobiet wykazując, że 5-10-letnie prawdopodobieństwo wystąpienia ORP wśród kobiet z rozpoznaniem DCIS wyniosło odpowiednio 4,3% i 6,8%. Ryzyko to jest ponad 3-krotnie większe niż u kobiet bez obecnego wywiadu raka piersi. Natomiast 5-10-letnie prawdopodobieństwo wystąpienia diagnozy ORP wśród kobiet z rozpoznaniem LCIS wyniosło odpowiednio 11,9% i 13,9%. Wykazano, że kobiety z LCIS miały 2-3 razy większe prawdopodobieństwo ORP w porównaniu do pacjentek z DCIS [39]. Autorzy innego badania podkreślili, że LCIS jest czynnikiem ryzyka predysponującym do rozwoju raka w drugiej piersi, zwykle bardziej zaawansowanego i o wyższym stopniu złośliwości [40]. Zależność pomiędzy ORP a typem histologicznym pierwszego raka, wykazano również w kolejnym badaniu. Oceniano grupę kobiet z LCIS, współistniejącym z naciekającym przewodowym (IFDC), lub naciekającym

zrazikowym (IFLC), rdzeniastym czy atypowym rdzeniastym. Obustronnego raka piersi stwierdzano znacząco częściej u pacjentek z rozpoznaniem złożonym z raka przewodowego naciekającego oraz raka zrazikowego przedinwazyjnego [41].

1.2.5. Wielogniskowość

Pacjentki z rakiem piersi wielogniskowym mają większe ryzyko występowania raka obustronnego. Stwierdzono jednocześnie, że ORP i wielogniskowość częściej występują u pacjentek z inwazyjnym zrazikowym rakiem piersi [41]. W analizie symultanicznych ORP wykazano wyższy odsetek zrazikowych ORP z nieco częstszym występowaniem raków wielogniskowych [42]. Cechę wielogniskowości wykazano również w analizie obustronnych, symultanicznych raków piersi [4].

1.2.6. Nadwaga i otyłość

Nadwaga i otyłość to stany nadmiernego gromadzenia tkanki tłuszczowej. Na podstawie wskaźnika BMI (body mass index - iloraz masy ciała do kwadratu wzrostu wyrażonego w metrach), przy wartościach w zakresie 25,0-29,9 kg/m² rozpoznaje się nadwagę. Wartości BMI wyższe lub równe 30 kg/m² definiują stan otyłości. Otyłość i mała aktywność fizyczna są modyfikowalnymi czynnikami ryzyka raka piersi [43]. Przeprowadzono analizę grupy kobiet uwzględniającą wiek zachorowania, porody, wiek ostatniej miesiączki, obecność raka piersi w rodzinie. U pacjentek otyłych stwierdzono 3- krotny wzrost ryzyka raka piersi [44]. Podkreślono, że systematyczna, umiarkowana aktywność przez co najmniej 30-60 min/dobę wpływa na istotne zmniejszenie tego ryzyka [45, 46].

Korzyści płynące z aktywności fizycznej wykazano również u pacjentek z rozpoznaniem już rakiem piersi. Analizowano w kilkuletniej obserwacji 1500 osobową grupę pacjentek, które przebyły leczenie z powodu raka piersi. Wykazano istotnie zwiększone ryzyko zgonu przy BMI co najmniej 30 [47]. Potwierdzono, że regularne ćwiczenia zwiększają u tych pacjentek odsetek przeżyć, poprawiają ich ogólną kondycję i stan psychologiczny [48, 49]. Gorsze wyniki leczenia raka piersi u pacjentek otyłych mogą mieć związek ze zbyt późno stawianym rozpoznaniem choroby w związku z obecnością tzw. niepalpacyjnych guzów [50, 51]. W grupie pacjentek z nadwagą i otyłością częściej stwierdzano raka zapalnego, rozsiew choroby, krótsze przeżycia całkowite oraz krótsze czasy przeżycia wolne od

nawrotu choroby [52, 53].

Wśród wielu cytokin i hormonów produkowanych przez tkankę tłuszczową, w patogenezie chorób nowotworowych dużą rolę odgrywają między innymi insulina, IGF (insulin-like growth factor-insulinopodobny czynnik wzrostu), leptyna, adiponektyna, PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-inhibitor aktywatora plazminogenu) [54]. Wykazano, że otyłość wiąże się ze wzrostem ekspresji 3HMG-CoAR (3-hydroxy 3-methylglutaryl-coenzyme A reductase). Odnotowano jej korelację z prognostycznie korzystnymi parametrami raka piersi takimi jak: mniejszy rozmiar guza, niższy stopień histologiczny i indeks Ki 67, obecne receptory alfa i beta dla estrogenów [55].

Insulina odgrywa rolę w procesach metabolicznych, ale ma również znaczenie mitogenne. Stymulując własny receptor IGF-I indukuje proliferację prawidłowych komórek nabłonka gruczołu piersiowego i promuje transformację do komórek złośliwych [56]. Wspomina się o istnieniu „pojedyńku” między IGF a ścieżką sygnałową estrogenów [57]. Regulatorem funkcji insuliny jest SHIP2 (SH2 zawierające 5'-inozytolofosfatazę). Odpowiada on za remodeling aktyny i obrót EGFR (epidermal growth factor receptor), należących do czynników ryzyka przerzutowania. U pacjentek z wyższym poziomem SHIP2 stwierdzano istotne skrócenie czasu wolnego od choroby i całkowitych przeżyć. W rakach z nadekspresją fosfatazy częściej nie wykazywano ekspresji receptorów estrogenowych [58]. Poziomy insuliny korelowały istotnie statystycznie z wielkością guza, stanem węzłów chłonnych, wysokim stopniem złośliwości histopatologicznej. Wpływały na wzrost ryzyka przerzutów do narządów odległych oraz wzrost ryzyka zgonu [59].

Kolejną adipocytokiną odgrywającą rolę w rozwoju nowotworów jest leptyna. Poziom tej cytokiny znacznie wzrasta u pacjentów z otyłością [60]. Leptyna tłumi ekspresję TGF β (transforming growth factor beta) - supresora cyklu komórkowego, natomiast aktywuje cykliny D i G, cyklinozależną kinazę 2, p21, p27, p16. Blokuje apoptozę poprzez indukcję antyapoptotycznych genów BCL-2 i surwiwiny prowadząc do wzrostu guza [61]. Rozwój raka piersi może być związany z leptynozależnymi mechanizmami aktywowanymi przez hiperinsulinemię. Istotną rolę odgrywają czynniki indukowane hipoksją HIF (hipoxia inducible factor) oraz PI-3K (phosphatidyinozytol-3-OH kinase) i ERK 1/2 (extracellular signal-regulated kinase) ścieżki sygnałowe [62].

Ocena polimorfizmu genu receptora leptyny w kodonie 109 metodą PCR wykazała u pacjentek przed menopauzą i nadwagą częstsze występowanie genotypu LEPR. Wyższe stężenia leptyny stwierdzano w guzach tzw. trójjemnych oraz o wysokim stopniu

złośliwości histopatologicznej [63].

Inną istotną adipokyną jest adiponektyna, której poziomy u pacjentów otyłych są obniżone [64]. Jak wykazano, jest to parakryny czynnik hamujący estrogenowo wrażliwe MCF-7 linie komórkowe raka piersi. Ma właściwości antyproliferacyjne i proapoptotyczne. Cechuje się zdolnością do blokowania angiogenezy w guzie [65, 66].

Wyniki ostatnich eksperymentów dowodzą o istnieniu związku pomiędzy ekspresją HER2 a różnicowaniem adipocytów. Oś HER2-FASN (Fatty Acid Synthase, enzym lipogeniczny) pobudza proliferację komórek raka, nasila przerzutowanie, może odpowiadać za chemiooporność [67, 68].

Jednak ocena zależności pomiędzy otyłością a HER2 u stu chorych na raka piersi nie potwierdziła, że otyłe pacjentki mają istotnie częściej nadekspresję tego receptora [69]. Autorzy innego badania wykazali u pacjentek z potrójnie negatywnym rakiem piersi podwyższone stężenie leptyny, która jest czynnikiem pogarszającym rokowanie u kobiet otyłych [63].

Wykazano, że otyłość wiąże się ze wzrostem ryzyka obustronnego raka piersi [70, 71]. Potwierdza tę przesłankę inne badanie, w którym przedstawiono ponad dwukrotny wzrost ryzyka ORP u kobiet z BMI co najmniej 30, w porównaniu do kobiet z BMI 19,9 i niższymi wartościami [24]. Zachowania dietetyczne i styl życia mogą prawdopodobnie zredukować występowanie obustronnego raka piersi w długoterminowych obserwacjach. Jednak do ustalenia korzyści z zastosowania zbilansowanej diety, odchudzania i zwiększonej aktywności w odniesieniu do zachorowań na obustronnego raka piersi, konieczne są badania randomizowane [72].

1.2.7. Antykoncepcja i hormonoterapia zastępcza

W terapii hormonalnej u kobiet mają zastosowanie dwa schematy: same estrogeny lub w skojarzeniu z progestagenami. Drogi podawania to: doustna, przezskórna, dopochwowa, donosowa w postaci aerozoli.

Korzyści z prowadzonego leczenia hormonalnego powinny przewyższać ryzyko, a terapię należy wprowadzać indywidualnie z uwzględnieniem potencjalnych zagrożeń takich jak: choroba niedokrwienna serca, żylne powikłania zakrzepowe, udar, demencja, osteoporoza, rak błony śluzowej macicy.

Ryzyko rozwoju raka piersi wzrasta po ponad 5-letnim zastosowaniu hormonalnej terapii

złożonej. Natomiast nie wiadomo, czy estrogeny prowadzą do proliferacji istniejących już wcześniej ognisk raka piersi, czy indukują nowe postaci tego nowotworu.

Początkowo wydawało się, że lekiem mającym zastosowanie u pacjentek z rakiem piersi i objawami wypadowymi będzie tibolon. Jest to syntetyczny steroid metabolizowany do związków o działaniu progestagenowym, androgennym i słabym estrogenowym. Wstępne, krótkoterminowe badania kliniczne sugerowały, że tibolon nie zwiększa potencjału proliferacyjnego komórek gruczołu piersiowego i komórek raka piersi oraz może zwiększyć zdolność do apoptozy. Niestety, badanie Kenemansa nie potwierdziło bezpieczeństwa tibolonu (lek stosowano w dawce 2,5 mg/dobę). Zakończono je wcześniej z powodu znamiennego wyższego ryzyka wystąpienia nawrotu raka piersi oraz nawrotów odległych u kobiet otrzymujących tibolon w porównaniu do kobiet otrzymujących placebo. Stosowanie tego leku zmniejszyło się po opublikowaniu wstępnych wyników Women's Health Initiative oraz badania Million Women Study, w których stwierdzono wyższe ryzyko rozwoju raka piersi u kobiet stosujących tibolon [73, 74].

W badaniu CGHFBC (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer) wykazano wzrost ryzyka raka piersi u kobiet, które aktualnie lub w przeszłości przyjmowały doustną antykoncepcję (autorzy podkreślili, że większość badanych stosowała wyższe dawki estrogenów niż w preparatach zalecanych obecnie). Istotnie wzrastało również względne ryzyko raka piersi z każdym rokiem użycia HTZ [75].

W badaniu STOCKHOLM opublikowanym w 2005 roku nie potwierdzono tego wniosku [76]. Natomiast wyniki badania HABITS opublikowanego w 2008 roku ugruntowały pogląd, że należy unikać hormonalnej terapii zastępczej u pacjentek, które przebyły raka piersi [77].

U większości pacjentek z rakiem piersi w wywiadzie, z kontrolą objawów wypadowych można poradzić sobie w mniej ryzykowny sposób. Należą do nich: podawanie bisfosfonianów w celu utrzymania lub zwiększenia gęstości mineralnej kości oraz stosowanie leków niehormonalnych mających przeciwdziałać uderzeniom gorąca (np. receptory wychwyty zwrotnego serotoniny, selektywne inhibitory zwrotnego wychwyty norepinefryny, gabapentyna).

Alternatywą dla HTZ może być zastosowanie fitoestrogenów. Są to niesteroidowe związki pochodzenia roślinnego, które pod względem budowy i działania przypominają naturalne estrogeny, choć mają niższą aktywność.

1.2.8. Dziedziczny i rodzinny rak piersi

Okolo 5-10% nowotworów powstaje w mechanizmie dziedziczenia defektu genetycznego, czyli przekazywania mutacji genetycznej przez matkę lub ojca.

Nowotwory o podłożu dziedzicznym można podejrzewać, gdy: rozwój nowotworu stwierdzono w młodszym wieku niż w ogólnej populacji, u tej samej osoby rozpoznano co najmniej dwa nowotwory, nowotwór występuje u kilku najbliższych krewnych w co najmniej dwóch pokoleniach. Znaczenie ma również stwierdzenie nowotworów w rodzinie (np. piersi, jajnik, jelito grube, gruczoł krokowy, trzon macicy, mięsaki) oraz pochodzenie aszkenazyjskie. Większość dziedzicznych raków jest dziedziczona w sposób autosomalny, dominujący. Defekt genetyczny jest przekazywany w komórkach germinalnych zarówno po stronie matki jak i ojca.

Dziedzicznie uwarunkowany rak piersi to rak potwierdzony analizą rodowodową i dodatnim wynikiem testów, które wykazują defekt genetyczny. Dziedziczny rak piersi stanowi okolo 5-10% wszystkich nowotworów tej lokalizacji [78].

Pod koniec ubiegłego stulecia zidentyfikowano geny, których obecność traktowana jest jako samodzielne kryterium wysokiego ryzyka raka piersi.

W 1990 roku opisano występowanie mutacji supresorowego genu P53 u połowy rodzin z klasycznym zespołem Li Fraumeni [79]. Według badaczy indeks zmian TP53 w prawidłowej tkance gruczołu piersiowego może służyć jako wskazówka do oceny ryzyka raka piersi [80]. Anomalie genu P53 wydają się odgrywać ważną rolę w karcinogenezie ORP [81]. Za pomocą metody PCR oceniono próbki 38 pacjentek z drugim pierwotnym rakiem piersi oraz 62 pacjentek z jednostronnym rakiem piersi (JRP) jako grupa kontrolna. Zaburzenia genu P53 stwierdzono u 50% pacjentek z ORP i 25,8% z JRP. Zauważono, że genetyczne zmiany i mechanizmy karcinogenezy są inne dla ORP i JRP. Dokonując oceny pierwszego z dwóch raków ORP z obecną mutacją genu P53, zaobserwowano wysoki stopień złośliwości histologicznej guza (G), występowanie ekspresji receptorów steroidowych oraz obecność raka inwazyjnego [82].

W 1990 roku w chromosomie 17q21 zlokalizowano gen BRCA1, a jego sklonowaną sekwencję opublikowano w 1994 roku [81]. Jest to bardzo rozległy gen, który rozciąga się na prawie 100 kbp genomowego DNA. Jego mRNA posiada 7,8 kbp długości, 24 eksony, a jego białko składa się z 1836 aminokwasów [83]. W 1995 roku opublikowano sekwencję drugiego czulego genu - BRCA2, zlokalizowanego w chromosomie 13q12-13. Gen

BRCA2 rozciąga się na 70 kpb genomowego DNA. Obydwa geny są supresorowe [79, 83]. Prawdopodobieństwo wystąpienia raka piersi, który w większości dziedziczony jest w sposób autosomalny dominujący, w przypadku mutacji BRCA1 ocenia się w przedziale 50-80%, natomiast BRCA2 31 - 56% [84].

Gen BRCA1 bardzo rzadko podlega mutacjom *de novo* i jest to najprawdopodobniej jedna z głównych przyczyn „efektu założyciela” powodującego, że w populacjach o dużym poziomie homogeniczności etnicznej, zaledwie kilka mutacji stanowi większość obserwowanych uszkodzeń genu BRCA1. W Polsce stwierdzono, że około 90% stanowi jedna z trzech mutacji: 5382insC, C61G i 4153delA [85]. Zaobserwowano, że ryzyko jest uzależnione od rodzaju mutacji i lokalizacji w genie. Zachorowanie na raka piersi jest około 2-krotnie wyższe u nosicielek 5382insC w porównaniu z ryzykiem u nosicielek 4153delA. Nie opisano jak dotąd w polskiej populacji znaczącego stopnia „efektu założyciela” dla mutacji genu BRCA2 [84].

Do dzisiaj doniesiono o ponad 1590 różnych wariantach genetycznych mutacji, polimorfizmów w genie BRCA1 i 1856 w genie BRCA2. W Anglii oceniano, czy prawdopodobieństwo wykrycia mutacji BRCA1 i BRCA2 jest wyższe niż 20%. W analizie bazowano na wywiadzie rodzinnym, gdyż skryning mutacji u niewyselekcjonowanych pacjentów nie jest rekomendowany z powodu niskiego odsetka wyników dodatnich. Badacze wykazali jednocześnie, że młody wiek rozpoznania raka piersi bez towarzyszącego wywiadu rodzinnego jest często spowodowany mutacją BRCA1 lub BRCA2. Mutacje *de novo* są często opisywane w różnych genetycznych chorobach spowodowanych uszkodzeniem w dużych genach takich jak NF1, fibrylina. W serii izolowanych przypadków z diagnozą raka w młodym wieku odnotowano wzrastanie częstości uszkodzeń z 3 – 6% do 9 - 17%. Autorzy podkreślają, że użycie nowych, zaawansowanych technik do identyfikacji mutacji u młodych kobiet może trochę podwyższyć te wyniki. Kobietom, u których zidentyfikowano nosicielstwo mutacji, można zaoferować profilaktyczną obustronną amputację jajników i jajowodów, z powodu wysokiego ryzyka zachorowania na raka piersi i raka jajnika. Zabieg ten redukuje ryzyko raka jajnika i raka piersi (u chorych na jednostronnego raka), nawrotu raka piersi z obecną ekspresją receptorów estrogenowych. Testy genetyczne należy rozważyć także u kobiet z rakiem piersi w młodym wieku, bez wywiadu rodzinnego, zwłaszcza gdy są to guzy z wysokim stopniem złośliwości [86].

W Holandii oceniano ryzyko raka piersi i raka jajnika u kobiet z rodzin z obecnymi

mutacjami w genach BRCA1/2. Ustalono penetrację mutacji genów BRCA1/2 w rodzinach z północnej części kraju. Następnie porównano je z częstością mutacji w populacji generalnej tego regionu, ze szczególnym uwzględnieniem wystąpienia raka piersi, obustronnego raka piersi i raka jajnika. Skumulowane ryzyko raka piersi dla kobiet w wieku 70 lat wynosiło u nosicielek mutacji BRCA1 - 71,4%, mutacji BRCA2 – 87,5%. Dla raka jajnika w wieku 70 lat stwierdzono odpowiednio wartości 58,9% i 34,5%. Autorzy wykazali, że częstość występowania raka piersi i raka jajnika jest stale wysoka po 60 roku życia. To może uzasadniać intensywny skryning gruczołu piersiowego w tej grupie wiekowej. Ponieważ ryzyko wystąpienia raka drugiej piersi wzrasta o około 3% na rok, również w grupie wiekowej powyżej 60 roku życia należy uwzględnić postępowanie profilaktyczne [87]. U rodzin francuskich znaleziono dwie powszechne mutacje BRCA1 3600 del11 i G170X, sugerując obecność efektu założyciela [90]. Największe rozpowszechnienie populacyjne częstości mutacji BRCA1/2 zanotowano wśród Żydówek Aszkenazyjskich, bo około 2,5% tych mutacji, w tym: 5382 insC i 185 delAG w BRCA1 oraz 6174 delT w BRCA2, stanowiących odpowiednio: 0,13%, 1,09%, 1,52% [89].

Mutacja 185delAG występuje również u Marokanek i Hiszpanek. Wśród Rosjanek najczęstszą mutacją jest 5382insC, a 4153delAA jest charakterystyczna tylko dla tej populacji. W Norwegii popularne są mutacje BRCA1: 1675delA i 1135insA, w Holandii 2803delAA, Szkocji 2800delAA. Natomiast w Islandii i Finlandii powszechna jest mutacja 999del5 w BRCA2 [79]. Ocena sekwencji BRCA1/2 Japonek wykazała u 12,6% mutacje w genie BRCA1 oraz u 14,1% mutacje w genie BRCA2 [90]. Analiza kobiet z Algierii w wieku do 40 lat wykazała wyższą częstość mutacji BRCA1 w porównaniu do Europejek, co sugeruje biologiczne różnice między tymi populacjami. Zwrócono także uwagę, że kryteria mające zastosowanie w ocenie kobiet z Zachodniej Europy mogą nie być odpowiednie dla kobiet z Afryki Północnej [91].

Różnice w penetracji genu są dowodem na to, że do powstania raka niezbędny jest dodatkowo defekt wielu genów modyfikujących oraz czynniki środowiskowe wewnętrzne i zewnętrzne [78]. Świadczy o tym fakt, że około 20-30% nosicielek mutacji BRCA może nigdy nie zachorować na raka [92]. Analizowano materiał pochodzący od ponad 700 kobiet z rozpoznaniem obustronnego raka piersi. Pierwszego raka rozpoznano przed 54 rokiem życia (średni wiek 46 lat). Średni odstęp pomiędzy 1 i 2 rakiem piersi wynosił 5 lat (zakres od 1 do 16 lat). Grupę kontrolną stanowiły pacjentki z jednostronnym rakiem piersi. Wykazano częstsze występowanie mutacji w genie BRCA1 niż BRCA2. W przypadku

mutacji BRCA1 stwierdzano najczęściej 185delAG, C61G, 5382insC BRCA2 6174delT, 3036del4. Mutacje te występowały prawie 3-krotnie częściej u kobiet z obustronnym rakiem piersi niż w grupie kontrolnej. Nosicielki mutacji zarówno BRCA1 jak i BRCA2 miały 4,5-krotny wzrost ryzyka obustronnego raka piersi w porównaniu do nienosicielek. W przypadku mutacji BRCA1 był to wzrost 4,5-krotny, a BRCA2 - 3,4-krotny [93].

U kobiet z przebyłym JRP i predyspozycją genetyczną, całkowite ryzyko ORP może wzrosnąć do 40% u nosicielek BRCA1/2 [94], wg innych autorów nawet do 60% [81]. Haffty i wsp. w 12-letniej obserwacji pacjentek z obustronnym rakiem piersi, u 42% odnotowali obecność mutacji w genie BRCA1 lub BRCA2 [95]. Częstsze występowanie raka w piersi przeciwległej odnotowano w badaniach, w których zidentyfikowano 5 odrębnych delecji (jedną w BRCA1, cztery w BRCA2) [96]. Ocena genotypu 172 Żydówek Aszkenazyjskich, których rozpoznanie pierwotnego raka piersi postawiono przed 42 r.ż. wykazała, że ORP wystąpił u 15 z 54 nosicielek mutacji (28%), w porównaniu do 8 ze 118 nienosicielek (7%) [97]. ORP wystąpił u 63,6% nosicielek mutacji z pierwszym rakiem piersi poniżej 35 r.ż., w porównaniu do 25,5% zdiagnozowanych pierwotnie po 35 r.ż. [98]. W innym badaniu oceniono częstość mutacji BRCA w grupach z obustronnym i jednostronnym rakiem piersi w zależności od wieku pacjentek. U kobiet z obustronnym rakiem piersi istotnie częstsze nosicielstwo mutacji wykazano przy wieku pierwszej diagnozy poniżej 40 lat. Podobnej tendencji nie obserwowano w grupie kontrolnej z jednostronnym rakiem piersi [99].

Badanie niemieckie nie wykazało wzrostu rozpowszechnienia mutacji BRCA1/2 u 75 pacjentek z ORP leczonych w latach 1995 - 2000 [100]. Natomiast zwiększone ryzyko pierwotnego ORP u nosicielek mutacji BRCA1/2 w porównaniu do nienosicielek, opisują badania polskie i kanadyjskie [101, 102]. W innej pracy z Polski mutacje BRCA1/2 stwierdzono u 19,4% pacjentek z obustronnym rakiem piersi. Najczęstszymi mutacjami w genie BRCA1 były: 185delAG, C61G, 5382insC, 3875del11ins7, R1751X, a w genie BRCA2: 9631delC, A9599T [103].

Raki nosicieli mutacji genów BRCA1, BRCA2, mają odmienne od raków sporadycznych cechy kliniczne i histopatologiczne. Stwierdzono młodszy wiek zachorowania, częstsze występowanie raka rdzeniastego lub atypowego rdzeniastego. Ponadto brak ekspresji receptora HER-2, brak receptorów steroidowych, obecność białka p53, podwyższony indeks proliferacji [81, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109]. Częściej opisywane są przerzuty do węzłów chłonnych oraz wieloogniskowość [110]. Analiza pacjentek z obecną

mutacją BRCA1 i podtypem rdzeniastym raka piersi, wykazała lepsze rokowanie w tej grupie [111].

Lakhani i wsp. opublikowali wyniki badania, w którym u 36% nosicielek BRCA1 stwierdzono obecność receptorów steroidowych. W badaniu tym przedstawiono trzy podstawowe konkluzje. Zaobserwowano związek pomiędzy stanem receptora estrogenowego (ER) a wiekiem diagnozy. U pacjentek powyżej 50 roku życia częściej stwierdzano ekspresję receptorów estrogenowych. ER pozytywne i ER negatywne guzy u nosicielek mutacji genu BRCA1 różniły się typem nowotworu, stopniem złośliwości histopatologicznej, aktywnością mitotyczną, stopniem nasilenia martwicy i wielkością marginesu. W ER pozytywnych guzach nosicielek mutacji BRCA1 stwierdzano tendencję do wyższego stopnia złośliwości histopatologicznej, aktywności mitotycznej, częściej występował typ przewodowy raka. Jest to ciekawe spostrzeżenie wskazujące, że estrogen może odgrywać istotną rolę w rozwoju BRCA1 - zależnego raka piersi [112].

Rak piersi u nosicielek mutacji genu BRCA2 cechuje się wysokim stopniem złośliwości, mniejszą formacją cewek, ale brakiem różnic w pleomorfizmie i liczbie mitoz w porównaniu do nienosicielek [89, 104]. Wykazano, że w guzach pacjentek z obecną mutacją genu BRCA2, częściej stwierdzano ekspresję receptorów steroidowych, zwłaszcza dla progesteronu [102]. W innym opracowaniu ekspresja receptorów steroidowych guzów nosicielek mutacji genu BRCA2 była podobna do raków sporadycznych [104]. Raki BRCA2 - zależne mają wyższy stopień złośliwości, obecne białko p53, brak lub mniej wyraźne różnice w zakresie ekspresji receptorów steroidowych w porównaniu do grupy kontrolnej [113].

Podwyższone ryzyko obustronnego raka piersi badano również u nosicielek mutacji CHEK2 1100 delC. Prawidłowo enzym CHEK2 blokuje podział komórki w przypadku uszkodzenia DNA do czasu jego naprawy.

Wykazano, że obecność mutacji CHEK2 1100 delC podwaja ryzyko raka piersi w populacji bez mutacji w genach BRCA z ujemnym onkologicznym wywiadem rodzinnym.

Obserwowano wzrost ryzyka ORP u nosicielek mutacji CHEK2 w populacjach z Wielkiej Brytanii, Finlandii, ale nie w Holandii czy Rosji. Autorzy tłumaczą, że za taką sytuację odpowiada zjawisko epistazy będące efektem oddziaływania pomiędzy CHEK2 1100 delC a nieaktywnymi mutacjami BRCA1/2. Przyczynia się ono do występowania znacznej heterogenności między populacjami z poszczególnych krajów [114]. Najwyższy odsetek mutacji stwierdzono wśród tych pacjentek z ORP, które przeżyły leczenie energią

promienistą z powodu raka w pierwszej piersi [115].

Analiza kobiet z obustronnym rakiem piersi wykazała u nosicielek mutacji CHEK2 wcześniejszy wiek zachorowania na pierwszego i drugiego raka piersi w porównaniu do nienosicielek [103].

Stale poszukuje się identyfikacji czynników genetycznych predysponujących do zachorowania na obustronny rak piersi. Należą do nich obok wspomnianych BRCA1/2, TP53, CHEK2, również ATM, polimorfizm genu CYP19, gen receptora androgenowego [100, 116, 117, 118].

Przedstawiono wyniki badania, w którym autorzy oparli się na przesłance, że mutacje w obustronnym raku piersi nie są ograniczone do komórek nabłonka w piersi, ale mają raczej charakter ogólnoustrojowy. Ta hipoteza o układowych epigenetycznych zmianach wyjaśniałaby wcześniejszą skłonność do rozwoju drugiego raka piersi, przez co ocena pod kątem mutacji tylko komórek guza może tutaj nie być wystarczająca. Stąd próba identyfikacji genów techniką mikromacierzy w obwodowej krwi pacjentek z rakiem piersi, w porównaniu do grupy kontrolnej bez choroby nowotworowej. Badacze poddali ocenie 17 genów mogących mieć związek z zainicjowaniem raka piersi: BRCA1, BRCA2, CHEK 2, ATM, ESR1, SFN, CDKN2A, TP53, GSTP1, CDH1, CDH13, HIC1, PGR, SFRP1, MLH1, RARB, HSD17B4. Wykazano, że z wiekiem pacjentek wzrasta poziom metylacji ATM w grupie z obustronnym rakiem piersi [119].

Rodzinny rak piersi to częste (co najmniej dwie osoby wśród krewnych I stopnia) występowanie raka piersi, które może być: a) przypadkowe, b) wynikać z ekspozycji członków rodziny na te same czynniki środowiskowe lub c) zależeć od czynników genetycznych.

Rodzinny rak piersi stanowi około 30% wszystkich raków piersi i jest szerszym pojęciem, niż dziedzicznie uwarunkowany rak piersi [78]. Retrospektywne porównanie wyników leczenia kobiet z rodzinnym i sporadycznym rakiem piersi wykazało, że ryzyko ORP jest znacząco wyższe w grupie z rodzinnym rakiem piersi [120]. Dla rodzinnego obustronnego raka piersi roczne ryzyko ORP oszacowano na 1,03%, natomiast dla nierodzinnego ORP na 0,68% [121]. Podobne wnioski przedstawiono w pracach ze Szwecji, Kanady i Niemiec [122, 123].

Analizowano cechy histologiczne guzów pacjentek z rodzinnym rakiem piersi, w grupach z nieobecną i obecną mutacją BRCA1/2. Dodatni wywiad rodzinny u nienosicielek mutacji wiązał się z występowaniem mniejszego stopnia histologicznego, niższego pleomorfizmu,

większej formacji tubul, mniejszej liczby mitoz [124]. Porównano również stan receptora HER-2 u pacjentek z rodzinnym i sporadycznym rakiem piersi. Częstość nadekspresji receptora HER-2 wynosiła odpowiednio 50,0% i 36,9% [130].

1.3. Diagnostyka Obustronnego Raka Piersi

Podstawową metodą diagnostyczną drugiej piersi jest mammografia, chociaż u młodych pacjentek częściej zdarzają się wyniki fałszywie dodatnie [81]. Dla pacjentek, które przebyły raka piersi, jest to metoda skryningowa w przypadku niepalpacyjnych, przeciwległych zmian.

W retrospektywnej analizie zdjęć 69 pacjentek z udowodnionym histologicznie obustronnym rakiem piersi wykazano, że drugi guz zwykle ma inne cechy mammograficzne od tych w pierwszym guzie. Zdaniem autorów ocena drugiego mammogramu powinna być wykonana bez spojrzenia w zdjęcie pierwszego raka piersi [7].

W ramach oceny skuteczności rozpoznawania metachronicznego raka piersi, porównano wyniki skryningu z zastosowaniem łącznie mammografii (MMR) i badania ultrasonograficznego (USG) piersi co 12 miesięcy oraz USG piersi co 6 miesięcy. Czułość w rozpoznaniu raka drugiej piersi określono w przypadku USG na 94%, a MMR 80%. Wcześniejsze rozpoznania raka metachronicznego notowano przy corocznym stosowaniu MMR z USG. Jednocześnie nie zaobserwowano korzyści z wykonywanych co 6 miesięcy badań USG [126]. Podobne wnioski wysunięto przy ocenie raków synchronicznych [127]. Chociaż cechy mammograficzne raków synchronicznych i metachronicznych ORP nie różnią się znacząco, drugą zmianę w guzach metachronicznych opisano jako mniejszą. Rzadziej stwierdzano wielogniskowość oraz zajęcie węzłów chłonnych niż w pierwszym raku piersi [6].

W związku z trwającą dyskusją o mammografii wykonywanej u kobiet w okresie przed menopauzą oceniono, czy są różnice w odnoszeniu korzyści z tego badania między pacjentkami w wieku poniżej i powyżej 50 roku życia. Tylko mammograficznie ORP rozpoznano u 68% młodszych pacjentek oraz 63% z grupy drugiej. Postać raka przewodowego „*in situ*” przy użyciu tej metody wykryto u odpowiednio 56% i 52%. Wykazano, że skryning wszystkich pacjentek z przebyłym rakiem piersi pozwalał rozpoznać więcej ORP i we wcześniejszym stadium [8].

U nosicielek mutacji BRCA1/2 coroczną mammografię wykonuje się już między 25-35 rokiem życia [128]. Natomiast od 1995 roku metodą diagnostyczną u kobiet z gęstym utkaniem gruczołu piersiowego lub u nosicielek mutacji genu BRCA jest rezonans magnetyczny (MRI). Po zbadaniu 35 nowotworów z zastosowaniem MRI w programie skryningowym, wykazano czułość metody na poziomie 74%. U nosicielek mutacji 56%, z tendencją do jej wzrastania z wiekiem pacjentki [129]. Niższa czułość MRI u BRCA nosicielek wydaje się być efektem wyższej gęstości piersi u kobiet z wywiadem rodzinnym oraz obecnością charakterystycznych cech morfologicznych guzów w tej grupie [130, 131]. W innej analizie autorzy podkreślają, że skryning z użyciem MRI nie dawał fałszywie ujemnych wyników [132]. Przeprowadzono badanie porównujące czułość konwencjonalnych metod skryningowych w rozpoznawaniu raka drugiej piersi, do obustronnej oceny MRI. W przypadku MMR osiągnięto wynik 50%, USG – 67%. Łączne zastosowanie MMR z USG zwiększało czułość badania do 78%. Metoda MRI cechowała się 100% czułością. We wnioskach podkreślono, że MRI pozwalał na rozpoznanie metachronicznego raka piersi we wcześniejszym stadium [133]. W doniesieniu zjazdowym Morrow wskazuje na 6% odsetek rozpoznań ORP w ciągu 8 lat, zarówno w grupie ocenianej MRI jak i przy zastosowaniu innych metod obrazowych. Wznowy miejscowe stwierdzono u odpowiednio 3% i 4% przebadanych pacjentek [134]. Łączne zastosowanie MMR i MRI jest obecnie standardowym badaniem skryningowym u kobiet poniżej 30 roku życia z silnymi czynnikami ryzyka oraz u kobiet, które przed 30 rokiem życia otrzymały radioterapię na okolicę klatki piersiowej [135].

Przeprowadzono ocenę korelacji między MRI (wg RECIST), a patologiczną odpowiedzią na leczenie indukcyjne. Wykonano obustronny MRI przed leczeniem i po zabiegu chirurgicznym. Kiedy porównano wyniki przedoperacyjnego MRI do odpowiedzi patologicznej, wykazano, że MRI zawyżył wielkość guza w 46%, a zaniżył w 35%. Na podstawie tylko MRI możliwe było przeprowadzenie oszczędzającego zabiegu chirurgicznego (BCT) w 54%, co związane było z „nadoceną” wielkości guza [136].

Autorzy innego badania porównali klasyczną MMR z planarną scyntygrafia wysoką rozdzielczości (DBC planar SM). Wykazano, że metoda SM ma najwyższą czułość w przedoperacyjnej ocenie obustronnego synchronicznego raka piersi. Czułość metod określono na 75% dla MMR oraz 100% dla SM. Specyficzność badań na odpowiednio 52,9% oraz 88,2% [137]. Przewagę tej nowej metody przedstawiono również w przedoperacyjnej ocenie przeciwległej jamy pachowej, pod kątem ewentualnego

rozszewienia do węzłów chłonnych [138].

Większość prezentowanych w piśmiennictwie badań skupia się na wewnętrznej słuszności protokołu skryningowego, głównie na czułości i specyficzności MRI. Nie wspomina się o wynikach odległych metody. Istnieje konieczność zgromadzenia większej liczby dowodów wysokiej jakości potwierdzających skuteczność MRI w kontroli raka piersi wśród nosicielek mutacji genu BRCA. Niezbędne jest również zdefiniowanie jasnych kryteriów kwalifikujących pacjentki do tego badania [89]. Wydaje się, że skutecznym postępowaniem diagnostycznym obustronnego raka piersi będą: stała kontrola w postaci samobadania piersi, badania klinicznego, mammografia łącznie z USG. Takie podejście może się przyczynić do wykrycia drugiego raka w mniejszym stopniu zaawansowania [139].

Natomiast dla grupy kobiet z wysokiego i bardzo wysokiego ryzyka dziedzicznego raka piersi zalecenia EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) uwzględniają:

- coroczne badanie palpacyjne i ultrasonograficzne od 20.r.ż., ewentualnie 25.r.ż.
- badanie mammograficzne i ultrasonograficzne od 35 r.ż.
- badanie mammograficzne lub rezonans magnetyczny powyżej 50 r.ż.,
- badanie ginekologiczne z ultrasonografią dopochwową i oznaczanie poziomu CA125 od 30 r.ż. ze względu na wysokie ryzyko raka jajnika w tej grupie kobiet.

W przypadku każdego nowotworu definitywne rozpoznanie stawiane jest w oparciu o ocenę histopatologiczną. Czynnikiem ułatwiającym dobór odpowiedniego leczenia systemowego jest określenie profilu immunohistochemicznego (stan receptorów estrogenowych i dla progesteronu, Ki67, ludzkiego receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2).

1.4. Wybrane czynniki rokownicze w obustronnym raku piersi

U kobiet z rozpoznany obustronnym rakiem piersi, jeżeli nie stwierdza się przerzutów do narządów odległych, a każdy z raków traktowany jest jak niezależne rozpoznanie, obowiązują ogólnie przyjęte standardy leczenia, z zastosowaniem terapii lokalnej i systemowej [140].

Przed rozpoczęciem leczenia każdy guz poddany jest ocenie pod kątem określenia fenotypu. Aby dobrze zaplanować leczenie systemowe czy postępowanie profilaktyczne, pomocne jest również oznaczenie mutacji w genie BRCA1, choć nie jest to zalecenie obligatoryjne. W przypadku symultanicznego obustronnego raka piersi, dobór terapii systemowej uwarunkowany jest obecnością cech niekorzystnych rokowniczo w jednym z guzów. Ponadto zgodnie z obowiązującym standardem, konieczna jest znajomość statusu receptorów estrogenowych i dla progesteronu, Ki67, ludzkiego receptora naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 [141].

1.4.1. Receptory dla estrogenów i progesteronu

Receptory steroidowe są białkami zlokalizowanymi w cytoplazmie. Po połączeniu z odpowiednimi ligandami przemieszczają się do jądra komórki, gdzie inicjują kaskadę złożonych reakcji biochemicznych.

Wyróżniamy dwa rodzaje receptorów estrogenowych (ER): alfa i beta. Oba receptory łączą się z naturalnym estrogenem 18 alfa-estradiolem. Ponadto receptor beta wykazuje większe powinowactwo do fitoestrogenów [142].

Gen receptora alfa zlokalizowany jest na 6. chromosomie, ma wielkość 140 kb. Gen receptora beta występuje na 14. chromosomie, ma wielkość 35 kb. ER - alfa zbudowany jest z 595 aminokwasów, a ER - beta z 485.

Oba rodzaje receptora składają się z sześciu regionów oznaczonych literami od A do F:

- Region A/B jest N-końcowym fragmentem receptora odpowiedzialnym za transaktywację, modulację aktywacji wybranych genów
- Region C jest domeną wiążącą DNA.
- Region D jest domeną lokalizacji w jądrze,
- Region E jest miejscem wiązania ligandów oraz aktywacji funkcji receptora.
- Region F będący jednocześnie fragmentem C-końcowym, jest zależnym od

ligandów regionem transaktywującym.

Receptor progesteronowy ma dwie izoformy:

- A o masie cząsteczkowej 94 000, zbudowaną z 769 aminokwasów,
- B o masie cząsteczkowej 114 000, zbudowaną z 933 aminokwasów.

Receptor progesteronowy (PgR) jest mniej stabilnym markerem niż receptor estrogenowy. Gen dla receptora progesteronowego zlokalizowany jest na 11. chromosomie a jego synteza indukowana jest przez estrogeny. PgR zbudowany jest z kilku regionów, analogicznie do ER.

Receptory steroidowe w formie nieaktywnej związane są z cytozolem poprzez dimer białka szoku termicznego (HSP - heat shock protein). W trakcie aktywacji receptora w pierwszej kolejności zostaje odłączone białko HSP. Następnie układ ligand - receptor dimeryzuje i w tej postaci wnika do jądra komórki.

Po związaniu się dimera z właściwym miejscem akceptorowym na chromatynie, rozwija się odpowiedni fragment DNA. Podczas transkrypcji powstaje łańcuch mRNA, będący matrycą do procesu translacji, którego efektem jest synteza specyficznych białek.

Oba receptory estrogenowe mogą aktywować transkrypcję genów dwiema drogami. Pierwsza przy udziale fragmentu DNA, do którego mogą się przyłączać receptory estrogenowe ERE (estrogen responsive element). W tym przypadku połączone z estrogenem receptory ulegają dimeryzacji i łączą się z ERE jako homodimery ($\alpha\alpha$) albo heterodimery ($\alpha\beta$). Inna droga przekazu sygnału odbywa się za pośrednictwem białka AP1 (activator protein 1) przy udziale czynników transkrypcyjnych Fos i Jun, w wyniku czego powstają homodimery. W trakcie przekazu sygnału drugą ścieżką ER α i ER β działają przeciwnie. Połączenie estradiolu z ER α aktywuje transkrypcję, a z ER β hamuje ten proces.

Istnieją jeszcze inne formy pobudzania transkrypcji, jak np. fosforylacja. W obu typach ER znaleziono miejsca, w których możliwe jest indukowanie transkrypcji bez przyłączenia ligandu. Znanych jest także wiele białek oddziałujących z ER α i ER β . Wśród koaktywatorów koniecznych do wytworzenia aktywnego centrum transkrypcyjnego z udziałem ligandu wymienia się między innymi SRC1 (steroid receptor coactivator). Przy braku ligandu w celu inaktywowania określonych genów ER niezbędny jest udział korepresorów N - CoR (nuclear receptor corepressor) i SMRT (silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors). Stwierdzono, że poziom N-CoR koreluje z rodzajem odpowiedzi na tamoksyfen [143, 144, 145].

Obecność receptorów estrogenowych i progesteronowych jest bardzo pomocnym czynnikiem predykcyjnym oraz korzystnym rokowniczym.

Stymulacja wytwarzania receptorów steroidowych przyczynia się do utrzymania wrażliwości komórek na estrogeny i progestageny. Prowadzi to do regulacji wzrostu i różnicowania komórek docelowych, tj. komórek nabłonkowych przewodów i pęcherzyków gruczołu piersiowego. Cały proces zmian dokonujących się w tkance gruczołowej zależy od cyklicznie zmieniających się poziomów hormonów.

Do oceny zawartości receptorów estrogenowych i progesteronowych wykorzystuje się obecnie trzy metody: test wiązania ligandu, test immunoenzymatyczny i test immunocytohistochemiczny. Wszystkie dają zbliżone wyniki. Ocena ekspresji receptorów steroidowych umożliwia ustalenie stopnia wrażliwości na leczenie hormonalne, ułatwiając podjęcie decyzji przy wyborze terapii. U około 50% chorych na raka piersi stwierdza się jednocześnie obecność receptorów dla estrogenów i progesteronu. Nadekspresja receptorów estrogenowych występuje z częstością 70%, z czego 75% po menopauzie, 60% przed menopauzą [146]. Zgodnie z obecnie obowiązującymi doniesieniami, mało prawdopodobne wydają się duże różnice w odsetku dodatnich i ujemnych ER i PgR w danej grupie chorych, i nie powinny one przekraczać 3-5%. ER jest czynnikiem transkrypcyjnym, który może być aktywowany również niezależnie od sterydów. Odbywać się to może przez wiązanie właściwego ligandu lub bezpośrednio w wyniku działania innych zewnątrzkomórkowych sygnałów mitogennych, idących od peptydowych czynników wzrostu, wysyłających sygnały szlakiem ras-raf-MAPKs [147, 148]. Silnym potwierdzeniem takiego sprzężenia było wykazanie estrogenozależności genów HER2 i HER3. Około 60% raków piersi zawiera komórki, w których ER ulega ekspresji i są to przypadki, w których na ogół mniej prawdopodobne jest wystąpienie amplifikacji genu HER2. W badaniu Trans - ATAC około 10% guzów HR pozytywnych było również HER2+ i w tej podgrupie korzyści z tamoksyfenu były mniejsze [149]. Na podstawie badań klinicznych ustalono, że odsetek odpowiedzi na tamoksyfen u pacjentek z obecną ekspresją receptora HER2 wynosi mniej niż 10% [150]. Związane jest to z fazowozmienną korelacją między ER i receptorami HER2 w rakach inwazyjnych. Początkowo ER pozytywne komórki raka piersi, hormonowrażliwe, w trakcie terapii ablacyjnej podlegają zmianie regulacji wzrostu z endo- i parakrynnego na auto- intrakrynną. W wyniku tego procesu zaczynają przypominać komórki z amplifikacją genu HER2 i jak one stają się hormonooporne i ER-negatywne [151].

Zastosowanie antyestrogenów powoduje odcięcie komórek raka piersi od dostępu estradiolu, w wyniku czego na drodze autokrynnej dochodzi do wzrostu produkcji heregulin (HRGs), które następnie aktywują receptor HER2. Dochodzi do stałego stymulowania mitogennej sygnalizacji szlakiem HER do MAPKs, w wyniku tworzenia heterodimeru HER2/HER3. W pierwszej fazie leczenia hormonalnego dochodzi do nadmiernej stymulacji ekspresji ER. W drugiej fazie poziom ER zaczyna się zmniejszać, a w następstwie autoregulacji przy udziale szlaku ras-raf-MAPKs ulega dalszemu obniżaniu. Wreszcie dochodzi do ujemnej korelacji między ER a receptorami HER2 [151, 152, 153]. Nasilająca się proliferacja i wznowa pod koniec hormonalnej terapii ablacyjnej po ewidentnej początkowej odpowiedzi na ten rodzaj leczenia potwierdzają, że zaktywowane receptory estrogenowe oraz receptory androgenowe, niezależnie od ligandów mogą pobudzać proliferację w odmienny sposób niż klasyczny. W tle powyższych zmian odbywają się inne zdarzenia, typowe dla postępującego procesu nowotworowego, co sprzyja niestabilności genomu komórek raka. Wzrastająca liczba mutacji w każdej kolejnej komórce potomnej wywołuje heterogenność populacji komórek guza prowadząc do jego poliklonalności. Taka sytuacja powoduje zróżnicowanie obrazu klinicznego.

Użycie tamoksyfenu zmniejsza ryzyko nawrotu raka piersi o 50% [154]. U pacjentek z obecnym receptorem estrogenowym leczonych uzupełniająco tamoksyfenem, stwierdzono redukcję zgonów o 28% do 65% [155]. Pacjentki z obecnym receptorem estrogenowym odnoszą mniejszą korzyść z chemioterapii uzupełniającej w porównaniu do grupy bez ekspresji ER [156].

Wykazano, że stopień ekspresji ER wpływał na odsetki odpowiedzi na terapię indukcyjną. ER był obok Ki67 czynnikiem predykcyjnym całkowitych patologicznych odpowiedzi. Jednocześnie nie zaobserwowano istotnych różnic w pCR w zależności od poziomu ekspresji receptora dla progesteronu [157].

Kluczową rolę w rozwoju i postępie raka piersi odgrywają estrogeny produkowane lokalnie w samym guzie. Wykazują one biologiczną aktywność tylko w miejscu powstania i podlegają mechanizmom kontroli na drodze para - i /lub autokrynnej.

Synteza estrogenów katalizowana jest przez mikrosomalny enzym aromatazę P450. Gen aromatazy P450 oznaczony jest symbolem CYP19 i zlokalizowany jest na chromosomie 15q21.2. Transkrypty mRNA aromatazy w jajniku, łożysku i w komórkach zrębu tkanki tłuszczowej, różnią się między sobą długością. Produkcja estrogenów z androgenów jest tkankowo-specyficzna i zależy od miejsca ich syntezy. Za pomocą metod biochemicznych

w ok. 60-70% guzów wykryto aktywność aromatazy. Była ona zdecydowanie wyższa niż w tkance tłuszczowej czy zdrowej tkance gruczołowej otaczającej guz. Stężenia estradiolu w guzie nowotworowym osiągają wartości 30-100-krotnie wyższe niż w surowicy krwi. Ekspresja aromatazy w komórkach nowotworowych powoduje ich samowystarczalność w wytwarzaniu sygnałów proliferacyjnych. Lokalnie wytworzone estrogeny na drodze autokrynej stymulują namnażanie się zmienionych genetycznie komórek nowotworowych.

W fazie początkowej rozwoju nowotworu, fibroblasty i adipocyty produkują estrogeny, które następnie pobudzają komórki nowotworowe do syntezy cytokin (Il-6, Il-11) i czynników wzrostu: TNF (tumor necrosis factor), LIF (leucemia inhibitory factor). Czynniki te stymulują dalszy rozwój i wzrost guza na drodze auto- i parakrynej. Dodatkowo niektóre z nich stymulują proliferację fibroblastów otaczających guz i ekspresję aromatazy w tych komórkach. W początkowym etapie kancerogenezy w gruczole piersiowym ekspresja aromatazy jest regulowana podobnie jak w tkance prawidłowej, głównie poprzez promotora I.4 na drodze dodatniego sprzężenia zwrotnego. Region regulatorowy promotora I.4 zawiera w swojej strukturze sekwencję GAS (interferon-g activated sequence), która jest miejscem wiązania czynników transkrypcyjnych z rodziny STAT oraz element GRE (glucocorticoid response element) [158, 159]. Wraz z wiekiem zwiększa się ekspresja cytokin Il-6, LIF, OSM (onkostatyna M), uczestniczących za pośrednictwem białka Jak1 w kaskadzie fosforylacji białka STAT3. Wraz z postępem choroby, przy udziale cAMP dochodzi do przełączenia ekspresji genu CYP19 z promotora I.4 na promotory I.3 i II. W zaawansowanych stadiach nowotworu odgrywa również rolę śródbłonkowy promotor I.7, który nie jest aktywny w zdrowym gruczole piersiowym. Wysoki poziom transkryptów mRNA aromatazy pochodzących z promotora I.7 w raku piersi, jest również związany z aktywnością i nadprodukcją aromatazy in situ oraz miejscową syntezą estrogenów, promującą wzrost i rozwój guza [160]. Estradiol obok potencjału mitogennego stymuluje także proces angiogenezy, po części przez stymulację syntezy VEGF (vascular endothelial growth factor) prowadząc do neoawaskularyzacji [161, 162].

Wyniki badań randomizowanych wskazują, że 5-letnia uzupełniająca terapia tamoksyfenem redukuje zgony z powodu raka piersi o 30%, niezależnie od zastosowania chemioterapii, wieku, ekspresji PgR, stanu węzłów chłonnych czy innych cech guza [163]. W badaniu ATAC wykazano wyższą korzyść z leczenia uzupełniającego anastrozolem niż

tamoksyfenem [164]. Słabszą odpowiedź na hormonalne leczenie tamoksyfenem stwierdzono w raku piersi z obecnym receptorem estrogenowym i jednocześnie ujemnym receptorem dla progesteronu [165].

Błonowe receptory czynników wzrostu mogą interferować ze ścieżkami sygnałowymi estrogenów. Uważa się, że ten mechanizm odgrywa rolę w oporności na terapię w hormonozależnych rakach piersi [166]. PIK3/AKT (phosphatidylinositol 3'kinase) ścieżka sygnałowa jest często aktywowana w wielu komórkach raka nabłonkowego, w tym raka piersi. PIK3 (p110alfa) fosforyluje PIP2 (phosphatidyloinosytol 3,4,5 triphosphate) w odpowiedzi na odwrotną stymulację. Te sygnały zlokalizowane są wewnątrz błonowo i pobudzają AKT przeciwdziałając aktywności PTEN. Po aktywacji AKT różne pobudzone geny hamują apoptozę i promują proliferację komórki. Obok PTEN do genów supresorowych ścieżki PIK3 należą: TSC1, TSC2, LKB1, Foxo1a, Foxo 3a i PHLPP. Analiza mutacji PIK3CA w raku piersi wykazała, że może ona występować z częstością 20-40%. U około 85% wyodrębniono trzy gorące punkty: H1047R zlokalizowane w exonie 20, E542K i E545L w exonie 9. W przypadku mutacji PIK3CA notowano krótsze przeżycia całkowite. Zaobserwowano, że exon 20 PIK3CA częściej występuje w guzach z nadekspresją HER2 [167].

Przedstawiono rolę systemu enzymatycznego CYP2D6 przekształcającego tamoksyfen do aktywniejszego metabolitu – endoksyfenu. Zwrócono uwagę na fakt, że farmakogenomiczna zmienność enzymu oraz powszechnie stosowane leki (bupropion, fluoksetine, paroxetine, sertraline, amiodaron, velafaxine), obniżają efekt terapeutyczny tamoksyfenu. Autorzy zaproponowali, by u pacjentek, u których planowana jest zmiana terapii hormonalnej z inhibitora aromatazy na tamoksyfen z powodu działań niepożądanych, oznaczać profil CYP2D6 [168].

Przy użyciu RQ-PCR (real-time quantitative polymerase chain reaction), którego wyniki potwierdzano techniką mikromacierzy, wykazano związek pomiędzy ekspresją miR-342 a obecnością receptora estrogenowego. Badacze wskazują na szczególną rolę miR-342 w komórkach raka piersi opornych na tamoksyfen, sugerując jego zastosowanie jako biomarkera wrażliwości na ten lek [169].

1.4.2. Białko Ki67

Ki67 jest białkiem prezentowanym na wszystkich dzielących się komórkach, pełniącym funkcję markera proliferacji [170]. Antygen Ki67 został odkryty przez Johannesesa Gerdes'a i wsp. w 1980 roku, przy użyciu monoklonalnego przeciwciała przeciwko antygenowi jądrowemu z linii komórkowej HL. Nazwa tego niehistonowego białka pochodzi od nazwy miejscowości Kilonia, w której prowadzono badania. Znane są dwie izoformy białka Ki67, o wielkości 345 i 395 kDa. Jego gen zlokalizowany jest na chromosomie 10q25, zawiera 15 egzonów, o rozmiarze od 67 do 6845 bp (basepair - par zasad) i 14 intronów o rozmiarze od 87 do 3569 bp. Okres półtrwania 1-1,5 h, bez względu na etap w cyklu komórkowym [171, 172]. Na podstawie badań ustalono, że Ki67 bierze udział we wczesnych etapach syntezy rRNA (ribosomal RNA) [173]. Ocenę Ki67 przeprowadza się najczęściej metodą immunohistochemiczną, z użyciem przeciwciała MIB-1 (monoklonalne przeciwciało przeciwko rekombinowanej części antygeny Ki67).

Wykazano, że zmiany w ekspresji Ki67 oceniane przy użyciu LCS (laser scanning cytometry), były analogiczne do zmian rozpoznanych metodą konwencjonalnej immunohistochemii [174]. Różnice w ekspresji Ki67 zależą od fazy cyklu komórkowego. Ekspresję antygeny Ki67 stwierdza się podczas fazy G1, S, G2 i M, natomiast w fazie G0 ekspresja nie występuje [175]. Zdrowa tkanka gruczołu piersiowego ma niski poziom ekspresji Ki67 - poniżej 3%. Receptory steroidowe i antygen Ki67 wykrywano w odrębnych populacjach komórek zdrowego nabłonka gruczołu piersiowego. Szczególnie wyraźna była ekspresja Ki67 w ER negatywnych komórkach. W ER pozytywnych komórkach zdrowej tkanki nie stwierdzano Ki67. Fabian i wsp. wykazali spadek ekspresji Ki67 w trakcie chemoprewencji letrozolem u kobiet z grupy wysokiego ryzyka raka piersi. Opisano związek pomiędzy Ki67 a gęstością gruczołów piersiowych w zmianach przedrakowych [176, 177]. Wykazano, że w guzie pierwotnym istnieje zależność pomiędzy indeksem Ki67 a rokowaniem. Korelacji takiej nie obserwowano w przerzutach do węzłów chłonnych, z powodu ich mniejszej aktywności mitotycznej w porównaniu do zmiany pierwotnej. W DCIS około 40% guzów wykazuje wysoki poziom Ki67. Wzrastające poziomy związane są z wyższym stopniem złośliwości, martwicą typu comedo i obecną mikroinwazją. Autorzy badania wykazali, że Ki67 jest czynnikiem predykcyjnym nawrotu w DCIS [178, 179]. W wielu badaniach wykazano pozytywną korelację pomiędzy stopniem histologicznej złośliwości (G) a markerami proliferacji, w

tym z Ki67. Jednak w analizie fińskiej nie udowodniono występowania takiej zależności [180]. W innym badaniu zaobserwowano znaczącą zależność pomiędzy Ki67 i stopniem złośliwości histopatologicznej, najslabszą dla wieku i stanu węzłów chłonnych [181]. Wysoką ekspresję Ki67 wykazano w grupie tzw. potrójnie ujemnych raków piersi [182]. Badano prawdopodobną rolę Ki67 jako czynnika prognostycznego raka piersi. Porównanie poziomów Ki67 w rakach luminalnych A i B wykazało wyższe poziomy tego markera w rakach luminalnych B (co najmniej 14%). W tej grupie chorych stwierdzano gorsze rokowania w zakresie nawrotów i zgonów [183]. Analiza jednowariantowa wykazała mniej pomyślne prognozy dotyczące przeżyć całkowitych u pacjentek z wyższymi wartościami Ki67. Nie potwierdziła, że jest to niezależny czynnik prognostyczny. W całej badanej populacji, DFS (disease free survival) i OS (overall survival) były gorsze u pacjentek Ki67 pozytywnych dla wartości mieszczących się w przedziale 5 - 30%. Parametry te nie zależały od stanu węzłów chłonnych [170]. W analizie wielowariantowej wykazano, że wielkości Ki67 20% i więcej wiązały się z gorszymi przeżyciami całkowitymi [181]. Ustalenie punktu odcięcia (cut-off) dla Ki67 może zależeć od celu klinicznego. Jeżeli na podstawie Ki67 wyodrębniano pacjentki z niskim wskaźnikiem proliferacji, stosowano wartość 10%. Do identyfikacji pacjentek chemiowrażliwych, preferowano użycie wartości 25% [170]. W zaleceniach z St Gallen ustalono podział wskaźnika proliferacji na: niski <15%, pośredni 16-30%, wysoki >30% [184]. Analizowano, czy na podstawie Ki67 można wskazać grupy pacjentów odnoszących szczególną korzyść z chemioterapii lub leczenia hormonalnego. W badaniu IBCSG porównano wyniki uzupełniającej łącznej chemioterapii i hormonoterapii (schemat CMF, a następnie leczenie tamoksyfenem) do leczenia samym tamoksyfenem u kobiet z rakiem piersi bez zajętych węzłów chłonnych w okresie przed- i pomenopauzalnym. Wysoki indeks Ki67 związany był z występowaniem krótszych DFS we wszystkich badanych podgrupach. Ki67 określono jako niezależny czynnik prognostyczny co do lepszej odpowiedzi na chemioterapię uzupełniającą. Nie potwierdzono właściwości predykcyjnych tego markera [185]. W badaniu BCIRG oceniono rolę Ki67 w uzupełniającej chemioterapii z udziałem schematów TAC (docetaksel, doxorubicyna, cyklofosfamid) vs FAC (5-fluorouracyl, doxorubicyna, cyklofosfamid) w poszczególnych podtypach raka piersi (luminalny A, luminalny B, z ekspresją HER2, podstawny). Wykazano istotną korzyść z terapii taksanami u pacjentek z typem luminalnym B. Autorzy podkreślili, że wysoki poziom Ki67 mógłby być markerem wskazującym na korzyści z tego rodzaju leczenia [186]. W badaniu PACS01 autorzy

zastanawiali się nad predykcyjną rolą Ki67 w uzupełniającym leczeniu taksanami przy zastosowaniu schematu FEC (5-fluorouracyl, epirubicyna, cyklofosfamid) / docetaxel. Badacze zidentyfikowali podgrupę wrażliwą na taksany w rakach piersi z obecną ekspresją receptorów estrogenowych [187]. W badaniu BR9601 nie wykazano znaczenia Ki67 jako czynnika predykcyjnego w leczeniu antracyklinami [188]. Największym badaniem oceniającym rolę Ki67 (przy poziomie powyżej 11%) w leczeniu uzupełniającym jest BIG 1-98. Porównano w nim terapię tamoksyfenem do zastosowania letrozolu. Autorzy podkreślili, że na podstawie Ki67 można zidentyfikować grupę pacjentów odnoszącą szczególną korzyść z uzupełniającego leczenia letrozolem. Wskazali, że była ona mniejsza u pacjentów z niższą ekspresją Ki67 [189]. Analizowano, czy kombinacja VPI (vascular peritumoral invasion), GATA3 (czynnik transkrypcyjny odgrywający istotną rolę w morfogenezie gruczołu piersiowego, marker podtypów luminalnych), p53 i Ki67 jest dobrym wskaźnikiem prognostycznym odpowiedzi na hormonoterapię. Zdaniem autorów powyższe markery mają znaczenie jako czynnik predykcyjny odpowiedzi dla raków piersi z ekspresją receptora estrogenowego, u pacjentek otrzymujących uzupełniające leczenie tamoksyfenem [190]. Badano także potencjalną rolę Ki67 w przedoperacyjnej hormono- i chemioterapii. Wykazano istotny związek tego markera z całkowitą kliniczną odpowiedzią (cCR) na leczenie systemowe. Nie zaobserwowano takiej zależności w przypadku odpowiedzi patologicznej (pCR). W innym badaniu wykazano, że wzrost poziomu Ki67 może mieć związek zarówno z cCR jak i pCR. Nie określono, czy poziom Ki67 może wskazywać na korzyści z konkretnego protokołu terapeutycznego lub leku. W badaniu von Minckwitz i wsp. wykazali lepsze odpowiedzi kliniczne po łącznym zastosowaniu 4 x AT (doxorubicyna, docetaksel) z tamoksyfenem u pacjentów z niskim poziomem Ki67 (0-15%), niż u pacjentek z wysokim Ki67 (16-100%) [191]. Autorzy innego badania oceniali czynniki predykcyjne u pacjentek, u których zastosowano chemioterapię indukcyjną opartą o antracykliny. W wieloczynnikowej analizie, brak ekspresji receptorów steroidowych oraz Ki67 co najmniej 20%, określono jako czynniki predykcyjne całkowitych odpowiedzi. Jednocześnie wykazano silną korelację między ekspresją Ki67 a topoizomerazą II alfa (zlokalizowaną blisko HER2, na chromosomie 17q12-q21) [192]. Oceniano rolę Ki67 jako czynnika predykcyjnego w przerzutowym raku piersi czy w nawrocie choroby. W analizie jednowariantowej wykazano istotny związek pomiędzy Ki67 a kliniczną i patologiczną odpowiedzią lub czasem do progresji w tej grupie pacjentek [193]. W badaniu GeparDuo potwierdzono znaczenie Ki67 jako istotnego czynnika predykcyjnego całkowitej

odpowiedzi patologicznej po leczeniu indukcyjnym wg chematu AT. Wniosek dotyczył całej grupy raków tzw. potrójnie negatywnych [194]. Wyższy odsetek pCR po chemioterapii przedoperacyjnej zaobserwowano przy nasilonej ekspresji Ki67 również w innej analizie [195]. Przeprowadzono charakterystykę klinikopatologiczną raków piersi z udziałem markera komórek pnia raka piersi ALDH1 (aldehyde dehydrogenase 1-positive). W komórkach ALDH1+ stwierdzano agresywniejszy fenotyp ER-, Ki67-, HER2+, z tendencją do gorszego rokowania [196]. Nie wykazano istotnej zależności pomiędzy mutacją PIK3CA (phosphatidyl-inositol-3-kinase alpha), a zmianami w Ki67, indukowanymi hormonalnym leczeniem przedoperacyjnym [197]. Dowiedziono, że obserwowane zmniejszenie aktywności Ki67 po podaniu leku może ułatwić ocenę odpowiedzi na terapię. Dlatego autorzy proponują systematyczne monitorowanie poziomów tego markera w trakcie leczenia [109].

1.4.3. HER2 - ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2

HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) jest przezbłonową kinazą tyrozynową, która bierze udział w regulacji proliferacji komórki. Do rodziny receptorów HER należą: HER1(EGFR), HER2 (białko p185), HER3 i HER4. Białka HER1 – HER4 występują w błonach komórek nabłonkowych, mezenchymalnych i nerwowych. Odgrywają zasadniczą rolę w rozwoju płodowym. W zdrowym organizmie ekspresja wszystkich czterech receptorów utrzymuje się na różnym, ale niskim poziomie. W komórkach nabłonkowych gruczołu piersiowego dominuje receptor HER3 [198].

Receptory czynników wzrostu mają podobną budowę i składają się z trzech części:

- zewnątrzkomórkowej domeny rozpoznającej i wiążącej substancję sygnałową - ligand,
- przechodzącej przez błonę komórkową i zakotwiczonej w niej receptor,
- cytoplazmatycznej o aktywności kinazy tyrozynowej będącej niezmienną strukturalnie częścią wszystkich receptorów.

Wyróżnia się trzy poziomy odbioru sygnału za pomocą receptorów HER.

Pierwszy poziom z dwoma grupami ligandów:

- typu EGF obejmującą EGF, TGFalfa, amphiregulin (AR), EGF wiążący heparynę, betacellulin i epiregulin kodowanych przez sześć różnych genów i wiążących się tylko z receptorem HER1 (EGFR),

- typu heregulin (HRG), specyficznych wyłącznie dla receptorów HER3 i HER4.

W drugim poziomie każdy z ligandów ma zdolność stabilizowania poszczególnych rodzajów dimerów receptorowych.

Trzeci poziom regulacji sygnału związany jest z różnym typem receptorowego dimeru.

Receptory z rodziny HER wykorzystują do przekazywania sygnałów do wnętrza komórki głównie szlak biegnący przez kinazy ras-raf-MAP. Typ dimeru decyduje o rodzaju wewnątrzkomórkowych białek sygnalizacyjnych, wpływając na rodzaj sygnału komórkowego [199]. W prawidłowym nabłonku gruczołu piersiowego oraz w około 90% raka piersi u ludzi dochodzi do ekspresji genu HER3. Ponieważ nadekspresja genu HER2 występuje u 40% pierwotnych raków piersi, przypuszczalnie dochodzi w tych guzach do tworzenia heterodimerów HER2/HER3. Badania ligandów z grupy HRGs (heregulinopolipeptydowe czynniki wzrostu) wykazały, że wszystkie izoformy tej grupy ligandów powodują powstanie heterodimerów HER2 z HER3, zaliczanych do najagresywniejszych onkoprotein [200, 201].

Gen HER2 odkryto i sklonowano w 1983 roku. Zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu 17. Amplifikacja (nadmiar liczby kopii genu) lub nadekspresja (nadmierne wytwarzanie białka), przyczyniają się do wystąpienia agresywnych cech biologicznych komórki jak: przyśpieszony wzrost, proliferacja, większa inwazyjność, zdolność tworzenia przerzutów, pobudzenie angiogenezy [154]. W nowotworach nabłonkowych białko p185 wykazuje 3 – 100 razy wyższy poziom niż w sąsiedniej, zdrowej tkance. Ponieważ dyfuzja tego receptora w błonie komórkowej jest dwukierunkowa, wzrost zagęszczenia receptorów w błonie komórek nowotworowych jest znacznie wyższy. Nadekspresja białka p185 w obecności ligandu zewnętrznego lub bez jego udziału prowadzi do homodimeryzacji. Wynikiem wyżej wymienionego procesu jest stała aktywacja kinazy tyrozynowej, wewnątrzkomórkowej domeny receptora p185. Ciągła aktywacja szlaków transdukcji sygnału mitogennego nasila podział komórek. Jednak skuteczniejszym sposobem pobudzenia proliferacji komórek jest transaktywacja fosfokinazy tyrozynowej receptora HER2 poprzez aktywację tego receptora w wyniku tworzenia heterodimeru z innym receptorem z grupy HER. Występuje tu allosteryczny system enzymatyczny, w którym połączenie ligand - receptor prowadzi do zmiany części zewnątrzkomórkowej powodując dimeryzację receptorów. Podczas tworzenia homo - lub heterodimerów dochodzi do oddziaływań między ich domenami wewnątrz cytoplazmy, poprzez wzajemne fosforylacje tych fragmentów.

Najczęściej dochodzi do powstania heterodimerów zbudowanych z receptora HER2 oraz któregoś z pozostałych receptorów (HER2/HER3, HER2/HER4, ale też możliwe HER1/HER3, HER1/HER4). Istnieje 9 różnych homo - lub heterodimerów receptorów HER, a centralną i koordynacyjną rolę odgrywa receptor HER2 (białko p185), którego znaczenie nasila się jeszcze podczas onkogennej aktywacji. W przypadku nadekspresji HER2, heterodimery zawierające ten receptor charakteryzują się dużą siłą przekazu sygnału. Pod wpływem białka p185 dochodzi do przedłużenia czasu wiązania ligandu z receptorem biorącym udział w dimeryzacji oraz sygnału idącego od czynników wzrostu. Utworzony kompleks białkowy silniej pobudza proliferację. Ponadto receptor HER2 przekazuje sygnały przez kinazy MAP (mitogen activated protein kinases) dla genów kodujących czynniki transkrypcyjne AP1, c-myc, STAT, które wpływając na ekspresję innych genów, uruchamiając program genetyczny cyklu komórkowego [199, 200]. Regulacja działania receptorów HER jest bardzo skomplikowana, gdyż są one aktywowane nie tylko w wyniku przyłączenia swoistego ligandu, ale ulegają dodatkowo transaktywacji przez ligand innego receptora HER, z którym akurat tworzą kompleks heterodimersy. Duża różnorodność ligandów przyczynia się do powstania odmiennych efektów biologicznych, w tym mitogennych. Wspomniane hereguliny mogą występować w ponad 15 izoformach i wszystkie mogą aktywować receptor HER2 po utworzeniu odpowiedniego heterodimeru, wywołując powstanie różnych, biologicznie aktywnych sygnałów.

Hereguliny indukują apoptozę w komórkach nabłonkowych gruczołu piersiowego, a zaprogramowana śmierć komórki związana z nadekspresją HRGs przebiega zgodnie ze schematem zależnym od białka Bcl-2 i kaspaz. Aby doszło do skutecznej transformacji nowotworowej, oprócz sygnałów mitogennych wysłanych przez receptorowe kinazy tyrozynowe i ich efekторы, konieczne jest jednoczesne nasilenie sygnałów antyapoptotycznych. W hamowaniu zaprogramowanej śmierci komórki istotną rolę odgrywa kinaza PI3 (phosphatidylinositol 3 kinase), której towarzyszy wzrost liczby heterodimeru receptorów HER2/HER3. Wykazano, że zwiększona ekspresja HER2 w komórkach raka piersi wiąże się z nasileniem sygnalizowania szlakiem PI3K, a inhibitory transmisji sygnałów tym szlakiem prowadzą do zmniejszenia proliferacji komórek nowotworowych.

Powstanie przerzutów obejmuje wiele procesów i etapów. Dochodzi wtedy do zmiany adhezji komórek, wzrostu ich ruchliwości, produkcji enzymów o charakterze proteaz, inwazji podścieliska oraz angiogenezy. Ważnym etapem w progresji i inwazji guza jest

uszkodzenie macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), polegające na rozdzieleniu komórek nabłonkowych od składników podścieliska, uszkodzeniu okołonaczyniowej błony podstawnej. Odbywa się to przy udziale proteaz, jak np. aktywator uroplazminogenu (uPA) - proteazy serynowej, której szczególny udział w powstawaniu przerzutów potwierdza obecność na powierzchni komórek raka swoistego receptora – uPAR. Do ekspresji uPA i uPAR zdolne są nie tylko komórki guza, ale również znajdujące się w jego pobliżu makrofagi, fibroblasty, komórki endotelialne. Agresywność i inwazyjność komórek raka piersi silnie koreluje z ekspresją uPAR na powierzchni tych komórek [201]. Wiadomo, że poziom uPAR odzwierciedla stopień zaburzeń w ekspresji zarówno heregulin jak i receptorów HER komórek raka piersi. Wykazano istotną korelację między zaawansowaniem raka piersi i wysokimi poziomami uPA i uPAR lub obydwu. Połączenie uPA-uPAR warunkuje powstanie systemu o charakterze autokrynnym. Kompleks ten uruchamia funkcję proteolityczną oraz poprzez uPA kaskady szlaku sygnalizacyjnego, stymulującego fosforylację tyrozyn, ekspresję genu fos oraz fosforylację cytokeratyn. Wykorzystując komórki linii raka piersi MCF-7 dowiedziono, że auto - lub parakrynną stymulacja heregulinami szlaku z uPA-uPAR, bierze udział w procesach przerzutowania komórek nowotworowych. Dlatego zastosowanie przeciwciała anty u-PA lub inhibitora blokującego połączenie uPA-uPAR, mogłoby istotnie zmniejszać wzrost guza, ograniczać przerzutowanie czy angiogenezę. Ukazały się już wstępne doniesienia o możliwości wykorzystania terapii genowej poprzez wprowadzanie wirusowych genów proapoptotycznych do genomu komórek nowotworowych [202]. U chorych na raka piersi z amplifikacją genu HER2 lub nadekspresją białka HER2, nowotwór częściej jest źle zróżnicowany, ma wysoki indeks proliferacyjny, przerzuty do węzłów chłonnych jamy pachowej i charakteryzuje się zmniejszoną ekspresją receptorów estrogenowych i progesteronowych. Istnieje większe ryzyko nawrotu choroby i zgonu z jej powodu. Naukowcy z Gwentech opracowali mysie przeciwciała monoklonalne o dużym powinowactwie do pozakomórkowej domeny przezbłonowego białka HER2. Przy zastosowaniu inżynierii molekularnej uzyskano zhumanizowaną wersję tego przeciwciała (IgG1) - trastuzumab (przez wprowadzenie do ludzkiego przeciwciała monoklonalnego części wiążącej antygen mysiego przeciwciała) [203]. Przeciwciała to prowadzi do dysocjacji heterodimeru receptorów HER2/HER3. Ponadto receptor HER2 traci zdolność do asocjacji z innymi receptorami HER oraz ulega endocytarnemu niszczeniu. Następnym tych procesów jest szybkie zmniejszenie liczby heterodimerów HER2/HER3

w komórce, co niweluje skutki nadekspresji HER3 oraz działania autokrynnie produkowanych heregulin. Ograniczonemu powstawaniu heterodimeru HER2/HER3 towarzyszy zmniejszenie ekspresji białka COX2 (białko o silnie onkogennym charakterze, blokuje apoptozę, promuje angiogenezę, wysoką ekspresję stwierdza się w komórkach nowotworów pochodzenia nabłonkowego), co dodatkowo nasila apoptozę komórek raka [204]. Dowiedziono, że trastuzumab powoduje obiektywną regresję u 11-26 % chorych z przerzutowym rakiem piersi. Wyniki 2- i 3-letnich obserwacji chorych na wczesnego raka piersi, które otrzymywały trastuzumab w leczeniu uzupełniającym, wykazują zmniejszenie względnego ryzyka nawrotu o 33% do 52% oraz zmniejszenie względnego ryzyka zgonu o 31% do 35% [205, 206, 207, 208]. Wyniki badania HERA stały się argumentem do ustalenia standardowej opcji terapeutycznej u pacjentek, które przebyły leczenie lokoregionalne. Wszystkim pacjentkom spełniającym kryteria proponuje się obecnie po zakończeniu chemioterapii i radioterapii uzupełniającej, leczenie trastuzumabem przez okres 12 miesięcy [205]. Nie ustalono, która strategia przynosi największe korzyści, trastuzumab jednocześnie z chemioterapią czy po jej zakończeniu. Dopatrywano się synergistycznego działania przy kojarzeniu trastuzumabu z taksanami, winorelbina czy solami platyny. Wyniki badań B-31 i N9831 wykazały, że dodanie trastuzumabu do paklitakselu po zastosowaniu schematu z doxorubicyną i cyklofosfamidem, zmniejsza o połowę odsetek nawrotów, a o 1/3 odsetek zgonów u kobiet chorych na HER2 dodatniego raka piersi (leczenie uzupełniające). Korzyści były widoczne zarówno w odniesieniu do lokoregionalnych, jak i odległych nawrotów. Ponadto dane z badania B-31 sugerują, że trastuzumab zmniejsza częstość występowania innych niż rak piersi pierwotnych nowotworów [206]. Względne ryzyko nawrotu u chorych leczonych jednocześnie okazało się o 21% niższe niż w grupie otrzymującej trastuzumab sekwencyjnie, po zakończeniu chemioterapii, ale też w badaniach NCCTG N9831 i NSABP B21 częściej występowały poważne powikłania kardiologiczne [209, 210]. W badaniu BCIRG006 porównano schemat TCH (jednoczesne podanie 6 cykli docetakselu z karboplatyną i trastuzumabem, który następnie kontynuowano do roku), do AC z sekwencyjnie podawanym trastuzumabem. W 5-letniej obserwacji obu opcji terapeutycznych pod kątem powikłań odległych, wykazano istotnie mniej zdarzeń niepożądanych kardiologicznych w grupie otrzymującej TCH. Dodatkowo autorzy podkreślają możliwość wcześniejszego rozpoczęcia radioterapii u pacjentek otrzymujących TCH. Takie postępowanie mogłoby więc być zasadne u chorych z grupy wysokiego ryzyka nawrotu (przerzuty w >4 węzłów

chłonnych) [211]. Wykazano, że korzyści kliniczne (dłuższy czas do progresji, wyższy odsetek obiektywnych odpowiedzi, mniejszy odsetek zgonów w 1 roku leczenia, dłuższe mediany przeżycia, redukcja ryzyka zgonu), odnoszą także pacjentki po dodaniu trastuzumabu do terapii systemowej I linii leczenia przerzutowego raka piersi z nadekspresją HER2 [212]. Częstszy rozwój zastoinowej niewydolności serca u pacjentów leczonych trastuzumabem jednocześnie z cytostatykami, zwróciły uwagę na konieczną ostrożność przy stosowaniu leczenia skojarzonego. Ze względu na szczególnie wysokie ryzyko powikłań kardiologicznych, obecnie nie jest zalecane łączenie trastuzumabu z antracyklinami.

Autorzy z Uniwersytetu z Houston dokonali przeglądu literatury w poszukiwaniu odpowiedzi na kontrowersyjne pytanie dotyczące postępowania u pacjentek HER2 pozytywnych, z rakiem piersi o średnicy 1cm i mniejszym stopniu zaawansowania niż T1a,b,N0,M0 (grupa dobrego rokowania). Aktualne rekomendacje pozostawiają lekarzom indywidualne decyzje w przypadku guzów 0,6-1,0 cm ze względu na możliwą toksyczność leczenia, a nie do końca pewnymi korzyściami z terapii trastuzumabem w tej grupie chorych. HER2+ wykazano u 10% pacjentek spełniających kryterium obserwacji. Pomimo ograniczeń dotyczących np. różnych metod oceny HER2, krótki czas obserwacji, wydaje się, że HER2 jest całkowicie niezależnym czynnikiem prognostycznym w T1a,b, N0 guzach. Autorzy wnioskują, że pacjentki z tej grupy powinny mieć zaproponowaną terapię trastuzumabem [149]. Udokumentowano, że wewnątrz guza występuje subklonalna różnorodność dotycząca heterogeniczności amplifikacji genu HER2 mieszcząca się w przedziale 5-30%. Aby zminimalizować skutki subiektywnej interpretacji patologa, opublikowano zalecenia CAP (the College of American Pathologist). Kliniczne znaczenie genetycznej heterogeniczności w odniesieniu do korzyści z terapii trastuzumabem nie jest jeszcze jasne. Określenie klarownej definicji jest pierwszym krokiem ułatwiającym ustalenie wskazań do leczenia trastuzumabem w tej grupie pacjentów [213].

W badaniu Geparquattro monitorowano poziom HER2 w surowicy metodą ELISA (tzw. ECD-extracellular domain), wykazując jego spadek po zastosowaniu chemioterapii indukcyjnej (czułość metody 72%, specyficzność 85% dla cutoff 10 ng/ml). Autorzy wnioskują, że ocena surowiczego ECD może odgrywać potencjalną rolę w monitorowaniu przedoperacyjnego leczenia pacjentów z rakiem piersi HER2 pozytywnym [214]. Autorzy innego badania zaproponowali śródoperacyjną ocenę marginesów po oszczędzającym leczeniu operacyjnym przy użyciu monoklonalnych anty-HER2 jako markera

molekularnego, wykorzystując kontrast po 5-minutowej inkubacji oceniany za pomocą systemu nano-biophotonic (silica-gold nanoshells near-infrared reflectance confocal microscopy). Wyniki korespondowały z uzyskanymi metodą immunohistochemiczną. Jest to szybka analiza nadekspresji HER2. Autorzy wnioskuje konieczność dalszych badań oceniających przydatność tego markera u pacjentów po indukcyjnej chemioterapii [215].

W badaniu Trans-ATAC wykazano, że około 10% HR+ było też HER2+, a korzyść z leczenia tamoksyfenem była mniejsza w tej grupie [216]. Obserwacje te potwierdza badanie BIG 1-98, w którym u pacjentek HR+ oraz HER2+ wykazano gorsze rokowanie [217].

W 1997 roku dowiedziono, że gen HER2 jest zależny od estrogenów [218]. Estradiol w znacznym stopniu wycisza transkrypcję genu HER2 i HER3. W przypadku zastosowania antyestrogenów dochodzi do wzrostu mRNA genu HER2 oraz ilości białka z tej matrycy [219]. Odcięcie dostępu do estradiolu stymuluje systematyczne zwiększanie ekspresji receptorów HER2 i HER3, co uwrażliwia komórki raka na autokrynną, zwiększoną produkcję heregulin. Pod ich wpływem HER3 tworzy spontanicznie heterodimery z HER2, które uczulają komórki na zwiększoną produkcję heregulin. W komórce dochodzi do stałej stymulacji mitogennej sygnalizacji idącej szlakiem HER do MAPKs, co prowadzi do autoregulacyjnego obniżenia ekspresji receptorów estrogenowych [220]. Wykazano również, że antyestrogeny podwyższają poziom uwalnianego ECD-rozpuszczalnego chwytnika ligandów. Wpływa to na aktywność kinazy tyrozynowej receptora p185 powodując między innymi brak wrażliwości na czynniki kierujące różnicowaniem komórki [219]. Antyestrogeny w komórkach z nadekspresją HER2 stają się mitogenami pobudzając ich wzrost na drodze zwiększonej wrażliwości najpierw endo - parakrynnnej a następnie auto – intrakrynnnej [221, 222]. Wszyscy pacjenci mogą rozwinąć oporność na leczenie w przypadku przerzutowego raka piersi z obecną ekspresją ER i HER2. W wyniku prezentacji estrogenu, ER ulega fosforylacji, zmienia kształt i dimeryzuje dzięki zaangażowaniu molekuł koaktywatora jak AIB-1 (augmented in breast cancer protein-1). Przyłączenie tamoksyfenu do receptora estrogenowego, zmienia strukturę receptora, prowadząc do jego asocjacji z kompleksem korepresora 1 (NcoR1) i NcoR2 (SMRT), a następnie do hamowania transkrypcji DNA [223, 224].

1.4.4. Białko p53

Białko p53 kodowane przez gen P53 zbudowane jest z 393 aminokwasów. Białko to kontroluje przebieg cyklu komórkowego, naprawę DNA, angiogenezę, różnicowanie i indukcję apoptozy. Ma ono zdolność specyficznego wiązania się z DNA i regulacji transkrypcji różnych genów. Białko p53 może aktywować lub hamować transkrypcję innych genów przez wpływ na ich promotory. Przypuszcza się, że produkt zmutowanego genu P53 jest odpowiedzialny za transformację nowotworową komórek różnych narządów. Białko kodowane przez zmutowany gen P53 traci zdolność regulacyjną, przez co ułatwiona jest transformacja nowotworowa. Produkt genu P53 reguluje w komórce ilość czynników indukujących apoptozę (BAX), jak i hamujących apoptozę (BCL-2). W komórkach nowotworowych gen P53 może nie syntetyzować odpowiedniego białka, co wyraża się zwiększoną zawartością BCL-2 w stosunku do BAX i wiąże się z większą przeżywalnością komórek [225]. Index zmian TP53 w prawidłowej tkance gruczołu piersiowego może służyć jako wskazówka do oceny ryzyka raka piersi [80].

Na podstawie analizy pacjentek z rakiem piersi, mutację genu P53 wykryto u około 25%. U około 30% pacjentek z obecną mutacją genu P53 typu missense, nie stwierdzano koekspresji białka p53 ocenianej immunohistochemicznie. W tej grupie kobiet zaobserwowano oporność na leczenie. W przypadku mutacji null: nonsense, zmiany struktury, insercji, nie dochodziło do hamowania produkcji białka p53 [226]. P53 określane jest mianem strażnika genomu dla wielu fizjologicznych i patologicznych procesów. Mutacje genu P53 typu missense wpływają na wyniki leczenia raka piersi przy użyciu: radioterapii, tamoksyfenu, cytostatyków. W badaniu EORTC retrospektywnie oceniono częstość mutacji P53 i jej wpływ na skuteczność przedoperacyjnej chemioterapii opartej na antracyklinach i taksanach [227]. W innym badaniu stwierdzono gorsze przeżycia u pacjentek z guzami p53 pozytywnymi, w porównaniu do grupy z guzami p53 negatywnymi [228]. Wykazano dużą siłę prognostyczną p53 w rakach piersi bez zajętych węzłów chłonnych [229]. Nie wszystkie efekty mutacji są jednakowe. Z reguły dotyczą potranslacyjnych modyfikacji, zwłaszcza fosforylacji seryny lub innych reszt, co odgrywa kluczową rolę w regulacji funkcji p53 [230]. Ocenę funkcji p53 może utrudniać obecność izoform, podobnie jak w przypadku p63 i p73. Wykrywa się je za pomocą przeciwciał przeciwko p53, jednak są często nie do odróżnienia od pozostałych białek [231, 232].

Z kolei funkcje biologiczne typu dzikiego TP53, mogą być zakłócone przez zmiany w

innych białkach, jak np. ER, MDM2, MDM4, ATM. Specyficzne modyfikacje potranslacyjne i ścieżki niezależne od p53, np. ER-alfa, mogą modulować aktywność ścieżek p53. W zależności od tego, który składnik ścieżki transkrypcyjnej p53 jest inaktywowany, udokumentowano różne wzorce związku pomiędzy p53 a liczbą innych koregulatorów i białkowych efektorów [233].

Pomimo braku czułości i specyficzności, wiele badań wykazało, że białko p53 wykryte metodą immunohistochemiczną, jest czynnikiem prognostycznym w raku piersi i może determinować wrażliwość na określone związki terapeutyczne. Zgromadzone dowody sugerują, że dysfunkcja genu P53 mogłaby odpowiadać za rozwój oporności na terapię antyestrogenową w rakach z ekspresją receptorów estrogenowych. Natomiast w guzach ER ujemnych, mutacja genu P53 uważana jest za istotny wskaźnik niepowodzenia chemioterapii.

Ustalono, że ponad 70% raków piersi ma typ dziki p53, a dysfunkcja genu supresorowego guza w większości raków piersi może być następstwem innych mechanizmów niż jego mutacja. Analizowano kopie profilów pierwotnych raków piersi ze znanym statusem p53. Wykazano, że profile transkrypcyjne p53 są lepszym wskaźnikiem fukcji p53 niż jego stan mutacyjny. Ponadto wykrywany immunohistochemicznie panel łączy p53 z jego dwoma dalszymi, niżej zlokalizowanymi celami, tj. p21 i MDM2. Mają one wyższą czułość i specyficzność do wykrywania dysfunkcji ścieżki sygnałowej p53 w porównaniu do immunohistochemicznej oceny białka p53 [233].

Autorzy badania wysunęli hipotezę, że stan funkcjonalny ścieżek transkrypcyjnych p53 lepiej niż ocena ekspresji białka p53 wyodrębnia niskie i wysokie ryzyko raka piersi. Ponadto dostarcza informacji o indywidualnych, biologicznych cechach guza. Badane pacjentki były jednakowo leczone uzupełniającą chemioterapią w oparciu o antracykliny. Około 1000 raków piersi poddano immunohistochemicznej ocenie p53, z jednoczesnym uwzględnieniem jego głównych regulatorów (MDM2, MDM4, Bcl2, p21). Zidentyfikowano 11 fenotypów, z podziałem na dwa rodzaje odpowiedzi klinicznych. Wyróżniono grupę niskiego ryzyka - dobrą prognostycznie (z obecnością aktywnych/częściowo nieaktywnych ścieżek p53). W tych guzach stwierdzano korzystne cechy kliniczne i patologiczne, w tym obecność receptora estrogenowego, długie przeżycia po chemioterapii uzupełniającej.

Druga grupa, wysokiego ryzyka - zła prognostycznie (z całkowicie nieaktywnymi ścieżkami sygnału p53). Wysoki odsetek raków nie zawierał mutacji TP53 typu missens.

Funkcja p53 mogła być inaktywowana przez inne rozpoznawane mechanizmy jak mutacje null, nadekspresja MDM2. Możliwe były również zmiany w regulacji lub koaktywacji na wyższych piętrach ścieżki sygnałowej p53, na przykład ATM.

Wykazano, że mutacja null TP53 destabilizuje p53 i wiąże się z brakiem p53, MDM, bcl2, p21. Ekspresja p21 była istotnie związana z korzystnymi parametrami klinicznymi. Nieligandowy receptor ER alfa oddziałując z cyklinozależnym inhibitorem kinazy (p21/WAF1), blokuje wzrost komórek raka piersi.

Natomiast guzy z fenotypem p53+/MDM4-/MDM2-/p21+, niezależnie od ekspresji ER i HER2, miały gorsze prognozy wyrażające się krótszymi DFS [234, 235].

Wykazano, że około 60% guzów miało całkowity brak aktywności p53, co wiązano z utratą ekspresji ATM, sugerując, że może to być mechanizm, poprzez który komórki raka piersi unikają supresorowego efektu p53.

Innym transkrypcyjnym koaktywatorem p53 jest BRCA1 [236]. Znalezione istotną regulację poprzez BRCA1, prowadzącą do całkowitej inaktywacji ścieżki transkrypcji p53. Genetyczne zmiany w chromosomie 17, gdzie zlokalizowany jest gen TP53, występowały u ponad połowy raków piersi z wysokim stopniem histologicznej złośliwości. Brak aktywacji genu TP53 wykazano również w przypadku jednoczesnego występowania amplifikacji genu HER2. U pacjentek z takim profilem notowano agresywne cechy kliniczno - patologiczne i krótsze przeżycia.

W leczeniu raka piersi mniej niż 20% pacjentek odnosi pełną korzyść z leczenia AT [237, 238]. Wykazano, że typ dziki p53 odgrywa rolę w modulowaniu odpowiedzi na AT zarówno przez uruchamianie apoptozy jak i zatrzymanie cyklu komórkowego. AT może dodatkowo indukować apoptozę przez ścieżki i mutacje nie związane z p53. W porównaniu do pacjentek z aktywnymi lub częściowo nieaktywnymi ścieżkami transkrypcji TP53, całkowicie nieaktywne ścieżki wiązały się z najgorszymi DFS, nawet po zastosowaniu AT [239]. Znaczenie MDM2/MDM4 w rozpoznaniu i prognozie raka piersi nie jest jednoznacznie określone. Według jednych autorów nadekspresja MDM2 koreluje z gorszymi prognozami, według innych z lepszymi. W tym badaniu autorzy wykazali jej związek z zarówno dobrymi jak i złymi prognozami zależnymi od koekspresji p53, MDM4, bcl2 i p53 zależną i niezależną transaktywacją MDM2. W raku piersi nadekspresja wielu MDM2 RNA wariantów koreluje z brakiem ER i gorszymi wynikami leczenia, podczas gdy nadekspresja MDM2, występująca w ER-alfa pozytywnych guzach wiąże się z korzystnymi prognozami [240].

Poszukiwano sygnatury, która umożliwiłaby kwalifikację do leczenia przedoperacyjnego - w badaniu EORTC oraz leczenia uzupełniającego - w badaniu TACT. Wydaje się, że na podstawie sygnatury składającej się z pięciu białek p53/MDM2/MDM4/Bcl2/p21, można wyodrębnić grupę dobrego i złego rokowania, w szczególności podtypy raka piersi jak bazalny, potrójnie negatywny i zapalny. Zdaniem autorów zastosowanie takiego profilu mogłoby również ułatwić zdefiniowanie potencjalnej biologicznej aktywności do promocji nowotworowej inwazji i przerzutowania [241].

Częste mutacje genu P53 występują w rakach tzw. potrójnie ujemnych, związanych z mutacją BRCA1. Jednak spektrum tych mutacji różni się od mutacji w sporadycznych potrójnie negatywnych guzach. Tutaj utrata funkcji p53 wiąże się prawdopodobnie z umożliwieniem przeżycia komórki obciążonej znacznymi zaburzeniami cytogenetycznymi. U około połowy raków piersi związanych z BRCA1 występuje amplifikacja c-MYC. Zjawisko to może odpowiadać za wzmożone bodźce proliferacyjne skutkujące progresją guza [242].

Chemiowrażliwość w potrójnie ujemnych rakach piersi z mutacją genu P53 jest przedmiotem kontrowersji. Na podstawie wyników badań wspomina się o oporności na antracykliny w tej grupie pacjentek przy jednoczesnej wrażliwości na taksany. Z kolei obecność prawidłowego genu P53 wiąże się z opornością na taksany [109].

Badano, czy ekspresja p53 (obok COX-2 i Ki67) zmienia się po zastosowaniu przedoperacyjnej chemioterapii wg schematu FEC. U 90% pacjentek ze stwierdzoną wyjściowo ekspresją p53, wykazano mniejszą intensywność reakcji barwnej ocenianej metodą immunohistochemiczną po zastosowaniu trzech kursów chemioterapii. Podobne zjawisko odnotowano dla COX-2 i Ki67. Autorzy badania wnioskują, że zaobserwowana zależność mogłaby odgrywać potencjalną rolę terapeutyczną poprzez zastosowanie COX-2 inhibitorów [243].

Ocena znaczenia prognostycznego ekspresji p53 i bcl-2 w raku piersi daje kontrowersyjne wyniki. Heterogeniczność pacjentów i charakterystyka guza mogą być częściowo odpowiedzialne za taką rozbieżność. Autorzy badania oceniali znaczenie prognostyczne p53 i bcl-2, porównując wyniki leczenia we względnie homogenicznej populacji po chirurgicznym leczeniu oszczędzającym i radioterapii z powodu wczesnego raka piersi.

Użytecznym molekularnym markerem prognostycznym czasu do wznowy miejscowej i przeżyć wolnych od przerzutów odległych, był fenotyp bcl-2-/ER-/ekspresja p53 [244].

Wykazano, że ryzyko zgonu jest najwyższe w przypadku fenotypu z ujemnym bcl-2 oraz

ER- [245]. Ponadto pacjentki z takim fenotypem miały ponad 5-krotnie wyższe ryzyko całkowitych nawrotów w porównaniu z bcl-2(+)/ER- [246]. Wspomina się również o wyższym ryzyku występowania przerzutów odległych u pacjentów z ekspresją białka p53 [247]. Jest ono szczególnie istotne w przypadku ekspresji białka p53 i obecnego fenotypu potrójnie ujemnego [248]. Ocena efektów przedoperacyjnej chemioterapii w guzach potrójnie negatywnych wykazała wyższy odsetek całkowitych remisji patologicznych w guzach z ekspresją białka p53 [249].

1.5. Profilaktyka i leczenie obustronnego raka piersi

Więcej uwagi w doniesieniach literaturowych poświęca się profilaktyce obustronnego raka piersi, której celem jest zmniejszenie ryzyka zachorowania na drugiego niezależnego raka piersi.

Stwierdzono, że pacjentki odnoszą korzyści po zastosowaniu terapii hormonalnej.

Autorzy wyników wielu badań podkreślają prewencyjną rolę tamoksyfenu. Użycie tego leku redukuje ryzyko rozwoju raka w drugiej piersi o około 50% [250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260]. U kobiet po menopauzie wykazano przewagę anastrozolu w profilaktyce ORP [261, 262, 263].

Innym sposobem prewencji obustronnego raka piersi jest postępowanie chirurgiczne. Pacjentkom po mastektomii z powodu raka piersi zaproponowano profilaktyczną operację drugiego gruczołu piersiowego. Stwierdzono, że zabieg chronił przed wystąpieniem raka w drugiej piersi oraz znacząco wydłużał czas wolny od choroby [264]. W innym badaniu nie wykazano wpływu profilaktycznej mastektomii na całkowite przeżycia. Wniosek dotyczył grupy pacjentek z rodzinnym rakiem piersi, bez mutacji BRCA1/2. Badacze ocenili retrospektywnie grupę kobiet z przebyłym symultanicznym ORP, z wielkością guzów poniżej 4 cm. Porównano rokowanie tych pacjentek do grupy z jednostronnym rakiem piersi w podobnym stadium zaawansowania. Nie stwierdzono istotnych różnic. Dlatego zdaniem autorów, u tych pacjentek powinny być wykonywane obustronne zabiegi oszczędzające [265].

Analiza pogładowa częstości ORP w populacji szwedzkiej od lat 70 - tych, wykazała jej stopniowy spadek wraz z upływem czasu. Przyczyną takiej obserwacji może być coraz powszechniejsze zastosowanie hormonoterapii i chemioterapii. Jednocześnie zauważono

pogorszenie cech kliniczno-patologicznych drugich raków piersi i prognoz odległych. Wiązano to z zależnym od zastosowanego leczenia rozwojem agresywniejszego fenotypu. Notowano gorsze przeżycia dla kobiet z wcześniej pojawiającym się metachronicznym ORP, jeżeli po rozpoznaniu pierwszego raka piersi stosowano chemioterapię [266].

Dokonano przeglądu 47 randomizowanych badań, w których wzięło udział 18 tysięcy kobiet z przebyłym rakiem piersi. Porównano ryzyko ORP u pacjentek stosujących polichemioterapię uzupełniającą, do grupy bez terapii pooperacyjnej. Redukcję ryzyka obustronnego raka piersi wykazano u 20% pacjentek z grupy leczonej uzupełniająco cytostatykami [267].

1.5.1. Badania genetyczne

Ze względu na coraz większą liczbę prowadzonych badań, krystalizują się standardy postępowania u nosicieli mutacji.

Na podstawie wyników testów genetycznych możliwe jest oszacowanie ryzyka raka piersi przeciwległej oraz raka jajnika, co ułatwia zaplanowanie krótko – i długoterminowego postępowania diagnostyczno-terapeutycznego. Dlatego testy genetyczne stają się integralną częścią kontroli, prewencji chemioterapeutycznej i chirurgicznej u pacjentek z ryzykiem dziedzicznych zespołów nowotworowych [268].

Najbardziej kompletną, ale i kosztowną metodą badania genetycznego jest sekwencjonowanie exonów i intronów, charakteryzujące się największą czułością i specyficnością. Sekwencjonowanie jest zwykle poprzedzone mniej czułymi badaniami przesiewowymi: zmian konformacji jednoniciowego DNA - SSCP (*single stranded conformational polymorphism*) i analizą heterodupleksów – HET (*heteroduplex analysis*). Jednak obecne techniki nie pozwalają na identyfikację wszystkich mutacji, dlatego chore muszą być poinformowane o ograniczeniach współczesnej technologii [78, 83].

Aktualnie kobiety mogą skorzystać z oceny genetycznej już w ramach diagnostyki raka piersi. Oprócz wpływu na leczenie, daje to również psychosocjologiczne i rodzinne implikacje. Przedstawiono wstępne analizy tego aspektu u kobiet poniżej 40 roku życia i obecną mutacją BRCA1 lub BRCA2 oraz u kobiet z rodzinnym obciążeniem rakiem piersi lub innym nowotworem złośliwym. Większość badanych z grupy drugiej stwierdziło, że były już emocjonalnie obciążone rozpoznaniem raka i decyzją o leczeniu. Dla nich oferta testu genetycznego byłaby za dużym kolejnym stresem. Odnotowano natomiast akceptację

testu genetycznego u pacjentek z rozpoznaniem raka piersi, o ile jego wyniki mogłyby wpłynąć na decyzję terapeutyczną [269].

Wynik testu genetycznego jest prawdziwie pozytywny, gdy mutacja zostanie wykryta u osoby chorej na raka lub u osoby zdrowej, w rodzinie której stwierdza się już taki sam defekt. Wykrycie defektu genetycznego u osoby zdrowej upoważnia do rozważenia profilaktycznych zabiegów chirurgicznych lub chemoprewencji [78].

1.5.2. Terapia hormonalna

U nosicielek mutacji BRCA1/2 zastosowanie mają strategie prewencji pierwotnej i wtórnej.

Podstawowym zabiegiem profilaktycznym jest usunięcie jajników i jajowodów. Takie postępowanie u nosicielek mutacji BRCA1 zmniejsza ryzyko raka jajnika i otrzewnej do około 5%, natomiast ryzyko raka piersi o około 50% [84]. Wykazana skuteczność amputacji jajników jest interesująca, gdyż większość BRCA1 - zależnych raków piersi jest pozbawiona receptorów estrogenowych. Jeżeli hormonalna blokada spowodowana operacją, hamuje rozwój raka piersi, może być skuteczna w tej grupie pacjentek również chemoprewencja. Wykazano, że terapia tamoksyfenem przynajmniej przez 5 lat, chroni zdrowe nosicielki mutacji przed zachorowaniem na raka piersi. W tym badaniu większą korzyść odnosiły nosicielki mutacji BRCA2 [89].

Kobiety z przebyłym rakiem piersi i stwierdzoną mutacją w genach BRCA1/2, leczone tamoksyfenem przez 2 - 4 lata, miały znaczną redukcję epizodów obustronnego raka piersi. Ryzyko ORP obniżone było również przy jednoczesnym usunięciu jajników i chemioterapii. Efekt ochronny tamoksyfenu wydawał się niezależny od amputacji jajników [270]. Oceniano wyniki terapii tamoksyfenem, obustronnego profilaktycznego usunięcia jajników, profilaktycznej amputacji piersi lub kombinacji tych metod, u pacjentek z przebyłym rakiem piersi BRCA1/2 - zależnym. Wykazano istotny efekt prewencyjny ORP podczas kuracji tamoksyfenem [271]. Innymi publikowanymi badaniami oceniającymi znaczenie tamoksyfenu u nosicielek BRCA1/2 mutacji są prace zespołu Stevena Naroda. Potwierdzeniem wcześniej prezentowanych wyników analiz retrospektywnych jest prospektywne badanie kontrolowane. Porównano grupę nosicielek mutacji BRCA otrzymujących tamoksyfen, które rozwinęły obustronnego raka piersi, do BRCA nosicielek z jednostronnym rakiem piersi. Wykazano znaczną redukcję ORP w grupie pacjentek

stosujących tamoksyfen. Efekt ochronny był wyższy u BRCA1 nosicielek mutacji. Stwierdzono również, że amputacja jajników daje niezależny efekt ochronny ORP. Najkorzystniejsza była kombinacja usunięcia jajników i terapii tamoksyfenem, szczególnie gdy rozpoznanie pierwszego raka piersi miało miejsce przed 50 rokiem życia. Nie stwierdzono jeszcze, czy usunięcie jajników wpływa na całkowitą umieralność [101, 272]. Zmniejszenie ryzyka ORP u nosicielek BRCA1/2 stosujących tamoksyfen stwierdzają autorzy innego badania. Nieznacząco silniejszy wpływ hormonoterapii odnotowano w grupie nosicielek mutacji BRCA2 [273]. Autorzy metaanalizy zauważyli, że większość pacjentek z BRCA1-zależnym rakiem piersi bez receptorów estrogenowych po uzupełniającym leczeniu tamoksyfenem, ma zredukowane ryzyko obustronnego raka piersi o 50%. Natomiast lekarze rzadko przepisują w takiej sytuacji tamoksyfen, ze względu na brak ekspresji receptorów steroidowych [94, 274]. Autorzy publikacji zwracają również uwagę na fakt, że u kobiet w wieku pomenopauzalnym, które są w grupie podwyższonego ryzyka zachorowania na raka drugiej piersi (zwłaszcza u nosicielek mutacji BRCA1/2 oraz kobiet, które przebyły już raka piersi), nie jest zalecana hormonoterapia zastępcza [139]. Natomiast stosowanie doustnej antykoncepcji obniża co prawda ryzyko raka jajnika, jednak u kobiet z mutacjami BRCA1/2 częstość zachorowania na raka piersi może się zwiększyć dwukrotnie. Dlatego w tej grupie pacjentek doustna antykoncepcja jest przeciwwskazana [139, 275].

1.5.3. Chemioterapia i leczenie celowane

Badania przeprowadzone na embrionach myszy z uszkodzoną funkcją genów BRCA1/2, wykazały zwiększoną czułość tych komórek na cisplatynę i mitomycynę, ale oporność na taksany [94, 274].

W innym badaniu dostrzeżono ochronny wpływ chemioterapii na ryzyko raka po tej samej stronie, nie odnotowano natomiast wpływu na ryzyko zachorowania na raka drugiej piersi [101]. Oceniano rokowanie po chemioterapii w grupie pacjentek z obustronnym metachronicznym rakiem piersi. Lepsze przeżycia odnotowano u nosicielek mutacji BRCA1/2 w porównaniu do nienosicielek [276].

W piśmiennictwie wspomina się o występowaniu szczególnej wrażliwości na niektóre cytostatyki w grupie chorych z obecną mutacją BRCA1 i brakiem ekspresji receptorów. Wspomina się o znaczeniu substancji indukujących powstanie wiązań krzyżowych

między nimi kwasu nukleinowego jak np. dwufunkcyjnych związków alkilujących, mitomycyny C, pochodnych platyny [277, 278, 279]. Wykazano udział leków niszczących podwójną nić DNA jak etopozyd czy bleomycyna, przy jednoczesnej oporności na trucizny wrzeczona kariokinetycznego (taksany, alkaloidy barwinka). Podjęto także próby wykorzystujące bardziej ukierunkowane leczenie zaburzeń funkcji DNA. Uszkodzenia pojedynczej nici DNA są zwykle naprawiane przez wycięcie wadliwego fragmentu. Podstawowym elementem uczestniczącym w naprawie jest PARP1. Nieobecność tego układu powoduje przekształcenie uszkodzenia pojedynczej nici w dysfunkcję podwójnej nici. Jeżeli komórka nie zawiera BRCA1, to wspomniane zaburzenia nie mogą być naprawione. W tej sytuacji znaleźć mogą zastosowanie inhibitory PARP1, które hamując PARP1 powodują bardzo selektywną apoptozę komórek bez BRCA1 [109, 279].

Nowsze cele terapeutyczne w rakach piersi potrójnie negatywnych dotyczą wpływu na szlaki sygnałowe kontrolujące proliferację, hamowania kinaz receptorowych, wprowadzania inhibitorów tzw. wtórnych przekaźników.

Istnieją dwie główne kaskady kinaz białkowych wiążących się z transformacją nowotworową: szlak kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K, z Akt, mTOR,) oraz szlak ras-raf aktywowany przez mitogen/kinazy ERK. Aktywacja MAP (kinaza białkowa aktywowana przez mitogen) prowadzi do pobudzenia wielu czynników uczestniczących w dalszych etapach kaskady (w tym czynnika transkrypcyjnego c-MYC). Oba wymienione szlaki proliferacyjne komunikują się i krzyżują w różnych punktach.

W potrójnie ujemnych rakach występuje często nadekspresja EGFR oraz c-KIT. Sygnalizacja poprzez EGFR może być hamowana za pomocą przeciwciał skierowanych przeciwko EGFR-cetuximab, lub inhibitorów fosforylacji receptora-gefitynib lub erlotynib. W blokowaniu kinaz związanych z c-KIT zastosowanie znajduje imatynib.

Do inhibitorów wtórnych przekaźników należą: inhibitory Ras (oligonukleotydy antysensowne), inhibitory farnetylacji Ras, Raf, MEK, ERK. Obecnie w trakcie II fazy badany jest tipifarnib. Inhibitory mTOR (sirolimus, temsirolimus, severolimus, deforolimus). Blokowanie HSP90 (białko szoku cieplnego) przez geldanamycynę zmniejsza stężenie Raf1 [109].

Trwają poszukiwania nowych schematów dla pacjentek z potrójnie negatywnym rakiem piersi. W roku 2012 planowane jest zakończenie badania III fazy porównujące wyniki leczenia karboplatyny w kombinacji z docetakselem. Badana jest możliwość zastosowania w tej grupie pacjentek nowych taksanów, np. larotaxel - w badaniu II fazy w przerzutowym

raku piersi. Wstępne oceny na modelach komórkowych nowej klasy leków przeciwnowotworowych stabilizujących mikrotubule - epotilony, potwierdzały ich aktywność przy oporności na paclitaxel: ixabepilon, patupilon - badane w przerzutowym raku piersi. W terapii potrójnie negatywnego raka piersi znajdują zastosowanie inhibitory angiogenezy - anty VEGF, bevacizumab. W badaniu AVADO wykazano istotny wzrost PFS w przypadku zastosowania bevacizumabu z docetakselem w porównaniu do grupy otrzymującej docetaxel z placebo. W grupie chorych z potrójnie ujemnym rakiem piersi sprawdzane jest zastosowanie innych preparatów: pazopanib, sunitinib, axitinib, sorafenib, vandetanib.

Badaniami wczesnej fazy objęte są również nowy alkaloid vinca - vinflunine, inhibitor mitotyczny - eribulin, inhibitor cyklu komórkowego - trabectedin [279].

1.5.4. Postępowanie chirurgiczne

Porównano odległe wyniki po oszczędzającym leczeniu operacyjnym i mastektomii u nosicielek mutacji BRCA1/2. Ryzyko obustronnego raka było wysokie w każdej grupie. Wynosiło ono ponad 40%. Nie zaobserwowano różnic w grupach pacjentek z uzupełniającym leczeniem energią promienistą a pacjentkami, u których zastosowano tylko zabieg operacyjny. Wykazano istotny wzrost miejscowych nawrotów w przypadku BCT. Pomiędzy grupami z wykonanym zabiegiem oszczędzającym a mastektomią, nie odnotowano różnic w zakresie uogólnionych nawrotów choroby oraz w przeżyciach całkowitych. W grupie z leczeniem oszczędzającym, zastosowanie chemioterapii uzupełniającej istotnie wiązało się z redukcją nawrotów w operowanej piersi. Wśród kobiet po BCT i chemioterapii uzupełniającej, miejscowa kontrola nie różniła się od wyników u kobiet po mastektomii. Zdaniem autorów u nosicielek mutacji BRCA1/2, chemioterapia mogłaby odgrywać rolę nie tylko w kontroli systemowej, ale również miejscowej [280]. Skuteczną metodą redukcji ryzyka raka piersi u nosicielek mutacji jest profilaktyczna mastektomia, choć może być stosowana jedynie u kobiet o szczególnej konstrukcji psychicznej [84, 281].

Badanie PROSE wykazało, że obustronna profilaktyczna mastektomia redukuje ryzyko raka piersi u nosicieli BRCA1/2 w około 90% [282]. Potwierdzeniem skuteczności tego zabiegu w prewencji pierwotnej, zmniejszającej ryzyko raka piersi o 90% u nosicielek mutacji, jak również u kobiet z dodatnim wywiadem rodzinnym, są inne publikacje [283,

89]. Scheufler i Fritchen postulują, że ze względu na redukcję ryzyka raka piersi o ponad 95% po obustronnej profilaktycznej mastektomii, u kobiet z grupy wysokiego ryzyka, procedura ta może być przeprowadzana już po 25 r.ż. Z kolei obustronne usunięcie jajników z jajowodami, u nosicielek mutacji BRCA1/2 redukuje ryzyko raka piersi o 50%, a raka jajnika o 90%. U bezobjawowych nosicielek mutacji BRCA1/2 bardziej akceptowaną metodą jest profilaktyczna amputacja jajników. Interwencje chirurgiczne wykonywane są najczęściej u kobiet, które ukończyły 35 lat i nie mają już planów macierzyńskich [284, 285]. Wykazano, że profilaktyczna obustronna amputacja jajników z jajowodami czy obustronna mastektomia u nosicielek mutacji, dają również długoterminowe korzyści ekonomiczne. Dlatego wszystkie kobiety, które zachorowały na raka piersi, powinny mieć przeprowadzoną ocenę mutacji [286]. U nosicielek mutacji BRCA1/2, które wcześniej przebyły leczenie raka piersi, mastektomia piersi przeciwległej przynosi korzyść pod względem częstości występowania ORP. Ryzyko raka drugiej piersi jest zredukowane prawie do zera u tych kobiet [101]. Celem określenia zasięgu, efektywności profilaktycznej amputacji drugiej piersi u nosicielek BRCA1/2, przeprowadzono prospektywne badanie z udziałem 43 ośrodków, w tym z Polski. Zrekrutowano prawie 2000 pacjentek z inwazyjnym rakiem piersi w wywiadzie. Odsetek inwazyjnych ORP w 5-letnim okresie obserwacji oceniono na 7,1%. Profilaktyczną mastektomię przeprowadzono u 27% kobiet. W tej grupie 8% przebyło jednoczesową obustronną mastektomię, u 92% amputację drugiej piersi wykonano później, średnio po 3,5 roku. Zaobserwowano, że kobiety wybierające elektywny zabieg były znacząco młodsze podczas diagnozy raka. Wykazano duże różnice w odsetku wykonywanych procedur w poszczególnych krajach. Od 0% w Norwegii do 49% w USA. Chociaż ryzyko ORP było wyższe w populacji Europejskiej (w ciągu 5 lat dwukrotnie), to liczba decydujących się na zabieg była dużo niższa niż w Ameryce Północnej (tylko 5%). Nie do końca wiadomo, czy ma to związek z preferencjami pacjentek, czy brakiem oferty w tym zakresie. Kobiety otrzymujące tamoksyfen miały rzadziej proponowaną mastektomię profilaktyczną niż pacjentki bez hormonoterapii (22% vs 33%). Ponadto częściej na profilaktyczną mastektomię decydowały się pacjentki wybierające również profilaktyczną amputację jajników. We wszystkich krajach zaobserwowano tendencję do częściej wykonywanych zabiegów, jeżeli pacjentki już w czasie diagnozy pierwszego raka piersi wiedziały, że są nosicielkami mutacji BRCA1/2. Chemioterapia stosowana podczas leczenia raka piersi nie wpływała na częstotliwość profilaktycznej mastektomii [287].

W innym badaniu zwrócono uwagę na występowanie niezależnych czynników predykcyjnych zwiększających odsetek kobiet leczonych z powodu raka piersi decydujących się na profilaktyczną mastektomię. Należą do nich: wiek poniżej 40 lat, wielkość guza powyżej 5 cm, obecność raka zrazikowego, wieloogniskowego, dodatni wywiad rodzinny w kierunku raka piersi, umiejętności chirurga [288].

1.5.5. Psychologiczne aspekty w terapii obustronnej mastektomii

Przed wdrożeniem konkretnego postępowania, istotne jest uwzględnienie podejścia emocjonalnego pacjentek do jasno przedstawianych im możliwości profilaktycznych.

Zbadano reakcję na propozycje prewencji wśród Francuzek, Brytyjek i Kanadyjek z wysokim ryzykiem raka piersi w związku z dodatnim wywiadem rodzinnym. Najczęściej akceptowaną metodą profilaktyki była mammografia. Odnotowano jej wzrost z wiekiem kobiet (31% - 25 lat, 87% - 50 lat). Chemoprewencję tamoksyfenem akceptowało około 60% badanych, a amputację jajników 60% kobiet po 50 roku życia. Profilaktyczna mastektomia była najmniej tolerowaną alternatywą – tylko 16% przebyło operację w grupie poniżej 35 lat oraz 29% w wieku co najmniej 50 lat. Częstość akceptacji na terapię tamoksyfenem łącznie z usunięciem jajników była znacząco mniejsza u Brytyjek. Mastektomię znacząco rzadziej przeprowadzano u Francuzek. Stwierdzono, że zgodę na powyższe procedury częściej wyrażały pacjentki z rakiem piersi w rodzinie [272].

W Szwecji przeprowadzono badanie, w którym oceniono reakcje psychologiczne, jakość życia, po profilaktycznej, obustronnej mastektomii u kobiet z grupy wysokiego ryzyka zachorowania na raka piersi. Pacjentki dwukrotnie wypełniały ankiety, 6 miesięcy przed operacją i 12 miesięcy po obustronnej mastektomii. Zaobserwowano znaczący spadek niepokoju, bez wpływu na depresję i pozostałych cech jakości życia za wyjątkiem tzw. własnego wizerunku. Ta różnica (wystąpiła u 40% ankietowanych) pojawiła się po roku od operacji i wiązała się z nieco mniejszym poczuciem atrakcyjności seksualnej, nieakceptacją siebie czy niezadowoleniem z blizn [289, 290].

Opisano, że rekonstrukcja po obustronnej profilaktycznej mastektomii, pozytywnie wpływa na psychologiczny i emocjonalny wizerunek ciała, seksualność oraz inne elementy jakości życia [291, 292, 293]. Takie postępowanie jest specyficznym wyzwaniem dla lekarzy i stanowi kolejny kierunek badań w zakresie chirurgii gruczołu piersiowego [294].

Aspekt psychologiczny towarzyszący obustronnej mastektomii w ramach postępowania

profilaktycznego, opisano również w innej publikacji. Autorzy podkreślają, że mimo świadomości wysokiego ryzyka towarzyszącego dziedzicznemu rakowi piersi, akceptacja profilaktycznej mastektomii w Ameryce Północnej jest mała (0-27%). Natomiast 25-50% kobiet po elektywnym zabiegu zgłasza psychologiczne ubytki lub trudności adaptacyjne, choć większość deklaruje redukcję obawy o zachorowanie na raka. Przeprowadzone konsultacje psychologiczne wśród ponad stu kobiet, które przebyły profilaktyczną mastektomię, potwierdziły celowość przedoperacyjnych, jak również pooperacyjnych spotkań z psychologiem [294].

1.6. Rokowanie w obustronnym raku piersi

Na przeżycia chorych z obustronnym rakiem piersi wpływa odstęp czasowy pomiędzy pierwszym i drugim rozpoznaniem.

Średnie przeżycie wśród pacjentek z ORP wydłuża się wraz z czasem pomiędzy pierwszym i drugim rakiem. Różnice w rokowaniu pomiędzy pacjentkami z obustronnym a jednostronnym rakiem piersi, zmniejszały się wraz z wydłużaniem czasu pomiędzy diagnozą pierwszego i drugiego raka piersi. Taką tendencję obserwowano w czasie ponad 90 miesięcy [21].

Wykazano istotnie różne mediany czasu przeżycia. Dla raków synchronicznych - 66 miesięcy, dla metachronicznych 96 miesięcy. Odsetek 5-letnich przeżyć określono na odpowiednio 80,3% i 90,5% [296]. W innych badaniach również przedstawiono gorsze prognozy, które dotyczyły przeżycia u kobiet z synchronicznym ORP [297, 298].

Stwierdzono, że odsetek 16-letnich przeżyć, liczonych od daty diagnozy pierwszego pierwotnego guza, w ORP metachronicznym wynosił 60,1%, a synchronicznym 53,8% [299]. Gózdź i wsp. odnotowali, że szansa 5-letniego przeżycia u kobiet z metachronicznym ORP wynosiła 61%, a synchronicznym 54%. Dla przeżycia 10-letniego wyniki wynoszą odpowiednio 53% i 42%. Porównano 5 i 10-letnie przeżycia pacjentek z obustronnym rakiem piersi do grupy kontrolnej kobiet z jednostronnym rakiem piersi z przerzutem do tkanki miękkiej. Wykazano, że przerzut do tkanki miękkiej stanowi względnie gorszy czynnik prognostyczny niż rak drugiej piersi [300].

U kobiet z rodzinnym metachronicznym ORP bez nosicielstwa mutacji BRCA1/2 stwierdzono, że od zachorowania na drugiego raka wzrasta ryzyko przerzutów, ale bez istotnego wpływu na całkowite przeżycia [265]. W retrospektywnej ocenie kobiet z

synchronicznym obustronnym rakiem piersi 5-letnie przeżycia odnotowano u 40%. Głównymi niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi w badanej grupie było zajęcie węzłów chłonnych i wielkość guza [301]. Autorzy innego retrospektywnego badania ocenili 5-letnie przeżycia u 770 pacjentek z ORP. Zaobserwowano istotny spadek odsetka 5-letnich przeżyć ze wzrostem wielkości drugiego guza (87% - Ist., 70% - IIst., 45% - IIIst., 23% - IVst.) [302]. W kolejnej analizie wykazano niższe odsetki 5- i 8- letnich przeżyć u kobiet z metachronicznym i synchronicznym ORP w porównaniu do pacjentek z jednostronnym rakiem piersi. Ponadto w grupie z rakiem synchronicznym stwierdzono wyższe ryzyko wystąpienia przerzutów odległych [303].

Oceniono ponad 6500 pacjentek z ORP pod kątem przeżyć i zgonów. U kobiet młodszych niż 50 lat, u których rozpoznano drugiego raka piersi w odstępie do 5 lat od pierwszego zachorowania, 4-krotnie częściej stwierdzano zgon z powodu wyjściowej choroby nowotworowej. Kobiety z diagnozą drugiego raka piersi ustaloną po 10 latach od raka piersi przeciwległej miały rokowanie podobne do grupy kontrolnej z jednostronnym rakiem piersi [266]. Porównanie 5-10-letnich przeżyć całkowitych i 5-letnich DFS u kobiet z synchronicznym ORP i jednostronnym rakiem piersi nie wykazało istotnych różnic [17]. Różnice w skumulowanych przeżyciach w populacji Taiwańskiej między grupami z jednostronnym i obustronnym rakiem piersi były najbardziej widoczne po 5 latach obserwacji. Notowano gorsze wyniki w ORP. Autorzy odnieśli swoje wyniki do danych obejmujących populację ze Szwecji. Wykazano, że u Taiwanek częściej rozpoznawano ORP w młodszym wieku - poniżej 50 r.ż., a przeżycia były zdecydowanie krótsze niż u Szwedek [304].

W literaturze coraz częściej poruszana jest problematyka mnogich nowotworów pierwotnych. Ze względu na stały postęp w diagnostyce i leczeniu onkologicznym, możliwe jest uzyskiwanie coraz lepszych efektów w tych niełatwych sytuacjach klinicznych. Obustronny rak piersi będący przedmiotem niniejszej pracy zajmuje szczególne miejsce w onkologii kobiet ze względu na stale utrzymującą się wysoką częstość zachorowań na raka piersi.

Dużą nadzieję niosą coraz precyzyjniejsze metody oceny histopatologicznej, immunohistochemicznej, molekularnej, które ułatwiają zakwalifikowanie pacjentek z ORP do leczenia o założeniu radykalnym. Poprawa dostępu do badań genetycznych i najnowszych technik obrazowania stały się dodatkowymi narzędziami pomocnymi w

określaniu postępowania u tych pacjentek. W obecnym czasie onkolog z jednej strony dysponuje szeroką gamą leków przeciwnowotworowych, z drugiej musi pamiętać o rozmiarze korzyści, które będą towarzyszyć lub nie, każdej wdrażanej procedurze. Poza tzw nurtem „nowoczesnym”, którego stałej ewolucji jesteśmy świadkami, na uwagę zwraca również powrót do podstawowych założeń medycyny, tj. profilaktyki. W kontekście mnogich nowotworów, w tym również ORP, odpowiedni styl życia, właściwa dieta są nieodłącznymi, najłatwiejszymi i najtańszymi czynnikami prewencyjnymi i leczniczymi. Konieczne są dalsze badania, które być może jeszcze lepiej wyjaśnią wiele wątpliwości i staną się kolejnymi wskazówkami w przypadku ORP. Warto również pamiętać, że takie wielokierunkowe podejście do zagadnienia ORP uzasadnia konieczność interdyscyplinarnego, ale jednocześnie zindywidualizowanego podejścia do każdej pacjentki.

2. CEL PRACY

Celem pracy doktorskiej była ocena wybranych elementów charakterystyki immunohistochemicznej i molekularnej w obustronnym raku piersi.

Cel rozprawy doktorskiej zrealizowano poprzez:

1. Badanie cech klinicznych, histopatologicznych, immunohistochemicznych w metachronicznym i synchronicznym raku piersi.
2. Ocenę wybranych cech pod kątem zgodności par pomiędzy rakiem pierwszej i drugiej piersi.
3. Ocenę obrazu klinicznego, histopatologicznego oraz immunohistochemicznego u nosicielek mutacji genu BRCA1.
4. Analizę ryzyka wystąpienia drugiego raka piersi estymatorem Kaplana-Meiera.

3. MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

3.1. Charakterystyka badanej grupy

Badaniem objęto kobiety z obustronnym rakiem piersi, leczone w Oddziale Chirurgii i Chemioterapii Kliniki Onkologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Część pacjentek przebyła leczenie chirurgiczne jednej lub obu piersi w Wielkopolskim Centrum Onkologii.

Informacje kliniczne pochodzą z historii chorób oraz Krajowego Rejestru Nowotworów - Oddział Wielkopolski (*). Badania histopatologiczne oraz immunohistochemiczne wykonano w Zakładzie Patologii Nowotworów Katedry Onkologii (**). Analizę obecności mutacji założycielskich dla populacji polskiej w genie BRCA1 (5382insC, C61G, 4153delA) przeprowadzono w Międzynarodowym Centrum Nowotworów Dziedzicznych PUM w Szczecinie w ramach wielośrodkowego badania KBN (***)

Do grupy synchronicznych raków piersi zaliczono pacjentki, u których raka drugiej piersi stwierdzano jednocześnie lub w odstępie czasu do 6 m-cy. Do grupy metachronicznych raków piersi, gdy raka drugiej piersi rozpoznano po 6 miesiącach od raka piersi przeciwległej.

Do analizy nie kwalifikowano pacjentek z pierwotnie uogólnioną chorobą nowotworową (stopień IV).

Cała grupa badana liczy 112 kobiet leczonych w latach 1977 - 2010. U 29 pacjentek stwierdzono raka synchronicznego (SRP), u 83 stwierdzono raka metachronicznego (MRP).

Pełną ocenę immunohistochemiczną (raki obu gruczołów piersiowych) przeprowadzono u 83 pacjentek. Mutacje w genie BRCA1 oznaczono u 36 pacjentek.

Powodem niekompletności danych immunohistochemicznych oraz wyników amplifikacji genu HER2 uzyskanych metodą FISH, był brak materiału archiwalnego lub jego skąpa ilość, co uniemożliwiało wykonanie pełnego panelu badań.

(*) Autorka rozprawy dziękuje Dyrekcji Szpitala Przemienienia Pańskiego UM w Poznaniu, Dyrekcji Wielkopolskiego Centrum Onkologii oraz Kierownikowi Wielkopolskiego Oddziału Rejestru Nowotworów Pani Doktor Agnieszce Dyzmann-Sroka, za umożliwienie zebrania danych klinicznych pacjentek, objętych badaniem dotyczącym obustronnego raka piersi w ramach pracy doktorskiej.

(**) Autorka rozprawy dziękuje na ręce Pana Profesora Jana Bręborowicza oraz Pani Doktor Violetty Filas, całemu Zespołowi Zakładu Patologii Nowotworów za nieocenioną pomoc w pozyskaniu wyników z badań histopatologicznych i immunohistochemicznych.

(***) Autorka rozprawy składa podziękowania Panu Profesorowi Janowi Lubińskiemu, Panu Doktorowi Dariuszowi Godlewskiemu oraz Pani Doktor Małgorzacie Stawickiej, za udostępnienie wyników badań genetycznych na potrzeby niniejszego opracowania.

W niniejszej pracy brano pod uwagę następujące cechy:

1. demograficzne pacjentek

- liczba porodów
- leczenie hormonalne w wywiadzie
- stosowanie używek (alkohol i/lub palenie papierosów)
- wywiad rodzinny pod kątem występowania raka piersi
- wywiad rodzinny pod kątem występowania raka jajnika
- wywiad rodzinny pod kątem występowania innych nowotworów niż rak piersi i rak jajnika
- BMI w momencie zachorowania na ORP
- wiek zachorowania na pierwszego raka piersi
- wiek zachorowania na drugiego raka piersi (w przypadku MRP)
- wiek pierwszej miesiączki
- wiek ostatniej miesiączki
- stan menopauzalny w momencie zachorowania na ORP

2. kliniczne, histopatologiczne, immunohistochemiczne raka pierwszej i drugiej piersi

- wielkość guza, stopień zajęcia węzłów chłonnych
- stopień złośliwości histologicznej guza
- rodzaj histopatologicznego rozpoznania
- obecność wielogniskowości
- ekspresja receptorów estrogenowych, dla progesteronu
- ekspresja naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 HER2
- ekspresja białka p53, Ki67

3. obecność lub brak mutacji w genie BRCA1

Charakterystykę badanej grupy przedstawiono poniżej w formie tabelarycznej.

3.1.1. Wybrane parametry kliniczne w metachronicznym i synchronicznym raku piersi

Tab. I. Dane kliniczne grupy 112 kobiet, z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety), synchroniczny obustronny rak piersi (29 kobiet)

| | Rak metachroniczny | | Rak synchroniczny | |
|--|--------------------|---------|-------------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Rodzilo | 73 | 88,0% | 24 | 82,8% |
| Leczenie hormonalne w wywiadzie | 10 | 12,0% | 4 | 13,8% |
| Palenie tytoniu | 13 | 15,7% | 6 | 20,7% |
| Rak piersi w rodzinie | 32 | 38,6% | 13 | 44,8% |
| Rak jajnika w rodzinie | 1 | 1,2% | 0 | 0,0% |
| Inne nowotwory w rodzinie | 22 | 26,5% | 9 | 31,0% |
| 1 rak piersi przed menopauzą | 47 | 57,3% | 11 | 37,9% |
| 2 rak piersi przed menopauzą | 10 | 12,0% | 9 | 31,0% |

Badane grupy są podobne pod względem analizowanych cech poza faktem, że w synchronicznym raku piersi oba raki są częściej rozpoznawane po menopauzie.

Tab. II. Wybrane parametry kliniczne w grupie 112 kobiet z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety) oraz synchroniczny obustronny rak piersi (29 pacjentek)

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum |
|--|---------|------|---------|---------|------|---------|
| BMI (kg/m2) | | | | | | |
| Rak metachroniczny | 19,8 | 22,5 | 26,0 | 27,0 | 30,7 | 39,1 |
| Rak synchroniczny | 20,5 | 23,8 | 26,0 | 27,3 | 28,8 | 40,5 |
| Wiek zachorowania na 1.raka piersi (lata) | | | | | | |
| Rak metachroniczny | 30,0 | 40,0 | 47,0 | 48,0 | 53,0 | 79,0 |
| Rak synchroniczny | 40,0 | 50,0 | 55,0 | 55,9 | 62,0 | 79,0 |
| Wiek zachorowania na 2.raka piersi (lata) | | | | | | |
| Rak metachroniczny | 36,0 | 50,0 | 56,0 | 56,3 | 61,5 | 91,0 |
| Rak synchroniczny | 40,0 | 50,0 | 55,0 | 55,9 | 62,0 | 79,0 |
| Wiek 1.miesiączki (lata) | | | | | | |
| Rak metachroniczny | 10,0 | 12,5 | 13,0 | 13,3 | 14,0 | 16,0 |
| Rak synchroniczny | 11,0 | 12,0 | 13,0 | 13,3 | 14,0 | 17,0 |

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum |
|---|---------|------|---------|---------|------|---------|
| Wiek ostatniej miesiączki (lata) | | | | | | |
| Rak metachroniczny | 35,0 | 43,5 | 48,0 | 46,7 | 50,5 | 59,0 |
| Rak synchroniczny | 40,0 | 45,0 | 49,0 | 48,2 | 52,0 | 54 |
| Czas do zachorowania na 2.raka piersi (miesiące) | | | | | | |
| Rak metachroniczny | 11 | 47 | 80 | 94 | 129 | 360 |
| Rak synchroniczny | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

W obu grupach stwierdzono podobne wartości BMI, wiek pierwszej i ostatniej miesiączki. Odnotowano wcześniejszy wiek zachorowania na obustronnego raka piersi w grupie z rakiem metachronicznym.

Tab. III. Czas do wystąpienia nawrotu choroby. Dane z obserwacji całej grupy badanej 112 kobiet z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety), synchroniczny obustronny rak piersi (29 kobiet)

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum |
|-------------------------------|---------|------|---------|---------|------|---------|
| Czas do nawrotu (m-ce) | | | | | | |
| Rak metachroniczny | 0,0 | 0,0 | 7,0 | 17,6 | 35,0 | 120,0 |
| Rak synchroniczny | 0,0 | 0,0 | 25,0 | 38,1 | 41,0 | 157,0 |

W grupie z rakiem synchronicznym stwierdzono dłuższe parametry czasu do nawrotu choroby.

Tab. IV. Przebieg obustronnego raka piersi

| | Rak metachroniczny | | Rak synchroniczny | |
|--------------------------------------|--------------------|---------|-------------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Żyje | 61 | 73,5% | 22 | 76,0% |
| Zgon | 22 | 26,5% | 7 | 24,1% |
| Wznowa miejscowa | 4 | 4,8% | 1 | 3,5% |
| Przerzut do narządu odległego | 15 | 18,1% | 4 | 13,8% |
| Lokalizacja przerzutów | | | | |
| kości | 10 | 12,0% | 2 | 6,9% |
| wątroba | 2 | 2,4% | 1 | 3,5% |
| mózg | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% |
| płuca | 3 | 3,6% | 1 | 3,5% |
| inne | 2 | 2,4% | 2 | 6,9% |

W obu grupach wykazano podobny odsetek pacjentek żyjących, zmarłych. W grupie z rakiem metachronicznym stwierdzono częstsze wznowy miejscowe i przerzuty do narządu odległego. Najwyższy odsetek przerzutów notowano do kości w obu grupach pacjentek.

3.1.2. Wybrane cechy kliniczno-histopatologiczne guzów w metachronicznym i synchronicznym raku piersi

Tab. V. Cechy kliniczno – histopatologiczne guzów w grupie 112 kobiet, w tym z metachronicznym (83 kobiety) i synchronicznym (29 kobiet) obustronnym rakiem piersi. Podano liczebność i wartość procentową poszczególnych parametrów:

metachroniczny 1 - guz w pierwszej piersi

metachroniczny 2 - guz w drugiej piersi

synchroniczny 1 - guz w pierwszej piersi

synchroniczny 2 - guz w drugiej piersi

| Rak/cecha | Metachroniczny1 | | Metachroniczny2 | | Synchroniczny1 | | Synchroniczny2 | |
|--|-----------------|---------|-----------------|---------|----------------|---------|----------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Stopień zaawansowania klinicznego cTNM | | | | | | | | |
| T1 | 24 | 28,9% | 41 | 49,4% | 8 | 27,5% | 23 | 79,3% |
| T2 | 40 | 48,2% | 37 | 44,6% | 15 | 51,7% | 6 | 20,7% |
| T3 | 15 | 18,1% | 4 | 4,8% | 4 | 13,8% | 0 | 0,0% |
| T4 | 4 | 4,8% | 1 | 1,2% | 2 | 6,9% | 0 | 0,0% |
| N0 | 18 | 21,7% | 36 | 43,4% | 5 | 7,2% | 12 | 41,4% |
| N1 | 61 | 73,5% | 40 | 48,2% | 21 | 72,4% | 17 | 58,6% |
| N2 | 4 | 4,8% | 7 | 8,4% | 3 | 10,3% | 0 | 0,0% |
| Histopatologiczna ocena przerzutów do węzłów chłonnych przerzuty nieobecne (pN-), przerzuty obecne (pN+), nie mogły być ocenione (pNx) | | | | | | | | |
| pN- | 41 | 49,4% | 40 | 48,8% | 15 | 51,7% | 18 | 62,1% |
| pN+ | 31 | 37,3% | 22 | 26,5% | 12 | 41,4% | 8 | 27,6% |
| pNx | 11 | 13,3% | 21 | 25,3% | 2 | 6,9% | 3 | 10,3% |
| Stopień histopatologicznej złośliwości guza | | | | | | | | |
| G1 | 8 | 9,6% | 10 | 12,2% | 7 | 24,1% | 9 | 31,0% |
| G2 | 30 | 36,1% | 32 | 39,0% | 11 | 37,9% | 11 | 37,9% |
| G3 | 29 | 34,9% | 27 | 32,5% | 8 | 27,6% | 3 | 10,3% |
| Gx | 16 | 19,3% | 14 | 16,9% | 3 | 10,3% | 6 | 20,7% |
| Postać histopatologiczna raka | | | | | | | | |
| Rak przewodowy | 45 | 54,2% | 57 | 68,7% | 17 | 58,6% | 15 | 51,7% |
| Rak zrazikowy | 7 | 8,4% | 12 | 14,5% | 3 | 10,3% | 6 | 20,7% |
| Inne | 31 | 37,4% | 14 | 16,9% | 9 | 31,0% | 8 | 27,6% |

| Rak/cecha | Metachroniczny1 | | Metachroniczny2 | | Synchroniczny1 | | Synchroniczny2 | |
|-------------------------|-----------------|---------|-----------------|---------|----------------|---------|----------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Wieloogniskowość | | | | | | | | |
| | 7 | 8,4% | 6 | 7,2% | 1 | 3,5% | 0 | 0,0% |

W obu grupach badanych najczęściej stwierdzono kliniczne zaawansowanie guzów w stopniu T2N1, brak przerzutów do węzłów chłonnych w ocenie patologicznej, stopień histopatologicznej złośliwości G2,G3, rozpoznanie raka przewodowego. W grupie z rakiem metachronicznym częściej odnotowano wieloogniskowość.

3.1.3. Rodzaj leczenia w badanej grupie z metachronicznym i synchronicznym raku piersi

Tab. VI. Rodzaj leczenia w grupie 112 kobiet, w tym z metachronicznym (83 kobiety) i synchronicznym (29 kobiet) obustronnym rakiem piersi. Podano liczebność i wartość procentową uwzględniając następujące parametry:

- leczenie operacyjne
- chemioterapia indukcyjna (CHT-I) w oparciu o antracykliny (A), bez użycia antracyklin (N – A)
- chemioterapia uzupełniająca (CHT-U) w oparciu o antracykliny (A), bez użycia antracyklin (N – A)
- radioterapia uzupełniająca (RT)
- hormonoterapia uzupełniająca (HT)

metachroniczny 1 - guz w pierwszej piersi

metachroniczny 2 - guz w drugiej piersi

synchroniczny 1 - guz w pierwszej piersi

synchroniczny 2 - guz w drugiej piersi

| Rak | Metachroniczny1 | | Metachroniczny2 | | Synchroniczny1 | | Synchroniczny2 | |
|------------------------------|-----------------|---------|-----------------|---------|----------------|---------|----------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Leczenie chirurgiczne | | | | | | | | |
| Operacja Halsteda | 23 | 27,70% | 2 | 2,41% | 1 | 3,45% | 0 | 0,00% |
| Operacja Patey'a | 51 | 61,40% | 65 | 78,30% | 23 | 61,45% | 25 | 86,20% |
| Amputacja prosta | 3 | 3,61% | 4 | 4,82% | 1 | 3,45% | 1 | 3,45% |

| Rak | Metachroniczny1 | | Metachroniczny2 | | Synchroniczny1 | | Synchroniczny2 | |
|-------------------------------|-----------------|---------|-----------------|---------|----------------|---------|----------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Leczenie oszczędzające | 6 | 7,2% | 12 | 14,5% | 4 | 13,8% | 3 | 14,5% |
| Chemioterapia | | | | | | | | |
| CHT-I | 14 | 16,9% | 10 | 12,2% | 7 | 24,1% | 7 | 24,1% |
| A | 13 | 15,7% | 27 | 32,5% | 11 | 37,9% | 11 | 37,9% |
| N-A | 25 | 30,1% | 21 | 25,3% | 9 | 31,0% | 9 | 31,0% |
| CHT-U | 38 | 45,8% | 47 | 56,6% | 21 | 72,4% | 21 | 72,4% |
| A | 13 | 15,7% | 27 | 32,5% | 9 | 31,0% | 9 | 31,0% |
| N-A | 25 | 30,1% | 21 | 25,3% | 11 | 37,9% | 11 | 37,9% |
| Hormonoterapia | | | | | | | | |
| | 15 | 18,0% | 28 | 33,7% | 18 | 62,1% | 18 | 62,1% |
| Radioterapia | | | | | | | | |
| | 21 | 25,3% | 8 | 9,6% | 7 | 25,0% | 2 | 6,9% |

W obu grupach badanych częściej przeprowadzono radykalny zabieg chirurgiczny, sposobem Patey'a. U wyższego odsetka pacjentek z SRP zastosowano chemioterapię indukcyjną i uzupełniającą. Częściej użyto schematów z antracyklinami. Hormonoterapię uzupełniającą przeprowadzono u wyższego odsetka pacjentek z SRP.

3.1.4. Ocena immunohistochemiczna guzów pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi

Tab. VII. Immunohistochemiczna ocena guzów u 83 kobiet (56 kobiet z metachronicznym i 27 kobiet z synchronicznym obustronnym rakiem piersi). Podano liczebność i wartość procentową uwzględniając następujące parametry: ekspresję receptorów estrogenowych (ER), ekspresję receptorów dla progesteronu (PgR), akumulację białka p53, ekspresję antygenu Ki67, ekspresję ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2)

metachroniczny 1 - guz w pierwszej piersi

metachroniczny 2 - guz w drugiej piersi

synchroniczny 1 - guz w pierwszej piersi

synchroniczny 2 - guz w drugiej piersi

| Rak/cecha | | Metachroniczny1 | | Metachroniczny2 | | Synchroniczny1 | | Synchroniczny2 | |
|-------------|-----------|-----------------|---------|-----------------|---------|----------------|---------|----------------|---------|
| | | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| ER | + | 27 | 48,2% | 25 | 44,6% | 18 | 66,7% | 18 | 66,7% |
| | - | 29 | 51,8% | 31 | 55,4% | 9 | 33,3% | 9 | 33,3% |
| PgR | + | 26 | 46,4% | 25 | 44,6% | 19 | 70,4% | 21 | 77,8% |
| | - | 30 | 53,6% | 31 | 55,4% | 8 | 29,6% | 6 | 22,2% |
| P53 | + | 26 | 46,4% | 35 | 62,5% | 15 | 55,6% | 15 | 55,6% |
| | - | 30 | 53,6% | 21 | 37,5% | 12 | 44,4% | 12 | 44,4% |
| Ki67 | + | 32 | 57,1% | 35 | 62,5% | 18 | 66,7% | 19 | 70,4% |
| | - | 24 | 42,9% | 21 | 37,5% | 9 | 33,3% | 8 | 29,6% |
| HER2 | 0 | 27 | 48,2% | 25 | 44,6% | 10 | 37,0% | 9 | 33,3% |
| | 1+ | 19 | 33,9% | 13 | 23,2% | 10 | 37,0% | 12 | 44,4% |
| | 2+ | 4 | 7,1% | 8 | 14,3% | 6 | 22,2% | 4 | 14,8% |
| | 3+ | 6 | 10,7% | 10 | 17,9% | 1 | 3,7% | 2 | 7,4% |

W grupie z rakiem metachronicznym częściej nie stwierdzano ekspresji receptorów steroidowych w guzach obu gruczołów piersiowych, natomiast w grupie z rakiem synchronicznym notowano częstszą obecność ekspresji receptorów steroidowych w obu guzach. U pacjentek z metachronicznym rakiem piersi, w raku drugiej piersi stwierdzano wyższy odsetek ekspresji białka p53 oraz Ki67. W grupie z synchronicznym rakiem piersi w obu guzach wykazano częściej dodatnie białko p53 oraz Ki67. Pacjentki z rakiem metachronicznym w obu guzach miały częstszą nadekspresję HER2. W obu grupach badanych wykazano podobny odsetek guzów ujemnych HER2, ale w u pacjentek z rakiem synchronicznym notowano znaczny odsetek HER2(2+).

3.1.5. Wybrane cechy kliniczne, histopatologiczne, immunohistochemiczne w metachronicznym i synchronicznym raku piersi u pacjentek poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1

Tab. VIII. Odsetek kobiet bez mutacji w genie BRCA1 oraz z obecną mutacją w genie BRCA1 w grupach z metachronicznym i synchronicznym obustronnym rakiem piersi, w grupie 36 kobiet z obustronnym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1

| | Rak metachroniczny | | Rak synchroniczny | |
|----------------------|--------------------|---------|-------------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| BRCA1 ujemny | 18 | 66,6% | 12 | 100,0% |
| BRCA1 dodatni | 6 | 33,3% | 0 | 0,0% |

W grupie z rakiem metachronicznym stwierdzono wyższy odsetek pacjentek bez mutacji w genie BRCA1. U pacjentek z rakiem synchronicznym nie odnotowano nosicieli mutacji BRCA1.

Tab. IX. Wybrane parametry kliniczne w grupie 24 kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: bez mutacji w genie BRCA1 (ujemny) oraz z obecną mutacją w genie BRCA1 (dodatni)

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum |
|---|---------|------|---------|---------|-------|---------|
| BMI (kg/m²) | | | | | | |
| BRCA1 ujemny | 20,5 | 23,9 | 25,6 | 27,6 | 31,4 | 39,1 |
| BRCA1 dodatni | 21,8 | 25,9 | 30,4 | 30 | 33,4 | 38,8 |
| Wiek zachorowania na 1. raka piersi [lata] | | | | | | |
| BRCA1 ujemny | 33,0 | 43,3 | 49,0 | 48,4 | 52,8 | 79,0 |
| BRCA1 dodatni | 30,0 | 35,8 | 39,0 | 40,5 | 46,0 | 52,0 |
| Czas do wystąpienia 2. raka piersi [m-ce] | | | | | | |
| BRCA1 ujemny | 21,0 | 38,0 | 71,0 | 83,4 | 129,8 | 168,0 |
| BRCA1 dodatni | 12,0 | 50,8 | 75,0 | 87,3 | 123,2 | 180,0 |

U nosicieli mutacji w genie BRCA1 stwierdzono wyższą medianę i średnią BMI, wcześniejszy wiek zachorowania na raka pierwszej piersi. W grupie bez mutacji w genie BRCA1 notowano nieco krótszy czas do wystąpienia raka w drugiej piersi.

Tab. X. Wybrane parametry kliniczne w grupie 24 kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: bez mutacji w genie BRCA1 (ujemny) oraz z obecną mutacją w genie BRCA1 (dodatni)

| | BRCA1 ujemny | | BRCA1 dodatni | |
|--|--------------|---------|---------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Używki w wywiadzie (palenie papierosów i lub alkohol) | | | | |
| tak | 5 | 20,8% | 1 | 4,2% |
| nie | 13 | 54,2% | 5 | 20,8% |
| Rak piersi w rodzinie | | | | |
| tak | 8 | 33,3% | 4 | 16,7% |
| nie | 10 | 41,7% | 2 | 8,3% |
| Obecność w wywiadzie rodzinnym innych nowotworów | | | | |
| tak | 6 | 25,0% | 2 | 16,7% |
| nie | 12 | 50,0% | 4 | 8,3% |
| Stosowanie terapii hormonalnej w wywiadzie | | | | |
| tak | 0 | 0,0% | 1 | 4,2% |
| nie | 18 | 75,0% | 5 | 20,8% |

Zarówno w grupie nosicielek i nienosicielek mutacji u wyższego odsetka pacjentek nie notowano stosowania używek oraz terapii hormonalnej przed zachorowaniem na raka piersi. U pacjentek z obecną mutacją w genie BRCA1 stwierdzono wyższy odsetek występowania w wywiadzie rodzinnym raka piersi oraz innych nowotworów niż rak piersi. U nienosicielek mutacji BRCA1 częściej nie stwierdzano obecności w rodzinie raka piersi lub innych nowotworów niż rak piersi.

Tab. XI. Parametry kliniczne, histopatologiczne oraz immunohistochemiczne, u 24 kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi (MBC) i oznaczoną mutacją w genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: nienosicielki mutacji (BRCA1 ujemne) oraz nosicielki mutacji (BRCA1 dodatnie)

| MBC n= 24 | | BRCA1 ujemne | | BRCA1 dodatnie | |
|------------------------------|----------------|--------------|---------|----------------|---------|
| | | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Rak piersi w rodzinie | tak | 8 | 33,3% | 4 | 16,6% |
| | nie | 10 | 41,6% | 2 | 8,3% |
| Inne nowotwory w rodzinie | tak | 6 | 25,0% | 2 | 8,3% |
| | nie | 12 | 50,0% | 4 | 16,6% |
| Hormonoterapia w wywiadzie | tak | 0 | 0,0% | 1 | 4,2% |
| | nie | 18 | 75,0% | 5 | 20,1% |
| Diagnoza przed menopauzą | tak | 9 | 37,5% | 4 | 16,6% |
| | nie | 8 | 33,3% | 2 | 8,3% |
| Histopatologia | rak przewodowy | 11 | 45,8% | 4 | 16,6% |
| | rak zrazikowy | 3 | 12,5% | 0 | 0,0% |
| | inne | 4 | 16,6% | 2 | 8,3% |
| Stopień złośliwości guza (G) | 1 | 3 | 8,3% | 0 | 0,0% |
| | 2 | 8 | 33,3% | 0 | 0,0% |
| | 3 | 6 | 25,0% | 5 | 20,8% |
| | x | 1 | 4,2% | 1 | 4,2% |
| Wielkość guza (cT) | 1 | 3 | 12,5% | 0 | 0,0% |
| | 2 | 13 | 54,2% | 2 | 8,3% |
| | 3 | 1 | 4,2% | 4 | 16,6% |
| | x | 1 | 4,2% | 0 | 0,0% |
| Węzły chłonne (cN) | 0 | 5 | 20,8% | 1 | 4,2% |
| | 1 | 13 | 54,2% | 5 | 20,8% |
| Węzły chłonne (pN) | 0 | 14 | 58,3% | 4 | 16,6% |
| | 1 | 3 | 12,5% | 3 | 12,5% |
| | x | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% |
| Wieloogniskowość | tak | 0 | 0,0% | 0 | 0,0% |
| | nie | 18 | 75,0% | 6 | 25,0% |
| ER | + | 12 | 50,0% | 0 | 0,0% |
| | - | 6 | 25,0% | 6 | 25,0% |
| PgR | + | 11 | 45,8% | 0 | 0,0% |
| | - | 7 | 29,2% | 6 | 25,0% |

| MBC n= 24 | | BRCA1 ujemne | | BRCA1 dodatnie | |
|-----------|----|--------------|---------|----------------|---------|
| | | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| P53 | + | 7 | 29,2% | 4 | 16,6% |
| | - | 11 | 45,8% | 2 | 8,3% |
| Ki67 | + | 11 | 45,8% | 2 | 8,3% |
| | - | 7 | 29,2% | 4 | 16,6% |
| HER2 | 0 | 7 | 29,2% | 3 | 12,5% |
| | 1+ | 8 | 33,3% | 2 | 8,3% |
| | 2+ | 1 | 4,2% | 1 | 4,2% |
| | 3+ | 2 | 8,3% | 0 | 0,0% |

W grupach nosicielek i nienosicielek mutacji BRCA1 częstsze zachorowania przed menopauzą, stwierdzano wyższe odsetki raków przewodowych.

3.2. Histopatologiczne opracowanie materiału

Materiał tkankowy utrwalono w 10% buforowanej formalinie, następnie odwodniono przeprowadzając przez szereg alkoholi: 50%, 70%, 96%, 96%, 99,9%, 99,9%, aceton oraz prześwietlono w ksylenie.

W kolejnym etapie zatapiano w parafinie w temp. 58 °C wg klasycznych metod histopatologicznych.

Z bloczków parafinowych skrojono skrawki o grubości 5 µm, nakładano je na szkiełka SuperFrost Plus i pozostawiono na 2 h w temp. 58 °C. Skrawki odparafinowano w ksylenie przez noc, nawadniano w szeregu 99,9 %, 99,9%, 96%, 96%, 75% i płukano w wodzie destylowanej.

3.3. Metody immunohistochemiczne

3.3.1. Odczynniki i immunoreagenty

- TBS – sól fizjologiczna buforowana za pomocą Tris/HCl (TBS firmy DAKO; Code No: S 1968)
- Tris: (trójhydroksymetyloaminometan)
- 1% roztwór albuminy

Przygotowanie: 0,1 g albuminy rozpuszczono w 10 ml wody destylowanej.

- DAB Substrate - Chromogen System (firmy DAKO; Code No: K 3466).
- Bufor cytrynianowy o pH 6,0 do kuchenki mikrofalowej

* Entellan - balsam stosowany do zaklejania szkiełek nakrywkowych

* Hematoksylina Mayer'a.

* Immunoreagenty:

- monoklonalne przeciwciało mysie p/ludzkiemu receptorowi alfa dla estrogenu (firma DAKO Denmark A/S, Klon 1D5, No: M 7047)
- monoklonalne przeciwciało mysie p/ludzkiemu receptorowi dla progesteronu (firma DAKO Denmark A/S, Klon PgR 636, No: M 3569)
- monoklonalne przeciwciało mysie p/ludzkiemu antygenowi Ki-67 (firma DAKO Denmark A/S, Klon MIB-1, No: M 7240)

- monoklonalne przeciwciało mysie p/ludzkemu białku p53 (firma DAKO Denmark A/S, Klon DO-7, No M 7001)
- EnVision+™/HRP Mouse, Code K 4001 DAKO Denmark A/S
- DAKO Hercep Test

3.3.2. Reakcje kontrolne

Kontrole pozytywne dla wykonanych oznaczeń stanowiły skrawki raka gruczołu piersiowego, w których wcześniej uwidoczniono pozytywny odczyn badanych markerów. Dla oceny ekspresji HER2 wykorzystano pozytywną kontrolę zestawu nr: K5204 i tkankę z raka gruczołu piersiowego (Score 2).

3.3.3. Oznaczenia immunohistochemiczne

3.3.3.1. Wykrywanie receptorów dla estrogenów i progesteronu oraz antygenu proliferacji Ki 67 i białka p53 metodą EnVision+™/HRP (Mouse)

- a) Skrawki inkubowano w cieplarni 60 °C przez 24h.
- b) Skrawki odparafinowano w ksylenie, przeprowadzono przez szereg alkoholi do wody destylowanej.
- c) Do oceny ER, PgR, Ki67 użyte preparaty inkubowano w łaźni wodnej w Dako Target Retrieval Solution x 10 (S1699) – przez 20-40 min. w temperaturze buforu 95-99 °C. Do oceny p53 preparaty podgrzewano w kuchence mikrofalowej o mocy 250W. W kolejnym etapie badania, preparaty studzono w tym samym buforze 20 min.
- d) Płukano w buforze TBS przez 10 min
- e) Blokowano aktywność endogennej peroksydazy w 3% roztworze nadtlenku wodoru
- f) Preparaty płukano w bieżącej wodzie – 10 min, w buforze TBS – 5 min
- g) Inkubowano skrawki z mysim p/ciałem
 - anty – ER 1 : 50 przez 60 min.
 - anty – PgR 1 : 100 przez 60 min.
 - anty – Ki67 1 : 500 przez 60 min.
 - anty – p53 1 : 200 przez 60 min.

- h) Preparaty płukano w TBS przez 10 min.
- i) Inkubowano skrawki z kompleksem EnVision/HRP przez 30 min
- j) Płukano preparaty w TBS przez 10 min.
- k) Inkubowano skrawki z DAB przez 2 min.
- l) Płukano preparaty w TBS, następnie pozostawiono w wodzie destylowanej.
- m) Podbarwiono jądra komórkowe hematoksyliną Mayer'a i pozostawiono w wodzie aż do zniebieszczenia.
- n) Przeprowadzono preparaty przez szereg alkoholi, odwodniono w ksylenie i zatopiono w medium.

3.3.3.2. Ocena ekspresji białka HER2 przy użyciu DAKO HerceptTest

- a) Skrawki inkubowano przez 2 h w cieplarni w temperaturze 58 °C.
- b) Preparaty odparafinowano w ksylenie i przeprowadzono przez szereg alkoholi do wody destylowanej.
- c) Odślonięcie epitopu (epitope retrieval)
 - Epitope Retrieval Solution - rozcieńczono 1 : 10, np.: 10ml stężonego buforu + 90 ml wody destylowanej
 - podgrzewano preparaty w łaźni wodnej o temperaturze 95-99 °C przez 40 min ostudzono preparaty - około 20 min.
 - płukano w Wash Buffer Solution – rozcieńczono 1 : 10, np.: 10 ml stężonego buforu + 90 ml wody destylowanej.
- d) Blokowano aktywność endogennej peroksydazy przez 10 min.
 - płukano w wodzie destylowanej przez 5 min.
 - płukano w TBS przez 5 min.
- e) Inkubowano z przeciwciałem Rb A-Hu HER2 Protein przez 30 min płukano w rozcieńczonym buforze Wash Buffer Solution przez 10 min.
- f) Inkubowano z Visualization Reagent przez 30 min. - płukano w TBS przez 10 min.
- g) DAB – 10 min.
- h) Podbarwiono skrawki hematoksyliną.
- i) Przeprowadzono preparaty przez szereg alkoholi, odwodniono w ksylenie i zatopiono w medium.
- j) Montowanie.

3.3.3.3. Wykrywanie amplifikacji genu HER2 techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH)

Dzień 1

1. Odparafinowanie skrawków

- a) do kominka zawierającego 50 ml ksylenu wkładano max. 6 szkiełek, 2 x 10 min
- b) przenoszono skrawki do kominka ze 100% alkoholem absolutnym, 2 x 5 min
- c) przeprowadzono skrawki przez szereg alkoholi
- d) po wyjęciu szkiełka suszono na powietrzu, ok. 15 min.
- e) skrawki przenoszono do 0,2 N HCl w temperaturze pokojowej około 20 min.

2. Trawienie

- a) wkładano preparaty na 25 min do łaźni wodnej z 30% Pretreatment Solution (PS) ogrzanym do 80 st.C
- b) preparaty płuczono w 2xSSC (5-10 sek.) w temp. pokojowej
- c) skrawki inkubowano w roztworze proteinazy (Protein Digesting Solution) w temp. 42st.C przez 15 min.
- d) preparaty płuczono w 2xSSC (5-10 sek.) w temp. Pokojowej
- e) suszono szkiełka na powietrzu

3. Ocena stopnia trawienia tkanki

- a) Nakładano ok. 10-15 µl jodku/Antifade na preparat i przykryto szkiełkiem nakrywkowym,
- b) przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego oceniano stopień strawienia tkanki
- c) gdy tkanka odpowiednio strawiona, usuwano szkiełko nakrywkowe i płukano w 2xSSC przez 5-10 sek.
- d) odwadniano skrawki w rosnących stężeniach alkoholu: 70%, 80%, 95% (po 1 min. każde)
- e) suszono szkiełka na powietrzu.

4. Przygotowanie sond

Nakrapiano 10 μ l sondy z zestawu PATH Vysion LSI HER-2/neu SO/CEP 17SG Probe.

5. Hybrydyzacja

- a) po włączeniu płyty grzewczej ustawiano ją na 72 °C
- b) umieszczano komorę wilgotną w cieplarni 37 °C
- c) nakładano 10 μ l mieszaniny sond na preparat i nakrywano go szkiełkiem nakrywkowym
- d) umieszczano preparaty na płycie grzewczej, ok. 5 min. denaturacja
- e) przenoszono preparaty do podgrzanej wcześniej komory wilgotnej (37°C)- przez całą noc hybrydyzacja w temp. 37 °C

Dzień 2

6. Płukanie po hybrydyzacji

1. po ogrzaniu łaźni wodnej do temp. 72 °C umieszczano w niej kominek.
2. w buforze Wash Buffer usuwano szkiełko nakrywkowe i klej
3. przenoszono preparaty do nagrzanego Post – hybridization Buffer – 72 °C.
4. przenoszono preparaty do kominka z roztworem 1xPBD, w temp. pokojowej przez 5 min.

7. Detekcja

Po nałożeniu na skrawek ok. 15 μ l DAPI/Antifade, przykryciu szkiełkiem nakrywkowym, przeprowadzano ocenę pod mikroskopem fluorescencyjnym.

3.3.4. Kryteria oceny reakcji immunohistochemicznych

Ocenę o charakterze półilościowym przeprowadzono w mikroskopie świetlnym. Reakcje barwne oceniano w jądrach komórkowych (dla ER, PgR, p53, Ki67) oraz w błonie komórkowej (dla HER-2). W przypadku ER, PgR wyniki określano jako:

- ujemne [-], jeżeli nie zaobserwowano zabarwienia
- dodatnie [+], jeżeli do 10%
- silnie dodatnie [++], jeżeli stwierdzano zabarwienie w ponad 10% komórek
- bardzo silnie dodatnie [+++], jeżeli zabarwienie w ponad 75% badanych struktur

Do opracowania statystycznego przyjęto podział wyników na dwie grupy,

- wyniki ujemne [-],
- wyniki dodatnie [+,,+,+++].

W przypadku p53 i Ki67 wyniki określano jako:

- ujemny [-], jeżeli nie zaobserwowano zabarwienia,
- dodatni:
 - [10%] - jeżeli zabarwienie zaobserwowano w pojedynczych jądrach komórkowych;
 - [50%] - jeżeli zabarwienie stwierdzono w mniej niż połowie badanych jąder komórkowych
 - [$>50\%$] - jeżeli wybarwiła się ponad połowa jąder komórkowych.

Wyniki badania HER2 interpretowano w następujący sposób:

- [0]- negatywny, brak zabarwienia lub zabarwienie błonowe obserwowane w mniej niż 10% komórek nowotworowych
- [1+]- negatywny, słabe, ledwo widoczne zabarwienie błonowe, zauważalne w więcej niż 10%

komórek nowotworowych; błony komórkowe zabarwione częściowo

- [2+]- słabo pozytywny, zabarwienie słabe do średniego, kompletne zabarwienie błonowe zauważalne w więcej niż w 10% komórek nowotworowych
- [3+]- silne, całkowite zabarwienie błonowe obserwowane w więcej niż w 10% komórek nowotworowych

3.3.5. Interpretacja wyników HER2 ocenianych metodą FISH

Wynik dodatni – obecna amplifikacja genu HER2/ CEP17 ratio $> 2,2$

Wynik ujemny – brak amplifikacji genu HER2/ CEP 17 ratio $< 2,2$

CEP17 (chromosome enumeration probe 17)

3.4. Ocena statystyczna

Dane do badania pochodziły z dwóch grup niezależnych: pacjentki z rakiem synchronicznym i metachronicznym.

Do analizy normalności rozkładów, użyto testu Shapiro-Wilka, który wykazał:

brak rozkładu normalnego dla wieku zachorowania na pierwszego raka piersi,

brak rozkładu normalnego dla wieku zachorowania na drugiego raka piersi.

brak rozkładu normalnego dla wieku zachorowania na pierwszego raka piersi z uwzględnieniem wywiadu rodzinnego,

brak rozkładu normalnego dla wieku zachorowania na pierwszego raka piersi z uwzględnieniem wywiadu rodzinnego dotyczącego innych nowotworów niż rak piersi,

brak rozkładu normalnego dla wieku zachorowania na pierwszego raka piersi z uwzględnieniem stosowania używek (palenie i lub alkohol),

brak rozkładu normalnego dla wieku zachorowania na pierwszego raka piersi z uwzględnieniem podziału na grupy pacjentek, które rodziły i nie rodziły,

brak rozkładu normalnego dla wieku zachorowania na pierwszego raka piersi z uwzględnieniem badań mutacji genu BRCA1,

brak rozkładu normalnego dla wieku pierwszej miesiączki,

brak rozkładu normalnego dla wieku ostatniej miesiączki,

brak rozkładu normalnego dla BMI.

Do testu hipotez statystycznych użyto nieparametrycznego testu zgodności dwóch populacji Manna-Witneya-Wilcoxa.

Do analizy korelacji pomiędzy rodzajem raka piersi, a cechami klinicznymi użyto testu niezależności χ^2 Pearsona. W szczególnych przypadkach, dla grup małolicznych (liczebność w klasach poniżej 5), stosowano dokładny test Fishera.

Do analizy zgodności par cech klinicznych i biologicznych pomiędzy pierwszą i drugą piersią użyto testu zgodności znaku. Test znaku (Sign test) użyty dla:

hipotezy zerowej o zgodności cech w obu piersiach,

hipotezy zerowej, cechy kliniczne i biologiczne w pierwszej piersi są gorsze niż w drugiej piersi.

Do analizy prawdopodobieństwa wystąpienia drugiego raka piersi (metachronicznego) w korelacji z cechami klinicznymi i biologicznymi użyto Estymator Kaplana-Meiera.

Wszystkie dane są niecenzurowane, tj. u wszystkich badanych pacjentek z rakiem

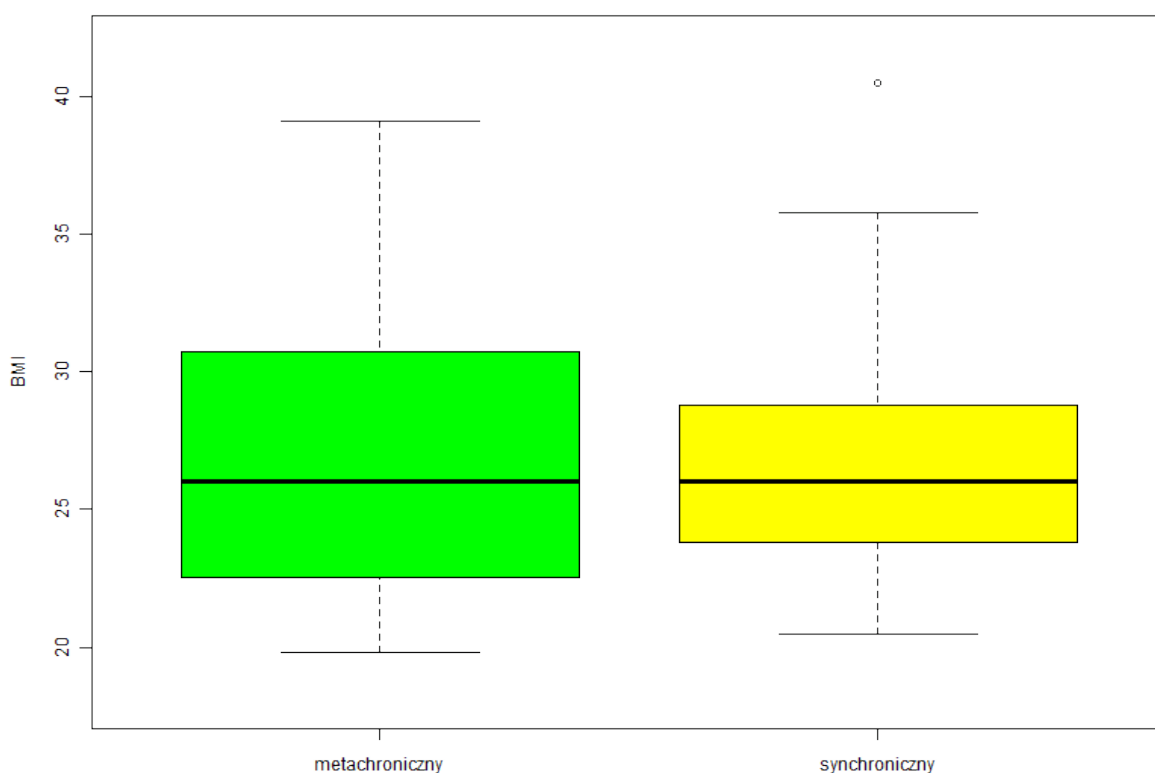
metachronicznym wystąpił drugi rak piersi.

4. WYNIKI

4.1. Analiza cech klinicznych pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi

Przeanalizowano związek pomiędzy postaciami obustronnego raka piersi a wskaźnikiem masy ciała (BMI). Wynik przedstawia rycina 1.

Rycina 1. Mediana BMI dla pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi

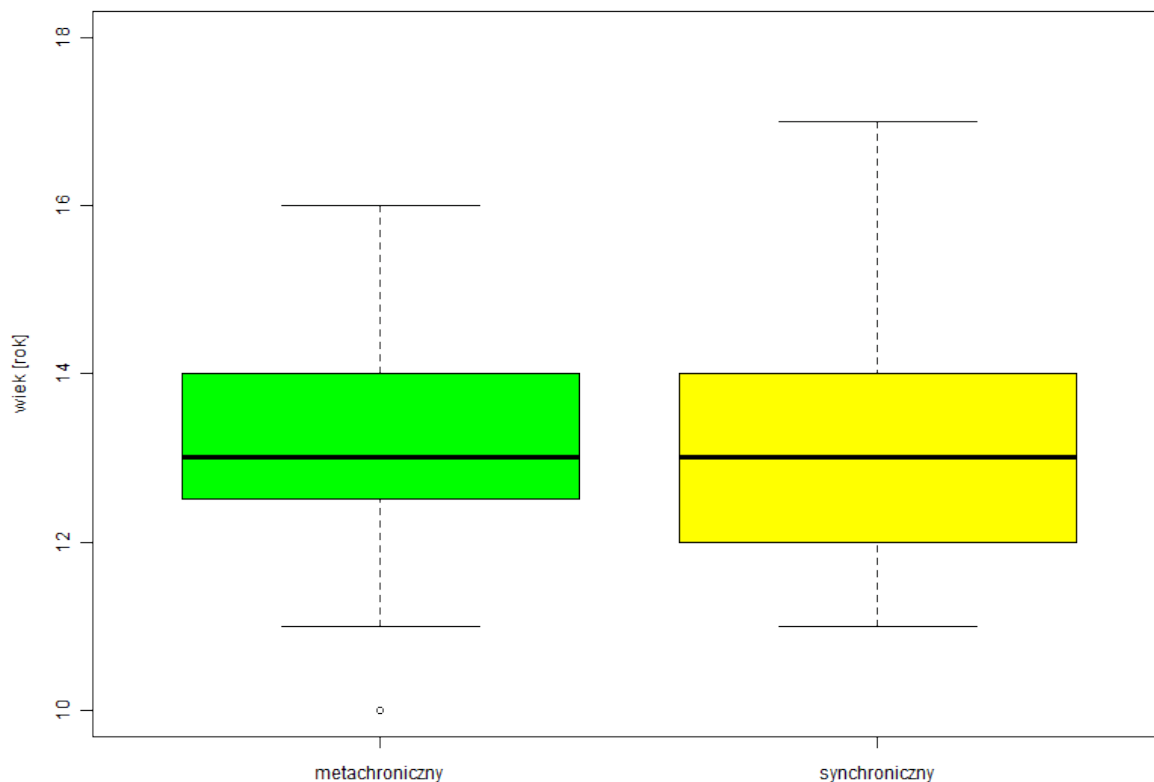


Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy wskaźnikiem masy ciała u kobiet z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi, $p = 0,84$

W grupie z rakiem metachronicznym minimalna wartość BMI wynosiła 19,8 kg/m², maksymalna wartość BMI - 39 kg/m².

W grupie z rakiem synchronicznym minimalna wartość BMI wynosiła 20,5 kg/m², maksymalna wartość BMI – 40,5 kg/m².

Poszukiwano związku pomiędzy wiekiem wystąpienia pierwszej miesiączki a postacią obustronnego raka piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 2.



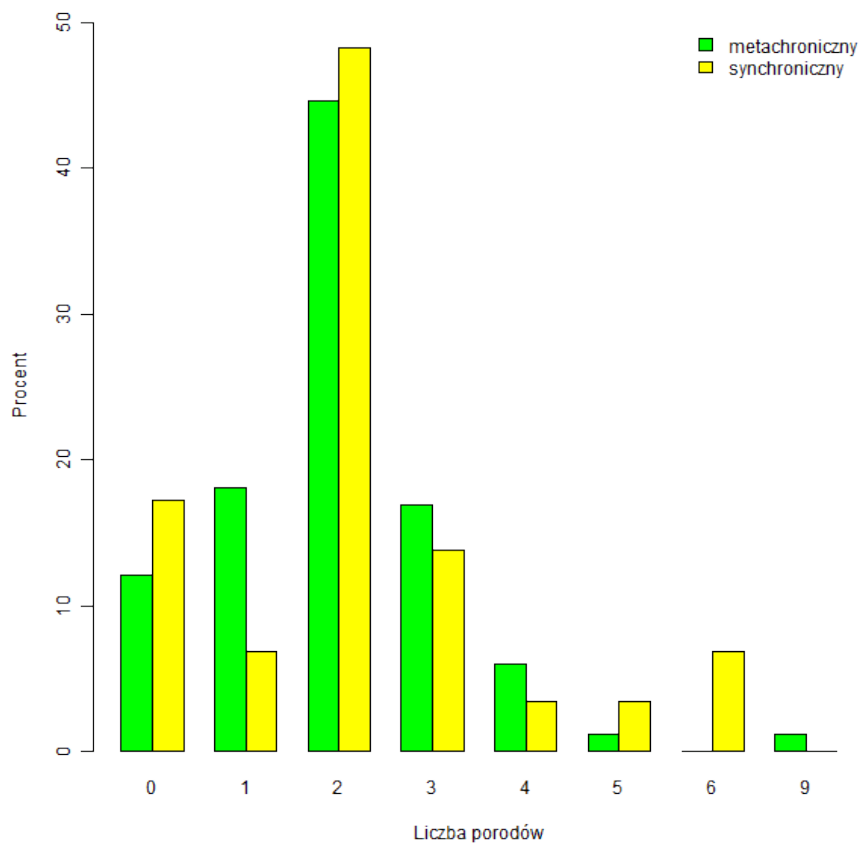
Rycina 2. Mediana wieku pierwszej miesiączki u kobiet z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi

Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy wiekiem wystąpienia pierwszej miesiączki u kobiet z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi, $p = 0,23$

W grupie z rakiem metachronicznym minimalna wartość wieku pierwszej miesiączki wynosiła 10 lat, maksymalna wartość wieku pierwszej miesiączki – 16 lat.

W grupie z rakiem synchronicznym minimalna wartość wieku pierwszej miesiączki wynosiła 11 lat, maksymalna wartość wieku pierwszej miesiączki wynosiła 17 lat.

Porównano procentowy rozkład liczby porodów w grupach pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 3.

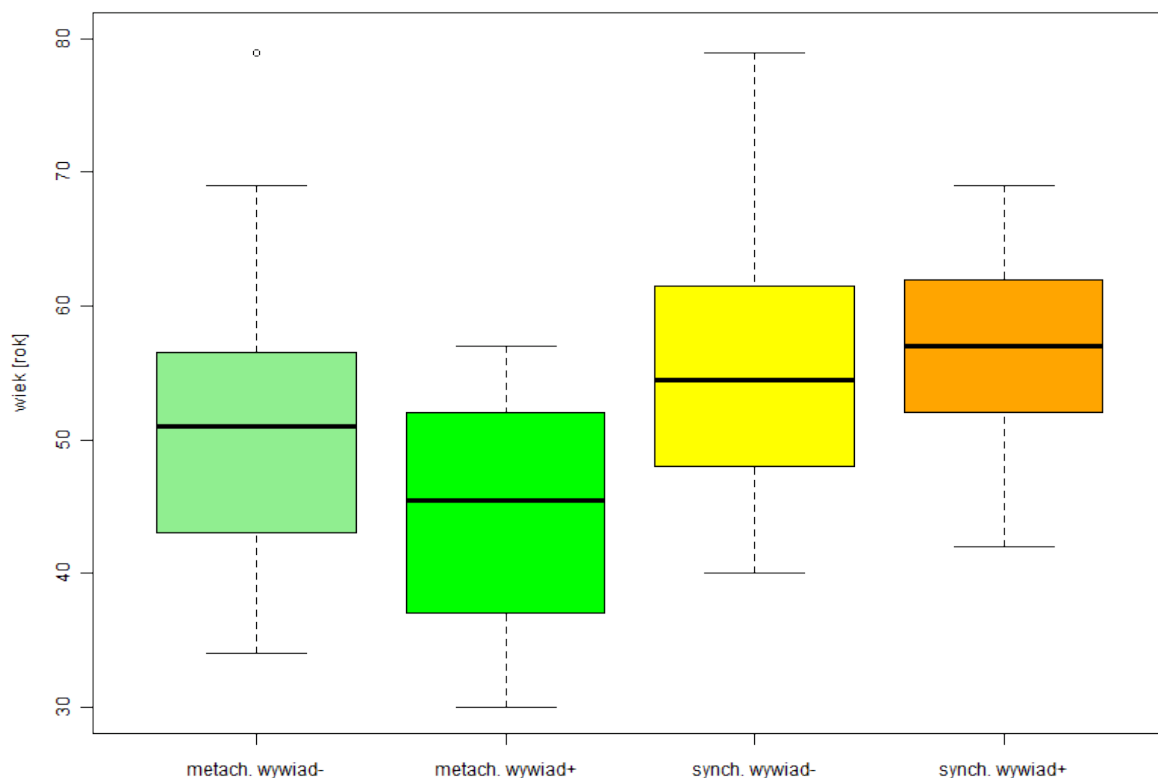


Rycina 3. Procentowy rozkład liczby porodów w grupach pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w liczbie porodów pomiędzy grupami z synchronicznym i metachronicznym rakiem piersi, $p = 0,22$

Zarówno w grupie z metachronicznym jak i synchronicznym rakiem piersi najczęściej stwierdzano występowanie dwóch porodów.

Korelacja pomiędzy wiekiem zachorowania na pierwszego raka piersi w grupach metachronicznego i synchronicznego raka piersi z uwzględnieniem wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 4.



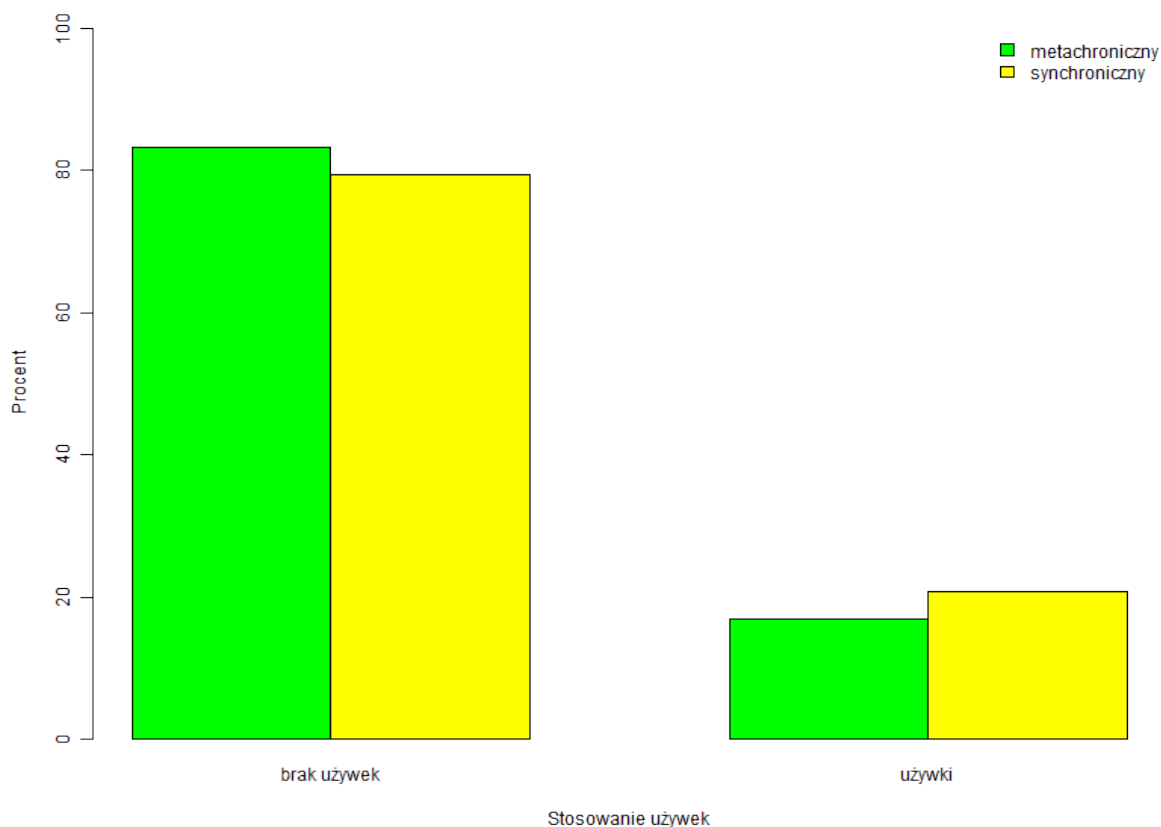
Rycina 4. Mediana zachorowania na pierwszego raka piersi w grupach metachronicznego i synchronicznego raka piersi z uwzględnieniem wywiadu rodzinnego pod kątem raka piersi

Wiek zachorowania na pierwszego raka piersi jest statystycznie istotnie wyższy w grupie synchronicznego raka piersi, $p=0,0003$. Uwzględniając dodatni wywiad rodzinny w kierunku występowania raka piersi, stwierdzono w grupie z synchronicznym rakiem piersi statystycznie nieistotny wyższy wiek pierwszego zachorowania w porównaniu do pacjentek bez wywiadu rodzinnego, $p=0,3$. Uwzględniając dodatni wywiad rodzinny w kierunku występowania raka piersi, stwierdzono w grupie z metachronicznym rakiem piersi statystycznie istotny niższy wiek pierwszego zachorowania w porównaniu do pacjentek bez wywiadu rodzinnego, $p=0,006$

Najwcześniejszy wiek zachorowania na obustronnego raka piersi stwierdzono w grupie z metachronicznym rakiem piersi, z dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku raka piersi. Mediana zachorowania wynosiła 45,5 lat.

Najpóźniejszy wiek zachorowania na obustronnego raka piersi stwierdzono w grupie z synchronicznym rakiem piersi, z dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku raka piersi. Mediana zachorowania wynosiła 57 lat.

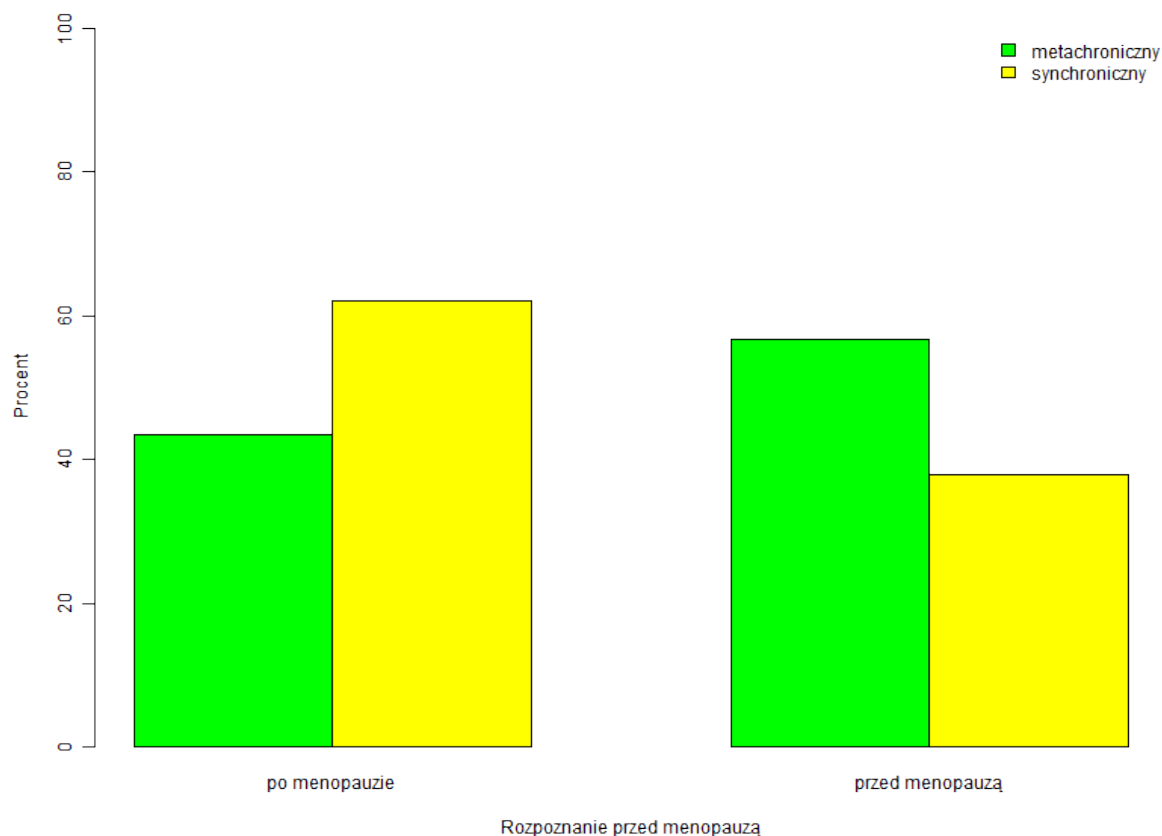
Badano, czy istnieje korelacja pomiędzy stosowaniem używek a rodzajem obustronnego raka piersi w grupach z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 5.



Rycina 5. Korelacja pomiędzy stosowaniem używek a rodzajem obustronnego raka piersi (metachroniczny, synchroniczny)

Nie stwierdzono statystycznie istotnego związku pomiędzy stosowaniem używek a rodzajem obustronnego raka piersi, test χ^2 $p = 0,74$ test Fisher $p = 0,79$

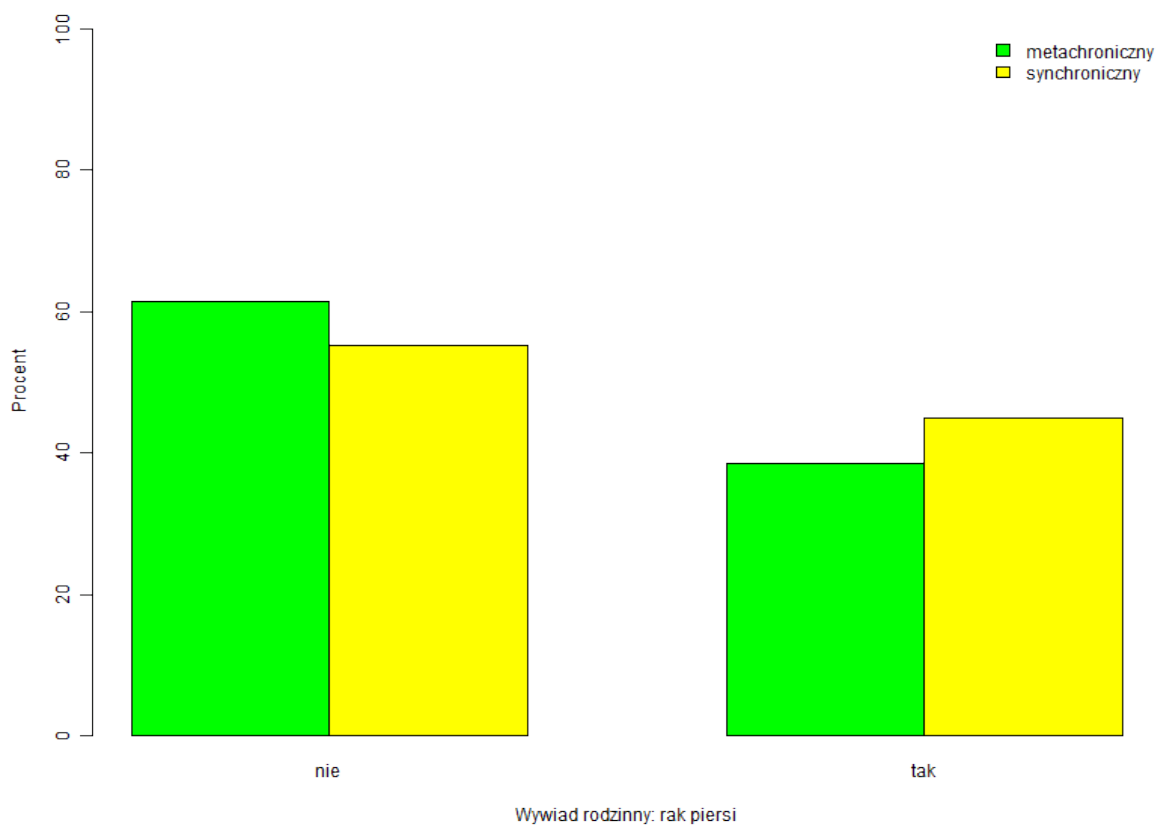
Badano, czy istnieje korelacja pomiędzy stanem menopauzalnym a rodzajem obustronnego raka piersi w grupach z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 6.



Rycina 6. Korelacja pomiędzy stanem menopauzalnym a rodzajem obustronnego raka piersi (metachroniczny, synchroniczny)

Wykazano znaczenie stanu menopauzalnego w zachorowaniu na metachronicznego raka piersi. W grupie pacjentek z metachronicznym rakiem piersi częściej stwierdzano zachorowania w wieku przed menopauzą. W grupie z rakiem synchronicznym pacjentki częściej znajdowały się w wieku po menopauzie. Nie stwierdzono istotności statystycznej, test χ^2 $p = 0,11$ test Fisher $p = 0,09$

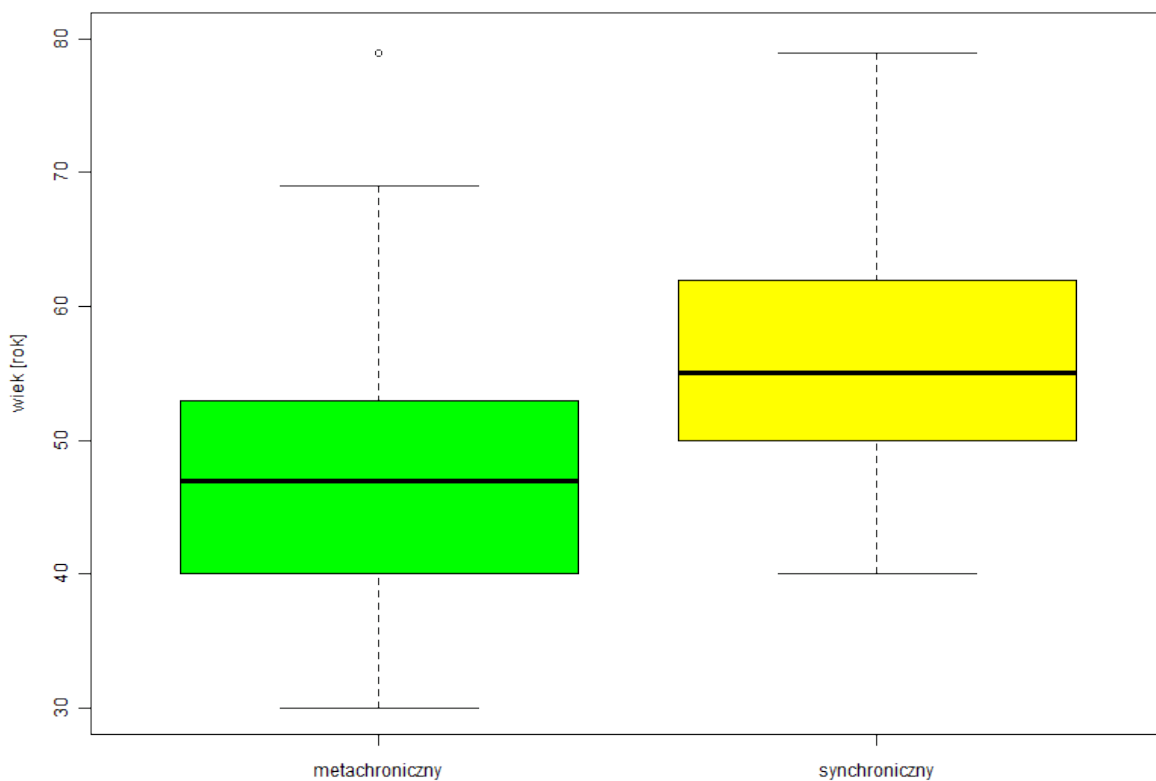
Badano związek pomiędzy występowaniem raka piersi w rodzinie a rodzajem obustronnego raka piersi w grupach z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 7.



Rycina 7. Korelacja pomiędzy obecnością raka piersi w rodzinie a rodzajem obustronnego raka piersi (metachroniczny, synchroniczny)

Nie stwierdzono statystycznie istotnego związku pomiędzy obecnością raka piersi w rodzinie a rodzajem obustronnego raka piersi, test χ^2 $p = 0,71$ test Fisher $p = 0,66$

Przeanalizowano związek pomiędzy wiekiem zachorowania na pierwszego raka piersi a postacią obustronnego raka piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 8.



Rycina 8. Mediana wieku zachorowania na pierwszego raka piersi u pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi

Wykazano statystycznie istotną różnicę wieku zachorowania pomiędzy grupami z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi, $p = 0,0003$

Stwierdzono niższą medianę wieku zachorowania u pacjentek z metachronicznym rakiem piersi – 47 lat, wyższą medianę wieku zachorowania u pacjentek z synchronicznym rakiem piersi – 55 lat.

Analizowano korelację pomiędzy czynnikami klinicznymi a wiekiem zachorowania na pierwszego raka piersi w obustronnym raku piersi metachronicznym (MRP) i synchronicznym (SRP) – przy zastosowaniu testu Kruskala – Wallisa

*BMI a wiek zachorowania na 1.raka: MRP p= 0,54

SRP p= 0,18

*liczba porodów a wiek zachorowania na 1. raka MRP p= 0,13

SRP p= 0,23

*używkki a wiek zachorowania na 1. raka: MRP p= 0,62

SRP p= 0,09

*wystąpienie raka piersi w rodzinie a wiek zachorowania na 1.raka: MRP p= 0,01

SRP p= 0,53

Wykazano obecność nieistotnej statystycznie zależności pomiędzy stosowaniem używek a wiekiem zachorowania na pierwszego raka piersi.

Nie stwierdzono korelacji pomiędzy wiekiem zachorowania na raka w pierwszej piersi a BMI, liczbą porodów, wystąpieniem raka piersi w rodzinie.

Tab. XII. Ocena korelacji pomiędzy wybraną cechą a rodzajem obustronnego raka piersi (ORP). Dane kliniczne grupy 112 kobiet, z uwzględnieniem dwóch podgrup: synchroniczny obustronny rak piersi (29 kobiet), metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety)

| | Rak metachroniczny | | Rak synchroniczny | | Korelacja pomiędzy cechą a rodzajem ORP |
|--|--------------------|---------|-------------------|---------|---|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | p |
| Rodzilo | 73 | 88,0% | 24 | 82,8% | 0,53 |
| Leczenie hormonalne w wywiadzie | 10 | 12,0% | 4 | 13,8% | 0,75 |
| Palenie tytoniu | 13 | 15,7% | 6 | 20,7% | 0,78 |
| Rak piersi w rodzinie | 32 | 38,6% | 13 | 44,8% | 0,66 |
| Rak jajnika w rodzinie | 1 | 1,2% | 0 | 0,0% | |
| Inne nowotwory w rodzinie | 22 | 26,5% | 9 | 31,0% | 0,64 |
| 1 rak piersi przed menopauzą | 47 | 57,3% | 11 | 37,9% | |
| 2 rak piersi przed menopauzą | 10 | 12,0% | 9 | 31,0% | |

W grupie z synchronicznym rakiem piersi stwierdzono statystycznie nieistotny wyższy odsetek palących w porównaniu do grupy z metachronicznym rakiem piersi. Nie wykazano korelacji pomiędzy obecnością raka piersi w rodzinie, raka jajnika lub innych nowotworów w wywiadzie rodzinnym, a rodzajem obustronnego raka piersi.

Tab. XIII. Parametry kliniczne w grupie 112 kobiet z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 pacjentki) oraz synchroniczny obustronny rak piersi (29 pacjentek)

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum | p |
|--|---------|------|-------------|---------|------|---------|-------------|
| BMI (kg/m²) | | | | | | | |
| Metachroniczny | 19,8 | 22,5 | 26,0 | 27,0 | 30,7 | 39,1 | 0,84 |
| Synchroniczny | 20,5 | 23,8 | 26,0 | 27,3 | 28,8 | 40,5 | |
| Wiek 1.raka piersi (lata) | | | | | | | |
| Metachroniczny | 30,0 | 40,0 | 47,0 | 48,0 | 53,0 | 79,0 | 0 |
| Synchroniczny | 40,0 | 50,0 | 55,0 | 55,9 | 62,0 | 79,0 | |
| Wiek 2.raka piersi (lata) | | | | | | | |
| Metachroniczny | 36,0 | 50,0 | 56,0 | 56,3 | 61,5 | 91,0 | 0,51 |
| Synchroniczny | 40,0 | 50,0 | 55,0 | 55,9 | 62,0 | 79,0 | |
| Wiek 1. raka piersi metachroniczny wywiad rodzinny w kierunku raka piersi | | | | | | | |
| Metachroniczny wywiad(+) | 30,0 | 37,0 | 45,5 | 44,2 | 52,0 | 57,0 | 0,01 |
| Metachroniczny wywiad(-) | 34,0 | 43,0 | 51,0 | 50,7 | 56,5 | 79,0 | |
| Wiek 1. raka piersi synchroniczny wywiad rodzinny w kierunku raka piersi | | | | | | | |
| Synchroniczny wywiad(+) | 42,0 | 52,0 | 57,0 | 56,9 | 62,0 | 69,0 | 0,28 |
| Synchroniczny wywiad(-) | 40,0 | 48,5 | 54,5 | 55,2 | 61,3 | 79,0 | |
| Wiek 1. raka piersi metachroniczny (lata) inne nowotwory w rodzinie | | | | | | | |
| Metachroniczny w rodz.(+) | 35,0 | 43,0 | 48,5 | 49,9 | 55,3 | 79,0 | 0,27 |
| Metachroniczny w rodz.(-) | 30,0 | 40,0 | 47,0 | 47,5 | 53,0 | 69,0 | |
| Wiek 1. raka piersi synchroniczny (lata) inne nowotwory w rodzinie | | | | | | | |
| Synchroniczny w rodz.(+) | 40,0 | 46,0 | 53,0 | 52,3 | 57,0 | 67,0 | 0,08 |
| Synchroniczny w rodz.(-) | 44,0 | 51,5 | 57,0 | 57,6 | 62,5 | 79,0 | |
| Wiek 1. raka piersi metachroniczny (lata) stosowanie używek | | | | | | | |
| Metachroniczny używki(+) | 37,0 | 46,3 | 49,5 | 49,9 | 53,5 | 68,0 | 0,20 |
| Metachroniczny używki(-) | 30,0 | 40,0 | 47,0 | 47,8 | 53,0 | 79,0 | |

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum | p |
|---|---------|------|-------------|---------|------|---------|-------------|
| Wiek 1. raka piersi synchroniczny (lata) stosowanie używek | | | | | | | |
| Synchroniczny używki(+) | 40,0 | 44,5 | 49,5 | 50,2 | 56,0 | 61,0 | 0,05 |
| Synchroniczny używki(-) | 42,0 | 52,0 | 56,0 | 57,5 | 63,0 | 79,0 | |
| Wiek 1. raka piersi metachroniczny (lata) vs porody | | | | | | | |
| Metachroniczny porody(+) | 30,0 | 40,0 | 48,0 | 48,8 | 55,0 | 79,0 | 0,07 |
| Metachroniczny porody(-) | 38,0 | 38,3 | 43,0 | 43,9 | 49,3 | 53,0 | |
| Wiek 1. raka piersi synchroniczny (lata) vs porody | | | | | | | |
| Synchroniczny porody(+) | 40,0 | 49,3 | 57,5 | 56,8 | 62,5 | 79,0 | 0,12 |
| Synchroniczny porody(-) | 49,0 | 52,0 | 53,0 | 52,2 | 53,0 | 54,0 | |
| Wiek 1. miesiączki (lata) | | | | | | | |
| Metachroniczny | 10,0 | 12,5 | 13,0 | 13,3 | 14,0 | 16,0 | 0,31 |
| Synchroniczny | 11,0 | 12,0 | 13,0 | 13,3 | 14,0 | 17,0 | |
| Wiek ostatniej miesiączki (lata) | | | | | | | |
| Metachroniczny | 35,0 | 43,5 | 48,0 | 46,7 | 50,5 | 59,0 | 0,12 |
| Synchroniczny | 40,0 | 45,0 | 49,0 | 48,2 | 52,0 | 54,0 | |
| Czas do zachorowania na 2.raka piersi (miesiące) | | | | | | | |
| Metachroniczny | 11 | 47 | 80 | 94 | 129 | 360 | |
| Synchroniczny | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Wykazano statystycznie nieistotne wyższe BMI w grupie z synchronicznym rakiem piersi $p=0,84$.

Stwierdzono statystycznie istotny niższy średni wiek zachorowania na raka w grupie pacjentek z rakiem metachronicznym, w porównaniu do pacjentek z rakiem synchronicznym $p = 0,0003$. Istotnie wcześniejszy wiek zachorowania na raka w pierwszej piersi odnotowano w grupie z metachronicznym rakiem piersi oraz dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku występowania raka piersi, w porównaniu do grupy bez wywiadu rodzinnego $p = 0,006$.

W grupie z synchronicznym rakiem piersi i obecnym wywiadem rodzinnym w kierunku raka piersi stwierdzono nieistotny statystycznie wyższy wiek zachorowania na raka piersi w porównaniu do pacjentek bez wywiadu rodzinnego $p = 0,27$.

Stwierdzono statystycznie nieistotny niższy wiek zachorowania w grupie z rakiem

synchronicznym i występowaniem innego nowotworu niż rak piersi w rodzinie w porównaniu do grupy bez wywiadu rodzinnego $p = 0,08$.

Wykazano statystycznie nieistotny wyższy wiek zachorowania w grupie z metachronicznym rakiem piersi, w której zgłaszano stosowanie używek, w porównaniu do grupy bez używek $p = 0,20$.

W grupie z synchronicznym rakiem piersi zgłaszającej stosowanie używek, stwierdzono statystycznie nieistotny niższy wiek zachorowania w porównaniu do grupy bez używek $p = 0,05$.

W grupie pacjentek, które rodziły, zarówno z metachronicznym jak i synchronicznym rakiem piersi, stwierdzono statystycznie nieistotny wyższy wiek zachorowania w porównaniu do grupy pacjentek, które nie rodziły – odpowiednio $p = 0,07$, $p = 0,12$.

Nie wykazano korelacji pomiędzy wiekiem pierwszej i ostatniej miesiączki a rodzajem obustronnego raka piersi – odpowiednio $p=0,12$, $p = 0,31$.

Tab. XIV. Rokowanie. Dane z obserwacji całej grupy badanej 112 kobiet z uwzględnieniem dwóch podgrup: metachroniczny obustronny rak piersi (83 kobiety), synchroniczny obustronny rak piersi (29 kobiet)

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum | p |
|---------------------------------------|---------|------|-------------|---------|------|---------|-------------|
| Średni czas do nawrotów (m-ce) | | | | | | | |
| Metachroniczny | 0,0 | 0,0 | 7,0 | 17,6 | 35,0 | 120,0 | 0,14 |
| Synchroniczny | 0,0 | 0,0 | 25,0 | 38,1 | 41,0 | 157,0 | |

Stwierdzono statystycznie nieistotne niższe wartości mediany i średniej czasu do nawrotu choroby nowotworowej w grupie z rakiem metachronicznym $p = 0,14$.

4.2. Badanie cech kliniczno-patologicznych guzów pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi

Tab. XV. Cechy kliniczno – histopatologiczne guzów w grupie 112 kobiet, w tym z metachronicznym (83 kobiety) i synchronicznym (29 kobiet) rakiem piersi. Podano liczebność i wartość procentową poszczególnych parametrów:

synchroniczny 1 – guz pierwszego gruczołu piersiowego

synchroniczny 2 – guz drugiego gruczołu piersiowego

metachroniczny 1 – guz pierwszego gruczołu piersiowego

metachroniczny 2 – guz drugiego gruczołu piersiowego

Ponieważ w grupie raków synchronicznych dwa guzy rozpoznano w tym samym czasie, do oceny statystycznej wybrano guz większy traktując go jako rak pierwszej piersi. Ta cecha w głównej mierze decyduje o możliwości zakresu operacyjnego w raku piersi.

| | Metachroniczny1 | | Metachroniczny2 | | Synchroniczny1 | | Synchroniczny2 | |
|-----------------------|--|---------|-----------------|---------|--|---------|----------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| TNM | | | | | | | | |
| T1 | 24 | 28,9% | 41 | 49,4% | 8 | 27,5% | 23 | 79,3% |
| T2 | 40 | 48,2% | 37 | 44,6% | 15 | 51,7% | 6 | 20,7% |
| T3 | 15 | 18,1% | 4 | 4,8% | 4 | 13,8% | 0 | 0,0% |
| T4 | 4 | 4,8% | 1 | 1,2% | 2 | 6,9% | 0 | 0,0% |
| Zgodność grup | T metach1 > T metach2 → p = 0,002 (brak zgodności) | | | | T synch1 > T synch2 → p = 0,001 (brak zgodności) | | | |
| N0 | 18 | 21,7% | 36 | 43,4% | 5 | 7,2% | 12 | 41,4% |
| N1 | 61 | 73,5% | 40 | 48,2% | 21 | 72,4% | 17 | 58,6% |
| N2 | 4 | 4,8% | 7 | 8,4% | 3 | 10,3% | 0 | 0,0% |
| Zgodność grup | N metach1 > N metach2 → p < 0,01 (brak zgodności) | | | | N synch1 > N synch2 → p < 0,01 (brak zgodności) | | | |
| Histopatologia | | | | | | | | |
| pN- | 41 | 49,4% | 40 | 48,8% | 15 | 51,7% | 18 | 62,1% |
| pN+ | 31 | 37,3% | 22 | 26,5% | 12 | 41,4% | 8 | 27,6% |
| pNx | 11 | 13,3% | 21 | 25,3% | 2 | 6,9% | 3 | 10,3% |
| Zgodność grup | pN metach1 > pN metach2 → p = 0,4 (brak zgodności) | | | | pN synch1 > pN synch2 → p = 0,6 (brak zgodności) | | | |

| | Metachroniczny1 | | Metachroniczny2 | | Synchroniczny1 | | Synchroniczny2 | |
|----------------------|---|---------|-----------------|---------|--|---------|----------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| G1 | 8 | 9,6% | 10 | 12,2% | 7 | 24,1% | 9 | 31,0% |
| G2 | 30 | 36,1% | 32 | 39,0% | 11 | 37,9% | 11 | 37,9% |
| G3 | 29 | 34,9% | 27 | 32,5% | 8 | 27,6% | 3 | 10,3% |
| Gx | 16 | 19,3% | 14 | 16,9% | 3 | 10,3% | 6 | 20,7% |
| Zgodność grup | G metach1 > G metach2 → p = 0,28 (brak zgodności) | | | | G synch1 > G synch2 → p = 0,5 (brak zgodności) | | | |

Nie wykazano zgodności ocenianych parametrów pomiędzy guzem pierwszej i drugiej piersi. To znaczy guzy rozpoznawane w obu gruczołach piersiowych różniły się pod względem wielkości guza, klinicznej i patologicznej oceny zajęcia węzłów chłonnych, stopnia histopatologicznej złośliwości guza.

W grupie z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi stwierdzano istotnie większy rozmiar guza oraz większy kliniczny stopień zajęcia węzłów chłonnych w raku pierwszej piersi w porównaniu do raka piersi przeciwległej.

W grupie z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi stwierdzono nieistotnie większy stopień histopatologicznego zajęcia węzłów chłonnych oraz histopatologicznej złośliwości guza raka w pierwszej piersi.

Tab. XVI. Porównanie parametrów (typ histopatologiczny raka, wielkość guza oceniana klinicznie cT, patologiczna ocena węzłów chłonnych pN, stopień złośliwości histopatologicznej G, wieloogniskowość) w pierwszej i drugiej piersi pod kątem zgodności cech, w grupach z metachronicznym (MRP) i synchronicznym (SRP) obustronnym rakiem piersi

| | Typ histopatologiczny | cT | pN | G | wielo-ogniskowość |
|-----|-----------------------|--------|--------|--------|-------------------|
| MRP | p=0,01 | p<0,01 | p=0,02 | p=0,60 | p=1,00 |
| SRP | p=1,00 | p=0,00 | p=0,40 | p=1,00 | p=1,00 |

Stwierdzono, że oba guzy u pacjentek z metachronicznym i synchronicznym rakiem piersi różniły się pod względem wielkości guza.

Uwzględniając typ histopatologicznego rozpoznania, stopień złośliwości histopatologicznej oraz zajęcie węzłów chłonnych, wykazano różnice pomiędzy guzami w raku

metachronicznym. Nie stwierdzono różnic w przypadku synchronicznego raka piersi. Zarówno w raku synchronicznym jak i metachronicznym nie wykazano różnicy przy ocenie wieloogniskowości guza jednej i drugiej piersi.

4.3. Ocena immunohistochemiczna w metachronicznym i synchronicznym raku piersi pod kątem zgodności par pomiędzy pierwszym i drugim rakiem piersi

Tab. XVII. Ocena zgodności par – zgodność pomiędzy pierwszym i drugim guzem w metachronicznym raku piersi (MRP) i synchronicznym (SRP) - w zakresie ekspresji receptorów estrogenowych (ER), ekspresji receptorów dla progesteronu (PgR), ekspresji białka p53, ekspresji Ki67, ekspresji naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2)

Wykorzystano testy zależne, znaku, dla którego $p=1,0$ oznacza całkowitą zgodność.

MRP1 – pierwszy guz metachronicznego raka piersi

MRP2 – drugi guz metachronicznego raka piersi

SRP1 – pierwszy guz synchronicznego raka piersi

SRP2 – drugi guz synchronicznego raka piersi

| | ER | PgR | p53 | Ki67 | HER2 |
|------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|
| MRP1vsMRP2 | p=0,6 | p=0,7 | p=0,1 | p=0,7 | p=0,2 |
| SRP1vsSRP2 | p=0,8 | p=0,6 | p=0,7 | p=0,5 | p=0,5 |

Nie stwierdzono, by oba guzy w raku metachronicznym i synchronicznym różniły się pod względem analizowanych parametrów immunohistochemicznych.

4.4. Analiza parametrów klinicznych w grupie pacjentek z metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1

W grupie pacjentek z synchronicznym rakiem piersi, poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, u żadnej nie odnotowano mutacji, nie przeprowadzono analizy w tej grupie pacjentek.

Tab. XVIII. Parametry kliniczne w grupie 24 kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: bez mutacji w genie BRCA1 (-) oraz z obecną mutacją w genie BRCA1 (+)

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum | p |
|---|---------|------|-------------|---------|-------|---------|-------------|
| BMI (kg/m²) | | | | | | | |
| BRCA1 (-) | 20,5 | 23,9 | 25,6 | 27,6 | 31,4 | 39,1 | 0,17 |
| BRCA1 (+) | 21,8 | 25,9 | 30,4 | 30 | 33,4 | 38,8 | |
| Wiek zachorowania na 1.raka piersi | | | | | | | |
| BRCA1 (-) | 33,0 | 43,3 | 49,0 | 48,4 | 52,8 | 79,0 | 0,05 |
| BRCA1 (+) | 30,0 | 35,8 | 39,0 | 40,5 | 46,0 | 52,0 | |
| Czas do zachorowania na 2. raka piersi [m-ce] | | | | | | | |
| BRCA1 (-) | 21,0 | 38,0 | 71,0 | 83,4 | 129,8 | 168,0 | 0,55 |
| BRCA1 (+) | 12,0 | 50,8 | 75,0 | 87,3 | 123,2 | 180,0 | |
| Wiek zachorowania na 1. raka piersi, rak piersi w rodzinie (+) | | | | | | | |
| BRCA1 (-) | 30,0 | 39,0 | 44,0 | 45,1 | 52,0 | 64,0 | 0,05 |
| BRCA1 (+) | 40,0 | 47,0 | 52,0 | 52,0 | 56,0 | 62,0 | |
| Wiek zachorowania na 1. raka piersi, rak piersi w rodzinie (-) | | | | | | | |
| BRCA1 (-) | 33,0 | 44,8 | 49,5 | 49,6 | 53,0 | 79,0 | 0,48 |
| BRCA1 (+) | 35,0 | 44,3 | 48,0 | 46,7 | 51,8 | 53,0 | |
| Wiek zachorowania na 1. raka piersi, inne raki niż rak piersi w rodzinie (+) | | | | | | | |
| BRCA1 (-) | 35,0 | 44,3 | 48,0 | 46,7 | 51,8 | 53,0 | 0,37 |
| BRCA1 (+) | 34,0 | 43,0 | 52,0 | 49,0 | 56,5 | 61,0 | |
| Wiek zachorowania 1. raka piersi, inne raki niż rak piersi w rodzinie (-) | | | | | | | |
| BRCA1 (-) | 30,0 | 40,0 | 50,0 | 48,6 | 53,0 | 79,0 | 0,19 |
| BRCA1 (+) | 30,0 | 32,5 | 40,0 | 40,3 | 47,5 | 52,0 | |
| Wiek zachorowania na 1. raka piersi, stosowanie używek (+) | | | | | | | |
| BRCA1 (-) | 38,0 | 45,0 | 51,0 | 50,1 | 53,0 | 64,0 | 0,46 |
| BRCA1 (+) | 43,0 | 46,2 | 49,5 | 49,5 | 52,8 | 56,0 | |

| Wiek zachorowania na 1. raka piersi, stosowanie używek (-) | | | | | | | |
|--|------|------|-------------|------|------|------|-------------|
| BRCA1 (-) | 30,0 | 40,8 | 47,5 | 47,1 | 52,8 | 79,0 | 0,21 |
| BRCA1 (+) | 38,0 | 45,0 | 51,0 | 50,1 | 53,0 | 64,0 | |

BMI jest nieistotnie wyższe w grupie z obecną mutacją w genie BRCA1 $p=0,17$.

Wiek pierwszego raka piersi jest istotnie niższy w grupie nosicielek mutacji BRCA1 $p = 0,05$.

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w czasie do zachorowania na drugiego raka piersi pomiędzy grupami nosicielek i nienosicielek mutacji w genie BRCA1 $p=0,55$.

Z uwzględnieniem dodatniego wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi, wiek zachorowania na pierwszego raka piersi jest istotnie niższy dla grupy bez mutacji w genie BRCA1 $p = 0,05$.

W przypadku braku wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi, wiek zachorowania na pierwszego raka piersi jest nieistotnie niższy dla nosicielek mutacji BRCA1 $p = 0,48$.

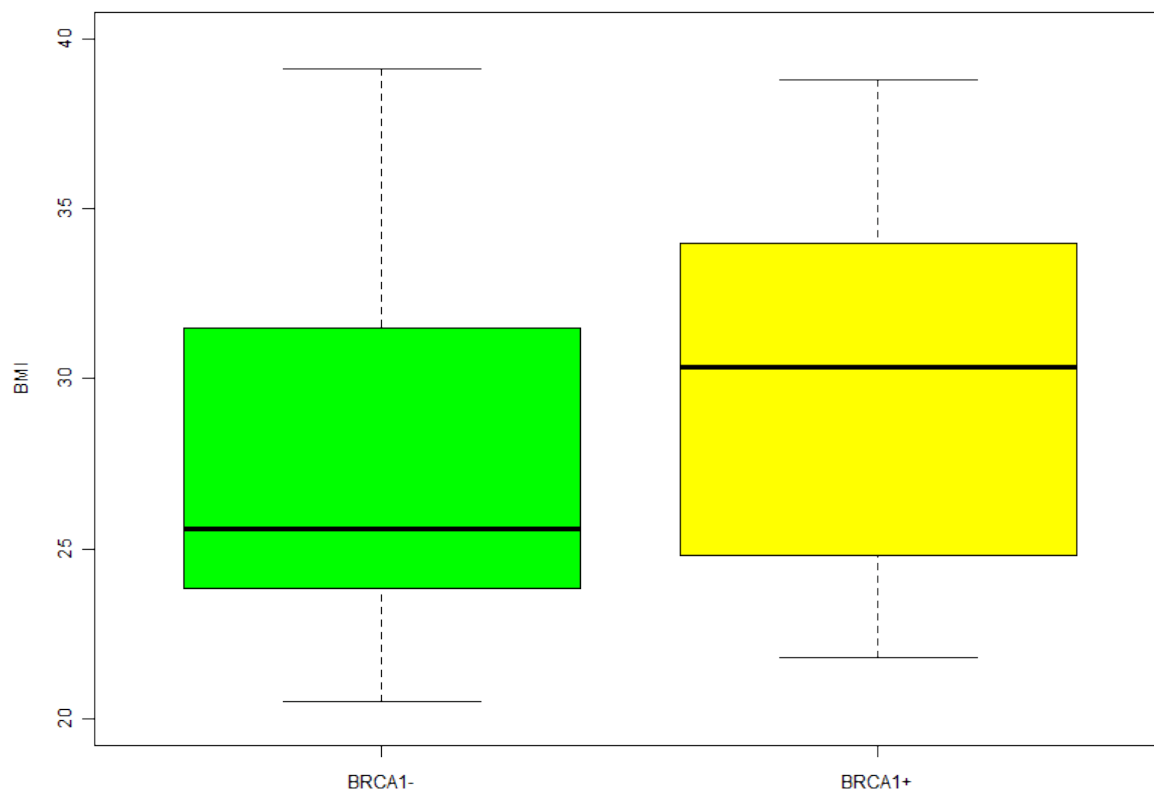
Z uwzględnieniem dodatniego wywiadu rodzinnego pod kątem występowania innego raka w rodzinie niż rak piersi, stwierdzono nieistotnie niższy wiek zachorowania na pierwszego raka piersi w grupie nienosicielek mutacji BRCA1 $p = 0,37$.

Przy braku wywiadu rodzinnego pod kątem występowania innego raka w rodzinie niż rak piersi, wiek zachorowania na pierwszego raka piersi jest nieistotnie niższy dla nosicielek mutacji BRCA1 $p = 0,19$.

W grupie stosującej używki, wiek zachorowania na pierwszego raka piersi jest nieistotnie niższy dla nosicielek mutacji BRCA1 $p = 0,46$.

W grupie nie stosującej używek, wiek zachorowania na pierwszego raka piersi jest nieistotnie niższy dla nienosicielek mutacji BRCA1 $p = 0,21$.

W grupie z metachronicznym rakiem piersi poszukiwano związku pomiędzy wskaźnikiem masy ciała (BMI) a mutacją w genie BRCA1. Wynik przedstawiono na rycinie 9.



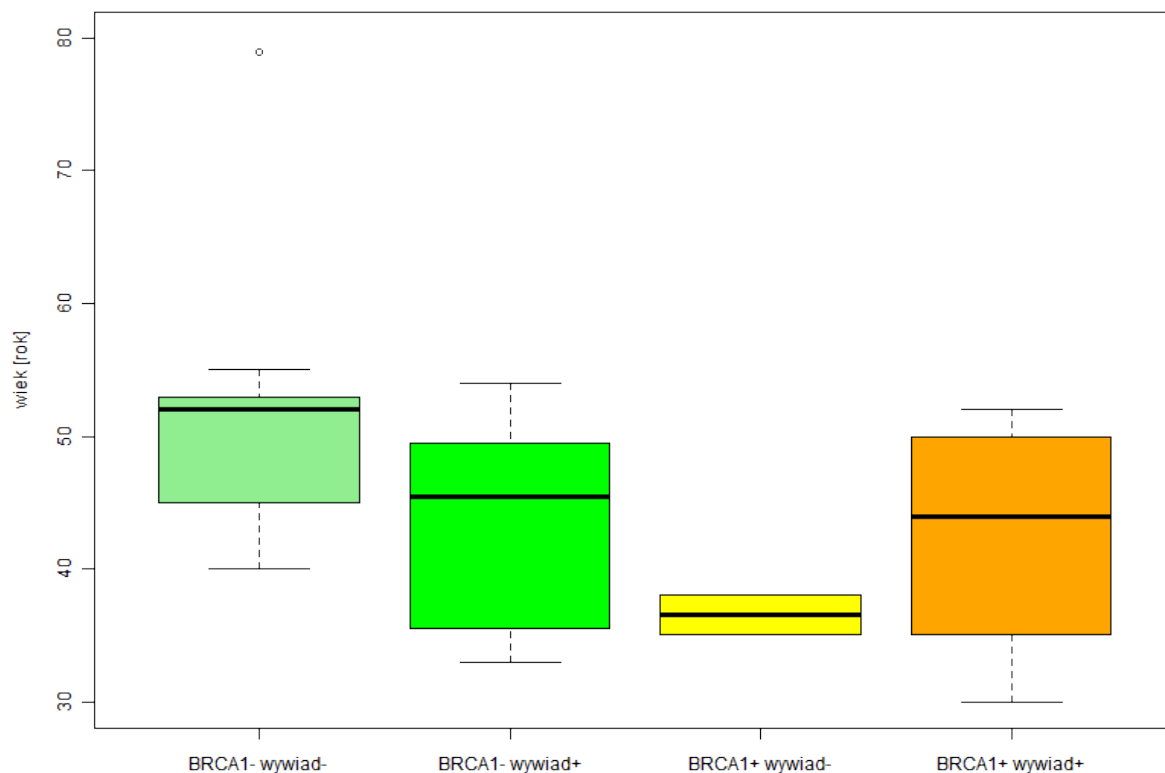
Rycina 9. Wskaźnik masy ciała (BMI) u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi w zależności od mutacji w genie BRCA1

Nie stwierdzono statystycznie istotnego związku pomiędzy wskaźnikiem masy ciała a mutacją genu BRCA1, $p=0,33$.

Wykazano niższą medianę BMI w grupie nienosicielek mutacji BRCA1 – 26,8 kg/m² przy minimum 20,5 kg/m² oraz maximum 39,1 kg/m².

Mediana BMI w grupie nosicielek mutacji BRCA1 – 29 kg/m², przy minimum 21,8 kg/m² oraz maximum 38,8 kg/m².

W grupie z metachronicznym rakiem piersi przeanalizowano zależność pomiędzy wiekiem zachorowania na pierwszego raka piersi a oceną pod kątem nosicielstwa/nienosicielstwa mutacji w genie BRCA1 i wywiadem rodzinnym w kierunku występowania raka piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 10.

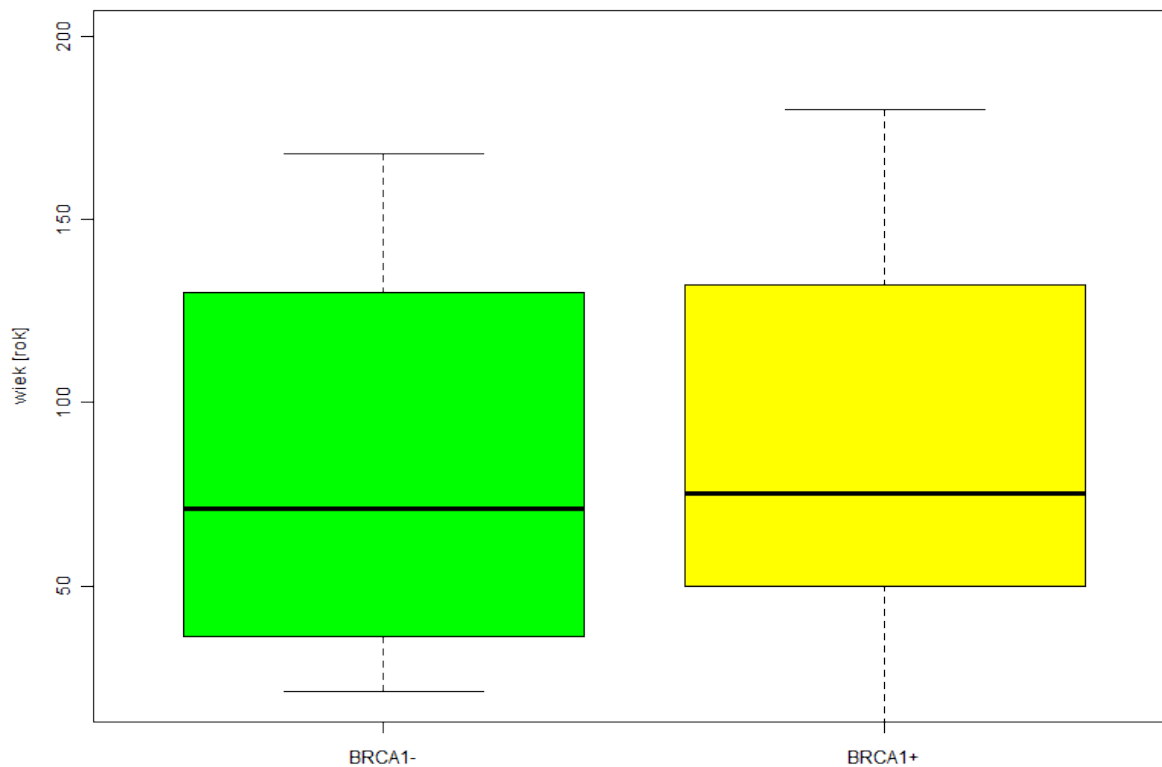


Rycina 10. Wiek zachorowania na pierwszego raka piersi z uwzględnieniem mutacji w genie BRCA1 i wywiadu rodzinnego

Wykazano, że obecność mutacji w genie BRCA1 wiązała się z występowaniem niższego wieku zachorowania na pierwszego raka piersi.

Najwcześniejszy wiek zachorowania stwierdzano w grupie nosicielek mutacji genu BRCA1 z ujemnym wywiadem rodzinnym w kierunku występowania raka piersi.

W grupie z metachronicznym rakiem piersi badano związek pomiędzy czasem do wystąpienia drugiego raka piersi a wynikiem oceny mutacji w genie BRCA1 (nienosicielki mutacji BRCA1 vs nosicielki mutacji BRCA1). Wynik przedstawiono na rycinie 11.



Rycina 11. Czas do wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z rakiem metachronicznym w zależności od obecności mutacji w genie BRCA1

Nie wykazano obecności statystycznie istotnego związku pomiędzy czasem do wystąpienia drugiego raka piersi a wynikiem oceny mutacji w genie BRCA1 (nienosicielki mutacji BRCA1 vs nosicielki mutacji BRCA1), $p=0,55$.

Stwierdzono niższą medianę czasu do drugiego raka piersi u nienosicielek mutacji BRCA1 – 71 miesięcy, przy minimum 21 miesięcy i maximum 168 miesięcy.

Mediana czasu do drugiego raka piersi u nosicielek mutacji BRCA1 wynosi 75 miesięcy, przy minimum 12 miesięcy oraz maximum 180 miesięcy.

Tab. XIX. W grupie z metachronicznym rakiem piersi analiza stanu genu BRCA1 (bez mutacji vs obecna mutacja) w korelacji do wybranych parametrów klinicznych

| | BRCA1 ujemne | | BRCA1 dodatnie | |
|--|--------------|---------|----------------|---------|
| | Liczebność | Procent | Liczebność | Procent |
| Używki w wywiadzie (palenie papierosów i lub alkohol) p=1,0 | | | | |
| nie | 13 | 54,2% | 5 | 20,8% |
| tak | 5 | 20,8% | 1 | 4,2% |
| Rak piersi w rodzinie p=0,64 | | | | |
| tak | 8 | 33,3% | 4 | 16,7% |
| nie | 10 | 41,7% | 2 | 8,3% |
| Obecność w wywiadzie rodzinnym innych nowotworów p=1,0 | | | | |
| tak | 6 | 25,0% | 2 | 16,7% |
| nie | 12 | 50,0% | 4 | 8,3% |
| Stosowanie terapii hormonalnej w wywiadzie p=1,0 | | | | |
| tak | 0 | 0,0% | 1 | 4,2% |
| nie | 18 | 75,0% | 5 | 20,8% |

używki w wywiadzie (palenie papierosów i/lub alkohol)

test Fishera $p = 1$

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w statusie BRCA1 pomiędzy podgrupami stosującymi i niestosującymi używek.

Nie stwierdzono także wpływu w/w czynników na wiek zachorowania.

rak piersi w rodzinie

test Fishera $p = 0,64$

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w statusie BRCA1 w podgrupach z dodatnim i ujemnym wywiadem rodzinnym w kierunku raka piersi.

obecność w wywiadzie rodzinnym innych nowotworów

test Fishera $p = 1,0$

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w statusie BRCA1 w podgrupach z dodatnim i ujemnym wywiadem rodzinnym w kierunku innych nowotworów.

stosowanie terapii hormonalnej w wywiadzie

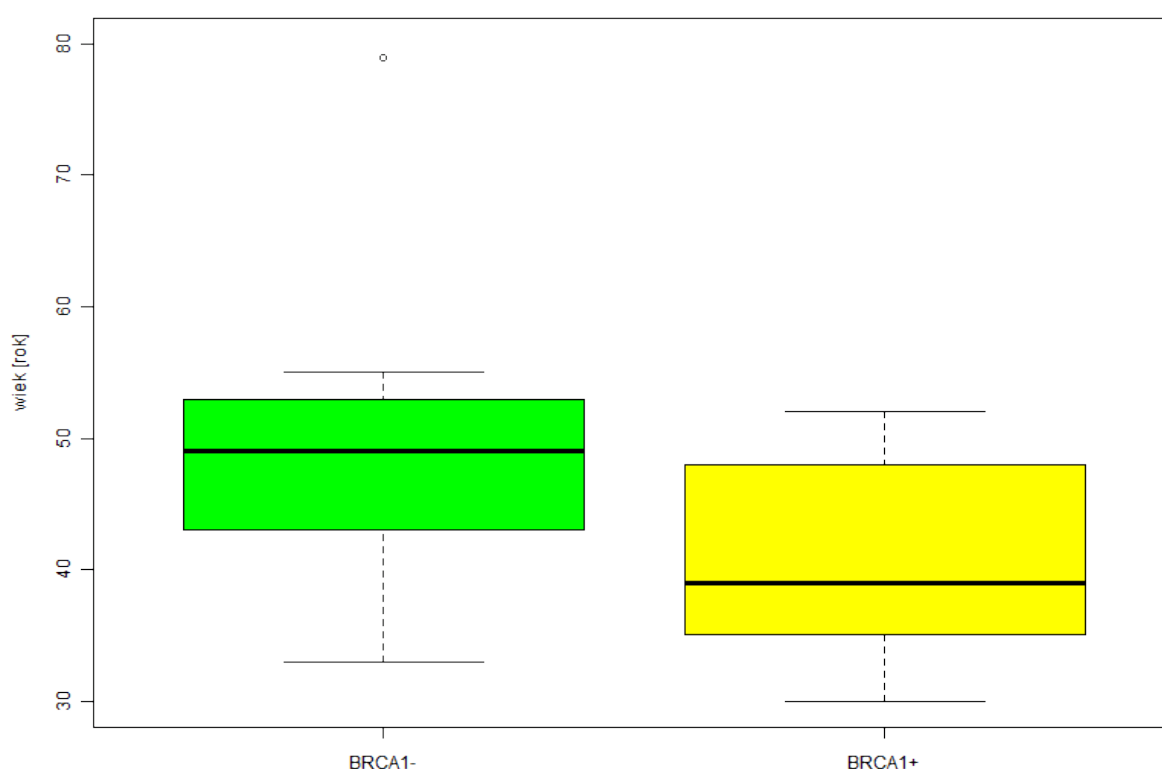
test Fishera $p = 1$

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w statusie BRCA1 pomiędzy podgrupami stosującymi i niestosującymi terapię hormonalną.

Tab. XX. Wiek zachorowania na pierwszego raka piersi w metachronicznym raku piersi w grupach bez mutacji genu BRCA1 i z obecną mutacją genu BRCA1

| | minimum | 1 qu | mediana | średnia | 3 qu | maximum |
|-----------|---------|------|-------------|---------|------|---------|
| BRCA1 (-) | 33,0 | 43,3 | 49,0 | 48,4 | 52,8 | 79,0 |
| BRCA1 (+) | 30,0 | 35,8 | 39,0 | 40,5 | 46,0 | 52,0 |

Średni wiek zachorowania na pierwszego raka piersi (metachronicznego) jest statystycznie istotnie niższy u pacjentek z obecną mutacją w genie BRCA1, $p=0,05$. Wynik przedstawiono na rycinie 12.



Rycina 12. Wiek zachorowania na pierwszego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi, w zależności od oceny mutacji w genie BRCA1

Wykazano wcześniejszy wiek zachorowania na pierwszego raka w grupie z metachronicznym obustronnym rakiem piersi u nosicielek mutacji BRCA1 z medianą 39 lat, przy minimum 30 lat, maximum 52 lat. W grupie nienosicielek mutacji odnotowano późniejszy wiek zachorowania na pierwszego raka piersi z medianą 49 lat, minimum 33 lat, maximum 79 lat.

4.5. Analiza parametrów immunohistochemicznych w grupie pacjentek z metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1

Tab. XXI. Stan receptora estrogenowego, progesteronowego, białka p53, antygenu Ki67, receptora HER2, stopnia złośliwości histopatologicznej a obecność mutacji w genie BRCA1

| | BRCA1 ujemne | BRCA1 dodatnie | p |
|------------|--------------|----------------|--------------|
| | n | n | Test Fishera |
| ER (-) | 6 | 6 | 0,01 |
| ER (+) | 12 | 0 | |
| PgR (-) | 7 | 6 | 0,02 |
| PgR (+) | 11 | 0 | |
| P53 (-) | 11 | 2 | 0,35 |
| P53 (+) | 7 | 4 | |
| Ki67 (-) | 7 | 4 | 0,35 |
| Ki67 (+) | 11 | 2 | |
| HER-2 (0) | 7 | 3 | 0,89 |
| HER-2 (1+) | 8 | 2 | |
| HER-2 (2+) | 1 | 1 | |
| HER-2 (3+) | 2 | 0 | |
| G1 | 3 | 0 | 0,05 |
| G2 | 8 | 0 | |
| G3 | 6 | 5 | |
| Gx | 1 | 1 | |

- Wykazano statystycznie istotną różnicę w ekspresji receptora estrogenowego pomiędzy grupami z obecną i nieobecną mutacją w genie BRCA1, $p=0,01$.

U nosicielek mutacji BRCA1 stwierdzono brak ekspresji ER. Nienosicielki mutacji BRCA1 mają zarówno ER- jak i ER+.

- Stwierdzono statystycznie istotną różnicę w ekspresji receptora progesteronowego pomiędzy grupami z obecną i nieobecną mutacją w genie BRCA1, $p=0,016$

U nosicielek mutacji BRCA1 stwierdzono brak ekspresji PgR. Nienosicielki mutacji BRCA1 mają zarówno PgR- jak i PgR+.

- Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w ekspresji p53 pomiędzy grupami z obecną i nieobecną mutacją w genie BRCA1, $p=0,35$.
- Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w ekspresji Ki67 pomiędzy grupami z obecną i nieobecną mutacją w genie BRCA1, $p=0,35$.
- Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w ekspresji HER2 pomiędzy grupami z obecną i nieobecną mutacją w genie BRCA1, $p=0,89$. W badanej grupie zaobserwowano u nosicielek BRCA1 brak HER2 3+.

Stwierdzono statystycznie istotną różnicę w stopniu złośliwości histopatologicznej pomiędzy nienosicielkami i nosicielkami mutacji w genie BRCA1. Stopień złośliwości histopatologicznej większy dla nosicielek BRCA1 na poziomie $p=0,05$.

4.6. Analiza wybranych parametrów klinicznych, histopatologicznych, immunohistochemicznych u pacjentek z metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, pod kątem zgodności par pomiędzy pierwszym i drugim rakiem piersi

Tab. XXII. Ocena zgodności par pomiędzy pierwszym i drugim guzem w grupie 24 kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, z uwzględnieniem dwóch podgrup: BRCA1 (-) oraz BRCA1 (+). Zgodność definiowana dla $p \geq 0,95$

- P1 cT – wielkość guza piersi pierwszej
P2 cT – wielkość guza piersi drugiej
P1 cN – kliniczny stopień zajęcia węzłów chłonnych w raku piersi pierwszej
P2 cN – kliniczny stopień zajęcia węzłów chłonnych w raku piersi drugiej
P1 pN – patologiczny stopień zajęcia węzłów chłonnych w raku piersi pierwszej
P2 pN – patologiczny stopień zajęcia węzłów chłonnych w raku piersi drugiej
P1 G – stopień złośliwości histopatologicznej guza piersi pierwszej
P2 G – stopień złośliwości histopatologicznej guza piersi drugiej
P1 W – wieloogniskowość w raku piersi pierwszej
P2 W – wieloogniskowość w raku piersi drugiej
P1 ER – stan receptorów estrogenowych w guzie piersi pierwszej
P2 ER – stan receptorów estrogenowych w guzie piersi drugiej
P1 PgR – stan receptorów progesteronowych w guzie piersi pierwszej
P2 PgR – stan receptorów progesteronowych w guzie piersi drugiej
P1 p53 – stan ekspresji białka p53 w guzie piersi pierwszej
P2 p53 – stan ekspresji białka p53 w guzie piersi drugiej
P1 Ki67 – stan ekspresji Ki67 w guzie piersi pierwszej
P2 Ki67 – stan ekspresji Ki67 w guzie piersi drugiej
P1 HER2 – stan ekspresji HER2 w guzie piersi pierwszej
P2 HER2 – stan ekspresji HER2 w guzie piersi drugiej

| Parametr oceniany w pierwszej i drugiej piersi | Mutacja genu BRCA1 (-) stopień zgodności | Mutacja genu BRCA1 (+) stopień zgodności |
|---|---|---|
| cT | p = 0,05 | p = 0,008 |
| cN | p = 0,17 | p = 0,008 |
| pN | p = 0,003 | p = 0,5 |
| G | p = 0,73 | p = 0,19 |
| W | p = 1 | p = 1 |
| ER | p = 0,5 | p = 1 |

| Parametr oceniany w pierwszej i drugiej piersi | Mutacja genu BRCA1 (-) stopień zgodności | Mutacja genu BRCA1 (+) stopień zgodności |
|---|---|---|
| PgR | p = 0,5 | p = 1 |
| p53 | p = 0,019 | p = 0,75 |
| Ki67 | p = 0,66 | p = 1 |
| HER2 | p = 0,87 | p = 0,31 |

Wykazano zgodność par pomiędzy pierwszym i drugim guzem w grupie nienosicielek i nosicielek mutacji w genie BRCA1 w zakresie wieloogniskowości. W grupie z obecną mutacją BRCA1 stwierdzono zgodność par pomiędzy pierwszym i drugim guzem w przypadku receptorów estrogenowych i dla progesteronu.

4.7. Analiza wybranych parametrów klinicznych, histopatologicznych, immunohistochemicznych u pacjentach z metachronicznym rakiem piersi, z uwzględnieniem fenotypów receptorów steroidowych

Tab. XXIII. Charakterystyka grupy 53 chorych na obustronnego metachronicznego raka piersi z uwzględnieniem fenotypów receptorów steroidowych

P1ER (+) – obecna ekspresja receptora estrogenowego w raku pierwszej piersi

P1ER (-) – brak ekspresji receptora estrogenowego w raku pierwszej piersi

P2ER (+) – obecna ekspresja receptora estrogenowego w raku drugiej piersi

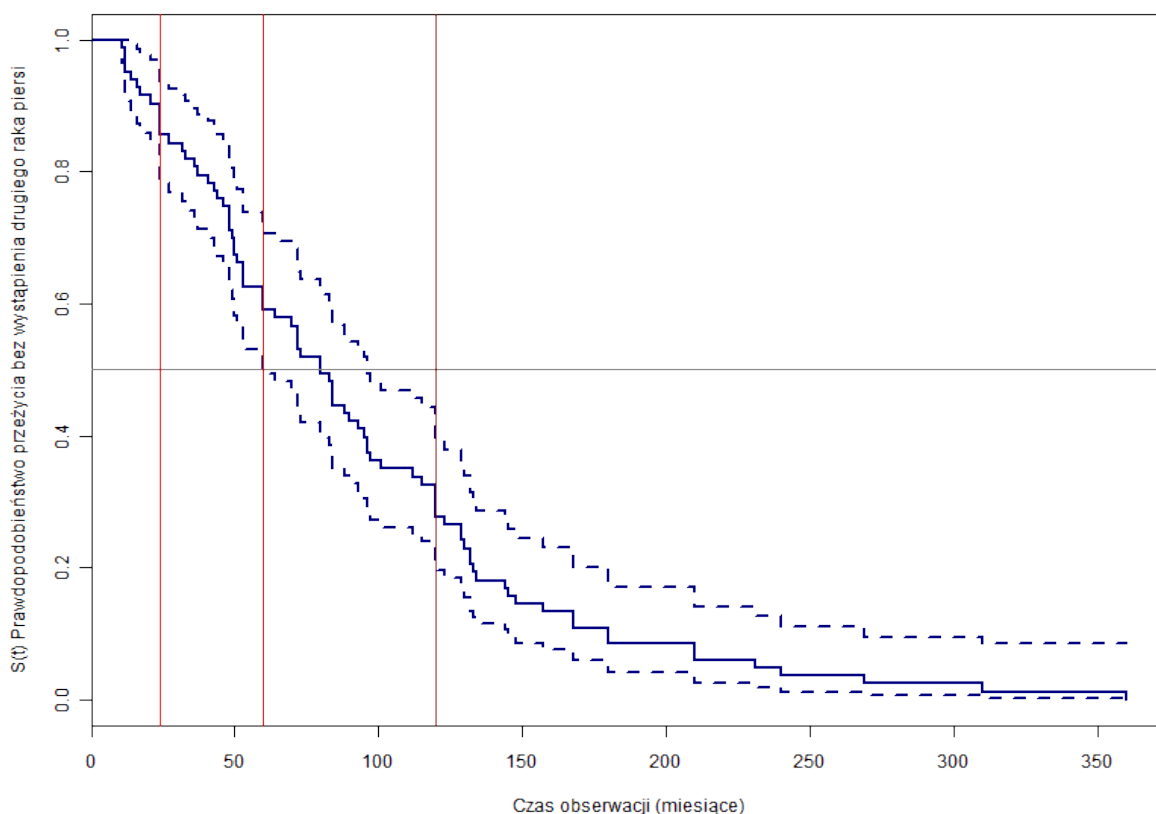
P2ER (-) – brak ekspresji receptora estrogenowego w raku drugiej piersi

| Fenotyp/cecha | P1 ER (+) P2 ER (+) | P1 ER (+) P2 ER (-) | P1 ER (-) P2 ER (-) | P1 ER (-) P2 ER (+) |
|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Liczebność n | 18 | 9 | 22 | 7 |
| Wiek zachorowania na 1. raka piersi mediana/średnia (lata) | 53/52 | 52/53 | 47/47 | 50/50 |
| Wiek 1. miesiączki mediana/średnia (lata) | 13/13 | 14/13 | 14/14 | 13/13 |
| Wiek ostatniej miesiączki mediana/średnia (lata) | 49/47 | 50/51 | 47/46 | 49/49 |
| Wywiad rodzinny w kierunku raka piersi dodatni | n=3 | n=3 | n=10 | n=3 |
| Używki | n=3 | n=3 | n=4 | n=0 |
| BMI=<25 | n=8 | n=2 | n=11 | n=4 |
| BMI>25 | n=10 | n=7 | n=11 | n=3 |
| BMI mediana (kg/m ²) | 27 | 31 | 26 | 25 |
| BMI średnia (kg/m ²) | 28 | 30 | 28 | 25 |
| BMI dla ER1(+) mediana (kg/m ²) | 29 | | | |
| BMI dla ER1(+) średnia kg/m ² | 28 | | | |
| BMI dla ER1(-) mediana (kg/m ²) | | | 25 | |
| BMI dla ER1(-) średnia (kg/m ²) | | | 27 | |
| Porównanie wskaźnika BMI pomiędzy ER(-)/(ER+) | p=0,13 | | | |
| Wielkość guza (cT) liczebność n | | | | |
| T1 | 6 | 1 | 8 | 2 |
| T2 | 9 | 7 | 6 | 5 |
| T3 | 2 | 1 | 6 | 0 |
| T4 | 1 | 0 | 2 | 0 |

| Fenotyp | P1 ER (+) P2 ER (+) | P1 ER (+) P2 ER (-) | P1 ER (-) P2 ER (-) | P1 ER (-) P2 ER (+) |
|--|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Węzły chłonne (cN) liczebność n | | | | |
| N0 | 7 | 2 | 6 | 1 |
| N1 | 11 | 6 | 15 | 6 |
| N2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| Stopień złośliwości histologicznej (G) liczebność n | | | | |
| G1 | 5 | 0 | 1 | 0 |
| G2 | 9 | 5 | 4 | 5 |
| G3 | 4 | 2 | 12 | 2 |
| Gx | 0 | 2 | 5 | 0 |
| Rozpoznanie histopatologiczne liczebność n | | | | |
| przewodowy | 8 | 7 | 17 | 5 |
| zrazikowy | 3 | 1 | 2 | 0 |
| inne | 7 | 1 | 3 | 2 |
| HER2 liczebność n | | | | |
| 0 | 7 | 2 | 14 | 4 |
| 1 | 9 | 3 | 5 | 2 |
| 2++ | 0 | 2 | 2 | 0 |
| 3+++ | 2 | 2 | 1 | 1 |
| BRCA1(+) liczebność | 0 | 0 | 5 | 0 |
| Leczenie operacyjne | | | | |
| Metodą Patey'a | 13 | 9 | 13 | 5 |
| Metodą Halstedta | 2 | 0 | 5 | 1 |
| Amputacja prosta | 1 | 0 | 2 | 0 |
| Leczenie oszczędzające | 2 | 0 | 2 | 1 |
| Leczenie okołoperacyjne | | | | |
| CHT indukcyjna | n=1(N-A) | n=2(A) | n=6(A) n=2(N-A) | n=0 |
| CHT uzupełniająca | n=1(A) n=4(N-A) | n=1(N-A) | n=5(A) n=7(N-A) | n=6(N-A) |
| RT uzupełniająca | n=4 | n=0 | n=6 | n=1 |

4.8. Analiza przeżycia w metachronicznym raku piersi

Przeanalizowano prawdopodobieństwo przeżycia bez drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 13.



Rycina 13. Prawdopodobieństwo przeżycia bez drugiego raka piersi - oś Y - u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi z wykorzystaniem analizy przeżycia. Oś X – czas obserwacji w miesiącach. Estymator Kaplan-Meiera (z uwzględnieniem przedziału ufności – linia przerywana)

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi:

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi, 80% grupy badanej nie zachorowało na raka drugiej piersi.

Wystąpienie zachorowania na raka w drugiej piersi stwierdzono u 20% grupy badanej.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi, 60% grupy badanej

nie zachorowało na raka drugiej piersi.

Wystąpienie zachorowania na raka w drugiej piersi stwierdzono u 40% grupy badanej.

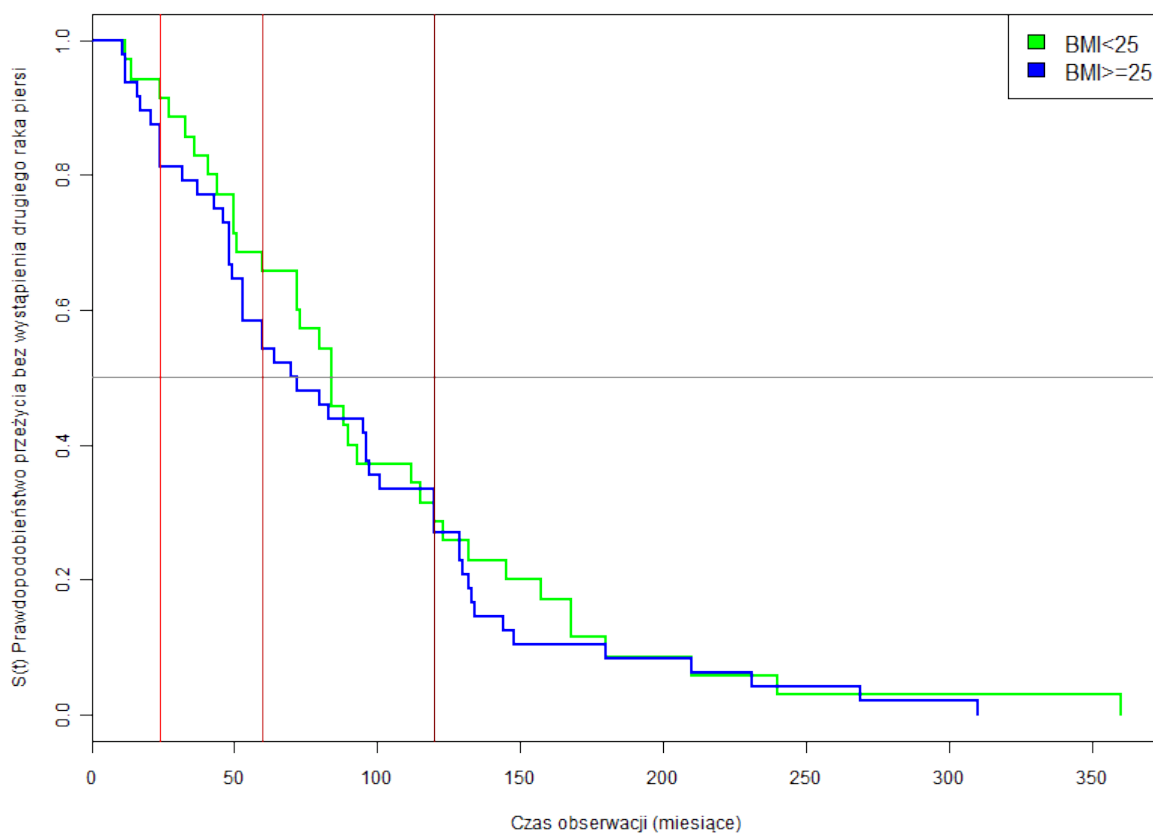
* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi, 35% grupy badanej nie zachorowała na raka drugiej piersi.

Wystąpienie zachorowania na raka w drugiej piersi stwierdzono u 65% grupy badanej.

Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, co w praktyce klinicznej oznacza, że ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w zależności od wskaźnika masy ciała (BMI). Wynik przedstawiono na rycinie 14.



Rycina 14. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od wskaźnika masy ciała (BMI) Estymator Kaplan-Meier. $p=0,52$

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup z BMI < 25 oraz BMI >= 25:

- * W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z BMI >= 25, 80% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z BMI < 25, 90% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z BMI >= 25, 55% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z

BMI<25, 65% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z BMI≥25, 35% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z BMI<25, 38% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

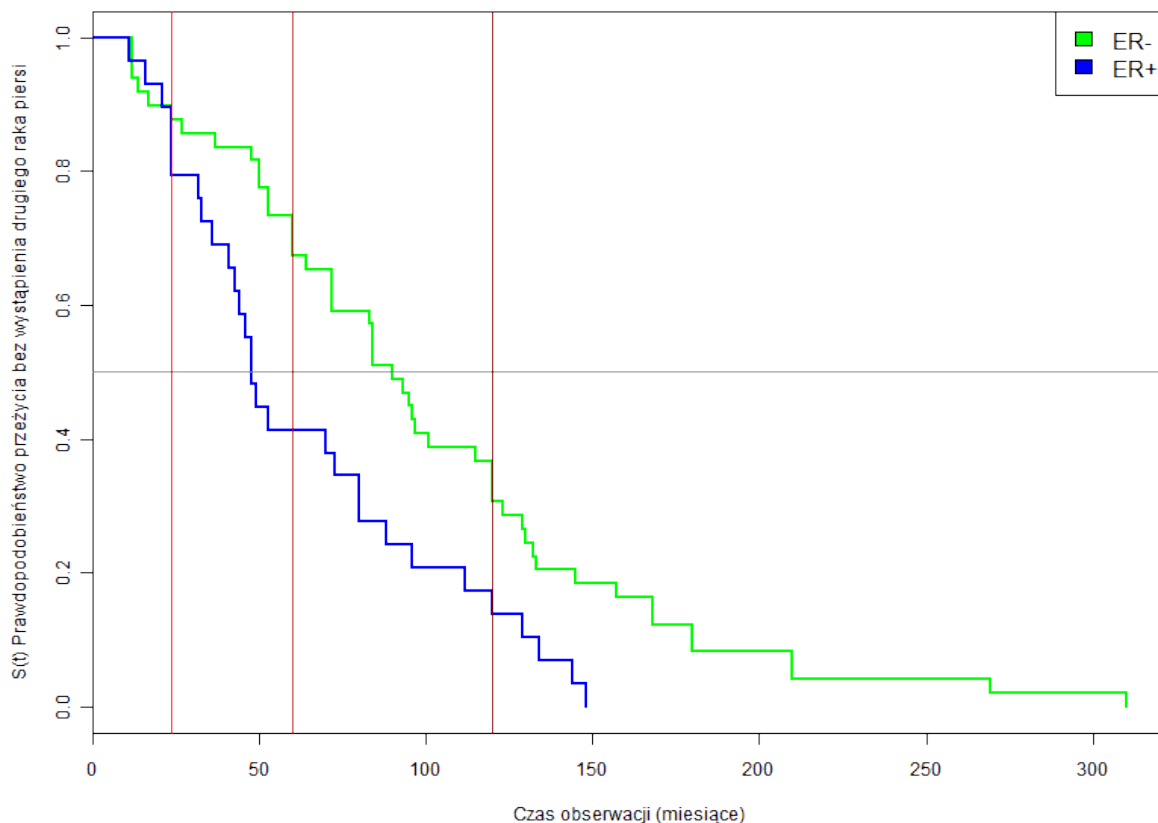
Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, czyli ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek z BMI≥25 w okresie obserwacji do 100 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi, stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek z BMI<25.

Różnica nie jest statystycznie istotna.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w zależności od ekspresji receptorów estrogenowych raka w pierwszej piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 15.



Rycina 15. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi w zależności od ekspresji receptorów estrogenowych (ER) raka pierwszej piersi $p=0,003$

- U pacjentek z ujemnym stanem receptorów estrogenowych stwierdzono istotnie późniejsze zachorowania na raka drugiej piersi (przy odnotowanym wcześniejszym wieku zachorowania na pierwszego raka)
- U pacjentek z dodatnim stanem receptorów estrogenowych stwierdzono istotnie wcześniejsze zachorowania na raka drugiej piersi (przy odnotowanym późniejszym wieku zachorowania na pierwszego raka)

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup z ER(-) oraz ER(+):

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z ER(-), 90% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z ER(+), 80% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z ER(-), 75% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z ER(+), 40% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z ER(-), 40% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

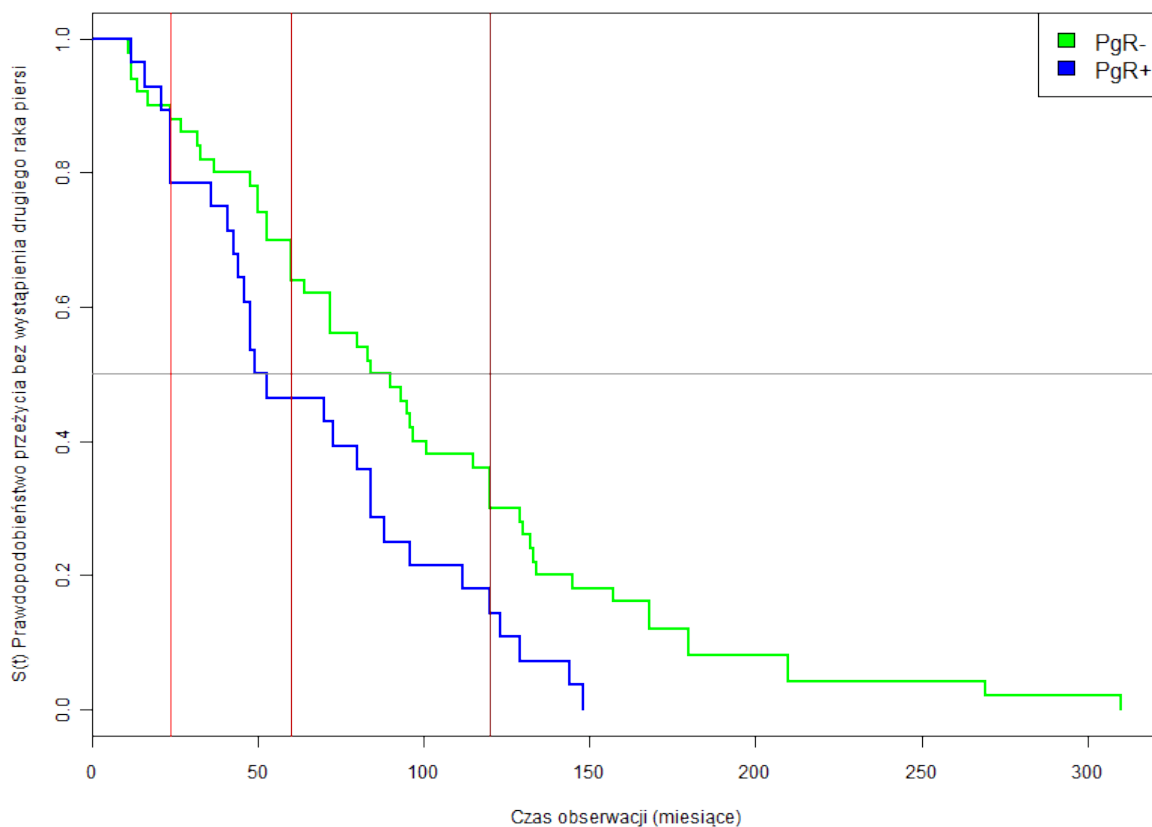
* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z ER(+), 18% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, co oznacza, że ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek z ER(+) stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek z ER(-). Różnica jest statystycznie istotna.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w zależności od ekspresji receptora dla progesteronu raka w pierwszej piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 16.



Rycina 16. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od ekspresji receptora dla progesteronu (PgR) raka pierwszej piersi, $p=0,009$

- U pacjentek z dodatnim stanem receptorów progesteronowych stwierdzono istotnie wcześniejsze zachorowania na raka drugiej piersi (przy odnotowanym późniejszym wieku zachorowania na pierwszego raka)

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup z PgR(-) oraz PgR(+):

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z PgR(-), 90% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z PgR(+), 80% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z PgR(-), 60% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z PgR(+), 45% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z PgR(-), 35% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z PgR(+), 18% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

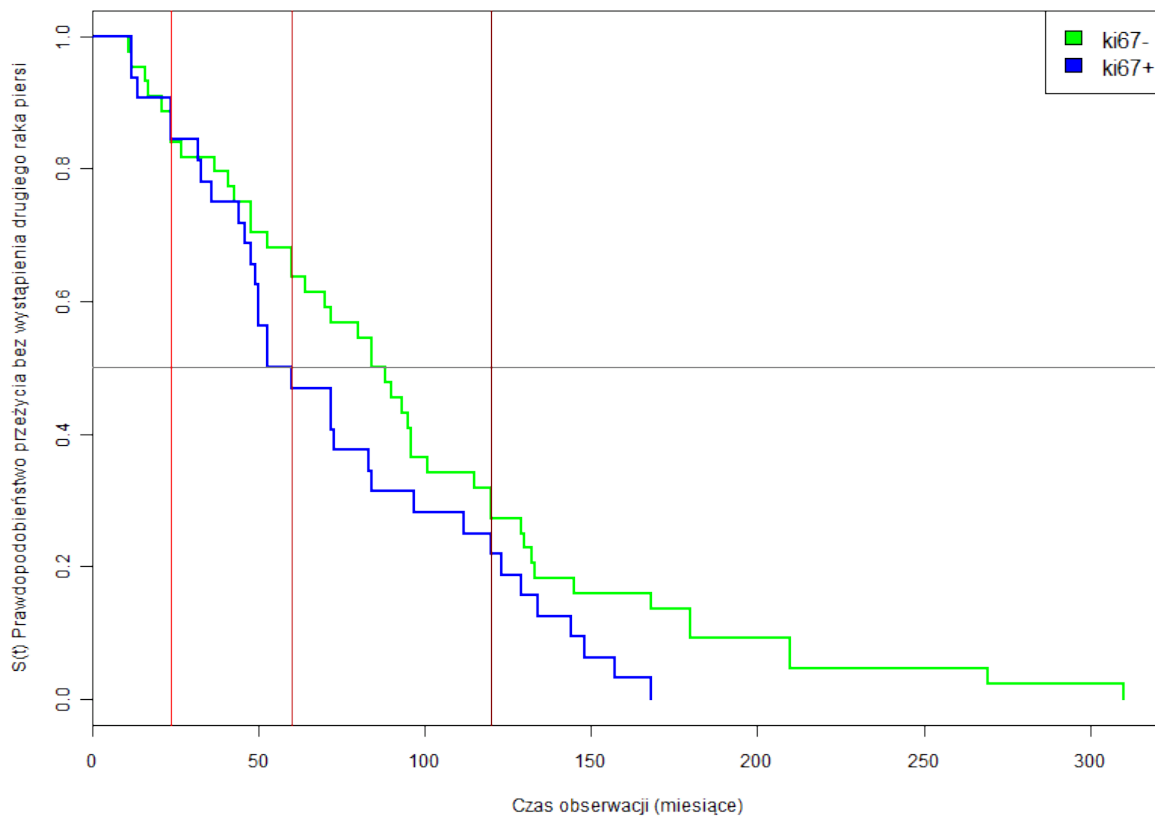
Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, czyli ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek z PgR(+) stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek z PgR(-).

Różnica jest statystycznie istotna.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w zależności od ekspresji wskaźnika proliferacji Ki67 raka w pierwszej piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 17.



Rycina 17. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi w zależności od ekspresji Ki67 raka w pierwszej piersi, $p=0,09$

- U pacjentek z ujemnym stanem indeksu Ki67 stwierdzono późniejsze, statystycznie nieistotne zachorowania na raka drugiej piersi.

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup z Ki67(-) oraz Ki67(+):

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z Ki67(-), 85% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z Ki67(+), 85% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z Ki67(-), 65% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z Ki67(+), 45% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z Ki67(-), 30% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z Ki67(+), 25% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

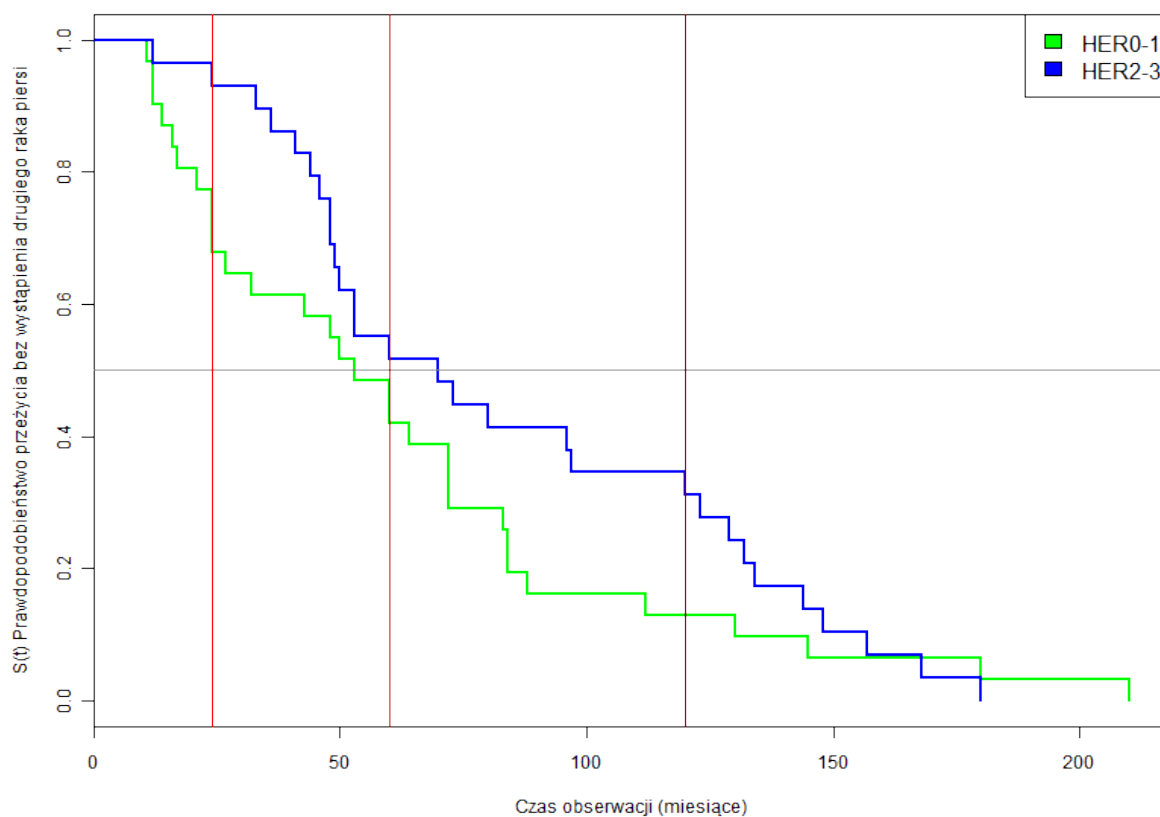
Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, czyli ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek z Ki67(+) stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek z Ki67(-).

Różnica nie jest statystycznie istotna.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w zależności od ekspresji receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2) raka w pierwszej piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 18.



Rycina 18. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od ekspresji receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2) raka w pierwszej piersi, $p=0,25$

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup z HER2(0,1+) oraz HER2(2+,3+):

- * W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z HER2(0,1+), 80% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z HER2(2+,3+), 95% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z HER2(0,1+), 40% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z HER2(2+,3+), 50% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z HER2(0,1+), 15% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z HER2(2+,3+), 35% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

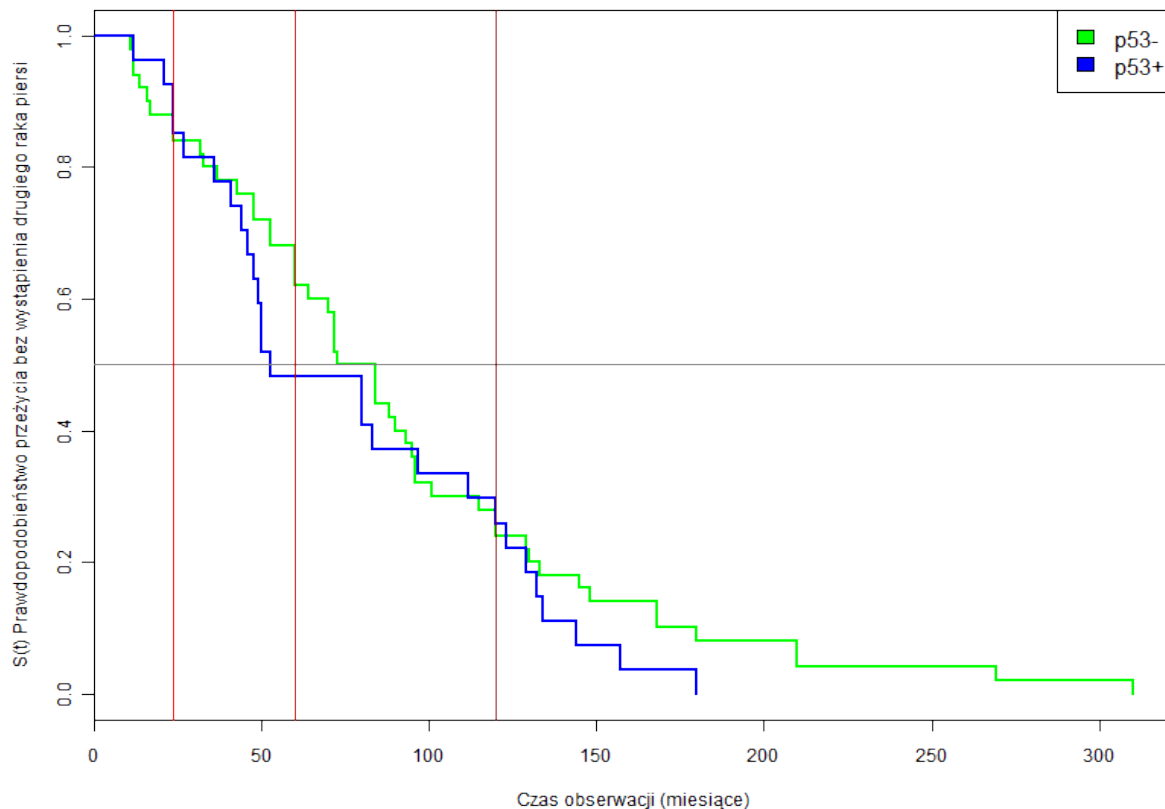
Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, co oznacza, że ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek z HER2(0,1+) w okresie obserwacji do 155 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi, stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek z HER2(2+,3+).

Różnica nie jest statystycznie istotna.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w zależności od ekspresji białka p53 raka w pierwszej piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 19.



Rycina 19. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od ekspresji białka p53 raka w pierwszej piersi, $p=0,3$

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup z p53(-) oraz p53(+):

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z p53(-), 85% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z p53(+), 85% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z p53(-), 60% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z p53(+), 50% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z p53(-), 30% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z p53(+), 25% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

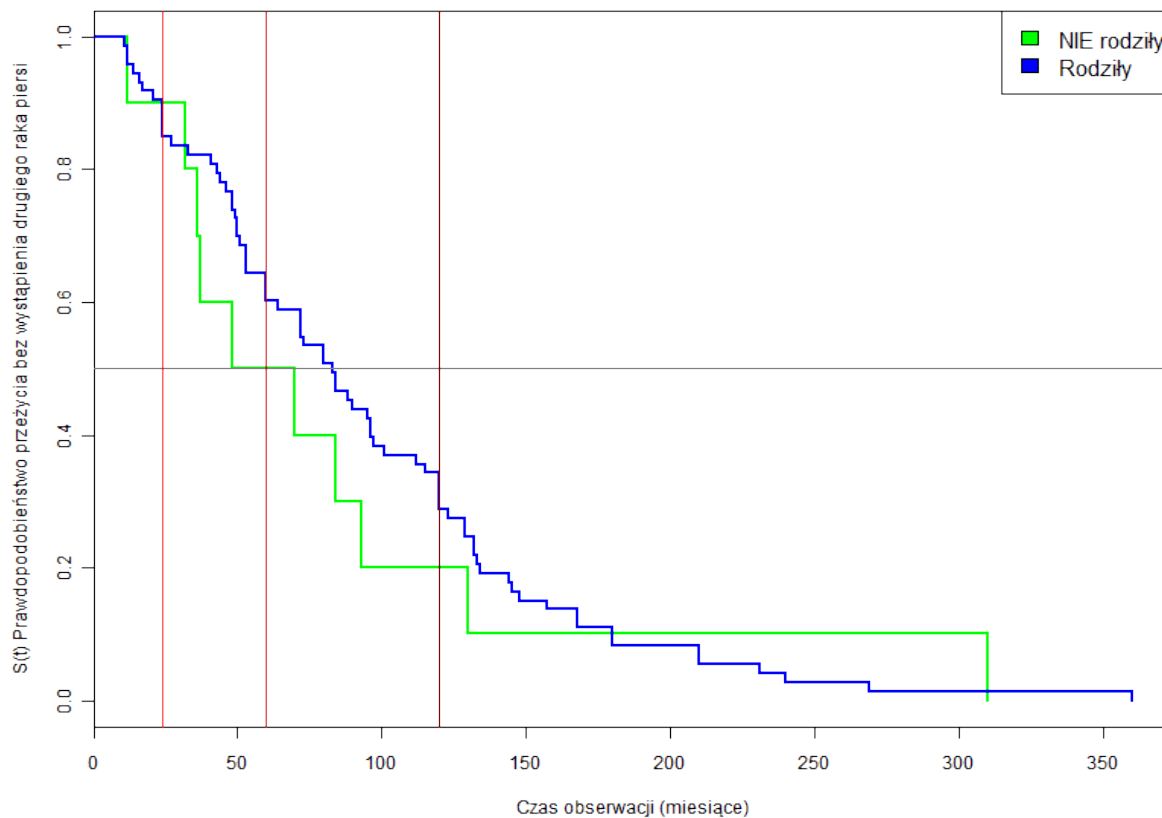
Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, czyli ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek z p53(+) stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek z p53(-).

Różnica nie jest statystycznie istotna.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w grupach kobiet, które nie rodziły i rodziły. Wynik przedstawiono na rycinie 20.



Rycina 20. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym rakiem piersi w zależności od tego, czy rodziły $p=0,6$

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup: pacjentki które nie rodziły (porody/NIE) oraz pacjentki które rodziły (porody/TAK):

- * W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z (porody/NIE), 90% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z (porody/TAK), 90% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z (porody/NIE), 50% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z (porody/TAK), 60% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z (porody/NIE), 20% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
- * W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z (porody/TAK), 30% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

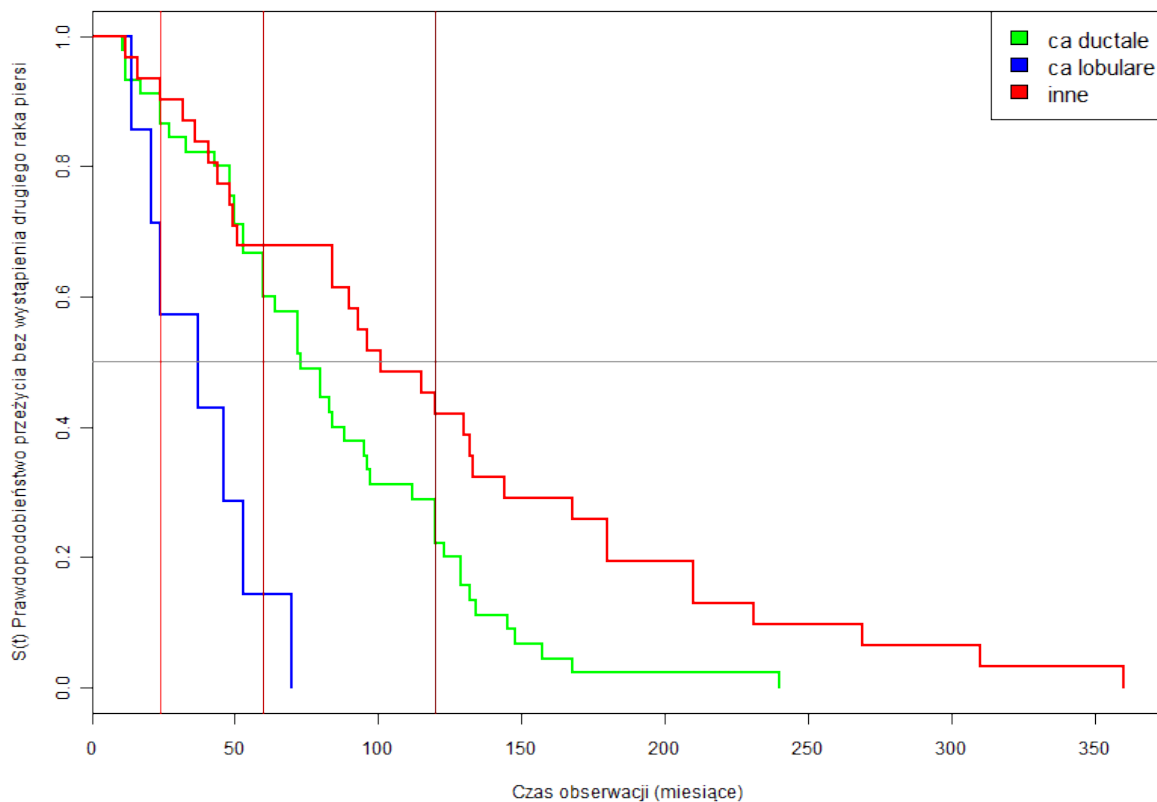
Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, czyli ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek, które nie rodziły (porody/NIE) w okresie obserwacji do 180 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi, stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek, które rodziły (porody/TAK).

Różnica nie jest statystycznie istotna.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w zależności od rodzaju histopatologicznego rozpoznania raka w pierwszej piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 21.



Rycina 21. Korelacja pomiędzy typem histopatologicznym raka pierwszej piersi a prawdopodobieństwem wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi $p=0,00024$

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem trzech grup: rak zrazikowy, rak przewodowy, inny typ histopatologiczny niż rak przewodowy i zrazikowy

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z rakiem zrazikowym, 90% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z rakiem przewodowym, 95% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z innym typem histopatologicznym niż rak przewodowy i zrazikowy, nie odnotowano zachorowań na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z rakiem zrazikowym, 15% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z rakiem przewodowym, 30% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z innym typem histopatologicznym niż rak przewodowy i zrazikowy, 70% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z rakiem zrazikowym, u wszystkich pacjentek odnotowano zachorowanie na raka w drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z rakiem przewodowym, 30% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z innym typem histopatologicznym niż rak przewodowy i zrazikowy, 45% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

Podsumowanie:

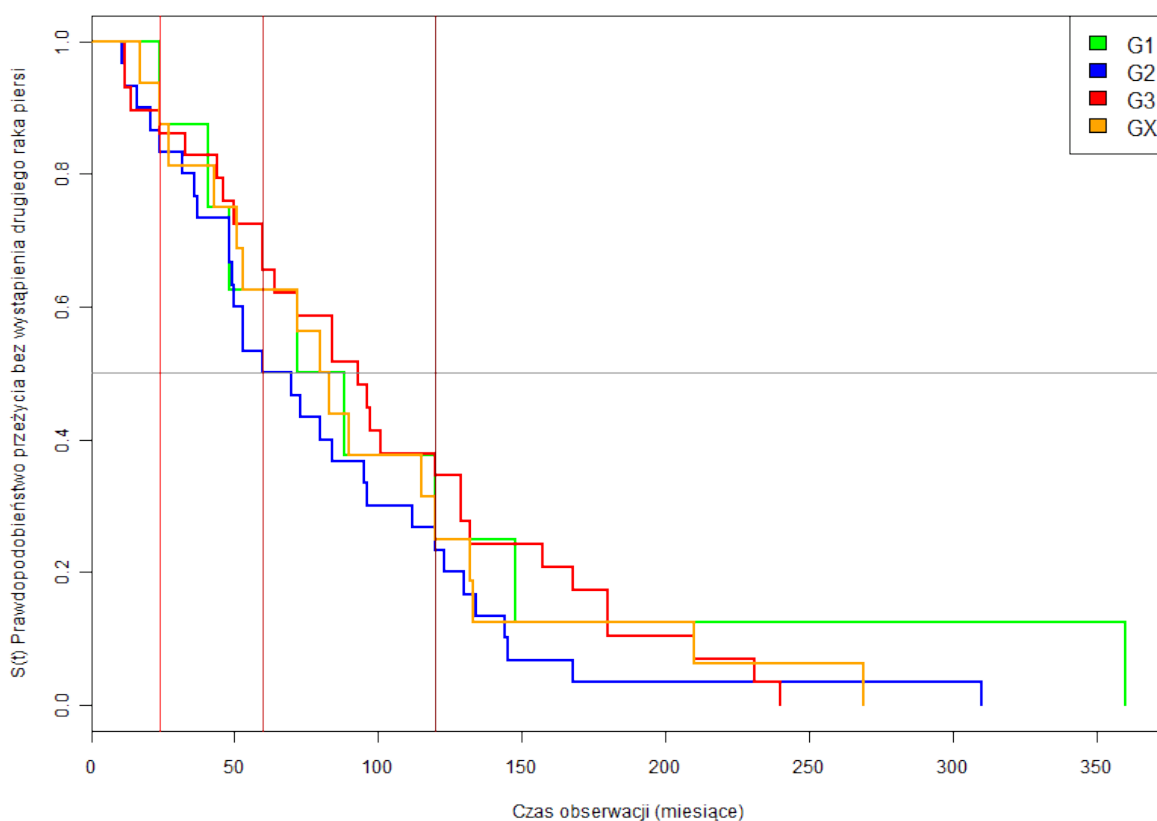
Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w trzech grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, czyli ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w trzech grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

Najwyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi stwierdzano w grupie pacjentek z rozpoznaniem raka zrazikowego w pierwszej piersi. W okresie obserwacji ponad 5 lat od zachorowania na raka pierwszej piersi, u wszystkich pacjentek w tej grupie stwierdzano obecność raka

w drugiej piersi.

Wykazano statystycznie istotną różnicę przy porównaniu ryzyka zachorowania na raka drugiej piersi w grupie z rakiem zrazikowym pierwszej piersi do grup z rakiem przewodowym oraz innym typem histopatologicznym w pierwszej piersi niż rak przewodowy i zrazikowy.

W grupie z metachronicznym rakiem piersi analizowano wpływ stopnia złośliwości histopatologicznej raka pierwszej piersi na prawdopodobieństwo wystąpienia raka w drugiej piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 22.

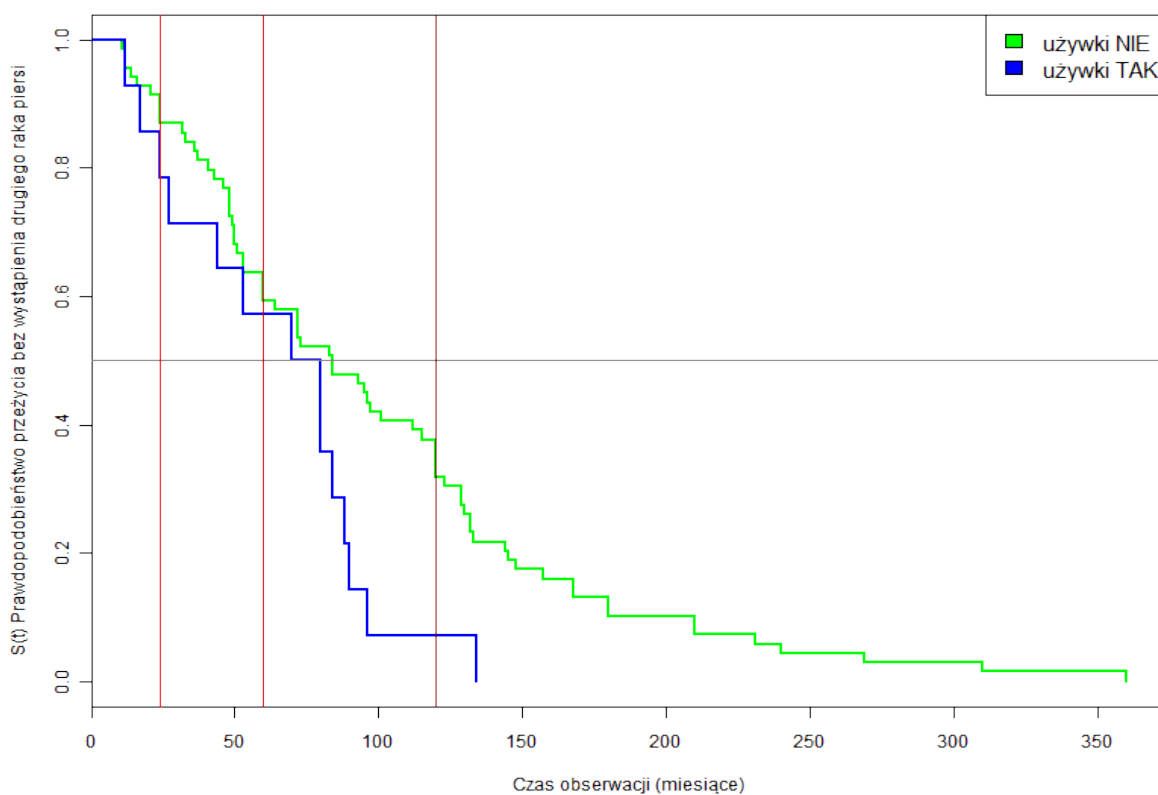


Rycina 22. Zależność pomiędzy stopniem złośliwości histopatologicznej raka pierwszej piersi a prawdopodobieństwem zachorowania na raka drugiej piersi w czterech grupach pacjentek (G1,G2,G3,Gx)

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi we wszystkich grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, innymi słowy ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi we wszystkich grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

Różnica pomiędzy grupami nie jest statystycznie istotna.

Analizowano wpływ używek na prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w grupie z metachronicznym rakiem piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 23.



Rycina 23. Związek pomiędzy stosowaniem używek a prawdopodobieństwem wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi, $p=0,03$

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup: stosujących alkohol i/lub palenie papierosów (użytki TAK) oraz nie stosujących alkoholu i/lub palenia papierosów (użytki NIE)

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie stosującej używki, 80% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie nie stosujących używek, 85% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie stosującej używki, 60% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie nie stosującej używek, 60% nie zachorowało na raka drugiej piersi.
zono u 40%.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie stosującej używki, 10% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

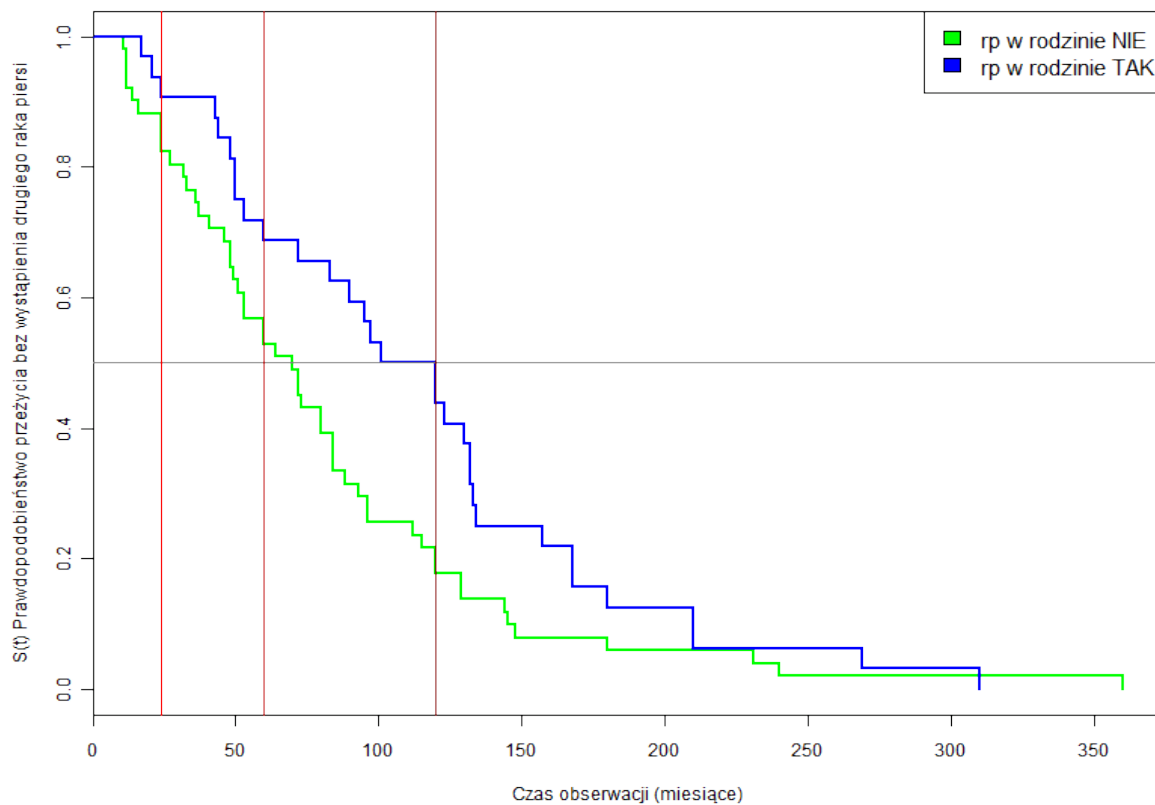
* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie nie stosującej używek, 40% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, czyli ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek stosujących używki stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek nie stosujących używek. Różnica jest statystycznie istotna.

Analizowano prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi w metachronicznym raku piersi w zależności od wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 24.



Rycina 24. Prawdopodobieństwo wystąpienia drugiego raka piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi w zależności od wywiadu rodzinnego pod kątem raka piersi, $p=0,04$

Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji: 2 lat (24 miesiące), 5 lat (60 miesięcy), 10 lat (120 miesięcy) od zachorowania na raka w pierwszej piersi z uwzględnieniem dwóch grup: z ujemnym wywiadem rodzinnym pod kątem występowania raka piersi (NIE) oraz dodatnim wywiadem rodzinnym pod kątem występowania raka piersi (TAK):

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie bez wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi, 90% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dwóch lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z obecnym wywiadem rodzinnym w kierunku występowania raka piersi, 95% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie bez wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi, 50% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie pięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z obecnym wywiadem rodzinnym w kierunku występowania raka piersi, 70% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie bez wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi, 20% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

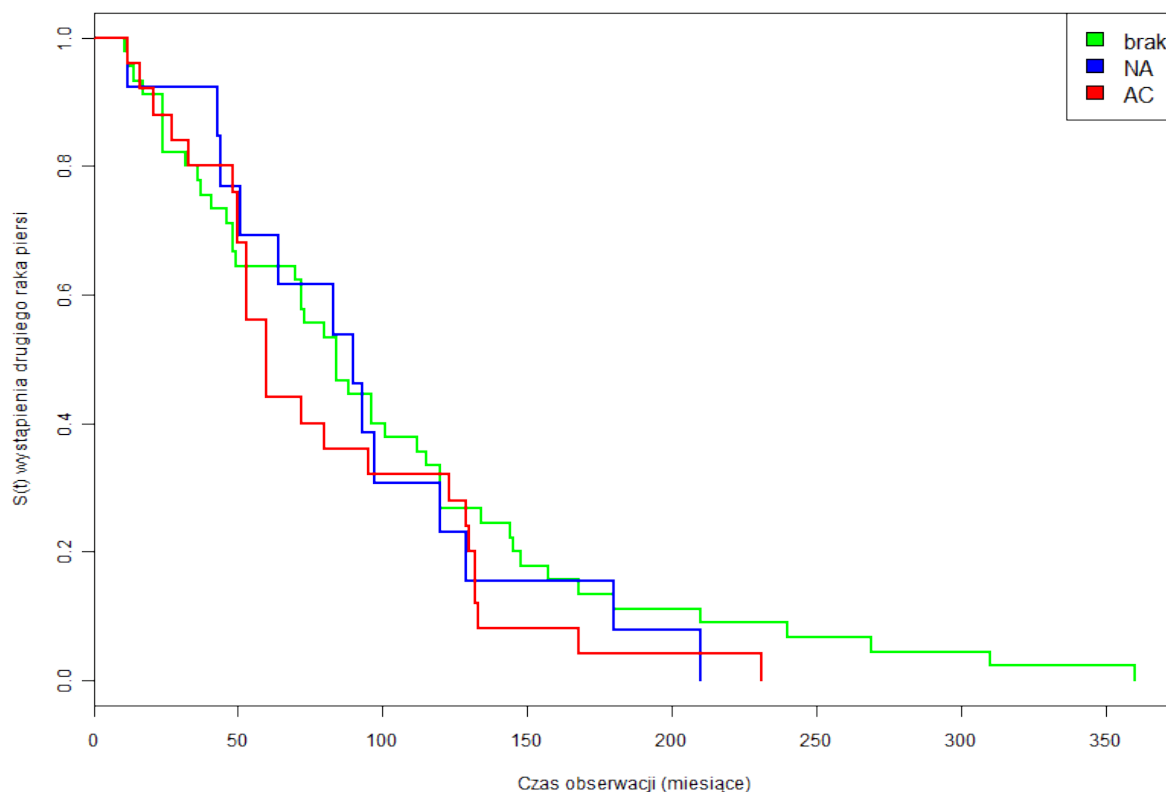
* W czasie dziesięciu lat obserwacji od zachorowania na raka pierwszej piersi w grupie z obecnym wywiadem rodzinnym w kierunku występowania raka piersi, 50% nie zachorowało na raka drugiej piersi.

Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, co oznacza, że ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w obu grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

W grupie pacjentek bez wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi, stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek z obecnym wywiadem rodzinnym pod kątem występowania raka piersi. Różnica jest statystycznie istotna.

Analizowano wpływ chemioterapii uzupełniającej zastosowanej w leczeniu raka pierwszej piersi, na prawdopodobieństwo wystąpienia raka drugiej piersi w grupie z metachronicznym rakiem piersi. Wynik przedstawiono na rycinie 25.



Rycina 25. Zależność pomiędzy chemioterapią uzupełniającą zastosowaną w leczeniu raka pierwszej piersi a prawdopodobieństwem wystąpienia raka drugiej piersi u kobiet z metachronicznym obustronnym rakiem piersi

- brak chemioterapii uzupełniającej – brak,
- leczenie uzupełniające bez udziału antracyklin – N – A
- leczenie uzupełniające w oparciu o antracykliny – A

Podsumowanie:

Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi we wszystkich grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi, czyli ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi we wszystkich grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

Różnica pomiędzy grupami nie jest statystycznie istotna.

5. OMÓWIENIE oraz DYSKUSJA

W niniejszej rozprawie przeprowadzono analizy wśród pacjentek z obustronnym rakiem piersi. Nie porównywano tej grupy chorych do pacjentek z jednostronnym rakiem piersi.

Takie spojrzenie związane jest z konsekwentnym odniesieniem do zastosowanych kryteriów: daty rozpoznania raka piersi oraz zaawansowania choroby nowotworowej, których użyto do oceny w ujęciu retrospektywnym.

Zgodnie z przyjętą w onkologii zasadą, rozpoznanie raka piersi było określone po histopatologicznej weryfikacji guza. Nie dysponowano kompletnymi danymi dotyczącymi sposobu rozpoznania guza piersi, takimi jak samobadanie, ocena palpacyjna lekarza czy badanie obrazowe.

Biologia, kinetyka zmian nowotworowych w gruczole piersiowym utrudniają jednoznaczne zdefiniowanie grupy pacjentek z jednostronnym rakiem piersi. W analizowanej grupie, ocenę histopatologiczną przeprowadzono tylko w piersi z guzem badanym obrazowo lub palpacyjnie. Uzasadnieniem dla takiego podejścia są wyniki dwóch prac naukowych. W pierwszej autorzy zaproponowali pacjentkom, u których stwierdzono raka w jednej piersi, wykonanie losowych punkcji cienkoigłowych w drugiej piersi. Badanie dotyczyło okolic będących lustrzanym odbiciem zmian nowotworowych z piersi przeciwległej. Wśród 150 pacjentek z wykonaną biopsją, u 13% stwierdzono obecność obustronnego raka piersi [305].

Wyniki drugiej pracy dotyczą pacjentek z rakiem piersi, u których przeprowadzono profilaktyczną mastektomię drugiej piersi, „zdrowej” w ujęciu radiologicznym, czy przedmiotowym. Patologiczna ocena 477 amputowanych profilaktycznie gruczołów piersiowych wykazała u 6% obecność zmian nowotworowych. Stwierdzono 8 przypadków raka inwazyjnego oraz 20 raków przewodowych in situ [306].

W niniejszej pracy skupiono się na grupie pacjentek z obustronnym rakiem piersi, stanowiącej jednolicie zdefiniowaną populację chorych.

Czas, w którym leczono kolejne pacjentki zakwalifikowane do analizy z powodu obustronnego raka piersi obejmuje ponad 30 lat. W tym okresie obserwowano dynamiczny postęp i zmiany w metodach diagnostyki histopatologicznej oraz terapii onkologicznej. Dlatego konieczna była rezygnacja ze szczegółowego podejścia do następujących parametrów: rozpoznanie histopatologiczne, rodzaj leczenia cytostatykami, rodzaj hormonoterapii.

W odniesieniu do rozpoznania histopatologicznego wyodrębniono 3 grupy: raka przewodowego, raka zrazikowego oraz inne raki. W ostatniej grupie występują raki: mieszane

(przewodowo – zrazikowe), z komponentą przedinwazyjnego raka przewodowego, z komponentą przedinwazyjnego raka zrazikowego, śluzowe, rdzeniaste, cewkowe, brodawkowe, sitowe. W przypadku chemioterapii ustalono dwie grupy chorych: leczonych schematami w oparciu o antracykliny oraz bez antracyklin. Nie określano typu hormonoterapii przydzielając pacjentki do grupy, w której stosowano leczenie hormonalne lub grupy bez hormonoterapii.

Niewielkie liczebności poszczególnych rozpoznań histopatologicznych oraz tworzenie mniejszych podgrup uwzględniających różnorodność schematów chemioterapii czy hormonoterapii, uniemożliwiłyby przeprowadzenie statystycznych analiz porównawczych i sformułowanie wniosków.

5.1. Analiza wybranych parametrów w metachronicznym i synchronicznym obustronnym raku piersi

Cechy demograficzne pacjentek

Wyższy odsetek pacjentek (bez statystycznie istotnej różnicy), które rodziły, stwierdzono w grupie z metachronicznym rakiem piersi 88% vs 83%. Nie zaobserwowano różnic pomiędzy grupami z synchronicznym i metachronicznym rakiem piersi po przeprowadzeniu procentowego rozkładu liczby porodów. W obu grupach najczęściej stwierdzano występowanie dwóch porodów. Brak ciąży, wcześniejszy wiek pierwszej miesiączki należą do znanych czynników ryzyka zachorowania na raka piersi. O znaczeniu czynników reprodukcyjnych w etiologii obustronnego raka piersi wspominają Poynter i wsp, podkreślając, że późniejszy wiek pierwszej miesiączki oraz zwiększona liczba porodów, statystycznie istotnie związane były z niższym ryzykiem zachorowania na obustronnego raka piersi [307]. W badaniu własnym oceniano, czy istnieje związek pomiędzy czynnikami reprodukcyjnymi a rodzajem obustronnego raka piersi. Podobnie jak w przypadku porodów, nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w wieku pierwszej miesiączki pomiędzy grupami z synchronicznym i metachronicznym rakiem piersi. Nie wykazano również zależności pomiędzy stosowaniem leków hormonalnych przyjmowanych przed rozpoznaniem ORP a rodzajem obustronnego raka piersi. Kheirseid i wsp. odnotowali stosowanie hormonalnej antykoncepcji u 33% kobiet z obustronnym rakiem piersi [9]. Wzrost ryzyka rozwoju raka w drugiej piersi po terapii hormonalnej wykazano w badaniu WECARE. Podkreślono znaczenie doustnej antykoncepcji oraz hormonalnej terapii zastępczej przed lub

po rozpoznaniu raka piersi. Czas trwania leczenia, wiek pacjentek, rodzaj hormonoterapii, nie wpływały istotnie na wielkość tego ryzyka [77].

Chociaż w grupie z synchronicznym rakiem piersi zaobserwowano wyższy odsetek palących (21%) w porównaniu do grupy z metachronicznym rakiem piersi (16%), nie były to różnice statystycznie istotne. Znaczenie palenia papierosów w zwiększeniu ryzyka zachorowania na raka piersi przedstawiono w badaniu Odiase. Istotny wzrost ryzyka tego nowotworu odnotowano u kobiet, które paliły papierosy przez co najmniej 20 lat i rozpoczęły palenie jako nastolatki, jeszcze przed pierwszym porodem [308]. Autorka rozprawy nie odnotowała w analizowanych pozycjach piśmiennictwa problematyki nikotynizmu w aspekcie obustronnego raka piersi.

Nie wykazano korelacji pomiędzy obecnością raka piersi w rodzinie, raka jajnika lub innych nowotworów w wywiadzie rodzinnym, a rodzajem obustronnego raka piersi. Vuoto i wsp. wskazują u pacjentek z synchronicznym rakiem piersi częstsze występowanie wywiadu rodzinnego w kierunku raka piersi niż w grupie z metachronicznym rakiem piersi. Zaobserwowany trend nie był statystycznie istotny [309].

Przeprowadzono obliczenia BMI w poszczególnych grupach chorych, uzyskując średnie wartości BMI = 27,3 kg/m² dla grupy synchronicznych i BMI = 27,0 kg/m² dla grupy metachronicznych obustronnych raków piersi. W obu grupach ORP uzyskano taką samą medianę BMI = 26 kg/m². Analiza statystyczna wyników BMI nie wykazała statystycznie istotnych różnic między wartościami średnimi. Stwierdzono, że BMI nie ma związku z rodzajem obustronnego raka piersi w badanej grupie pacjentek. Dignam i Mc Cascill-Sevens zaobserwowali, że otyłość wiąże się z częstszym występowaniem ORP [70, 71]. Ponad dwukrotny wzrost ryzyka ORP wykazano u kobiet z BMI ≥ 30 w porównaniu do kobiet z BMI $\leq 19,9$ [24]. Capasso i wsp. podkreślają, że otyłość będąc jedną ze składowych zespołu metabolicznego jest istotnym czynnikiem ryzyka raka piersi [310, 311]. Innym ważnym elementem tego zespołu jest cukrzyca. Stwierdzono ponad 2-krotny wzrost ryzyka obustronnego raka piersi u pacjentek z cukrzycą, w porównaniu do grupy bez cukrzycy [312].

W badaniu własnym stwierdzono statystycznie istotnie niższy średni wiek zachorowania na pierwszego raka piersi w grupie pacjentek z rakiem metachronicznym 48 lat i medianą 47 lat, w porównaniu do pacjentek z synchronicznym rakiem piersi, gdzie odnotowano średnią 56 lat i medianę 55 lat. Oceniono średni wiek zachorowania na raka pierwszej piersi z uwzględnieniem BMI, liczby porodów, używek, wystąpienia raka piersi w rodzinie. Wykazano obecność nieistotnej statystycznie zależności pomiędzy stosowaniem używek a wiekiem zachorowania na pierwszego raka piersi. Nie stwierdzono korelacji

między wiekiem zachorowania na raka w pierwszej piersi a BMI, liczbą porodów, wystąpieniem raka piersi w rodzinie.

Wykazano znaczenie stanu menopauzalnego w zachorowaniu na metachronicznego raka piersi. W grupie pacjentek z metachronicznym rakiem piersi częściej stwierdzano zachorowania w wieku przed menopauzą. W grupie z rakiem synchronicznym pacjentki częściej znajdowały się w wieku po menopauzie. Omawiana zależność nie jest statystycznie istotna.

Autorzy analizy obejmującej ponad 3800 pacjentek wykazali, że pacjentki z metachronicznym rakiem piersi były istotnie młodsze podczas wykrycia raka w pierwszej piersi w porównaniu do pacjentek z synchronicznym rakiem piersi (51 lat vs 58 lat). U pacjentek z SRP częściej stwierdzano obecność wywiadu rodzinnego, choć nie była to zależność statystycznie istotna [309]. Znaczenie młodszego wieku i dodatniego wywiadu rodzinnego w zwiększeniu ryzyka ORP wykazali również Majed i wsp. [72]. W kolejnej analizie stwierdzono, że młodszy wiek zachorowania na pierwszego raka piersi był dodatkowym czynnikiem pogarszającym rokowanie, związanym z krótszym odstępem czasu do raka w drugiej piersi [266]. W analizowanej populacji z ORP, nie zaobserwowano różnic w wieku zachorowania pomiędzy grupą z dodatnim i ujemnym wywiadem rodzinnym. Wykazano, że wiek zachorowania na ORP był istotnie niższy wśród pacjentek z dodatnim onkologicznym wywiadem rodzinnym, ale z obecnością innych nowotworów niż rak piersi czy jajnika (płuco, prostata, żołądek, CUN, czerniak). Podobną obserwację odnotowali Skasko i wsp. w wyselekcjonowanej grupie z metachronicznym obustronnym rakiem piersi. W grupie z synchronicznym rakiem piersi nie stwierdzono takiej zależności [103].

Cechy kliniczne, histopatologiczne, immunohistochemiczne raka pierwszej i drugiej piersi

W grupie z synchronicznym i metachronicznym rakiem piersi porównywano rodzaj histopatologiczny guza, wielkość guza, stan węzłów chłonnych, stopień złośliwości histopatologicznej, wieloogniskowość, ekspresję ER, PgR, p53, Ki67, HER2.

Stwierdzono, że oba guzy u pacjentek z synchronicznym i metachronicznym rakiem piersi różniły się pod względem wielkości guza i klinicznej oceny zajęcia węzłów chłonnych. W obu grupach wielkość guza i stopień zajęcia węzłów chłonnych w pierwszej piersi były istotnie większe od wielkości guza i stopnia klinicznego zajęcia węzłów chłonnych w piersi przeciwległej. W grupie raków synchronicznych dwa guzy rozpoznawano w tym samym

czasie. Konieczne było ustalenie jednolitej definicji, który z guzów rozpatruje się jako rak pierwszej piersi. Ponieważ wielkość guza w głównej mierze decyduje o rodzaju postępowania terapeutycznego, jako rak pierwszej piersi uznawano gruczoł piersiowy z większym guzem.

Uwzględniając histopatologiczny stan zajęcia węzłów chłonnych oraz stopień histopatologicznej złośliwości guza, w grupie z synchronicznym rakiem piersi wykazano taki sam stopień zajęcia węzłów chłonnych oraz stopień złośliwości histopatologicznej guza (czyli stwierdzono zgodność obydwu guzów w zakresie tych cech) pomiędzy pierwszym i drugim rozpoznaniem raka piersi. W grupie z metachronicznym rakiem piersi, w przypadku raka piersi pierwszej stwierdzano wyższy stopień zajęcia węzłów chłonnych oraz wyższy stopień histopatologicznej złośliwości guza. Omawiane zależności nie są statystycznie istotne.

Zarówno w raku synchronicznym jak i metachronicznym nie wykazano różnicy przy ocenie wieloogniskowości guza jednej i drugiej piersi.

W grupie z SRP i MRP w ponad 50% rozpoznawano raki przewodowe. Rozpoznania histopatologiczne różniły się pomiędzy guzami obydwu gruczołów piersiowych, przy czym większą odmienność odnotowano w grupie raków metachronicznych.

Ocena pod kątem zgodności par w zakresie parametrów immunohistochemicznych (ekspresja ER, PgR, p53, Ki67, HER2), nie wykazała statystycznie istotnych różnic pomiędzy pierwszym i drugim rakiem, zarówno w grupie z synchronicznym jak i metachronicznym obustronnym rakiem piersi.

Stwierdzenie innej budowy histopatologicznej w raku pierwszej i drugiej piersi jest argumentem przemawiającym za tym, że obydwa guzy ORP mogą być rozpatrywane jako biologicznie różne [313, 314]. Jednak guz drugiej piersi ma zwykle budowę histologiczną podobną do przebytego wcześniej raka. Dane literaturowe koncentrują się na porównaniu histologii obustronnych raków piersi do raków jednostronnych oraz charakterystyce histologicznej guzów pacjentek z ORP.

Wykazano wzrost częstości rozpoznań raka zrazikowego i cewkowego w ORP [305]. Zachorowania na obustronnego raka piersi były wyższe dla inwazyjnego raka zrazikowego niż inwazyjnego przewodowego (20,9% i 11,2% odpowiednio) [315], co potwierdzono również w innym badaniu [6]. Natomiast ocena pierwszego raka piersi w grupie 491 pacjentek z ORP wskazywała większą liczbę raków przewodowych (83,5%), w porównaniu do innych typów histologicznych [101]. Przeprowadzono charakterystykę około 150 kobiet z symultanicznym obustronnym rakiem piersi. Wykazano wysoką zgodność histopatologiczną pomiędzy rakiem pierwszej i drugiej piersi. Częściej rozpoznawano inwazyjnego raka zrazikowego. Sytuacja ta zdaniem autorów może być odzwierciedleniem szczególnego środowiska hormonalnego, które

wpływa na inicjację i rozwój zmian symultanicznych. W badanej grupie zaobserwowano tendencję do występowania mniej agresywnych biologicznych cech guza niż w kontrolnej grupie raków jednostronnych. Częściej notowano mniejsze rozmiary obu guzów, obecność ekspresję receptorów steroidowych, mniejszą inwazję naczyń, wyższy stopień dojrzałości raka, niższy wskaźnik proliferacji Ki67. Często obecność komponenty in situ w jednym z raków definitywnie potwierdzała charakter pierwotny każdego raka [42]. Obserwowano brak zgodności w zakresie ekspresji receptorów steroidowych pomiędzy rakami pierwszej i przeciwległej piersi, zarówno w synchronicznych jak i metachronicznych ORP [305]. W innym badaniu stwierdzono wyższą zgodność ekspresji receptorów steroidowych w rakach synchronicznych w porównaniu do raków metachronicznych [20]. W kolejnej analizie ORP pod kątem cech kliniczno – patologicznych takie same rozpoznania histopatologiczne uzyskano u 93% kobiet z synchronicznym, a u 59% z metachronicznym ORP. Istotną różnicę w zgodności pomiędzy synchronicznym i metachronicznym ORP uzyskano tylko dla ekspresji receptora progesteronowego: odpowiednio 86% i 52% [316].

W retrospektywnej ocenie grupy pacjentek, które przebyły obustronnego raka piersi i nie otrzymywały tamoksyfenu w leczeniu uzupełniającym, wykazano różną ekspresję receptorów estrogenowych i dla progesteronu [317]. Niską zgodność pomiędzy receptorami steroidowymi obu raków opisuje inne badanie. Stwierdzono w nim także częstsze występowanie raków piersi przeciwległej bez receptora estrogenowego, wśród pacjentek stosujących tamoksyfen. Biologiczny mechanizm tych obserwacji w opinii autorów nie jest dokładnie znany [318]. Różnice w ekspresji receptorów steroidowych pomiędzy rakiem pierwszej i drugiej piersi wykazali Matsuo i wsp. w analizie grupy z metachronicznym rakiem piersi. Badacze odnotowali częstszą utratę ekspresji receptorów estrogenowych w rakach drugiej piersi [319]. Jednak często obydwie raki piersi mają taką samą ekspresję receptorów steroidowych [9, 10]. Wśród pacjentek z ORP opisywany jest znaczący wzrost występowania ekspresji dla receptorów estrogenowych [41]. Przeprowadzono analizę ekspresji ludzkiego receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu 2 (HER-2) pierwszego i drugiego raka piersi u pacjentek z metachronicznym ORP. Wykazano statystycznie znaczącą korelację nadekspresji HER-2 w obu guzach ORP sugerując, że występowanie HER-2 w raku drugiej piersi ma związek z jego nadekspresją w raku pierwszej piersi [318]. Autorzy badania oceniający obustronne raki piersi u 112 pacjentek odnotowali częstsze występowanie raka przewodowego - ponad 70% oraz wyższy odsetek PgR pozytywnych guzów w grupie raków synchronicznych. Obydwie guzy nie różniły się pod względem rozpoznania histopatologicznego jak i stopnia złośliwości G. Stwierdzono istotne różnice w ekspresji PgR oraz HER2 w rakach pierwszej i przeciwległej

piersi. Nie zaobserwowano takiej zależności dla receptora estrogenowego [9].

W prezentowanej pracy doktorskiej nie rozpatrywano wpływu tamoksyfenu (tu: hormonoterapii) na status receptorowy drugiej piersi, ponieważ nie wykazano niezgodności (różnic) par analizowanych parametrów immunohistochemicznych pierwszego i drugiego raka zarówno w synchronicznym jak i metachronicznym raku piersi.

Nie porównywano ilości, to znaczy odsetkowych wartości poszczególnych parametrów pierwszego raka oraz guza piersi przeciwległej, w ujęciu statystycznych zależności pomiędzy grupą SRP i MRP. Ponieważ raki synchroniczne badanej populacji stanowią jednocześnie grupę raków symultanicznych (tzn. rozpoznanych, operowanych w tym samym czasie), trudne do ustalenia jest tutaj, w której piersi rak rozwinął się wcześniej. Aby możliwe było uporządkowanie konieczne do charakterystyki grupy, przyjęto stałe kryterium, że guzem pierwszym określano ten o większym zaawansowaniu. Jest to jednak podział umowny, który nadal nie wyklucza przypadkowości podczas definiowania: pierś pierwsza, pierś druga.

5.2. Cechy kliniczne, histopatologiczne, immunohistochemiczne z uwzględnieniem oceny mutacji w genie BRCA1

Ponieważ w grupie pacjentek z synchronicznym rakiem piersi, poddanych ocenie mutacji w genie BRCA1, u żadnej nie odnotowano mutacji, nie było możliwe przeprowadzenie analizy w tej podgrupie pacjentek. Dlatego skupiono się na wyodrębnionej z 36 kobiet, grupie 24 pacjentek z metachronicznym obustronnym rakiem piersi.

Wykazano wcześniejszy wiek zachorowania na pierwszego raka w grupie z metachronicznym obustronnym rakiem piersi u nosicielek mutacji BRCA1 z medianą 39 lat, przy minimum 30 lat, maximum 52 lat. W grupie nienosicielek mutacji odnotowano późniejszy wiek zachorowania na pierwszego raka piersi z medianą 49 lat, minimum 33 lat, maximum 79 lat.

Różnice są statystycznie istotne. Niższy wiek u nosicielek mutacji BRCA1 stwierdzono w przypadku braku wywiadu rodzinnego pod kątem wystąpienia raka piersi.

Młodszy wiek zachorowania na ORP u nosicielek mutacji w genie BRCA1 opisywano w literaturze. Autorzy badania oceniającego predyspozycję do rozwoju ORP pod kątem mutacji w genie BRCA1, wykazali większe ryzyko u pacjentek w wieku poniżej 50 roku życia [92, 101]. Taką tendencję potwierdzają wyniki innego badania, w którym stwierdzono istotnie wyższe prawdopodobieństwo rozwoju ORP w czasie 15 lat u nosicielek mutacji BRCA1 poniżej 50 roku życia, w porównaniu do kobiet starszych. Zaobserwowano wyższe ryzyko

ORP w grupie młodszych pacjentek, mających co najmniej dwie krewne pierwszego stopnia z dodatnim wywiadem w kierunku raka piersi, w porównaniu do grupy z mniejszą liczbą chorych w rodzinie lub dalszym pokrewieństwem [320]. Analiza kobiet z obustronnym rakiem piersi wykazała u nosicielek mutacji BRCA1 wcześniejszy wiek zachorowania na pierwszego i drugiego raka piersi w porównaniu do nienosicielek [103].

W badaniu własnym stwierdzono niższą medianę BMI w grupie nienosicielek mutacji BRCA1 – 26,8 kg/m² przy minimum 20,5 kg/m² oraz maximum 39,1 kg/m².

Mediana BMI w grupie nosicielek mutacji BRCA1 – 29 kg/m², przy minimum 21,8 kg/m² oraz maximum 38,8 kg/m². Różnica w średnich wartościach BMI jest statystycznie nieistotna. Manders i wsp. oceniali związek pomiędzy BMI a ryzykiem raka piersi u nosicielek mutacji BRCA1/2, w zależności od stanu menopauzalnego. U młodszych kobiet ze wzrostem BMI notowano tendencję do niższego ryzyka raka piersi. W grupie kobiet po menopauzie i BMI ≥ 25 , stwierdzono statystycznie nieistotny, około 50% wzrost ryzyka raka piersi. W przeglądzie piśmiennictwa nie znaleziono analiz BMI uwzględniających obecność i brak mutacji w genie BRCA1, w tym w odniesieniu do grupy z obustronnym rakiem piersi [321].

W niniejszej pracy nie wykazano zależności pomiędzy stosowaniem używek, a mutacją genu BRCA1, pomiędzy wywiadem rodzinnym w kierunku raka piersi i innych nowotworów niż rak piersi, a mutacją genu BRCA1. Analizy korelacji pomiędzy stosowaniem używek a ryzykiem zachorowania na raka piersi u nosicielek mutacji BRCA dają różnorodne wyniki. W pracy Lecarpentiera i wsp. potwierdzono znaczenie palenia tytoniu u nosicielek mutacji BRCA1/2. Ponad 21 paczkolet istotnie zwiększało ryzyko zachorowania na raka piersi. Nie wykazano natomiast związku pomiędzy spożyciem alkoholu a ryzykiem raka piersi u nosicielek mutacji BRCA1/2 [322]. Brak zwiększonego ryzyka zachorowania na raka piersi związanego z konsumpcją alkoholu w grupie nosicielek mutacji BRCA1/2 wykazano również w dwóch innych badaniach [323, 324]. W klinicznym, międzynarodowym badaniu nie wykazano zwiększonego ryzyka raka piersi związanego z paleniem papierosów u kobiet z obecną mutacją BRCA1/2 [325]. Nie odnotowano w literaturze odniesienia powyższego zagadnienia do grupy z obustronnym rakiem piersi.

W badaniu własnym nie wykazano zależności pomiędzy terapią hormonalną stosowaną przed zachorowaniem na ORP, a mutacją genu BRCA1. W literaturze zaakcentowano, że ze względu na podwyższone ryzyko zachorowania na raka drugiej piersi, pacjentkom w wieku pomenopauzalnym, będącym nosicielkami mutacji BRCA1/2, które przeżyły raka piersi, nie zaleca się hormonoterapii zastępczej [275]. U kobiet z obecną mutacją BRCA1, które stosowały doustną antykoncepcję hormonalną, stwierdzono dwukrotne zwiększenie częstości

zachorowania na raka piersi. Dlatego w tej grupie pacjentek doustna antykoncepcja jest przeciwwskazana [139].

W niniejszej pracy stwierdzono statystycznie nieistotną niższą medianę czasu do drugiego raka piersi u nienosicielek mutacji BRCA1 – 71 miesięcy, przy minimum 21 miesięcy i maximum 168 miesięcy. Mediana czasu do drugiego raka piersi u nosicielek mutacji BRCA1 wynosi 75 miesięcy, przy minimum 12 miesięcy oraz maximum 180 miesięcy. Nie znaleziono w przeglądzie piśmiennictwa analizy czasu do drugiego raka piersi z uwzględnieniem oceny mutacji w genie BRCA1, u kobiet z obustronnym metachronicznym rakiem piersi.

W ramach rozprawy, w grupie poddanej ocenie mutacji genu BRCA1, przeprowadzono analizę cech klinicznych i histopatologicznych raków obustronnych.

Stwierdzono mniejszy rozmiar guza w drugiej piersi zarówno u nosicielek i nienosicielek mutacji w genie BRCA1. U pacjentek z obecną mutacją w genie BRCA1 notowano mniejsze zaawansowanie raka piersi przeciwległej w zakresie węzłów chłonnych.

W obu grupach pacjentek (z obecną i nieobecną mutacją genu BRCA1), częściej występował rak przewodowy. Wykazano statystycznie istotną różnicę w stopniu złośliwości histopatologicznej pomiędzy nienosicielkami i nosicielkami mutacji w genie BRCA1. U nosicielek mutacji BRCA1 notowano wyższy stopień złośliwości histopatologicznej.

W literaturze podkreślana jest odmienność cech klinicznych i histopatologicznych raka piersi zależna od mutacji w genie BRCA1. Stwierdzono, że charakterystyczną cechą raków BRCA1-zależnych jest szybkie tempo rozrastania się tych guzów (G3 już w chwili rozpoznania), występowanie raków rdzeniastych, atypowych rdzeniastych lub naciekających przewodowych [102, 273]. W międzynarodowym badaniu CIMBA stwierdzono w rakach piersi nosicielek mutacji BRCA1, częstsze rozpoznanie raka rdzeniastego, wyższy stopień złośliwości histopatologicznej w przypadku guzów bez ekspresji receptora estrogenowego [326]. Badacze brytyjscy analizując pacjentki z rdzeniastym rakiem piersi nie wykazali w tej grupie częstszych mutacji BRCA1 [327]. Badanie polskie wykazało u nosicielek BRCA1/2 wyższy odsetek raka piersi rdzeniastego. Podobne cechy raka piersi BRCA1- zależnego opisują inni autorzy podkreślając częstsze występowanie raka rdzeniastego lub atypowego rdzeniastego, rzadszą obecność formy *in situ* [81]. W badaniu Veronesi i wsp. wskazują na występowanie przerzutów do węzłów chłonnych, wieloogniskowość [110]. Guzy nosicielek mutacji BRCA1 charakteryzują się większym pleomorfizmem, wyższą liczbą mitoz, mniejszą formacją tubul niż w grupie kontrolnej [89, 104].

Autorzy prac charakteryzujących raki piersi u nosicielek mutacji w genie BRCA1, zwracają również uwagę na specyficzny profil immunohistochemiczny w tej grupie pacjentek.

W badaniu własnym stwierdzono u pacjentek z obecną mutacją w genie BRCA1 brak dodatniego receptora estrogenowego i progesteronowego w porównaniu do nienosicielek mutacji w genie BRCA1. Wykazana różnica jest statystycznie istotna.

Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic w ekspresji HER2 pomiędzy grupami z obecną i nieobecną mutacją w genie BRCA1. U nosicielek mutacji w genie BRCA1 stwierdzono brak HER2(3+). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w ekspresji p53, Ki67 pomiędzy grupami z obecną i nieobecną mutacją w genie BRCA1.

Wyniki badań immunohistochemicznych potwierdzałyby opisywaną aktualnie w literaturze naukowej tendencję do częstszego występowania u nosicielek mutacji BRCA1 potrójnie ujemnych raków piersi.

W guzach BRCA1 zależnych wykazywany jest brak ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych [102, 273]. U nosicielek mutacji BRCA1 stwierdza się brak ekspresji receptora HER2, obecność białka p53, podwyższony index proliferacji [104, 105, 106, 106]. W badaniu CIMBA również odnotowano, że raki BRCA1 zależne częściej nie mają ekspresji receptorów steroidowych oraz HER-2. Wykazano jednak wzrastającą z wiekiem zachorowania na raka piersi tendencję do obecności ekspresji receptorów dla estrogenów i progesteronu. Po analizie grupy z obustronnym rakiem piersi, odnotowano występowanie związku pomiędzy statusem receptorów steroidowych guza w pierwszej i drugiej piersi, co zdaniem autorów sugeruje podobną genezę raka w drugiej piersi. Chociaż podano następnie, że w 70 % guzów BRCA1 zależnych z obecną ekspresją receptora estrogenowego raka w pierwszej piersi, w raku piersi przeciwległej nie stwierdzono ekspresji ER [326].

Zbyt mała liczebność grupy uniemożliwiła przeprowadzenie wnikliwszych analiz uwzględniających np. szczegółowsze rozpoznania histopatologiczne, rodzaj zastosowanego leczenia.

5.3. Analiza przeżycia w metachronicznym raku piersi

Retrospektywny charakter niniejszych badań, do których kwalifikowano pacjentki w okresie ponad 30-letnim, różny punkt startowy, brak możliwości śledzenia losów pacjentek, nieznaną przyczyną zgonu, utrudnia (uniemożliwia) rzetelne określenie wskaźników rokowania (przeżyć całkowitych, czasu wolnego od choroby nowotworowej itp.) w całej grupie pacjentek.

W piśmiennictwie wykazano, że przedział czasowy pomiędzy pierwszym i drugim rozpoznaniem wpływa na przeżycia chorych z obustronnym rakiem piersi. Zaobserwowano,

że średnie przeżycie w tej grupie chorych wydłuża się ze wzrostem odstępu czasu pomiędzy pierwszym i drugim rakiem [21].

Dlatego czynniki rokownicze omawiane są tylko na modelu metachronicznego raka piersi, w którym za punkt końcowy przyjęto rozpoznanie drugiego raka piersi. Grupę pacjentek z metachronicznym rakiem piersi poddano analizie estymatorem Kaplana-Meiera.

W badanej grupie metachronicznego raka piersi odnotowano medianę i średni czas do wystąpienia drugiego raka piersi odpowiednio 80 miesięcy i 94 miesiące, przy minimum 11 miesięcy i maximum 360 miesięcy.

Na wykresie Kaplana-Meyera przedstawiono, iż 50% prawdopodobieństwo przeżycia bez wystąpienia raka w drugiej piersi w tej grupie pacjentek wynosi około 70 miesięcy. Prawdopodobieństwo przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi. Ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi. Ocena prawdopodobieństwa przeżycia bez raka w drugiej piersi wykazała dla czasu obserwacji od zachorowania na raka w pierwszej piersi 2, 5, 10 lat, wykazała odpowiednio odsetki 80%, 60% 35% grupy badanej.

Odstęp pomiędzy diagnozami pierwszego i drugiego raka piersi prezentowany przez autorów publikacji zamieszczono poniżej:

| | | | |
|-------------------------------|-------|------------------|-------------------------------|
| Ruggeri A et al. | [313] | 75,6 m-cy | 75,0 m-cy – 204,0 m-cy |
| Nowicka E et al. | [328] | 87,6 m-cy | 15,1 m-cy - 355,2 m-ce |
| Branković-Magić M et al. | [329] | 28,0 m-cy | 3,0 m-ce – 36,0 m-cy |
| Engin K. | [305] | 31,2 m-ce | ± 7,2 m-ce |
| Arpino G et al. | [315] | 36,0 m-cy | ----- |
| Holmberg L et al. | [330] | 37,0 m-cy | 3,0 m-ce – 150,0 m-cy |
| Narod S et al. | [101] | 66,0 m-cy | 1,2 m-ce – 194,4 m-cy |
| Beckman KR et al. | [331] | 1046 dni | ----- |
| Kheirelseid EAH et al. | [9] | 6 lat | ----- |
| Vuoto HD et al. | [309] | 81 m-cy | |
| Mazur-Roszak [niepublikowane] | | 94 m-ce | 11 - 360 m-cy |

Badano znaczenie cech klinicznych i patomorfologicznych w odniesieniu do czasu wystąpienia raka w drugiej piersi.

W przypadku wszystkich analizowanych parametrów stwierdzono, że prawdopodobieństwo

przeżycia bez zachorowania na raka w drugiej piersi w porównywanych grupach maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi. Innymi słowy ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi w porównywanych grupach wzrasta z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi.

*Statystycznie istotne wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi wykazano w grupie pacjentek:

- zgłaszającej stosowanie używek, w porównaniu do niestosujących używek
- bez wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi, w porównaniu do obecnego wywiadu rodzinnego w kierunku raka piersi
- z rozpoznaniem raka zrazikowego w pierwszej piersi, w porównaniu do pozostałych rodzajów histopatologicznych (rak przewodowy, inny rodzaj niż rak zrazikowy lub przewodowy)
- z obecną ekspresją receptorów estrogenowych i dla progesteronu, w porównaniu do braku ekspresji receptorów steroidowych

*Nieistotnie statystycznie wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi wykazano:

- w grupie pacjentek, które nie rodziły, w okresie obserwacji do 180 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi
- w grupie pacjentek z BMI \geq 25 kg/m² w okresie obserwacji do 100 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi, w porównaniu do pacjentek z BMI $<$ 25 kg/m²
- w grupie pacjentek z HER2(0,1+) w okresie obserwacji do 155 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi, stwierdzano wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w porównaniu do pacjentek z HER2(2+,3+)

*Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w ryzyku wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w przypadku analizy: stopnia złośliwości histopatologicznej guza, antygenu Ki67, ekspresji białka p53.

Przechodząc do dyskusji opartej na konfrontacji prezentowanych wyników z doniesieniami literatury fachowej, autorka pragnie przypomnieć, że czynniki rokownicze omawiane są na modelu metachronicznego raka piersi, gdzie za punkt końcowy przyjęto rozpoznanie raka w drugiej piersi. Takie podejście było konieczne z przyczyn wymienionych na wstępie tego rozdziału. Umożliwia przeprowadzenie obliczeń dla obustronnego raka piersi z wykorzystaniem analizy przeżycia. Stwarza jednak problem w doborze stosownych cytowań z powodu skąpej liczby badań o podobnym profilu merytorycznym.

W dyskusji skupiono się na aspektach związanych z postępowaniem prewencyjno - terapeutycznym wobec raka w drugiej piersi. Jeżeli rak w piersi przeciwległej traktowany jest jak drugi niezależny nowotwór, zgodnie z definicją podaną we wstępie rozprawy doktorskiej, można by w tym miejscu omówić czynniki ryzyka odgrywające rolę w zainicjowaniu raka piersi w populacji ogólnej. Jednak u pacjentek, które przebyły leczenie z powodu raka piersi, oprócz cech konstytucyjnych znaczenie odgrywają dodatkowe zmiany biologiczne, które mogą wpływać na efekt końcowy zależny od danego czynnika. Wydaje się, że zasadnym pozostaje spojrzenie na modyfikowalne czynniki związane ze stylem życia. W piśmiennictwie nie potwierdzono, że alkohol jest niezależnym czynnikiem ryzyka zachorowania na raka piersi [322]. Ale nie wykazano również jego prewencyjnej roli w zakresie zachorowania na raka piersi. Zdaniem autorki wątpliwe jest zatem bezkrytyczne stanowisko akceptujące spożywanie alkoholu w aspekcie raka piersi. Ginsburg i wsp. wskazali na obecność efektu ochronnego palenia papierosów wobec ryzyka raka piersi w grupie nosicielek mutacji BRCA1/2 [325]. Natomiast wcześniejsze publikacje cytowane przez tych autorów,

poruszające zagadnienia epidemiologiczne z zakresu raka piersi wyraźnie podkreślają związek ekspozycji na nikotynę z podwyższonym ryzykiem zachorowania na raka piersi. Otyłość jest kolejnym czynnikiem, który należy uwzględnić w tym ujęciu. Zwłaszcza, że autorzy badania oceniającego ryzyko ORP u kobiet z nadwagą i otyłością, odnotowali istotną od czasu obserwacji zależność pomiędzy tymi parametrami. Znaczący wzrost odsetka ORP stwierdzono wśród pacjentek z BMI > 25 kg/m² po 10 latach od rozpoznania raka w pierwszej piersi [72]. Dane z piśmiennictwa wskazują, że w przypadku dodatnich receptorów steroidowych stwierdzano dłuższy czas do wystąpienia raka w drugiej piersi [329]. Odnotowano znaczące wydłużenie czasu pomiędzy pierwszym i drugim rozpoznaniem u pacjentek po menopauzie [305, 332]. Ruggeri i wsp. wykazali krótszy czas do rozpoznania drugiego raka piersi w przypadku nowotworowego zajęcia węzłów chłonnych [313]. Wspomina się w literaturze o odmiennej biologii inwazyjnego raka zrazikowego, ale również jego częstszym występowaniu w obustronnym symultanicznym raku piersi [333]. W prezentowanej dysertacji nie przeprowadzono oceny pod kątem nosicielstwa mutacji w genie BRCA1 u wszystkich pacjentek poddanych omawianej analizie. Stwierdzone istotnie wcześniejsze zachorowania na raka w drugiej piersi u pacjentek bez wywiadu rodzinnego, uzasadnia celowość proponowania oceny genetycznej w tej grupie pacjentek. Wynik takiego badania umożliwiłby, w przypadku rozpoznania inwazyjnego zrazikowego raka piersi, wybór optymalnej opcji terapeutycznej (chirurgicznej, systemowej), jak również prewencyjnej. W badaniu własnym stwierdzono odmienną od cytowanej w piśmiennictwie zależność dotyczącą receptorów steroidowych. Celem próby wyjaśnienia zaistniałej rozbieżności dokonano szczegółowej analizy cech klinicznych, immunohistochemicznych oraz związku statusu BRCA1 u pacjentek z metachronicznym rakiem piersi z uwzględnieniem 4 podgrup:

- guz piersi pierwszej ER+, guz piersi drugiej ER+
- guz piersi pierwszej ER+, guz piersi drugiej ER-
- guz piersi pierwszej ER-, guz piersi drugiej ER-
- guz piersi pierwszej ER-, guz piersi drugiej ER+

W podgrupie pacjentek z ujemnym receptorem estrogenowym (ER-) w pierwszym guzie zaobserwowano wcześniejszy wiek zachorowania na pierwszego raka piersi, mniejszy rozmiar guza, niższy stopień zajęcia węzłów chłonnych, wyższy stopień złośliwości histopatologicznej, częstsze występowanie raka przewodowego. Stwierdzono niższe wartości BMI (mediana 25 kg/m², średnia 27 kg/m²) w przypadku ujemnego receptora estrogenowego

w pierwszym guzie oraz wyższe wartości BMI (mediana 29 kg/m², średnia 28 kg/m²) w przypadku dodatniego receptora estrogenowego w pierwszym guzie (p=0,13). Wykazano wyższy odsetek pacjentek z rakiem HER2 ujemnym, obecność mutacji w genie BRCA1 oraz częściej obecny wywiad rodzinny w kierunku raka piersi. Stwierdzono niższy wiek ostatniej miesiączki – należy przypuszczać, że w tej grupie menopauza była następstwem chemioterapii. Pacjentki z dodatnimi receptorami estrogenowymi częściej chorowały na MRP po menopauzie. Pacjentki z grupy badanej przebyły intensywniejsze leczenie okołoperacyjne (indukcyjne i uzupełniające), otrzymywały chemioterapię opartą na antracyklinach, uzupełniającą radioterapię. W podgrupie z dodatnimi receptorami estrogenowymi, ale jednocześnie wyższym stopniem zajęcia węzłów chłonnych, u mniejszego odsetka chorych przeprowadzono leczenie okołoperacyjne. Zastosowane schematy chemioterapii rzadziej oparte były na antracyklinach.

Ponieważ pacjentki z niższymi wartościami BMI są szczuplejsze, częściej mają mniejszy rozmiar gruczołów piersiowych. Być może ułatwiało to wcześniejsze rozpoznanie guza i rozpoczęcie leczenia w niższym stadium zaawansowania nowotworu. Odwrotnie jest u pacjentek z podwyższonymi wartościami BMI (nadwaga, otyłość). Zwiększona objętość tkanki tłuszczowej w piersiach utrudnia rozpoznanie guza i pacjentki zgłaszają się z bardziej zaawansowaną chorobą.

Zastanawiając się nad przyczyną wcześniejszego występowania raka w drugiej piersi u pacjentek z dodatnimi receptorami estrogenowymi, należałoby uwzględnić znaczenie zachorowania w późniejszym wieku, które notowane było właśnie w tej grupie pacjentek.

Z piśmiennictwa znana jest ochronna rola tamoksyfenu, stosowanego w leczeniu uzupełniającym w celu zmniejszenia ryzyka zachorowania na drugiego niezależnego raka piersi. Analiza 55 randomizowanych badań z udziałem 37 tysięcy kobiet wykazała, że przyjmowanie przez wszystkie te pacjentki (w tym z niskim lub zerowym poziomem receptorów estrogenowych) tamoksyfenu przez okres jednego roku, dwóch i pięciu lat, daje proporcjonalną redukcję raka w drugiej piersi o odpowiednio 13%, 26% i 47%. Całkowity spadek ORP był dwukrotnie większy niż całkowity wzrost incydentów raka endometrium [250].

Wykazano, że u pacjentek z dodatnimi receptorami steroidowymi, tamoksyfen redukuje ryzyko rozwoju raka w drugiej piersi o 39% – 50%. Zmniejszenie ryzyka wystąpienia raka w drugiej piersi po leczeniu tamoksyfenem zaobserwowano w grupie kobiet po menopauzie [251, 252, 253].

Ostatnie doniesienia wskazują, że wpływ tamoksyfenu na rozwój ORP wydaje się być

modyfikowany przez wiek, a widoczny spadek działania prewencyjnego zaobserwowano dla wieku poniżej 45 lat [254].

W innym badaniu zauważono, że użycie tamoksyfenu zmniejsza ryzyko wystąpienia drugiego raka piersi w grupie pacjentek z obecnymi receptorami estrogenowymi. Nie stwierdzono tego wpływu w guzach z ujemnymi receptorami [255]. Podobnie wnioskuje autorzy oceniający wpływ leczenia tamoksyfenem na receptory estrogenowe w metachronicznym ORP. Wykazano w drugiej piersi wyższą proporcję guzów bez receptorów estrogenowych [256]. Także autorzy innego badania wnioskuje, że zastosowanie tamoksyfenu w ramach terapii uzupełniającej redukuje ryzyko zachorowania na ORP. Przy czym w drugich rakach częściej obserwowano brak ekspresji receptorów steroidowych [257, 258, 259]. Odminną zależność znaleziono w badaniu, w którym wśród 35 pacjentek z ORP, które stosowały w leczeniu uzupełniającym pierwszego raka piersi tamoksyfen, u 27 stwierdzono ekspresję receptorów estrogenowych w drugim guzie [260].

Obiecującym środkiem prewencyjnym w ORP staje się anastrozol [261, 262]. Wyniki badania ATAC (Arimidex and Tamoxifen Alone or in Combination) wykazały przewagę anastrozolu nad tamoksyfenem w leczeniu uzupełniającym, między innymi w profilaktyce ORP u kobiet po menopauzie, z przebytym, wczesnym rakiem piersi z dodatnimi receptorami estrogenowymi [263].

Późniejszy wiek zachorowania może się więc wiązać z tendencją do słabszych odpowiedzi na prowadzoną chemoprewencję ORP z zastosowaniem tamoksyfenu. Należy pamiętać, że pacjentki z dodatnimi receptorami estrogenowymi, oprócz wieku pomenopauzalnego cechowało częstsze występowanie podwyższonego BMI. Taka sytuacja sprzyja na pewno obecności chorób towarzyszących, w tym np. zespołu metabolicznego, z czym wiąże się stosowanie farmakoterapii mogącej interferować z prowadzoną terapią onkologiczną. W zaleceniach z St Gallen 2011 dotyczących postępowania terapeutycznego w raku piersi odrzucono znaczenie CYP2D6 w przypadku stosowanej terapii tamoksyfenem [334]. Możliwa jest jednak obecność wielu nieznanych jeszcze mechanizmów wpływających na skuteczność czy działania niepożądane systemowej terapii przeciwnowotworowej. Dlatego istotne mogą być tutaj trudne do określenia, indywidualne uwarunkowania predysponujące zarówno do zainicjowania choroby nowotworowej jak i odpowiedzi/oporności na prowadzoną terapię. Zaistniała wątpliwość jest tu pretekstem do wspomnienia o nie do końca jeszcze jasnej roli receptorów beta, a tych w badanej grupie nie oznaczano. Z jednej strony nie jest bowiem do końca jasny mechanizm oporności na tamoksyfen, z drugiej notowane są odpowiedzi na hormonoterapię u pacjentek z ujemnym statusem receptorowym [94,335]. Z całą pewnością

poruszona wyżej kwestia powinna być uwzględniana podczas postępowania terapeutycznego. Konieczne są również dalsze poszukiwania odpowiedzi oparte o zaplanowane, przeprowadzone badania naukowe.

Inną potencjalną opcją redukującą ryzyko ORP niezależnie od stanu receptorów estrogenowych jest profilaktyczna radioterapia drugiej piersi. Przesłanką do takiego postępowania były efekty radioterapii po BCT, wyrażające się w znacznym zmniejszeniu występowania nowotworu w napromienianej, przeciwległej piersi. Wykazano, że nawet niewielka dawka, zdecydowanie niższa niż dawka zastosowana na okolicę guza, mogłaby zabić potencjalne przednowotworowe komórki w drugiej piersi. Ze względu na małą dawkę profilaktycznej radioterapii, możliwe byłoby jej przeprowadzenie jednocześnie z wyższą dawką radioterapii piersi operowanej z powodu raka piersi. Podobna koncepcja funkcjonuje już u pacjentów z chłoniakiem jądra jako profilaktyczna radioterapia jądra przeciwległego. Rekomendowana jest niewielka dawka radioterapii [3].

Opcją prewencyjną raka piersi przeciwległej dla pacjentek po przebytych leczeniu z powodu raka piersi jest zdaniem Higgins i wsp. zastosowanie inhibitorów reduktazy HMGC_oA, które modulując stężenie estrogenów mogą odgrywać potencjalną rolę w chemoprewencji ORP. Spostrzeżenie to wymaga potwierdzenia w dalszych badaniach [336].

Istotne jest również ustosunkowanie się do powyższych obserwacji w aspekcie chemioterapii. W ramach ujednoczenia interpretacji wyników receptorów dla estrogenów i progesteronu, zastosowano kryterium jakościowe definiujące receptory steroidowe jako dodatnie lub ujemne, co może oczywiście nie korespondować z obowiązującymi współcześnie zaleceniami diagnostyczno-terapeutycznymi, które zresztą stale ewoluują. Podobnie jest w przypadku białka Ki67. Wiąże się z tym mający aktualnie zastosowanie dobór leczenia okołoperacyjnego raka piersi, zależny od ilościowej oceny ekspresji receptorów steroidowych czy odsetka Ki67 [141]. Na podstawie bieżących wytycznych, hormonoterapię należy zastosować nawet przy niskiej odsetkowo ekspresji receptorów steroidowych, zwłaszcza dla receptora estrogenowego. Wiadomo również, że efekt terapii hormonalnej maleje ze spadkiem intensywności ekspresji receptorów. Jednocześnie wzrasta wtedy skuteczność leczenia cytostatykami.

Jak już wspomniano wcześniej, arbitralny podział leczenia cytostatykami zastosowany w rozprawie, uwzględnia dwie grupy: w oparciu o antracykliny i bez antracyklin. Takie ujęcie zagadnienia związanego z chemioterapią, podyktowane jest różnorodnością i zmianą schematów, notowaną podczas retrospektywnej kwalifikacji pacjentek do analizy, obejmującej okres ponad 30 lat. Jednak uniemożliwia ono określenie, czy rodzaj użytego cytostatyku

wpłynął na czas do zachorowania na raka w drugiej piersi. W rozdziale dotyczącym leczenia obustronnego raka piersi, autorka dość obszernie porusza zagadnienia dotyczące terapii taksanami. Jest to grupa leków o ustalonym już miejscu w leczeniu raka piersi. W piśmiennictwie podkreśla się rolę charakterystyki immunohistochemicznej, czy molekularnej w doborze tego rodzaju terapii. Być może analiza znaczenia terapii taksanami w grupie pacjentek z metachronicznym rakiem piersi wniosłaby jakieś dodatkowe informacje, które pomogłyby wyjaśnić wyniki odnotowane w badaniu własnym. Fakt, że u pacjentek z dodatnim statusem receptorów steroidowych w raku pierwszej piersi stwierdza się wcześniejsze zachorowania na raka w drugiej piersi, skłania do zastanowienia się, czy właśnie ta grupa pacjentek nie odnosiłaby korzyści z dodania chemioterapii, w tym np. opartej na taksanach. Pojawia się jednak następny aspekt, który też trzeba wziąć pod uwagę przy ocenie wpływu leczenia raka pierwszej piersi, na czas do wystąpienia raka w piersi przeciwległej. U pacjentek z otyłością częściej stwierdzane są dodatnie receptory dla estrogenów. W świetle obecnego stanu wiedzy być może należałoby uwzględnić możliwość interferencji ścieżek sygnałowych w komórce? Nie dysponując wynikami HER-2 metodą FISH nie wiadomo, czy w ER dodatnich rakach piersi prawdopodobna jest koincydencja w zakresie np. ścieżki ras-raf-MAP. Zastanawiające jest, czy nie ma w tej sytuacji paradoksu indukcji mitogennego potencjału komórki nowotworowej obserwowanego w przypadku hormonoterapii stosowanej przy obecnej amplifikacji genu HER-2. Pamiętając, że dodatni stan receptora estrogenowego nie wyklucza możliwości nosicielstwa mutacji w genie BRCA1, przydatne byłoby w tej grupie pacjentek oznaczenie statusu BRCA1 [112]. Wynik umożliwiłby zastosowanie bardziej zindywidualizowanego leczenia z użyciem np. taksanów w przypadku braku mutacji w genie BRCA lub cisplatyny, inhibitorów PARP1 w przypadku obecnej mutacji w genie BRCA, co być może poprawiłoby rokowanie w tej grupie pacjentek.

W podsumowaniu dyskusji, autorka rozprawy pragnie podkreślić przekonanie o słuszności ujednolicenia kryteriów umożliwiających wyodrębnienie podgrup, które następnie poddane zostały analizie statystycznej zgodnie z zaplanowanym celem realizacji rozprawy doktorskiej. Takie spojrzenie, zdaniem autorki, minimalizuje błędne formułowanie wniosków, o które łatwo w pracach o charakterze retrospektywnym.

Autorka niniejszej rozprawy zwraca uwagę, że wszelkie zaistniałe wątpliwości są jedynie motywacją do dalszego zgłębiania poruszanej problematyki.

Coraz lepsza znajomość zawłości mechanizmów molekularnych, ich znaczenie w prowadzeniu diagnostyki i terapii, uzasadnia konieczność poszukiwań odpowiedzi dotyczących optymalnych, indywidualnych i interdyscyplinarnych kierunków postępowania,

ustalonych najlepiej w oparciu o wyniki badań prospektywnych.

6. WNIOSKI

1. Potwierdzono konieczność intensywniejszego monitorowania po leczeniu raka piersi u młodszych pacjentek, ze względu na zwiększone ryzyko wcześniejszego zachorowania na metachronicznego raka piersi.
2. Metoda immunohistochemiczna ma ograniczoną wartość w rozróżnieniu, czy rak w drugiej piersi jest niezależną chorobą, czy zmianą przerzutową.
3. Negatywny wywiad rodzinny u pacjentek z obecną mutacją w genie BRCA1 skłania do rozszerzenia wskazań do badań genetycznych, niezależnie od wywiadu w kierunku chorób nowotworowych.
4. Stwierdzony istotnie krótszy czas do wystąpienia raka drugiej piersi u chorych z dodatnimi receptorami steroidowymi w raku pierwszej piersi, sugeruje potrzebę sprawdzenia tego spostrzeżenia na większej liczebnie grupie chorych oraz podjęcia próby dowodowego wyjaśnienia, dlaczego stosowane leczenie antyestrogenowe może nie wywierać skutecznego działania protekcyjnego.
5. Rozpoznanie raka zrazikowego w pierwszym guzie oraz stosowanie używek, są czynnikami ryzyka wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi. W obu tych grupach pacjentek wskazana jest szczególna czujność i promocja zdrowego stylu życia.

STRESZCZENIE

Obustronny rak piersi jest sytuacją kliniczną, w której rak rozpoznawany jest w obu gruczołach piersiowych. Przed zaplanowaniem postępowania terapeutycznego istotne jest ustalenie, czy rak w drugiej piersi jest nowotworem pierwotnym, czy przerzutem z piersi przeciwległej. O ile w pierwszej z wymienionych sytuacji możliwe jest leczenie radykalne, w drugiej postępowanie paliatywne. Dla prawidłowego rozpoznania pomocne może być stwierdzenie różnic w budowie histopatologicznej, niezgodność wyników badań immunohistochemicznych, lub porównanie genetycznych odmian obydwu guzów. W wątpliwych przypadkach, zwłaszcza jeśli brak innych ognisk rozsiewu, guz w drugiej piersi traktowany jest jako niezależny nowotwór.

Celem pracy była analiza wybranych elementów charakterystyki klinicznej, immunohistochemicznej i molekularnej w obustronnym raku piersi. Brano pod uwagę cechy demograficzne pacjentek oraz obecność lub brak mutacji w genie BRCA1. Guzy obydwu gruczołów piersiowych poddano ocenie pod kątem zgodności par pomiędzy pierwszym i drugim rakiem piersi. Przeprowadzono analizę ryzyka wystąpienia drugiego raka piersi.

Przeanalizowano historie chorób 112 kobiet leczonych w latach 1977 – 2010. U 83 pacjentek stwierdzono raka metachronicznego, u 29 raka synchronicznego. Do rozróżnienia typu obustronnego raka piersi przyjęto kryterium 6 miesięcznego przedziału czasu, liczonego od zachorowania na raka w pierwszej piersi. W opracowaniu histopatologicznym wykorzystano preparaty uzyskane z bloczków parafinowych. Receptory dla estrogenów i progesteronu oraz antygen proliferacji Ki67 i białko p53 wykrywano metodą EnVision+™/HRP. Ocenę ekspresji białka HER2 przeprowadzono przy użyciu DAKO HerceptTest. Do analizy statystycznej wykorzystano nieparametryczne testy zgodności dwóch populacji, testy niezależności, zgodności par. Przeprowadzono analizę przeżycia estymatorem Kaplana-Meiera.

Stwierdzono statystycznie istotnie niższy wiek zachorowania w grupie z metachronicznym rakiem piersi. Nie zaobserwowano istotnego związku pomiędzy czynnikami reprodukcyjnymi, obecnością raka piersi w rodzinie, raka jajnika lub innych nowotworów, BMI, paleniem papierosów, a rodzajem obustronnego raka piersi. Zarówno w grupach z metachronicznym jak i synchronicznym rakiem piersi, wielkość guza i stopień zajęcia węzłów chłonnych w pierwszej piersi były istotnie większe niż w piersi przeciwległej. Rozpoznanie histopatologiczne różniły się pomiędzy guzami obydwu gruczołów piersiowych, przy czym większą odmienność odnotowano w grupie raków metachronicznych. Ocena pod kątem

zgodności par w zakresie parametrów immunohistochemicznych (ekspresja ER, PgR, p53, Ki67, HER2), nie wykazała statystycznie istotnych różnic pomiędzy pierwszym i drugim rakiem zarówno w MRP jak i SRP.

Stwierdzono wcześniejszy wiek zachorowania na obustronnego raka piersi u nosicielek mutacji BRCA1. Niższy wiek u nosicielek mutacji BRCA1 notowano w przypadku braku wywiadu rodzinnego pod kątem wystąpienia raka piersi. Nie wykazano istotnej zależności pomiędzy BMI, stosowaniem używek, terapią hormonalną stosowaną przed zachorowaniem na ORP, czasem do zachorowania na drugiego raka piersi, a mutacją genu BRCA1.

Analiza cech histopatologicznych raków obustronnych, wykazała istotnie wyższy stopień złośliwości u nosicielek mutacji BRCA1. U pacjentek z obecną mutacją w genie BRCA1 odnotowano statystycznie istotny brak ekspresji receptorów steroidowych, nie stwierdzono nadekspresji HER2. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w ekspresji p53, Ki67 pomiędzy grupami BRCA1(+) oraz BRCA1(-).

Analizę przeżycia badano na modelu metachronicznego raka piersi, w którym za punkt końcowy przyjęto rozpoznanie drugiego raka piersi. W tej grupie pacjentek średni czas i mediana do wystąpienia drugiego raka piersi to odpowiednio 80 i 94 miesiące. Wykazano, że ryzyko zachorowania na raka w drugiej piersi maleje z czasem obserwacji, jaki upłynął od zachorowania na raka w pierwszej piersi. Ocena ryzyka przeżycia bez wystąpienia raka w drugiej piersi dla czasu obserwacji od zachorowania na raka w pierwszej piersi 2, 5, 10 lat, wykazała odpowiednio odsetki 80%, 60%, 35% grupy badanej. Statystycznie istotne wyższe ryzyko wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi wykazano w grupie pacjentek, które zgłaszały stosowanie używek, bez wywiadu rodzinnego pod kątem występowania raka piersi, z rozpoznaniem raka zrazikowego w pierwszej piersi, z obecną ekspresją receptorów estrogenowych i dla progesteronu. Tendencje wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi wykazano w grupie pacjentek, które nie rodziły, w okresie obserwacji do 180 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi, w grupie pacjentek z BMI ≥ 25 kg/m² w okresie obserwacji do 100 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi, w grupie pacjentek z HER2(0,1+) w okresie obserwacji do 155 miesięcy od zachorowania na raka pierwszej piersi. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w ryzyku wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi w przypadku analizy stopnia złośliwości histopatologicznej guza, antygenu Ki67, ekspresji białka p53.

Reasumując: potwierdzono konieczność zwiększonego nadzoru u młodszych pacjentek, ze względu na zwiększone ryzyko wcześniejszego zachorowania na metachronicznego raka

piersi. Wykazano, że metoda immunohistochemiczna ma ograniczoną wartość w rozróżnieniu, czy rak w drugiej piersi jest niezależną chorobą, czy zmianą przerzutową.

U pacjentek z obecną mutacją w genie BRCA1, pomimo negatywnego wywiadu rodzinnego w kierunku chorób nowotworowych, należałoby rozważyć możliwość przeprowadzenia badań genetycznych. Brak ekspresji receptorów steroidowych wiąże się z istotnie dłuższym czasem do zachorowania na raka drugiej piersi, jak również potrzebą modyfikacji terapii pacjentek ER dodatnich, w oparciu o wyniki badań molekularnych. Rozpoznanie raka zrazikowego w pierwszym guzie oraz stosowanie używek, są czynnikami ryzyka wcześniejszego zachorowania na raka w drugiej piersi. W obu tych grupach pacjentek wskazana jest szczególna czujność i promocja zdrowego stylu życia.

SUMMARY

Bilateral breast cancer is the clinical situation in which the cancer is detected in both breasts. Before planning a therapeutic procedure, it is important to determine if it is the second breast cancer as an independent disease or metastasis of the other breast. While in the first of these cases, it is possible a radical treatment, in the other case it's only palliative treatment. For the correct diagnosis it may be helpful to spot the differences in the histopathological construction, in the immunohistochemical studies, or comparison in the genetic variations of both tumors. In doubtful cases, especially if there are no other metastatic lesions, the tumor in the second breast is treated as an independent cancer.

The aim of this study was to analyze the selected items of the clinical, immunohistochemical and molecular characteristics in bilateral breast cancer. The demographic characteristics of the patients and the presence or absence of mutations in the BRCA1 gene were taken into account. Both breast tumors were evaluated for compliance of pairs between the first and the second breast cancer. An analysis of the risk of the second breast cancer was performed.

Medical records of 112 women treated between 1977 to 2010 were analyzed. At 83 patients metachronous cancer was recognized, and 29 synchronous cancer at 29 ones. To distinguish the type of the breast cancer on both sides 6-month time period was used, which lasted from the beginning of cancer in the first breast. To histopathological evaluation the samples obtained from paraffin blocks were used. Receptors for estrogen and progesterone, the proliferation antigen Ki67 and p53 protein were detected by EnVision™ + / HRP. Assessment of HER2 protein expression was performed using DAKO HerceptTest. For statistical analysis and the nonparametric tests of the compatibility of two populations, tests of independence, compliance couples were used. An analysis of survival was performed by Kaplan-Meier estimator.

There was a statistically significantly lower age of onset in the group of metachronous breast cancer. There was no significant association between reproductive factors, the presence of breast cancer in the family, ovarian cancer or other cancers, BMI, smoking, and type of bilateral breast cancer. Both in the groups of metachronous and synchronous breast cancer, tumor size and the degree of lymph node involvement in the first breast cancer, were significantly higher than in the opposite breast. Histopathological differences were diagnosed between the two breast tumors, the greater difference was observed in the group of metachronous cancer. Evaluation of the compatibility parameter pairs for

immunohistochemistry (ER, PgR, p53, Ki67, HER2) did not show statistically significant differences between the first and the second cancer in both MRP and SRP. It was an earlier age of onset with bilateral breast cancer in BRCA1 mutation carriers. Younger patients with BRCA1 mutation had no family history for breast cancer. There was no significant correlation between BMI, use of drugs, hormone therapy used before bilateral breast cancer diagnosis, the time of the developing the second breast cancer, and BRCA1 gene mutation.

Analysis of histopathological features of bilateral tumors, showed a significantly higher grade in BRCA1 mutation carriers. At patients with mutation in BRCA1 there was a statistically significant lack of expression of steroid receptors, there was no overexpression of HER2. There were no statistically significant differences in the expression of p53, Ki67 between groups BRCA1 (+) and BRCA1 (-).

Survival analysis was studied in a model of metachronous breast cancer, which was adopted as the end point of the second diagnosis of breast cancer. In this group of patients, the average and the median time to the second breast cancer diagnosis were 80 and 94 months respectively. It has been shown that the risk of developing cancer in the second breast, decreases with observation time since the onset of cancer in the first breast. Risk assessment of survival without the second breast cancer for the observation time 2, 5, 10 years from developing the cancer in the first breast, has shown 80%, 60%, 35% respectively. Statistically significantly higher risk of early cancer in the second breast has been demonstrated in a group of patients, who were reported to abuse stimulant, with no family history for breast cancer, with a diagnosis of lobular carcinoma of the first breast and with the current expression of estrogen and progesterone receptors. Earlier diagnosis of cancer in the second breast has been demonstrated in the group of patients who have never given the birth, during the observation period up to 180 months from cancer of the first breast, and in the group of patients with a $BMI \geq 25$ kg/m² during the observation period up to 100 months from the developing of the first breast cancer, in the patients with HER2 (0 or 1+) in the observation period of 155 months from the developing of the first breast cancer. There were no statistically significant differences in the risk of early cancer in the second breast in the analysis of tumor histological grade, Ki67 antigen, p53 protein expression.

In summary, it was confirmed the need for increased surveillance among younger patients because of the increased risk of early developing metachronous breast cancer. It has been shown that immunohistochemistry method is of limited value in distinguishing whether the

cancer in the other breast is an independent disease or metastatic lesion.

The negative family history observed in patients with current mutation in BRCA1 gene leads to the expansion of indications for genetic testing, regardless of a history of cancer. No steroid receptor expression is associated with significantly longer time for developing the second breast cancer, as well as the need to modify the treatment of patients ER positive, based on the results of molecular studies. The diagnosis of lobular carcinoma in the first tumor and the use of drugs, are the risk factors for early cancer in the second breast. In both groups of patients are the particular vigilance and the promotion of a healthy lifestyle is advisable.

Piśmiennictwo

1. Jeziorski A, Piekarski J. Bilateral breast cancer-current state knowledge. *Onkol. Pol.* 1998; 1(3-4): 143-147.
2. Kilgore AR. The incidence of cancer in the second breast. *JAMA* 1921; 76(6): 454-457.
3. Brenner DJ. Contralateral second breast cancers: prediction and prevention. *J Natl Cancer* 2010; 102(7): 444-445.
4. Rochefordiere A, Asselain B, Scholl S, Campana F et al. Simultaneous bilateral breast carcinomas: A retrospective review 149 cases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;30(1): 35-41.
5. Jassem J. Szczególne sytuacje kliniczne. W: Rak sutka. Jassem J(red). Springer PWN,W-wa 1998; 363-364.
6. Murphy TJ, Conant EF, Hahanu CA, Ehrlich SM, Feig SA. Bilateral breast carcinoma: mammographic and histologic correlation. *Radiology* 1995; 195(3): 617-621.
7. Roubidoux MA, Lai NE, Paramagul C, Joynt LK, Helvie MA. Mammographic appearance of cancer in the opposite breast: comparision with the first cancer. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 166(1): 29-31.
8. Roubidoux MA, Helvie MA, Lai NE, Paramagul C. Bilateral breast cancer: early detection with mammography. *Radiology* 1995; 196(2): 427-431.
9. Kheirseid EA, Jumustafa H, Miller N, Curran C at al. Bilateral breast cancer: analysis of incidence, outcome, survival and disease characteristics. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 126(1): 131-140.
10. Janschek E, Kandioler-Eckersberger D, Ludwig C, Kappel S et al. Contralateral breast cancer: molecular differentiation between metastasis and second primary cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 67(1): 1-8.
11. Cavaliere A, Bellezza G, Scheibel M, Vitali R, Sidoni A. Biopathological profile of multiple synchronous homolateral and bilateral breast cancer. *Pathol Res Pract* 2004; 200(1): 9-12.
12. Saad RS, Denning KL, Finkelstein SD, Liu Y et al. Diagnostic and prognostic utility of molecular markers in synchronous bilateral breast carcinoma. *Mod Pathol* 2008; 21(10): 1200-1207.
13. Coradini D, Oriana S, Mariani L, Miceli R et al. Is steroid receptor profile in

- contralateral breast cancer a marker of independence of the corresponding primary tumour? *Eur J Cancer* 1998; 34(6): 825-830.
14. Imyanitov EN, Suspitsin EN, Grigoriev MY, Togo AV et al. Concordance of allelic imbalance profiles in synchronous and metachronous bilateral breast carcinomas. *Int J Cancer* 2002; 100(5): 557-564.
 15. Suspitsin EN, Sokolenko AP, Togo AV, Lazareva YR et al. Nonrandom distribution of oncogene amplifications in bilateral breast carcinomas: possible role of host factors and survival bias. *Int J Cancer* 2007; 120(2): 297- 302.
 16. Park SC, Hwang UK, Ahn SH, Gong GY, Yoon HS. Genetic changes in bilateral breast cancer by comparative genomic hybridisation. *Clin Exp Med* 2007; 7(1): 1-5.
 17. Irvine T, Allen DS, Gillett C, Hamed H, Fentiman IS. Prognosis of synchronous bilateral breast cancer. *Br J Surg* 2009; 96(4): 376- 380.
 18. Noguchi S, Motomura K, Inaji H, Imaoka S, Koyama H. Differentiation of primary and secondary breast cancer with clonal analysis. *Surgery* 1994; 115(4): 458-462.
 19. Regitnig P, Ploner F, Maderbacher M, Lax SF. Bilateral carcinomas of the breast with local recurrence: analysis of genetic relationship of the tumors. *Mod Pathol* 2004; 17(5): 597-602.
 20. Filippakis GM, Georgiadou D, Pararas N, Lanitis S, Zografos G. Synchronous bilateral breast cancer with different biological profile and estrogen-progesterone receptor status. *Breast J* 2008; 14(2): 209-210.
 21. Brenner H, Engelsmann B, Stegmeier Ch, Ziegler H. Clinical epidemiology of bilateral breast cancer. *Cancer* 1993; 72(12): 3629-3635.
 22. Schaapveld M, Visser O, Louwman WJ, Wilemse PH et al. The impact of adjuvant therapy on contralateral breast cancer risk and the prognostic significance of contralateral breast cancer: a population based study in the Netherlands. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 110(1): 189-197.
 23. Hartman M, Czene K, Reilly M, Bergh J et al. Genetic implications of bilateral breast cancer: a population based cohort study. *Lancet Oncol* 2005; 6(6): 377-382.
 24. Li CI, Malone KE, Porter PL, Daling JR. Epidemiologic and molecular risk factors for contralateral breast cancer among young women. *Br J Cancer* 2003; 89(3): 513-518.
 25. Chan A, Pintilie M, Vallis K, Girourd C, Goss P. Breast cancer in women ≤ 35 years: review of 1002 cases from a single institution. *Ann Oncol* 2000; 11(10): 1255-1262.

26. Kuo WH, Yen AM, Lee PH, Hou MF et al. Incidence and risk factors associated with bilateral breast cancer in area with early age diagnosis but low incidence of primary breast cancer: analysis of 10-year longitudinal cohort in Taiwan. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 99(2): 221-228.
27. Vaittinen P, Hemminki K. Risk factor and age-incidence relationships for contralateral breast cancer. *Int J Cancer* 2000; 88(6): 998-1002.
28. Saghatchian M, Guepratte S, Hacene K, Neumann R et al. Serum HER-2 extracellular domain: relationship with clinicobiological presentation and prognostic value before and after primary treatment in 701 breast cancer patients. *Int J Biol Markers* 2004; 19(1) :14-22.
29. Gao X, Fisher SG, Emami B. Risk of second primary cancer in the contralateral breast in women treated for early-stage breast cancer: a population-based study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 56(4): 1038-1045.
30. Stovall M, Smith SA, Langholz BM, Boice JD Jr et al. Dose to the contralateral breast from radiotherapy and risk of second primary breast cancer in the WECARE Study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72(4): 1021-1030.
31. Unnithan J, Macklis RM. Contralateral breast cancer risk. *Radiother Oncol* 2001; 60(3): 239-246.
32. Chronowski GM, Wilder RB, Levy LB, Atkinson EN et al. Second malignancies after chemotherapy and radiotherapy for Hodgkin disease. *Am J Clin Oncol* 2004; 27(1): 73-80.
33. Doung C, Hemminki K. Second primary neoplasms among 53 159 haematolymphoproliferative malignancy patients in Sweden, 1958-1996: a search for common mechanisms. *Br J Cancer* 2001; 85(7): 997-1005.
34. Chaudary MA, Millis RR, Hoskins EO, Halder M et al. Bilateral primary breast cancer: a prospective study of disease incidence. *Br J Surg* 1984; 71(9): 711-714.
35. Basu SK, Schwartz C, Fisher SG, Hudson MM et al. Unilateral and bilateral breast cancer in women surviving pediatric Hodgkin's disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72(1): 34-40.
36. Alm El-Din MA, Hughes KS, Raad RA, Goldberg SI et al. Clinical outcome of cancer occurring after treatment for Hodgkin's lymphoma: case control analysis. *Radiat Oncol* 2009; 4: 19.
37. Demirci U, Bugdayci F, Cakir A, Gurlek B et al. Bilateral breast cancer in a

- survivor of acute lymphoblastic leukemia: a case report. *Med Oncol* 2010; 27(2): 481-483.
38. Keskek M, Kilic M, Ertan T, Erdem A, Yoldas O. Bilateral ductal carcinoma in situ of the breast after radiation therapy for Ewing's sarcoma of the vertebra in a young women: report of a case. *Surg Today* 2008; 38(8): 739-742.
 39. Claus EB, Stowe M, Carter D, Holford T. The risk of a contralateral breast cancer among women diagnosed with ductal and lobular breast carcinoma in situ. *Breast* 2003; 12(6): 451-456.
 40. Chuba PJ, Hamre MR, Yap J, Severson RK et al. Bilateral risk for subsequent breast cancer after lobular carcinoma-in-situ: analysis of surveillance, epidemiology, and results data. *J Clin Oncol* 2005; 23(24): 5534-5541.
 41. Lesser ML, Rosen PP, Kinne DW. Multicentricity and bilaterality in invasive breast carcinoma. *Surgery* 1982; 91(2): 234-240.
 42. Intra M, Rotmensz N, Viale G, Mariani L et al. Clinicopathologic characteristics of 143 patients with synchronous bilateral invasive breast carcinomas treated in a single institution. *Cancer* 2004; 101(5): 905-912.
 43. Begum P, Richardson CE, Carmichael AR. Obesity in post menopausal women with a family history of breast cancer: prevalence and risk awareness. *Int Semin Surg Oncol* 2009; 6(1): 1.
 44. Montazeri A, Sadighi J, Farzadi F, Maftoon F et al. Weight, height, body mass index and risk of breast cancer in postmenopausal women: a case-control study. *BMC Cancer* 2008; 8: 278.
 45. Vainio H, Bianchini F. Physical activity and cancer prevention-is no' pain, no gain passe? *Eur J Cancer Prev* 2001; 10: 301-302.
 46. Lee I, Oguma Y. Physical activity. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF, editors. *Cancer Epidemiology and Prevention*. 3rd ed. Oxford University Press, New York 2006.
 47. Dal Maso L, Zucchetto A, Talamini R, Serraino D et al. Effect of obesity and other lifestyle factors on mortality in women with breast cancer. *Int J Cancer*; 123(9): 2188-2194.
 48. Holmes MD, Chen WY, Feskanich D, Kroenke CH, Colditz GA. Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. *JAMA* 2005; 293(20): 2479-2486.
 49. Pinto BM, Frierson GM, Rabin C, Trunzo JJ, Marcus BH. Home-based physical activity intervention for breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2005; 23(15): 3577-3587.

50. Majed B, Moreau T, Senouci K, Salmon RJ et al. Is obesity an independent prognosis factor in women breast cancer? *Breast Cancer Res Treat* 2008; 111(2): 329-342.
51. Chagpar AB, McMasters KM, Saul J, Nurko J et al. Body mass index influences palpability but not stage of breast cancer at diagnosis. *Am Surg* 2007; 73(6): 555-560.
52. Majed B, Moreau T, Asselain B. Overweight, obesity and breast cancer prognosis: optimal body size indicator cut-points. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 115(1): 193-200.
53. Dawood S, Broglio K, Gonzalez-Angulo AM, Kau SW et al. Prognostic value of body mass index in locally advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14(6): 1718-1725.
54. Renehan AG, Roberts DL, Dive C. Obesity and cancer: pathophysiological and biological mechanisms. *Arch Physiol Biochem* 2008; 114(1): 71-83.
55. Borgquist S, Djerbi S, Ponten F, Anagnostaki L et al. HMG- CoA reductase expression in breast cancer is associated with a less aggressive phenotype and influenced by anthropometric factors. *Int J Cancer* 2008; 123(5): 1146-1153.
56. Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Pezzino V et al. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. *Arch Physiol Biochem* 2008; 114(1): 23-37.
57. Jackson JG, White MF, Yee D. Insulin receptor substrate-1 is the predominant signalling molecule activated by insulin- like growth factor-1, insulin and interleukin-4 in estrogen receptor-positive human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 9994-10003.
58. Prasad NK, Tandon M, Handa A, Moore GE et al. High expression of obesity-linked phosphatase SHIP2 in invasive breast cancer correlates with reduced disease-free survival. *Tumour Biol* 2008; 29(5): 330-341.
59. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Trudeau ME et al. Fasting insulin and outcome in early-stage breast cancer: results of a prospective cohort study. *J Clin Oncol* 2002; 20(1): 42-51.
60. Perrier S, Caldefie-Chezet F, Vasson MP. IL-1 family in breast cancer: potential interplay with leptin and other adipocytokines. *FEBS Lett* 2009; 583(2): 259-265.
61. Perera CN, Chin HG, Duru N, Camarillo IG. Leptin- regulated gene expression in MCF-7 breast cancer cells: mechanistic insights into leptin-regulated mammary tumor growth and progression. *J Endocrinol* 2008; 199(2): 221-233.

62. Bartella V, Cascio S, Fiorio E, Auriemma A et al. Insulin- dependent leptin expression in breast cancer cells. *Cancer Res* 2008; 68(12): 4919-4927.
63. Liu CL, Chang YC, Cheng SP, Chern SR et al. The roles of serum leptin concentration and polymorphism in leptin receptor gene at codon 109 in breast cancer. *Oncology* 2007; 72(1-2): 75-81.
64. Tian YF, Chu CH, Wu MH, Chang CL et al. Anthropometric measures, plasma adiponectin, and breast cancer risk. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14(3): 669-677.
65. Dos Santos E, Benaitreau D, Dieudonne MN, Leneuve MC et al. Adiponectin mediates an antiproliferative response in human MDA-MB 231 breast cancer cells. *Oncol Rep* 2008; 20(4): 971-977.
66. Vona- Davis L, Rose DP. Adipokines as endocrine, paracrine, and autocrine factors in breast cancer risk and progression. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14(2): 189-206.
67. Vazquez-Martin A, Ortega-Delgado FJ, Fernandez-Real JM, Menendez JA. The tyrosine kinase receptor HER2 (erbB-2): from oncogenesis to adipogenesis. *J Cell Biochem* 2008; 105(5): 1147-1152.
68. Jin Q, Yuan LX, Boulbes D, Baek JM at al. Fatty acid synthase phosphorylation: a novel therapeutic target in HER2-overexpressing breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 2010; 12(6): R96.
69. Sellahewa C, Nightingale P, Carmichael AR. Obesity and HER 2 overexpression: a common factor for poor prognosis of breast cancer. *Int Semin Surg Oncol* 2008; 5: 2.
70. Dignam JJ, Wieand K, Johnson KA, Fisher B, Mamounas EP. Obesity, tamoxifen use, and outcomes in women with estrogen receptor-positive early-stage breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(19): 1467-1476.
71. McCascill-Sevens W, Wilson J, Bryant J, Mamounas E et al. Contralateral breast cancer and thromboembolic events in African American women treated with tamoxifen. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(23): 1762-1769.
72. Majed B, Dozol A, Ribassin-Majed L, Senouci K, Asselain B. Increased risk of contralateral breast cancers among overweight and obese women: a time-dependent association. *Breast-Cancer Res Treat* 2011; 126(3): 729-738.
73. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288(3): 321-323.
74. Crosignani PG. Breast cancer and hormone replacement therapy in the Million

- Women Study. *Maturitas* 2003; 46(2): 91-92.
75. Breast cancer and hormone replacement therapy: Collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52 705 women with breast cancer and 108 411 women without breast cancer - Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. *Lancet* 1997; 350(9084): 1047-1059.
 76. von Schoultz E, Rutqvist LE. Stockholm Breast Cancer Study Group. Menopausal hormone therapy after breast cancer: the Stockholm randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(7): 533-535.
 77. Holmberg L, Iversen OE, Rudenstam CM, Hammar M et al. Increased risk of recurrence after hormone replacement therapy in breast cancer survivors. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(7): 475-482.
 78. Niwińska A. Clinical aspects of genetic predisposition to breast cancer-clinical oncologist's point of view. *Nowotwory* 2002; 4: 317-323.
 79. Martin AM, Weber BL. Genetic and hormonal risk factors in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92(14): 1126-1135.
 80. Hill KA, Sommer SS. P53 as a mutagen test in breast cancer. *Environ Mol Mutagen* 2002; 39(2-3): 216- 227.
 81. Eccles DM, Gareth Evans D. Management of the contralateral breast in patient with hereditary breast cancer. *Breast* 2000; 9(6): 301-305.
 82. Kinoshita T, Ueda M, Enomoto K, Ikeda T et al. Comparison of p53 gene abnormalities in bilateral and unilateral breast cancer. *Cancer* 1995; 76(12): 2504-2509.
 83. Gronwald J et al. Dziedziczny rak piersi i jajnika. W: *Nowotwory dziedziczne* 2002. Lubiński J. Termedia, Poznań 2003; 35-48.
 84. Gronwald J et al. Genetyka kliniczna raka piersi i jajnika. W: *Genetyka kliniczna nowotworów* 2008. Lubiński J. Print Group Sp.z o.o., Szczecin 2008; 57-77.
 85. Górski B, Jakubowska A, Huzarski T, Byrski T et al. A high proportion of founder BRCA1 mutations in Polish breast cancer families. *Int J Cancer* 2004; 110(5): 683-686.
 86. Edwards E, Yearwood C, Sillibourne J, Baralle D, Eccles D. *Fam Cancer* 2009; 8(4): 479 – 482.
 87. van der Kolk DM, de Bock GH, Leegte BK, Schaapveld M et al. Penetrance of breast cancer, ovarian cancer and contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2

- families: high cancer incidence at older age. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 124(3): 643-651.
88. Muller D, Bonaiti-Pellie C, Abecassis J, Stoppa-Lyonnet D, Fricker JP. BRCA1 testing in breast nad/or ovarian cancer families from northeastern France identifies two common mutations with a founder effect. *Fam Cancer* 2004; 3(1): 15-20.
 89. Calderon-Margalit R, Paltiel O. Prevention of breast cancer in women who carry BRCA1 or BRCA2 mutations: a critical review of the literature. *Int J Cancer* 2004; 112(3): 357-364.
 90. Sugano K, Nakamura S, Ando J, Takayama S et al. Cross-sectional analysis of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in Japanese patients suspected to have hereditary breast/ ovarian cancer. *Cancer Sci* 2008; 99(10): 1967-1976.
 91. Uhrhammer N, Abdelouahab A, Lafarge L, Feillel V et al. BRCA1 mutations in Algerian breast cancer patients: high frequency in young, sporadic cases. *Int J Med Sci* 2008; 5(4): 197-202.
 92. Nicoletto MO, Donach M, De Nicolo A, Artioli G et al. BRCA-1 nad BRCA-2 mutations as prognostic factors in clinical practice and genetic counselling. *Cancer Treat Rev* 2001; 27(5): 295-304.
 93. Borg A, Haile RW, Malone KE, Capanu M et al. Characterization of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations and variants of unknown clinical significance in unilateral and bilateral breast cancer: The WECARE Study. *Hum Mutat* 2010; 31(3): 1200-1240.
 94. Eccles DM. Hereditary cancer: guidelines in clinical practice. *Breast and ovarian cancer genetics. Ann Oncol* 2004; 15(4): 133-138.
 95. Haffty BG, Harrold E, Khan AJ, Pathare P et al. Outcome of conservatively managed early-onset breast cancer by BRCA1/2 status. *Lancet* 2002; 359(9316): 1471-1477.
 96. Bremer M, Steinmann D, Dork T, Borger J. Bilateral breast carcinoma and local recurrence: prevalence of BRCA-1 and BRCA-2 gene mutations in an unselected patient sample. *Strahlenther Onkol* 2001; 177(7): 325-329.
 97. Gershoni-Baruch R, Dagan E, Fried G, Bruchim Bar-sade R et al. Significantly lower rates of BRCA1/BRCA2 founder mutations in Ashkenazi women with sporadic compared with familial early onset breast cancer. *Eur J Cancer* 2000; 36(8): 983-986.
 98. Kaduri L, Gibs M, Hubert A, Sagi M et al. Genetic testing of breast and ovarian

- cancer patients: clinical characteristics and hormonal risk modifiers. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 85(1): 75-80.
99. Ready KJ, Vogel KJ, Atchley DP, Broglio KR et al. Accuracy of the BRCAPRO model among women with bilateral breast cancer. *Cancer* 2009; 115(4): 725-730.
 100. Steinmann D, Bremer M, Rades D, Skawran B et al. Mutations of the BRCA1 and BRCA2 genes in patients with bilateral breast cancer. *Br J Cancer* 2001; 85(6): 850-858.
 101. Metcalfe K, Lynch HT, Ghadirian P, Tung N et al. Contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Clin Oncol* 2004; 22(12): 2328-2335.
 102. Rogozińska-Szczepka J, Utracka-Hutka B, Grzybowska E, Maka B et al. BRCA1 and BRCA2 mutations as prognostic factors in bilateral breast cancer patients. *Ann Oncol* 2004; 15(9): 1373-1376.
 103. Skasko E, Kluska A, Niwińska A, Kwiatkowska E et al. Age at onset of bilateral breast cancer, the presence of hereditary BRCA1, BRCA2, CHEK2 gene mutations and positive family history of cancer. *Onkologie* 2009; 32(4): 182-188.
 104. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, Anderson TJ et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol* 2002; 20(9): 2310-2318.
 105. Grushko TA, Blackwood MA, Schumm PL, Hagos FG et al. Molecular-cytogenetic analysis of HER-2/neu gene in BRCA1-associated breast cancers. *Cancer Res* 2002; 62(5): 1481-1488.
 106. Lynch BJ, Holden JA, Buys SS, Neuhausen SL. Pathobiologic characteristics of hereditary breast cancer. *Hum Pathol* 1998; 29(10): 1140-1144.
 107. Osin P, Lakhani SR. The pathology of familial breast cancer: immunohistochemistry and molecular analysis. *Breast Cancer Res* 1999; 1(1): 36-40.
 108. Taneja P, Maglic D, Kai F, Zhu S et al. Classical and novel prognostic markers for breast cancer and their clinical significance. *Clin Med Insights Oncol* 2010; 4: 15-34.
 109. Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol* 2007; 8(3): 235-244.
 110. Veronesi A, de Giacomi C, Magri MD, Lombardi D et al. Familial breast cancer: characteristics and outcome of BRCA1-2 positive and negative cases. *BMC Cancer* 2005; 5: 70.

111. Phillips KA. Immunophenotypic and pathologic differences between BRCA1 and BRCA2 hereditary breast cancers. *J Clin Oncol* 2000; 18: 107-112.
112. Lakhani SR, Khanna KK, Chenevix-Trench G. Are estrogen receptor positive breast cancers in BRCA1 mutation carriers sporadic? *Breast Cancer Res* 2010; 12: 104.
113. Honrado E, Benitez J, Palacios J. The pathology of hereditary breast cancer. *Hered Cancer Clin Pract* 2004; 2(3): 131-138.
114. Fletcher O, Johnson N, Dos Santos Silva I, Kilpivaara O et al. Family history, genetic testing, and clinical risk prediction: pooled analysis of CHEK2 1100delC in 1 828 bilateral breast cancers and 7 030 controls. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(1): 230-234.
115. Broeks A, de Witte L, Nooijen A, Huseinovic A et al. Excess risk for contralateral breast cancer in CHEK2*1100delC germline mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 83(1): 91-93.
116. Imyanitov EN, Hanson KP. Molecular pathogenesis of bilateral breast cancer. *Cancer Lett* 2003; 191(1): 1-7.
117. Rebbeck TR, Kantoff PW, Krithivas K, Neuhausen S et al. Modification of BRCA1-associated breast cancer risk by the polymorphic androgen- receptor CAG repeat. *Am J Hum Genet* 1999; 64(5): 1371-1377.
118. Broeks A, Urbanus JH, Floore AN, Dahler EC et al. ATM- heterozygous germline mutations contribute to breast cancer- susceptibility. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 494-500.
119. Flanagan JM, Munoz-Alegre M, Henderson S, Tang T et al. Gene-body hypermethylation of ATM in peripheral blood DNA of bilateral breast cancer. *Hum Mol Genet* 2009; 18(7): 1332-1342.
120. Eccles D, Simmonds P, Goddard J, Coultas M et al. Familial breast cancer: an investigation into the outcome of treatment for early stage disease. *Fam Cancer* 2001; 1(2): 65-72.
121. Hartman M, Hall P, Edgren G, Reilly M et al. Breast cancer onset in twins and women with bilateral disease. *J Clin Oncol* 2008; 26(25): 4086-4091.
122. Vaitinen P, Hemminki K. Risk factors and age-incidence relationships for contralateral breast cancer. *Int J Cancer* 2000; 88(6): 998-1002.
123. Chan A, Pintilie M, Vallis K, Girourd C, Goss P. Breast cancer in women ≤ 35 years: review of 1002 cases from a single institution. *Ann Oncol* 2000; 11(10): 1255-

- 1262.
124. Lakhani SR, Gusterson BA, Jacquemier J, Sloane JP et al. The pathology of familial breast cancer: histological features of cancers in families not attributable to mutations in BRCA1 or BRCA2. *Clin Cancer Res* 2000; 6(3): 782-789.
 125. Tsai KB, Hou MF, Lin HJ, Chai CY et al. Expression of HER-2/NEU oncoprotein in familial breast cancer. *Kaohsiung J Med Sci* 2001; 17(2): 64-76.
 126. Kim MJ, Kim EK, Kwak JY, Park BW et al. Role of sonography in the detection of contralateral metachronous breast cancer in an Asian population. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190(2): 476- 480.
 127. Kim MJ, Kim EK, Kwak JY, Park BW et al. Bilateral synchronous breast cancer in an Asian population: mammographic and sonographic characteristics, detection methods, and staging. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190(1): 208-213.
 128. Burke W, Daly M, Garber J, Botkin J et al. Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. II BRCA1 and BRCA2. Cancer Genetics Studies Consortium. *JAMA* 1997; 277(12): 997-1003.
 129. Brekelmans CT, Seynaeve C, Bartels CC, Tilanus-Linthorst MM et al. Effectiveness of breast cancer surveillance in BRCA1/2 gene mutation carriers and women with high familial risk. *J Clin Oncol* 2001; 19(4): 924-930.
 130. Ziv E, Shepherd J, Smith-Bindman R, Kerlikowske K. Mammographic breast density and family history of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(7): 556-558.
 131. Tilanus-Linthorst M, Verhoog L, Obdeijn IM, Bartels K et al. A BRCA1/2 mutation, high breast density and prominent pushing margins of a tumor independently contribute to a frequent false-negative mammography. *Int J Cancer* 2002; 102(1): 91-95.
 132. Stoutjesdijk MJ, Boetes C, Jager GJ, Beex L et al. Magnetic resonance imaging and mammography in women with a hereditary risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(14): 1095-1102.
 133. Ozaki S, Tozaki M, Fukuma E Kawano N et al. Bilateral breast MR imaging: is it superior to conventional methods for the detection of contralateral breast cancer? *Breast Cancer* 2008; 15(2): 169-174.
 134. Morrow M. Magnetic resonance imaging for diagnosis, staging, and follow up. *Breast Cancer Res* 2009; 11(1): S2.
 135. Warner E. The role of magnetic resonance imaging in screening women at high risk

- of breast cancer. *Top Magn Reson Imaging* 2008; 19(3): 163-169.
136. Nicoletto MO, Nitti D, Pescarini L, Corbetti F et al. Correlation between magnetic resonance imaging and histopathological tumor response after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Tumori* 2008; 94(4): 481- 488.
137. Spanu A, Chessa F, Battista Meloni G, Sanna D et al. Scintimammography with high resolution dedicated breast camera and mammography in multifocal, multicentric and bilateral breast cancer detection: a comparative study. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2009; 53(2): 133-143.
138. Lanitis S, Behranwala KA, Al-Mufti R, Hadjiminias D. Axillary metastatic disease as presentation of occult or contralateral breast cancer. *Breast* 18(4): 225-227.
139. Górski B, Jakubowska A, Huzarski T, Gronwald J, Byrski T et al. Postępy w profilaktyce, diagnostyce i leczeniu nowotworów u nosicielek mutacji BRCA1. *Nowotwory* 2002; 52(3): 123-127.
140. Dawson LA, Chow E, Goss PE. Evolving perspectives in contralateral breast cancer. *EJOC* 1997; 38: 959-967.
141. Jassem J, Krzakowski M.: Rak piersi. W: Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych. Krzakowski M (red). VIA MEDICA 2011;tom 1: 195-246.
142. Jakimiuk AJ, Grzybowski W. Kędzia W.: Biosynteza hormonów, ich metabolizm i działanie. Receptory hormonalne.W: Ginekologia. Słomko Z (red). PZWL 2008; 1: 361-392.
143. Speirs V, Kerin MJ. Prognostic significance of oestrogen receptor beta in breast cancer. *Br J Surg* 2000; 87(4): 405-409.
144. McDonnell DP, Norris JD. Connections and regulation of the human estrogen receptor. *Science* 2002; 296(5573): 1642-1644.
145. Katzenellenbogen BS, Katzenellenbogen JA. Estrogen receptor transcription and transactivation estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta: regulation by selective estrogen receptor modulators and importance in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2000; 2(5): 335-344.
146. Dębska S, Potemski P. Leczenie hormonalne chorych na raka piersi z nadekspresją receptora HER2. *Onkol Prak Klin* 2010; 6(6): 301-310.
147. Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, Kitamoto T et al. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science* 1995;

- 270(5241): 1491-1494.
148. Bunone G, Briand PA, Miksicek RJ, Picard D. Activation of the unliganded estrogen receptor by EGF involves the MAP kinase pathway and direct phosphorylation. *EMBO J* 1996; 15(9): 2174-2183.
 149. Chevez-MacGregor M, Gonzalez-Angulo AM. HER2-neu positivity in patients with small and node-negative breast cancer (pT1a,b,N0,M0): a high risk group? *Clin Adv Hematol Oncol* 2009; 7(9): 591-598.
 150. Szacikowska E, Kozłowski W. Tamoksifen/Antyestrogeny zwiększają agresywność raka piersi z amplifikacją i/lub nadekspresją genu HER-2. *Współcz Onkol* 1999; 3(3): 97-103.
 151. Harari D, Yarden Y. Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene* 2000; 19(53): 6102-6114.
 152. Borg A, Baldetorp B, Ferno M, Killander D et al. ERBB2 amplification is associated with tamoxifen resistance in steroid-receptor positive breast cancer. *Cancer Lett* 1994; 81(2): 137 – 144.
 153. Houston SJ, Plunkett TA, Barnes DM, Smith P et al. Overexpression of c-erbB2 is an independent marker of resistance to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1999; 79(7-8): 1220-1226.
 154. Hortobagyi GN. Trastuzumab w leczeniu raka piersi. *N Engl J Med* 353; 16: 1734-1736.
 155. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *NEJM* 2005; 353(17): 1784-1792.
 156. Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, Citron ML et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA* 2006; 295(14): 1658-1667.
 157. Petit T, Wilt M, Velten M, Rodier JF et al. Semi-quantitative evaluation of estrogen receptor expression is a strong predictive factor of pathological complete response after anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy in hormonal-sensitive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 124(2): 387-391.
 158. Sweeney G. Leptin signalling. *Cell Signal* 2002; 14(8): 655-663.
 159. Hirano T, Ishihara K, Hibi M. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the Il-6 family of cytokine receptors. *Oncogene* 2000; 19(21): 2548-2556.

160. Binai NA, Damert A, Carra G, Steckelbroeck S et al. Expression of estrogen receptor alpha increases leptin-induced STAT3 activity in breast cancer cells. *Int J Cancer* 2010; 127(1): 55-66.
161. Howell A. Pure oestrogen antagonists for the treatment of advanced breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13(3): 689-706.
162. Rose DP, Komninou D, Stephenson GD. Obesity, adipocytokines, and insulin resistance in breast cancer. *Obes Rev* 2004; 5(3): 153-165.
163. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005; 365(9472): 1687-1717.
164. Dowsett M, Cuzick J, Wale C, Howell T et al. Retrospective analysis of time to recurrence in the ATAC trial according to hormone receptor status: an hypothesis-generating study. *J Clin Oncol* 2005; 23(30): 7217-7517
165. Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R et al. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(17): 1254- 1261.
166. Weinberg OK, Marquez-Garban DC, Pietras RJ. New approaches to reverse resistance to hormonal therapy in human breast cancer. *Drug Resist Updates* 2005; 8(4): 219-233.
167. Lerma E, Catusus L, Gallardo A, Peiro G et al. Exon 20 PIK3CA mutations decreases survival in aggressive (HER-2 positive) breast carcinomas. *Virchows Arch* 2008; 453(2): 133-139.
168. Hopkins S. Risk of drug interactions with hormonal therapy: incidence of concurrent medications affecting the CYP2D6 enzyme system in breast cancer patients. *EJC Supplements* 2010; 8(3): 61-62.
169. Miller TE, Ghoshal K, Ramaswamy B, Roy S et al. MicroRNA-221/222 confers tamoxifen resistance in breast cancer by targeting p27(Kip1). *J Biol Chem* 2008; 283(44): 29897-29903.
170. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Colozza M et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12 155 patients. *British Journal of Cancer* 2007; 96(10): 1504-1513.
171. Heidebrecht HJ, Buck F, Haas K, Wacker HH, Parwaresch R. Monoclonal antibodies Ki-S3 and Ki-S5 yield new data on the 'Ki67' proteins. *Cell Prolif* 1996;

- 29(7): 413-425.
172. Bruno S, Darzynkiewicz Z. Cell cycle dependent expression and stability of the nuclear protein detected by Ki67 antibody in HL-60 cells. *Cell Prolif* 1992; 25(1): 31-40.
 173. Bullwinkel J, Baron-Luhr B, Ludemann A, Wohlenberg C et al. Ki67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J Cell Physiol* 2006; 206(3): 624-635.
 174. Zabaglo L, Ormerod MG, Dowsett M. Measurement of proliferation marker Ki67 in breast tumour FNAs using laser scanning cytometry in comparison to conventional immunocytochemistry. *Cytometry B Clin Cytom* 2003; 56(1): 55-61.
 175. Wojnar A, Kobierzycki Ch, Krolicka A, Pula B et al. Correlation of Ki-67 and MCM-2 proliferative marker expression with grade of histological malignancy (G) in ductal breast cancers. *Folia Histochem Cytobiol* 2010; 48(3): 442-446.
 176. Zhou CJ, Zhang QH, Zhang TG, Sun SZ et al. Expression of ER, Ki67 and CyclinD1 in the precancerous breast of Chinese patients. *Pathol Oncol Res* 2008; 15(2): 153-158.
 177. Harvey JA, Santen RJ, Petroni GR, Bovbjerg VE et al. Histologic changes in the breast with menopausal hormone therapy use: correlation with breast density, estrogen receptor, progesterone receptor, and proliferation indices. *Menopause* 2008; 15(1): 67-73.
 178. Okumura Y, Yamamoto Y, Zhang Z, Toyama T et al. Identification of biomarkers in ductal carcinoma in situ of the breast with microinvasion. *BMC Cancer* 2008; 8: 287.
 179. Ringberg A, Anagnostaki L, Anderson H, Idvall I et al. South Sweden Breast Cancer Group. Cell biological factors in ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast-relationship to ipsilateral local recurrence and histopathological characteristics. *Eur J Cancer* 2001; 37(12): 1514-1522.
 180. Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM, Hayes MM, Gelmon KA. Ki 67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncology* 2010; 11(2): 174-183.
 181. Wiesner FG, Magener A, Fasching PA, Wesse J et al. Ki-67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients. *The Breast* 2009; 18(2): 135-141.
 182. Han JS, Cao D, Molberg KH, Sarode VR et al. Hormone receptor status rather than HER2 status is significantly associated with increased Ki-67 and p53 expression in

- triple-negative breast carcinomas, and high expression of Ki67 but not p53 is significantly associated with axillary nodal metastasis in triple-negative and high-grade non-triple-negative breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2011; 135(2): 230-237.
183. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(10): 736-750.
 184. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol* 2009; 20: 1319-1329.
 185. Viale G, Regan MM, Mastropasqua MG, Maffini F et al. Predictive value of tumor Ki-67 expression in two randomized trials of adjuvant chemoendocrine therapy for node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(3): 207-212.
 186. Hugh J, Hanson J, Cheang MC, Nielsen TO et al. Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *J Clin Oncol* 2009; 27(8): 1168-1176.
 187. Penault - Llorca F, Andre F, Sagan C, Lacroix-Triki M et al. Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27(17): 2809-2815.
 188. DiLeo A, Biganzoli L, Claudino W, Licitra S et al. Topoisomerase II alpha as a marker predicting anthracyclines' activity in early breast cancer patients: ready for primetime? *Eur J Cancer* 2008; 44(18): 2791-2798.
 189. Viale G, Giobbie-Hurder A, Regan MM, Coates AS et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed Ki-67 labeling index in postmenopausal women with endocrine-responsive breast cancer: results from Breast International Group Trial 1-98 comparing adjuvant tamoxifen with letrozole. *J Clin Oncol* 2008; 26(34): 5569- 5575.
 190. Jacquemier J, Charafe-Jauffret E, Monville F, Esterni B et al. Association of GATA3, p53, Ki67 status and vascular peritumoral invasion are strongly prognostic in luminal breast cancer. *Breast Cancer Res* 2009; 11(2): 1-11.
 191. von Minckwitz G, Sinn HP, Raab G et al. Clinical response after two cycles compared to HER-2, Ki67, p53, and bcl-2 in independently predicting a pathological complete response after preoperative chemotherapy in patients with operable carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res* 2008; 10: 30.
 192. Petit T, Wilt M, Velten M, Millon R et al. Comparative value of tumour grade,

- hormonal receptors, Ki67, HER-2 and topoisomerase II alpha status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy. *Eur J Cancer* 2004; 40(2): 205-211.
193. Yamashita H, Toyama T, Nishio M, Ando Y et al. P53 protein accumulation predicts resistance to endocrine therapy and decreased post-relapse survival in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res* 2006; 8(4): R48.
194. Darb-Esfahani S, Loibl S, Muller BM, Roller M et al. Identification of biology-based breast cancer types with distinct predictive and prognostic features: role of steroid hormone and HER2 receptor expression in patients treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2009; 11(5): 1-11.
195. Colleoni M, Bagnardi V, Rotmensz N, Viale G et al. A nomogram based on the expression of Ki-67, steroid hormone receptors status and number of chemotherapy courses to predict pathological complete remission after preoperative chemotherapy for breast cancer. *Eur J Cancer* 2010; 46(12): 2216-2224.
196. Morimoto K, Kim SJ, Tanei T, Shimazu K et al. Stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1-positive breast cancers are characterized by negative estrogen receptor, positive human epidermal growth factor receptor type 2, and high Ki67 expression. *Cancer Sci* 2009; 100(6): 1062-1068.
197. Ellis MJ, Lin L, Crowder R, Tao Y et al. Phosphatidylinositol-3-kinase alpha catalytic subunit mutation and response to neoadjuvant endocrine therapy for estrogen receptor positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 119(2): 379-390.
198. Szacikowska E, Kozłowski W. Receptory HER/ErbB w prawidłowym nabłonku i w kancerogenezie. *Współcz Onkol* 2000; 4(1): 7-12.
199. Alroy I, Yarden Y. The ErbB signaling network in embryogenesis: signal diversification through combinatorial ligand-receptor interactions. *FEBS Lett* 1997; 410(1): 83-86.
200. Amundadottir LT, Leder P. Signal transduction pathways activated and required for mammary carcinogenesis in response to specific oncogenes. *Oncogene* 1998; 16(6): 737-746.
201. Szacikowska E, Kozłowski W. Rola receptorów HER i heregulin w powstawaniu przerzutów raka piersi. *Współcz Onkol* 2002; 6(6): 312-321.
202. Szala S. Swoista indukcja apoptozy w komórkach nowotworowych. *Nowotwory* 2000; 50(2): 111-121.

203. Lewis GD, Figari I, Fendly B, Wong WL et al. Differential responses of human tumor cell lines to anti-p185HER2 monoclonal antibodies. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 37(4): 255-263.
204. Szacikowska E, Kozłowski W. Współczesna interpretacja niepowodzeń hormonoterapii raka piersi. *Współcz Onkol* 2001; 5(3): 99-104.
205. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *NEJM* 2005; 353(16): 1659-1672.
206. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *NEJM* 2005; 353(16): 1673-1684.
207. Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S et al. 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 369(9555): 29-36.
208. Spielmann M, Roche H, Delozier T, Canon JL et al. Trastuzumab for patients with axillary-node-positive breast cancer: results of the FNCLCC-PACS 04 trial. *J Clin Oncol* 2009; 27(36): 6129-6134.
209. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, Sledge GW et al. Cardiac safety analysis of doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel with or without trastuzumab in the North Central Cancer Treatment Group N9831 adjuvant breast cancer trial. *J Clin Oncol* 2008; 26(8): 1231-1238.
210. Tan-Chiu E, Yothers G, Romond E, Geyer CE Jr et al. Assessment of cardiac dysfunction in a randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel, with or without trastuzumab as adjuvant therapy in node-positive, human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing breast cancer: NSABP B-31. *J Clin Oncol* 2005; 23(31): 7811-7819.
211. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pieńkowski T et al. Phase III randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel (AC-T) with doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel and trastuzumab (AC-TH) with docetaxel, carboplatin and trastuzumab (TCH) in HER2neu positive early breast cancer patients: BCIRG 006 Study. *Cancer Res* 2009; 69(24Suppl): Abstract 62.
212. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses

- HER2. NEJM 2001; 344(11): 783-792.
213. Vance GH, Barry TS, Bloom KJ, Fitzgibbons PL et al. Genetic heterogeneity in HER2 testing in breast cancer: panel summary and guidelines. Arch Pathol Lab Med 2009; 133(4): 611- 612.
214. Witzel I, Muller V, Loibl S, Fehm T et al. Monitoring serum HER2 levels in the neoadjuvant „Geparquattro” trial-a decrease predicts pathological complete remission. EJC Supplements 2010; 8(3): Abstract 12.
215. Bickford LR, Agollah G, Drezek R, Yu TK. Silica-gold nanoshells as potential intraoperative molecular probes for HER2-overexpression in ex vivo breast tissue using near-infrared reflectance confocal microscopy. Breast Cancer Res Treat 2010; 120(3): 547-555.
216. Cuzick J, Sestak I, Baum M, Buzdar A et al. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 10-year analysis of the ATAC trial. Lancet Oncol 2010; 11(12): 1135-1141.
217. Rasmussen BB, Regan MM, Lykkesfeldt AE, Dell'Orto P et al. Adjuvant letrozole versus tamoxifen according to centrally-assessed ERBB2 status for postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer: supplementary results from the BIG 1-98 randomised trial. Lancet Oncol 2008; 9(1): 23-28.
218. Bates NP, Hurst HC. An intron 1 enhancer element mediates oestrogen-induced suppression of ERBB2 expression. Oncogene 1997; 15(4): 473-481.
219. Szacikowska E, Kozłowski W. Tamoksifen/ Antyestrogeny zwiększają agresywność raka piersi z amplifikacją i/lub nadekspresją genu HER-2. Współcz Onkol 1999; 3(3): 97-103.
220. Pietras RJ, Arboleda J, Reese DM, Wongvipat N et al. HER-2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promotes hormone-independent growth in human breast cancer cells. Oncogene 1995; 10(12): 2435-2446.
221. Szacikowska E, Kozłowski W. Wielokierunkowe działanie Herceptyny w komórkach raka z nadekspresją receptora HER2 (białka p185). Współcz Onkol 2001; 4(6): 254-259.
222. Tisman G. Inhibition of HER2/estrogen receptor cross-talk, probable relation to prolonged remission of stage IV breast cancer: a case report. Tumori 2009; 95(6): 804-807.
223. Shou J, Massarweh S, Osborne CK, Wakeling AE et al. Mechanisms of tamoxifen

- resistance: increased estrogen receptor-HER2/neu cross-talk in ER/HER2-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(12): 926-935.
224. Chung YL, Sheu ML, Yang SC, Lin CH, Yen SH. Resistance to tamoxifen-induced apoptosis is associated with direct interaction between HER2/neu and cell membrane estrogen receptor in breast cancer. *Int J Cancer* 2002;97(3):306-312.
225. Pałgan K. Genetyczne i Środowiskowe uwarunkowania nowotworów. W: Podstawy genetyki. Drewna G (red). U&P, Wrocław 2003;473-498.
226. Abdel-Fatah TM, Powe DG, Agboola J, Adamowicz-Brice M et al. The biological, clinical and prognostic implications of p53 transcriptional pathways in breast cancers. *J Pathol* 2010; 220: 419-434.
227. Kandioler-Eckersberger D, Ludwig C, Rudas M, Kappel S, Janschek E et al. TP53 mutation and p53 overexpression for prediction of response to neoadjuvant treatment in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2000; 6(1): 50-56.
228. Schmidt MK, Tommiska J, Broeks A, van Leeuwen FE et al. Combined effects of single nucleotide polymorphisms TP53 R72P and MDM2 SNP309, and p53 expression on survival of breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2009; 11(6): R89.
229. Jung SY, Jeong J, Shin SH, Kwon Y et al. Accumulation of p53 determined by immunohistochemistry as a prognostic marker in node negative breast cancer; analysis according to St Gallen consensus and intrinsic subtypes. *J Surg Oncol* 2011; 103(3): 207-211.
230. Meek DW. Tumor suppression by p53: a role for the DNA damage response? *Nat Rev Cancer* 2009; 9(10): 714-723.
231. Bourdon JC, Fernandes K, Murray-Zmijewski F, Liu G, Diot A et al. p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity. *Genes Dev* 2005; 19(18): 2122-2137.
232. Murray-Zmijewski F, Lane DP, Bourdon JC. p53/p63/p73 isoforms: an orchestra of isoforms to harmonise cell differentiation and response to stress. *Cell Death Differ* 2006; 13(6): 962-972.
233. Nenutil N, Smardova J, Pavlova S, Hanzelkova Z et al. Discriminating functional and non-functional p53 in human tumors by p53 and MDM2 immunohistochemistry. *J Pathol* 2005; 207(3): 251-259.
234. Yang W, Klos KS, Zhou X, Yao J et al. ErbB2 overexpression in human breast carcinoma is correlated with p21Cip1 up-regulation and tyrosine-15 hyperphosphorylation of p34Cdc2: poor responsiveness to chemotherapy with

- cyclophosphamide methotrexate and 5-fluorouracil is associated with Erb2 overexpression and with p21Cip1 overexpression. *Cancer* 2003; 98(6): 1123-1130.
235. Weiss RH, Marshall D, Howard L, Corbacho AM et al. Suppression of breast cancer growth and angiogenesis by an antisense oligodeoxynucleotide to p21 (Waf/Cip1). *Cancer Lett* 2003; 189(1): 39-48.
236. Ding SL, Sheu LF, Yu JC, Yang TL et al. Abnormality of the DNA double-strand-break checkpoint/repair genes, ATM, BRCA1 and TP53, in breast cancer is related to tumour grade. *Br J Cancer* 2004; 90(10): 1995-2001.
237. Kandioler-Eckersberger D, Ludwig C, Rudas M, Kappel S et al. TP53 mutation and p53 overexpression for prediction of response to neoadjuvant treatment in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2000; 6(1): 50-56.
238. Bertheau P, Espie M, Turpin E, Lehmann J et al. TP53 status and response to chemotherapy in breast cancer. *Pathobiology* 2008; 75(2): 132-139.
239. Abdel-Fatah TM, Powe DG, Agboola J, Adamowicz-Brice M et al. The biological, clinical and prognostic implications of p53 transcriptional pathways in breast cancers. *J Pathol* 2010; 220(4): 419-434.
240. Phelps M, Darley M, Primrose JN, Blaydes JP. p53-independent activation of the hdm2-P2 promoter through multiple transcription factor response elements results in elevated hdm2 expression in estrogen receptor alpha-positive breast cancer cells. *Cancer Res* 2003; 63(10): 2616-2623.
241. Thompson AM, Lane DP. P53 transcriptional pathways in breast cancer: the good, the bad and the complex. *J Pathol* 2010; 220(4): 401-403.
242. Grushko TA, Dignam JJ, Das S, Blackwood AM et al. MYC is amplified in BRCA1-associated breast cancers. *Clin Cancer Res* 2004; 10(2): 499-507.
243. Chow LW, Loo WT, Wai CC, Lui EL et al. Study of COX-2, Ki67, and p53 expression to predict effectiveness of 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide with celecoxib treatment in breast cancer patients. *Biomed Pharmacother* 2009; 59: Suppl.2: 298-301.
244. Kim K, Chie EK, Han W, Noh DY et al. Prognostic value of p53 and bcl-2 expression in patients treated with breast conservative therapy. *J Korean Med Sci* 2010; 25(2): 235-239.
245. Callagy GM, Pharoah PD, Pinder SE, Hsu FD et al. Bcl-2 is a prognostic marker in breast cancer independently of the Nottingham Prognostic Index. *Clin Cancer Res*

- 2006; 12(8): 2468-2475.
246. Gasparini G, Barbareschi M, Doglioni C, Palma PD et al. Expression of bcl-2 protein predicts efficacy of adjuvant treatments in operable node-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 1995; 1(2): 189-198.
 247. Noguchi S, Koyama H, Kasugai T, Tsukuma H et al. A case-control study on risk factors for local recurrences of distant metastases in breast cancer patients treated with breast-conserving surgery. *Oncology* 1997; 54(6): 468-474.
 248. Tan DS, Marchio C, Jones RL, Savage K et al. Triple negative breast cancer: molecular profiling and prognostic impact in adjuvant anthracycline-treated patients. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 111(1): 27-44.
 249. Bidard FC, Matthieau MC, Chollet P, Raoefils I et al. p53 status and efficacy of primary anthracyclines/alkylating agent-based regimen according to breast cancer molecular classes. *Ann Oncol* 2008; 19(7): 1261-1265.
 250. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer. *Cochrane Database System Rev* 2001; (1) CD000486.
 251. Rutqvist LE, Cedermark B, Glas U, Mattsson A et al. Contralateral primary tumors in breast cancer patients in a randomized trial of adjuvant tamoxifen therapy. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83(18): 1299-1306.
 252. Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A et al. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet* 2005; 365: 60-62.
 253. Fisher B, Dignam J, Bryant J, DeCillis A et al. Five versus more than five years of tamoxifen therapy for breast cancer patients with negative lymph nodes and estrogen receptor-positive tumors. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88(21): 1529-1542.
 254. Bertelsen L, Bernstein L, Olsen JH, Mellemkjaer L et al. Effect of systemic adjuvant treatment on risk for contralateral breast cancer in the Women's Environment, Cancer and Radiation Epidemiology Study. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(1): 32-40.
 255. Li CI, Malone KE, Weiss NS, Daling JR. Tamoxifen therapy for primary breast cancer and risk of contralateral breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(13): 1008-1013.
 256. Kaas R, Peterse JL, Hart AA, Voogd AC et al. The influence of tamoxifen treatment on the oestrogen receptor in metachronous contralateral breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88(5): 707-710.

257. Swain SM, Wilson JW, Mamounas EP, Bryant J et al. Estrogen receptor status of primary breast cancer is predictive of estrogen receptor status of contralateral breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(7): 516-523.
258. Arpino G, Weiss HL, Clark GM, Hilsenbeck SG, Osborne CK. Hormone receptor status of a contralateral breast cancer is independent of the receptor status of the first primary in patients not receiving adjuvant tamoxifen. *J Clin Oncol* 2005; 23(21): 4687-4694.
259. Cuzick J, Powles T, Veronesi U, Forbes J et al. Overview of the main outcomes in the breast-cancer prevention trials. *Lancet* 2003; 361(9354): 296-300.
260. Bachleitner-Hoffmann T, Pichler-Gebhard B, Rudas M, Gnant M et al. Pattern of hormone receptor status of secondary contralateral breast cancer in patients receiving adjuvant tamoxifen. *Clin Cancer Res* 2002; 8(11): 3427-3432.
261. Serrano D, Perego E, Costa A, Decensi A. Progress in chemoprevention of breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49(2): 109-117.
262. Costa A, Serrano D, Ballardini B, Decensi A. The current status of chemoprevention of breast cancer. *CME J Gynecol Oncol* 2004; 9: 172-179.
263. Mokbel K. Focus on anastrozole and breast cancer. *Curr Med Res Opin* 2003; 19(8): 683-688.
264. Peralta EA, Ellenhorn JD, Wagman LD, Dagens A et al. Contralateral prophylactic mastectomy improves the outcome of selected patients undergoing mastectomy for breast cancer. *Am J Surg* 2000; 180(6): 439-445.
265. Tilanus-Linthorst MM, Alves C, Seynaeve C, Menke-Pluymers MB et al. Contralateral recurrence and prognostic factors in familial non-BRCA1/2-associated breast cancer. *Br J Surg* 2006; 93(8): 961-968.
266. Hartman M, Czene K, Reilly M, Adolfsson J et al. Incidence and prognosis of synchronous and metachronous bilateral breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(27): 4210-4216.
267. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Multi-agent chemotherapy for early breast cancer. *The Cochrane Library* (Oxford) 2004 (ID #CD000486).
268. Matloff ET. The breast surgeon's role in BRCA1 and BRCA2 testing. *Am J Surg* 2000; 180(4): 294-298.
269. Ardern-Jones A, Kenen R, Eeles R. Too much, too soon? Patients and health professionals' views concerning the impact of genetic testing at the time of breast

- cancer diagnosis in women under the age of 40. *Eur J Cancer Care* 2005; 14(3): 272-281.
270. Narod SA, Brunet JS, Ghadirian P, Robson M et al. Tamoxifen and risk of contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a case-control study. Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group. *Lancet* 2000; 356(9245): 1876-1881.
271. Schrag D, Kuntz KM, Garber JE, Weeks JC. Life expectancy gains from cancer prevention strategies for women with breast cancer and BRCA1 or BRCA2 mutations. *JAMA* 2000; 283(5): 617-624.
272. Grann VR, Jacobson JS, Thomason D, Hershman D et al. Effect of prevention strategies on survival and quality-adjusted survival of women with BRCA1/2 mutations: an updated decision analysis. *J Clin Oncol* 2002; 20(10): 2520-2529.
273. Robson ME, Chappuis PO, Satagopan J, Wong N et al. A combined analysis of outcome following breast cancer: differences in survival based on BRCA1/BRCA2 mutation status and administration of adjuvant treatment. *Breast Cancer Res* 2004; 6(1): R8-R17.
274. Tassone P, Tagliaferri P, Perricelli A, Blotta S et al. BRCA1 expression modulates chemosensitivity of BRCA1-defective HCC1937 human breast cancer cells. *Br J Cancer* 2003; 88(8): 1285-1291.
275. Pritchard KI, Khan H, Levine M. Clinical practice guidelines for the care and treatment of breast cancer: 14. The role of hormone replacement therapy in women with a previous diagnosis of breast cancer. *CMAJ* 2002; 166(8): 1017-1022.
276. Brekelmans CTM, Seynaeve C, Menke-Pluymers M, Bruggenwirth HT et al. Survival and prognostic factors in BRCA1-associated breast cancer. *Ann Oncol* 2006; 17: 391-400.
277. Moynahan ME, Cui TY, Jasin M. Homology-directed DNA repair, mitomycin-c resistance, and chromosome stability is restored with correction of BRCA1 mutation. *Cancer Res* 2001; 61(12): 4842-4850.
278. Bhattacharyya A, Ear US, Koller BH, Weichselbaum RR, Bishop DK. The breast cancer susceptibility gene BRCA1 is required for subnuclear assembly of Rad51 and survival following treatment with the DNA cross-linking agent cisplatin. *J Biol Chem* 2000; 275(31): 23899-23903.
279. Miles DW. When HER2 is not the target: advances in the treatment of HER2-

- negative metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res* 2009; 11(4): 208.
280. Pierce LJ, Phillips KA, Griffith KA, Buys S et al. Local therapy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with operable breast cancer: comparison of breast conservation and mastectomy. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 121(2): 389-398.
281. Keating NL, Stoeckert KA, Regan MM, DiGianni L. Physicians' experiences with BRCA1/2 testing in community settings. *J Clin Oncol* 2008; 26(35): 5789-5796.
282. Rebbeck TR, Friebel T, Lynch HT, Neuhausen SL et al. Bilateral prophylactic mastectomy reduces breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: the PROSE Study Group. *J Clin Oncol* 2004; 22(6): 981-983.
283. Hartmann LC, Sellers TA, Schaid DJ, Frank TS et al. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in BRCA1 and BRCA2 gene mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(21): 1586-1587.
284. Scheufler O, Fritschen U. Prophylactic mastectomy in women at high risk for breast cancer: indications and options. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 2008; 40(4): 239-247.
285. Dagan E, Goldblatt H. The twilight zone between health and sickness: a qualitative exploration with asymptomatic BRCA1 and 2 mutation carriers. *Women Health* 2009; 49(4): 263-279.
286. Norum J, Hagen AI, Maehle L, Apold J et al. Prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy (PBSO) with or without prophylactic bilateral mastectomy (PBM) or no intervention in BRCA1 mutation carriers: a cost-effectiveness analysis. *Eur J Cancer* 2008; 44(7): 963-971.
287. Metcalfe KA, Lubiński J, Ghadirian P, Lynch H et al. Predictors of contralateral prophylactic mastectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation: The Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group. *J Clin Oncol* 2008; 26(7): 1093-1097.
288. Arrington AK, Jarosek SL, Virnig BA, Habermann EB, Tuttle TM. Patient and surgeon characteristics associated with increased use of contralateral prophylactic mastectomy in patients with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2009; 16(10): 2697-2704.
289. Brandberg Y, Sandelin K, Erikson S, Jurell G et al. Psychological reactions, quality of life, and body image after bilateral prophylactic mastectomy in women at high risk for breast cancer: a prospective 1-year follow-up study. *J Clin Oncol* 2008; 26(24): 3918-3919.
290. Gahm J, Wickman M, Brandberg Y. Bilateral prophylactic mastectomy in women

- with inherited risk of breast cancer-prevalence of pain and discomfort, impact on sexuality, quality of life and feelings of regret two years after surgery. *Breast* 2010; 19(6): 462-469.
291. Eldor L, Spiegel A. Breast reconstruction after bilateral prophylactic mastectomy in women at high risk for breast cancer. *Breast J* 2009; 15Suppl 1: 81-89.
 292. MacLennan SE. Bilateral breast reconstruction and the role of prophylactic mastectomy. *Breast Dis* 2009; 16(1): 23-29.
 293. Chasan PE. Bilateral mastectomy reconstruction in the previously augmented patient. *Aesthet Surg J* 2008; 28(4): 472-473.
 294. Beahm EK, Walton RL. Issues, Considerations, and Trends in Bilateral Breast Reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2009; 124(4): 1064-1076.
 295. Patenaude AF, Orozco S, Li X, Kaelin CM et al. Support needs and acceptability of psychological and peer consultation: attitudes of 108 women who had undergone or were considering prophylactic mastectomy. *Psychooncology* 2008; 17(8): 831-843.
 296. Quan G, Pommier SJ, Rodney F et al. Incidence and outcomes of contralateral breast cancers. *Am J Surg* 2008; 195(5): 645- 650.
 297. Carmichael AR, Bendall S, Lockerbie L, Prescott R, Bates T. The long-term outcome of synchronous bilateral breast cancer is worse than metachronous or unilateral tumours. *Eur J Surg Oncol* 2002; 28(4): 388-391.
 298. Verkooijen HM, Chatelain V, Fioretta G, Vlastos G, Rapiti E. Survival after bilateral breast cancer: results from a population-based study. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 105(3): 347-357.
 299. Kollias J, Ellis IO, Elston CW, Blamey RW. Prognostic significance of synchronous and metachronous bilateral breast cancer. *World J Surg* 2001; 25(9): 1117-1124.
 300. Gózdź S, Smok-Kalwat J et al. Przeżycia pacjentek z dwustronnym rakiem sutka. *Nowotwory* 2002; 53: 6.
 301. Ben Hassouna J, Damak T, Chargui R, Slimene M et al. Clinicopathological characteristics of synchronous bilateral breast carcinomas. Report of 30 patients. *Tunis Med* 2008; 86(2): 155-159.
 302. Beinart G, Gonzalez-Angulo AM, Broglio K, Mejia J et al. Clinical course of 771 patients with bilateral breast cancer: characteristics associated with overall and recurrence-free survival. *Clin Breast Cancer* 2007; 7(11): 867- 874.

303. Heron DE, Komarnicky LT, Hyslop T, Schwartz GF, Mansfield CM. Bilateral breast carcinoma: risk factors and outcomes for patients with synchronous and metachronous disease. *Cancer* 2000; 88(12): 2739-2750.
304. Kuo WH, Yen AM, Lee PH, Chen KM et al. Cumulative survival in early-onset unilateral and bilateral breast cancer: an analysis of 1907 Taiwanese women. *Br J Cancer* 2009; 100(4): 563-570.
305. Engin K. Prognostic factors in bilateral breast cancer. *Neoplasma* 1994; 41(6): 353-357.
306. Morrow M. Prophylactic contralateral surgery: current recommendations and techniques. *Breast Cancer Res* 2009; 11 Suppl 1: S9.
307. Poynter JN, Langholz B, Largent J, Mellemkjaer L et al. Reproductive factors and risk of contralateral breast cancer by BRCA1 and BRCA2 mutation status: results from the WECARE study. *Cancer Causes Control* 2010; 21(6): 839-846.
308. Odiase EJ. Risk of breast cancer amongst women who start smoking as teenagers. *Breast Cancer Res* 2009; 11 Suppl 1: P12.
309. Vuoto HD, Garcia AM, Candas CB, Zimmermann AG et al. Bilateral breast carcinoma: clinical characteristics and its impact on survival. *Breast J* 2010; 16(6): 625-632.
310. Capasso I, Esposito E, Montella M, A Crispo et al. Metabolic syndrom, hyperinsulinemia and body mass index as risk factors in breast cancer: National Cancer Institute of Naples experience. *Breast Cancer Res* 2009; 11 Suppl 1: P2.
311. Capasso I, Esposito E, Pentimalli F, Crispo A et al. Metabolic syndrome affects breast cancer risk in postmenopausal women: National Cancer Institute Naples experience. *Cancer Biol Ther* 2011; 10(12): 1240-1243.
312. Li Cl, Daling JR, Tang MT, Malone KE. Relationship between diabetes and risk of second primary contralateral breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 125(2): 545-551.
313. Ruggeri A, Mininberg ED, Valero V, Kau SW et al. The natural history of metachronous contralateral breast cancer in women treated with prior adjuvant or neoadjuvant therapy. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003; 22 (abstr. 116).
314. Cavaliere A, Bellezza G, Scheibel M, Vitali R, Sidoni A. Biopathological profile of multiple synchronous homolateral and bilateral breast cancer. *Pathol Res Pract* 2004; 200(1): 9-12.

315. Arpino G, Bardou VJ, Clark GM, Elledge RM. Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome. *Breast Cancer Res* 2004; 6(3): R149-156.
316. Gong SJ, Rha SY, Jeung HC, Roh JK et al. Bilateral breast cancer: differential diagnosis using histological and biological parameters. *Jpn J Clin Oncol* 2007; 37(7): 487-492.
317. Arpino G, Weiss HL, Clark GM, Hilsenbeck SG et al. Hormone receptor status of a contralateral breast cancer is independent of the receptor status of the first primary in patients not receiving adjuvant tamoxifen. *J Clin Oncol* 2005; 23(21): 4687-4694.
318. Stark A, Lu M, Mackowiak P, Linden M. Concordance of the hormone receptors and correlation of HER-2/neu overexpression of the metachronous cancers of contralateral breasts. *Breast J* 2005; 11(3): 183-187.
319. Matsuo K, Fukutomi T, Tsuda H, Akashi-Tanaka S et al. Differences in estrogen status, HER2 nad p53 comparing metachronous bilateral breast carcinoma. *J Surg Oncol* 2001; 77(1): 31-34.
320. Metcalfe K, Gershman S, Lynch HT, Ghadirian P et al. Predictors of contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Br J Cancer* 2011; 104(9): 1384-1392.
321. Manders P, Pijpe A, Hooning MJ, Kluijt I et al. Body weight and risk of breast cancer in BRCA1/2 mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 126(1): 193-202.
322. Lecarpentier J, Nogues C, Mouret-Fourme E, Stoppa-Lyonnet D et al. Variation in breast cancer risk with mutation position, smoking, alcohol, and chest X-ray history, in the French National BRCA1/2 carrier cohort (GENEPSO). *Breast Cancer res Treat* 2011; 130(3): 927-938.
323. McGuire V, John EM, Felberg A, Haile RW et al. No increased risk of breast cancer associated with alcohol consumption among carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations ages <50 years. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(8): 1565-1567.
324. Moorman PG, Iversen ES, Marcom PK, Marks JR et al. Evaluation of established breast cancer risk factors as modifiers of BRCA1 or BRCA2: a multi-center case-only analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 124(2): 441-451.
325. Ginsburg O, Ghadirian P, Lubinski J, Cybulski C et al. Smoking and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 carriers: an update. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 114(1): 127-135.

326. Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM et al. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21(1): 134-147.
327. Iau PT, Marafie M, Ali A, Sng JH et al. Are medullary breast cancers an indication for BRCA1 mutation screening? A mutation analysis of 42 cases of medullary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 85(1): 81-88.
328. Nowicka E, Rogozińska J, Grzybowska E, Behrendt K et al. Bilateral breast cancer-prognostic significance of synchronous and metachronous bilateral breast cancer. *Eur J Cancer Supplement* 2004; 2(3): 179.
329. Branković-Magić M, Nikolic-Vukosavljević D, Nesković-Konstantinović Z, Kanje Spuzić I. Estrogen and progesterone receptor content in bilateral breast cancer. *Pathol Res Pract* 1995; 191(1): 16-24.
330. Holmberg L, Adami HO, Ekblom A, Bergstrom R et al. Prognosis in bilateral breast cancer. Effects of time interval between first and second primary tumour. *Br J Cancer* 1988; 58(2): 191-194.
331. Beckmann KR, Buckingham J, Craft P, Dahlstrom JE et al. Clinical characteristics and outcomes of bilateral breast cancer in an Australian cohort. *The Breast* 2011; 20(2): 158-164.
332. Schootman M, Fuortes L, Aft R. Prognosis of metachronous contralateral breast cancer according to stage at diagnosis: The importance of early detection. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 99(1): 91-95.
333. Matsuo K, Fukutomi T, Akashi-Tanaka S, Hasegawa T, Tsuda H. Histological grade, p53, HER2 and hormone receptor status of synchronous bilateral breast carcinoma. *Breast Cancer* 2002; 9(2): 127-133.
334. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD et al. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St.Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of Oncology* 2011; 22(8): 1736-1747.
335. Deptała A. Mechanizmy oporności na hormonoterapię u chorych na raka piersi. W: *Hormonoterapia chorych na raka piersi*. Wojtukiewicz MZ. VIA MEDICA, Gdańsk 2011; 98-109.
336. Higgins MJ, Prowell TM, Blackford AL, Byrne C et al. A short-term biomarker

modulation study of simvastatin in women at increased risk of a new breast cancer.
Breast Cancer Res Treat 2012; 131(3): 915-924.