

Marzena Chajewska - Ciekańska

**Ocena wpływu wybranych czynników histopatologicznych
i klinicznych na skuteczność przedoperacyjnej chemioterapii
u pacjentek z rakiem piersi**

Rozprawa doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Maria Litwiniuk

Katedra i Klinika Onkologii Uniwersytetu Medycznego

im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2015

Serdecznie dziękuję

Pani dr hab. n. med. Marii Litwiniuk

za inspirację, wsparcie, wiedzę i pomoc przy realizacji pracy

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów	5
1. Wstęp	7
1.1 Epidemiologia.....	7
1.2 Czynniki ryzyka	7
1.3 Diagnostyka	8
1.4 Klasyfikacja TNM.....	10
1.5 Czynniki prognostyczne i predykcyjne.....	10
1.6 Leczenie	14
1.6.1 Leczenie chirurgiczne	15
1.6.2 Radioterapia.....	15
1.6.3 Leczenie systemowe.....	16
1.6.3.1 Przedoperacyjne leczenie systemowe.....	17
2. Cel pracy	23
3. Materiał i metody	24
3.1 Charakterystyka badanej grupy.....	24
3.2 Mikroskopowa ocena materiału	28
3.3 Analiza statystyczna	31
4. Wyniki	32
4.1 Częstość całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) w funkcji wybranych parametrów.....	32
4.2 Czynniki wpływające na uzyskanie całkowitej odpowiedzi patologicznej.....	35
4.3 Krzywe przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od całkowitej odpowiedzi patologicznej.....	37

5. Dyskusja	44
6. Wnioski	56
7. Piśmiennictwo	57
8. Streszczenie	66
9. Summary	68
Załącznik nr1	70
Spis rycin	73
Spis tabel	74

WYKAZ SKRÓTÓW

- BCT – leczenie oszczędzające piersi (ang. *breast conserving treatment*)
- BRCA1 – gen supresorowy (ang. *Breast Cancer 1 Gene*)
- cDNA – komplementarny DNA (ang. *complementary DNA*)
- CI – przedział ufności
- DFS – czas wolny od nawrotu choroby (ang. *disease free survival*)
- ER – receptor dla estrogenu (ang. *estrogen receptor*)
- FISH – metoda fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (ang. *fluorescence in situ hybridization*)
- Gy – Gray - jednostka dawki pochłoniętej
- HER2 – receptor dla ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *human epidermal growth factor receptor 2*)
- HR – współczynnik ryzyka (ang. *hazard ratio*)
- IF – immunofenotyp
- IHC – metoda immunohistochemiczna (ang. *immunohistochemical*)
- MMG – mammografia (ang. *mammography*)
- NOS – rak o niespecyficznym utkaniu (ang. *not otherwise specified*)
- OS – przeżycie całkowite (ang. *overall survival*)
- p – poziom istotności statystycznej
- pCR – całkowita odpowiedź patologiczna (ang. *pathological complete remission*)
- PgR – receptor dla progesteronu (ang. *progesterone receptor*)
- SNB – biopsja węzła wartowniczego (ang. *sentinel node biopsy*)

TNBC – rak receptorowo potrójnie negatywny (ang. *triple negative breast cancer*)

ypT0 ypN0 – brak w materiale pooperacyjnym po pierwotnym leczeniu systemowym przetrwałego inwazyjnego i nieinwazyjnego raka w piersi i pachowych węzłach chłonnych

ypT0/is ypN0 – brak w materiale pooperacyjnym po pierwotnym leczeniu systemowym przetrwałego inwazyjnego raka w piersi i pachowych węzłach chłonnych, dopuszczalny przetrwały rak nieinwazyjny w piersi

ypT0/is ypN0/+ – brak w materiale pooperacyjnym po pierwotnym leczeniu systemowym inwazyjnego raka w piersi, dopuszczalny przetrwały rak nieinwazyjny w piersi i naciek pachowych węzłów chłonnych

ypT \leq 1mic ypN0/+ – brak w materiale pooperacyjnym po pierwotnym leczeniu systemowym dużego ogniska przetrwałego inwazyjnego raka w piersi, dopuszczalna przetrwała mikroinwazja w piersi i naciek pachowych węzłów chłonnych

1. WSTEP

W ciągu ostatnich dekad obserwuje się znaczącą poprawę wyników leczenia raka piersi. Mimo stałego trendu wzrostowego zachorowalności w wielu krajach uzyskano spadek umieralności z powodu tego nowotworu. Poprawa ta jest wynikiem zarówno upowszechnienia badań mammograficznych umożliwiających wczesne wykrywanie raka piersi, jak i postępu w dziedzinach medycyny zajmujących się leczeniem tego nowotworu: chirurgii onkologicznej, radioterapii oraz onkologii klinicznej. Mimo to rak piersi jest nadal znaczącym problemem medycznym i społecznym zarówno na świecie, jak i w Polsce.

1.1 Epidemiologia

Na świecie rak piersi jest najczęściej rozpoznawanym nowotworem złośliwym u kobiet. Rocznie stwierdza się około 1,4 miliona nowych zachorowań i 450 tysięcy zgonów z powodu raka piersi. Polska należy do krajów o średniej zachorowalności na ten nowotwór. W 2012 roku zanotowano 17 tysięcy nowych zachorowań, a standaryzowany współczynnik zachorowalności wyniósł 51,9 na 100 000 kobiet. Z powodu raka piersi zmarło 5574 chorych przy standaryzowanym współczynniku 14,1 na 100 000 kobiet [1].

Wielkopolska zajmuje trzecie miejsce w Polsce pod względem zachorowalności na raka piersi i umieralności z powodu tej choroby.

1.2 Czynniki ryzyka

Ryzyko zachorowania na raka piersi zależy od wieku. Kobiety pomiędzy 50 a 69 rokiem życia (w okresie około i pomenopauzalnym) chorują najczęściej. Każda dekada do osiągnięcia menopauzy zwiększa częstość zachorowań dwukrotnie. U kobiet młodych do 35 roku życia rak piersi jest rozpoznawany znacznie rzadziej i stanowi tylko 2–5% wszystkich zdiagnozowanych przypadków [2, 3]. Płeć żeńska jest także czynnikiem zwiększonego zachorowania na raka piersi. U mężczyzn występuje blisko 100 razy rzadziej [4]. Czas aktywności hormonalnej, a więc czas oddziaływania estrogenów na nabłonek gruczołowy piersi jest najważniejszym czynnikiem endogennym. Pierwsza miesiączka przed 12 rokiem życia zwiększa o około 30% ryzyko zachorowania [5]. Późna ostatnia miesiączka (po 55 roku życia) powoduje

ponad dwukrotny wzrost ryzyka zachorowania na raka piersi. Czynniki związane z rozrodnością (pierwszy poród po 30 roku życia, bezdzietność) zwiększają to ryzyko również dwu – trzykrotnie. Wcześniejsze rozpoznanie nasilonej atypowej hiperplazji nabłonkowej powoduje cztero – pięciokrotny wzrost ryzyka zachorowania na raka piersi w porównaniu z kobietami bez zmian w gruczole piersiowym [6]. Kolejnymi czynnikami powodującymi wzrost zapadalności na raka piersi są: długotrwała, powyżej 10 lat hormonalna terapia zastępcza, ekspozycja na promieniowanie jonizujące, otyłość, nadużywanie alkoholu.

Obciążenie rodzinne stwierdza się w około 25% przypadków. U kobiet, których matka i siostra chorowały na raka piersi, ryzyko wzrasta niemal 14 razy w porównaniu z kobietami bez obciążonego wywiadu. Wśród krewnych pierwszego stopnia (matka, siostra, córka) jest ono najwyższe [4]. Część spośród rodzinnych przypadków raka piersi uwarunkowanych jest genetycznie. Uwarunkowania te należą do najsilniejszych poznanych dotychczas czynników ryzyka zachorowania na raka piersi. Jego wzrost związany jest z obecnością mutacji najczęściej stwierdzanych w genach *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *ATM*. Rak piersi często towarzyszy zespołom rodzinnego występowania nowotworów: Li-Fraumeni, ataksja-teleangiektazja, Cowdena [7]. Mutacje genów *BRCA1* i *BRCA2*, choć ich występowanie stwierdza się tylko w około 10% przypadków, najsilniej zwiększają ryzyko zachorowania na raka piersi. U nosicielek mutacji w ciągu całego życia wynosi ono 60–80% [8]. Wzrasta też ryzyko wystąpienia drugiego pierwotnego raka piersi i raka jajnika przed 45 rokiem życia.

1.3 Diagnostyka

Proces diagnostyczny raka piersi obejmuje zawsze badanie podmiotowe i przedmiotowe (w tym badanie ginekologiczne), badania obrazowe i badanie mikroskopowe. Przeprowadzony wywiad dostarcza informacji na temat dolegliwości ze strony piersi i dynamiki ich występowania, czynników ryzyka związanych z rozrodnością, hormonalną terapią zastępczą i rodzinnym obciążeniem chorobami nowotworowymi, a także chorób współistniejących i przebytych.

Badanie przedmiotowe obejmuje ocenę piersi (lokalizacja guza, jego wielkość, spoistość, ruchomość, stosunek do podłoża i otaczającej go prawidłowej tkanki), węzłów chłonnych pachowych, nadobojczykowych i podobojczykowych oraz dokładną

ocenę skóry całej piersi, a w szczególności nad podejrzanym guzem, otoczki i brodawki sutkowej.

Diagnostyka obrazowa służy zarówno do oceny zmiany pierwotnej, jak i ustalenia stopnia zaawansowania choroby. Mammografia (MMG) jest podstawową metodą obrazowania w wykrywaniu raka piersi zarówno zmian klinicznie podejrzanych, jak i niepalpacyjnych. Pozwala na dokładną ocenę wielkości zmiany oraz jej precyzyjną lokalizację. Wynik badania mammograficznego podawany jest zgodnie z obowiązującą klasyfikacją według systemu BI-RADS (*Breast Imaging Reporting and Data System*). Uzupełnieniem MMG może być badanie ultrasonograficzne (USG). Służy ono do lepszego uwidocznienia zmian w przypadku piersi o bogatogruczołowym utkanu, oceny okolicznych węzłów chłonnych. USG wykorzystywane jest także podczas wykonywania biopsji. Diagnostyka raka piersi może być również prowadzona z zastosowaniem metody rezonansu magnetycznego (MR). Badanie to wykorzystywane jest w skryningu u nosicielek mutacji *BRCA1* i *BRCA2*, w celu wykrywania raka wieloogniskowego i wielośrodkowego szczególnie przed planowanym zabiegiem oszczędzającym lub w przypadku potwierdzonego raka zrazikowego piersi, w poszukiwaniu niewidocznego w MMG i USG ogniska pierwotnego u chorych z przerzutami w pachowych węzłach chłonnych [9].

Zdjęcie radiologiczne klatki piersiowej jest wykonywane u wszystkich chorych na raka piersi niezależnie od stopnia klinicznego zaawansowania nowotworu. U chorych w I i II stopniu bez objawów rutynowo nie wykonuje się badań obrazowych jamy brzusznej i układu kostnego z powodu minimalnego prawdopodobieństwa wykrycia w tych narządach przerzutów bezobjawowych [10]. Badania te wykonuje się u chorych w III stopniu zaawansowania klinicznego lub w przypadkach podejrzenia przerzutów na podstawie wywiadu lub wyników badań laboratoryjnych.

Na podstawie omówionych badań można wykryć zmianę podejrzaną o nowotwór, nie można jednak rozpoznać raka piersi. Warunkiem ustalenia ostatecznego rozpoznania jest wynik badania patomorfologicznego. Materiał do badania można uzyskać drogą biopsji cienkoigłowej, gruboigłowej lub wycinającej. Biopsja tkankowa jest standardem w diagnostyce zmian palpacyjnych i niepalpacyjnych gruczołu piersiowego. Pozwala na potwierdzenie nowotworowego charakteru zmiany, a następnie ustalenie typu histologicznego raka, stopnia histologicznej złośliwości, stanu receptorów dla estrogenów, progesteronu i receptora HER2 oraz antygenu proliferacyjnego Ki67.

Wynik biopsji zawierający wymienione wyżej elementy jest niezbędny w przypadku chorych, u których planowane jest pierwotne leczenie systemowe i może decydować o wyborze rodzaju tego leczenia (chemioterapia, hormonoterapia). Jest on też niezbędny do wyboru terapii pooperacyjnej i określenia rokowania. Przede wszystkim dotyczy to stanu receptora HER2, którego ocena po skutecznej terapii przedoperacyjnej może nie być możliwa. Ocena materiału operacyjnego pozwala na ustalenie rzeczywistej wielkości guza (pT), uwzględniając tylko komponent inwazyjny oraz liczbę zajętych węzłów chłonnych (pN), stwierdzenie naciekania torebki węzła i przyległej tkanki tłuszczowej. Są to ważne czynniki prognostyczne.

1.4 Klasyfikacja TNM

Ujednolicenie sposobu oceny zaawansowania nowotworu ma istotny wpływ na wybór terapii. Umożliwia porównanie różnych metod leczenia i określenie rokowania. Powszechnie stosowana jest klasyfikacja TNM oparta na ocenie trzech cech choroby nowotworowej: guza pierwotnego (T), regionalnych węzłów chłonnych (N) i przerzutów do odległych narządów (M). Na podstawie tych parametrów określa się stopień zaawansowania klinicznego.

1.5 Czynniki prognostyczne i predykcyjne

Wybór formy leczenia systemowego oraz innych form terapii przeciwnowotworowych zależy od stopnia zaawansowania i od czynników prognostycznych i predykcyjnych. Do czynników rokowniczych oceniających ryzyko nawrotu choroby lub zgonu należą: wiek, wielkość guza pierwotnego, typ histologiczny raka i jego stopień złośliwości, liczba zajętych węzłów chłonnych pachy, stopień ekspresji receptorów estrogenowych (ER) i progesteronowych (PgR), stopień ekspresji receptora HER2, naciekanie okołoguzowych naczyń chłonnych i żylnych, stopień ekspresji antygenu proliferacyjnego Ki67. Czynniki predykcyjne to te, które umożliwiają przewidywanie odpowiedzi na leczenie. Uznawanymi i stosowanymi w codziennej praktyce klinicznej są stan receptorów steroidowych (ER i PgR) oraz receptora HER2. U pacjentów bez przerzutów do węzłów chłonnych dołu pachowego wielkość guza pierwotnego jest najważniejszym czynnikiem określającym ryzyko nawrotu. Im większa średnica guza, tym większe prawdopodobieństwo wystąpienia przerzutów odległych. Dla guzów większych niż 5 cm wynosi 60–70% [11].

Z wielkością guza wzrasta także prawdopodobieństwo przerzutów do pachowych węzłów chłonnych. Dla zmian poniżej 1 cm wynosi 10–20%, a dla zmian większych niż 5,5 cm 60% [12]. Rokowanie chorych na raka piersi zależy także od typu histologicznego nowotworu. Kwalifikacja do określonego typu przeprowadzana jest zgodnie z klasyfikacją Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). Najbardziej ogólny jest podział na raki przedinwazyjne, do których należą typ przewodowy i zrazikowy, i na raki inwazyjne, do których zaliczają się: rak o niespecyficznym utkaniu – NOS (dawny rak przewodowy), zrazikowy, cewkowy, rdzeniasty, śluzotwórczy i brodawkowaty [13]. Najczęstszym typem histologicznym jest inwazyjny rak przewodowy występujący u około 80% chorych. Rak zrazikowy naciekający rozpoznawany jest w kilkunastu procentach przypadków. Pozostałe około 10% stanowią raki rzadko występujące (rdzeniasty, cewkowy, śluzotwórczy) charakteryzujące się znacznie lepszym rokowaniem. Stopień histologicznej złośliwości (G) określany jest na podstawie klasyfikacji Blooma i Richardsona w modyfikacji Elstona i Ellisa. Oparta jest ona na ocenie zdolności tworzenia cewek, stopnia atypii jądrowej i liczby mitoz. Każda cecha otrzymuje określoną ilość punktów, a ich suma pozwala wyróżnić trzy stopnie histologicznej złośliwości raka piersi. Stopień I (G1) - rak wysoko zróżnicowany, stopień II (G2) - rak średnio zróżnicowany, stopień III (G3) - rak nisko zróżnicowany. Czas przeżycia koreluje ze stopniem histologicznej złośliwości. Im wyższy stopień, tym krótszy czas przeżycia. Prawdopodobieństwo 10-letniego przeżycia wynosi odpowiednio: w G1 45–85%, w G2 28–70%, w G3 13–45% [14, 15]. Jednym z najważniejszych czynników rokowniczych jest stwierdzenie przerzutów do regionalnych pachowych węzłów chłonnych. Jedynym badaniem pozwalającym wiarygodnie ocenić stan węzłów jest badanie patomorfologiczne materiału pooperacyjnego. Raport z przeprowadzonego badania powinien zawierać informacje o liczbie usuniętych węzłów, liczbie węzłów, w których stwierdzono przerzuty, a także o nacieku nowotworowym torebki węzła i tkanki okołowęzłowej. Ze względu na stan węzłów chłonnych wyróżniono 3 grupy chorych o różnym rokowaniu: grupę bez stwierdzonych przerzutów do pachowych węzłów chłonnych, grupę z potwierdzonymi przerzutami w nie więcej niż trzech węzłach i grupę z przerzutami w więcej niż trzech węzłach. Wraz ze wzrostem liczby zajętych węzłów chłonnych pogarsza się rokowanie. Prawdopodobieństwo 10-letniego przeżycia bez objawów choroby dla wymienionych grup wynosi odpowiednio 70–80%, 50%, 30% [16]. Decyzja o wyborze terapii

systemowej podejmowana jest na podstawie indywidualnej dla każdego chorego analizy czynników predykcyjnych i prognostycznych. Jednym z najważniejszych elementów wpływających na podjęcie decyzji o sposobie leczenia jest stan receptorów estrogenowych (ER) i progesteronowych (PgR). Ich ekspresja jest czynnikiem predykcyjnym określającym prawdopodobieństwo odpowiedzi na hormonoterapię. Zgodnie z zaleceniami Grupy Ekspertów na konferencji w St. Gallen w 2009 r. i potwierdzonymi w 2013 roku, raki piersi, w których wykazano jakąkolwiek ekspresję receptorów steroidowych, zaliczane są do hormonowrażliwych i jest to wskazanie do zastosowania hormonoterapii [17, 18]. Receptory ER i PgR zlokalizowane są głównie w jądrze komórkowym, ale występują także w cytoplazmie i błonach komórkowych. Biorą udział w regulacji procesów transkrypcji, modulowaniu aktywacji błonowych receptorów dla czynników wzrostu i wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnału [19]. Ich obecność oznacza się w jądrach komórkowych metodą immunohistochemiczną, a stopień ekspresji określa za pomocą skali Allreda, która uwzględnia odsetek wybarwionych jąder i siłę ich wybarwienia. Ocena receptorów powinno się wykonywać w materiale uzyskanym przed rozpoczęciem terapii systemowej. U około 50% chorych na raka piersi wykrywa się obecność obu receptorów (ER i PgR), a sam receptor dla estrogenów u 70% [20]. Raki piersi ze stwierdzoną ekspresją receptorów steroidowych charakteryzują się niższym stopniem histologicznej złośliwości, mniejszą aktywnością proliferacyjną. Rzadziej wykazują nadekspresję receptora HER2. Czynnikiem, który podobnie jak stan receptorów steroidowych, ma znaczenie zarówno prognostyczne, jak i predykcyjne jest nadekspresja receptora HER2 lub amplifikacja genu *HER2*. U około 20–25% chorych na raka piersi stwierdza się nadekspresję receptora HER2 [21]. Receptor ludzkiego nabłonkowego czynnika wzrostu typu 2 należy do białek przezbłonowych, wykazujących aktywność kinazy tyrozynowej. Bierze udział w przekazywaniu sygnału do podziału komórki. Nadmierna ekspresja (zwielokrotnienie ilości białka receptorowego) lub amplifikacja genu (nadmiar kopii genu *HER2*) to niekorzystny czynnik rokowniczy. Obecność receptora HER2 ocenia się w błonach komórek nowotworowych metodą immunohistochemiczną (IHC) w czterostopniowej skali. W przypadku wątpliwego wyniku uzyskanego metodą IHC wykonuje się badanie metodą fluoroscencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH), oceniając liczbę kopii genu *HER2*. Raki określane jako HER2 pozytywne charakteryzują się: wyższym stopniem

histologicznej złośliwości, częstym brakiem ekspresji receptorów dla estrogenów i progesteronu, wysokim indeksem proliferacyjnym. Częściej dają przerzuty do pachowych węzłów chłonnych. Chorzy z nadekspresją HER2 mają krótszy czas przeżycia do nawrotu choroby, jak i całkowity czas przeżycia (przy przerzutach do węzłów chłonnych). Nadekspresja receptora HER2 jest czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na terapię celowaną przeciwciałem monoklonalnym anty HER2 (trastuzumabem) i innymi lekami anty HER2 [22].

Niekorzystnym czynnikiem rokowniczym jest również inwazja nowotworowa naczyń chłonnych i żylnych niezależnie od stanu węzłów chłonnych. Do nowych czynników rokowniczych należą: cykliny D1–E, które regulują cykl komórkowy, proteazy, takie jak: aktywator plazminogenu o typie urokinazy uPA i inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, katepsyna D, antygen Ki67. Duże nadzieje w prognozowaniu przebiegu choroby, jak i przewidywaniu odpowiedzi na chemioterapię wiązane są obecnie z analizą profili molekularnych. Pomimo upowszechnienia kilku testów: Oncotype DX opartego na analizie 21 genów i MammaPrint analizującego 70 genów, żaden nie jest używany jako standard postępowania w doborze leczenia systemowego. Zgodnie z aktualnymi zaleceniami z St. Gallen 2013, testy 21 genowy i 70 genowy mogą być wykorzystywane w celu określenia ryzyka wznowy i kwalifikacji chorych do leczenia uzupełniającego [18]. Nadal trwają badania kliniczne mające na celu ocenę ich przydatności w codziennej praktyce klinicznej.

Analiza profilu ekspresji genów w komórkach raka piersi za pomocą techniki mikromacierzy z komplementarnym cDNA stała się podstawą do stworzenia molekularnej klasyfikacji raka piersi. Wyróżniła kilka podtypów raka o odmiennym profilu genetycznym takich, jak: luminalny A, luminalny B, basal-like (z komórek typu podstawnego) i z ekspresją receptora HER2 [23]. Poszczególne podtypy raka charakteryzują się innymi cechami biologicznymi, inną wrażliwością na terapię systemową oraz rokowaniem. Ze względu na brak możliwości standardowego określania profilu genetycznego raka wprowadzono uproszczoną klasyfikację kliniczno-patomorfologiczną. Jest ona oparta na immunohistochemicznym oznaczeniu uznanych klasycznych czynników prognostycznych i predykcyjnych takich, jak stan receptorów steroidowych: estrogenowego (ER) i progesteronowego (PgR), nadekspresja receptorowego białka naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2) i/lub

amplifikacja genu *HER2* oraz wartość wskaźnika Ki67 (markera proliferacji komórkowej). W oparciu o tę klasyfikację wyróżniamy: podtyp luminalny A (dodatni ER i PgR, ujemny HER2, niski Ki67), luminalny B, a w nim HER2-ujemny (dodatni ER, ujemny lub mały PgR, ujemny HER2, wysoki Ki67) i HER2- dodatni (dodatni ER, dowolny PgR, dowolny Ki67, nadekspresja białka HER2 i/lub amplifikacja onkogenu HER2), HER2- dodatni Nieluminalny (nadekspresja białka HER2 i/lub amplifikacja onkogenu HER2, brak ER i PgR), potrójnie ujemny (brak ER i PgR, ujemny HER2). Tak zdefiniowane podtypy są najbardziej zbliżone do wyodrębnionych na podstawie analizy profili ekspresji genów. Jest to aktualnie obowiązujący podział zgodnie z zaleceniami konferencji z St. Gallen w 2013 roku) [18]. Najlepsze rokowanie jest w przypadku raków typu luminal-like (fenotypowo luminalny A, luminalny B). Charakteryzują się one niższym stopniem złośliwości, niższą dynamiką proliferacji, obecnością receptorów estrogenowych i/lub progesteronowych, brakiem lub rzadszą nadekspresją receptora HER2 (podtyp „luminalny B HER2-dodatni”), wrażliwością na leczenie hormonalne, niższym odsetkiem nawrotów choroby oraz tendencją do tworzenia przerzutów o określonej lokalizacji (kości, tkanki miękkie). Podtyp HER2- dodatni Nieluminalny i basal-like (tzw. „potrójnie ujemny”) mają gorsze rokowanie. Charakteryzuje je krótszy czas przeżycia wolny od nawrotu i krótszy całkowity czas przeżycia. Nadmierna ekspresja HER2 stanowi wskazanie do leczenia celowanego z użyciem przeciwciała monoklonalnego anty HER2 (trastuzumabu). Raki typu basal-like w około 80% wykazują fenotyp potrójnie receptorowo ujemny (brak ekspresji receptorów ER, PgR i HER2), są to tak zwane raki potrójnie ujemne (TNBC, ang. *triple negative breast cancer*). Obie nazwy często używane są zamiennie, choć nie są tożsame. Raki typu TNBC charakteryzują się słabym zróżnicowaniem, często występują u kobiet młodych i nosicielek mutacji *BRCA1*, częściej dają nawroty miejscowe oraz przerzuty do płuc i mózgu. Główną metodą leczenia chorych z rozpoznany rakiem potrójnie receptorowo ujemnym jest chemioterapia. Chore nie odnoszą korzyści z terapii hormonalnej i z leczenia trastuzumabem.

1.6 Leczenie

Leczenie raka piersi ma charakter skojarzony i w coraz większym stopniu indywidualizowany. Plan postępowania powinien być ustalony na podstawie klasyfikacji TNM, wyniku badania patomorfologicznego (w szczególności profilu

receptorowego) oraz preferencji chorej. Klasyfikacja TNM pozwala na wyodrębnienie dwóch podstawowych grup chorych. Do pierwszej kwalifikuje się chore, u których możliwe jest pierwotne radykalne leczenie chirurgiczne (rak w I i II stopniu klinicznego zaawansowania), a do drugiej chore, u których zabieg operacyjny powinien być poprzedzony terapią systemową (rak w III stopniu klinicznego zaawansowania i II w przypadku, gdy wielkość guza przekracza 3 cm, a planowany jest zabieg oszczędzający pierś).

1.6.1 Leczenie chirurgiczne

W ostatnich latach obserwuje się wyraźne zmiany w leczeniu chirurgicznym raka piersi. Coraz częściej odchodzi się od zabiegów szeroko okaleczających jak amputacja piersi i limfadenektomia pachowa na rzecz zabiegów oszczędzających pierś (BCT, ang. *breast conserving treatment*). Leczenie oszczędzające złożone jest z dwóch części: chirurgicznej obejmującej zabieg oszczędzający pierś i diagnostyczno-leczniczy węzłów chłonnych pachowych oraz radioterapii [24]. Wykonuje się lumpektomię lub kwadrantektomię, a w zakresie węzłów chłonnych biopsję węzła wartowniczego (SNB, ang. *sentinel node biopsy*) i/lub limfadenektomię pachową. Brak komórek raka w węzle wartowniczym pozwala na odstąpienie od limfadenektomii pachowej, a jest ona wykonywana w przypadku potwierdzenia ich obecności. W przypadku wczesnego raka piersi bez klinicznie stwierdzanych przerzutów do węzłów chłonnych (T1-2, N0) biopsja węzła wartowniczego jest postępowaniem standardowym. W sytuacji klinicznego podejrzenia lub potwierdzenia badaniem mikroskopowym przerzutów w pachowych węzłach chłonnych wykonuje się ich usunięcie.

1.6.2 Radioterapia

Radioterapia to jedna z podstawowych metod leczenia raka piersi. Stosowana jest zarówno w terapii radykalnej, jak i paliatywnym napromienianiu przerzutów odległych. Jest integralną częścią leczenia oszczędzającego pierś. W napromienianiu po BCT stosuje się dawkę 50 Gy, w klasycznej frakcjonacji, na całą pierś oraz dodatkową dawkę (tak zwany boost) 10–15 Gy na łożę po usuniętym guzie, zazwyczaj przy użyciu wiązki elektronów lub brachyterapii. Stosowane są także schematy pozwalające skrócić czas leczenia, na przykład 42,5 Gy w 17 frakcjach. Mają one równoważną skuteczność, a także zadowalający efekt kosmetyczny. Dzięki możliwości

zastosowania techniki modulacji intensywności wiązki dawkę dodatkową można podać równocześnie z napromienianiem całej piersi. Zastosowanie dodatkowej dawki na łożę po usuniętym guzie zmniejsza ryzyko nawrotu miejscowego o 40% [25]. W przypadku chorych po mastektomii radioterapia uzupełniająca wskazana jest, gdy guz miał średnicę powyżej 5 cm, naciekał skórę lub ścianę klatki piersiowej, a także wówczas, gdy stwierdzono „dodatnie” marginesy chirurgiczne i przerzuty w więcej niż trzech węzłach chłonnych. Obszarem napromieniania objęta jest okolica ściany klatki piersiowej do dawki 50 Gy (jeśli w linii cięcia obecny był naciek, należy podać dodatkową dawkę na ten obszar) oraz przyśrodkowa część okolicy nadobojczykowej w przypadku przerzutów do węzłów chłonnych pachy. Coraz częściej odchodzi się od rutynowej radioterapii dołu pachowego ze względu na małe prawdopodobieństwo nawrotu choroby w tym obszarze, a duże ryzyko powikłań pod postacią obrzęku limfatycznego ramienia po skojarzonym leczeniu operacyjnym z napromienianiem. Zalecana jest ona w przypadku wysokiego ryzyka nawrotu na przykład licznych przerzutów w węzłach lub masywnego przejścia nacieku przez torebkę węzła [26].

1.6.3 Leczenie systemowe

Terapia systemowa jako element skojarzonego leczenia raka piersi jest stosowana we wszystkich stopniach klinicznego zawiązania choroby. Obejmuje ona chemioterapię, hormonoterapię, i terapię ukierunkowaną molekularnie. Tradycyjnie leczenie systemowe jest zalecane chorym po pierwotnym leczeniu chirurgicznym. Zastosowanie terapii systemowej znacznie poprawiło skuteczność leczenia poprzez zmniejszenie ryzyka nawrotu choroby i zgonu z powodu raka piersi. Niezależnie od stanu węzłów chłonnych, wieku chorej, stosowanej chemioterapii, hormonoterapia uzupełniająca (tamoksyfen) zmniejsza to ryzyko odpowiednio o 47% i 29% [27]. Chemioterapia pooperacyjna oparta o antracykliny dodatkowo zmniejsza o 8% bezwzględne ryzyko nawrotu, a bezwzględne ryzyko zgonu o 5% [28]. Zastosowanie leczenia ukierunkowanego molekularnie anty HER2 w ramach terapii uzupełniającej u chorych na HER2 dodatniego raka piersi istotnie obniża ryzyko nawrotu choroby o około 34–52%, a ryzyko zgonu o około 33–41% [22].

1.6.3.1 Przedoperacyjne leczenie systemowe

W latach siedemdziesiątych dwudziestego wieku wprowadzono leczenie cytostatykami przed zabiegiem operacyjnym. Zastosowano je u chorych ze znacznym zaawansowaniem miejscowym choroby, u których niemożliwe było przeprowadzenie pierwotnego radykalnego leczenia chirurgicznego (przede wszystkim z powodu dużych wymiarów guza). Po leczeniu operacyjnym kontynuowano chemioterapię. Uzyskano bardzo wyraźną poprawę odległych wyników leczenia. Odsetek pięcioletnich przeżyć dochodził do 40% [29]. Od tego czasu chemioterapia przedoperacyjna stała się standardem w terapii miejscowo zaawansowanego raka piersi (III stopień kliniczny) i coraz częściej stosowana jest we wczesnej postaci choroby (I i II stopień kliniczny). Pierwotne leczenie systemowe ma niewątpliwie zalety zarówno w aspekcie klinicznym, jak i doświadczalnym. Prowadząc do zmniejszenia cech zaawansowania choroby (T, N) umożliwia w przypadkach pierwotnie nieoperacyjnych przeprowadzenie leczenia chirurgicznego. U wielu chorych stwarza możliwość wykonania zabiegów oszczędzających piersi. Zgodnie z danymi literaturowymi około 10–30% chorych, którzy byli pierwotnie kandydatami do mastektomii, może być leczonych z zachowaniem piersi [30, 31, 32].

Według aktualnych rekomendacji przy wyborze przedoperacyjnej farmakoterapii należy kierować się przede wszystkim przewidywaną wrażliwością komórek raka na leki oraz, w mniejszym stopniu, ryzykiem nawrotu związanym z zaawansowaniem choroby. Z tego względu, przed rozpoczęciem pierwotnego leczenia systemowego niezbędne jest ustalenie precyzyjnego rozpoznania histopatologicznego z określeniem typu histologicznego raka, stopnia złośliwości, ekspresji receptorów steroidowych (ER, PgR), stanu receptora HER2, ekspresji wskaźnika proliferacji Ki67. Należy też wykonać badania umożliwiające ocenę klinicznego zaawansowania choroby.

Skuteczność terapii neoadiuwantowej może być oceniana na podstawie odpowiedzi klinicznej, radiologicznej i histopatologicznej. Odpowiedź kliniczną na leczenie neoadiuwantowe obserwuje się u 60–90% chorych. Brak utkania nowotworu, po pierwotnym leczeniu systemowym, w materiale pooperacyjnym określany jest jak całkowita odpowiedź patologiczna (pCR). Obserwuje się ją u 3–30% chorych [33]. W 2011 roku opublikowano pracę, w której analizowano przydatność różnych metod oceny odpowiedzi guza na przedoperacyjne leczenie systemowe.

Autorzy pracy, w grupie 61 chorych poddanych przedoperacyjnemu leczeniu systemowemu (chemioterapii lub hormonoterapii), jedynie w 54% przypadków stwierdzili zgodność pomiędzy całkowitą eradykacją guza stwierdzoną w badaniu klinicznym lub radiologicznym a całkowitą remisją patologiczną (pCR) potwierdzoną badaniem mikroskopowym materiału pooperacyjnego [34]. Na podstawie wielu badań klinicznych stwierdzono, że uzyskanie całkowitej remisji raka potwierdzonej badaniem mikroskopowym materiału pooperacyjnego jest najważniejszym wykładnikiem dobrej odpowiedzi na leczenie i jest związane z lepszym rokowaniem. Chore, u których stwierdzono pCR mają dłuższy czas wolny od choroby (DFS) i całkowity czas przeżycia (OS) [33, 35–37]. Dlatego pCR jest często uważana za zastępczy wskaźnik rokowniczy. Pierwszym randomizowanym badaniem, w którym stwierdzono zależność między uzyskaniem całkowitej remisji patologicznej po przedoperacyjnej chemioterapii a poprawą wyników odległych było badanie NSABP B-18. Uczestniczyły w nim 1523 chore, które poddano chemioterapii według schematu AC. W 9% przypadków osiągnięto pCR. Tylko u chorych z pCR wykazano istotne statystycznie wydłużenie czasu wolnego od choroby (DFS) i wartość prognostyczną dla całkowitego czasu przeżycia (OS) [38]. Inne dwie publikacje Kuerera i współpracowników potwierdziły dobrą wartość prognostyczną pCR. Autorzy, stosując przedoperacyjnie chemioterapię według schematu FAC stwierdzili wyższe 5-letnie przeżycia u chorych z całkowitą remisją patologiczną (89%), w porównaniu z chorymi z chorobą przetrwałą (64%). Zwrócili także uwagę na większe znaczenie prognostyczne pCR, jeśli osiągnana jest ona nie tylko w guzie pierwotnym, ale także w pachowych węzłach chłonnych [39, 40]. W dotychczasowych badaniach nie było jednolitej definicji pCR. Całkowitą odpowiedź patologiczną definiowano jako brak resztkowego raka, po pierwotnym leczeniu systemowym, w materiale pooperacyjnym w piersi i regionalnych węzłach chłonnych lub tylko w piersi, niezależnie od pachowych węzłów chłonnych. Definicje pCR odnosiły się tylko do komponenty raka inwazyjnego lub także do raka *in situ* [30, 37, 41–46]. Metaanaliza 12 badań dotyczących neoadiuwantowej chemioterapii, w których uczestniczyło ponad 11 tysięcy chorych wykazała, że eradykacja raka z piersi i węzłów chłonnych ma mocniejszy związek z poprawą DFS i OS niż eradykacja tylko z piersi [36]. Metaanaliza 7 niemieckich randomizowanych badań pokazała małe, ale znaczące różnice w DFS i OS na korzyść chorych bez komponenty raka przedinwazyjnego w materiale pooperacyjnym po zastosowanej chemioterapii [35].

Wykazanie związku pomiędzy pCR po neoadiuwantowej terapii a dobrym rokowaniem skłoniło do prowadzenia intensywnych badań oceniających skuteczność różnych schematów leczenia i poszukiwania czynników predykcyjnych dla osiągnięcia całkowitej odpowiedzi patologicznej. Wykazały one, że skuteczność systemowego leczenia przedoperacyjnego mierzona odsetkiem uzyskiwanych całkowitych remisji patologicznych związana jest ze stanem receptorów steroidowych (ER, PgR), nadekspresją receptora HER-2, ekspresją antygenu proliferacyjnego Ki67, wielkością guza, stopniem histologicznej złośliwości, a także typem histologicznym raka. Chore z małymi guzami poniżej 5 cm osiągają częściej pCR niż chore z guzami przekraczającymi 5 cm [36, 39, 47]. Raki niskozróżnicowane, a więc o wysokim stopniu złośliwości histologicznej lepiej reagują na terapię przedoperacyjną [36, 39, 41, 48]. Z gorszą odpowiedzią na przedoperacyjną chemioterapię wiąże się typ zrazikowy raka piersi w porównaniu do raka przewodowego. Według różnych autorów częstość pCR w raku zrazikowym wynosi 2–7%, a w przypadku raka przewodowego 12–15% [36, 47, 49]. Wyższy odsetek osiągniętych całkowitych odpowiedzi patologicznych związany jest także z większą ekspresją antygenu proliferacyjnego Ki67, który okazał się niezależnym predykcyjnym i prognostycznym biomarkerem we wczesnym raku piersi. Pod wpływem stosowanej chemioterapii przedoperacyjnej, w komórkach wrażliwych na leczenie, dochodzi do zmniejszenia ekspresji antygenu Ki67. Poziom Ki67 określany w materiale pooperacyjnym identyfikuje grupy chorych o wysokim ryzyku nawrotu choroby [50, 51, 52]. Według badaczy włoskich obniżenie poziomu Ki67 po zastosowanej chemioterapii do mniej niż 20% komórek wiąże się z lepszą odpowiedzią zarówno w odniesieniu do czasu wolnego od choroby (DFS), jak i całkowitego czasu przeżycia (OS) [52]. Na podstawie wielu badań i analiz wykazano, że niezależnie od rodzaju stosowanej chemioterapii przedoperacyjnej, w przypadku raków z ekspresją receptorów hormonalnych (ER, PgR) całkowita remisja patologiczna stwierdzana jest rzadko. Brak receptorów steroidowych w guzie jest najsilniejszym czynnikiem predykcyjnym dla pCR. Według różnych autorów częstość osiągniętych pCR w przypadku guzów hormonozależnych wynosi 1,5–8%, a hormononiezależnych 14–28% [53–59]. Nadekspresja receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2) w komórkach raka piersi jest parametrem związanym z częstością uzyskiwanej całkowitej odpowiedzi patologicznej po zastosowanej terapii przedoperacyjnej. Chore z rakami HER2 pozytywnymi częściej osiągają pCR

w porównaniu do chorych z ekspresją receptorów steroidowych [60, 61]. Największy odsetek całkowitych odpowiedzi patologicznych dochodzący do 40% uzyskuje się po dołączeniu do leczenia przedoperacyjnego terapii ukierunkowanych molekularnie [43, 44, 62].

W wyniku prowadzonych badań oceniających częstość osiągniętych całkowitych odpowiedzi patologicznych pod wpływem różnych schematów chemioterapii stwierdzono, że dołączenie taksanów do leczenia przedoperacyjnego opartego o antracykliny prowadzi do dwukrotnego zwiększenia odsetka uzyskiwanych całkowitych remisji patologicznych, osiągając wartość 14–28%. Terapia jest najskuteczniejsza przy sekwencyjnym stosowaniu leków, szczególnie paklitakselu w rytmie jeden raz na tydzień [37, 41, 55, 63, 64]. Obecnie stosowanie taksanów po antracyklinach w ramach leczenia przedoperacyjnego jest postępowaniem standardowym, choć pojawiły się doniesienia, że odwrotna sekwencja może zwiększać skuteczność terapii [65, 66].

Skuteczność chemioterapii neoadiuwantowej, mierzona odsetkiem stwierdzanej całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) zmienia się w zależności od podtypów biologicznych raka piersi. Osiągnięcie pCR wiąże się z wydłużeniem całkowitego czasu przeżycia (OS) i czasu wolnego od choroby (DFS). W badaniach wykazano, że raki z ekspresją receptorów steroidowych, a więc o fenotypie luminalnym charakteryzują się znacznie ograniczoną wrażliwością na przedoperacyjną chemioterapię, a osiągnięcie pCR nie ma w ich przypadku znaczenia rokowniczego [36, 58, 67–69].

Raki o fenotypie potrójnie ujemnym (TNBC), a więc te których komórki nie wykazują ekspresji receptorów estrogenowych, progesteronowych i nadekspresji receptora HER2, osiągają najwyższe odsetki pCR po zastosowanej chemioterapii przedoperacyjnej. Pod wpływem leczenia opartego o antracykliny i taksany całkowita remisja patologiczna stwierdzana jest u 12–38% chorych [37, 70, 71]. Potrójnie ujemne raki piersi często związane są z obecnością zaburzeń w genach *BRCA*. Mutacje w genach *BRCA* stwierdzane są u ok. 10–15% chorych z rakami o fenotypie TNBC. U 80-90% nosicieli mutacji *BRCA1* rozpoznawany jest rak potrójnie receptorowo ujemny [72]. Supresorowe geny *BRCA1* kodują białka odpowiedzialne za naprawę uszkodzeń podwójnej nici DNA. Obecność mutacji w genie *BRCA1* prowadzi do zaburzenia jego funkcji naprawczych. Fakt ten spowodował powstanie koncepcji, że związki platyny powodujące wewnątrznicowe pęknięcia DNA powinny być

szczególnie przydatne w terapii chorych z mutacją *BRCA1*, prowadząc do większego odsetka osiągniętych pCR. Polscy badacze uzyskali znakomite wyniki po zastosowaniu w leczeniu przedoperacyjnym cisplatyny u nosicielek mutacji *BRCA1*. Całkowitą odpowiedź patologiczną stwierdzili w 83% i 61% przypadków [73, 74]. Wpływ dołączenia karboplatyny do przedoperacyjnej chemioterapii na częstość osiągniętych całkowitych odpowiedzi patologicznych w grupie chorych na raka potrójnie ujemnego prowadzili także badacze niemieccy. Wyniki badania GeparSixto pokazały, że dodanie karboplatyny do neoadiuwantowej chemioterapii znacząco podwyższa wartość pCR u chorych z TNBC w porównaniu do chorych leczonych bez udziału karboplatyny. Całkowitą odpowiedź patologiczną obserwowali odpowiednio w 58,7% przypadków i 37,9% [75]. Jeszcze lepsze wyniki uzyskanych pCR odnotowali u chorych na TNBC związanego z nosicielstwem mutacji *BRCA1* [76].

Nadekspresja receptora HER2 jest czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na leczenie przeciwciałem monoklonalnym, którego celem jest receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2. Dołączenie trastuzumabu do przedoperacyjnego leczenia chorych na HER2 zależnego raka piersi znacznie podniosło jego skuteczność. Częstość osiągniętych pCR wzrosła do blisko 40% [43, 44, 77]. Spektakularne wyniki osiągnięto w pierwszym badaniu z udziałem trastuzumabu w leczeniu przedoperacyjnym. Wartość pCR w grupie chorych leczonych cytostatykami z dołączonym trastuzumabem osiągnęła ponad 60% [78]. W kolejnych pracach poświęconych neoadiuwantowej terapii u chorych na HER2 dodatniego raka piersi potwierdzono korzystny wpływ leków ukierunkowanych molekularnie na wyniki prowadzonego leczenia. W badaniu NOAH stwierdzono podwojenie odsetka stwierdzanych pCR z 19% do 38% po dołączeniu do chemioterapii trastuzumabu [43]. Podobny rezultat osiągnięto w badaniu TECHNO [44]. Wyniki obu prac pokazały dobrą wartość prognostyczną pCR dla chorych z guzami HER2 dodatnimi. Chore, które osiągnęły pCR mają znacznie lepszy całkowity czas przeżycia (OS) i czas wolny od choroby (DFS) w porównaniu do grupy bez pCR [44, 79]. Dane te zostały potwierdzone w dużej metaanalizie oceniającej wyniki 12 badań poświęconych chemioterapii przedoperacyjnej [36]. Badania kliniczne oceniające nowe terapie celowane (lapatynib, pertuzumab) pokazały, że podwójna blokada receptora HER2 w połączeniu z chemioterapią prowadzi do osiągnięcia znacznie wyższego odsetka całkowitych odpowiedzi patologicznych [62, 80]. Pertuzumab jest przeciwciałem

monoklonalnym zapobiegającym tworzeniu heterodimerów receptorów HER2 z receptorami HER1 lub HER3, co powoduje zahamowanie przekazywania sygnału do wnętrza komórki [81]. W badaniu NeoSphere najwyższy poziom pCR (45,8%) osiągnięto wśród chorych poddanych chemioterapii z dołączonym trastuzumabem i pertuzumabem. Stosunkowo duży odsetek pCR (17%) stwierdzono u chorych otrzymujących w leczeniu przedoperacyjnym samą immunoterapię pod postacią podwójnej blokady receptora HER2 (trastuzumab i pertuzumab). Sugeruje to, że część nowotworów HER2 dodatnich można wyeliminować bez stosowania chemioterapii. Jest to istotne spostrzeżenie szczególnie w odniesieniu do chorych HER2 pozytywnych, którzy mają przeciwwskazania do leczenia cytostatykami [62].

Dla chorych po menopauzie z dodatnim statusem receptorów ER i PgR hormonoterapia indukcyjna jest alternatywą dla chemioterapii. Zarówno tamoksyfen (selektywny modulator receptora estrogenowego) jak i inhibitory aromatazy są aktywnymi lekami w tej grupie chorych we wstępnym leczeniu. Inhibitory aromatazy rekomendowane są w leczeniu neoadiuwantowym ze względu na osiągnięty znacząco wyższy odsetek obiektywnych odpowiedzi i poprawę resekcyjności, w tym zwiększenie odsetka operacji z zaoszczędzeniem piersi w porównaniu z tamoksyfenem [82, 83].

Wrażliwość komórek raka na stosowane leki jest podstawowym warunkiem ich zniszczenia a tym samym skuteczności leczenia. Niewątpliwie jedną z ważnych korzyści wynikających z przedoperacyjnej terapii systemowej jest możliwość uzyskania informacji o wrażliwości nowotworu na prowadzone leczenie, a także poszerzenie wiedzy o sposobach leczenia chorych na raka piersi. Wrażliwość guza na chemioterapię przedoperacyjną oceniana jest w badaniu mikroskopowym. Może się ona wahać od minimalnej do całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR). Chore z pCR mają dłuższy czas wolny od choroby (DFS) i dłuższy całkowity czas przeżycia (OS). Wykazanie takiego związku spowodowało, że całkowita odpowiedź patologiczna jest uznawana za dobry marker zastępczy długoterminowej odpowiedzi na leczenie i stała się głównym punktem końcowym wielu badań klinicznych oceniających skuteczność nowych leków w raku piersi.

2. CEL PRACY

Celem niniejszej pracy była ocena skuteczności przedoperacyjnej chemioterapii u chorych na raka piersi w analizie retrospektywnej, a w szczególności:

1. Poszukiwanie czynników wpływających na prawdopodobieństwo uzyskania całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) po zastosowanym leczeniu przedoperacyjnym.
2. Ocena wpływu całkowitej odpowiedzi patologicznej na długoterminową odpowiedź na leczenie.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1 Charakterystyka badanej grupy

Badaniem objęto grupę 308 kobiet z potwierdzonym histologicznie rakiem piersi w II i III stopniu klinicznego zaawansowania. Wszystkie chore leczone były w Klinice Onkologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 2000 – 2010. W pierwszym etapie poddane były leczeniu systemowemu w formie chemioterapii, po której przeprowadzono zabieg chirurgiczny.

Dane kliniczne pochodzą z historii chorób oddziałów chemioterapii, chirurgii, dokumentacji poradnianej Kliniki Onkologii oraz Krajowego Rejestru Nowotworów – Oddział Wielkopolski. Badania mikroskopowe i immunohistochemiczne wykonano w Zakładzie Patologii Nowotworów Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Ocenę obecności mutacji w genie *BRCA1*(5382insC, C61G, 4153delA) przeprowadzono w Międzynarodowym Centrum Nowotworów Dziedzicznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie i Centrum Genetyki Medycznej „Genesis” w Poznaniu.

W pracy poddano analizie następujące dane:

1. Wiek pacjentki, w którym rozpoznano raka.
2. BMI w chwili zachorowania.
3. Wielkość guza pierwotnego (T).
4. Typ histologiczny raka.
5. Stopień histologicznej złośliwości (G) wg klasyfikacji Blooma i Richardsona w modyfikacji Elstona i Ellisa.
6. Stan receptorów dla estrogenów (ER), progesteronu (PgR), stan receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu typu drugiego (HER2).
7. Obecność lub brak mutacji w genie *BRCA1*.
8. Rodzaj stosowanej chemioterapii przedoperacyjnej.

Analizę przeprowadzono w oparciu o dostępne wyniki badań. Nie wykonywano dodatkowych oznaczeń. W dwóch przypadkach nie były dostępne dane o typie histologicznym raka, a w jednym o stopniu złośliwości histologicznej raka. Badania w kierunku obecności obecność mutacji w genie *BRCA1* przeprowadzono u 166 chorych.

Charakterystykę badanej grupy przedstawiono w tabeli nr I.

Tabela I. Cechy kliniczno-histopatologiczne badanej grupy

Cecha	Liczba chorych (%)
Wiek	N= 308
średnia (zakres)	50,8 (28,2 – 82,6)
wiek ≤ 50 lat	152 (49,4%)
średnia	42,6 (28,2 – 49,9)
wiek > 50 lat	156 (50,6%)
średnia	58,3 (50,5 – 82,6)
Indeks masy ciała (BMI)	N=308
BMI-norma	138 (44,8%)
BMI-nadwaga	95 (30,8%)
BMI-otyłość	75 (24,4%)
Typ histologiczny	N=306
inwazyjny rak przewodowy	278 (90,8%)
inwazyjny rak zrazikowy	21 (6,9%)
inny	7 (2,3%)
Stopień złośliwości histologicznej	N=307
G1	23 (7,5%)
G2	104 (33,9%)
G3	62 (20,2%)
Gx	118 (38,4%)
Wielkość guza	N=308
T1	9 (2,9%)
T2	123 (40%)
T3	110 (35,7%)
T4	66 (21,4%)

Ekspresja receptorów steroidowych (ER, PgR)	N=308
ER(+)	172 (55,8%)
ER(-)	136 (44,2%)
PgR(+)	156 (50,6%)
PgR(-)	152 (49,4%)
Nadekspresja receptora HER-2	N=308
HER-2(+)	82 (26,6%)
HER-2(-)	226 (73,4%)
Obecność mutacji <i>BRCA1</i>	N=166
<i>BRCA1</i> (+)	7 (4,2%)
<i>BRCA1</i> (-)	159 (95,8%)

Średni wiek chorych wynosił 50,8 lat. W 278 przypadkach (90,8%) rozpoznano raka przewodowego. U 132 chorych (42,9%) stwierdzono guzy o wielkości do 5 cm. W 104 przypadkach (33,9%) stwierdzono guzy w drugim stopniu złośliwości histologicznej. Ekspresję receptorów estrogenowych stwierdzono u 172 chorych (55,8%), a progesteronowych u 156 (50,6%). Nadekspresję receptora HER2 wykazano u 82 chorych (26,6%) w grupie 308 ocenianych chorych. Obecność mutacji w genie *BRCA1* stwierdzono u 7 (4,2%) ze 166 chorych.

Ze względu na rodzaj stosowanego leczenia przedoperacyjnego spośród 308 chorych wyodrębniono pięć grup przedstawionych w tabeli nr II. Dominowała terapia w oparciu o antracykliny, którą zastosowano u 211 (68,5%) chorych. W przypadku 6 chorych z nadekspresją receptora HER2 w leczeniu przedoperacyjnym zastosowano trastuzumab.

Tabela II. Rodzaj stosowanej terapii przedoperacyjnej

Terapia przedoperacyjna	Liczba (%) N= 308
Antracykliny (AC, EC, FAC, FEC)	211 (68,5%)
Taksany (AT, TAC, TEC)	71 (23,1%)
CMF	19 (6,2%)
Trastuzumab	6 (1,9%)
Inne	1 (0,3%)

AC-(doksorubicyna, cyklofosfamid); **EC**-(epirubicyna, cyklofosfamid); **FAC**- (fluorouracil, doksorubicyna, cyklofosfamid); **FEC**- (fluorouracil, epirubicyna, cyklofosfamid); **CMF**-(cyklofosfamid, metotreksat, fluorouracil); **AT**-(doksorubicyna, docetaksel); **TAC** (docetaksel, doksorubicyna, cyklofosfamid); **TEC** (docetaksel, doksorubicyna, cyklofosfamid).

Na podstawie danych o ekspresji receptorów ER, PgR, HER2 wyodrębniono cztery podtypy immunofenotypowe przedstawione w tabeli nr III.

Tabela III. Immunofenotypy

Immunofenotypy (IF)	Liczba chorych (%) N=308
IF1: ER+, PgR+, HER2-	136 (44,2%)
IF2: ER+, PgR+/-, HER2+/-	36 (11,7%)
IF3: ER-, PgR-, HER2+	46 (14,9%)
IF4: ER-, PgR-, HER2-	90 (29,2%)

Przeżycia całkowite (OS) oceniane były jako liczba dni od momentu rozpoznania do daty zgonu lub do daty ostatniego kontaktu. Przeżycia wolne od choroby (DFS) były oceniane jako liczba dni od rozpoznania choroby do daty nawrotu lub ostatniego kontaktu.

3.2. Mikroskopowa ocena materiału i kryteria oceny reakcji immunohistochemicznych

Stopień histologicznej złośliwości oceniano wg klasyfikacji Blooma i Richardsona w modyfikacji Elstona i Ellisa.

Wielkość guza pierwotnego oceniano zgodnie z klasyfikacją TNM.

W celu wykrycia receptorów dla estrogenu i progesteronu stosowano metody immunohistochemiczne (IHC) z użyciem monoklonalnych przeciwciał mysich firmy DAKO przeciw:

- ludzkiemu receptorowi alfa dla estrogenu (Klon 1D5; rozcieńczenie 1:50)
- ludzkiemu receptorowi dla progesteronu (Klon PgR 636; rozcieńczenie 1:100)
- kompleksu EnVision TM+/HRP Mouse, Code K 4001.

Do oznaczenia receptora HER2 wykorzystywano zestaw DAKO HercepTest.

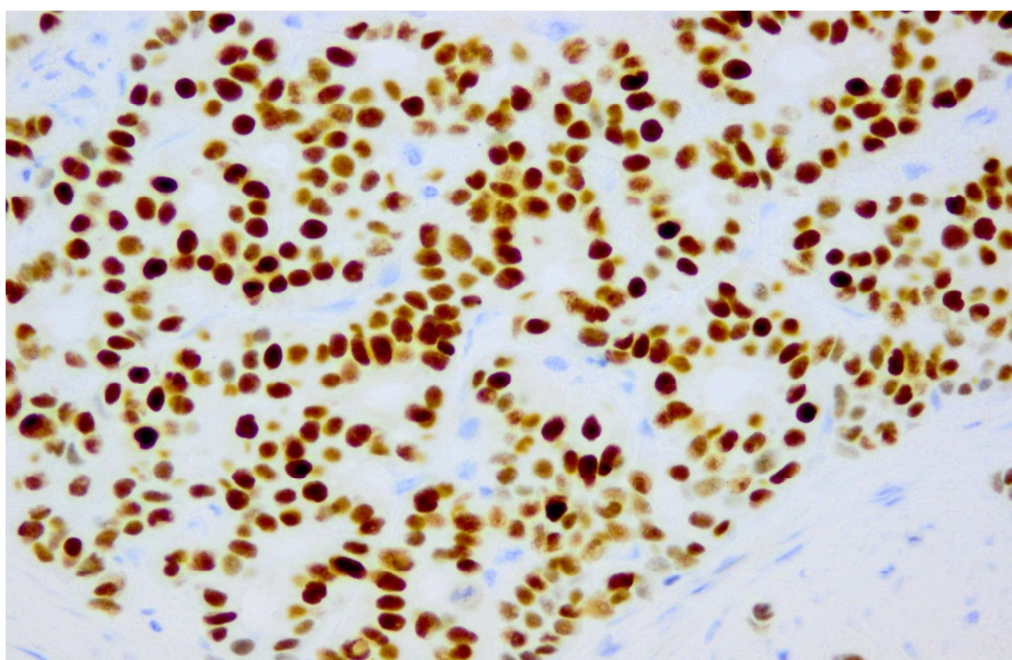
Metodykę przeprowadzonych badań przedstawiono w załączniku nr 1.

Kryteria oceny reakcji immunohistochemicznych

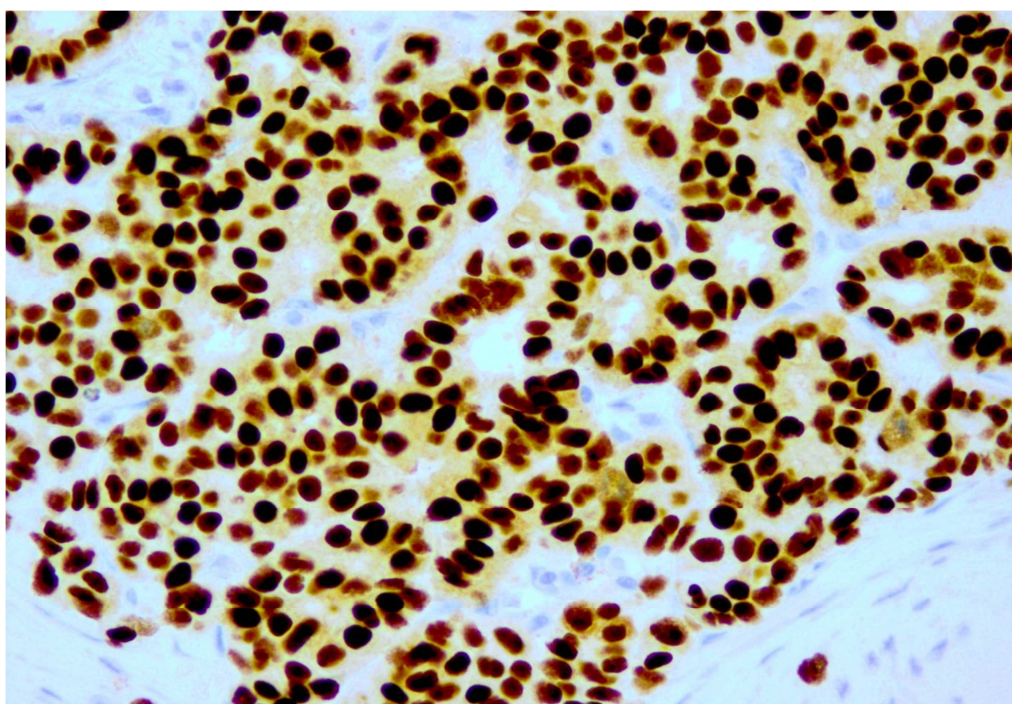
Ekspresję receptorów steroidowych ER i PgR oceniano w jądrach komórek nowotworowych na podstawie reakcji barwnej. Wyniki określano jako:

- ujemny (-), jeśli nie zaobserwowano zabarwienia.
- dodatni (+), jeśli reakcja barwna wystąpiła w mniej niż 10% komórek,
- silnie dodatni (++) , jeśli reakcja barwna wystąpiła w 10–75% komórek,
- bardzo silnie dodatnia (+++), jeśli reakcja barwna wystąpiła w ponad 75% komórek,

W przedstawionej pracy raki z reakcją barwną ocenianą na +, ++, +++ uznano za zawierające receptor.



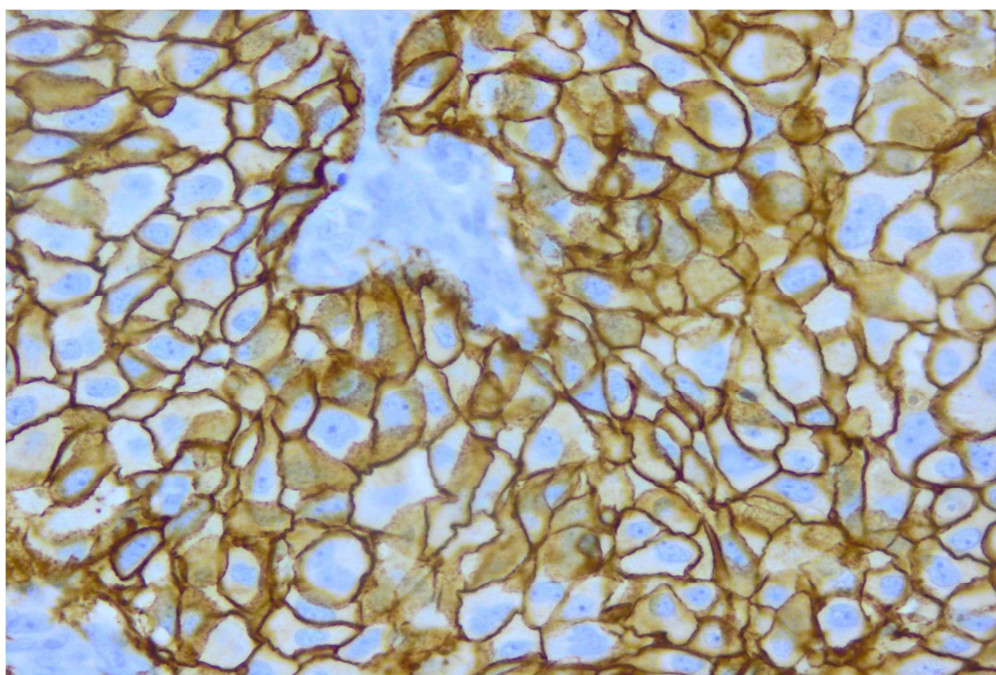
Ryc.1. ER – dodatnia ekspresja jądrowa — powiększenie 400 x.



Ryc. 2. PgR – dodatnia ekspresja jądrowa — powiększenie 400 x.

Ekspresję receptora HER2 oceniano metodą IHC w błonie komórkowej raka inwazyjnego. Stosowano obowiązującą czterostopniową skalę, w której: 0 oznacza brak reakcji barwnej, 1+ — słaba reakcja barwna w części błony komórkowej, zauważalna w więcej niż 10% komórek nowotworowych, 2+ — słaba do średniej reakcja barwna całej błony komórkowej, widoczna w ponad 10% komórek, 3+ — silna reakcja barwna całej błony komórkowej obecna w ponad 10% komórek komponentu inwazyjnego.

Wynik negatywny badania IHC to zabarwienie oceniane jako 0 i 1+. Za wynik pozytywny uznawano zabarwienie oceniane jako 3+. Reakcję barwną ocenianą na 2+ uznawano za niejednoznaczną i w takim przypadku wykonywano ocenę amplifikacji genu *HER2* metodą FISH. Wynik uznawano jako dodatni, jeżeli stosunek liczby kopii genu *HER2* do liczby kopii chromosomu 17 wynosił powyżej 2,2.



Ryc. 3. HER2 – dodatni odczyn błonowy (3+) — powiększenie 400 x.

Całkowitą odpowiedź patologiczną (pCR) definiowano jako brak komponentu raka inwazyjnego i przedinwazyjnego, po pierwotnej chemioterapii, w materiale pooperacyjnym piersi.

3.3 Analiza statystyczna

Dane ilościowe prezentowano jako średnią wraz z zakresem wartości ekstremalnych, dane jakościowe jako liczbę (%) obserwowanych wartości.

Różnice przeżywalności pacjentek dla dwóch lub więcej prób analizowano metodą Kaplana–Meiera, a ich istotność oceniano testem log-rank.

Wpływ ocenianych czynników na prawdopodobieństwo przeżycia i progresji badano za pomocą modelu proporcjonalnego hazardu Coxa i hazardu względnego wraz z 95% przedziałami ufności.

Wartości $p < 0,05$ uznawano za statystycznie istotne.

W obliczeniach statystycznych wykorzystano program STATISTICA, StatSoft, Inc. (2011) STATISTICA (data analysis software system), version 10. [www. Statsoft. com.](http://www.Statsoft.com), licencja JGNP410B31663AR-J.

4. WYNIKI

4.1. Częstość całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) w funkcji wybranych parametrów

W badanej grupie chorych oceniono odsetki całkowitych odpowiedzi patologicznych w funkcji parametrów kliniczno-histopatologicznych, stosowanej terapii i grupy immunofenotypowej (tabele IV, V, VI).

Tabela IV. Częstość pCR w funkcji parametrów kliniczno-histopatologicznych

Cecha	pCR	
	Liczba	%
Typ histologiczny		
inwazyjny rak przewodowy (n=278)	26	9,4
inwazyjny rak zrazikowy (n=21)	1	4,8
inny (n=7)	2	28,6
Stopień złośliwości histologicznej		
G1 (n=23)	0	
G2 (n=104)	2	2
G3 (n=62)	9	14,5
Gx (n=118)	17	14,4
Wielkość guza		
T1 (n=9)	3	33,3
T2 (n=123)	19	15,4
T3 (n=110)	2	1,8
T4 (n=66)	5	7,6
Ekspresja receptorów steroidowych (ER, PgR)		
ER(+) (n=172)	7	4,1
ER(-) (n=136)	22	16,2
PgR(+) (n=156)	6	3,8
PgR(-) (n=152)	23	15,1

Nadekspresja receptora HER-2		
HER-2(+) (n=82)	6	7,3
HER-2(-) (n=226)	23	10,2
Obecność mutacji <i>BRCA1</i>		
<i>BRCA1</i> (+) (n=7)	3	42,9
<i>BRCA1</i> (-) (n=159)	15	9,4

W całej 308 osobowej grupie chorych całkowitą odpowiedź patologiczną stwierdzono w 29 przypadkach (9,4%). Lepiej na leczenie przedoperacyjne odpowiadały chore z rozpoznaniem inwazyjnego raka przewodowego (pCR- 9,4%) w porównaniu z grupą chorych z rozpoznaniem inwazyjnego raka zrazikowego (pCR- 4,8%). Stwierdzono wyższe odsetki pCR u chorych z guzami o wysokim stopniu histologicznej złośliwości. Częstość pCR w przypadku cechy G3 wynosiła 14,5%. Odsetek całkowitych remisji patologicznych był znacznie wyższy w przypadku guzów do 5 cm (16,7%) w porównaniu z guzami większymi niż 5 cm, gdzie pCR stwierdzono w 4%. Całkowitą odpowiedź patologiczną osiągnięto w 16,2% przypadków guzów bez ekspresji receptora estrogenowego wobec 4,1% przypadków guzów z dodatnim statusem receptora estrogenowego. Wśród 82 chorych z nadekspresją receptora HER-2 częstość pCR wynosiła 4,2%. U 6 chorych z guzami HER-2 dodatnimi zastosowano leczenie przedoperacyjne z udziałem trastuzumabu, osiągając pCR w 3 przypadkach (50%). W przebadanej grupie 166 chorych w kierunku nosicielstwa mutacji *BRCA1* obecność tejże stwierdzono w 7 przypadkach (4,2%). Całkowitą odpowiedź patologiczną uzyskały 3 chore (42,9%). Były to pacjentki o fenotypie potrójnie ujemnym. W pięcioletniej obserwacji nie wystąpił u nich nawrót choroby.

Tabela V. Częstość pCR w funkcji stosowanej terapii

Schemat	pCR	
	Liczba	%
Antarczykliny (AC, EC, FAC, FEC); (n=211)	21	10
Taksany (AT, TAC, TEC); (n=71)	4	5,6
CMF (n=19)	1	5,3
Trastuzumab (n=6)	3	50
Inne (n=1)	0	

AC-(doksorubicyna, cyklofosfamid); **EC**- (epirubicyna, cyklofosfamid); **FAC**- (fluorouracil, doksorubicyna, cyklofosfamid); **FEC**- (fluorouracil, epirubicyna, cyklofosfamid); **CMF**- (cyklofosfamid, metotreksat, fluorouracil) ; **AT**-(doksorubicyna, docetaksel); **TAC** (docetaksel, doksorubicyna, cyklofosfamid); **TEC** (docetaksel, epirubicyna, cyklofosfamid)

Tabela VI. Częstość pCR w funkcji immunofenotypu

IF	pCR	
	Liczba	%
IF1 (n=136)	4	2,9
IF2 (n=36)	3	8,3
IF3 (n=46)	3	6,5
IF4 (n=90)	19	21,1

IF1: ER+, PgR+, HER2-; **IF2**: ER+, PgR+/-, HER2+/-; **IF3**: ER-, PgR-, HER2+; **IF4**: ER-, PgR-, HER2-.

Analizując zależność uzyskania całkowitej odpowiedzi patologicznej od stanu receptorów hormonalnych i receptora HER-2, określono odsetki pCR w podtypach luminalnych (IF1+IF2), Nieluminalnych (IF3+IF4) oraz w grupie guzów innych niż potrójnie negatywnych (IF1+IF2+IF3). Wyniki przedstawiono w tabeli VII.

Tabela VII. Częstość pCR w funkcji immunofenotypu (luminalny, Nieluminalny)

IF	pCR	
	Liczba	%
IF1 + IF2 (n=172)	7	4,1
IF3 + IF4 (n=136)	22	16,2
IF1 + IF2 + IF3 (n=218)	10	4,6

IF1+IF2: immunofenotypy luminalne; **IF3+IF4**: immunofenotypy Nieluminalne z HER2 +/-; **IF1+IF2+IF3**: immunofenotypy inne niż potrójnie ujemne

4.2. Czynniki wpływające na uzyskanie całkowitej odpowiedzi patologicznej

Przeprowadzono jednoczynnikową analizę metodą regresji logistycznej celem określenia zależności między powyższymi parametrami a stopniem stwierdzonej odpowiedzi patologicznej. Istotny statystycznie wpływ na uzyskanie całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR), określonej jako brak komponentu inwazyjnego i nieinwazyjnego raka w guzie po zastosowanej terapii przedoperacyjnej, miały: stopień złośliwości histologicznej (G), ekspresja receptorów steroidowych (ER, PgR), klinicznie określona wielkość guza pierwotnego (T), przynależność do określonego immunofenotypu (IF). Dane przedstawiono w tabeli VIII. Wykazano, że w grupie badanej prawdopodobieństwo uzyskania pCR wzrastało wraz ze stopniem złośliwości histologicznej. Większy odsetek całkowitych odpowiedzi patologicznych odnotowano w grupie chorych z małymi guzami, które nie wykazywały ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych. Znacznie częściej pCR stwierdzono u chorych z podgrupy o immunofenotypie 4 (IF4: ER-, PgR-, HER2-). Nie wykazano istotnie statystycznego wpływu innych analizowanych czynników na uzyskanie całkowitej odpowiedzi patologicznej. W całej analizowanej grupie pCR stwierdzono u 9,4% chorych.

W analizie wieloczynnikowej znamienność statystyczną dla uzyskania pCR miały: wielkość guza pierwotnego, stopień złośliwości histologicznej i immunofenotyp, (tabela IX).

Tabela VIII. Analiza jednoczynnikowa zależności całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) od wybranych parametrów

Cecha	N	HR	95% CI	p
Wiek	308	1,01	(0,97 – 1,05)	0,632
BMI	308	1,2	(0,74 – 1,97)	0,459
Typ histologiczny	306	2,37	(0,44 – 12,71)	0,312
Stopień złośliwości histologicznej (G)	307	2,26	(1,36 – 3,75)	0,002
Wielkość guza (T)	308	0,45	(0,26 – 0,78)	0,005
Ekspresja receptorów steroidowych (ER)	308	0,23	(0,09 – 0,57)	0,001
Ekspresja receptorów steroidowych (PgR)	308	0,25	(0,09 – 0,64)	0,004
Obecność mutacji BRCA1	166	0,25	(0,04 – 1,40)	0,115
Nadekspresja receptora HER-2	308	1,44	(0,56 – 3,67)	0,45
Immunofenotyp	308	2,04	(1,42 – 2,93)	0,0001
Rodzaj terapii przedoperacyjnej	308	1,19	(0,73 – 1,94)	0,474

Tabela IX. Analiza wieloczynnikowa zależności całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) od wybranych parametrów

CECHA	N	HR	95% CI	p
Stopień złośliwości histologicznej (G)	307	1,86	(1,06 – 3,24)	0,030
Wielkość guza (T)	308	0,46	(0,26 – 0,82)	0,009
Immunofenotyp (IF)	308	3,18	(1,11 – 9,11)	0,031

4.3. Krzywe przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od całkowitej odpowiedzi patologicznej

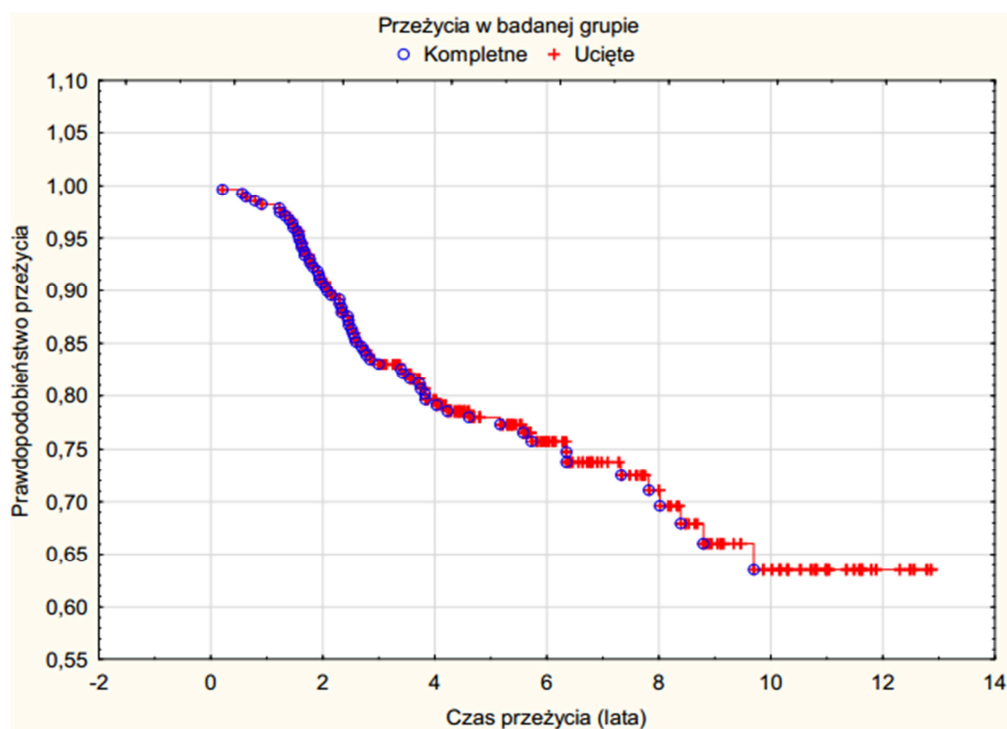
Mediana czasu obserwacji w analizowanej grupie wynosiła 4,4 roku (od 0,4 do 12,8). Dla chorych z pCR i bez pCR odpowiednio 4,7 roku (od 0,9 do 12,8) i 4,3 roku (od 0,4 do 12,8). Mediana czasu do progresji w grupie z pCR wynosiła 4,1 roku (od 2,4 do 8,9), a w grupie bez pCR 2,7 roku (0,4 do 12,8). W grupie chorych, która osiągnęła całkowitą odpowiedź patologiczną mediana całkowitego czasu przeżycia wynosiła 5,3 roku (od 2,0 do 12,8), a w grupie, która nie osiągnęła pCR 5,1 roku (od 1,2 do 12,8).

W czasie trwania obserwacji zmarło 65 chorych, w tym 2 ze stwierdzoną całkowitą remisją patologiczną po pierwotnym leczeniu systemowym. Były to chore z guzami o immunofenotypie 2 i 4 (IF2, IF4). Wśród chorych z pCR udział przeżyć trzyletnich wynosił 96,6%, pięcioletnich - 93,1%, a dziesięcioletnich- 93,1%. W grupie bez pCR przeżycia kształtowały się odpowiednio na poziomie: 84,6%, 81,4% i 77,4%. W analizowanym okresie czasu odnotowano 90 progresji choroby, z czego 4 u chorych z całkowitą odpowiedzią patologiczną. Były to chore z guzami o immunofenotypie 1,2 i 4 (IF1, IF2, IF4).

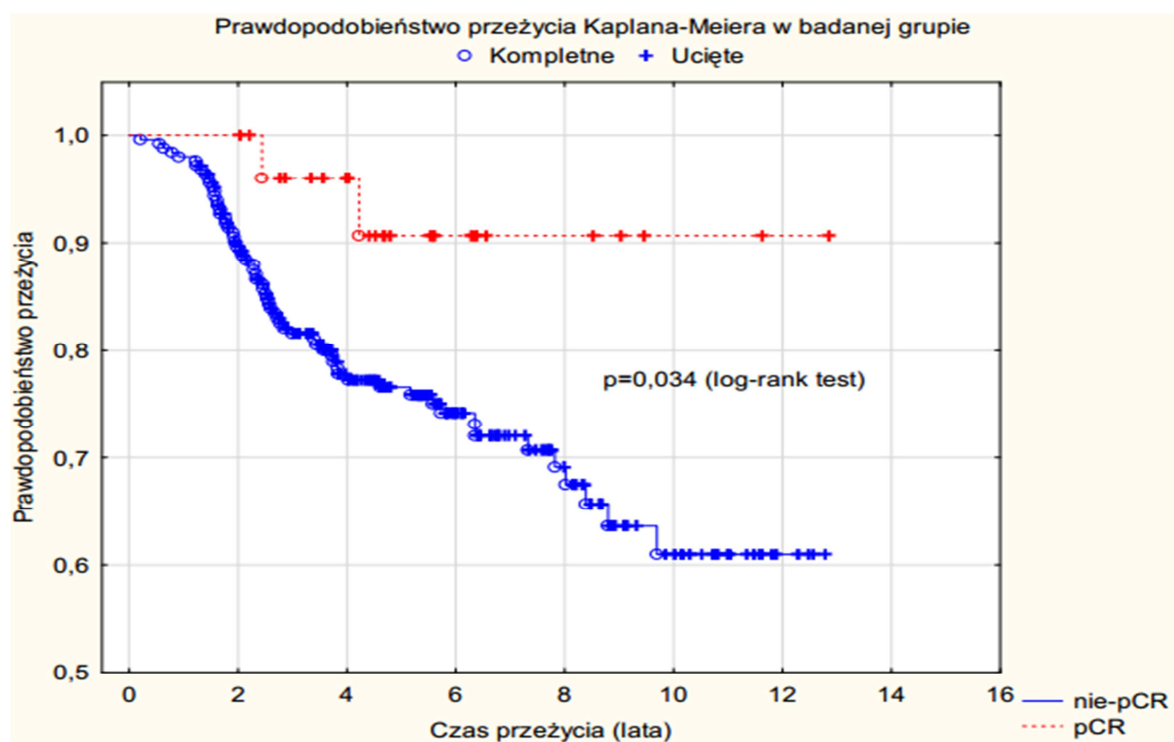
Na rycinach 4, 10 przedstawiono krzywe całkowitego przeżycia i przeżycia bez progresji choroby w badanej grupie.

Na rycinach 5–9 przedstawiono krzywe przeżycia Kaplana–Meiera w zależności od całkowitej odpowiedzi patologicznej.

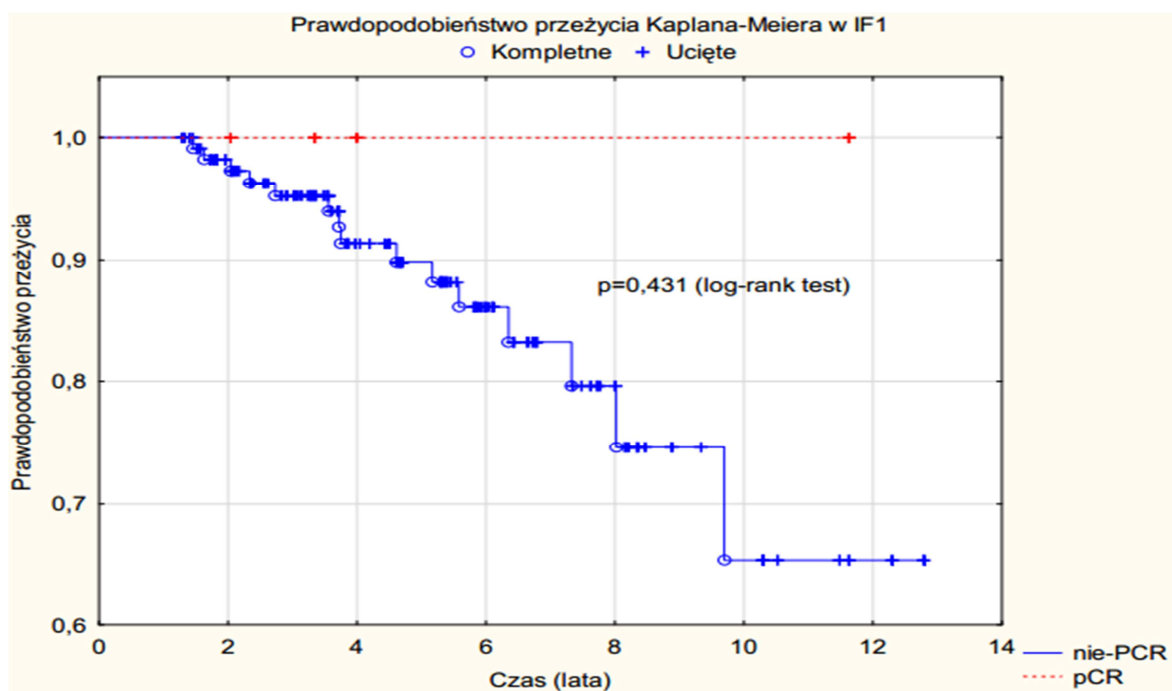
Na rycinach 11–15 przedstawiono krzywe przeżycia Kaplana–Meiera bez progresji choroby w zależności od całkowitej odpowiedzi patologicznej.



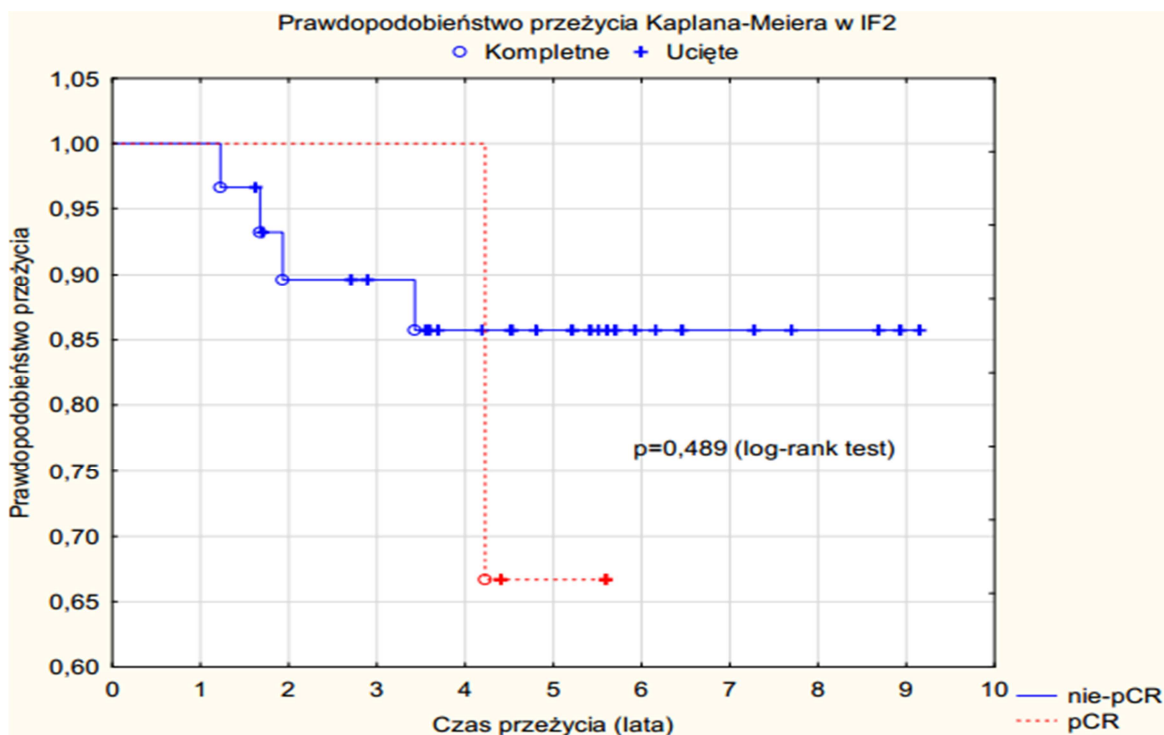
Rycina 4. Czas przeżycia całkowitego w badanej grupie.



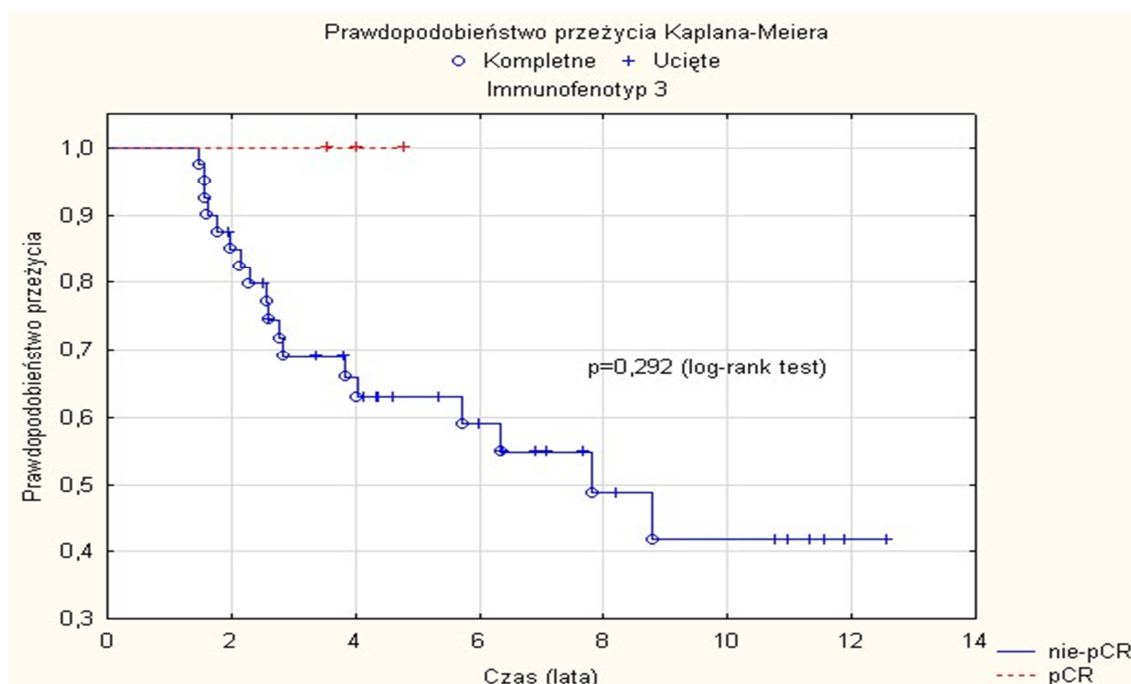
Rycina 5. Czas przeżycia całkowitego dwóch grup chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



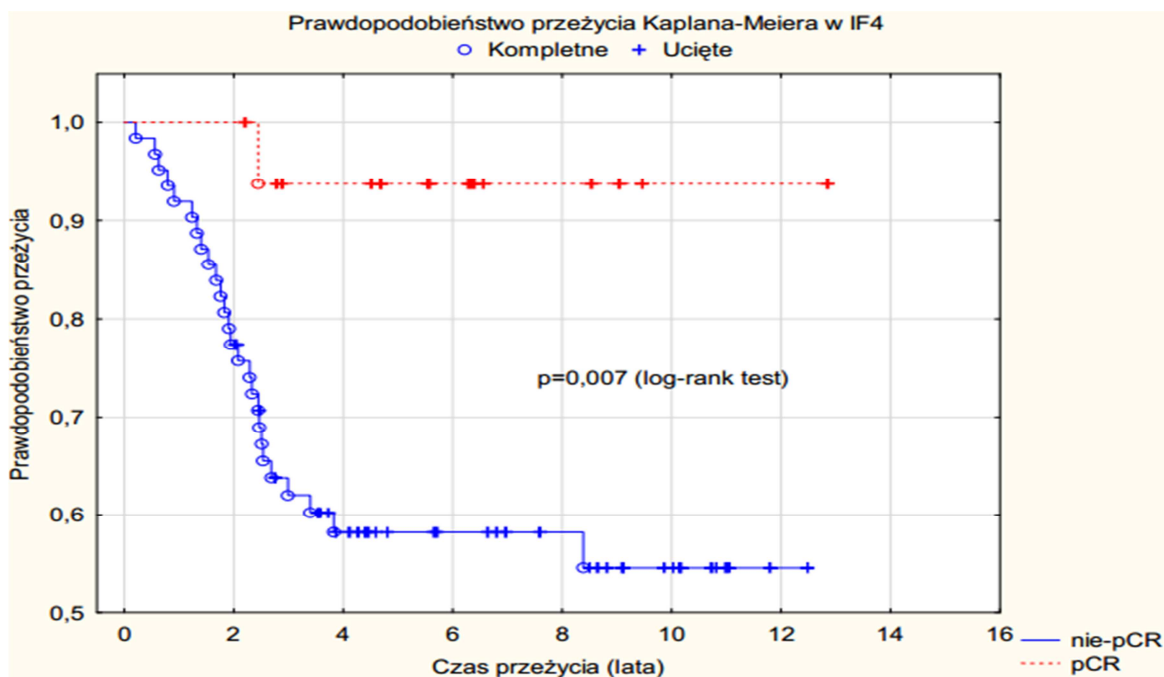
Rycina 6. Czas przeżycia całkowitego w podtypie immunofenotypowym 1 (IF1: ER+, PgR+, HER2-) podzielonym na dwie grupy chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



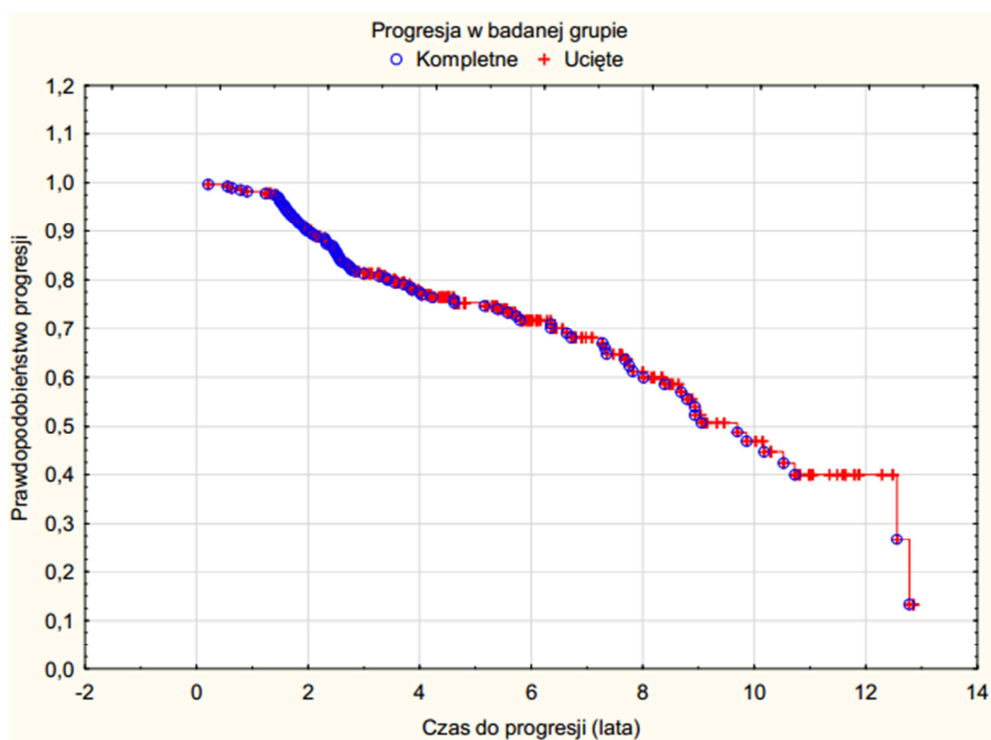
Rycina 7. Czas przeżycia całkowitego w podtypie immunofenotypowym 2 (IF2: ER+, PgR+/-, HER2+/-) podzielonym na dwie grupy chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



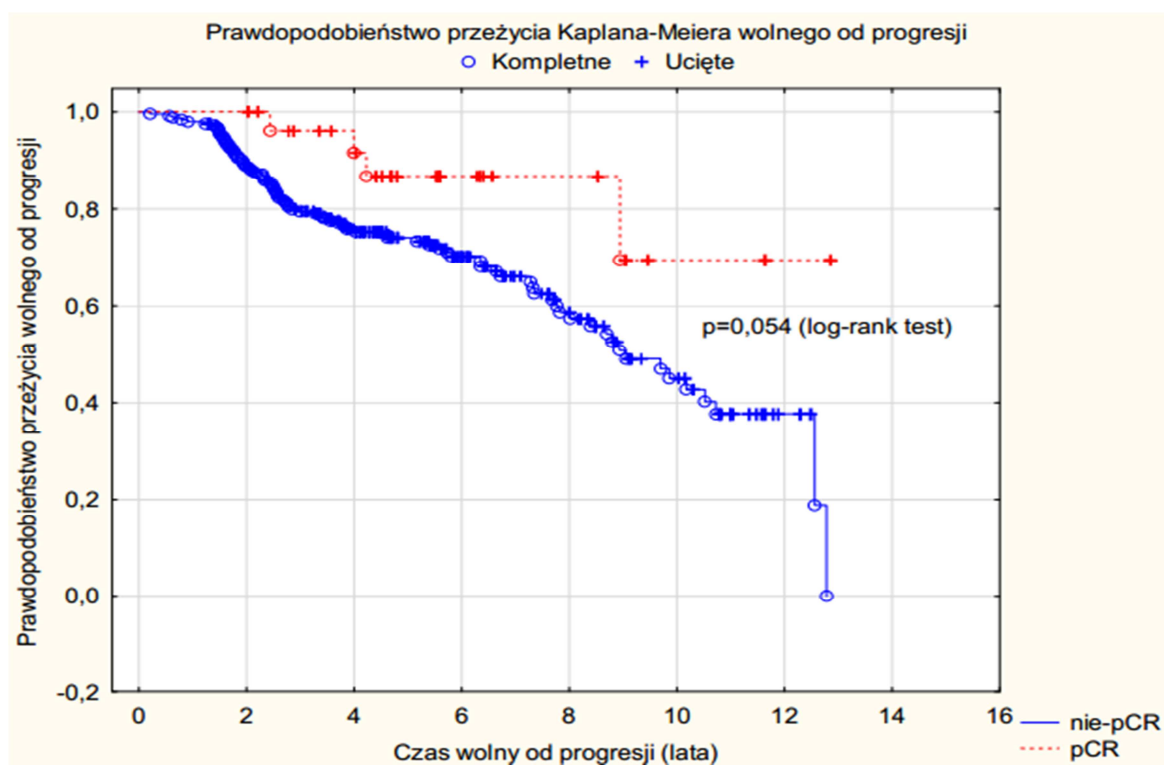
Rycina 8. Czas przeżycia całkowitego w podtypie immunofenotypowym 3 (**IF3**: ER-, PgR-, HER2+) podzielonym na dwie grupy chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



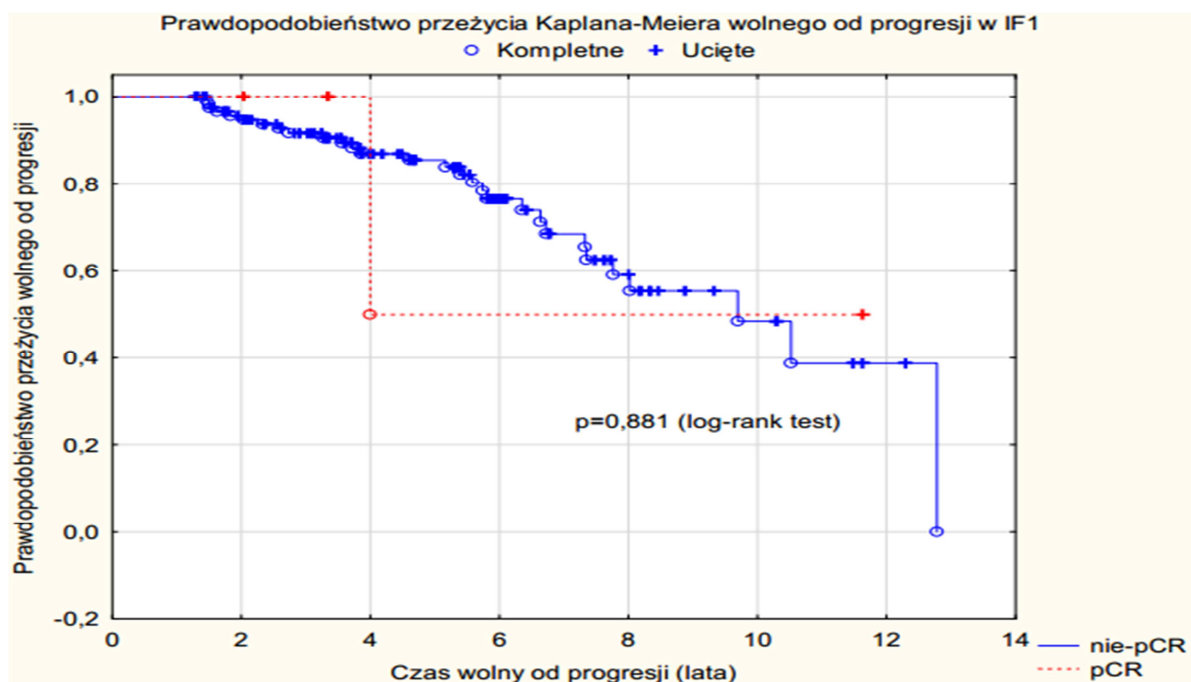
Rycina 9. Czas przeżycia całkowitego w podtypie immunofenotypowym 4 (**IF4**: ER-, PgR-, HER2-) podzielonym na dwie grupy chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



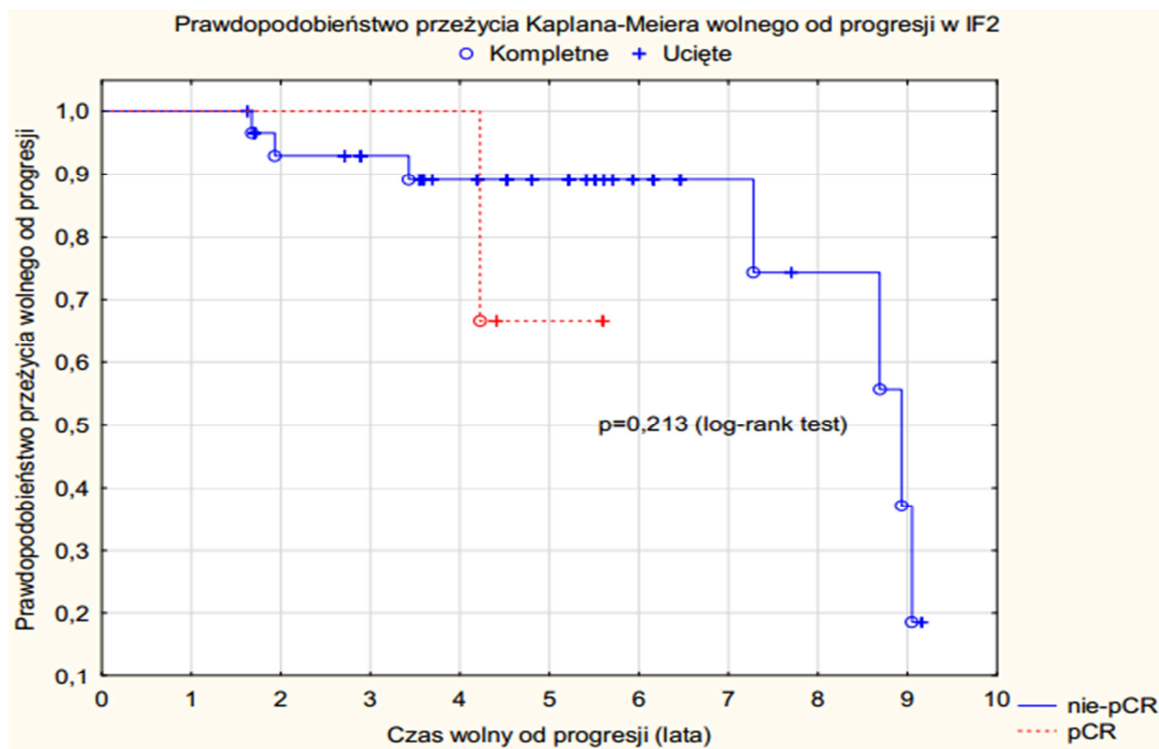
Rycina 10. Czas przeżycia bez progresji choroby w badanej grupie.



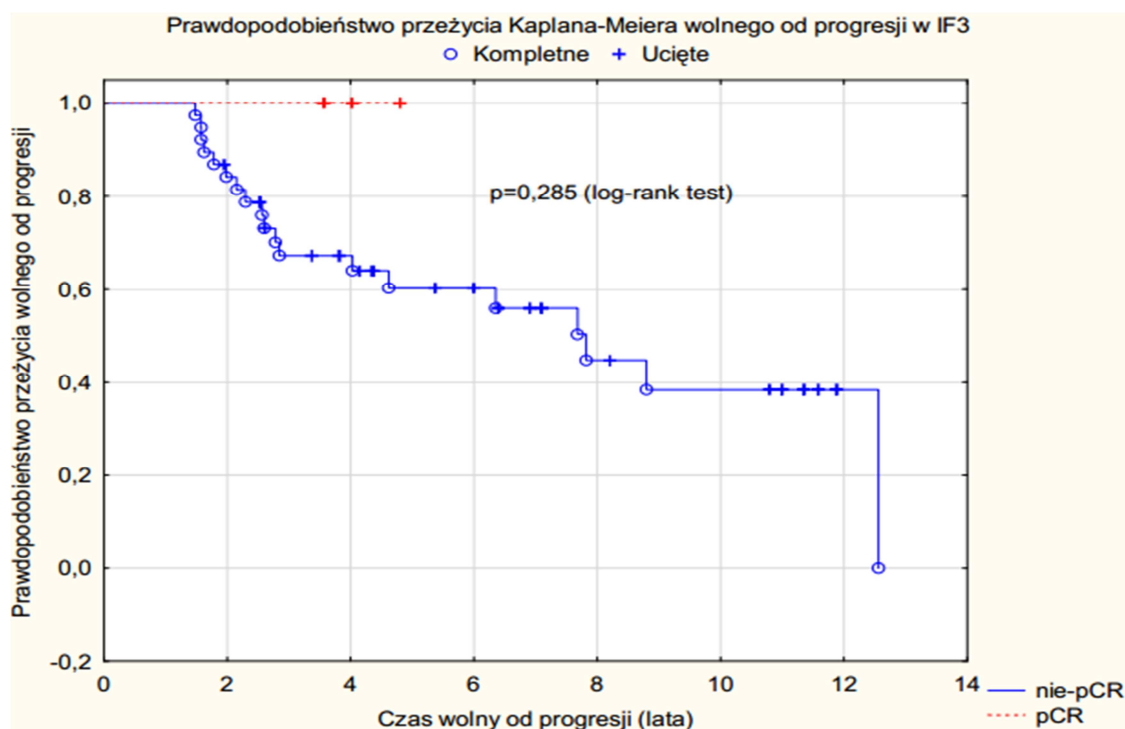
Rycina 11. Czas przeżycia bez progresji choroby dwóch grup chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



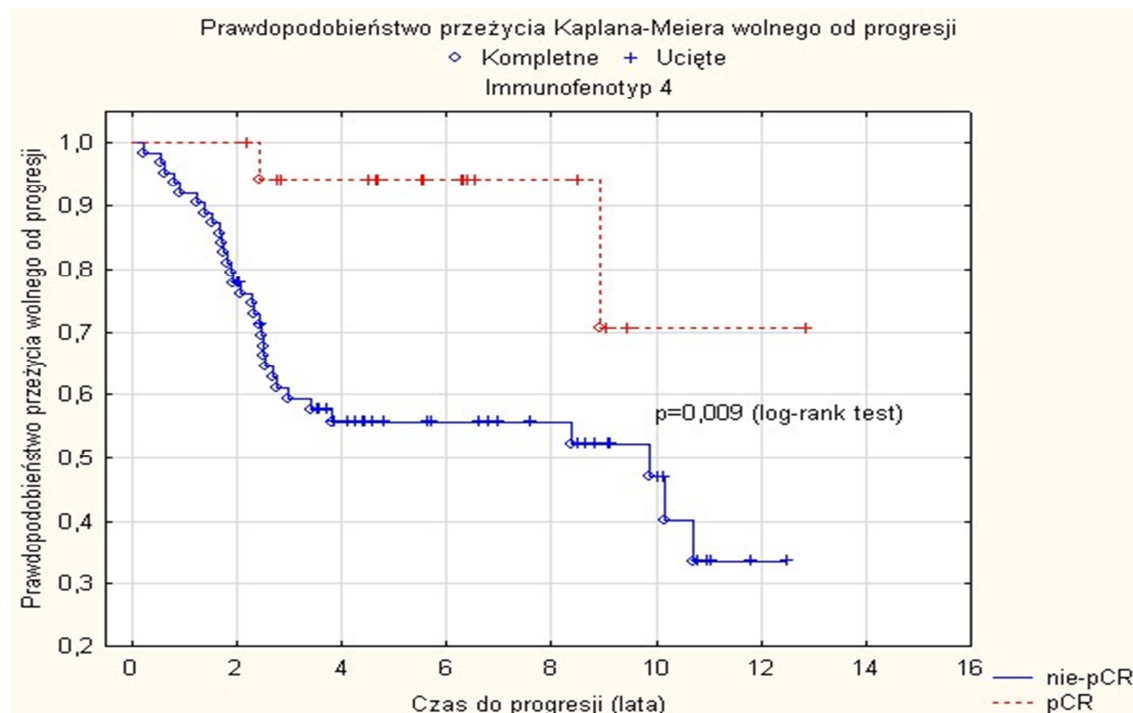
Rycina 12. Czas przeżycia bez progresji choroby w podtypie immunofenotypowym 1 (IF1: ER+, PgR+, HER2-) podzielonym na dwie grupy chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



Rycina 13. Czas przeżycia bez progresji choroby w podtypie immunofenotypowym 2 (IF2: ER+, PgR+/-, HER2+/-) podzielonym na dwie grupy chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



Rycina 14. Czas przeżycia bez progresji choroby w podtypie immunofenotypowym 3 (IF3: ER-, PgR-, HER2+) podzielonym na dwie grupy chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).



Rycina 15. Czas przeżycia bez progresji choroby w podtypie immunofenotypowym 4 (IF4: ER-, PgR-, HER2-) podzielonym na dwie grupy chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).

5. DYSKUSJA

Całkowita odpowiedź patologiczna (pCR) wykorzystywana jest jako obiektywny wskaźnik oceny skuteczności leczenia przedoperacyjnego. Osiągana jest ona u chorych w przedziale od 3–30% [33]. Powodem takich rozbieżności w odsetkach uzyskiwanych całkowitych odpowiedzi patologicznych są między innymi różnice w definicjach pCR stosowanych w publikowanych pracach (ypT0 ypN0, ypT0/is ypN0, ypT0/is ypN0/+, ypT \leq 1mic ypN0/+), różne schematy i sekwencje stosowanych leków, a także heterogenność kliniczno-fenotypowa chorych poddawanych leczeniu przedoperacyjnemu [35, 36].

W niniejszej pracy całkowitą odpowiedź patologiczną definiowano jako brak utkania raka inwazyjnego i przedinwazyjnego w piersi w materiale pooperacyjnym. W grupie 308 chorych pCR stwierdzono w 9,4% przypadków. Podobne wyniki podają autorzy publikowanych prac [30, 45, 41]. Stosunkowo niska wartość pCR w niniejszej pracy może wynikać z okresu czasu, jaki obejmuje analiza, w którym dostęp do stosowania taksanów w leczeniu przedoperacyjnym był bardzo ograniczony. Ponad 2/3 chorych otrzymywało leczenie oparte o antracykliny bez taksanów. W badanej grupie w 55,8% przypadków stwierdzono ekspresję receptora estrogenowego, którego obecność jest niekorzystnym czynnikiem uzyskania całkowitej remisji patologicznej [39, 53]. Fakt ten również może tłumaczyć stwierdzony, w niniejszej pracy, niski odsetek całkowitych odpowiedzi patologicznych.

W tabeli X przedstawiono przykłady badań oceniających skuteczność chemioterapii przedoperacyjnej:

Tabela X. Przykłady badań oceniających skuteczność chemioterapii przedoperacyjnej

Badanie	Rok	Schemat leczenia	Liczba chorych	pCR (%)	Kryteria pCR
NSABP B-18 Fisher [30]	1997	AC→ operacja operacja→ AC	1523	9%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
EORTC 10902 van der Hage [45]	2001	FEC→ operacja operacja→ FEC	698	4%	Brak utkania raka inwazyjnego i przedinwazyjnego w piersi i węzłach chłonnych
Aberden Heys [84]	2002	CVAP→ stab.→ T CVAP→regr.→ T CVAP→regr.→ CVAP	162	11% 34% 16%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi

NSABP B-27 Bear [55]	2003	AC AC→ T	2411	13,7% 26,1%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
AGO Untch [63]	2002	E→ P EP	475	18% 10%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
ECTO Gianni [42]	2005	AP→ CMF Op.→ AP→ CMF Op.→ A→ CMF	1355	20%	Brak utkania raka inwazyjnego i przedinwazyjnego w piersi i węzłach chłonnych
ACCOG Evans [46]	2005	AC AT	363	16% 12%	Brak utkania raka inwazyjnego i przedinwazyjnego w piersi i węzłach chłonnych
GEPARTRIO von Minckwitz [85]	2005	2TAC→ stab.→ TAC 2TAC→ stab.→ NX 2TAC→regr.→ 4TAC 2TAC→regr.→ 6TAC	2050	5,3% 6,0% 21% 23%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
GEPARDUO von Minckwitz [41]	2005	AT AC→ T	913	7,0% 14,3%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
MDACC –trial Green [64]	2005	Pq3→ FAC Pq1→ FAC	258	15,7% 28,2%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
SWOG0012 Ellis[55]	2006	AC→ Pq1 CTX+Aq1→ Pq1	265	17% 27%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
Liedtke [37]	2008	FAC/FEC/AC T+FAC/T+FEC T	70 124 17	20% 28% 12%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi i węzłach chłonnych

AC- (doksorubicyna, cyklofosamid); **FEC-** (fluorouracil, epirubicyna, cyklofosamid); **CVAP-** (cyklofosamid, winkrystyna, doksorubicyna, prednizon); **FEC-** (fluorouracil, epirubicyna, cyklofosamid); **T-** docetaksel; **E-** epirubicyna; **P-** paklitaksel; **AP-** (doksorubicyna, paklitaksel) **CMF-** (cyklofosamid, metotreksat, fluorouracil); **AT-** (doksorubicyna, docetaksel); **TAC** (docetaksel, doksorubicyna, cyklofosamid); **NX-** (winorelbina, kapecytabin); **Pq3-** paklitaksel w rytmie co 21 dni; **Pq1-** paklitaksel w rytmie co tydzień; **FAC-** (fluorouracil, doksorubicyna, cyklofosamid); **CTX-** cyklofosamid; **Aq1-** doksorubicyna w rytmie co tydzień.

W niniejszej pracy, obejmującej dane histo-kliniczne 308 chorych leczonych w latach 2000-2010 oceniano wpływ wybranych czynników na uzyskanie całkowitej odpowiedzi patologicznej po zastosowanej terapii przedoperacyjnej. W analizie jednoczynnikowej parametrami istotnie wpływającymi na osiągnięcie pCR okazały się: stopień złośliwości histologicznej (G), wielkość guza pierwotnego (T), ekspresja receptorów hormonalnych (estrogenowego-ER i progesteronowego-PgR) oraz immunofenotyp raka. W analizie wieloczynnikowej stopień złośliwości histologicznej, wielkość guza pierwotnego i immunofenotyp były istotne statystycznie dla uzyskania pCR.

W pracy oceniono wpływ typu histologicznego raka na stopień odpowiedzi patologicznej. W badaniu dominowały chore z rozpoznaniem inwazyjnego raka przewodowego. Stwierdzono go w 90,8% przypadków. Chore z tym typem histologicznym raka lepiej reagowały na przedoperacyjną chemioterapię w porównaniu do chorych z rozpoznaniem inwazyjnego raka zrazikowego. Całkowitą odpowiedź patologiczną osiągnięto w 9,4% przypadków. Wśród chorych z rozpoznaniem inwazyjnego raka zrazikowego częstość pCR wynosiła 4,8%. Jest to zgodne z doniesieniami literaturowymi [36, 49, 87]. W opublikowanej w 2005 roku retrospektywnej analizie obejmującej 1034 chore poddane leczeniu przedoperacyjnemu różnymi schematami chemioterapii mniejsze szanse na uzyskanie pCR miały kobiety z rozpoznaniem inwazyjnego raka zrazikowego w porównaniu z grupą mającą rozpoznanie raka przewodowego. Całkowitą odpowiedź patologiczną w tej analizie stwierdzono odpowiednio w 3% i 15% przypadków [47].

W badanej grupie chorych zarówno w analizie jedno jak i wieloczynnikowej stopień złośliwości histologicznej (G) okazał się czynnikiem istotnie wpływającym na częstość pCR. Najlepiej na leczenie przedoperacyjne odpowiadały chore z guzami o dużej aktywności mitotycznej, a więc niskozróżnicowane (G3). Wśród tych chorych w 14,5% przypadków stwierdzono całkowitą remisję patologiczną po zastosowanej terapii przedoperacyjnej. Nie odnotowano ani jednej całkowitej odpowiedzi u kobiet z guzami wysokozróżnicowanymi (G1). W grupie o pośrednim stopniu złośliwości histologicznej (G2) pCR osiągnięto u 2% chorych. Podobne wyniki uzyskali autorzy pracy opublikowanej w 2008 roku. W ocenianej przez nich grupie 248 chorych najwyższy odsetek całkowitych remisji patologicznych po zastosowanym leczeniu

przedoperacyjnym stwierdzili u chorych z guzami o najwyższym stopniu złośliwości. Wynosił on 14% [48]. Predykcyjną wartość cechy G3 guza dla osiągnięcia pCR potwierdzono także w wielu innych doniesieniach [36, 37, 39, 41, 50].

W jednej z pierwszych prac, która potwierdziła dobrą wartość prognostyczną całkowitej odpowiedzi patologicznej jako czynnika rokowniczego, wykazano wyraźną zależność między wielkością guza pierwotnego a stopniem odpowiedzi na leczenie przedoperacyjne. Autorzy pracy stwierdzili w grupie 372 chorych 21% całkowitych odpowiedzi patologicznych w przypadku małych guzów (T0-T2) i 7% wśród chorych z guzami powyżej 5 cm [39]. Podobne dane opublikowali badacze z Niemiec w 2008 roku. W ich badaniu uczestniczyło 248 kobiet leczonych przedoperacyjnie cytostatykami. Częstość pCR w przypadku guzów < 4 cm wynosiła 12 i odpowiednio 5% w przypadku guzów > 4cm [48]. Metaanaliza z 2014 roku obejmująca ponad 11 tysięcy chorych leczonych w ramach 12 randomizowanych badań klinicznych potwierdziła zależność pCR od wielkości guza pierwotnego. Guzy T1 i T2 znacznie lepiej reagowały na leczenie przedoperacyjne niż guzy > 5cm [36]. W omawianej pracy wielkość guza pierwotnego (T) oceniana według klasyfikacji TNM również była istotnym parametrem osiągnięcia całkowitej odpowiedzi patologicznej. Większe szanse na uzyskanie całkowitej remisji patologicznej miały chore z małymi guzami. Guzy o małej średnicy wykazują lepszą wrażliwość na chemioterapię, co związane jest z ich dużą frakcją wzrostową w przeciwieństwie do guzów dużych, w których ilość komórek proliferujących jest mniejsza. W badanej grupie wśród 132 chorych z guzami do 5 cm częstość pCR wynosiła 16,7%. W przypadku cechy T3 odpowiedź na leczenie była zdecydowanie słabsza, a pCR stwierdzono w 1,8% przypadków. Dane te są zbliżone do podawanych w literaturze [36, 37, 39].

Obecność receptorów hormonalnych (estrogenowych i/lub progesteronowych) w komórkach raka piersi jest niezależnym czynnikiem istotnie wpływającym na prawdopodobieństwo uzyskania całkowitej odpowiedzi patologicznej. Reakcja na przedoperacyjną chemioterapię jest słabsza, jeśli w komórkach raka piersi stwierdza się ekspresję receptorów estrogenowych i progesteronowych [88]. W pracy z 2007 roku pochodzącej z ośrodka w Mediolanie wykazano, że brak receptorów steroidowych w komórkach guza pierwotnego jest najsilniejszym czynnikiem predykcyjnym dla uzyskania całkowitej odpowiedzi patologicznej. Stwierdzona w analizie częstość pCR

wynosiła dla guzów bez ekspresji ER/PgR 19,4% a dla guzów ER/PgR dodatnich 1,5% [56].

Silny związek pomiędzy ujemnym stanem receptorów hormonalnych a większym odsetkiem całkowitych remisji patologicznych wykazano w wielu innych badaniach [41, 42, 48, 54, 55, 57]. W 2006 roku opublikowano wyniki retrospektywnej analizy obejmującej 1731 chorych poddanych przedoperacyjnej chemioterapii. Autorzy publikacji stwierdzili pCR u 24% chorych z guzami ER- ujemnymi i u 8% chorych z guzami ER-dodatnimi [53]. Podobnie w niniejszej pracy stan receptorów estrogenowych i progesteronowych okazał się czynnikiem istotnym statystycznie dla osiągnięcia całkowitej odpowiedzi patologicznej po zastosowanej terapii przedoperacyjnej. Odsetek pCR dla raków z ekspresją receptorów estrogenowych wynosił 4,1% a dla raków bez ekspresji receptorów estrogenowych 16,2%. W odniesieniu do receptorów progesteronowych częstość pCR odnotowano odpowiednio w 3,8% i 15,1% przypadków.

Przedstawione zależności dotyczą wpływu powszechnie uznanych czynników prognostycznych na skuteczność chemioterapii przedoperacyjnej mierzoną odsetkiem całkowitych odpowiedzi patologicznych.

W materiale własnym oceniano również wpływ schematu leczenia na szanse uzyskania całkowitej remisji patologicznej. W badanej grupie u ponad 2/3 chorych w leczeniu przedoperacyjnym stosowano schematy oparte o antracykliny (AC, FAC, FEC). W 21 przypadkach (10%) stwierdzono całkowitą odpowiedź patologiczną. Zbliżone wyniki opublikowano w kilku pracach [30, 55]. Wraz z postępem farmakoterapii prowadzono wiele badań mających udowodnić korzystny wpływ dołączenia do dotychczasowych schematów leczenia nowych cytostatyków, głównie taksanów. Potwierdzają to dwa najważniejsze badania, które wskazują jednocześnie na korzyść z sekwencyjnego stosowania taksanów po antracyklinach w leczeniu przedoperacyjnym. Takie postępowanie znacząco zwiększa odsetek całkowitych remisji patologicznych do 14–26% [41, 55]. W niniejszej pracy, w ramach terapii przedoperacyjnej, taksany zastosowano u 23% chorych. Całkowitą odpowiedź patologiczną odnotowano u 5,6% chorych. Wyniki te są znacznie gorsze niż podawane przez innych autorów. Brak przewagi, w materiale własnym, schematów zawierających taksany nad schematami opartymi o antracykliny można próbować wytłumaczyć kilkoma przyczynami. Po pierwsze w analizowanym okresie czasu dostęp do taksanów w leczeniu

przedoperacyjnym był znacznie ograniczony. Często leczenie rozpoczynano od antracyklin a dopiero przy ich nieskuteczności dołączano taksany. Liczba kursów terapii z udziałem taksanów często była niewielka, jako że celem ich podawania było uzyskanie resekcyjności zaawansowanego miejscowo raka. Ponadto leczenie oparte o taksany indukowało znaczące toksyczności, np. neutropenię III i IV stopnia, co skutkowało koniecznością wydłużenia czasu pomiędzy kursami chemioterapii, redukcją dawek leków a w efekcie zmniejszeniem intensywności dawki należącej. Na to niekorzystne zjawisko zwrócili uwagę inni autorzy, którzy również nie odnotowali przewagi schematów z użyciem taksanów na odsetek uzyskiwanych całkowitych odpowiedzi patologicznych [46].

Wraz z postępem nauk podstawowych oraz wiedzy o biologii raka piersi do leczenia, w tym przedoperacyjnego, wprowadzono terapie ukierunkowane molekularnie. Do chwili obecnej podstawowym celem dla tej formy leczenia jest receptor dla ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu drugiego HER2.

W materiale własnym nadekspresję receptora HER2 stwierdzono u 82 (26,6%) chorych. Odsetek całkowitych odpowiedzi patologicznych, w tej grupie, wynosił 7,3%. W terapii stosowano głównie cytostatyki. Tylko bardzo nieliczna grupa 6 chorych otrzymywała trastuzumab jako terapię celowaną anty HER2. Wynika to z braku dostępu w naszym kraju do terapii ukierunkowanych molekularnie w leczeniu przedoperacyjnym. W tej bardzo małej, sześciuosobowej, grupie chorych leczonych cytostatykami z dodaniem trastuzumabu, w 50% przypadków uzyskano całkowitą odpowiedź patologiczną. Zbliżone dane przedstawiono w publikacjach z 2010 roku [49, 68]. Autorzy prac, wśród chorych z rakami HER-2 pozytywnymi, otrzymujących tylko chemioterapię osiągnęli pCR odpowiednio w 8% i 7,1% przypadków a wśród chorych leczonych z udziałem trastuzumabu w 35% i 40% przypadków. Wysoką skuteczność trastuzumabu (przeciwciała monoklonalnego skierowanego przeciw zewnętrznej domenie receptora HER-2) w leczeniu przedoperacyjnym, odnotowano już w pierwszym randomizowanym badaniu opublikowanym w 2005 roku. Badanie to zaprojektowane było dla 164 kobiet z operacyjnym rakiem piersi. Przerwano je wcześniej po uzyskaniu wyników leczenia 42 chorych. Spowodowane to było faktem, iż w grupie chorych leczonych cytostatykami z dodaniem trastuzumabu, w porównaniu z grupą otrzymującą samą chemioterapię odsetek całkowitych odpowiedzi

patologicznych był spektakularnie wyższy (67% vs. 25%) [78]. Zbliżone wyniki uzyskano w pracach publikowanych w kolejnych latach [43, 44, 62, 77]. Oprócz trastuzumabu w terapii przedoperacyjnej zawierającej leki celowane badano także wpływ dołączenia takich leków jak lapatynib (drobnocząsteczkowy inhibitor kinazy tyrozynowej działający na wewnątrzkomórkową domenę receptora HER2) czy pertuzumab (rekombinowane, humanizowane przeciwciało monoklonalne łączące się z zewnątrzłonową domeną receptora HER2 w innym epitopie niż trasuzumab) na odsetek uzyskiwanych całkowitych remisji patologicznych. Udowodniono, że podwójna blokada receptora HER2 jest aktualnie najskuteczniejszą formą leczenia chorych na raka piersi z nadekspresją receptora HER2 [62, 89]. Ta forma terapii także jest jeszcze niedostępna w naszym kraju.

W tabeli XI przedstawiono przykłady badań oceniających skuteczność przedoperacyjnej terapii celowanej.

Tabela XI. Przykłady badań oceniających skuteczność przedoperacyjnej terapii celowanej

Rok	Badanie	Schemat leczenia	Liczba chorych	pCR (%)	Kryteria pCR
2005	Buzdar trial [78]	P→ FEC P+trastuzumab→FEC+ trastuzumab	42	25% 66,7%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
2005	NOAH Gianni [43]	Trastuzumab+ AT→ T-CMF AT→ T→ CMF AT→ T-CMF	227	38% 20% 16%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
2010	GEPARQATRO Untch [77]	EC – T[X] EC– T[X] + trastuzumab	1509	15,7% 31,7%	Brak utkania raka inwazyjnego lub nieinwazyjnego w piersi

2011	TECHNO Untch [44]	EC→ P+ trastuzumab	217	38,7%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi i węzłach chłonnych
2011	NEOSPHERE Gianni [62]	T+ trastuzumab T+ trastuzumab + pertuzumab Trastuzumab + pertuzumab T+pertuzumab	417	29% 45,8% 16,8% 24%	Brak utkania raka inwazyjnego w piersi
2012	GEPARQUINTO Untch [89]	EC→ T+ trastuzumab EC→T+ lapatinib	620	30,3% 22,7%	Brak utkania raka inwazyjnego i nieinwazyjnego w piersi i węzłach chłonnych

P- paklitaksel; **FEC-** (fluorouracil, epirubicyna, cyklofosfamid); **AT-** (doksorubicyna, docetaksel); **CMF-** (cyklofosfamid, metotreksat, fluorouracil); **T-** docetaksel; **EC-** (epirubicyna, cyklofosfamid); **X-** kapecytabina.

W niniejszej pracy podjęto próbę oceny skuteczności chemioterapii przedoperacyjnej, mierzonej odsetkiem uzyskiwanych pCR, w zależności od biologii nowotworu. Badania ostatnich lat wykazały, że rak piersi jest zróżnicowaną jednostką chorobową. Przeprowadzona ponad dekadę temu analiza ekspresji genów pozwoliła na wyodrębnienie kilku podtypów molekularnych raka piersi [23]. Charakteryzują się one odmiennym przebiegiem naturalnym, zróżnicowaną odpowiedzią na leczenie jak również rokowaniem. Z powodu braku powszechnego dostępu do testów wielogenowych, na potrzeby codziennej praktyki, w 2011 roku w St. Gallen wprowadzono zastępczą klasyfikację kliniczno- patomorfologiczną podtypów raka piersi. Oparta jest ona na wynikach badań immunohistochemicznych oceniających ekspresję receptora estrogenowego (ER), progesteronowego (PgR), nadekspresję receptora HER2 i/lub amplifikację onkogenu *HER2* a także ekspresję antygenu proliferacyjnego Ki67. W 2013 roku w St. Gallen dokonano najnowszej modyfikacji

klasyfikacji fenotypów raka piersi [18]. Przynależność raka piersi do określonego podtypu jest podstawą wyboru terapii systemowej, w tym leczenia przedoperacyjnego.

Na potrzeby omawianej pracy, w badanej grupie, wyodrębniono cztery podtypy immunofenotypowe. Podziału dokonano uwzględniając klasyczne markery takie, jak: ekspresję receptorów estrogenowych, progesteronowych i nadekspresję receptora HER2. Nie brano pod uwagę, zalecanego obecnie, wskaźnika proliferacji Ki67 ze względu na retrospektywny charakter pracy i czas, jaki ona obejmuje. W całej analizowanej grupie pCR stwierdzono u 29 chorych (9,4%). Zarówno z analizie jednoczynnikowej, jak i wieloczynnikowej immunofenotyp guza okazał się czynnikiem o istotnym statystycznie wpływie na odsetki uzyskiwanych całkowitych remisji patologicznych ($p=0,0001$ i $p=0,031$). Najlepiej na leczenie przedoperacyjne odpowiadały chore z guzami pozbawionymi ekspresji receptorów estrogenowych, progesteronowych i bez nadekspresji receptora HER2, a więc o fenotypie potrójnie ujemnym (IF4). W podgrupach chorych z rakami ER+/PgR+/HER2- (IF1), ER+/PgR+/- / HER2+/- (IF2) reakcja na leczenie była wyraźnie słabsza. Całkowitą remisję patologiczną stwierdzono odpowiednio w 2,9% i 8,3% przypadków. W badanym materiale również chore z guzami HER2 zależnymi (IF3) osiągnęły niski odsetek pCR (6,5%). Powodem niskich wartości całkowitych remisji patologicznych w grupie o immunofenotypie HER2 dodatnim jest brak dostępności w naszym kraju do terapii celowanej anty HER2 w leczeniu przedoperacyjnym. Jak wspomniano wcześniej, w tej grupie chorych trastuzumab stosowano tylko u 6 kobiet, z których 3 (50%) osiągnęło pCR. Podobne dane jak w prezentowanej pracy opublikowano w 2010 roku [49]. Autorzy pracy w grupie 254 chorych ocenili częstość uzyskiwanych pCR po przedoperacyjnej chemioterapii u chorych z różnymi podtypami raka piersi. W grupie chorych o fenotypie potrójnie ujemnym pCR stwierdzili w 28% przypadków. Wśród chorych HER2 dodatnich leczonych tylko cytostatykami pCR osiągnęli w 8% przypadków a wśród chorych z guzami z ekspresją receptorów hormonalnych i bez nadekspresji receptora HER2 (guzy luminalne) w 2%. W materiale własnym oceniono odsetek pCR, uzyskanych po terapii przedoperacyjnej, w zależności od profilu receptorowego guza (ER, PgR, HER2). Stwierdzono, że raki z dodatnim statusem receptorów steroidowych a więc raki luminalne (IF1+IF2) odpowiadają na chemioterapię przedoperacyjną gorzej niż raki bez ekspresji ER i PgR (IF3+IF4). Całkowitą remisję patologiczną odnotowano odpowiednio w 4,1% i 16,2%

przypadków. Jak już wspomniano, w badanej grupie najlepiej na leczenie przedoperacyjne odpowiadały chore z rakami o fenotypie potrójnie negatywnym (IF4) osiągając wartość pCR = 21%. Częstość pCR wśród raków innych niż potrójnie negatywne (IF1+IF2+IF3) wyniosła 4,8%. Podobne zależności stwierdzono w wielu dotychczas przeprowadzonych badaniach, w których analizowano znaczenie fenotypu w odniesieniu do odpowiedzi na przedoperacyjną terapię systemową. W pracy opublikowanej w 2005 roku badacze, w grupie 82 chorych poddanych przedoperacyjnej chemioterapii, w skład której wchodziły antracykliny i taksany, stwierdzili istotnie większy odsetek całkowitych odpowiedzi patologicznych u chorych z fenotypem raka potrójnie ujemnego i HER2 dodatniego w porównaniu do chorych z guzami luminalnymi. Wynosił on odpowiednio 45% i 7% [58]. W kolejnej analizie z 2007 roku, obejmującej 107 chorych stwierdzono istotne statystycznie różnice w częstościach uzyskiwanych pCR, po zastosowanej chemioterapii opartej o antracykliny, w zależności od profilu molekularnego raka. Największą, 36% częstość pCR odnotowano w przypadku guzów HER2 pozytywnych i 27% w przypadku guzów podstawnych, a najmniejszą 7% częstość pCR dla guzów luminalnych [70]. Podobne dane, oparte na analizie wyników przedoperacyjnego leczenia 1118 chorych, przedstawiono w 2008 roku. Autorzy pracy stwierdzili całkowitą odpowiedź patologiczną u 22% chorych na raka potrójnie ujemnego i u 11% chorych z rakami o fenotypie innym niż TNBC [37]. Silny związek pomiędzy podtypami raka piersi a odsetkiem osiąganych całkowitych remisji patologicznych po zastosowanej chemioterapii przedoperacyjnej potwierdziła metaanaliza z 2012 roku. Oceniono w niej 30 badań, w których uczestniczyło ponad 11 tysięcy chorych. Częstość pCR była znacząco różna w zależności od typu guza. Najwyższe wartości pCR osiągnięto u chorych z guzami HER2 pozytywnymi/HR negatywnymi i potrójnie ujemnymi odpowiednio 39% i 31%, a najniższą w przypadku podtypów z pozytywnym stanem receptorów hormonalnych [59]. Zależność tę potwierdzają także dane z innych publikacji [35, 36, 67]. Jak już wspomniano wprowadzenie terapii celowanej anty-HER2 znacząco podwyższyło odsetki osiąganych całkowitych remisji patologicznych u chorych z potwierdzoną nadekspresją receptora HER2 i/lub amplifikacją genu *HER2*. W wielu przeprowadzonych badaniach oceniających skuteczność leczenia biologicznie ukierunkowanego wykazano podwojenie odsetka pCR pod wpływem takiej terapii. Częstość pCR wynosiła od 29% do 40% [43, 44, 62, 77, 78,].

W niniejszej pracy przeprowadzono ocenę znaczenia uzyskanej całkowitej odpowiedzi patologicznej, po zastosowanej chemioterapii przedoperacyjnej, jako wskaźnika długoterminowej odpowiedzi na leczenie. W tym celu wykreślono i porównano krzywe przeżycia całkowitego (OS) i przeżycia wolnego od choroby (DFS) dla grupy, która osiągnęła pCR z grupą bez pCR. Stwierdzono, że uzyskanie całkowitej remisji patologicznej jest wyznacznikiem dobrej odpowiedzi na zastosowaną chemioterapię i wiąże się z lepszym rokowaniem. Chore z pCR miały, statystycznie istotne, lepsze przeżycia całkowite ($p=0,034$) niż te bez pCR. Odsetek pięcioletnich przeżyć wynosił odpowiednio 96,6% i 84,6%. Wśród chorych z pCR wykazano wyraźny trend w kierunku wydłużenia czasu przeżycia wolnego od choroby ($p=0,054$) w porównaniu z grupą chorych bez całkowitej odpowiedzi patologicznej. Zależność pomiędzy pCR a OS utrzymała się po dziesięciu latach obserwacji. W materiale własnym osiągnięcie całkowitej remisji patologicznej było także związane z wydłużeniem czasu wolnego od choroby. Po pięciu latach obserwacji, w grupie chorych z pCR przeżyło bez progresji choroby 83% wobec 71% chorych w grupie, która nie osiągnęła pCR. Uzyskane, w omawianej pracy, wyniki potwierdzają wcześniejsze doniesienia na temat rokowniczego znaczenia całkowitej odpowiedzi patologicznej. W jednej z publikacji, oceniającej przebieg kliniczny raka piersi u chorych z pCR, wykazano w tej grupie wyższe pięcioletnie przeżycia całkowite niż u chorych z chorobą przetrwałą (89% vs 64%, $p=0,003$). Podobną zależność autorzy zaobserwowali, biorąc pod uwagę pięcioletni czas wolny od choroby (87% vs 58%, $p=0,0005$) [39]. Korzystny wpływ osiągnięcia całkowitej remisji patologicznej na odległe wyniki leczenia (OS, DFS) wykazali także inni autorzy [37, 38, 70].

W przedstawionym badaniu analizowano także związek pCR z długoterminową odpowiedzią na leczenie w poszczególnych podtypach immunofenotypowych. Całkowita remisja patologiczna okazała się mieć znaczenie prognostyczne jedynie w grupie chorych z guzami o wysokiej agresywności, pozbawionymi ekspresji receptorów steroidowych i nadekspresji receptora HER2 (IF4). Wśród tych chorych całkowita odpowiedź patologiczna związana była z istotnym statystycznie wydłużeniem całkowitego czasu przeżycia ($p=0,007$) i czasu wolnego od choroby ($p=0,01$). Po trzech, pięciu i dziesięciu latach obserwacji w grupie z pCR przeżycia całkowite sięgały 93,8% a przeżycia wolne od choroby odpowiednio 94,1%, 94,1% i 88,2%. U chorych z TNBC, u których nie uzyskano całkowitej remisji patologicznej stwierdzono większe ryzyko

nawrotu choroby i gorsze rokowanie. W trzy-, pięcio- i dziesięcioletniej obserwacji bez pCR przeżyło odpowiednio: 37,7%, 34% i 30,2% chorych, a progresji nie stwierdzono u 53,7%, 50,0% i 46,3%. W niniejszej pracy nie stwierdzono rokowniczego znaczenia całkowitej odpowiedzi patologicznej w odniesieniu do guzów wykazujących ekspresję receptorów steroidowych i nadekspresję receptora HER2. Zarówno dla raków luminalnych (IF1, IF2) jak i HER2 zależnych (IF3) wartość pCR nie wpływała na wydłużenie OS i DFS.

W dwóch dużych metaanalizach oceniono znaczenie rokownicze całkowitej odpowiedzi patologicznej w odniesieniu do podtypów biologicznych raka piersi [35, 36]. Brak związku w materiale własnym, pomiędzy pCR a długoterminową odpowiedzią na leczenie, w HER2 pozytywnych (nieluminalnych) guzach jest niezgodny z wynikami metaanalizy obejmującej 7 randomizowanych badań, w których uczestniczyło 6377 chorych. Autorzy pracy wykazali, że w przypadku guzów HER2 zależnych całkowita remisja patologiczna jest odpowiednim zastępczym wskaźnikiem dobrego rokowania [36]. Odmienne wyniki badania własnego wynikają z ograniczeń terapeutycznych w naszym kraju. Badacze niemieccy wykazali także, że pCR dla guzów luminalnych A i luminalnych B/HER2 pozytywnych nie ma znaczenia rokowniczego, podczas gdy u chorych z guzami agresywnymi jak TNBC, pCR dokładnie różnicuje pomiędzy dobrą a złą prognozą [36]. W omawianej pracy także nie stwierdzono korelacji między pCR a odległymi wynikami leczenia w przypadku guzów z ekspresją receptorów hormonalnych (IF1, IF2). Wykazano natomiast prognostyczne znaczenie całkowitej odpowiedzi patologicznej dla guzów o fenotypie potrójnie negatywnym (IF4).

6. WNIOSKI

1. Najważniejszym czynnikiem warunkującym uzyskanie całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) po zastosowanej przedoperacyjnej terapii systemowej jest podtyp biologiczny raka piersi.
2. Uzyskanie pod wpływem przedoperacyjnego leczenia systemowego całkowitej odpowiedzi patologicznej wpływa na poprawę długoterminowej odpowiedzi na leczenie.
3. Korzyści z osiągnięcia pCR są szczególnie widoczne w rakach piersi o podtypie potrójnie receptorowo ujemnym, tzn. niewykazujących ekspresji receptorów steroidowych (ER, PgR) i nadekspresji receptora HER2.

7. PIŚMIENNICTWO

1. Wojciechowska U., Didkowska J., Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2012 roku. Centrum Onkologii – Instytut, Warszawa 2014.
2. Ries L., Harkins D., Krapcho M., i wsp.: SEER Cancer Statistics Review 1975–2003. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2005.
3. Kothari A.S., Fentiman I.S.: Breast cancer in young women. *Int J Clin Pract* 2002; 56(3): 184–187.
4. Pawłęga J.: Epidemiologia. W: Jassem J. i wsp.: Rak sutka. Warszawa: Springer PWN, 1998: 31–59.
5. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding collaborative re-analysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet* 2002; 360: 187–195.
6. McPherson K., Steel C.M., Dixon J.M.: ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ* 2000; 321: 624–628.
7. Limon J.: Podłoże genetyczne nowotworów ginekologicznych. W: Markowska J., Mądry R. (red.). *Zarys ginekologii onkologicznej*: Poznań 2012: 71–84.
8. Eston D.R., Bishop D.T., Ford D, Crockford G.P.: Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Gen* 1993; 52(4): 678–701U.
9. Bobek-Bilewicz B., Łuczyńska E.: Diagnostyka obrazowa. W: Jassem J., Krzakowski M. (red.). *Rak piersi*: Gdańsk „Via Medica” 2009: 49–66.
10. Ciatto S., Pacini P., Azzini V., i wsp.: Preoperative staging of primary breast cancer-a multicentric study. *Cancer* 1988; 61: 1038–1040.
11. Pieńkowski T.: Czynniki predykcyjne u chorych na raka sutka. *Nowotwory* 2000; 50(2): 165–170.
12. Fisher B., Slack N.H, Bross IDJ i wsp.: Cancer of the breast: size of neoplasm and prognosis. *Cancer* 1969; 24: 1071–1080.
13. World Health Organization Classification of Tumors. Tumors of breast. Lyon, France: IARC Press 2013.

14. Harris G.C., Pinder S.E., Elston C.W.: The role of the pathologist in assessing prognostic factors for breast cancer. W: Prognostic and predictive factors in breast cancer. Walker R.A. (red.). Martin Dunitz Londyn 2003.
15. Pieńkowski T. Rak piersi. w: Onkologia kliniczna. Krzakowski M. (red.). Warszawa: Borgis-Wydawnictwo Medyczne, 2001.
16. Ries L.A.G., Henson D.E., Harras A.: Survival from breast cancer according to tumor size and nodal status. *J Surg Oncol Clin North Am* 1994; 3: 35–53.
17. Goldhirsch A., Ingle J.N., Gelber R.D. i wsp.: Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol* 2009; 1319–1329.
18. Goldhirsch A., Winer E.P., Coates A.S. i wsp.: Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. *Ann Oncol* 2013; 24: 2206–2223.
19. Wysocki P.J., Potemski P., Krzemieniecki K. i wsp.: Nowe możliwości leczenia hormonozależnego raka piersi w stadium zaawansowanym. *Onkol Prak Klin* 2012; 8, 3: 85–90.
20. Dębska S., Potemski P.: Leczenie hormonalne chorych na raka piersi z nadekspresją receptora HER2. *Onkol Prak Klin* 2010; 6, 6: 301–310.
21. Slamon D.J., Godolphin W., Jones L.A. i wsp.: Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707–712.
22. Tokajuk P., Czartoryska-Arłukowicz B., Wojtukiewicz M.Z.: Leczenie interferujące z funkcją EGFR u chorych na raka piersi. *Onkol Prak Klin* 2011; 7, 4: 159–176.
23. Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B. i wsp.: Molecular portraits of human tumors. *Nature* 2000; 406: 747–752.
24. Krzakowski M., Herman K., Jassem J. i wsp.: Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych. Polska Unia Onkologiczna, Gdańsk 2007.
25. Senkus-Konefka E.: Radioterapia. W: Jassem J., Krzakowski M.: Rak piersi. „Via Medica”, Gdańsk 2014: 132–146.
26. Pierce L.J.: The use of radiotherapy after mastectomy, a review of the literature. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1706–1717.

27. Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG), Davies C., Godwin J. i wsp. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta analysis of randomized trials. *Lancet* 2011; 378: 771–784.
28. Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG). Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet* 2012; 379: 432–444.
29. Luboiński G., Nagadowska M., Pieńkowski T.: Preoperative chemotherapy in primary inoperable cancer of breast. *Eur J Surg Oncol* 1991; 17: 603–607.
30. Fisher B, Brown A, Mamounas E. i wsp.: Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: Findings from national surgical adjuvant breast and bowel project B-18. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2483–2493.
31. Bonadonna G., Veronesi U., Brambilla C. i wsp.: Primary chemotherapy to avoid mastectomy in tumors with diameters of three centimeters or more. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1539–1545.
32. von Minckwitz G.: Preoperative therapy: what, when, and for whom. *Ann Oncol* 2008; 19(5): 113–116.
33. Jones R.L., Smith I.E.: Neoadjuvant treatment for early-stage breast cancer: Opportunities to assess tumor response. *Lancet Oncol* 2006; 7: 869–874.
34. Croshaw R., Shapiro-Wright H., Svensson E., Erb K., Julian T.: Accuracy of clinical examination, digital mammogram, ultrasound and MRI in determining postneoadjuvant tumor response in operable breast cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 3160–3163.
35. Von Minckwitz G, Untch M, Blohmer J.U. i wsp.: Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1796–1804.
36. Cortazar P., Zhang L., Untch M. i wsp.: Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. <http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736%2813%2962422-8/abstract>, odczyt 15.05.2014.

37. Liedtke C., Mazouni C., Hess K.R. i wsp.: Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1275–1281.
38. Wolmark N., Wagn J., Mamounas E. i wsp.: Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from national surgical adjuvant breast and bowel project B-18. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001; 30: 96–102.
39. Kuerer H.M., Newman L.A., Smith T.L. i wsp.: Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999; 17: 460–469.
40. Kuerer H.M., Sahin A.A., Hunt K.K. i wsp.: Incidence and impact of documented eradication of breast cancer axillary lymph node metastases before surgery in patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg* 1999; 230: 72–78.
41. von Minckwitz G., Raab G., Caputo A. i wsp.: Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARDUO study of the German Breast Group. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2676–2685.
42. Gianni L., Baselga J., Eiermann W. i wsp.: Feasibility and tolerability of sequential doxorubicin/paclitaxel followed by cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil and its effects on tumor response as preoperative therapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8715–8721.
43. Gianni L., Semiglazov V., Manikhas G.M. i wsp.: Neoadjuvant trastuzumab in locally advanced breast cancer (NOAH): Antitumour and safety analysis. *J Clin Oncol* 2005; 25 (18S): 513. ASCO Annual Meeting Proceedings.
44. Untch M., Fasching P.A., Konecny G.E. i wsp.: Pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy plus trastuzumab predicts favorable survival in human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing breast cancer: Results from TECHNO trial of the AGO and GBG study groups. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3351–3357.
45. Van der Hage J.A., van-de Velde C.J.H., Julien J.P. i wsp.: Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J Clin Oncol* 2001; 19: 4224–4237.
46. Evans T.R.J., Yelowlles A., Poster E. i wsp.: Phase III randomized trial of doxorubicin and docetaxel versus doxorubicin and cyclophosphamide as primary

medical therapy in women with breast cancer: an anglo-celtic cooperative oncology group study. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2988–2995.

47. Cristofanilli M., Gonzalez-Angulo A., Sneige N. i wsp.: Invasive lobular carcinoma classic type: Response to primary chemotherapy and survival outcomes. *J Clin Oncol* 2005; 23: 41–48.

48. Von Minckwitz G., Sinn H.P., Raab G. i wsp.: Clinical response after two cycles compared to HER2, Ki-67, 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: R30.

49. Staver M.E., Rutgers E.J., Rodenhuis S. i wsp.: The relevance of breast cancer subtypes in the outcome of neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 2411–2418.

50. Prisack H.B., Karreman C., Modlich O. i wsp.: Predictive biological markers for response of invasive breast cancer to anthracycline/cyclophosphamide-based primary (radio-) chemotherapy. *Anticancer Res* 2005; 25: 4615–4621.

51. Untch M., Konecny G.E., Paepke S., von Minckwitz G.: Current and future role of neoadjuvant therapy for breast cancer. *Breast* 2014; 23: 526–537.

52. Montagna E., Bagnardi V., Viale G. i wsp.: Changes in PgR and Ki-67 in residual tumor and outcome of breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol* 2015; 26: 307–313.

53. Guarneri V., Broglio K., Kau S.W. i wsp.: Prognostic value of pathologic complete response after primary chemotherapy in relation to hormone receptor status and others factors. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1037–1044.

54. Ring A.E., Smith I.E., Ashley S. i wsp.: Oestrogen receptor status, pathological complete response and prognosis in patients receiving neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer. *Br J Cancer* 2004; 91: 2012–2017.

55. Bear H.D., Anderson S., Brown A. i wsp.: The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol B-27. *J Clin Oncol* 2003; 21: 4165–4174.

56. Colleoni M., Viale G., Zahrieh D. i wsp.: Expression of ER, PgR, HER1, HER2 and response: a study of preoperative chemotherapy. *Ann Oncol* 2007; 19: 465–472.

57. Buzdar A.U., Valero V., Theriault R.L. i wsp.: Pathological complete response to chemotherapy is related to hormone receptor status [abstract]. *Breast Cancer Res* 2003; 85:2.
58. Rouzier R., Perou C.M., Symmans W.F. i wsp.: Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5678–5685.
59. Houssami N., Macaskill P., von Minckwitz G. i wsp.: Meta-analysis of the association of breast cancer subtype and pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Cancer* 2012; 48: 3342–3354.
60. Zhou B., Yang DQ., Xie F.: Biological markers as predictive factors of response to neoadjuvant taxanes and anthracycline chemotherapy in breast carcinoma. *Chin Med J* 2008; 121: 387–391.
61. Sikov W.M., Dizon D.S., Strenger R. i wsp.: Frequent pathologic complete responses in aggressive stages II to III breast cancers with every-4-week carboplatin and weekly paclitaxel with or without trastuzumab: a Brown University Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4693–4700.
62. Gianni L., Pieńkowski T., Young-Hyuck I. i wsp.: Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13 (1): 25–32.
63. Untch M., Konecny G., Ditsch N. i wsp.: Dose-dense sequential epirubicin-paclitaxel as preoperative treatment of breast cancer: results of AGO study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21 (abstr. 133).
64. Green M.C., Buzdar A.U., Smith T. i wsp.: Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5983–5992.
65. Robidoux A., Buzdar A.U., Quinaux E. i wsp.: A phase II neoadjuvant trial of sequential nanoparticle albumin-bound paclitaxel followed by 5-fluorouracil, epirubicin, cyclophosphamide in locally advanced breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2010; 10: 81–86.
66. Earl H.M., Vallier A.L., Hiller L. i wsp.: Effects of the addition of gemcitabine, and paclitaxel-first sequencing, in neoadjuvant sequential epirubicin, cyclophosphamide, and paclitaxel for women with high-risk early breast cancer (Neo-tAnGo): an open-

- label, 2x2 factorial randomized phase 3 trial. *Lancet* 2014; 15: 201–212.
67. Fasching P.A., Heusinger K., Haeberle L. i wsp.: Ki 67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment. *BMC Cancer* 2011; 11: 486.
68. Chang H.R., Glaspy J., Allison M.A. i wsp.: Differential response of triple-negative breast cancer to a docetaxel and carboplatin-based neoadjuvant treatment. *Cancer* 2010; 116: 4227–4237.
69. von Minckwitz G., Kaufmann M., Kuemmel S. i wsp.: Correlation of various pathologic complete response (pCR) definitions with long-term outcome and prognostic value of pCR in various breast cancer subtypes: results from the German neoadjuvant meta-analysis. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2011; 29; abstract 1028.
70. Carey L.A., Dess E.C., Sawyer L. i wsp.: The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2329–2334.
71. Wang S., Yang H., Tong F. i wsp.: Response to neoadjuvant therapy and disease free survival in patients with triple-negative breast cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2009; 36: 255–258.
72. Ryś J., Kruczak A.: Potrójnie ujemny rak sutka (*triple-negative breast cancer*) – jednorodna czy heterogenna grupa nowotworów? *Pol J Pathol* 2014; 65 (4): 53–61.
73. Byrski T., Gronwald J., Huzarski T. i wsp.: Pathologic complete response in young women with BRCA1-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2010; 28: 375–379.
74. Byrski T., Huzarski T., Dent R. i wsp.: Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 147: 401–405.
75. von Minckwitz G., Schneeweiss A., Salat A.T. i wsp.: A randomized phase II trial investigating the addition of carboplatin to neoadjuvant therapy for triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto – GBG 66). *J Clin Oncol* 2013; 31(supl. abstr.1004).
76. von Minckwitz G. Pathological complete response (pCR) rates after carboplatin-containing neoadjuvant chemotherapy in patients with germline BRCA (gBRCA) mutation and triple-negative cancer (TNBC): Results from Gepar-Sixto. *J Clin Oncol* 2014; 32:5s (supl. Abstr.1005).

77. Untch M., Rezai M., Loibl S. i wsp.: Neoadjuvant treatment with trastuzumab in HER-2 positive breast cancer: Results from the GeparQuattro study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2024–2031.
78. Buzdar A.U., Ibrahim N.K., Francis D. i wsp.: Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel and epirubicin chemotherapy: results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3676–3685.
79. Gianni L., Eiermann W., Semiglazov V. i wsp.: Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer HER2-negative cohort. *Lancet* 2010; 375: 377–384.
80. Piccart-Gebhart M., Holmes A.P., de Azambuja E., i wsp.: The association between event-free survival and pathological complete response to neoadjuvant lapatinib, trastuzumab or their combination in HER2-positive breast cancer. Survival follow-up analysis of the NeoALTTO study (BIG 1-06). *Cancer Res* 2012; 72 (suppl.). Abstract nr S1-01.
81. Franklin M.C., Carey K.D., Vajdos F.F. i wsp.: Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex. *Cancer Cell* 2004; 5: 317–328.
82. Cataliotti L., Buzdar A.U., Noguchi S. i wsp.: Comparison of anastrozole versus tamoxifen as preoperative therapy in postmenopausal women with hormone receptor positive breast cancer: the Pre-Operative „Arimidex” compared to Tamoxifen (PROACT) trial. *Cancer* 2006; 106: 2095–2103.
83. Ellis M.J., Ma C.: Letrozole in the neoadjuvant setting: the P024 trial. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 105 Suppl. 1: 33–43.
84. Heys S.D., Hutcheon A.W., Sarker T.K. i wsp.: Neoadjuvant docetaxel in breast cancer: 3 years survival results from the Aberdeen trial. *Clin Breast Cancer* 2002; 3 (supl. 2): 69–74.
85. von Minckwitz G., Blohmer J.U., Raab G. i wsp.: In vivo chemosensitivity-adapted preoperative chemotherapy in patients with early-stage breast cancer: GEPARTRIO pilot study. *Ann Oncol* 2005; 16: 56–63.
86. Ellis G.K., Green S.J., Russell C.A. i wsp.: SWOG 0012 , a randomized phase III comparison of standard doxorubicin (A) and cyclophosphamide (C) followed by weekly paclitaxel (T) versus weekly doxorubicin and daily oral cyclophosphamide plus G-CSF

(G) followed by weekly paclitaxel as neoadjuvant therapy for inflammatory and locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24 (18S): LBA537. ASCO Annual Meeting Proceedings.

87. Jung S.Y., Jeong J., Shin S.H. i wsp.: The invasive lobular carcinoma as a prototype liminal A breast cancer: a retrospective cohort study. *BMC Cancer* 2010; 10: 664.

88. Bauer-Kosińska B.: Współczesne przedoperacyjne leczenie systemowe raka piersi-chemioterapia. *Onkol Prak Klin* 2008; 4: 47–56.

89. Untch M., Loibl S., Bischoff J. i wsp.: Lapatinib versus trastuzumab in combination with neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy (GeparQuinto, GBG 44): a randomized phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13 (2): 135–144.

8. STRESZCZENIE

Rak piersi jest najczęściej rozpoznawanym nowotworem złośliwym u kobiet. Mimo stałego trendu wzrostowego zachorowalności w wielu krajach uzyskano spadek umieralności z powodu tego nowotworu. Poprawa ta jest wynikiem zarówno upowszechnienia badań mammograficznych umożliwiających wczesne wykrywanie raka piersi jak i postępu w dziedzinach medycyny zajmujących się leczeniem tego nowotworu: chirurgii onkologicznej, radioterapii oraz onkologii klinicznej.

Przedoperacyjne leczenie systemowe jest możliwą opcją terapeutyczną u chorych na miejscowo zaawansowanego raka piersi, wczesnego raka piersi i raka zapalnego. Prowadząc do zmniejszenia cech zaawansowania choroby (T, N), umożliwia wykonanie operacji oszczędzającej pierś lub przeprowadzenie radykalnego zabiegu u chorych z pierwotnie nieoperacyjnym guzem. Daje możliwość uzyskania informacji o wrażliwości nowotworu na stosowane leki, pozwala na poszerzenie wiedzy na temat sposobów leczenia chorych na raka piersi.

Osiągnięcie pod wpływem przedoperacyjnej chemioterapii całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) jest najważniejszym parametrem związanym z poprawą całkowitego czasu przeżycia i czasu wolnego od choroby.

Celem pracy była retrospektywna ocena wpływu wybranych czynników klinicznych i histopatologicznych na skuteczność chemioterapii przedoperacyjnej mierzoną częstością stwierdzanych całkowitych remisji patologicznych.

Badanie przeprowadzono w grupie 308 chorych poddanych chemioterapii przedoperacyjnej, w Klinice Onkologii w Poznaniu w latach 2000-2010. Całkowitą odpowiedź patologiczną zdefiniowano jako brak komponentu raka inwazyjnego i nieinwazyjnego w guzie pierwotnym po zastosowanej terapii przedoperacyjnej.

Na podstawie danych o ekspresji receptorów ER, PgR i HER2 wyodrębniono cztery grupy immunofenotypowe: IF1: ER+, PgR+, HER2-; IF2: ER+, PgR+/-, HER2+/-; IF3: ER-, PgR-, HER2+; IF4: ER-, PgR-, HER2-.

W całej grupie pCR osiągnięto w 9,4% przypadków. W analizie jednoczynnikowej parametrami istotnie wpływającymi na uzyskanie pCR były; ekspresja receptorów ER i PgR ($p=0,001$ i $p=0,004$), wielkość guza pierwotnego ($p=0,005$), stopień złośliwości histologicznej ($p=0,002$). Immunofenotyp najsilniej determinował uzyskanie pCR ($p=0,0001$). Najwyższą częstość pCR stwierdzono

u chorych z guzami < 5 cm, o wysokim stopniu złośliwości histologicznej (G3), brakiem ekspresji receptorów steroidowych oraz z guzami o immunofenotypie raków TNBC. W pracy przeprowadzono ocenę wpływu uzyskanej całkowitej odpowiedzi patologicznej na długoterminową odpowiedź na leczenie. Stwierdzono, że chore, które osiągnęły pCR miały, istotnie statystycznie, lepsze przeżycia całkowite ($p=0,034$) w porównaniu z chorymi bez pCR. Wśród chorych o immunofenotypie potrójnie ujemnym osiągnięcie, pod wpływem chemioterapii przedoperacyjnej, pCR również wiązało się z wydłużeniem całkowitego czasu przeżycia ($p=0,007$), a także czasu wolnego od choroby ($p=0,01$).

Przeprowadzona analiza wskazuje, że najważniejszym czynnikiem uzyskania całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) po zastosowanym leczeniu przedoperacyjnym jest podtyp biologiczny raka piersi. Osiągnięcie pCR wpływa na poprawę długoterminowej odpowiedzi na leczenie szczególnie u chorych na raki potrójnie receptorowo ujemne.

9. SUMMARY

Breast cancer is the most frequent cancer in women, and its incidence continues to increase. However, many countries have managed to reduce the mortality rate for that disease.

This improvement has been achieved thanks to widespread mammography screening which allows early detection of breast cancer and advancements in medicine which make it possible nowadays to treat cancer in many ways, including surgery, radiotherapy and oncology.

Preoperative systemic treatment is a possible option for patients with locally advanced breast cancer, with early breast cancer or inflammatory breast cancer. This treatment results in the reduction of the clinical stage of the disease and allows to perform a conserving surgery or a radical surgery on patients who would originally have been diagnosed with an inoperable tumor. At the same time, it provides information on the efficacy of different drugs and helps to select the most appropriate treatment.

Pathologic complete response (pCR) to preoperative chemotherapy is the best parameter of the effectiveness of the applied treatment. It is associated with an improved overall survival and disease-free survival.

The aim of the study was retrospective evaluation of the influence of selected clinical and histopathological factors on the effects of preoperative chemotherapy the efficacy of which is measured by the frequency of pathologic complete responses.

The study was conducted on a group of 308 patients treated with preoperative chemotherapy in the Department of Oncology of the University of Medical Sciences in Poznan between 2000 and 2010.

Pathologic complete response was defined as the absence of an invasive cancer or non-invasive primary tumor after preoperative therapy.

Four immunophenotypic groups were isolated based on the information on the expression of receptors ER, PgR and HER2: IF1: ER+, PgR+, HER2; IF2: ER+, PgR+/-, HER2+/-; IF3: ER-, PgR-, HER2+; IF4: ER-, PgR-, HER2-.

Pathologic complete response was achieved for 9.4% of patients.

The immunophenotype of the tumor was found to be the most important factor determining the occurrence of pCR ($p = 0.0001$). Other parameters of significant

importance were: receptor expression ER and PgR ($p = 0.001$ and $p = 0.004$), the size of the primary tumor ($p = 0.005$) and tumor grade ($p = 0.002$).

The highest incidence of pCR was observed in patients with tumors $< 5\text{cm}$, of high histologic grade (G3), with a negative expression of steroid receptors and with tumors TNBC immunophenotype.

The impact of the achieved pathologic complete response to a long-term response to treatment was also assessed.

Patients who achieved pCR after neoadjuvant treatment had a significantly better overall survival ($p = 0.034$) compared to patients without pCR.

The study suggests that the most important factor determining pathologic complete response after preoperative treatment is the immunophenotype of tumor. Achieving pCR improves the long-term response to treatment of breast cancer patients, and in particular of those with a triple negative tumor.

ZAŁĄCZNIK NR 1

Histologiczne opracowanie materiału:

Materiał tkankowy utrwalono w 10% formalinie. Odwodniono w rosnącym szeregu alkoholi (50%, 70%, 96%, 96%, 99,9%, 99,9%) i prześwietlono w ksylenie. Następnie tkankę zatopiono w parafinie w temperaturze 58°C wg klasycznych metod histologicznych. Z uzyskanych bloczków parafinowych skrojono skrawki o grubości 4 - 5 µm, które nałożono na szkiełka adhezyjne i pozostawiono w temperaturze 58°C przez 2 godziny. Przez noc skrawki odparafinowano w ksylenie, uwodniono w szeregu alkoholi (99,9%, 99,9%, 96%, 96%, 75%). Następnie płukano preparaty w wodzie destylowanej.

Metody immunohistochemiczne (IHC):

W celu wykrycia receptorów dla estrogenów i progesteronu zastosowano metodę z użyciem kompleksu EnVision TM+/HRP. Dla oznaczenia receptora HER-2 wykorzystano zestaw HercepTEST. Stosowane odczynniki i immunoreagenty:

-TBS - sól fizjologiczna buforowana za pomocą Tris/HCl o pH 7,6 (TBS firmy DAKO; Code No: S 1968)

- 1% roztwór albuminy

- DAB Substrate – Chromogen System (firmy DAKO; Code No: K 3466)

- Bufor Epitope Retrieval Solution 10 x Concentrate o pH 6,0 (firmy DAKO; Code No: K 5204)

- Hematoksylina Mayera

- Monoklonalne przeciwciało mysie przeciw ludzkiemu receptorowi alfa dla estrogenu (firma DAKO, Klon 1D5, No: M 7047)

- Monoklonalne przeciwciało mysie przeciw ludzkiemu receptorowi dla progesteronu (firma DAKO, Klon PGR 636, No: M 3569)

- EnVision TM+/HRP Mouse, Code K 4001

- DAKO HercepTest, No: K 5204

A. Wykrywanie receptorów dla estrogenów i progesteronu:

- Inkubowano preparaty przez 20-40 minut a łaźni wodnej w buforze cytrynianowym o pH 6,0 w temperaturze 95-99°C. Następnie pozostawiano preparaty w tym buforze na 20 minut.

- Płukano preparaty w buforze TBS przez 10 minut.

- Aktywność endogennej peroksydazy blokowano w 3-procentowym roztworze nadtlenu wodoru przez 10 minut, a następnie preparaty płukano w bieżącej wodzie przez 10 minut i przez 5 minut w buforze TBS.
- Inkubowano skrawki przez 60 minut ze swoistym przeciwciałem mysim rozcieńczonym w roztworze albuminy: anty ER 1:50 i anty PgR 1/100.
- Płukano preparaty w buforze TBS przez 10 minut.
- Inkubowano skrawki z kompleksem EnVision TM+/HRP (Mouse) przez 30 minut.
- Płukano preparaty w buforze TBS przez 10 minut.
- Inkubowano preparaty z DAB przez 2 minuty.
- Płukano skrawki w TBS przez 10 minut i pozostawiano w wodzie destylowanej.
- Jądra komórkowe podbarwiano hematoksyliną Mayera i pozostawiano w wodzie aż do zniebieszczenia.
- Przeprowadzono preparaty przez rosnący szereg alkoholi, odwodniono w ksylenie i zatopiono w medium.

B. Oznaczanie białka HER-2 metodą IHC:

- Odślonięcie epitopu (Epitope Retrieval Solution rozcieńczono 1:10; podgrzewano preparaty w łaźni wodnej w temperaturze 95–99% przez 40 minut, pozostawiono w buforze przez 20 minut, płukano Wash Buffer Solution).
- Blokowano aktywność endogennej peroksydazy przez 10 minut.
- Preparaty inkubowano z pierwszym przeciwciałem Rb A-Hu Her2 Protein przez 30 minut, płukano przez 10 minut w Wash Buffer Solution.
- Inkubowano z Visualization Reagent przez 30 minut; płukano w TBS przez 10 minut.
- Skrawki inkubowano z DAB przez 10 minut następnie płukano TBS.
- Podbarwiano skrawki hematoksyliną.
- Przeprowadzono przez szereg rosnący alkoholi, odwodniono w ksylenie i zatopiono w medium.

C. Wykrywanie amplifikacji genu HER-2 techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH).

Dzień 1.

1. Odparafinowanie skrawków

- Wkładano maksymalnie 6 szkiełek do kominka z 50 ml ksyleny- 2 x 10 minut.
- Przenoszono skrawki do kominka z alkoholem absolutnym- 2 x 5 minut.
- Przeprowadzono skrawki przez szereg alkoholi a następnie suszono.

2. Trawienie

- Preparaty wkładano na 25 minut do łaźni wodnej z 30% PS (Pretreatment Solution)
- Płukano 2 x SSC (5-10 sek.) w temperaturze pokojowej.
- Inkubowano skrawki w roztworze proteinyazy (Protein Digesting Solution) w temperaturze 42°C przez 15 minut.
- Płukano 2 x SSC (5-10 sek.) w temperaturze pokojowej.
- Preparaty suszono na powietrzu.

3. Ocena stopnia trawienia tkanki:

- Nakładano 10-15 μ l jodku Antifade na preparat, przykrywano szkiełkiem nakrywkowym a następnie za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego z odpowiednim filtrem, oceniano stopień strawienia tkanki.
- Usuwano szkiełko nakrywkowe, gdy stopień strawienia był odpowiedni i płukano a 2 x SSC przez 5-10 sek.
- Odwadniano w szeregu alkoholi o rosnących stężeniach: 70%, 80%, 95%; suszono

4. Przygotowanie sond przez zmieszanie 1,5 μ l sondy satelitarnej i 30 μ l sondy unikatowej.

5. Hybrydyzacja

- nakładano 10 μ l mieszaniny sond na preparat i nakryto szkiełkiem nakrywkowym
- przeprowadzano denaturację na płycie grzewczej- 5 minut,
- przenoszono preparaty do komory wilgotnej (37 °C)- hybrydyzacja przez noc.

Dzień 2.

6. Płukanie po hybrydyzacji

- umieszczano kominek, z buforem Wash Buffer, w nagrzanej do 65 °C łaźni wodnej
- w buforze Wash Buffer usuwano szkiełko nakrywkowe i klej
- przenoszono preparaty do nagrzanego Wash Buffer (65°C) i płukano przez 5 minut.
- przenoszono preparaty do kominka z roztworem 1 x PBD i płukano przez 5 minut w temperaturze pokojowej a następnie odwadniano w rosnących stężeniach alkoholu: 70%, 80%, 90% (po 1 minucie każde).

7. Detekcja

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

SPIS RYCIN

1. Dodatnia ekspresja jądrowa receptorów estrogenowych (ER).....	29
2. Dodatnia ekspresja jądrowa receptorów progesteronu (PgR).....	29
3. HER2 – dodatni odczyn błonowy (3+)	30
4. Czas przeżycia całkowitego w badanej grupie	38
5. Czas przeżycia całkowitego dwóch grup chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR).	38
6. Czas przeżycia całkowitego w podtypie IF1.....	39
7. Czas przeżycia całkowitego w podtypie IF2	39
8. Czas przeżycia całkowitego w podtypie IF3.....	40
9. Czas przeżycia całkowitego w podtypie IF4.....	40
10. Czas przeżycia bez progresji choroby w badanej grupie.....	41
11. Czas przeżycia bez progresji choroby dwóch grup chorych: z całkowitą odpowiedzią patologiczną (pCR) i bez całkowitej odpowiedzi patologicznej (nie-pCR)	41
12. Czas przeżycia bez progresji choroby w podtypie IF1.....	42
13. Czas przeżycia bez progresji choroby w podtypie IF2.....	42
14. Czas przeżycia bez progresji choroby w podtypie IF3.....	43
15. Czas przeżycia bez progresji w podtypie IF4.....	43

SPIS TABEL

I. Cechy kliniczno-patologiczne badanej grupy.....	25
II. Rodzaj stosowanej terapii przedoperacyjnej.....	27
III. Immunofenotypy	27
IV. Częstość pCR w funkcji parametrów kliniczno-histopatologicznych	32
V. Częstość pCR w funkcji stosowanej terapii	34
VI. Częstość pCR w funkcji immunofenotypu	34
VII. Częstość pCR w funkcji immunofenotypu (luminalny, Nieluminalny).....	34
VIII. Analiza jednoczynnikowa zależności całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) od wybranych parametrów	36
IX. Analiza wieloczynnikowa zależności całkowitej odpowiedzi patologicznej (pCR) od wybranych parametrów	36
X. Przykłady badań oceniających skuteczność chemioterapii przedoperacyjnej.....	44
XI. Przykłady badań oceniających skuteczność przedoperacyjnej terapii celowanej....	50