

Honorata Przybyszewska

**Współistnienie chorób tarczycy
ze schorzeniami gruczołu piersiowego
– wybrane aspekty**

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

Katedra i Klinika Onkologii Uniwersytetu Medycznego

im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2016

SPIS TREŚCI

WYKAZ NAJWAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW	1
SPIS TABEL	6
SPIS RYCIN	9
1. WSTĘP	11
1.1 Rys historyczny.....	11
1.2 Czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi:.....	19
1.3 Diagnostyka raka piersi	20
1.4 Ocena patomorfologiczna nowotworu	21
1.5 Czynniki predykcyjne w raku piersi	23
1.6 Czynniki prognostyczne w raku piersi	27
1.7 Tarczyca	34
2. CEL PRACY	46
3. MATERIAŁ	47
3.1 Charakterystyka grupy badanej	47
3.2 Charakterystyka grupy kontrolnej	62
4. METODYKA BADAŃ	68
4.1. Badania laboratoryjne:	68
4.2 Badanie obrazowe tarczycy:	69
4.3 Histopatologiczne opracowanie materiału:	70
4.4 Badania genetyczne.....	77
4.5 Analiza statystyczna	78
5. WYNIKI	80
5.1 Analiza czynników ryzyka wystąpienia raka piersi i cech klinicznych nowotworu	80
5.2 Analiza wpływu białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym	86
5.3 Wpływ zaburzeń zależnych od tarczycy na cechy guza nowotworowego	93
5.4 Analiza cech klinicznych tarczycy w zależności od stanu menopauzalnego	105
5.5 Analiza cech klinicznych tarczycy w zależności od ekspresji ER i PgR.....	115
5.6 Analiza cech nowotworu piersi w zależności od funkcji i struktury tarczycy w grupie chorych na raka piersi z potwierdzoną mutacją <i>BRCA1/2</i>	123

6. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA.....	127
6.1 Analiza czynników ryzyka wystąpienia raka piersi w badanej grupie	128
6.2 Analiza cech zależnych od tarczycy na występowanie chorób współistniejących	130
6.3 Analiza wpływu ekspresji białka p53 i cykliny D1 na cechy guza nowotworowego	132
6.4 Analiza wpływu parametrów zależnych od tarczycy na ryzyko występowania raka piersi	137
6.5 Analiza poszczególnych cech nowotworu u chorych przed i po menopauzie.....	155
6.6 Analiza ekspresji receptorów steroidowych w guzie nowotworowym.....	157
6.7 Analiza mutacji występujących w badanej grupie	158
8. WNIOSKI	162
9. STRESZCZENIE	163
10. ABSTRACT	167
11. PIŚMIENNICTWO	171

WYKAZ NAJWAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW

ACR	ang. American College of Radiology; Amerykańskie Towarzystwo Radiologiczne
ADH	ang. atypical ductal hyperplasia; atypowy rozrost przewodowy
AIF	ang. apoptosis inducing factor; czynnik indukujący apoptozę
ALH	ang. atypical lobular hyperplasia; atypowy rozrost zrazikowy
Anty – Tg	przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie
Anty-TPO	przeciwciała przeciwko peroksydazie tarczycowej
ASA	ang. allele specific amplification; metoda allelo – specyficznej amplifikacji
BAC	biopsja aspiracyjna cienkoigłowa
BCT	breast conserving treatment – leczenie oszczędzające piers
BIRADS	ang. Breast Imaging Reporting and Data System; system oceny gruczołu piersiowego w badaniach obrazowych
BMI	ang. body mass index; wskaźnik masy ciała
BRCA1	ang. Breast Cancer 1; gen supresorowy zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 17
BRCA2	ang. Breast Cancer 2; gen supresorowy zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 13
CAM	ang. cell adhesion molekule, cząsteczki adhezji komórkowej
CAP	ang. College of American Pathologist; Amerykańskie Stowarzyszenie Patologów
CK	cytokeratyna
CKD	cyklina zależna od kinazy
CKI	inhibitor kinaz zależnych od cyklin
D1	dejodynaza typu 1
DCIS	łac. ductal carcinoma in situ – rak przewodowy in situ; wewnątrzprzewodowy rak piersi przedinwazyjny
DFS	ang. disease free survival; przeżycie wolne od choroby

DHPLC	ang. denaturing high-performance liquid chromatography, wysokosprawna denaturująca chromatografia cieczowa
ECM	ang. extracellular matrix; substancja międzykomórkowa
EGF	ang. epidermal growth factor; naskórkowy czynnik wzrostu
EGFR	ang. Epidermal Growth Factor Receptor – receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu
EMP17	ang. epithelial membrane protein 17
ER alfa	receptor estrogenowy typu alfa
ER beta	receptor estrogenowy typu beta
EUSOMA	ang. European Society of Breast Cancer Specialists; Europejskie Towarzystwo Specjalistów Raka Piersi
FGF	ang. fibroblast growth factor; czynnik wzrostu fibroblastów
FISH	ang. fluorescence in situ hybridization; fluorescencyjna hybrydyzacja in situ
ft3	3,5,3'- trójiodotyronina
ft4	3,5,3',5'- tetrajodotyronina, tyroksyna
G	grading; stopień złośliwości histologicznej
GABA	kwas gamma- aminomasłowy
GH	ang. growth hormone; hormon wzrostu; somatotropina
GIODO	Generalny Inspektor Ochrony Danych Osobowych
HBC – ss	ang. hereditary breast cancer – site specific; dziedziczny rak piersi - specyficzny narządowo
HBOC	ang. hereditary breast-ovarian cancer; dziedziczny rak piersi - jajnika specyficzny narządowo
HCG	ang. chorionic gonadotropin; gonadotropina kosmówkowa
HER1	ang. Human Epidermal Growth Factor Receptor 1; ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 1
HER2	ang. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2; ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 2
HER3	ang. Human Epidermal Growth Factor Receptor 3; ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 3

HER4	ang. Human Epidermal Growth Factor Receptor4; ludzki receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu typu 4
HOC	ang. hereditary ovarian cancer; dziedziczny rak jajnika specyficzny narządowo
HT	hormony tarczycy
HTZ	hormonalna terapia zastępcza
IA	inhibitor aromatazy
IGF-1	ang. insulin-like growth factor; insulinopodobny czynnik wzrostu typu 1
IFN gamma	interferon gamma
IL	interleukina
IS	siła wybarwienia jader komórkowych
ISH	ang. in situ hybridization; hybrydyzacja in situ
Ki67	marker proliferacji komórkowej
LH	ang. luteinizing hormone; hormon luteinizujący; lutropina
LI	ang. labeling index
LCIS	ang. lobular carcinoma in situ; przedinwazyjny rak zrazikowy
LHRH	gonadoliberyna
LPO	laktopeoksydaza
MAP	ang. miogen-activated protein; białko aktywowane mitogenem
MAP17	ang. membrane associated protein 17
MAPK	ang. mitogen-activated protei kinase, MAP kinase, kinaza MAP
MLPA	ang. multiplex ligation dependent probe amplification; zależna od ligacji multipleksowa amplifikacja sond
MMR	mammografia
mRNA	ang. messenger RNA; informacyjny kwas rybonukleinowy
mTOR	ang. mammalian target of rapamycin
MR	rezonans magnetyczny

NST	ang. invasive carcinoma of no special type, rak bez specjalnego typu
OFS	ovaria function suppression; wyłączenie funkcji jajników
OM	wiek ostatniej miesiączki
OS	ang. overall survival; przeżycie całkowite
p	poziom istotności statystycznej
p53	onkoproteina, produkt genu <i>P53</i>
PCO	łac. syndroma ovariorum polycysticum; zespół wielotorbielowatych jajników
PDGF	ang. platelet-derived growth factor; płytkopodobny czynnik wzrostu
PFS	ang. progression free survival; przeżycie wolne od progresji
PG-E2	prostaglandyna E2
PgR	receptor dla progesteronu
PI3K	phosphatydynoinozytol-3-OH kinaza
PM	wiek pierwszej miesiączki
PPWWRP	Populacyjny Program Wczesnego Wykrywania Raka Piersi
PRL	prolaktyna
PS	odsetek wybarwionych jąder komórkowych
RFLP/PCR	ang. restriction fragment polymorphism/PCR; wykrywanie mutacji za pomocą enzymów restrykcyjnych w produktach PCR
SAA1	ang. serum amyloid A1
SHGB	ang. sex hormone binding globulin; globulina wiążąca hormony płciowe
STAT	ang. signal transducers and activators of transcription; transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji
TAM	tamoksifen
TBG	globulina wiążąca tyroksynę
Tg	tyreoglobulina

TGF alfa	ang. transforming growth faktor alfa; transformujący czynnik wzrostu alfa
TGF beta	ang. transforming growth faktor alfa; transformujący czynnik wzrostu beta
TNF	ang. tumor necrosis factor; czynnik martwicy nowotworów
TPO	tyreoperoksydaza
TR	receptor dla hormonów tarczycy
TRAK	przeciwciała przeciwko receptorowi dla TSH (TSHR)
TRH	tyreoliberyna
TSH	tyreotropina
TTR	transtyretyna
USG	ultrasonografia
VEGF	ang. vascular endothelial growth factor; naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu
VIP	ang. vasoactive intestinal peptide; wazoaktywny peptyd jelitowy
VNPI	ang. The Van Nuys Prognostic Index; Indeks Van Nuys
WHO	ang. World Health Organization; Światowa Organizacja Zdrowia

SPIS TABEL

Tabela I.	Rozkład wieku chorych na raka piersi w grupie badanej (n=100)
Tabela II.	Choroby współistniejące u chorych na raka piersi (n=20), z wyłączeniem cukrzycy typu 2., niewydolności serca NYHA I/II oraz chorób nowotworowych w wywiadzie
Tabela III.	Rozkład masy ciała (BMI kg/m ²) w grupie chorych na raka piersi (n=100)
Tabela IV.	Choroby tarczycy w wywiadzie wśród chorych na raka piersi (n=31)
Tabela V.	Wyniki badań laboratoryjnych, dotyczących funkcji tarczycy (TSH, fT3, fT4, anty-TPO, TRAK) w grupie badanej (n=100)
Tabela VI.	Wyniki badania ultrasonograficznego tarczycy u chorych na raka piersi (n=100), gdzie v – objętość tarczycy, n - norma
Tabela VII.	Wiek pierwszej miesiączki (PM) u chorych na raka piersi (n=100)
Tabela VIII.	Wiek ostatniej miesiączki (OM) u chorych na raka piersi (n=100)
Tabela IX.	Czas trwania antykoncepcji u chorych na raka piersi – dane z wywiadu (n=21)
Tabela X.	Ocena aktywności fizycznej u kobiet w grupie badanej (n=100) w skali od 0-3
Tabela XI.	Zakres BMI u chorych na raka piersi, które do tej pory nie podejmowały wysiłku fizycznego (n=20)
Tabela XII.	Ocena odżywiania w grupie badanej (n=100) w skali od 0-3
Tabela XIII.	Zakres masy ciała u chorych na raka piersi, które oceniły swój sposób odżywiania za bardzo niezdrowy (n=22)
Tabela XIV.	Narażenie na modyfikowalne czynniki ryzyka występowania raka piersi u kobiet w grupie badanej (n=37)
Tabela XV.	Określenie wielkości guza nowotworowego w badaniu histopatologicznym w grupie badanej (pT), n=100
Tabela XVI.	Ocena stopnia zaawansowania nowotworu w węzłach chłonnych (pN), n=100
Tabela XVII.	Ocena stopnia złośliwości histologicznej nowotworu (G), n=100
Tabela XVIII.	Rozpoznanie histopatologiczne guza nowotworowego w grupie badanej (n=100)

Tabela XIX.	Wybrane cechy immunohistochemiczne guzów nowotworowych (ER, PgR, HER2, p53, cyklina D)
Tabela XX.	Ocena indeksu proliferacji Ki67 w guzie nowotworowym
Tabela XXI.	Wybrane cechy immunohistochemiczne w rakach przedinwazyjnych (n=7)
Tabela XXII.	Ocena immunohistochemiczna wybranych rozrostów atypowych (ALH, ADH) w grupie badanej
Tabela XXIII.	Rozkład wieku kobiet w grupie kontrolnej (n=30)
Tabela XXIV.	Zachorowania na nowotwory łagodne w rodzinie w grupie kontrolnej (n=30)
Tabela XXV.	Choroby współistniejące u kobiet w grupie kontrolnej (n=11)
Tabela XXVI.	Wiek pierwszej miesiączki (PM) u kobiet w grupie kontrolnej (n=30)
Tabela XXVII.	Wiek ostatniej miesiączki (OM) u kobiet w grupie kontrolnej (n=11)
Tabela XXVIII.	Czas trwania antykoncepcji u kobiet w grupie kontrolnej (n= 7)
Tabela XXIX.	Czas trwania hormonalnej terapii zastępczej u kobiet w grupie kontrolnej (n= 6)
Tabela XXX.	Rozkład masy ciała w grupie kontrolnej (n=30) na podstawie BMI (kg/m ²)
Tabela XXXI.	Sposób odżywiania kobiet w grupie kontrolnej (n=30) w skali od 0 do 3
Tabela XXXII.	Aktywność fizyczna u kobiet w grupie kontrolnej (n=30) w skali od 0 do 3
Tabela XXXIII.	Modyfikowalne czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi u kobiet w grupie kontrolnej (n=9)
Tabela XXXIV.	Wyniki badania ultrasonograficznego tarczycy u kobiet w grupie kontrolnej (n=30)
Tabela XXXV.	Czynniki ryzyka raka piersi a cechy kliniczne i histopatologiczne nowotworu w grupie badanej (n=100)
Tabela XXXVI.	Czynniki ryzyka raka piersi a cechy immunohistochemiczne nowotworu w grupie badanej (n=100)
Tabela XXXVII.	Analiza wybranych parametrów dotyczących tarczycy i ich wpływ na występowanie chorób współistniejących

- Tabela XXXVIII** Analiza wpływu białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym na inne cechy kliniczne, histopatologiczne i immunohistochemiczne raka
- Tabela XXXIX.** Analiza poziomu anty-TPO w surowicy na ekspresję receptorów steroidowych (ER, PgR) w guzie nowotworowym ($p>0,05$)
- Tabela XL.** Zależność pomiędzy masą ciała (BMI) a występowaniem nowotworu w grupie kobiet przed i po menopauzie ($p=0,01$)
- Tabela XLI.** Porównanie chorych na raka piersi przed ($n=24$) i po menopauzie ($n=76$) z grupą kontrolną ($n=30$) pod względem poziomu w surowicy anty-TPO, prolaktyny oraz objętości tarczycy i obecności hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy
- Tabela XLII.** Porównanie kobiet przed menopauzą: grupa badana ($n=23$) i grupa kontrolna ($n=19$) pod względem poziomu w surowicy anty-TPO i prolaktyny oraz objętości tarczycy i obecności hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy
- Tabela XLIII.** Porównanie kobiet po menopauzie: grupa badana ($n=74$) i grupa kontrolna ($n=11$) pod względem poziomu w surowicy anty-TPO i prolaktyny oraz objętości tarczycy i obecności hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy
- Tabela XLIV.** Analiza liczby zachorowań w rodzinie u chorych na raka piersi z guzem wykazującym ekspresję receptorów steroidowych
- Tabela XLV.** Analiza obecności białka p53 i cykliny D1 w grupie chorych na raka potrójnie ujemnego w porównaniu z grupą chorych z rakiem luminalnym
- Tabela XLVI.** Porównanie grupy chorych na raka piersi z guzem z ekspresją receptorów steroidowych, z guzem potrójnie ujemnym oraz grupy kontrolnej pod względem poziomu anty-TPO i prolaktyny w surowicy oraz objętości tarczycy i obecności hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy
- Tabela XLVII.** Wyniki badań genetycznych u chorych na raka piersi – dane z wywiadu i dokumentacji własnej pacjentek ($n=3$)
- Tabela XLVIII.** Badania przeprowadzone w Poradni Genetycznej *GENESIS* u chorych na raka piersi ($n=32$)
- Tabela XLIX.** Wybrane czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi u nosicieli mutacji w genach *BRCA1*, *BRCA2*, *NOD2*
- Tabela L.** Cechy guza nowotworowego piersi i wybrane cechy tarczycy u nosicieli mutacji w genach *BRCA1*, *BRCA2*, *NOD2*

SPIS RYCIN

- Rycina 1.** Ekspresją jądrowych receptorów estrogenowych >75% w komórkach raka przewodowego; powiększenie 20 x
- Rycina 2.** Ekspresja jądrowych receptorów progesteronowych >75% w komórkach raka przewodowego; powiększenie 20 x
- Rycina 3.** Reakcja barwna obrazująca ekspresję białka p53 w komórkach nowotworowych, wybarwiono 100% komórek, intensywność barwienia +++; powiększenie 20x
- Rycina 4.** Reakcja barwna obrazująca ekspresję białka p53 w komórkach nowotworowych, wybarwiono >70% komórek, intensywność barwienia +++; powiększenie 20x
- Rycina 5.** Reakcja barwna obrazująca ekspresję białka p53 w komórkach nowotworowych, wybarwiono <10% komórek, intensywność barwienia +; powiększenie 20x
- Rycina 6.** Reakcja barwna obrazująca ekspresję cykliny D1 w komórkach raka, wybarwienie około 100% komórek, intensywność barwienia ++; powiększenie 20x
- Rycina 7.** Reakcja barwna obrazująca ekspresję cykliny D1 w komórkach raka, wybarwienie około 50% komórek, intensywność barwienia ++; powiększenie 20x
- Rycina 8.** Reakcja barwna obrazująca ekspresję cykliny D1 w komórkach raka, wybarwienie około 5% komórek, intensywność barwienia ++; powiększenie 20x
- Rycina 9.** Ekspresja błonowego receptora HER2 (Score =3+) w komórkach raka przewodowego; powiększenie 20 x
- Rycina 10.** Porównanie wielkości guza (T) w zależności od wieku wystąpienia pierwszej miesiączki (PM)
- Rycina 11.** Wpływ występowania przynajmniej 1poronienia w wywiadzie na stopień zajęcia węzłów chłonnych
- Rycina 12.** Zależność pomiędzy poziomem anty-TPO w surowicy a występowaniem guza jajnika w wywiadzie
- Rycina 13.** Częstość występowania cukrzycy typu 2. u kobiet badanych z zaburzeniem struktury tarczycy
- Rycina 14.** Zależność pomiędzy ekspresją białka p53 w komórkach raka a stopniem złośliwości histologicznej
- Rycina 15.** Zależność pomiędzy ekspresją białka p53 w komórkach raka a stopniem proliferacji Ki67
- Rycina 16.** Zależność pomiędzy obecnością białka p53 w komórkach nowotworowych a ekspresją receptorów estrogenowych w guzie
- Rycina 17.** Zależność pomiędzy obecnością białka p53 w komórkach nowotworowych a ekspresją receptorów progesteronowych w guzie
- Rycina 18.** Zależność pomiędzy ekspresją cykliny D1 w komórkach raka a obecnością receptorów estrogenowych w komórkach nowotworowych
- Rycina 19.** Zależność pomiędzy ekspresją cykliny D1 w komórkach raka a obecnością receptorów progesteronowych w komórkach nowotworowych
- Rycina 20.** Zależność pomiędzy poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy a ekspresją receptorów progesteronowych

- Rycina 21.** Zależność pomiędzy poziomem przeciwciała anty-TPO w surowicy w surowicy a ekspresją białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym
- Rycina 22.** Zależność pomiędzy objętością tarczycy a ekspresją białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym
- Rycina 23.** Ekspresja białka p53 i cykliny D1 w komórkach raka piersi u kobiet z obecnością i bez hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy
- Rycina 24.** Zależność pomiędzy występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy a stopniem proliferacji Ki67 nowotworu piersi
- Rycina 25.** Zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem izolowanego nowotworu bez specjalnego typu (NST)
- Rycina 26.** Ekspresja białka p53 w komórkach guza nowotworowego w zależności od poziomu prolaktyny w surowicy
- Rycina 27.** Ekspresja cykliny D1 w komórkach guza nowotworowego w zależności od poziomu prolaktyny w surowicy
- Rycina 28.** Porównanie masy ciała (BMI) u kobiet przed i po menopauzie
- Rycina 29.** Zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy u pacjentek i ekspresją cykliny D1 w komórkach raka
- Rycina 30.** Zależność pomiędzy występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w tarczycy a stanem menopauzalnym – porównanie grupy kobiet przed i po menopauzie
- Rycina 31.** Częstość występowania wola w grupie kobiet badanych: przed i po menopauzie oraz w grupie kontrolnej
- Rycina 32.** Występowanie wola u kobiet po menopauzie w grupie badanej (n=74) i grupie kontrolnej (n=11)
- Rycina 33.** Występowanie hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy u kobiet po menopauzie w grupie badanej (n=74) i grupie kontrolnej (n=11)
- Rycina 34.** Zależność pomiędzy ilością zachorowań na nowotwory w rodzinie a występowaniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych (ER, PgR)
- Rycina 35.** Zależność pomiędzy ekspresją białka p53 w guzie nowotworowym a rakiem potrójnie ujemnym
- Rycina 36.** Zależność pomiędzy białkiem p53 a ekspresją receptorów steroidowych (ER, PgR) w guzie nowotworowym
- Rycina 37.** Porównanie objętości tarczycy u kobiet w grupie kontrolnej z grupą chorych na raka piersi potrójnie ujemnych oraz z ekspresją receptorów steroidowych w guzie nowotworowym

1. WSTĘP

Rak piersi jest najczęstszym nowotworem występującym u kobiet zarówno w Polsce jak i na świecie; można uznać, że jest to obecnie problem społeczny. W 2013 r. w Polsce zarejestrowano 21,9% przypadków wśród nowotworów złośliwych u kobiet. Według Krajowego Rejestru Nowotworów w Polsce w 2013 r. liczba zachorowań na nowotwory złośliwe piersi u kobiet wynosiła nieco ponad 17000¹. W Krajach Unii Europejskiej w roku 2008 zanotowano 330 tys. zachorowań na raka piersi i 89 tys. zgonów z tego powodu. W Polsce jest to druga po raku płuca przyczyna zgonów spowodowanych przez nowotwory złośliwe wśród kobiet.

Ryzyko zachorowania na raka piersi wzrasta z wiekiem - po 50 roku życia występuje blisko 80% zachorowań, przy czym prawie 50 % między 50 a 69 rokiem życia. W siódmej dekadzie życia kobiet ryzyko zachorowania na raka piersi zaczyna się zmniejszać.

W ciągu ostatnich dekad obserwuje się wzrost zachorowalności na nowotwory złośliwe piersi u kobiet z jednoczesnym spadkiem umieralności z tego powodu obserwowanym, który wynika ze znacznego postępu zarówno w diagnostyce jak i w leczeniu nowotworów piersi.²

W ostatnich latach obserwuje się również znaczny wzrost występowania chorób tarczycy i można zauważyć związek pomiędzy nieprawidłowościami funkcji i struktury tarczycy a schorzeniami gruczołu piersiowego.

1.1 Rys historyczny

Pierwsze wzmianki o zaburzeniach czynności tarczycy sięgają XVIII w. Były to z reguły opisy wyglądu zewnętrznego: wole z wytrzeszczem, wole z niedorozwojem psychicznym. Teophil de Bordeu jako jeden z pierwszych opisywał, że tarczyca, grasicca i śledziona mogą wydzielać „substancje bliżej nieokreślone”, które mogą mieć wpływ na rozwój organizmu. Opis zaburzeń czynności tarczycy i ich wpływu na serce zauważono w 1786 roku, a następnie opublikowano w *Elements of Pathology and Therapeutic* - Caleb Hillier Parry (1815r).

Pierwszy opisał wole z wytrzeszczem w 1835 r. Robert Graves, opis uzupełnił w 1840 r. Karl Adolph von Basedow. Ten ostatni podał typowe objawy nadczynności, znane jako tzw. triada merseburska: wole, wytrzeszcz gałek ocznych i przyspieszenie tętna. Natomiast pierwsze objawy kretynizmu towarzyszącego niedoczynności tarczycy

opisał Thomas Blizzard Curling w 1850 r. W 1856 roku dokonano pierwszej próby przeszczepienia tarczycy choremu z niedoczynnością tarczycy. W 1912 roku japoński chirurg, Hakaru Hashimoto, opublikował w *Archiv für klinische Chirurgie* wyniki swojej pracy nad tkanką tarczycy. Opisał przypadki wola, którym w badaniu histopatologicznym towarzyszyły obfite nacieki limfocytarne – struma lymphomatosa, nazywane dzisiaj zapaleniem tarczycy Hashimoto.

Pierwsze doniesienia o związku zaburzeń czynności tarczycy z występowaniem nowotworów piersi pochodzą z połowy XX wieku. W Mayo Clinic przeprowadzono badanie chorych z niedoczynnością tarczycy. Autorzy próbowali udowodnić wpływ suplementów tarczycy na ryzyko wystąpienia raka piersi, jednak wyniki badania nie potwierdziły zwiększonego ryzyka wystąpienia raka przy stosowaniu doustnym L-tyroksyny.³ W 1981 r. opublikowano wyniki obserwacji 2523 kobiet z chorobami tarczycy. Zauważono, że w tej grupie rak piersi występował znacznie częściej aniżeli w populacji ogólnej.⁴ W 1986 r. po raz pierwszy zauważono zależność, iż po leczeniu raka piersi napromienianiem u chorych rozwijała się niedoczynność tarczycy. Do badania włączono 80 chorych na raka piersi. Po mastektomii otrzymały one napromienianie uzupełniające w dawce 45 Gy w ciągu 3 – 4 tygodni. Obserwacja trwała 7,2 lat +/- 1 rok. U 5 z nich stwierdzono jawną niedoczynność tarczycy, u 12 – poziom TSH w surowicy przekraczał normę przy prawidłowym stężeniu fT3 i fT4 w surowicy.⁵ Goldman badał przyczyny zgonów kobiet z łagodnymi schorzeniami tarczycy w latach 1925 do 1974. Ponad 20% chorych zmarło z powodu raka piersi. Najniższą śmiertelność zaobserwował u chorych z chorobą Hashimoto, najwyższą u chorych z wolem guzkowym obojętnym współistniejącym z rakiem piersi.⁶ Irlandzcy naukowcy, poszukujący związku pomiędzy chorobami tarczycy a rakiem piersi, przebadali chore na raka piersi pod względem czynności i struktury tarczycy. W badanej grupie nadczynność i niedoczynność tarczycy występowała z podobną częstością, co w grupie kontrolnej. U chorych na raka piersi dwukrotnie częściej występowało wole w stosunku do grupy kontrolnej (44,5% vs. 10,5%).⁷ W 1996 r. włoscy badacze podjęli próbę wyjaśnienia zależności pomiędzy dysfunkcją tarczycy a występowaniem raka piersi. Przeprowadzili prospektywne badanie, do którego włączyli 104 chore na raka piersi i 100 kobiet grupy kontrolnej. Ocenili profil immunohistochemiczny guza nowotworowego oraz czynność i strukturę tarczycy. Podsumowując stwierdzili, że choroby tarczycy występowały zdecydowanie częściej u chorych na raka piersi, aniżeli

w grupie kontrolnej, szczególnie choroby autoimmunologiczne, tj wole Hashimoto.¹²⁵ Vassilopoulou zajął się badaniem zależności pomiędzy rakiem tarczycy i rakiem piersi. Opublikował wyniki swoich badań, z których wynikało, iż ryzyko raka piersi było wyższe u młodych kobiet z rakiem gruczołu tarczowego w wywiadzie, aniżeli w grupie kobiet u których nigdy wcześniej nie stwierdzono zmian nowotworowych w tarczycy.⁸ Podobne wyniki badania na grupie chorych poniżej 45 roku życia ogłosili niezależni badacze: Li Ci oraz Chen AY.^{9,10} Polska autorka, K. Mizia-Stec opisała grupę kobiet ze stwierdzonymi zmianami mastopatycznymi w piersi. U 80% tych pacjentek zdiagnozowano wole obojętne, weryfikowane badaniem ultrasonograficznym oraz poziomami hormonów w surowicy – u pacjentek w wieku pomepauzalnym stwierdzono obniżony poziom trójiodotyroniny. Stwierdzono u nich również podwyższony poziom hormonu – prolaktyny (PRL).¹¹ Rola prolaktyny w procesie kancerogenezy raka piersi była niejednoznaczna. W latach 90-tych XX wieku wykazywano, że ma działanie mitogenne na komórki nowotworu piersi oraz, że jej wzrost zwiększa ryzyko wystąpienia raka piersi u kobiet dotąd zdrowych.^{12/13} Z drugiej strony publikowano kolejne prace, które udowadniały, że pod wpływem PRL dochodzi do zahamowania naciekania tkanek przez nowotwór i namnażania się komórek nabłonkowych oraz wykazywano jej działanie antyangiogenne.^{14/15} Grupa badaczy pod kierownictwem Turkingona przeprowadziła obserwację pacjentek, którym przecięto lejek przysadki, co powodowało utrzymywanie się wysokiego stężenia PRL w surowicy i jednocześnie regresję nowotworu. Wynik tych badań opublikowano w 1971r.¹⁶ Piętnaście lat później wysunięto hipotezę, że pacjentki z wysokim poziomem PRL i jednocześnie brakiem przerzutów w węzłach chłonnych miały mieć wyższy wskaźnik przeżywalności.¹⁷ Powiązано to z obecnością aktywnego czynnika transkrypcyjnego STAT5, który jest indukowany przez interleukinę 2 za pośrednictwem PRL.¹⁸ Białko to odgrywa istotną rolę w wytwarzaniu interferonu gamma (IFN gamma) przez komórki odpornościowe Th1. Aktywne białko STAT5 jest podstawowym czynnikiem indukcji i utrzymania ekspresji białka FOXP3. Czynniki FOXP3 podlega autoregulacji, mogąc hamować aktywację STAT5, jest elementem niezbędnym do ekspresji genów *TGF-beta*, *IL-10*, *IL-35*.¹⁹

Wzajemne zależności między układem endokrynnym i systemem odpornościowym są przedmiotem coraz większego zainteresowania. Istnieją przesłanki,

że zaburzenia funkcjonowania tych dwóch układów mogą stać się w sprzyjających warunkach początkiem procesu karcynogenezy.

Najstarsze traktaty medyczne, w których zachowały się wzmianki dotyczące nowotworów piersi to papirus Smitha spisany ok. 1600 r. p.n.e., który zawiera 8 opisów guzów piersi, siedem prawdopodobnie było zmianą zapalną, jeden z wysokim prawdopodobieństwem – zmianą nowotworową.²⁰ Z ok. 1500 r. p.n.e. pochodzi kolejny dokument – papirus Ebersa. Można znaleźć tutaj osiem przypadków raka piersi, w tym jeden występujący u mężczyzny. Podstawą terapii na owe czasy były zioła oraz środki lecznicze pochodzenia zwierzęcego i mineralnego podawane w różnych postaciach z towarzyszącymi zaklęciami, które miały wzmocnić moc mikstur. Zabiegowe leczenie guzów polegało przede wszystkim na ich wypalaniu.

Hipokrates z Koss (460-377 r. p.n.e) na podstawie obrazu klinicznego nazwał guzy nowotworowe „karkinos”, wyróżniając zmiany owrzodziałe, czyli otwarte i nieowrzodziałe, czyli ukryte. Odradzał jednak jakichkolwiek zabiegów chirurgicznych, gdyż jak uważał, mogą „przyspieszać rozwój nowotworu”.²⁰ Pierwszy opis nowotworu piersi jako jednostki chorobowej zawdzięczamy Corneliusowi Celsusowi (25 r. p.n.e. – 50 r. n.e.), który opisał cztery stopnie zaawansowania choroby, w jednej z ośmiu ksiąg swojego autorstwa poświęconych medycynie. Dzieło to wydano dopiero w 1478 r. Był zwolennikiem zachowawczego postępowania podobnie jak Hipokrates.

Słowo „rak” zostało pierwszy raz użyte w 675 r. n.e. przez Pawła z Eginy, chirurga, autora „Traktatu o medycynie”. Rozpowszechnił je Avicenna, autor „Canon Medicinae”, gdzie porównał guz do raka, wszczepiającego się swoimi szczypcami w zdrową tkankę. Jego dzieło stanowiło podstawę nauczania na uniwersytetach medycznych w całej Europie, spychając na drugi plan nauki Galena, który do tej pory stanowił niewzruszony autorytet medycyny.

Pierwsze wzmianki o amputacji piersi z powodu nowotworu pochodzą z ok. 150 r. n.e. Zabieg amputacji bez węzłów chłonnych wykonał Leonides z Aleksandrii i obowiązywał on przez kilka kolejnych wieków. Dopiero w XIII wieku William Salicet określił nowotwór jako zmianę wrastającą do otaczających naczyń i gromadzącą „czarną żółć”, czyli „melancholię”. Jediną metodą wyleczenia według jego wiedzy było wycięcie korzeni guza. W XVI w. Saverino jako pierwszy usunął powiększone węzły chłonne razem z gruczołem piersiowym. W tamtym czasie chirurdzy usuwali guzy o bardzo dużym zaawansowaniu miejscowym, a wyniki ich leczenia nie były

zadowalające. Przełomem w myśleniu było ogłoszenie w 1757 r. teorii o etapowym postępie raka piersi przez Le Dran'a. Uznał, iż powiększone węzły chłonne są niekorzystnym czynnikiem prognostycznym i świadczą o szerzeniu się nowotworu przez naczynia limfatyczne do krążenia, tzw. „rakowej chłonki”. Zalecał leczenie chirurgiczne w jak najwcześniejszej fazie rozwoju choroby. Jego następcą był Francuz, Jean Louis Petit, który usuwał oprócz węzłów chłonnych i gruczołu piersiowego w jednym bloku również mięsień piersiowy. Niezależnie podobny zakres zabiegu wykonywał Benjamin Bell. Jednak mimo rozwoju nauki i radykalizacji leczenia chirurgicznego brakowało skutecznej metody leczenia. Choroby nowotworowe stały się bardzo istotną szybko rozwijającą się gałęzią nauki. Giovanni Battista Morgagni jako jeden z pierwszych opisał zmiany histologiczne w komórce nowotworowej. J. Hunter opisał genezę nowotworów z podścieliska, zaś M.F.X. Bichat – z tkanki łącznej. Przełomem było porównanie nowotworu do tkanki embrionalnej gospodarza na przełomie lat 1837/1838 r. przez J. Mullera, zaś w 1875 r. Julius Friedrich Cohnheim wysunął hipotezę, że atypowość komórek nowotworowych wynika z nieprawidłowego podziału mitotycznego i zaburzeń procesu ontogenezy. Zawiązki zarodkowe, które mogą znaleźć się w innych narządach mają zdolności multipotencjalne i w sprzyjających warunkach mogą powodować niekontrolowany wzrost. Na przebieg leczenia nowotworów piersi ogromny wpływ miała ogłoszona w 1858 roku teoria szerzenia się nowotworu przez Virchowa w dziele „Die Cellularpathologie”.²⁰

Dalsze badania nad teorią nowotworzenia prowadził Ilja Miecznikow, który dowodził, że rozwój nowotworów jest uzależniony od czynników egzogennych – wirusów i bakterii. A. Borrel ogłosił w 1903 r. teorię wirusowego podłoża nowotworów. Dwóch badaczy niezależnie od siebie przeprowadziło doświadczenie wstrzyknięcia przesączu z chorych ptaków, wstrzykując je zdrowym osobnikom, zarażając białaczką i mięsakiem (W. Ellerman i P. Rous). W 1951 r. L. Gross wykonał podobne doświadczenie na myszach i zaraził zdrowe osobniki chorobą rozrostową krwi; natomiast w 1957 r. H. Kaplan wysunął teorię o istnieniu utajonych wirusów białaczki, które w sprzyjających warunkach mogą rozwinąć u zdrowego organizmu chorobę nowotworową.

Pierwsze chirurgiczne sukcesy leczenia raka piersi odnotował amerykański chirurg William Stewart Halsted. Leczenie polegało na usunięciu gruczołu piersiowego z mięśniami piersiowymi i węzłami chłonnymi jamy pachowej. Był to zabieg

czasochłonny, powodujący znaczne uszkodzenia i zniekształcenia u chorych, upośledzenie sprawności oraz wiążący się ze znaczną śmiertelnością okołoperacyjną, a sama rana goiła się przez kilka miesięcy. Konieczność tak rozległego zabiegu tłumaczył sam operator, iż jest to jedyna metoda kontroli nad rozprzestrzeniającą się chorobą i wynikała z braku możliwości makroskopowej oceny nacieku nowotworu. Mimo to procedura ta była popularna do lat 70 XX wieku, ze względu na brak innej alternatywy.

W roku 1958 chirurg z Mayo Clinic – Urban wprowadził operację bardziej radykalną z otwarciem klatki piersiowej, która poza gruczołem piersiowym, mięśniami piersiowym i węzłami chłonnymi dołu pachowego obejmowała również węzły chłonne położone wzdłuż naczyń piersiowych wewnętrznych. W tym samym czasie David Patey opracował zmodyfikowaną metodę amputacji piersi, która nie obejmowała mięśnia piersiowego większego, a mięsień piersiowy mniejszy przecinał, żeby mieć lepszy dostęp do węzłów chłonnych. John L. Madden (1965 r.) zmodyfikował zabieg radykalny, oszczędzając oba mięśnie piersiowe. Dalszy postęp nauki dążył do zminimalizowania zakresu zabiegu jeśli tylko było to możliwe i zalecał leczenie oszczędzające z zachowaniem gruczołu piersiowego z następową radioterapią. Przełomu tego dokonał w 1985 roku Umberto Veronesi, który stwierdził, że w określonej grupie kobiet wykonanie kwadrantektomii z następową radioterapią daje takie same wyniki leczenia jak mastektomia – stworzył pojęcie BCT (breast conserving therapy), czyli leczenia oszczędzającego.

Pierwszym radioterapeutą, który zastosował promienie X w leczeniu zaawansowanego raka piersi był Grubbe (1875-1960). W 1941 r. McWriter po raz pierwszy zastosował radioterapię w leczeniu uzupełniającym raka piersi po zabiegu radykalnym. W latach 90-tych XX wieku Donald Morton z John Wayne Cancer Institute opisał śródoperacyjną metodę oceny węzłów wartowniczych w czerniaku, tym samym określając z dużą dokładnością stan pozostałych węzłów chłonnych. W 1994 r. Guilliano zaadoptował tę metodę w leczeniu operacyjnym raka piersi. Umożliwiło to skuteczne leczenie chirurgiczne z minimalnymi powikłaniami leczenia chirurgicznego i bardzo dobrym efektem kosmetycznym. Biopsja węzła wartowniczego (SLNB – sentinel lymph node biopsy) została uznana za wystarczającą metodę zastępującą limfadenektomię pachową u chorych na raka piersi z kliniczną cechą N0.²¹ Aktualnie dynamicznie rozwijającą się dziedziną chirurgii jest gałąź chirurgii rekonstrukcyjnej piersi obejmująca implanty i rekonstrukcje z tkanek własnych.

XIX wiek to również poszukiwania nad podłożem genetycznym występowania nowotworów. Pierwszym, który opisał rodzinne występowanie raka piersi był Paul Pierre Brock, który w swojej pracy przedstawił historię zachorowania na raka piersi swojej żony oraz dziewięciu innych kobiet z jej rodziny w czterech pokoleniach. H.J.Muller zastosował promienie Roentgena, by uzyskać sztuczną mutację – mutacji ulegał gen odpowiedzialny za inicjację i rozwój podziałów komórkowych. Wysunął teorię, że nowotwory powstają na skutek mutacji genów, które mogą powstawać spontanicznie lub na skutek działania czynników zewnętrznych, tj. chemicznych, fizycznych i biologicznych. W latach 90-tych XX wieku udowodniono etiologię genetyczną przynajmniej części nowotworów złośliwych piersi.

Wpływ hormonów na raka piersi pierwszy opisał chirurg i patolog A.P.Cooper żyjący w latach 1768-1841. A. Schinzinger w 1889 r. zauważył, że przebieg raka piersi u młodych kobiet ma bardziej agresywny charakter. Niezależnie francuski fizjolog Ch.E. Brown-Sequard zauważył, że wstrzyknięcie kobietom w okresie menopauzy wyciągu z jajników zmniejsza lub zapobiega objawom przekwitania. W 1896 r. George Thomas Beatson wykonał zabieg wycięcia jajników chorej z zaawansowanym rakiem piersi, po czym nastąpiła częściowa regresja guza. W podobnym nurcie pracował noblista – Charles Brenton Huggins, uważany za pioniera chemioterapii chorób nowotworowych, który udowodnił hormonozależność nowotworów stercza. W 1906 r. Marshal i Jolley odkryli, że jajniki produkują substancje – hormony steroidowe, tj. estradiol i progesteron. W 1922 roku Courmelles po raz pierwszy przeprowadził radioterapię jajników. W 1930 r. odkryto budowę chemiczną estrogenów, cztery lata później po raz pierwszy wyprodukowano syntetyczne estrogeny. 1939 r. Ulrich Wahn, niemiecki pediatra, odkrył androgeny, w 1944 r. Haddon opisał estrogeny, zaś w 1951r. Esher - progestageny.

Odkrycie receptorów dla estrogenów – w 1960 r. ER typ alfa, zaś w 1997 r. ER typ beta stanowiło przełom w rozumieniu choroby nowotworowej piersi. Niedługo po tym rozpoczęto syntezę i zastosowanie antyestrogenów. W 1969 r. w Anglii po raz pierwszy zastosowano Tamoxifen, a wyniki leczenia opublikowano w 1971 r. Tamoxifen, czyli selektywny modulator receptora estrogenowego (SERM) działa jak antagonist, wiążąc się z receptorami estrogenowymi w komórkach nowotworowych, prowadząc do zahamowania syntezy czynników wzrostu i pobudza tworzenie receptorów dla progesteronu, skutkiem tego jest zmniejszenie podziału komórek nowotworowych. W kośćcu działa jak agonista, wiąże się z receptorami estrogenowymi i zapobiega

demineralizacji, zwiększając gęstość kości. Zmniejsza również stężenie wolnego estradiolu w osoczu, co powoduje pobudzenie przedniego płata przysadki do wydzielania FSH i prawdopodobnie indukuje uwalnianie czynnika TGF beta. W 1998 r. w St. Gallen przedstawiono wytyczne leczenia chorych na raka piersi. Chorym z cechą N(+) z obecnością receptorów steroidowych zalecono chemioterapię z następową hormonoterapią, zalecaną wówczas przez 5 lat. U pacjentek bez zajęcia węzłów chłonnych z dodatnimi receptorami i obecnością innych czynników ryzyka zalecano samą hormonoterapię. Zalecenie to oparto na wcześniejszych badaniach, obejmujących znaczną grupę chorych, gdzie stwierdzono, że zastosowanie Tamoxifenu zmniejsza rocznie względne ryzyko wznowy choroby o 25% i ryzyko zgonu o 17%.²²

Badanie SWOG zakończone w 2004 r. zapoczątkowało standardowe zastosowanie Tamoxifenu po zakończeniu chemioterapii w prewencji wznowy choroby. Obecnie zgodnie z zaleceniami NCCN (National Cancer Comprehensive Network) powinno się stosować uzupełniającą hormonoterapię u wszystkich kobiet z ekspresją receptorów steroidowych, niezależnie od wieku, zajęcia węzłów chłonnych, ekspresji HER2, czy wskazań do chemioterapii przez okres 5 lat, a w przypadku części chorych, które odniosą korzyść z w/w leczenia (grupa podwyższonego ryzyka) przez 10 lat.

W 1973 r. Griffiths opisał inhibitory aromatazy i ich rolę u kobiet po menopauzie chorujących na raka piersi. U kobiet w wieku pomenopauzalnym estrogeny produkowane są na drodze konwersji z androgenów w tkankach obwodowych, takich jak tkanka tłuszczowa, mięśnie, wątroba, a także w tkance nowotworowej. Zablockowanie mechanizmu konwersji zmniejsza stężenie estrogenów. Pierwszym lekiem był wprowadzony w latach 80-tych XX wieku – aminoglutetymid, jednak jego zastosowanie było ograniczone ze względu na skutki uboczne. Obecnie dostępne są leki o bardziej swoistym działaniu, hamujące wytwarzanie estrogenów niezależnie od miejsca ich produkcji. Dzieli się je w zależności od budowy i od sposobu wiązania z aromatazą na: niesteroidowe - w sposób odwracalny wiążą się z z enzymem (letrozol, anastrozol) i steroidowe – na stałe blokujące aromatazę, np. egzamestan. Pod koniec lat 90 – tych uznano je za leki stosowane standardowo w II – linii leczenia raka piersi zaraz po tamoxifenie w IV stopniu zaawansowania choroby. Od 2001 r. zostały uznane za leki pierwszego rzutu w chorobie rozsiaanej. W 2003 r. na podstawie wyników badania ATAC (Arimidex, Tamoxifen or in Combination) anastrozol został dopuszczony do leczenia uzupełniającego u kobiet po menopauzie przy przeciwwskazaniach do

tamoksifenu, a od 2005 r. inhibitory aromatazy stały się równoważne z tamoksifenem w leczeniu uzupełniającym u chorych po menopauzie.

1982 r. to kolejny krok w leczeniu raka piersi – wprowadzenie analogów hormonu uwalniającego gonadotropiny – analogów gonadoliberyny (LHRH). Bezpośrednio po podaniu tych leków dochodzi do zwiększonego wydzielania LH, natomiast przy dłuższej ekspozycji dochodzi do zahamowania wydzielania hormonu, w konsekwencji do obniżenia poziomu estradiolu. Celem tych leków jest doprowadzenie do farmakologicznej kastracji (OFS, ovaria function suppression) – obniżenia poziomu estrogenów w surowicy krwi, co ma miejsce po około 3 tygodniach od zastosowania pierwszej dawki leku. W 2015 r. opublikowano wyniki badania SOFT oraz TEXT, które dowiodły, że u młodych kobiet o podwyższonym ryzyku zastosowanie agonistów gonadoliberyny w połączeniu z TAM lub IA wydłuża DFS i OS. Taki schemat leczenia jest zalecany u kobiet przed menopauzą z wysokim ryzykiem nawrotu, które wcześniej otrzymały chemioterapię uzupełniającą, ponieważ te chore odnoszą największą korzyść z w/w leczenia.²³

1.2 Czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi:

Do czynników ryzyka wystąpienia raka piersi zaliczane są przede wszystkim: starszy wiek, pierwsza miesiączka we wczesnym wieku, menopauza w późnym wieku, późny wiek pierwszego porodu zakończonego urodzeniem żywego dziecka (kobiety, które przebyły pierwszą ciążę w 30 r.ż. mają dwukrotnie większe ryzyko wystąpienia raka piersi aniżeli kobiety, które urodziły pierwsze dziecko w 20 r.ż.). Ryzyko wzrasta u kobiet, które pierwszą ciążę przebyły w 35 r.ż.²⁴

Ponadto wśród czynników ryzyka wystąpienia raka piersi wymienia się długotrwałą hormonoterapię zastępczą (HTZ), ekspozycję na promieniowanie jonizujące w przeszłości, a także otyłość, wysoki status społeczno-ekonomiczny, spożycie alkoholu oraz palenie tytoniu przez kobietę w ciąży, co zwiększa ryzyko tej choroby u jej córki.²⁵ Badania nie potwierdzają wpływu palenia tytoniu na zwiększone ryzyko wystąpienia raka piersi u palącej kobiety.

Dziedziczne podłoże raka piersi wiąże się z występowaniem mutacji w genach supresorowych: obecność mutacji genu *BRCA1* na długim ramieniu chromosomu 17 lub genu *BRCA2* na długim ramieniu chromosomu 13 i wiąże się z ponad 10-krotnym wzrostem ryzyka zachorowania na raka piersi, które w wieku ok. 80 lat wynosi już

blisko 80%. Nosicielstwo tych mutacji w populacji chorych na raka piersi wynosi 3-5%. Do rzadszych mutacji, które predysponują do zachorowania na raka piersi należą: mutacja genu *TP53* (zespół Li-Fraumeni) i genu *PTEN* (zespół Cowdena).

Inne mutacje, które zwiększają 2-3-krotnie ryzyko zachorowania, to mutacje w genach: *ATM*, *BRIP1*, *CHEK2*, *PALB2*. Najistotniejszym czynnikiem kwalifikującym do wykonania badań genetycznych jest wywiad rodzinny. Pacjentki ze stwierdzoną mutacją są objęte zarówno specjalistycznym programem diagnostycznym jak poradnictwem w zakresie profilaktyki. Zalecane jest częstsze badanie kliniczne, badania obrazowe jak MR piersi, MMR oraz usg piersi, a także badanie ginekologiczne z usg dopochwowym i oznaczaniem markera Ca125 co 6 m-cy oraz cytologią co 3 lata. Proponuje się również pacjentkom w wieku 40-50 lat profilaktyczną amputację piersi, która zmniejsza ryzyko wystąpienia raka o 90-95% i obustronne usunięcie przydatków po ukończeniu 35 r.ż. lub zakończeniu okresu rozrodczego (zmniejszenie ryzyka wystąpienia raka jajnika o 80-95% i raka piersi o 50%).²⁶

1.3 Diagnostyka raka piersi

Wstępna diagnostyka w kierunku raka piersi powinna zawsze obejmować dokładny wywiad ze szczególnym uwzględnieniem czynników ryzyka wystąpienia raka piersi oraz badanie fizykalne obu piersi i okolicznych węzłów chłonnych. Badanie ręczne pozwala na wykrycie ponad 30% guzów piersi.²⁷

Podstawowym badaniem służącym do wykrywania raka piersi jest mammografia (MMR) wykonywana w dwóch projekcjach: górno-dolnej (CC) i skośnej (MLO). Czulość MMR w wykrywaniu zmian nowotworowych wynosi ok. 85% i jest ona zalecana jako badanie przesiewowe u kobiet po 40 r.ż. W Polsce realizowane jest badanie skriningowe kobiet w wieku 50-69 lat co 2 lata. W przypadku kobiet należących do grupy wysokiego i bardzo wysokiego ryzyka zachorowania na raka piersi i/lub raka jajnika (nosicielki mutacji genów *BRCA1*, *BRCA2* lub/i obciążony wywiad rodzinny) badanie MMR zalecane jest od 35 r.ż. Amerykańskie Towarzystwo Radiologiczne (ACR) opracowało system oceny BIRADS, który jest standardem opisów badań obrazowych piersi.

Niekiedy badanie MMR jest badaniem niewystarczającym lub nieskutecznym, szczególnie w przypadku piersi o dużej gęstości, bogato gruczołowych, charakterystycznych dla kobiet młodych. Wówczas badaniem podstawowym, a

niekiedy uzupełniającym badanie MMR jest ultrasonografia (usg). Usg pozwala różnicować zmiany torbielowate od zmian litych. Jest to badanie bezpieczne i może być stosowane w każdym wieku, w tym także u kobiet w ciąży. Nowsze metody sonograficzne, jak: sonoelastografia, czy badanie z podaniem kontrastu pozwalają już na etapie badania radiologicznego określić charakter zmiany. Badaniem o najwyższej czułości i swoistości jest rezonans magnetyczny piersi (MR). Czułość tej metody w wykrywaniu inwazyjnego raka piersi wynosi blisko 100% a swoistość 90-95% . Badanie jest zalecane w każdym wieku, szczególną przydatność wykazuje w grupie kobiet z wysokim ryzykiem zachorowania na raka piersi, u chorych przed i w trakcie chemioterapii neoadiuwantowej oraz w sytuacjach wątpliwych przed podjęciem decyzji terapeutycznej. Wskazania do zastosowania MR u chorych na raka piersi określone są w zaleceniach grupy ekspertów EUSOMA (European Society of Breast Cancer Specialists).

1.4 Ocena patomorfologiczna nowotworu

Klasyfikacją przyjętą do oceny stopnia zaawansowania jest klasyfikacja TNM według VII edycji klasyfikacji UICC 2009, gdzie T = wielkość guza, N= stan regionalnych węzłów chłonnych, M = przerzuty w odległych narządach. Ocena pooperacyjna materiału pTNM ułatwia wybór optymalnej metody leczenia uzupełniającego.

Każda zmiana w piersi powinna być zweryfikowana histopatologicznie za pomocą biopsji gruboigłowej, mammotomicznej lub otwartej.

Badanie mikroskopowe pozwala na postawienie rozpoznania i jest warunkiem rozpoczęcia leczenia, a zależy od współpracy klinicysta-patolog. Lekarz prowadzący powinien przekazać patologowi wszystkie niezbędne informacje zarówno o chorej i o samej zmianie w piersi, natomiast ocena pooperacyjna powinna zawierać wszystkie informacje dla klinicysty dotyczące czynników rokowniczych, w tym o:

- histologicznym typie nowotworu wg WHO. Światowa Organizacja Zdrowia wyróżnia kilkanaście histologicznych typów raka piersi naciekającego. Najczęstszym jest dawniej nazywany - rak przewodowy, który stanowi około 80% wszystkich raków piersi, zwykle towarzyszy mu komponent DCIS (rak przedinwazyjny). Obecnie według nowej klasyfikacji z 2012 r. nazywany jest rakiem inwazyjnym bez specjalnego typu (invasive carcinoma of no special type, NST). Blisko 20% stanowią raki zrazikowe, zaś

pozostałe typy występują bardzo rzadko. Warto jednak zwrócić uwagę na typ cewkowy i sitowy, które cechują się bardzo dobrym rokowaniem.²⁸

- stopniu złośliwości histologicznej (cecha G) określanej na podstawie klasyfikacji Blooma i Richardsona w modyfikacji Elstona i Ellisa. Bierze się pod uwagę stopień atypii jądrowej, aktywność mitotyczną i zdolność do tworzenia struktur cewkowych. Suma tych cech pozwala określić trzy stopnie złośliwości raka piersi: G1 – niski, G2- pośredni, G3- wysoki stopień złośliwości histologicznej. Stopień G4 stosuje się dla raków niezróżnicowanych. Klasyfikacji tej nie stosuje się tylko w raku rdzeniastym.²⁹

- stopniu zaawansowania nowotworu wg klasyfikacji pTNM, pozwala na określenie rzeczywistych rozmiarów guza (pT) oraz ustalenie węzłów chłonnych zajętych przez proces nowotworowy (pN)

- doszczętności zabiegu, obecności lub braku komórek nowotworowych w linii cięcia

- obecności komórek nowotworowych w naczyniach okołoguzowych

- stanie receptorów steroidowych (ER, PgR) określanym za pomocą metod immunohistochemicznych, uwzględniających odsetek wybarwionych jader komórkowych i intensywności barwienia – skala Allreda

- stanie receptora naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2); który można oceniać metodami immunohistochemicznymi (ekspresja białka HER2) oraz badaniem hybrydyzacji in situ metodą fluorescencyjną (FISH) lub z użyciem chromogenu (CISH). W badaniu immunohistochemicznym odczyn „0” lub „+1” określa się jako negatywny, „+3” pozytywny, zaś „+2” jako niepewny i wówczas przeprowadza się ocenę amplifikacji.

- indeksie proliferacyjnym Ki 67, który ocenia aktywność proliferacyjną guza, poprzez określenie odsetka komórek wykazujących ekspresję Ki 67.

Dzięki rozpowszechnieniu metod obrazowych oraz Programu Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Nowotworów coraz częściej wykrywane są zmiany przedinwazyjne (in situ). Wyróżniamy postać wewnątrzprzewodową (DCIS, carcinoma ductale in situ), w której rozrost komórek nowotworowych jest ograniczony do światła przewodów oraz wewnątrzrazikową (LCIS, carcinoma lobulare in situ). Decyzja odnośnie wyboru dalszego leczenia w przypadku stwierdzenia DCIS zależy od sumy punktów uzyskanych w skali VNPI (Indeks Van Nuys). Bierze się tutaj pod uwagę

wielkość guza, szerokość marginesów wycięcia, stopień złośliwości komórek nowotworowych, obecność martwicy oraz wiek chorej. W zależności od sumy uzyskanych punktów przeprowadza się leczenie oszczędzające z następową radioterapią lub mastektomię.³⁰ Szczególną postacią raka przedinwazyjnego jest rak Pageta brodawki sutkowej, gdzie komórki nowotworowe są zlokalizowane w naskórku brodawki, często jednak towarzyszy mu inwazyjny naciek gruczołu piersiowego. LCIS najczęściej rozpoznawany jest przypadkowo, jego obecność zwiększa ryzyko wystąpienia raka inwazyjnego w obu piersiach. Zaleca się wówczas intensywny nadzór w postaci badania klinicznego co 6-12 miesięcy przez pierwsze 5 lat, a następnie co 12 miesięcy oraz wykonywanie MMR co 12 miesięcy. Chorym należącym do grupy wysokiego ryzyka należałoby zaproponować wykonanie obustronnej profilaktycznej mastektomii z jednoczasową rekonstrukcją piersi, z tym że do dnia dzisiejszego procedura nie jest refundowana przez płatnika, czyli NFZ.

Rozwój biologii molekularnej pozwolił na wyodrębnienie podtypów raka piersi, które różnią się przebiegiem klinicznym, rokowaniem i wrażliwością na zastosowane leczenie:

1. Typ luminalny A: ER +, PgR+, Ki67<20%, HER 2 negatywne, cytokeratyna 8, 18
2. Typ luminalny B: ER+, PgR+/-, Ki67>20%, HER2 +/-, cytokeratyna 8, 18
3. Typ podstawny: ER-, PgR-, Ki67 wysokie, HER2 negatywne, cytokeratyna 5/6,17
4. Typ HER2: ER-, PgR-, HER2 pozytywny, Ki67 wysokie, cytokeratyny – brak typowych

1.5 Czynniki predykcyjne w raku piersi

Są to parametry raportu patomorfologicznego określone w guzie, które mówią o potencjalnej odpowiedzi na leczenie. Zaliczamy do nich:

Stan receptorów steroidowych ER i PgR.

Ich obecność wiąże się z mniejszą wrażliwością na chemioterapię i lepszym rokowaniem, zaś ich brak - z brakiem wrażliwości na leczenie hormonalne.

Ocena immunohistochemiczna receptorów stanowi obecnie rutynowe badanie przy opracowywaniu preparatu chirurgicznego lub materiału tkankowego pochodzącego z biopsji, jeśli zaplanowano włączenie leczenia systemowego przed operacją. W

przypadku nawrotu choroby zaleca się ponowną ocenę ER i PgR, gdyż ich ekspresja może ulec zmianie.

Według zaleceń 13. Międzynarodowej Konferencji Raka Piersi w St.Gallen (2013r) każdy większy od zera odsetek wybarwionych jąder komórek raka naciekającego, niezależnie od siły wybarwienia uznaje się za dodatni. Skala Allreda, metoda stosowana w Polsce, jest zalecana przez College of American Pathologists (CAP) i ocenia odsetek wybarwionych jąder komórkowych (PS) oraz ich siłę wybarwienia (IS). Wynik jest sumą PS i IS, a punktem odcięcia wybarwienie 1% jąder komórek raka. W leczeniu uzupełniającym zaleca się samodzielną hormonoterapię u pacjentek z rozpoznaniem rakiem luminalnym A bez współistniejących niekorzystnych czynników, takich jak zajęcie węzłów chłonnych, zatory w naczyniach, czy młody wiek. Jako leczenie indukcyjne w monoterapii można zastosować hormony u pacjentek po menopauzie z wysoką ekspresją receptorów steroidowych.

Poziom receptora progesteronowego odzwierciedla prawidłowe działanie receptora estrogenowego alfa, który jest aktywatorem genu *PGR* kodującego receptor progesteronowy. ER alfa aktywuje transkrypcję mRNA PgR. Chorzy z jednoczesną ekspresją obu receptorów lepiej odpowiadają na hormonoterapię, niż z PgR negatywnym oraz ERalfa (-) PgR (+). Utrata ekspresji receptora progesteronowego w trakcie leczenia tamoksifenem wiąże się z opornością powstającą w trakcie terapii.

ER alfa bierze udział w regulacji cyklu komórkowego oraz w ekspresji białek wchodzących w skład cytoszkieletu, białek adhezyjnych, regulujących proliferację (MAP17, membrane-associated protein17; EMP1, epithelial membrane protein 17) i inwazyjność (tkankowy aktywator plazminogenu, katepsyna D). Ma wpływ na układ odpornościowy, aktywując ekspresję amyloidu surowiczego SAA1 (serum amyloid A1) oraz TGF alfa i TGF beta (transforming growth factor) , miogenów stymulujących proliferację, a zmniejsza ekspresję TNF alfa (tumor necrosis factor alfa). Estrogeny indukują ekspresję genu cykliny D1, a także protoonkogenów: *c-myc* i *c-src*, a poprzez stymulację autokrynych czynników wzrostu aktywują kinazy PI3, MAPK.

Czynnikiem predykcyjnym jest również ekspresja receptora estrogenowego beta w komórkach nowotworowych u chorych wykazujących ekspresję receptora estrogenowego alfa i wiąże się z lepszą odpowiedzią na uzupełniające leczenie tamoksifenem. Chociaż jego rola nie została jeszcze w pełni wyjaśniona, uważa się, że ER beta hamuje proliferacyjne właściwości ER alfa, może więc mieć negatywne znaczenie prognostyczne. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że ER beta hamuje

proliferaację komórek nowotworowych, poprzez hamowanie transkrypcji genów kodujących białka, jak: c-myc, cyklinę D1 i cyklinę A, jednocześnie stymulując ekspresję białek p27 i p21, które zatrzymują cykl komórkowy.²⁴

Ocena ekspresji białka HER2 .

Nadekspresja białka HER2 lub amplifikacja genu HER2 warunkuje celowość zastosowania terapii anti-HER2 i podobnie jak ocena receptorów steroidowych stanowi rutynowe badanie przy opracowywaniu materiału tkankowego pochodzącego z guza. Obecność receptora typu 2 dla naskórkowego czynnika wzrostu ocenia się w błonach komórek nowotworowych, stosując przeciwciała, które wykrywają zewnątrzkomórkową domenę receptora, stąd nie możliwa jest ocena immunopatologiczna w materiale cytologicznym. Domena wewnątrzkomórkowa posiada aktywność kinazy tyrozynowej klasy I. Do rodziny receptorów HER zalicza się EFGR (nabłonkowy receptor czynnika wzrostu c-erbB-1), HER2/neu (c-erb B-2), HER3 (c-erbB-3), HER4(c-erbB4).

W 2007 r. powołano ekspertów Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (American Society of Clinical Oncology – ASCO) oraz Amerykańskiego Towarzystwa Patologów (College of American Pathologists – CAP), których celem było opracowanie wytycznych dotyczących wskazań i metodologii oceny statusu genu *HER2*. W listopadzie 2013 r. zostały opublikowane aktualne rekomendacje ASCO/CAP dotyczące badań statusu receptora HER2. Intensywność powinna być oceniona w komórkach raka naciekającego, standardowo nie powinna być oceniana ekspresja *HER2* w komponentach raka przedinwazyjnego. Barwienie błonowe w co najmniej 10% komórek nacieku, intensywne, okalające i kompletne, widoczne już przy małym powiększeniu mikroskopu uznaje się za dodatnie (IHC 3+). Niekompletny, słaby lub ledwo widoczny odczyn błonowy w >10% komórek nacieku nowotworowego lub w 10% i mniej komórek oraz całkowity brak odczynu uznaje się za ujemne (IHC1+ lub 0).

Okalający, kompletny odczyn błonowy o średnim lub słabym nasileniu w >10% komórek lub niekompletny odczyn błonowy o silnym nasileniu w >10% komórek lub silny, okalający kompletny odczyn błonowy w <10% komórek nacieku nowotworowego został uznany za wynik niejednoznaczny, stanowi od około 15-20% przypadków raka naciekającego. Zalecane jest wówczas ponowne oznaczenie techniką hybrydyzacji in situ na tym samym materiale lub powtórny test immunohistochemiczny

lub metodą ISH na innym materiale.

Zastosowanie ma tutaj hybrydyzacja in situ (FISH lub CISH). Istotą badania jest policzenie kopii genu *HER2* (sonda pojedyncza) lub kopii genu *HER2* i liczby centromerów chromosomu 17, na którym położony jest gen *HER2* (sonda podwójna). Wynik odpowiednio 6 i więcej kopii genu na komórkę lub stosunek kopii genu *HER2* do liczby centromerów wynoszący 2,0 lub więcej uznaje się za wynik dodatni. Uważa się, że 10-20% raków wątpliwych w badaniu immunohistochemicznym wykazuje dodatni stan receptora *HER2*.³¹

Ocena indeksu proliferacji Ki67

Białko Ki67 jest uniwersalnym markerem proliferacji, oznaczane jest za pomocą wyznakowanych przeciwciał. Wysoki indeks mitotyczny wiąże się ze złym rokowaniem dla chorych. Jednocześnie grupa ta dobrze odpowiada na chemioterapię. Poziom Ki67 daje obraz aktualnego stanu w jakim jest nowotwór, wskazując, czy w danym momencie cechuje się wysoką proliferacją, czy nie i spada w trakcie stosowanego leczenia. W 2015 r. eksperci na konferencji w Wiedniu przyjęli granicę niskiego i wysokiego indeksu proliferacyjnego Ki67 jako 20%.

Ocena w/w czynników nie zawsze daje odpowiedź na pytanie - o możliwej do zastosowania terapii. Istnieją sytuacje, w których inne szlaki sygnałowe w komórkach nowotworowych mogą powodować brak skuteczności zastosowanego leczenia. W związku z tym poszukuje się innych parametrów, które pozwoliłyby na ocenę ryzyka wznowy i korzyści z zastosowanego leczenia. W praktyce zastosowanie mają testy wielogenowe:

- Oncotype DX, określający prawdopodobieństwo wznowy raka piersi w ciągu 10 lat u pacjentek bez przerzutów w węzłach chłonnych z dodatnią ekspresją receptora estrogenowego. Ocenia on panel 21 genów komórek raka i określa tzw. recurrence score oraz celowość zastosowania chemioterapii oprócz leczenia hormonalnego u pacjentek z rakiem typu luminalny A.
- MammaPrint ma zastosowanie u chorych poniżej 61 r.ż. z guzem poniżej 5cm, z cechą N0 i ocenia ryzyko wystąpienia przerzutów. W przeciwieństwie do testu Oncotype DX wymaga do badania świeżej tkanki nowotworowej, którą pobiera się w odpowiedni sposób i przesyła do laboratoriów. Jest testem 70-genowym i pozwala wyodrębnić grupę chorych o bardzo dobrym rokowaniu, u których

można odstąpić od chemioterapii oraz grupę o złym rokowaniu, która wymaga leczenia cytostatykami.

1.6 Czynniki prognostyczne w raku piersi

Pozwalają prognozować przebieg choroby i zakwalifikować pacjentki do grupy wysokiego/pośredniego lub niskiego ryzyka rozsiewu lub nawrotu choroby. Do klasycznych czynników prognostycznych zaliczamy:

Wiek chorych

Kobiety, które zachorowały na raka piersi przed 35 rokiem życia mają większe prawdopodobieństwo wystąpienia przerzutów do węzłów chłonnych pachowych w momencie rozpoznania. U młodych kobiet częściej występują raki bez ekspresji receptorów estrogenowych i o wyższej złośliwości histologicznej. Na Międzynarodowej Konferencji w St. Gallen uznano wiek chorych za niezależny, niekorzystny czynnik prognostyczny i zalecono zastosowanie u tych pacjentek chemioterapii uzupełniającej, a w przypadku przerzutów do mniej niż 4 węzłów chłonnych pachowych także zastosowanie radioterapii uzupełniającej na pole węzłowe.³²

Wielkość guza

Chore z guzem poniżej 1 cm mają znacznie lepsze rokowanie, a prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia bez wznowy i rozsiewu choroby sięga 80%. Ryzyko nawrotu choroby rośnie proporcjonalnie do wielkości guza. Dla guzów T3 ryzyko nawrotu sięga prawie 50%.³³

Stan okolicznych węzłów chłonnych i tkanki okołowęzłowej

Obecność przerzutów do węzłów chłonnych pachy koreluje z wielkością guza pierwotnego. Rzadko zdarza się wielki guz bez przerzutów w węzłach chłonnych. Uważa się wówczas, że jest to guz o niskim potencjale złośliwości. Chore bez zajęcia węzłów chłonnych pachy mają prawdopodobieństwo dziesięcioletniego przeżycia wolnego od choroby bliskie 80%. Odsetek przeżyć całkowitych oraz bezobjawowych zmniejsza się wraz ze wzrostem liczby zajętych węzłów chłonnych. Leczenie

operacyjne raka piersi zawsze obejmuje chirurgię piersi i węzłów chłonnych pachowych. Zakres leczenia może obejmować biopsję węzła wartowniczego lub limfadenektomię pachową. W przypadku chorych z kliniczną cechą N0 pobiera się od 1 do 5 węzłów chłonnych wartowniczych znakowanych wcześniej radiofarmaceutyką i barwnikiem (np. błękit metylenowy). Obecność w tych węzłach izolowanych komórek nowotworowych (ognisko raka do 0,2 mm lub obecność mniej niż 200 komórek raka w jednym badanym przekroju węzła) lub mikroprzerzutów (ognisko raka o średnicy do 2 mm, ale większe od 0,2 mm lub obecność ponad 200 komórek raka w badanym materiale) pozwala odstąpić od limfadenektomii pachowej i nie ma wpływu na wyniki leczenia chorych na raka piersi. Stwierdzenie w badaniu histopatologicznym makroprzerzutu i w przynajmniej jednym węzle chłonnym nacieku torebki i/lub naczyń było do niedawna wskazaniem do limfadenektomii. Obecnie makroprzerzut w 1-2 węzłach chłonnych wartowniczych nie musi być wskazaniem do limfadenektomii, pod warunkiem następczej radioterapii uzupełniającej z pól tangencjalnych. Aby zabieg limfadenektomii uznać za prawidłowo wykonany należy pobrać minimum 10 węzłów chłonnych. Wskazaniem do radioterapii uzupełniającej są przerzuty do 4 i więcej węzłów chłonnych.³⁴

Inwazja naczyń krwionośnych i chłonnych

Cecha ta jest ściśle związana z występowaniem przerzutów w węzłach chłonnych pachy i jest niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia zarówno wznowy miejscowej jak i rozsiewu choroby. Szczególnie niekorzystnym czynnikiem jest obecność zatorów w naczyniach skóry, a rozległe zajecie naczyń skórnych manifestuje się jako rak zapalny (inflammatory carcinoma) o złym rokowaniu. Zatory z komórek raka w naczyniach limfatycznych wykrywane są u ok. 15% kobiet w stopniu zaawansowania klinicznego N0.

Stopień złośliwości histologicznej (G1-G3, G4)

Jedyną zalecaną przez WHO oraz Amerykańskie Towarzystwo do Walki z Rakiem jest klasyfikacja Blooma-Richardsona w modyfikacji Elstona i Ellisa, oceniająca jak wcześniej wspomniano tworzenie cewek, wielkość i polimorfizm jąder komórkowych oraz wskaźnik mitotyczny. Suma tych cech wyróżnia trzy stopnie złośliwości histologicznej: G1 – G3. Amerykańskie Towarzystwo do Walki z Rakiem stosuje określenie G4 dla raków niezróżnicowanych. Nowotwory o wysokim stopniu

złośliwości histologicznej (G3) mają duży potencjał do szybkiego wzrostu, ale również z reguły bardzo dobrze odpowiadają na zastosowaną chemioterapię i ulegają zmniejszeniu pod wpływem leczenia cytostatykami.

Ekspresja receptorów estrogenowych i progesteronowych

Ekspresję receptorów powinno się oceniać w każdym naciekającym raku piersi oraz w DCIS, w zmianach wtórnych, tj. wznowie lokoregionalnej czy przerzutach zaleca się wykonanie nowego badania jeśli jego wynik będzie miał wpływ na wybór metody leczenia. W wyniku zastosowania terapii hormonalnej u chorych na raka piersi z ekspresją receptorów steroidowych uzyskano znaczną poprawę wyników leczenia, chore z ekspresją ER mają lepsze rokowanie. Obecnie ekspresja receptora progesteronowego w komórkach raka nie jest czynnikiem predykcyjnym dla zastosowania hormonalnego leczenia uzupełniającego, zaś wynik: PgR+ i ER- wymaga ponownej oceny.

Ekspresja receptora HER2

Stwierdzenie nadekspresji HER2 lub amplifikacji genu *HER2* wiąże się ze złym rokowaniem w raku piersi, szczególnie u chorych z jednoczesną ekspresją receptora estrogenowego. Przyczyną jest dodatkowe pobudzanie komórek nowotworowych płynące z dwóch źródeł – HER2 i ER alfa. Dodatkowo ER alfa hamuje ekspresję HER2, obniżając poziom transkrypcji mRNA *HER2*, oraz stymuluje aktywację błonowych kinaz tyrozynowych, które przekazują do komórki informację o konieczności proliferacji bez udziału czynnika wzrostu (np. EGF). Chore z guzem HER2(+) i ER alfa (+) gorzej odpowiadają na leczenie tamoksifenem przez sygnały płynące od HER2 poprzez MAP-kinazy i białko p27.²⁴ Jednocześnie nadekspresja HER2 stanowi czynnik predykcyjny odpowiedzi na leczenie uzupełniające trastuzumabem. Skojarzenie chemioterapii uzupełniającej z trastuzumabem zmniejsza dwukrotnie względne ryzyko nawrotu choroby w porównaniu z zastosowaniem samej chemioterapii. Ze względu na kardiotoksyczne działanie terapii anty-HER2 nie zaleca się jednoczesowego podawania antracyklin, natomiast wskazane jest leczenie sekwencyjne po antracyklinach w skojarzeniu z taksanami.

Ocena indeksu Ki67

Podobnie jak w/w badania jest podstawowym badaniem uwzględnianym w raporcie patomorfologicznym i stanowi odsetek procentowy wybarwionych jąder komórek raka naciekającego. Eksperci Międzynarodowej Konferencji Raka Piersi w St. Gallen (2011 r.) przyjęli granicę 14%, natomiast podczas spotkania ekspertów ds. leczenia raka piersi w 2015 r. ustalono, że granicą odcięcia jest wynik 20%. Poziom ustala się za pomocą wyznakowanych przeciwciał, na podstawie procentu pozytywnych komórek oblicza się indeks LI antygenu Ki67 (Ki-67 labelling index). Poziom prawidłowy to 3% pozytywnych komórek. Stwierdzono, że wysoki odsetek Ki67 wiąże się z wysoką złośliwością histologiczną nowotworu. Udowodniono również, że niski odsetek Ki67 wiąże się z wysoką ekspresją receptorów steroidowych i lepszym rokowaniem, zaś wysoki poziom koreluje z wielkością guza, agresywnością raka i poziomem angiogenezy, a także wysokim ryzykiem nawrotu raka piersi (krótki czas bez wznowy nowotworu – DFS, disease-free survival), krótszym czasem przeżycia całkowitego (OS, overall survival).³⁵ Poziom ekspresji Ki67 spada po chemioterapii oraz hormonoterapii już w pierwszym tygodniu leczenia i mógłby być przydatnym czynnikiem do monitorowania skuteczności leczenia. Gen kodujący antygen Ki67 (zwany także MKI67, KIA) znajduje się na chromosomie 10q25-ter.²⁴

Ekspresja genów regulujących cykl komórkowy: TP53 i bcl-2

Produkt genu supresorowego *TP53* – białko p53 nazywane jest „strażnikiem genomu”. W prawidłowej komórce stężenie białka jest śladowe dzięki tworzeniu przez nie kompleksów z białkiem MDM2. Taki kompleks jest kierowany do degradacji, a wzrost białka p53 zwiększa ekspresję MDM2. Nieprawidłowe tetramery p53 nie tworzą kompleksu z MDM2 i mają długi okres półtrwania w komórce, są również łatwo wykrywalne w testach immunohistochemicznych. Po zadziałaniu czynników uszkodzających DNA dochodzi do fosforylacji białka p53, dzięki czemu jego stężenie w komórce rośnie i wywołuje indukcję inhibitora kinazy zależnej od cyklin p21 (CDK p21), co powoduje blok w cyklu komórkowym. Po naprawieniu DNA białko p53 ulega defosforylacji i degradacji, umożliwiając dalszy cykl komórkowy. W przypadkach braku możliwości naprawy DNA, p53 indukuje ekspresję białek proapoptotycznych z rodziny Bcl-2, które powodują uwolnienie cytochromu c i AIF (apoptosis inducing factor, czynnik indukujący apoptozę), aktywując w ten sposób liczne kaspazy. Komórka

apoptotyczna zaokrągliła się, traci kontakt z podłożem i rozpada się na ciała apoptotyczne.³⁶

Mutacja genu supresorowego *TP53* jest wykrywalna w ponad 50% nowotworów. Wówczas uszkodzone komórki nie podlegają apoptozie i dzielą się mimo błędów. Wiadomo, że mutacje tego genu wiążą się z bardziej agresywnym przebiegiem raka piersi. Jednocześnie prawidłowe działanie p53 sprzyja chemiooporności komórek, które naprawiają uszkodzenia DNA wywołane przez chemioterapeutyki. Wiadomo, że niektóre mutacje są przyczyną oporności na antracykliny i taksany oraz na hormonoterapię tamoksifenem.²⁴

Białka z rodziny Bcl-2 kodowane przez gen *bcl-2* należą do białek antyapoptotycznych (Bcl-2, Bcl-x), występują w komórce w postaci dimerów i w czasie indukcji apoptozy przemieszczają się od zewnętrznej błony mitochondriów, gdzie biorą udział w tworzeniu kanałów jonowych. Uważa się, że mutacja genu *bcl-2* wiąże się z lepszym rokowaniem.

Cyklina D1.

W 50% przypadków raka piersi wykrywa się nadekspresję cykliny D1. Jest ona produktem genu *CCND1*, który znajduje się na chromosomie 11q13. Jej wpływ nie jest do końca poznany, wiadomo, że może pobudzać transformację nowotworową nabłonka gruczołu piersiowego przez aktywację kinaz 4/6 zależnych od cyklin (CDK4/6). Kinazy te regulują pokonywanie punktu restrykcyjnego fazy G1 cyklu komórkowego. Pełna aktywność kompleksów cyklina D1/CDK ma miejsce przy niskim stężeniu CKI (inhibitor kinaz zależnych od cyklin) – p27 oraz nieczynnym białku RB (zwanym także wrotami cyklu komórkowego). W prawidłowej komórce punkt G1 może być przekroczony tylko wtedy, gdy komórka nie ma defektów genomu. Proces ten jest regulowany przez fosforylację białek enzymatycznych; enzymy, które tego dokonują nazywamy kinazami zależnymi od cyklin (CDK) i są aktywowane przez rodzinę cyklin. Następnie komórka wchodzi w fazę S – syntezy DNA, w procesie tym biorą udział kinazy MAPERK (MAP - mitogen-activated-protein; ERK – extracellular-signal-regulated kinases). W następnym etapie kinazy MAPERK pobudzają transkrypcję genu dla cykliny D1 i ułatwiają powstawanie kompleksu cyklina D1/CDK4 (kompleks unieczynniający białko RB).

Adhezja komórek do podłoża jest niezbędnym czynnikiem do kontynuacji cyklu komórkowego. Dużą rolę odgrywa tutaj również cyklina D1. Wiązanie komórek przez glikoproteiny komórki ze składnikami substancji międzykomórkowej jest sygnałem pobudzającym transkrypcję cyklin D (1-3), a zwłaszcza cykliny D1 oraz hamującym aktywność inhibitorów kinaz zależnych od cyklin. Trójiodotyronina hamuje na poziomie komórki ekspresję cykliny D1.³⁷ Występowanie raka piersi jest regulowane hormonalnie, przez pobudzanie receptorów dla estrogenów, a cyklina D1 może wzmacniać ich transkrypcyjne właściwości. Razem z cyklinami typu E bierze udział w proliferacji komórek nowotworowych, szczególnie z ekspresją receptora estrogenowego alfa, dlatego że receptor ten reguluje pośrednio ekspresję genu *CCND1* poprzez wpływ na jego czynniki transkrypcyjne. Terapia hormonalna raka piersi działając na receptory estrogenowe, działa również na cyklinę D1, obniżając jej poziom i hamując proliferację.³⁸

Cząsteczki adhezji komórkowej (CAM) i składniki substancji międzykomórkowej (ECM).

Pomiędzy migrującymi komórkami nowotworowym i komórkami śródbłonna lub ECM powstają przejściowe połączenia międzykomórkowe. Tworzą je cząstki adhezyjne jak integryny, selektywne, kadheryny oraz IgCAM. Najbardziej poznana jest rola kadheryny E. Kadheryny są rodziną glikoprotein błonowych tworzących połączenia międzykomórkowe, szczególnie w tkance nabłonkowej i nerwowej. Ze względu na połączenia nazywa się je kadherynami E-Z (połączenia z filamentami aktynowymi) oraz desmogleiny/desmokoliny (połączenia z filamentami pośrednimi). W procesie powstawania przerzutów na początku dochodzi do utraty połączeń międzykomórkowych, co często jest związane z brakiem ekspresji kadheryny E lub kateniny. Taka wolna komórka pokonuje barierę ECM, błonę podstawną naczynia i warstwę komórek śródbłonna, trafia do naczynia, gdzie poprzez integryny przyczepia się do lamininy błon podstawnych naczynia. Glikoproteiny błonowe komórek nowotworowych łączy się z selektynami E komórek śródbłonna, wzmacnia się związek integryn komórek nowotworowych z IgCAM śródbłonna. Obniżona ekspresja E-kadheryny wiąże się z wyższym ryzykiem progresji nowotworu.³⁹

Cytokeratyny wchodzą w skład szkieletu wszystkich komórek nabłonkowych

Dzięki postępom badań immunohistochemicznych możliwe jest oznaczenie cytokeratyn 5/6 i 17, które występują w tak zwanym podstawnym typie raka piersi i wiążą się z gorszym rokowaniem. Zaś cytokeratyny 8,18,19 występujące w lepiej rokujących, luminalnych typach nowotworu .

1.7 Tarczyca

Tarczyca jest gruczołem wydzielania wewnętrznego, zlokalizowanym w przedniej części szyi. Składa się z dwóch płatów bocznych oraz cieśni. Na tylnej powierzchni płatów bocznych leżą dwie pary gruczołów przytarczycznych. Gruczoł tarczowy posiada bardzo bogate unaczynienie pochodzące od tętnicy szyjnej wspólnej lub zewnętrznej oraz od pnia tarczycowo-szyjnego tętnicy podobojczykowej, a przepływ krwi wynosi około 5ml/g/min. Strukturę stanowią komórki pęcherzykowe wypełnione koloidem (około 80%), a w przestrzeniach około- i międzypęcherzykowych znajdują się komórki C wydzielające kalcytoninę. Komórki pęcherzykowe syntetyzują białko – tyreoglobulinę, która bierze udział w syntezie i magazynowaniu hormonów tarczycy. Transkrypcja genu dla tyreoglobuliny jest pobudzana przez tyreotropinę (TSH), a hamowana przez 3,5,3'-trójiodotyroninę.

Fizjologia

Podstawową czynnością tarczycy jest wytwarzanie i wydzielanie do krwi hormonów: trijodotyroniny i tetrajodotyroniny przez komórki pęcherzykowe oraz kalcytoniny przez komórki C. Głównym hormonem wydzielanym w ponad 80% przez tarczycę w warunkach fizjologicznych jest tyroksyna (3,5,3',5' – tetrajodotyronina; T4). Siła jej działania jest kilkakrotnie słabsza aniżeli aktywność 3,5,3'-trijodotyroniny (T3) i pełni funkcję prohormonu. Charakterystyczną cechą tych hormonów jest wysoka zawartość jodu, który jest aktywnie wychwytywany przez komórki pęcherzykowe (pompa jodowa). Jodki są natychmiast utleniane do formy atomowej pod wpływem peroksydazy tarczycowej (TPO), znajdującej się w błonie szczytowej komórki graniczącej z koloidem i następuje jodowanie reszt tyrozynowych tyreoglobuliny. W ten sposób powstaje monojodotyrozyna (MIT) i diiodotyrozyna (DIT). Kolejny etap syntezy polega na sprzęganiu MIT i DIT i tworzenie tetrajodotyroniny oraz trójiodotyroniny. Następnie drobne pęcherzyki koloidowe na drodze pinocytozy dostają się do komórek pęcherzykowych, gdzie pod wpływem lizosomów dochodzi do proteolizy tyreoglobuliny i uwolnienia MIT, DIT, T4, T3, fragmentów peptydowych i aminokwasów. Wydzielanie hormonów tarczycy jest stymulowane przez TSH, aktywującą cyklazę adenylową. Kolejnymi etapami syntezy hormonów jest dejodynacja jodotyrozyn pod wpływem dejodynaz. Aktywność tyroksyny zwiększa się poprzez odjodowanie T4 do T3 z udziałem dejodynazy typu 1 (D1) w wątrobie, nerkach, mięśniach szkieletowych, sercu. Dejodynaza typu 2 zwiększa aktywność hormonów

tarczycy w mózgu i przysadce, odpowiadając za trzymywanie stałego wewnątrzkomórkowego stężenia T3 w ośrodkowym układzie nerwowym. Dejodynaza typu 3 inaktywuje T4 do rT4 i T3 do nieaktywnej pochodnej w łożysku, chroniąc płód przed nadmiarem hormonów tarczycy oraz w komórkach glejowych mózgu.

Większość T4 występuje w formie związanej z białkami osocza, jedynie blisko 0,05% to frakcja wolna (fT4), która jest formą aktywną. Tyroksyna jest połączona z: globuliną wiążącą tyroksynę (TBG) – około 70%, z prealbuminą – transterytiną wiążącą tyroksynę (TBPA/TTR) - około 10%, a zaledwie 10% wiąże się z albuminą. TBPA łatwo oddysocjuje T4 i jest źródłem łatwo dostępnego wolnego hormonu, podobnie jak frakcja związana z albuminami. T3 jest transportowana w większości przez TBG; 0,5% występuje w postaci niezwiązanej (fT3) i w związku z tym aktywnej biologicznie.⁴⁰

Synteza i wydzielanie hormonów tarczycy są regulowane przez hormon przysadki - tyreotropinę (TSH). Zachodzi to przez swoisty receptor dla TSH, znajdujący się na błonie komórek tarczycy. Połączenie ligand – receptor pobudza układ: białko G-cyklaza adenylanowa – cAMP oraz fosfolipazy C. Niedobór hormonów tarczycy powoduje wzrost wydzielania TSH, która pobudza wszystkie etapy metabolizmu jodu w tarczycy, aktywność TPO, wytwarzanie i resorpcję tyreoglobuliny oraz stymuluje komórki pęcherzykowe do produkcji hormonów tarczycy. Odwrotnie, nadmiar hormonów tarczycy powoduje tzw. ujemne sprzężenie zwrotne i zahamowanie wydzielania TSH. Nadrzędną rolę pełni tyreoliberyna (TRH) wydzielana przez przedni płat podwzgórza. Im więcej HT wydziela tarczyca, tym większe działanie hamujące na przysadkę oraz hamowanie wydzielania TRH z podwzgórza, które również powoduje mniejsze pobudzenie komórek tyreotropowych przysadki. Opisany mechanizm stanowi oś podwzgórzowo-przysadkowo-tarczycową.

Tarczyca posiada także system wewnętrznej autoegulacji związanej z dostępnością jodu oraz poprzez układ dejodynaz.

Hormony tarczycy regulują czynność większości tkanek, a receptory dla T3 - TR (wykazują znacznie słabsze powinowactwo dla T4) znajdują się we wszystkich komórkach i należą do tej samej grupy co receptor hormonów steroidowych, retinoidów i witaminy D. Mają wpływ estrogenopodobny, podnoszą poziom białka p53 w komórce.⁴¹ U ludzi występują 2 geny, z których każdy odpowiedzialny jest za wytworzenie co najmniej 2 receptorów o odmiennej strukturze i funkcji. Wyróżnia się

receptory TR-alfa i TR-beta, które mogą wiązać się z DNA jako receptory wolne lub jako kompleksy TR-T3. Interakcja hormonów tarczycy z chromatyną prowadzi do pobudzenia transkrypcji i wzrasta synteza swoistego mRNA, który z kolei kieruje syntezą odpowiednich białek wydzielniczych i strukturalnych oraz enzymów. Efekt działania T3 pojawia się z opóźnieniem, potrzebnym do indukcji syntezy białek; wygasa także wolno, w miarę upływu okresu trwania produktów białkowych genów. TR obecne są również w mitochondriach oraz w błonach komórkowych, jednak ich efekty błonowe są słabo poznane. T3 zwiększa zużycie tlenu i wytwarzanie ciepła w tkankach, nasila podstawową przemianę materii oraz tworzenie wolnych rodników. Zwiększa liczbę receptorów beta- adrenergicznych w sercu i wywołuje działanie ino – i chronotropowe. Zmniejsza liczbę receptorów alfa – adrenergicznych i może nasilać prereceptorowe działanie amin katecholowych. Hormony tarczycy pobudzają motorykę przewodu pokarmowego, nasilają resorpcję kości, w mięśniach metabolizm białek, a w układzie nerwowym szybkość przewodzenia bodźców. Mają wpływ na wchłanianie glukozy, nasilają glukoneogenezę, glikogenolizę i lipolizę oraz zwiększają liczbę receptorów LDL w wątrobie. Zwiększa się również metabolizm niektórych hormonów, np. kortyzolu.

W ostatnich latach odkryto występowanie receptorów dla hormonów tarczycy w komórkach raka piersi. Próbę oceny ich roli w komórkach nowotworu podjęto w Kanadzie, gdzie przeprowadzono badania ekspresji receptora dla hormonów tarczycy obecnego w komórkach raka piersi. Do badania włączono 131 chorych z rozpoznaniem raka piersi od 2007 r., obserwacja trwała 5 lat. Analizowano obecność receptorów: TR alfa1, TR alfa2, TR beta1 oznaczanych immunohistochemicznie w materiale pooperacyjnym. Wykazano obecność tych receptorów odpowiednio w 74%, 40% i 15% w komórkach raka piersi. Wysoka ekspresja TR alfa 2 była skorelowana z obecnością ER/PgR oraz dłuższym czasem OS i DFS, mniejsza kumulacja TR alfa 2 w komórkach raka wiązała się z gorszym czasem przeżycia.⁴² W rok później oceniono ekspresję tych receptorów w guzach potrójnie negatywnych. Przebadano 158 bloczków parafinowych pochodzących od chorych z potrójnie negatywnym rakiem piersi. Ekspresję receptora dla TSH alfa typu 2 wykazano w 78% nowotworów i była ona związana z poprawą 5-letniego przeżycia całkowitego. Receptor dla TSH alfa 1 stwierdzono u 93,4% chorych, ale nie wykazano związku pomiędzy poprawą OS a obecnością tego receptora w grupie badanej. Autorzy przedstawiając wnioski badania stwierdzili, że chociaż TR alfa 2 był

związany z poprawą przeżycia całkowitego nie może stanowić niezależnego czynnika prognostycznego w potrójnie negatywnym raku piersi.⁴³

W diagnostyce chorób tarczycy ocenia się jej czynność i morfologię.

Wole

Wolem nazywamy każde palpacyjnie stwierdzone powiększenie tarczycy. Przy braku objawów towarzyszących jak zapalenie, zaburzenie czynności hormonalnej, braku cech nowotworu nazywa się je wolem prostym lub obojętnym.³⁶

Najczęściej jest choroba bezobjawową, wykrywaną przypadkowo. Przy zaawansowanych rozmiarach gruczołu może towarzyszyć kaszel, uczucie ucisku na szyi, trudności w oddychaniu, dysfagia, dyskomfort w okolicy szyi. Kryterium rozpoznania jest objętość tarczycy >20ml u kobiet i > 25 ml u mężczyzn.

Wole mięsiste stwierdza się przy dość jednolitej strukturze tarczycy bez obecności guzków.

Wole zamostkowe stwierdzane jest wtedy, gdy co najmniej 1/3 objętości tarczycy znajduje się poniżej górnego brzegu mostka.

Wole naczyniowe, w którym wyczuwa się drżenie wynikające ze wzmożonego przepływu krwi i wysłuchuje szmer naczyniowy, jest charakterystyczne dla choroby Gravesa i Basedowa.

Wole guzkowe oznacza obecność jednego badalnego palpacyjnie lub większej ilości guzków, bez konieczności spełnienia kryterium powiększenia objętości tarczycy.

Etiologia powstawania wola guzkowego jest złożona i nie do końca poznana. Wpływ na jego rozwój ma niedobór jodu w diecie, ale także predyspozycje rodzinne, hormony płciowe, działanie substancji wolotwórczych (np. w pokarmach) oraz palenie papierosów, wcześniej przebyte zapalenie tarczycy i ekspozycja na promieniowanie jonizujące. W wielu przypadkach pierwotny niedobór jodu nakłada się na działanie czynników wolotwórczych, co znacznie nasila powiększanie się tarczycy. Zaobserwowano wzrost częstości wola przy niedoborach magnezu, selenu i miedzi przy jednoczesnym narażeniu na działanie metali ciężkich, co prawdopodobnie wpływa na atywność enzymów wewnątrztruczycowych, biorących udział w syntezie hormonów. Istnieją również doniesienia o wolotwórczym działaniu bakterii *Escherichia coli*, obecnej w dużym mianie w wodzie pochodzącej ze studni.³⁶ Na powiększenie

objętości tarczycy może mieć wpływ także nadmiar jodu poprzez blokowanie syntezy i uwalniania hormonów tarczycy. Stymulująco na komórki pęcherzykowe działają także hormony: gonadotropina kosmówkowa (HCG), hormon luteinizujący (LH), hormon wzrostu (GH), insulina, prolaktyna. Hamująco działają somatostatyna, kalcytonina i melatonina. Istotne znaczenie pobudzające wrost przypisuje się czynnikom wzrostowym: epidermalny czynnik wzrostu (EGF), insulinopodobne czynniki wzrostu (IGF-I, IGF-II), czynnik wzrostu fibroblastów (FGF), płytko podobny czynnik wzrostu (PDGF), interleukinę 1 (IL-1) i prostoglandynę E2 (PG-E2). W przypadkach długo trwającego wola obojętnego dochodzi do przebudowy guzkowej. Jest to związane z występowaniem tyreocytów o różnej aktywności peroksydazy tarczycowej, większej zawartości białka błonowego NIS (Na⁺/I⁻ symporter), z większą syntezą tyreoglobuliny i bardziej wrażliwych na działanie tyreotropiny, co prowadzi do ogniskowej hiperplazji i tworzenia się guzków. Uważa się, że blisko połowa dorosłej populacji ma ogniskowe zaburzenia struktury w badaniu ultrasonograficznym, przy prawidłowym badaniu przedmiotowym.

Opracowano algorytm służący do oceny oraz leczenia przypadkowo wykrytych zmian w gruczole tarczycy. U chorego z przypadkowo wykrytą zmianą w tarczycy podczas badania usg ocenia się charakter wykrytej zmiany. W przypadku zmiany „niskiego ryzyka” – łagodne cechy w badaniu usg oraz wielkość <1,5 cm zaleca się obserwację zmiany. W sytuacji, gdy radiologicznie zmiana jest podejrzana lub/i wielkość guza przekracza 1,5cm zaleca się BAC pod kontrolą usg – zmiana łagodna cytologicznie nakazuje obserwację. Powtórzenie biopsji zaleca się w przypadku zmian szybko powiększających się lub dynamicznie zmieniających wygląd w obrazie usg, natomiast w przypadku stabilnego obrazu w badaniach radiologicznych wystarczające jest powtórzenie diagnostyki zmiany ogniskowej po upływie 2 do 4 lat od pierwszej BAC.⁴⁴

Wynik podejrzany o zmianę złośliwą oraz wszelkie zmiany „wysokiego ryzyka” w badaniu usg, które w badaniu cytologicznym sugerują zmianę złośliwą zaleca się wycinać chirurgicznie.⁴⁵ Zmianą wysokiego ryzyka jest guzek, występujący u chorych z wywiadem napromieniania głowy i szyi oraz całego ciała w przeszłości, a także przy historii dziedzicznego raka tarczycy MEN2A, MEN2B, FMTC, FNMTTC.

W roku 2013 ukazała się praca, której autorzy oceniali ryzyko wystąpienia nowotworu złośliwego w zmianie ogniskowej w zależności od cech

ultrasonograficznych. Do badania włączono 8806 pacjentów, wykonano 11618 badań usg, wykryto 105 przypadków raka tarczycy. Opisane w pracy cechy wskazujące na raka tarczycy to obecność mikrozwapnień, wielkość zmiany powyżej 2 cm oraz jej całkowicie lity charakter.⁴⁶ Badacze koreańscy oceniali zmiany ogniskowe poniżej 1cm w aspekcie złośliwości w badaniu ultrasonograficznym. Wymienili cechy takie jak: hipoechogeniczność, nieregularne i naciekające granice, wysokość > szerokości, całkowicie lita struktura oraz obecność mikro- jak i makrozwapnień.⁴⁷ W Klinice Endokrynologii i Chorób Metabolicznych Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi opracowano algorytm postępowania w przypadku wykrycia zmian ogniskowych. Do cech najbardziej podejrzanych zaliczono szybkie powiększanie się zmiany i obecność patologicznych węzłów chłonnych oraz obecność mikrozwapnień, kształt zmiany „wyższy niż szerszy”, nasilone centralne unaczynienie oraz hipoechogeniczność. Mniejsze znaczenie ma lita struktura, nieregularny brzeg, nieobecność „halo” i wielkość zmiany powyżej 3cm. Każdej z wymienionych cech przypisano odpowiednią ilość punktów, a ich suma pozwala zakwalifikować zmianę do grupy małego, średniego lub dużego ryzyka^{48 / 49}.

Amerykański National Cancer Institute w 2007 r. ujednotocił system klasyfikacji wyników badań cytologicznych, które miały pociągać za sobą odpowiednie postępowanie terapeutyczne. Klasyfikacja ta została nazwana systemem Bethesda. W Polsce obowiązują rekomendację z 2010 r. opracowane przez Polską Grupę do Spraw Nowotworów Endokrynnych, opierające się na systemie Bethesda.⁵⁰

Nadczynność tarczycy

Nadczynność tarczycy występuje w przebiegu wielu chorób o różnych patomechanizmach i jest zespołem objawów klinicznych, pojawiających się gdy tkanki organizmu podlegają działaniu dużych stężeń hormonów tarczycy, aktualnie przekraczających zapotrzebowanie. Zwiększa się zużycie tlenu, wytwarzanie ciepła i podstawowa przemiana materii na skutek pobudzenia ATP-azy sodowo-potasowej (z wyjątkiem mózgu, jąder i śledziony). U kobiet często dochodzi do zaburzeń owulacji, u około 40% stwierdza się podwyższone stężenie prolaktyny w surowicy.³⁶

Zmniejszone stężenie TSH wskazuje na pierwotną, a zwiększone na wtórną nadczynność tarczycy. Utajona nadczynność tarczycy (subkliniczna/małoobjawowa) nie daje objawów, lub są one bardzo dyskretne, a jedynym odchyleniem jest zmniejszenie

stężenia TSH. Jawna nadczynność tarczycy występuje częściej u kobiet, około 500 zachorowań na 100000 na rok. Chorobowość określa się w granicach 1,6% u kobiet i 0,14% u mężczyzn. W Polsce główną przyczyną nadczynności jest wole guzkowe nadczynne, jednak obserwuje się wzrost zachorowań na chorobę Gravesa i Basedowa. Przyczyny nadczynności tarczycy można podzielić na trzy grupy:

W pierwszej grupie - uszkodzenie tarczycy przez autooprzeciwiacza, rozpad komórek i uwolnienie nagromadzonych hormonów tarczycy, ma miejsce w przebiegu niektórych zapaleń, np. w pierwszej fazie podostrego zapalenia de Quervain, poporodowego zapalenia tarczycy, czy w ostrej fazie choroby Hashimoto. Po przejściu fazy ostrej dochodzi zazwyczaj do niedoczynności tarczycy.

Drugą grupę stanowią choroby, w których pobudzany jest receptor TSH – przez autooprzeciwiacza w chorobie Gravesa i Basedowa, w wyniku mutacji powodującej samoistną aktywację, jak w wolu guzkowym nadczynnym, czy guzku autonomicznym lub przez nadmiar TSH wydzielany np. przez gruczolaka przysadki.

Ostatnią grupę stanowi nadczynność z powodu pozataarczycowego nadmiaru hormonów – przedawkowanie L-tyroksyny lub endogenne wydzielanie hormonów np. przez wole jajnikowe, czy chorobę trofoblastyczną.⁵¹

Inny podział przydatny w diagnostyce różnicowej uwzględnia jodochwytność tarczycy i wyróżnia dwie grupy chorób. Przebiegające ze zwiększoną jodochwytnością tarczycy: choroba Gravesa-Basedowa, wole wieloguzkowe toksyczne, pojedynczy guz autonomiczny tarczycy, zespół nieadekwatnego wydzielania TSH, guz z komórek trofoblastu oraz druga grupa ze zmniejszoną jodochwytnością tarczycy: podostre i przewlekłe zapalenie tarczycy, zatrucie preparatami tarczycy, zespół jod-Basedow, ekotopowa tkanka tarczycowa. Najczęstszą przyczyną nadczynności jest choroba Graves-Basedowa oraz wole guzkowe nadczynne. Choroby autoimmunologiczne tarczycy opisano w dalszej części opracowania.

Kryteria rozpoznania nadczynności to współistnienie typowych objawów klinicznych ze zmniejszeniem stężenia TSH $<0,05$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ i zwiększeniem stężenia fT4, rzadko występuje izolowany wzrost fT3. Zwiększenie stężenia fT4 lub fT3 ponad normę wystarczy do rozpoznania jawnej nadczynności przy nierozwiniętych jeszcze w pełni objawach klinicznych.

Nadmiar hormonów tarczycy powoduje wzrost wrażliwości komórek gruczołu piersiowego na estrogeny, a także zwiększa się konwersja androstendionu do estronu oraz testosteronu do estradiolu. W stanie hipertyreozy podwyższa się poziom globuliny

wiążącej hormony płciowe (SHGB) w surowicy, do której zwiększone powinowactwo wykazuje testosteron, stąd względny wzrost poziomu estradiolu w surowicy krwi i obniżenie stosunku testosteron/estradiol. Estrogeny zwiększają wątrobową produkcję globulin wiążących hormony, m.in. globuliny wiążącej tyroksynę. Względnie niski poziom fT4 stymuluje przysadkę do wydzielania TSH oraz podwzgórze do sekrecji TRH. Ten ostatni jest czynnikiem pobudzającym wydzielanie prolaktyny, czyli substancji będącej czynnikiem mitogennym gruczołu piersiowego.

Niedoczynność tarczycy

Jest zespołem objawów klinicznych wywołanych niedoborem T4 i niewystarczającym działaniem T3 na poziomie komórkowym, co prowadzi do spowolnienia procesów matabolicznych i gromadzenia glikozaminoglikanów. Występuje 5 razy częściej u kobiet, a częstość występowania rośnie z wiekiem. W Polsce obecnie najczęstszą przyczyną niedoczynności jest autoimmunologiczne zapalenie tarczycy typu Hashimoto, którego fazą zejściową jest niedoczynność tego narządu. Wśród przyczyn niedoczynności możemy wyróżnić uszkodzenie samej tarczycy – pierwotna niedoczynność tarczycy. Dzieje się to często jak wspomniano wcześniej na tle autoimmunologicznym (choroba Hashimoto), ale również w przebiegu innych zapaleń: podostre (III faza), czy poporodowe zapalenie tarczycy. Wśród innych przyczyn należy wyróżnić jatrogeną niedoczynność tarczycy - stan po zabiegu operacyjnym, radioterapii okolicy szyi z powodu chłoniaka lub raka, czy leczeniu jodem promieniotwórczym, stosowanie amiodaronu, przedawkowanie leków przeciwtarczycowych, przyjmowanie związków litu, nitroprusydku sodu, czy fenytoiny, a także przewlekła ekspozycja na substancje wolotwórcze, tj. goitryna, maniok, tiocjanki i in. Nadmierne spożycie jodków lub ich niedobór w diecie również może prowadzić do niedoczynności.

Ciekawym aspektem jest również obserwowana niedoczynność tarczycy u pacjentek leczonych napromienianiem uzupełniającym po zabiegu oszczędzającym z powodu raka piersi, mimo, że pole naświetlań nie obejmuje gruczołu tarczowego. Objawowa niedoczynność tarczycy pojawia się po kilku – kilkunastu latach od zakończenia leczenia raka piersi.

Z wtórną niedoczynnością tarczycy mamy do czynienia jako z jedną z cech w przypadku niedoczynności przysadki, do której najczęściej dochodzi w następstwie

ucisku gruczołka przysadki albo w wyniku zabiegu neurochirurgicznego lub napromieniania. Natomiast w przypadku, gdy dojdzie do przerwania ciągłości szypuły przysadki, np. w guzach podwzgórza, czy sarkoidozie mamy do czynienia z trzeciorzędową niedoczynnością tarczycy.

Objawy poza uogólnionym spowolnieniem metabolizmu oraz gromadzeniem się glikozaminoglikanów, głównie kwasu hialuronowego w tkankach i tworzeniem obrzęków śródmiąższowych, obejmują zaburzenia miesiączkowania u kobiet, skrócenie długości cyklu, często obfite lub bardzo skąpe krwawienia miesięczne, poronienia, niepłodność. Chorzy skarżą się na nietolerancję wysiłku, stałe uczucie zimna, wzrost masy ciała przy zmniejszonym łaknieniu, uporczywe zaparcia, wypadanie włosów, suchą skórę. Zmniejsza się sprawność intelektualna, często występuje depresja.

Kryterium rozpoznania niedoczynności tarczycy – stwierdzenie zmniejszonego stężenia fT4 i podwyższone stężenie TSH. W przypadku wtórnej i trzeciorzędowej niedoczynności tarczycy stężenie TSH nie wzrasta, mimo obniżonych poziomów hormonów tarczycy. W subklinicznej niedoczynności stężenie fT4 jest w normie przy wzroście stężenia TSH i często brak typowych objawów klinicznych.⁵¹

W niedoczynności tarczycy obserwuje się niski poziom hormonów pobudzających wzrost, tj. hormonu wzrostu, estrogenów oraz wysoki poziom komórek NK. Te ostatnie niszczą zakażone i transformowane nowotworowo komórki, które utraciły antygen MHC-I i wywierają szybki efekt cytotoksyczny. Wysoki poziom TSH, a co za tym idzie TRH pobudza wydzielanie prolaktyny (PRL). Prolaktyna ma wpływ na układ immunologiczny – działa mitogennie na limfocyty, tymocyty, a także indukuje ekspresję receptora dla IL-2 na powierzchni limfocytów i stymuluje je do wydzielania przeciwciał, substancji hormonopodobnych i cytokin. Substancje te podobnie jak tyreotropina wydzielana przez immunocyty mogą powodować rozrost komórek tarczycy bez konieczności wzrostu TSH.⁵²

Choroby autoimmunologiczne tarczycy:

Choroba Gravesa i Basedowa – jest chorobą autoimmunologiczną, w której antygenem jest receptor dla TSH (TSHR), znajdujący się na błonie komórkowej tyreocyty. Przeciwciała przeciwko TSHR pobudzają czynność komórek pęcherzykowych, prowadząc do objawów nadczynności tarczycy. Mechanizmy tego procesu nie są do końca poznane, upatruje się tutaj przyczyn zarówno w predyspozycji

rodzinnej jak i czynnikach środowiskowych. Obecnie udowodniono rolę genu *HLA-DR3* i *CTLA-4*, jednak wiadomo, że jest to choroba uwarunkowana wielogenowo. Dużą rolę w patogenezie tej choroby odgrywa prezentacja antygenów tarczycowych limfocytów T, w której biorą udział cząsteczki HLA klasy II (w stanach fizjologicznych tyreocyty nie posiadają antygeny HLA klasy II), zaś ko-receptorem jest cząsteczka CTLA-4, która normalnie hamuje aktywację limfocytów T. Limfocyty T aktywują limfocyty B, które zaczynają produkować przeciwciała anti-TSHR.

Do czynników środowiskowych mających wpływ na rozwój choroby zaliczamy palenie tytoniu, które dwukrotnie zwiększa ryzyko nadczynności tarczycy oraz ośmiokrotnie występowanie orbitopatii w przebiegu tej choroby. Inne czynniki jak zakażenie wirusowe, zakażenie bakterią *Yersinia enterocolitica*, stres, uraz, starzenie się mogą być czynnikiem spustowym dla ujawnienia się choroby u osób predysponowanych. Nadmiar jodu w diecie może powodować zmianę immunogenności tyreoglobuliny i zwiększenie częstości występowania przeciwciał przeciwtarczycowych. Wiadomo, że na rozwój choroby Graves-Basedowa mają wpływ estrogeny, gdyż choroba ta występuje dziesięciokrotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn, poza tym często ujawnia się po porodzie. Estrogeny mogą modyfikować aktywność supresorowych limfocytów T, ale dokładny mechanizm tej zależności nie został jeszcze poznany.

Rozwój choroby Graves-Basedowa tłumaczy się również obecnością czynników wewnątrz-tarczycowych, do których zalicza się obecność przeciwciał. Najczęściej są to immunoglobuliny stymulujące tarczycę (TSH – thyroid stimulating immunoglobulins), skierowane przeciwko receptorowi dla TSH. Reakcja przeciwciała – receptor powoduje pobudzenie białka Gs, cykazy adenylanowej i kinazy białkowej A, co stymuluje wzrost i czynność komórek tarczycy. U części chorych rozwija się niedoczynność tarczycy wynikająca z obecności przeciwciał hamujących wiązanie tyreotropiny z komórkami tarczycy (TBII – thyrotropin binding inhibiting immunoglobulins). Obecność przeciwciał niepobudzających czynności tyreocytów (TGI - thyroid growth immunoglobulins) prowadzi do przebiegu choroby z eutyreozą. Mogą również występować przeciwciała przeciwko tyreoperoksydazie (anty-TPO) oraz tyreoglobulinie (anty-Tg).

Typowy przebieg choroby jest sinusoidalny, z okresami zaostrzeń i remisji, w konsekwencji może prowadzić do nieodwracalnej niedoczynności tarczycy, powodując w trakcie jej trwania wiele groźnych dla życia powikłań. Często towarzyszą jej

charakterystyczne zmiany pozataarczycowe jak: orbitopatia tarczycowa, obrzęk przedgoleniowy lub akropatia tarczycowa, które wiążą się z obecnością wspólnego antygeny występującego w tyreocytach i fibroblastach.

Rozpoznanie stawia się na podstawie wyniku poziomu przeciwciał przeciw TSHR.

Przewlekłe autoimmunologiczne zapalenie tarczycy - choroba Hashimoto, określa się również jako zapalenie limfocytowe. Jest to najczęstszy typ zapalenia tarczycy i jednocześnie przyczyna niedoczynności tarczycy. Zapadalność ocenia się na 0,3-1,5% przypadków na 1000 osób na rok i częściej występuje u kobiet (ok. 95% przypadków) Wiąże się z obecnością przeciwciał przeciwko tyreoperoksydazie (anty-TPO) i tyreoglobulinie (anty-Tg) w surowicy oraz nacieków limfocytowych w tarczycy, rzadziej przeciwciał blokujących receptor TSH. Mechanizm autoimmunologiczny przypisuje się przede wszystkim cytotoksycznym limfocytom T, które odpowiadają za niszczenie komórek pęcherzykowych tarczycy. Limfocyty T pomocnicze stymulują limfocyty B, które przekształcają się w komórki plazmatyczne, wytwarzające przeciwciała przeciw antygenom tarczycowym. Przeciwciała występujące w tej chorobie mają znikome znaczenie cytotoksyczne. Istotną rolę odgrywa predyspozycja genetyczna, u osób z antygenami HLA B8, DR3, DR5 częściej niż u innych ludzi rozwija się pod wpływem stresu, infekcji wirusowej, nadmiaru jodu.

Przebieg choroby jest przewlekły, tarczyca może mieć charakter zanikowy, tworzyć wole lub mieć zupełnie prawidłową strukturę, w konsekwencji prowadzi do niedoczynności tarczycy. W klasycznej postaci przebiega z obecnością twardego wola w kształcie motyla ze względu na wyczuwalny płat piramidowy. Kryterium rozpoznania jest podwyższony poziom anty-TPO i/lub anty -Tg w surowicy u pacjentów z wolem lub objawami niedoczynności tarczycy oraz typowy obraz radiologiczny tarczycy. W przypadku braku podwyższonego miana przeciwciał w surowicy konieczne jest wykonanie PCI do postawienia diagnozy.

Choroba Hashimoto jest uznanym czynnikiem ryzyka rozwoju pierwotnego chłoniaka tarczycy, w tej grupie chorych również częściej występuje rak brodawkowy tarczycy.

W latach 90-tych opublikowano kilka prac, w których zauważono, że autoimmunologiczne zapalenie tarczycy typu Hashimoto występuje zdecydowanie częściej w grupie chorych na raka piersi. Początkowo sugerowano, iż obecność

przeciwciał anty – TPO w surowicy może być czynnikiem ryzyka raka piersi. Lata 2000 – 2015 były punktem zwrotnym w myśleniu na temat chorób autoimmunologicznych tarczycy. Zauważono, że chore na raka piersi, u których stwierdzono wysokie miano przeciwciał anty-TPO w surowicy miały lepsze rokowanie, niższy stopień zaawansowania nowotworu w momencie diagnozy, dłuższy czas całkowitego przeżycia i czas do progresji choroby aniżeli chore bez obecności przeciwciał w surowicy. Wysłano wniosek, że wysokie miano przeciwciał może mieć znaczenie rokownicze, jednak wymaga to jeszcze potwierdzenia na większych grupach chorych i dłuższego czasu obserwacji aniżeli do tej pory.

W pracy badano problem współwystępowania autoimmunologicznego zapalenia tarczycy z rakiem piersi i wpływu wysokiego poziomu przeciwciał anty-TPO w surowicy na cechy immunohistochemiczne guza nowotworowego. Ze względu na krótki czas obserwacji chorych niemożliwa była ocena rokownicza poziomu przeciwciał w surowicy.

2. CEL PRACY

Celem pracy jest poszukiwanie związków pomiędzy zaburzeniem czynności i struktury tarczycy oraz chorobami autoimmunologicznymi tarczycy a ryzykiem wystąpienia raka piersi.

Cel realizowano poprzez:

1. Poszukiwanie związku pomiędzy nadczynnością i niedoczynnością tarczycy a występowaniem raka piersi.
2. Analizę struktury tarczycy u chorych na raka piersi.
3. Analizę cech klinicznych i patologicznych nowotworu u chorych na raka piersi z zaburzeniem struktury tarczycy stwierdzonymi w badaniu usg.
4. Poszukiwanie związków pomiędzy ekspresją cykliny D1 i białka p53 w guzie nowotworowym a pozostałymi cechami immunohistochemicznymi nowotworu oraz ich wpływu na funkcję i strukturę tarczycy.
5. Analizę wpływu poziomu przeciwciał anti-TPO i TRAK oraz hormonu – prolaktyna w surowicy na ryzyko wystąpienia raka piersi i ich wpływu na cechy guza nowotworowego.
6. Poszukiwanie zależności pomiędzy poziomem przeciwciał anti-TPO i TRAK w surowicy a występowaniem raka piersi - porównanie uzyskanych wyników w grupie badanej do grupy kontrolnej.
7. Analizę cech klinicznych, histopatologicznych i immunohistochemicznych nowotworu oraz stanu tarczycy i poziomu prolaktyny w surowicy u chorych na raka piersi z potwierdzoną mutacją genów *BRCA1/2* oraz *NOD2*.

3. MATERIAŁ

Głównym źródłem finansowania badań na rzecz niniejszej pracy były środki pochodzące z grantu nr 502-01-01113152-09815 przyznanego przez Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

3.1 Charakterystyka grupy badanej¹

Grupę badaną stanowiło 100 kobiet z rozpoznaniem raka piersi leczonych w Oddziale Chirurgii Onkologicznej Kliniki Onkologii w Poznaniu od kwietnia 2014r do grudnia 2014r, które wyraziły zgodę na udział w badaniu. Warunkiem włączenia do badania było rozpoznanie pierwotnie operacyjnego raka piersi oraz brak nowotworów złośliwych w wywiadzie leczonych za pomocą chemio- lub/i radioterapii. Z każdą chorą przeprowadzono dokładny wywiad z uwzględnieniem narażenia na czynniki ryzyka występowania raka piersi. Były to chore w wieku od 35 do 82 lat, przy czym największą grupę stanowiły kobiety w wieku od 50 do 69 roku życia, co koreluje z danymi epidemiologicznymi. (Tabela I)

Tabela I. Rozkład wieku chorych na raka piersi w grupie badanej (n=100)

Wiek chorych	35r.ż. – 39 r.ż.	40 r.ż. – 49 r.ż.	50 r.ż. – 59 r.ż.	60 r.ż. – 69 r.ż.	70 r.ż. – 82 r.ż.
Liczba chorych	8	10	34	39	9

Ze wszystkich badanych chorych 13 można zaliczyć do grupy wysokiego ryzyka wystąpienia raka piersi, czyli do grupy od 4 do 10-krotnie większego ryzyka zachorowania w porównaniu z populacją ogólną. Są to chore z obciążonym wywiadem rodzinnym, gdzie wystąpiły dwa lub więcej zachorowań u krewnych I lub II stopnia przed 50 r.ż. lub przynajmniej 3 zachorowania w dowolnym wieku (razem z badaną pacjentką).⁵³ U 34 kobiet badanych w rodzinie nikt nie chorował na nowotwory

¹ Autorka rozprawy bardzo dziękuje Pani mgr Krystynie Kutny, Pielęgniarkę Oddziałowej oraz całemu Zespołowi Oddziału Chirurgii Onkologicznej Kliniki Onkologii w Poznaniu za pomoc w rekrutacji chorych do grupy badanej.

złośliwe. W grupie 31 pacjentek wystąpiło jedno zachorowanie na nowotwór złośliwy u krewnych I lub II stopnia, zaś u 22 – dwa zachorowania na nowotwory lite. W trakcie wywiadu z pacjentkami poruszano problem nosicielstwa genów odpowiedzialnych za wzrost ryzyka między innymi raka piersi oraz możliwości wykonania badań genetycznych, a także konsekwencji idących za uzyskaniem dodatniego wyniku badań genetycznych.

Wśród chorób współistniejących (dane z wywiadu) najczęściej występowało nadciśnienie tętnicze, odnotowano je u 31 pacjentek. Ocenia się, że w krajach uprzemysłowionych dotyczy ono ponad 25% populacji dorosłej, w Polsce jest rozpoznawane u 29% dorosłych kobiet wg badania NATPOL, a 32,9% wg badania WOBASZ.⁵⁴ Należy zwrócić uwagę na fakt, iż jest to choroba często towarzysząca innym chorobom cywilizacyjnym jak otyłość, hipercholesterolemia, cukrzyca typu 2., czy niewydolność serca. Te ostatnie stwierdzono odpowiednio u 7 i 6 pacjentek (NYHA I/II stopień).

Pozostałe choroby występujące u kobiet badanych przedstawiono w tabeli II.

Tabela II. Choroby współistniejące u chorych z rakiem piersi (n=20), z wyłączeniem cukrzycy typu 2., niewydolności serca NYHA I/II oraz chorób nowotworowych w wywiadzie

Schorzenie	RZS	WZJG	WZWB	Zaćma	Jaskra	Astma/ POCHP	Otyłość *	Depresja	Porfiria
Liczba chorych	5	1	1	3	2	4	2*	1	1

*Do otyłości przyznały się dwie pacjentki. Na podstawie wyliczeń BMI, znając aktualną masę ciała i wzrost kobiet przy przyjęciu do Oddziału Chirurgii Onkologicznej otyłość stwierdzono u 29 pań, co przedstawiono poniżej w tabeli III.

Tabela III. Rozkład masy ciała (BMI kg/m²) w grupie chorych na raka piersi (n=100)

	BMI kg/m ²	Liczba chorych
Otyłość III stopnia	>=40	3
Otyłość II stopnia	35 – 39,99	9
Otyłość I stopnia	30 – 34,99	17
Nadwaga	25 – 29,99	32
Masa ciała prawidłowa	18,5 – 24,99	39

Wśród 100 badanych chorych u żadnej nie stwierdzono niedoboru masy ciała. Uważa się, że otyłość i mała aktywność fizyczna są modyfikowalnymi czynnikami ryzyka wystąpienia raka piersi. Z badania przeprowadzonego na grupie 130 kobiet w Wielkiej Brytanii w latach 2004 -2006 wynika, że ryzyko wystąpienia raka piersi u kobiet po menopauzie rośnie ze wzrostem masy powyżej wskaźnika prawidłowego (wzrost o 3% na każde dodatkowe 5 kg m.c.).⁵⁵ Włoskie badanie na grupie ponad 2500 kobiet ze zdiagnozowanym w przeszłości rakiem piersi wykazało wzrost śmiertelności z powodu raka u kobiet z BMI>30kg/m² w porównaniu z kobietami, których BMI<25kg/m².⁵⁶ W otyłości często mamy do czynienia z opornością na insulinę, a tym samym ze zwiększeniem jej stężenia w surowicy. Hormon ten może odgrywać ważną rolę w transformacji nowotworowej, a jego wzrost wiąże się z wyższym stopniem złośliwości histologicznej, koreluje z wielkością guza i stanem węzłów chłonnych, a tym samym wpływa na wzrost ryzyka przerzutów odległych oraz zgonu.⁵⁷ W innym włoskim badaniu analizowano związek pomiędzy podtypami raka piersi a BMI. Zebrano 1000 kolejnych pacjentek z rozpoznaniem raka piersi po menopauzie i oceniano cechy charakterystyczne guza nowotworowego w zależności od BMI. Pacjentki z BMI w przedziale 26-30kg/m² częściej prezentowały typ luminalny A lub B raka, częściej występowała u nich insulinooporność. U pacjentek z nowotworem HER2 dodatnim nie znaleziono związku z BMI. Autorzy wnioskujeją, że redukcja masy ciała i kontrola glikemii może pomóc w zapobieganiu rozwojowi nowotworu.⁵⁸

W badanej grupie trzy chore były leczone w przeszłości z powodu nowotworu złośliwego: 2 z powodu raka jajnika, w rodzinach obu wystąpiły przynajmniej 3 zachorowania na nowotwór złośliwy u krewnych I i/lub II stopnia w dowolnym wieku, obie miały wykonane podstawowe badania genetyczne w przeszłości (BRCA1/BRCA2). U jednej z nich stwierdzono mutację genu *BRCA1* na długim ramieniu chromosomu 17.

Trzecim zachorowaniem był rak szyjki macicy w stopniu IA1, wykryty u pacjentki w wieku 33 lat, u której w wywiadzie było jedno zachorowanie na nowotwór złośliwy w rodzinie u krewnej I stopnia. Stopień zaawansowania tych nowotworów pozwolił na radykalne leczenie chirurgiczne bez leczenia cytostatykami, czy energią promienistą, co uniemożliwiłoby im udział w badaniu. Czas między zachorowaniem w przeszłości, a obecnym nowotworem wyniósł więcej niż 5 lat.

Pozostałe schorzenia narządów rozrodczych to mięśniaki macicy (u 10 kobiet), torbiele jajnika (u 4 kobiet), przerost endometrium, wymagający abrazji (u 4 kobiet), dojrzały potworniak jajnika stwierdzony u 1 chorej.

Mięśniaki macicy to najczęściej występujący nowotwór niezłośliwy macicy. Według różnych źródeł częstość występowania waha się od 20% do 40%, rozpoznawane są najczęściej między 35 r.ż. a 55 r.ż. Etiologia powstawania nie jest do końca wyjaśniona, jednak uważa się, że istotną rolę odgrywa tutaj wysoki poziom estrogenów, częściej też występują u kobiet z nadwagą.

Bardzo często mięśniakom macicy towarzyszy przerost endometrium, który z kolei rozpowszechniony jest u kobiet w wieku około menopauzalnym, a występowanie szacuje się na 10-15% populacji dorosłych kobiet. Przyczyną powstawania rozrostu endometrium jest działanie estrogenów niezrównoważone przez progesteron.⁵⁹ Podobnie zaburzenia równowagi hormonalnej są odpowiedzialne za powstawanie torbieli w jajnikach. Najczęściej są to znaleziska przypadkowe, niedające objawów. Jednocześnie żadna z przyjętych chorych nie przyznała się do potwierdzonych laboratoryjnie zaburzeń hormonalnych i nie była z tego powodu diagnozowana w przeszłości i leczona endokrynologicznie. U żadnej nie zdiagnozowano w przeszłości zespołu policystycznych jajników (PCO).

42 chore z badanej grupy podały w wywiadzie łagodne choroby piersi występujące w przeszłości. 16 z nich było operowanych z powodu nowotworu niezłośliwego o charakterze fibroadenoma (FA). Włókniakogruczolak są najczęstszymi guzami występującymi w piersi, najczęściej wykrywane są między 20 r.ż. a 40 r.ż. Częstość występowania szacuje się na około 20% wszystkich schorzeń piersi w populacji dorosłych kobiet. U 18 stwierdzono radiologicznie i klinicznie w obu piersiach torbiele proste, które następnie podlegały intensywnemu nadzorowi radiologicznemu. 8 kobiet przyznało się do wystąpienia przynajmniej jednego epizodu zapalenia piersi (po stronie raka) w trakcie karmienia piersią, wymagającego antybiotykoterapii.

W grupie badanej tylko nieliczne chore zgłosiły zaburzenia struktury lub/i czynności tarczycy w przeszłości, co przedstawiono w tabeli poniżej. Są to dane z wywiadu, nie potwierdzone dokumentacją medyczną.

Tabela IV. Choroby tarczycy w wywiadzie wśród chorych na raka piersi (n=31)

Choroba tarczycy w wywiadzie	Guzki tarczycy	Nadczynność	Niedoczynność	Wole Hashimoto	Wole obojętne
Liczba kobiet	12	9	7	1	2

Wszystkim włączonym do badania chorym wykonano pełną diagnostykę tarczycy: badanie ultrasonograficzne, poziom hormonów: TSH, fT3, fT4 i poziom przeciwciał anti-TPO oraz TRAK w surowicy. Ponieważ badane chore przebywały w Oddziale Chirurgii Onkologicznej, były przygotowywane do radykalnego leczenia chirurgicznego – wszystkie były w stanie eutyreozy – miały prawidłowe wartości hormonu TSH, jak i hormonów tarczycy w surowicy. 20 chorych miało podwyższone miano przeciwciał anti-TPO w surowicy, jedna z nich w wywiadzie podawała chorobę Hashimoto, druga – niedoczynność tarczycy zdiagnozowana na podstawie poziomu TSH, fT3, fT4 w surowicy, bez wcześniejszego oznaczenia przeciwciał w surowicy. Pozostałe chore nie podawały chorób, które mogłyby powodować podwyższenie przeciwciał w surowicy. U wszystkich badanych poziom przeciwciał w surowicy przeciwko receptorom dla TSH (TRAK) był w normie. Wyniki badań laboratoryjnych zebrano w tabeli V.

Tabela V. Wyniki badań laboratoryjnych, dotyczących funkcji tarczycy (TSH, fT3, fT4, anti-TPO, TRAK) w grupie badanej (n=100)

	TSH [N:0,55- 4,78uIU/MI]	fT4 [N:0,89- 1,76 ng/dl]	fT3 [N:2,30- 4,20pg/MI]	Anti-TPO >34 IU/ml	TRAK [N:<2,00IU/l]
Liczba kobiet	100	100	100	20	100

Wykonane badanie usg tarczycy wykazało nieprawidłową strukturę tarczycy u 79 kobiet spośród badanych chorych (Tabela VI).

Tabela VI. Wyniki badania ultrasonograficznego tarczycy u chorych na raka piersi (n=100), gdzie v – objętość tarczycy, n – norma

Badanie usg:	zmiany ogniskow, v=n	v>n	Zmiany ogniskowe, v>n	stan po strumektomii	v =n (<20 ml)
Liczba kobiet	42	11	26	2	19

*v – objętość tarczycy obliczona wg wzoru: długość x szerokość x głębokość x 0,5 [ml]
n – norma [do 20 ml]

U dwóch chorych ze względu na rozmiar guza tarczycy oraz inne czynniki ryzyka, tj. przepływy i mikrozwapnienia w znalezionych zmianach ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym, konieczna była dalsza pogłębiona diagnostyka. Po wykonaniu PCI okazały się zmianami o charakterze łagodnym, do dalszej kontroli endokrynologicznej. U jednej chorej podejrzewano zakrzepicę żył szyjnych, którą wykluczono na podstawie badań dodatkowych. 6 kobiet badanych miało podwyższoną wartość prolaktyny w surowicy, przy normie od 127 do 637 mIU/L, zaś u 10 badanych stwierdzono wartość obniżoną.

48 chorych grupy badanej nie podało żadnej choroby współistniejącej.

W wywiadzie uwzględniono dokładny wywiad położniczy, tj.:

- wiek pierwszej miesiączki (Tabela VII.):

Tabela VII. Wiek pierwszej miesiączki (PM) u chorych na raka piersi (n=100)

PM	10 r.ż.	11 r.ż.	12 r.ż.	13 r.ż.	14 r.ż.	15 r.ż.	16 r.ż.	17 r.ż.	18 r.ż.
n*	1	5	21	16	31	18	4	-	2

n* - liczba kobiet

- wiek ostatniej miesiączki (Tabela VIII.):

Tabela VIII. Wiek ostatniej miesiączki (OM) u chorych na raka piersi (n=100)

OM zakres wieku	33r.ż. do 39 r.ż.	40r.ż. do 49 r.ż.	50 r.ż. do 55 r.ż.	>55 r.ż.
Liczba kobiet	3	27	44	2

Późna menopauza zwiększa około 2-krotnie ryzyko zachorowania na raka piersi, za granicę wieku uznaje się 54 lata.

23 z ankietowanych kobiet w momencie wykrycia raka piersi miesiączkowało regularnie. Chora, która podała, że w wieku 33 lat przestała miesiączkować, chorowała na raka szyjki macicy w stopniu Ia1 w 33. roku życia, kiedy przeprowadzono radykalne usunięcie macicy. Pozostałe kobiety z I grupy przestały miesiączkować w wieku 38 i 39 lat. W IV grupie stwierdzono menopauzę u 2 kobiet badanych w późnym wieku - 58 i 60 lat (dane z wywiadu).

W grupie badanej 6 kobiet nigdy nie rodziło, a 34 kobiety przyznało, że w przeszłości przynajmniej raz roniło. Dwie chore pierwsze dziecko urodziło w 35 r.ż., zaś jedna w 36 r.ż.

41 kobiet z całej grupy nie karmiło piersią, 26 karmiło w sumie powyżej 12 miesięcy, a 31 kobiet poniżej roku.

21 kobiet w ciągu całego dotychczasowego życia stosowało antykoncepcję hormonalną od roku do 26 lat, czas jej trwania przedstawiono w tabeli poniżej.

Tabela IX. Czas trwania antykoncepcji u chorych na raka piersi – dane z wywiadu (n=21)

Czas antykoncepcji	1 rok do 5 lat	6 do 10 lat	11 do 15 lat	26 lat
Liczba kobiet	12	6	2	1

Wyniki badań pokazują, że antykoncepcja hormonalna powoduje niewielki wzrost ryzyka zachorowania na raka piersi, a zaprzestanie przyjmowania doustnych środków antykoncepcyjnych powoduje obniżenie po 10 latach tego ryzyka do ryzyka, jakie mają kobiety nigdy nie przyjmujące antykoncepcji.

Czynnikiem, który znacznie zwiększa ryzyko wystąpienia raka jest hormonoterapia zastępcza. Analiza danych podczas badania Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer wykazała, że przez pierwsze 5 lat stosowania, nie ma wpływu na ryzyko raka piersi, następnie każdy rok powyżej, to zwiększenie tego ryzyka o ok.1,2% w stosunku do populacji ogólnej. Dodatkowo znacznie większe zagrożenie mają kobiety przyjmujące preparaty złożone estrogenowo-progesteronowe, a niżeli tylko estrogenowe. W pracy nie dokonano podziału na typ preparatu, gdyż większość chorych odstawiła hormony do czasu przyjęcia do szpitala i nie potrafiła określić i nazwać preparatu.

25 chorych stosowało hormonalną terapię zastępczą (HTZ). 12 z nich przez czas mniej niż pięć lat, 13 – pięć lub więcej lat. Najdłuższy czas stosowania to 16 lat – jedna chora, dwie przez 15 lat.

Chore pytano o aktywność fizyczną w skali od 0 do 3. Skalę ustalono dla potrzeb pracy, by obiektywnie ocenić aktywność fizyczną badanych kobiet.

- 0, to brak aktywności fizycznej i podejmowania dodatkowego wysiłku poza czynnościami dnia codziennego
- 1, to podejmowanie aktywności fizycznej jeden raz w tygodniu przez minimum 30 minut, np. jogging, siłownia, gimnastyka, itp.
- 2, to wysiłek fizyczny podejmowany dwa razy w tygodniu przez minimum 30 minut
- 3, to podejmowanie wysiłku fizycznego przynajmniej trzy razy w tygodniu przez minimum 30 minut.

Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli X.

Tabela X. Ocena aktywności fizycznej u kobiet w grupie badanej (n=100) w skali od 0-3

Aktywność fizyczna w skali 0-3	0	1	2	3
Liczba kobiet	20	68	12	-

Żadna z chorych nie przyznała sobie 3 punktów, wynika z tego, iż żadna nie podejmowała do tej pory wysiłku fizycznego przynajmniej 3 x tygodniu przez minimum 30 minut. 20 chorych przyznało, iż nie podejmuje żadnego dodatkowego wysiłku fizycznego, a zakres ich masy ciała przedstawiono w tabeli poniżej.

Tabela XI. Zakres BMI u chorych na raka piersi, które do tej pory nie podejmowały wysiłku fizycznego (n=20).

BMI [kg/m ²]	prawidłowe	nadwaga	Otyłość I stopn.	Otyłość II stopn.	Otyłość III stopn.
Liczba kobiet	2	7	6	3	2

Aktywność fizyczna jest związana ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia raka piersi o 20-40% u kobiet przed, jak i po menopauzie i wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka występowania otyłości.³⁰

Podobna skala służyła do oceny stosowanej diety:

- 0, oznaczało bardzo niezdrowe nawyki żywieniowe, np. fast-foody, słodczy, tłuste potrawy, pieczywo z mąki pszennej, sporadyczny udział w diecie warzyw i owoców
- 1, sposób odżywiania jak w punkcie 0, jednak z udziałem warzyw i owoców w codziennych posiłkach
- 2, dieta mieszana z udziałem warzyw i owoców, ryb, sporadyczne spożywanie posiłków typu fast-food, słodczy
- 3, dieta bez udziału fast-foodów, z bardzo restrykcyjnym ograniczeniem słodczy, pieczywo z pełnoziarnistej mąki, warzywa, owoce, ryby.

Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli XII.

Tabela XII. Ocena odżywiania w grupie badanej (n=100) w skali od 0-3

Sposób odżywiania w skali 0-3	0	1	2	3
Liczba kobiet	22	60	15	3

Trzy chore oceniły swój sposób odżywiania na 3 punkty, ich zakres BMI mieścił się w normie, zaś 22 kobiety oceniły swoją dietę za bardzo niezdrową – 0 punktów, zakres ich masy ciała przedstawiono w tabeli XIII.

Tabela XIII. Zakres masy ciała u chorych na raka piersi, które oceniły swój sposób odżywiania za bardzo niezdrowy (n=22)

BMI [kg/m ²]	prawidłowe	nadwaga	Otyłość I stopn.	Otyłość II stopn.	Otyłość III stopn.
Liczba kobiet	6	10	2	2	2

Z modyfikowalnych czynników ryzyka występowania raka piersi uwzględniono narażenie na substancje toksyczne oraz używki, wzięto pod uwagę również palenie papierosów przez chore. Wyniki przedstawiono w tabeli XIV.

Tabela XIV. Narażenie na modyfikowalne czynniki ryzyka występowania raka piersi u kobiet w grupie badanej (n=37)

Czynnik szkodliwy	Alkohol	Papierosy	Toksyny	Inne: I 131
Liczba kobiet	-	32	2	3

Trzy chore były w przeszłości leczone jodem promieniotwórczym z powodu nadczynności tarczycy, u żadnej z nich ze względu na brak dokumentacji nie można udowodnić tła autoimmunologicznego, ani określić całkowitej dawki podanego pierwiastka promieniotwórczego. Dwie chore przyznały, że w pracy zawodowej były narażone na substancje toksyczne – praca przy produkcji nawozów sztucznych.

Wybrane parametry histopatologiczne guzów w grupie badanych kobiet.

Wśród 100 chorych u dwóch stwierdzono raka dwuogniskowego, u pozostałych – pojedynczy guz piersi. Większość chorych była leczona oszczędzająco z zaplanowaną następną radioterapią (Tabela XV).

Tabela XV. Określenie wielkości guza nowotworowego w badaniu histopatologicznym w grupie badanej (pT), n=100

Wielkość guza w badaniu histopatologicznym (pT)	pTis	pT1a	pT1b	pT1c	*pT2	pT3
Liczebność grupy	6	3	20	40	28	3

*u jednej pacjentki z guzem powyżej 2 cm rozpoznano raka przewodowego in situ na przestrzeni całego guza.

Ocena histopatologiczna przerzutów do węzłów chłonnych (Tabela XVI):

Tabela XVI. Ocena stopnia zaawansowania nowotworu w węzłach chłonnych (pN), n=100

Obecność/brak przerzutów do w.ch.	pN0	pN1(a-c)	pN2	pN3
Liczebność grupy	84	13	2	1

U 16 pacjentek wykonano limfadenektomię pachową po stronie guza.

Ocena stopnia histopatologicznej złośliwości G (Tabela XVII.):

Tabela XVII. Ocena stopnia złośliwości histologicznej nowotworu (G), n=98*

Stopień złośliwości histologicznej	G1	G2	G3
Liczebność grupy	19	46	33

*W dwóch przypadkach nie oceniono stopnia złośliwości histologicznej: u chorej z rozpoznaniem ALH oraz w guzie ocenionym histopatologicznie jako „guz o niepewnym potencjale złośliwości”.

Wszystkie postaci histopatologiczne raka przedstawiono w tabeli poniżej:

Tabela XVIII. Rozpoznanie histopatologiczne guza nowotworowego w grupie badanej (n=100)

Typ	Liczebność grupy
Invasive carcinoma of no special type / NST	80
DCIS	7
Cribriform carcinoma G1	2
Mucinous carcinoma G1, G2	2
Tubular carcinoma G1	1
Invasive lobular carcinoma	8
Invasive micropapillary carcinoma G2, G3	2
Invasive papillary carcinoma G1	1
Atypical lobular hyperplasia / ALH	1
Atypical ductal hyperplasia / ADH	1

Od 2012 r. obowiązuje nowa klasyfikacja guzów piersi. Nadano nową nazwę najczęstszej postaci raka naciekającego - invasive carcinoma of no special type – rak bez specjalnego typu (NST), którego rozpoznanie stawia się poprzez wykluczenie innych typów nowotworu. Wyszczególniono dwie postaci histologiczne raka piersi o

szczególnie dobrym rokowaniu: rak cewkowy i sitowaty. Wyodrębniono raka z komórek sygnetywowych od raka śluzowego. We wcześniejszej klasyfikacji rak sygnetywotokomórkowy był wymieniany w grupie raka śluzowego: „*mucinous carcinoma and other tumours with abundant mucin*”, obecnie rak śluzowy stanowi odrębny typ nowotworu.

Oddzielnie opisano morfologiczne podtypy raka zrazikowego, które poprzednio były wymienione jedynie w jego opisie. Invasive papillary carcinoma, który został rozpoznany u jednej pacjentki widnieje w klasyfikacji Lyon 2012 jako typ rzadki.

U 5 badanych chorych z rakiem NST współwystępował inny typ histologiczny:

- Rak sitowaty/ Cribriform carcinoma
- Rak śluzowy/ Mucinous carcinoma
- Rak zrazikowy/ Invasive lobular carcinoma
- Rak brodawkowy/ Invasive papillary carcinoma

W 30 przypadkach z rakiem naciekającym typu NST występował komponent raka przedinwazyjnego typu DCIS. W jednym guzie z rozpoznaniem raka zrazikowego współwystępował typ LCIS.

Wybrane cechy immunohistochemiczne guzów przedstawiono w tabeli poniżej:

Tabela XIX. Wybrane cechy immunohistochemiczne guzów nowotworowych (ER, PgR, HER2, p53, cyklina D1)

Wybrana cecha	Liczebność grupy
ER pozytywny (+)	82
ER negatywny (-)	18
PgR pozytywny (+)	79
PgR negatywny (-)	21
*HER2 pozytywny (+)	13
*HER2 negatywny (-)	83
**Cyklina D1 pozytywne (+)	72
**Cyklina D1 negatywne (-)	12
***p53 pozytywne (+)	15
***p53 negatywne (-)	69

*W czterech przypadkach nie udało się oznaczyć receptora HER2.

** Ekspresję cykliny D1 zbadano u 84 kobiet. U pozostałe 16 nie było możliwe oznaczenie ze względu na brak materiału. W 82 przypadkach wykazano ekspresję

cykliny D1, jednak stopień ekspresji był zróżnicowany od kilku do 100% wybarwionych komórek, różna była też intensywność barwienia od 1+ do 3+. Ze względu na bardzo dużą różnorodność dla celów pracy przyjęto każde powyżej 10% wybarwionych komórek w guzie jako dodatnie – „1”. Szczegółowa ocena ekspresji cykliny D1 w komórkach nowotworu przedstawiała się następująco:

- w 10 przypadkach wybarwienie <10%
- w 27 przypadkach wybarwienie 10-50% komórek raka
- w 20 przypadkach wybarwienie <50% do 70% komórek raka
- w 25 przypadkach wybarwienie <70% do 100% komórek
- w 2 przypadkach brak ekspresji cykliny D1

*** Ekspresję białka p53 oznaczono u 84 kobiet, pozostałe nie były możliwe do oznaczenia ze względu na brak materiału. Ekspresję białka p53 wykazano w 15 przypadkach raka. Stopień ekspresji białka p53 był zróżnicowany od kilku do 100%. Dla celów pracy przyjęto, że każde >10% wybarwionych komórek raka można uznać za nowotwór z dodatnią ekspresją białka p53. Intensywność barwienia również była zróżnicowana od 1+ do 3+. W pracy oceniono brak ekspresji białka p53 u 48 pacjentek. W 21 przypadkach ekspresję oceniono jako poniżej 10%. Słabo dodatnie białko p53 określono w 3 przypadkach (wybarwienie od 10-50% komórek nowotworowych). Wybarwienie od 70-100% komórek raka stwierdzono w guzie nowotworowym u 12 chorych.

Oznaczono indeks proliferacji Ki67 i jako punkt odcięcia zgodnie z ustaleniami ekspertów na konferencji we Wiedniu w 2015 r. uznano wartość 20% . W badanej grupie ponad 50% raków charakteryzował wysoki indeks proliferacji (Tabela XX).

Tabela XX. Ocena indeksu proliferacji Ki67 w guzie nowotworowym

Wybrana cecha	Liczebność grupy
Ki67 <20%	39
Ki67 >= 20%	52

*U 9 chorych nie oznaczono procentowego odsetka liczby figur podziału mitotycznego.

Ocena immunohistochemiczna izolowanego raka przedinwazyjnego DCIS (Tabela XXI).

Tabela XXI. Wybrane cechy immunohistochemiczne w rakach przedinwazyjnych (n=7)

Wybrana cecha	Liczebność grupy
ER pozytywny (+)	3
ER negatywny (-)	4
PgR pozytywny (+)	3
PgR negatywny (-)	4
*HER2 pozytywny (+)	2
*HER2 negatywny (-)	2

*w trzech przypadkach nie oznaczono ekspresji receptora HER2

Ocenę immunohistochemiczną atypowych rozrostów ALH i ADH przedstawia tabela XXII.

Tabela XXII. Ocena immunohistochemiczna wybranych rozrostów atypowych (ALH, ADH) w grupie badanej

Wybrana cecha	ADH	ALH
ER pozytywny (+)	+	+
ER negatywny (-)		
PgR pozytywny (+)	+	+
PgR negatywny (-)		
HER2 pozytywny (+)		
HER2 negatywny (-)	+	+

Wśród włączonych do badania kobiet jedna chora z guzem w piersi prawej ocenionym klinicznie jako cecha T1N0, weryfikowanym w badaniu tomografii rezonansu magnetycznego piersi oraz PCI, nosicielka mutacji genu *BRCA2* została zakwalifikowana do zabiegu amputacji prostej piersi prawej z biopsją węzła wartowniczego. Wynik badania histopatologicznego nie potwierdził raka piersi prawej, wykluczono obecność przerzutów w pobranych węzłach chłonnych, a histopatologicznie zmianę opisano jako zmianę o niepewnym potencjale złośliwości. Nie oceniono również ekspresji receptorów steroidowych w guzie i obecności receptora HER2.

Nosicielki mutacji *BRCA2* mają znacznie zwiększone ryzyko zachorowania na raka piersi i jajnika – w wieku 40 lat ryzyko to określa się odpowiednio na 17% i 2 %, zaś w 80 r.ż. ryzyko to wzrasta odpowiednio do 45-85% i 10-27%. Wzrasta też 2-3 krotnie ryzyko zachorowania na raka trzonu macicy (gruczolakorak surowiczy

brodawkowaty), raka szyjki macicy, czerniaka oka, raka żołądka, jelita grubego a także na białaczki/chłoniaki.⁶⁰

Wprowadzenie i rozpowszechnienie badań profilaktycznych umożliwiło wykrywanie zmian w piersi klinicznie bezobjawowych, zaś przezskórna biopsja gruboigłowa pod kontrolą radiologiczną spowodowała częstsze rozpoznawanie zmian z pogranicza zmian łagodnych i złośliwych – *borderline lesions*, są to zmiany, których ewolucja jest trudna do przewidzenia. Istnieje kilka teorii powstawania nowotworów inwazyjnych. Jedna z nich zakłada, że kancerogeneza dokonuje się poprzez zmianę łagodną, następnie zmianę z pogranicza do raka przedinwazyjnego, aż do raka inwazyjnego.⁶¹ Pośrednio za tą teorią przemawia fakt, że w około 80% przypadków raka inwazyjnego towarzyszy rak in situ, temu ostatniemu zaś zmiany atypowe.⁶² W grupie badanej razem z rakiem inwazyjnym stwierdzono komponent DCIS u 30% chorych.

Inna teoria głosi, że różne podtypy raka wywodzą się z komórek macierzystych, lub progenitorowych, a czynnikiem spustowym do rozpoczęcia karcenogenezy są zaburzenia genetyczne i molekularne.

- Zmiany genetyczne w częściowo zróżnicowanych komórkach o fenotypie ER+/CK8/18+ prowadzą do powstania raka o wysokim stopniu zróżnicowania histologicznego, który cechuje się ekspresją ER oraz cytokeratyn CK8/18 i brakiem ekspresji cytokeratyn CK5/6. Nowotwór ten charakteryzuje się z reguły długą odpowiedzią na leczenie hormonalne oraz dobrym rokowaniem.
- Zmiany genetyczne w najmniej zróżnicowanych komórkach macierzystych lub progenitorowych o fenotypie ER-/CK5/6+ oraz CK8/18- prowadzi do powstania nowotworów o typie podstawnym. Rzadko obserwuje się tutaj utratę chromosomu 16q i znacznie częściej inne zmiany genetyczne.
- Nowotwory o pośrednim stopniu złośliwości histologicznej powstają z komórki ER-, która na skutek podziału posiada zdolność do różnicowania się w kierunku ER+. Raki te mogą posiadać bardzo różny odsetek ekspresji ER i co za tym idzie różną odpowiedzią na leczenie hormonalne.

Koncepcja ta przeczy założeniu, że raki wysokozróżnicowane (G1) są zaczątkiem do powstania raków niskozróżnicowanych (G3) w mechanizmie histologicznej progresji złośliwości guza. Raki przewodowe G1, raki cewkowe (o bardzo dobrym rokowaniu) oraz atypowe rozrosty nabłonka i raki

wewnątrzprzewodowe cechują się utratą chromosomu 16q. Obecność tej prostej aberracji jest powszechna w rakach zrazikowych, co może sugerować wspólną drogę kancerogenezy z rakami przewodowymi G1. Podstawową różnicą między nimi jest utrata funkcji genu *CDH1* (16q22.1), kodującego e-kadherynę, co skutkuje brakiem ekspresji tego białka w rakach zrazikowych.

W przypadku wykrycia raka zrazikowego przedinwazyjnego (LCIS) ryzyko powstania raka inwazyjnego jest od 8 do 10 razy większe w porównaniu do populacji ogólnej i dotyczy to obu piersi. ADH wiąże się z 4-5 razy większym ryzykiem rozwoju inwazyjnego raka piersi, natomiast obecność raka piersi w rodzinie (siostra lub/i matka) zwiększa to ryzyko 9-krotnie. ALH przy braku obciążeń rodzinnych zwiększa ryzyko prawie 5-krotnie, a u kobiet z dodatnim wywiadem rodzinnym blisko 13-krotnie.

3.2 Charakterystyka grupy kontrolnej²

Grupę kontrolną stanowiło 30 kobiet w wieku od 28 do 69 r.ż. W Zakładzie Radiologii Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego pozostawiono informację o możliwości wykonania badań diagnostycznych (laboratoryjnych i ultrasonografii) tarczycy oraz poziomu prolaktyny w surowicy u kobiet z prawidłowym wynikiem badań profilaktycznych w ramach Populacyjnego Programu Wczesnego Wykrywania Raka Piersi. Do badania zrekrutowano 12 kobiet z prawidłowym wynikiem MMR wykonanej w ramach PPWWRP. U 9 –wykonano badanie profilaktyczne w ramach projektu Wielkopolska Onkologia, który ma na celu poprawę oraz dostosowanie diagnostyki i terapii nowotworów do trendów demograficzno-epidemiologicznych regionu z zapewnieniem optymalizacji postępowania i profilaktyki.⁶³ W ramach tego projektu wykonywane są badania profilaktyczne, tj. u kobiet MMR od 40-49 roku życia oraz po 69 roku życia. Pozostałe osoby zgłosiły się z prawidłowym wynikiem badania usg piersi lub/i MMR wykonanej w ramach badania profilaktycznego przez Poradnię Onkologiczną lub Poradnię Lekarza Rodzinnego.

² Autorka rozprawy bardzo dziękuje Pani mgr Beacie Zimowskiej i pracownikom Poradni Specjalistycznych przy Szpitalu Klinicznym Przemienienia Pańskiego przy ul. Szamarzewskiego 82/84 w Poznaniu za pomoc w rekrutacji kobiet do grupy kontrolnej

Warunkiem włączenia do grupy badanej był prawidłowy wynik badania MMR lub badania usg piersi u kobiet przed 40 r.ż., brak chorób nowotworowych w wywiadzie leczonych chemio-lub/i energią promienistą, a także brak chorób tarczycy leczonych operacyjnie w wywiadzie oraz brak leczonej nadczynności lub niedoczynności tarczycy.

Rozkład wieku kobiet przedstawiono w tabeli XXIII.

Tabela XXIII. Rozkład wieku kobiet w grupie kontrolnej (n=30)

Wiek kobiet	28r.ż.-33r.ż.	35 r.ż.- 39 r.ż.	40 r.ż.-49 r.ż.	50 r.ż.-59 r.ż.	60 r.ż.-69r.ż.
Liczba kobiet	3	2	13	10	2

Z kobietami grupy kontrolnej przeprowadzono dokładny wywiad, następnie pobierano krew celem wykonania badania poziomu hormonów: TSH, fT3, fT4 oraz prolaktyny, a także przeciwciał: anty-TPO i TRAK w surowicy, po czym miały wykonywane badanie usg tarczycy w Dziale Diagnostyki Obrazowej Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego przy ul. Szamarzewskiego 82/84 w Poznaniu.

Na podstawie wywiadu i liczby zachorowań w rodzinie zakwalifikowano kobiety do grup ryzyka wystąpienia raka piersi (tabela XXIV.)

Tabela XXIV. Zachorowania na nowotwory lite w rodzinie w grupie kontrolnej (n=30)

Grupa ryzyka	bez ryzyka (bez zachorowań w rodzinie)	gr. ryzyka (1 zachorowanie w rodzinie)	gr. wys.ryzyka (2 zachorowania w rodzinie)	gr. b. wys. ryzyka (>2 zachorowań w rodzinie)
Liczba kobiet	10	12	6	2

Wśród chorób współistniejących wyróżniono przede wszystkim nadciśnienie i depresję (Tabela XXV).

Tabela XXV. Choroby współistniejące u kobiet w grupie kontrolnej (n=11)

Choroba współistniejąca	NT	depresja	astma	arytmia	Łuszczycza	guz ślinianki	CIN III
Liczba kobiet	4	2	1	1	1	1	1

Zebrano dokładny wywiad położniczy:

Wiek pierwszej miesiączki (tabela XXVI.)

Tabela XXVI. Wiek pierwszej miesiączki (PM) u kobiet w grupie kontrolnej (n=30)

Wiek PM	11 r.ż.	12 r.ż.	13 r.ż.	14 r.ż.	15 r.ż.	16 r.ż.	17 r.ż.	18 r.ż.
Liczba kobiet	2	8	3	13	1	1	-	2

Wiek ostatniej miesiączki (tabela XXVII.)

Tabela XXVII. Wiek ostatniej miesiączki (OM) u kobiet w grupie kontrolnej (n=11)

Wiek OM	r.ż. do 49 r.ż.	50 r.ż. do 55 r.ż.
Liczba kobiet	7	4

U 19 kobiet nie stwierdzono jeszcze menopauzy.

Wśród 30 kobiet 4 nie rodziły. Wiek pierwszego porodu był równy lub wyższy niż 19 lat u 3 badanych, jedna kobieta urodziła pierwsze dziecko w wieku 34 lat, jedna w wieku 37 lat. Z pośród 26 kobiet 5 przyznało się do jednego poronienia w przeszłości. 7 karmiło piersią łącznie do 6 miesięcy, 10 ponad rok, 9 kobiet nie karmiło piersią.

Antykoncepcję stosowało 7 kobiet (tabela XXVIII.)

Tabela XXVIII. Czas trwania antykoncepcji u kobiet w grupie kontrolnej (n= 7)

Czas trwania antykoncepcji	do 6 m-cy	1 roku – 6 lat	10-20 lat
Liczba kobiet	1	3	3

Hormonoterapię zastępczą – 6 badanych z grupy kontrolnej (tabela XXIX.)

Tabela XXIX. Czas trwania hormonalnej terapii zastępczej u kobiet w grupie kontrolnej (n= 6)

Czas trwania HTZ	do 6 m-cy	>1 roku	>5 lat
Liczba kobiet	1	2	3

Na podstawie aktualnej masy ciała i wzrostu obliczono BMI badanych kobiet. Wyniki przedstawiono w tabeli XXX.

Tabela XXX. Rozkład masy ciała w grupie kontrolnej (n=30) na podstawie BMI (kg/m²).

	BMI kg/m ²	Liczba kobiet
Otyłość III stopnia	≥40	-
Otyłość II stopnia	35 – 39,99	1
Otyłość I stopnia	30 – 34,99	4
Nadwaga	25 – 29,99	8
Masa ciała prawidłowa	18,5 – 24,99	17

Oceniono również inne modyfikowalne czynniki ryzyka wystąpienia raka, tj. sposób odżywiania i aktywność fizyczną używając podobnej skali jak u kobiet w grupie badanej: od 0-3 pkt. oraz narażenie na czynniki zewnętrzne, tj. tytoń, alkohol i in. substancje toksyczne. Wyniki przedstawiono w tabelach poniżej.

Tabela XXXI. Sposób odżywiania kobiet w grupie kontrolnej (n=30) w skali od 0 do 3

Sposób odżywiania w skali 0-3	0	1	2	3
Liczba kobiet	1	6	22	1

Tabela XXXII. Aktywność fizyczna u kobiet w grupie kontrolnej (n=30) w skali od 0 do 3

Aktywność fizyczna w skali 0-3	0	1	2	3
Liczba kobiet	6	6	10	8

Tabela XXXIII. Modyfikowalne czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi u kobiet w grupie kontrolnej (n=9)

Alkohol	Papierosy	Toksyny	Promieniowanie	Inne: I 131
-	8 kobiet	1 kobieta	-	-

Kobietom wykonano badanie usg tarczycy w Dziale Diagnostyki Obrazowej Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego przy ul. Szamarzewskiego 82/84 w Poznaniu.

Oceniono standardowo: położenie, wielkość, kształt tarczycy oraz echogeniczność i zmiany ogniskowe, wyniki przedstawiono poniżej.

Tabela XXXIV. Wyniki badania ultrasonograficznego tarczycy u kobiet w grupie kontrolnej (n=30)

Objętość tarczycy v [ml]	v=n	v=n + zm. ogniskowe	v>n	v>n + zm. ogniskowe
Liczba kobiet	12	14	1	2

*v – objętość tarczycy, *n – norma do 20ml

U 8 kobiet konieczna była biopsja aspiracyjna cienkoigłowa zmian ogniskowych. U dwóch kobiet w biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej uzyskano pojedyncze, normotypowe tyreocyty. Materiał określono jako zbyt skąpy do uściślenia rozpoznania – kategoria 1 wg „The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology”.⁶⁴ Obie przeprowadziły konsultację z endokrynologiem we własnym zakresie, który zalecił kontrolną biopsję za 6 miesięcy w ramach Poradni Endokrynologicznej. W czterech przypadkach w biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej uzyskano normotypowe tyreocyty, tworzące pojedyncze płaty oraz układy rozproszone, dość liczne makrofagi, krew oraz koloid – obraz cytologiczny odpowiadał struma nodosa – kategoria 2 wg „The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. Jednej z nich zalecono usunięcie chirurgiczne ze względu na wielkość guza oraz niejednoznaczny obraz radiologiczny zmiany, pozostałym zalecono usg tarczycy raz w roku oraz biopsję za 2-3 lata w razie wskazań.

U jednej pacjentki podczas biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej uzyskano nieliczne grupy tyreocytów o nieco powiększonych jądrach, niektóre komórki z „trąbiastymi jądrami” i nieregularna błoną jądrową – obraz odpowiadał zmianie atypowej o nieokreślonej atypii – kategoria 3 wg „The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. Zalecono ponowną biopsję za 6 miesięcy lub weryfikację histologiczną. Jedna kobieta została skierowana do biopsji guza 2,5 mm w lewym płacie tarczycy. Podczas biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej uzyskano grupy tyreocytów o nieco

powiększonych jądrach, niektóre komórki z „trąbiastymi jądrami” w układach brodawkowatych. Obraz cytologiczny budził podejrzenie raka brodawkowatego – kategoria 5 „The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology”. Chorej wykonano lobektomię lewostronną z usunięciem wężyny i węzłów chłonnych przedziału środkowego szyi.

Kobietom w grupie kontrolnej wykonano również badania laboratoryjne, podobnie jak u chorych z rakiem piersi w grupie badanej.

U jednej wykazano obniżony poziom hormonu tyreotropowego (TSH) w surowicy przy normie hormonów tarczycy, u jednej – obniżony poziom tyroksyny, przy normie pozostałych hormonów. Dwie kobiety miały wynik graniczny poziomu hormonu fT4, przy normie pozostałych hormonów. Należy jednak zaznaczyć, że wahania poziomu hormonów były minimalne. Poziom przeciwciał anty-TPO w surowicy 6 kobiet był podwyższony, natomiast przeciwciała TRAK u wszystkich były w normie. Odchylenia od normy w poziomie prolaktyny wystąpiły u 6 badanych – u 2 poziom był powyżej normy, u 4- obniżony.

4. METODYKA BADAŃ

4.1. Badania laboratoryjne:

Pacjentki z grupy badanej, jak i kontrolnej miały wykonane badania laboratoryjne: poziom hormonów TSH, fT3, fT4, prolaktyny oraz przeciwciał: anty-TPO, TRAK w surowicy.

Poziomy TSH, fT3, fT4 w surowicy wykonano w Laboratorium nr 2 Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przy ul. Szamarzewskiego 82/84. TSH oznaczane było metodą immunometryczną (IMA), która charakteryzuje się wysoką czułością wynoszącą 0,02 mIU/l i poniżej. Zakres normy wynosi 0,55 – 4,78 uIU/ml. Normy dla hormonów tarczycy wynoszą odpowiednio: 0,89-1,76 ng/dl dla fT4 oraz 2,3-4,2 pg/ml dla fT3, a ich poziom oznaczany był metodą immunochemiczną.

Prolaktyna oraz przeciwciała anty-TPO w surowicy oznaczano w Laboratorium Medycznym Synevo w Poznaniu przy ul. Zgoda 28A. PRL oznaczana była używając metod radioimmunologicznych. Zakres normy dla prolaktyny wynosi 127 – 637,0 mIU/l; dla anty-TPO poniżej 34 IU/ml. Poziom przeciwciał w surowicy oznaczono metodą elektrochemiluminescencji ECLIA na analizatorze Cobas 8000.

Oznaczenie poziomu przeciwciał przeciwko receptorom dla TSH (TRAK) w surowicy wykonało Centralne Laboratorium Analityczno-Biochemiczne Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przy ul. Przybyszewskiego 49 metodą radioimmunologiczną – ocenia ona powinowactwo immunoglobuliny do receptora, a nie działanie biologiczne immunoglobulin. Wartości referencyjne to poniżej 2,00 IU/l.

4.2 Badanie obrazowe tarczycy:³

Badanie ultrasonograficzne tarczycy wykonano w Dziale Diagnostyki Obrazowej Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przy ul. Szamarzewskiego 82/84. Stanowi ono podstawę obrazowania tarczycy i wykonuje się je sondą liniową o częstotliwości $\geq 7,5$ MHz. W opisie badania uwzględniono:

- Położenie tarczycy, wielkość i jej kształt – prawidłowa objętość u kobiet nie powinna przekraczać 20 ml i 25 ml u mężczyzn
- Echogeniczność miększu tarczycy – prawidłowy narząd ma drobnoziarnistą strukturę o wysokiej echogeniczności
- Zmiany ogniskowe – ocenia się wielkość, lokalizację, echogeniczność, wewnętrzną strukturę, granice guza, obecność zwapnień w zmianie (mikro-makrozwapnienia) oraz ukrwienie całego narządu jak i samej zmiany ogniskowej.

Przy obecności czynników ryzyka, współistniejących z ze zmianą ogniskową w badaniu ultrasonograficznym, tj.: mikrozwapnienia, nieregularne zarysy zmiany, jej lity charakter i hipoechogeniczność, znaczny wewnątrzguzkowy przepływ krwi mierzony metodą Dopplera, pacjentkę kierowano do wykonania BAC. Biopsję aspiracyjną cienkoigłową wykonywano w Dziale Diagnostyki Obrazowej Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przy ul. Szamarzewskiego 82/84. Aspirat utrwalano w alkoholu etylowym i przesyłano do badania cytologicznego do Pracowni Patomorfologii i Diagnostyki Paweł Kurzawa, która mieści się przy ul. Długiej 4/28-29 w Poznaniu.

³ Autorka rozprawy dziękuje całemu Zespołowi Działu Diagnostyki Obrazowej Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przy ul. Szamarzewskiego 82/84 za pomoc w rekrutacji kobiet do grupy kontrolnej oraz wykonywanie badań obrazowych tarczycy chorym na raka piersi, włączonym do badania oraz kobietom z grupy kontrolnej.

4.3 Histopatologiczne opracowanie materiału:⁴

Badanie histopatologiczne materiału pooperacyjnego przeprowadzono w Zakładzie Patologii Nowotworów w Wielkopolskim Centrum Onkologii przy ul Garbary 15 w Poznaniu.

Materiał tkankowy utrwalony w 10% buforowanej formalinie o pH 7,4 poddano obróbce z zastosowaniem standardowych metod histopatologicznych, z zastosowaniem procesora tkankowego. Ostatecznie tkankę zatopiono w parafinie (temp. topnienia 60°C). Z otrzymanych w ten sposób, odpowiednio oznaczonych bloczków parafinowych skrojono na mikrotomie skrawki o grubości 4-5µm, które nałożono na szkiełka podstawowe adhezyjne i pozostawiono na 1 godzinę w temperaturze 60°C.

4.3.1 Metody immunohistochemicznego opracowania materiału

Badania immunohistochemiczne wykonano w Pracowni Immunohistochemii Zakładu Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii.

W celu oznaczenia ekspresji HER2 i Cykliny D1 zastosowano przeciwciała firmy Roche, tj. odpowiednio anty-HER-2/neu (klon 4B5) i anty-Cyclin D1 (klonSP4-R). W badaniu zastosowano metodę immunohistochemiczną z użyciem systemu ultraView Universal DAB Detection Kit firmy Roche. Barwienia immunoperoxydazowe wykonano w aparacie BenchMark Ultra firmy Ventana Medical System /Roche Diagnostics.

Receptory estrogenowe, receptory progesteronowe oraz Ki67 oznaczono za pomocą przeciwciał monoklonalnych firmy DAKO. W celu oznaczenia markerów użyto przeciwciał przygotowanych jako RTU (gotowe do użycia; ready to use), tj. dla receptorów estrogenowych ER (Clone EP1), dla receptorów progesteronowych: PgR (Clone 636), a indeks proliferacyjny Ki67 oznaczono klonem MIB-1. W badaniu

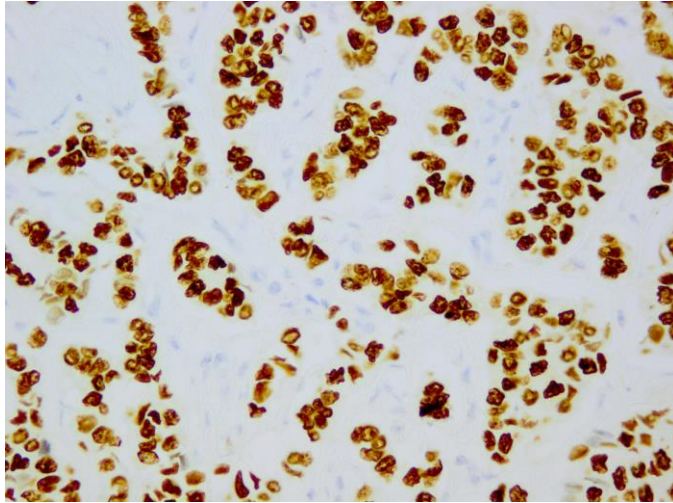
⁴ Autorka rozprawy dziękuje Panu Profesorowi Andrzejowi Marszałkowi oraz Pani Doktor Violecie Filas, a także całemu Zespołowi Zakładu Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii w Poznaniu za nieoceniony wkład w pozyskanie wyników badań histologicznych, immunohistochemicznych, szczególnie ekspresji białka p53 i cykliny D1 w komórkach nowotworowych, a także za pomoc w zredagowaniu metodyki badań patologicznych i dobraniu odpowiednich zdjęć pokazujących cechy immunohistochemiczne nowotworu.

zastosowano metodę immunohistochemiczną z użyciem systemu DAKO En Vision™ FLEX. Barwienia immunoperoksydazowe wykonano w aparacie Autostainer Link 48 firmy DAKO.

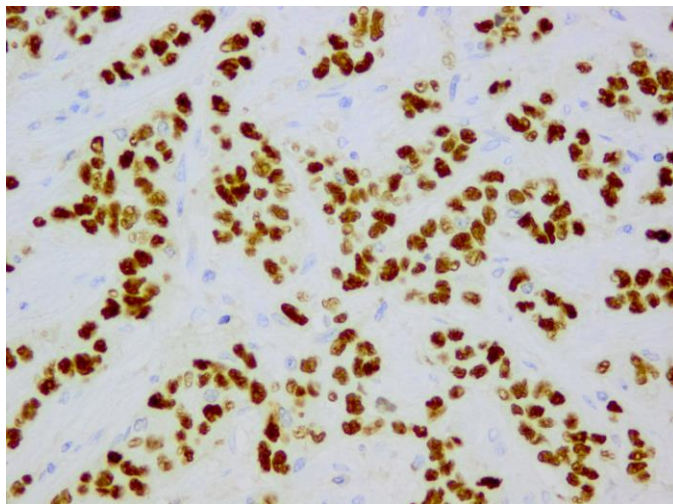
Białko p53 oznaczono za pomocą przeciwciała monoklonalnego anty-p53 (Clone DO-7) w aparacie Dako-OMNIS firmy. W badaniu zastosowano metodę immunohistochemiczną z użyciem systemu DAKO En Vision™ FLEX.

4.3.2 Kryteria oceny reakcji immunohistochemicznych

Ekspresję receptorów steroidowych oceniano w jądrach komórek nowotworowych. Za wynik dodatni uznano reakcję barwną w przynajmniej 1% komórek.



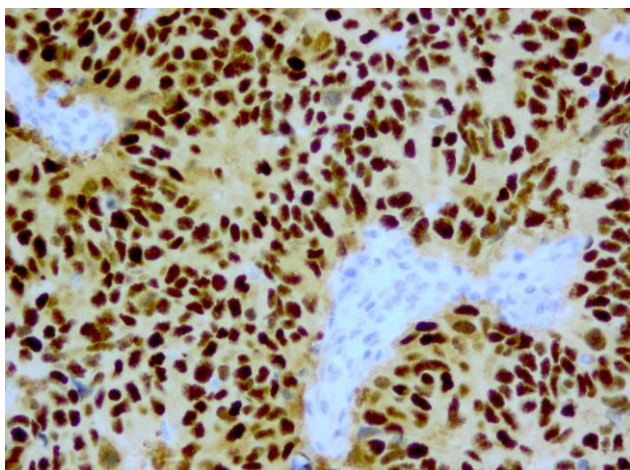
Rycina 1. Ekspresją jądrowych receptorów estrogenowych >75% w komórkach raka przewodowego; powiększenie 20 x



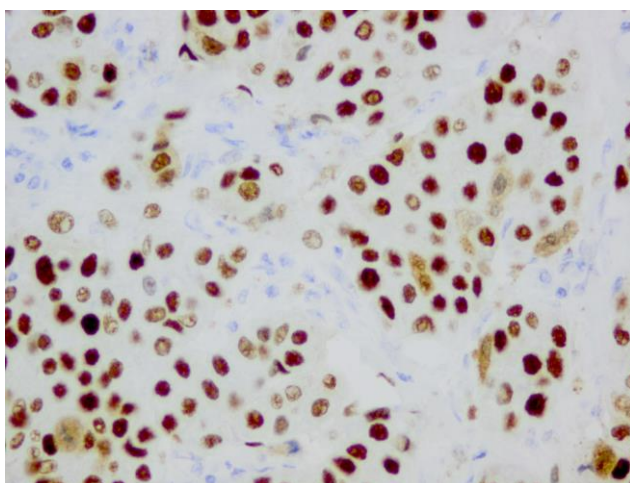
Rycina 2. Ekspresja jądrowych receptorów progesteronowych >75% w komórkach raka przewodowego; powiększenie 20 x

Ki67 określano jako ujemny przy braku reakcji barwnej, oceniano wybarwienie pojedynczych komórek w polu widzenia i wynik określano jako odsetek wybarwionych komórek od 1% do 90%, reakcja powyżej 20% uznano za wysoki stopień proliferacji.

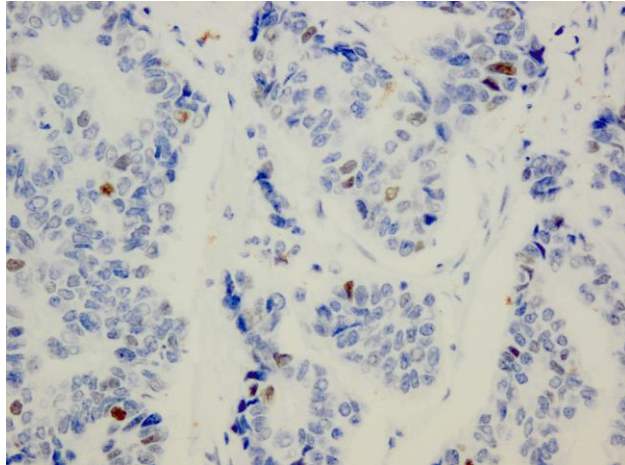
W przypadku p53 wyniki określano jako ujemny, jeśli nie zaobserwowano zabarwienia oraz w przypadku reakcji 10% i poniżej, wybarwienie 11% komórek uznano za dodatni .



Rycina 3. Reakcja barwna obrazująca ekspresję białka p53 w komórkach nowotworowych, wybarwiono 100% komórek, intensywność barwienia +++; powiększenie 20x

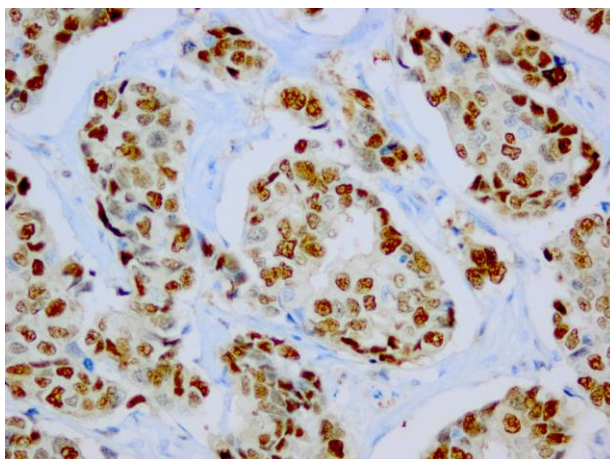


Rycina 4. Reakcja barwna obrazująca ekspresję białka p53 w komórkach nowotworowych, wybarwiono >70% komórek, intensywność barwienia +++; powiększenie 20x

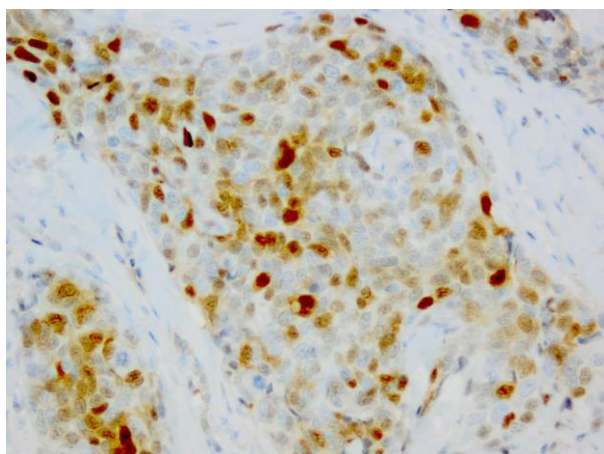


Rycina 5. Reakcja barwna obrazująca ekspresję białka p53 w komórkach nowotworowych, wybarwiono <10% komórek, intensywność barwienia +; powiększenie 20x

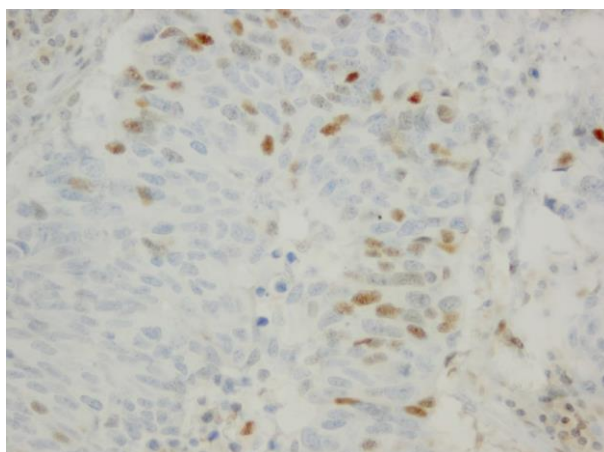
Cyklina D1 określano jako ujemny przy braku reakcji barwnej lub wybarwieniu 10% i mniej komórek.



Rycina 6. Reakcja barwna obrazująca ekspresję cykliny D1 w komórkach raka, wybarwienie około 100% komórek, intensywność barwienia ++; powiększenie 20x



Rycina 7. Reakcja barwna obrazująca ekspresję cykliny D1 w komórkach raka, wybarwienie około 50% komórek, intensywność barwienia ++; powiększenie 20x



Rycina 8. Reakcja barwna obrazująca ekspresję cykliny D1 w komórkach raka, wybarwienie około 5% komórek, intensywność barwienia ++; powiększenie 20x

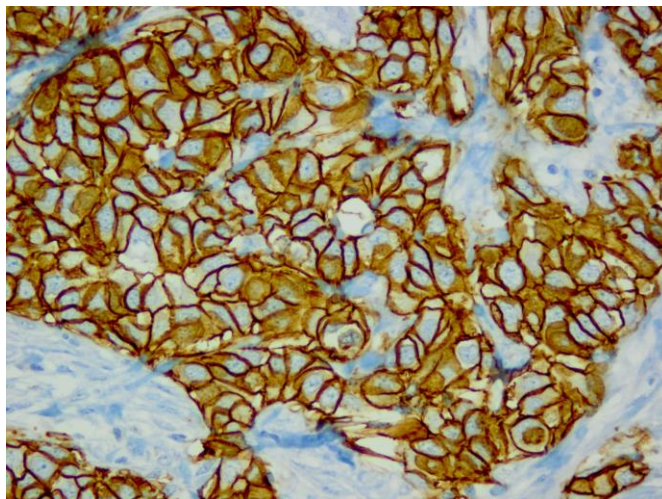
Wyniki badania HER2 również oceniano za pomocą reakcji barwnej błony komórkowej w raku inwazyjnym. W zależności od intensywności zabarwienia skala jest czterostopniowa. Zabarczenie oceniane jako 0 i + (1+) to wynik negatywny, +++ (3+) oceniano jako wynik pozytywny, zaś zabarczenie określone ++ (2+) określano jako niejednoznaczne i kierowano materiał do oceny amplifikacji genu *HER2* metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH).

Wynik oznaczenia kopii genu *HER2* w raku naciekającym w teście walidowanym sondą pojedynczą wynoszący 6,0 i więcej sygnałów na komórkę oznacza obecną amplifikację genu. Średnia liczba kopii genu *HER2* mniejsza niż 4 sygnałów na komórkę oznacza brak amplifikacji.

Wynik pomiędzy 4,0 a mniej niż 6,0 oznacza wynik niejednoznaczny i wymaga ponownego oznaczenia techniką ISH z sondą podwójną na tym samym materiale lub nowy test na innym materiale.

W oznaczeniu liczby kopii genu *HER2* w komórkach raka naciekającego testem walidowanym z sondą podwójną (z kontrolą centromerową) wynik $HER2/CEP17 \geq 2,0$ oznacza wynik pozytywny. Stosunek $HER2/CEP17 < 2$ wymaga oznaczenia liczby kopii genu *HER2* na komórkę.

Wartość równa lub większa od 6,0 oznacza amplifikację obecną; wynik mniejszy niż 4,0 – brak amplifikacji. ⁶⁵



Rycina 9. Ekspresja błonowego receptora HER2 (Score =3+) w komórkach raka przewodowego; powiększenie 20 x

4.4 Badania genetyczne⁵

Badania genetyczne u chorych na raka piersi wykonywano w Centrum Genetyki Medycznej *GENESIS* przy ul. Grudzieniec 4 w Poznaniu.

W dniu 23.maja 2016 roku Zarząd Spółki Centrum Genetyki Medycznej *GENESIS* z siedzibą w Poznaniu wydał zgodę autorce pracy na dostęp do dokumentacji medycznej pacjentek Poradni Genetycznej, operowanych w Oddziale Chirurgii Onkologicznej Kliniki Onkologii w Poznaniu od kwietnia do grudnia 2014 r. Wyniki badań zostały zakodowane zgodnie z obowiązującymi przepisami Generalnego Inspektora Ochrony Danych Osobowych (GIODO) w sposób uniemożliwiający zidentyfikowanie danych osobowych zanim zostały przekazane autorce rozprawy. Miało to mieć miejsce w celu utajnienia wyników i niemożliwości wykorzystania ich do żadnych decyzji terapeutycznych, ani do innych celów, poza pracą naukową. Autorka rozprawy została zobowiązana do złożenia oświadczenia, że w/w wyniki nie będą wykorzystywane w innych celach, nie będą przekazywane, kopiowane, ani przechowywane na nośnikach, a po zakończeniu opracowywania pracy zniszczone.

Wykonanie badań genetycznych było całkowicie dobrowolne. Pacjentkom pobierana jest krew obwodowa na EDTA.

Materiał do badania stanowiły komórki łatwo dostępne, tak jak leukocyty z krwi obwodowej. Wykonywano badanie nosicielstwa podstawowych mutacji w genach *BRCA1* lub/i *BRCA2*, tj. podstawowych powtarzających się trzech mutacji genu *BRCA1* 5382insC, 4153delA, C16G („efekt założyciela”) oraz zmiany C5972T genu *BRCA2*. U wybranych chorych na raka piersi wykonywano poszerzony test diagnostyczny, wykrywający rzadziej występujące zaburzenia genów *BRCA1/2*.

Wykrywanie znanych mutacji umożliwiają testy wykorzystujące różne techniki, tj.: RFLP/PCR (restriction fragment polymorphism/PCR), wykrywające mutację za pomocą enzymów restrykcyjnych w produktach PCR; metodę allelo-specyficznej amplifikacji (ASA, allele specific amplification) wykorzystującą starter

⁵ Autorka rozprawy bardzo dziękuje Kierownikowi Zespołu ds. onkogenetyki klinicznej w Centrum Genetyki Medycznej *Genesis* w Poznaniu, Pani Doktor Małgorzacie Stawickiej-Niełacnej za okazaną ogromną pomoc w pozyskaniu danych chorych na raka piersi, cenne uwagi i poświęcony czas.

komplementarny do allela z mutacją lub krótkie sondy fluorescencyjne allelo-specyficzne i aparaty "real time PCR", co pozwala na szybkie badanie wielu próbek, ale jest metodą znacznie droższą; oraz genotypowanie SNaPshot, oparte na reakcjach multipleks PCR, co pozwala na równoczesne badanie wielu zmian.

Analiza nieznanymi mutacji jest przeprowadzana najczęściej techniką DHPLC (denaturing high-performance liquid chromatography, wysokosprawna denaturująca chromatografia cieczowa), która wykorzystuje wysoką rozdzielczość kolumn chromatograficznych i pozwala na odróżnienie nowych zmian od wcześniej wykrytych mutacji lub polimorfizmów. Najbardziej czułą metodą jest sekwencjonowanie metodą cykliczną oparte na reakcjach łańcuchowej polimerazy (PCR): etap namnażania fragmentu genu przy użyciu starterów, etap asymetrycznego PCR, etap elektroforezy z detekcją i rejestracją produktów oraz analiza otrzymanych produktów przy użyciu odpowiednich programów komputerowych. Metodą, która zastąpiła niegdyś powszechną metodę *Southern blotting*, jest MLPA oparta o reakcję ligacji specyficznych sond i amplifikacji. Zaletami tej metody jest niska cena, niewielka ilość DNA wymagana do przeprowadzenia badania oraz prostota wykonania.⁶⁶

4.5 Analiza statystyczna⁶

W analizie statystycznej ocenie podlegały dane ilościowe i jakościowe. W odniesieniu do danych interwałowych analiza obejmowała: liczebność danej cechy, średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe, medianę, kwartyle oraz wartość minimalną i maksymalną. Dla danych jakościowych (skala nominalna i porządkowa) wyznaczono tabele liczebności wraz z udziałem procentowym badanej cechy w materiale. Dokonano również graficznej prezentacji zależności istotnych statystycznie.

⁶ Autorka rozprawy dziękuje Pani Doktor Barbarze Kołodziejczak z Zakładu Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu za nieocenioną pomoc w opracowywaniu statystycznym uzyskanych danych oraz w przygotowaniu metodologii analizy statystycznej, cenne uwagi i poświęcony czas.

Do analizy statystycznej wykorzystano pakiet Statistica v.12.0 firmy StatSoft. Inc. (Tulsa, OK, USA) oraz oprogramowanie statystyczne StatXact v.9.0 firmy Cytel Studio (Cambridge, MA, USA). Weryfikacja hipotez badawczych odbywała się na poziomie istotności $\alpha=0,05$.

Do analizy porównawczej cechy ilościowej bez rozkładu normalnego w dwóch grupach (np. poziomu anty-TPO i prolaktyny u kobiet przed menopauzą w grupie badanej i kontrolnej) zastosowano dwustronny, nieparametryczny test U Manna-Whitney'a. Założenie normalności rozkładu sprawdzane było testem Shapiro-Wilka. W przypadku porównania wielu prób jednocześnie (np. poziomu anty-TPO i prolaktyny w grupie kobiet przed i po menopauzie z grupą kontrolną) stosowano nieparametryczny test Kruskala-Wallisa z testem post-hoc Dunna.

Większość analizowanych cech stanowiły cechy jakościowe, np. występowanie hypoechogennych zmian ogniskowych w baniu usg tarczycy, stopień złośliwości histologicznej nowotworu, czy stopień proliferacji Ki67. Do badania zależności między cechami jakościowymi korzystano z testu Chi-kwadrat, Chi-kwadrat z poprawką Yatesa lub dokładnego, dwustronnego testu Fishera w zależności od spełniania wymaganych założeń.

5. WYNIKI

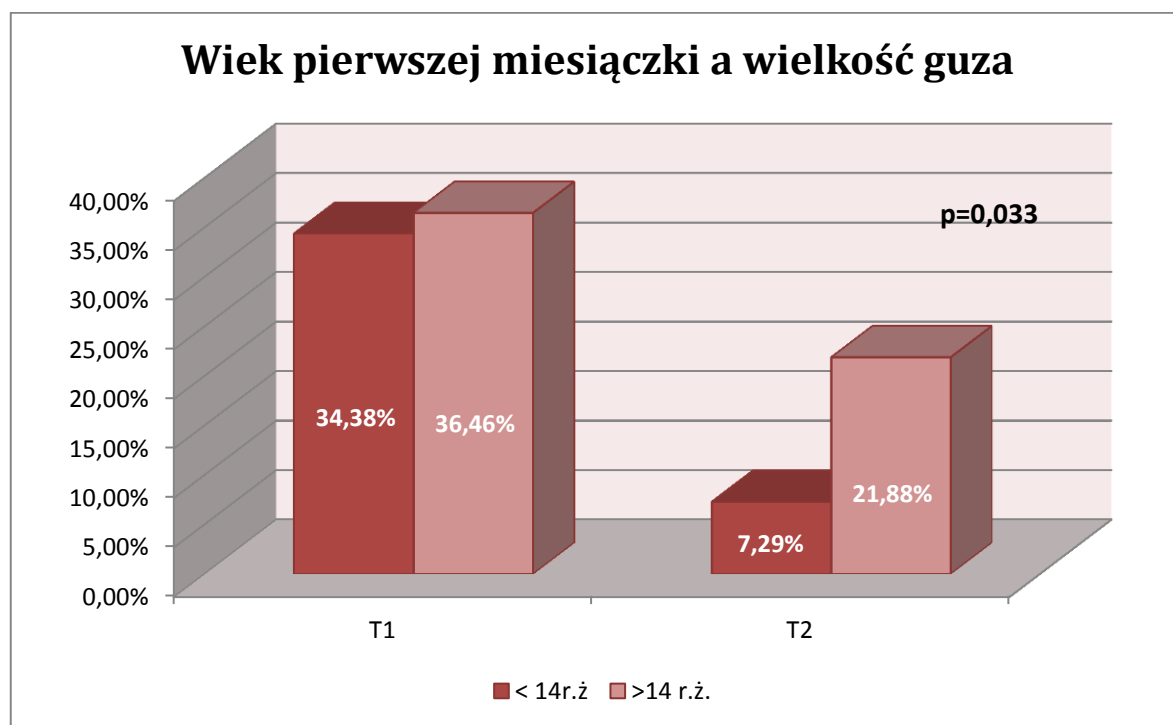
5.1 Analiza czynników ryzyka wystąpienia raka piersi i cech klinicznych nowotworu

Analiza czynników ryzyka wystąpienia raka piersi na cechy kliniczne, histopatologiczne (tab.XXXV) i immunohistochemiczne (tab.XXXVI) nowotworu przedstawiono w tabelach poniżej.

Tabela XXXV. Czynniki ryzyka raka piersi a cechy kliniczne i histopatologiczne nowotworu w grupie badanej (n=100)

	T	pN	hist-pat	G	DCIS
PM	p=0,033	p=1	p=0,920	p=0,755	p=0,136
OM	p=0,356	p=0.672	p=0,144	p=0,726	p=0,357
Zachorowania w rodzinie	p=0.399	p=0,185	p=0,072	p=0,346	p=0,105
Liczba porodów	p=0,917	p=0.648	p=0,839	p=0,388	p=0,296
poronienia	p=0,930	p=0.030	p=0,438	p=0,216	p=0,748
Karmienie piersią	p=0,611	p=0.374	p=0,520	p=0,612	p=0,728
Stosowanie antykoncepcji	p=0,291	p=0.831	p=0,943	p=0,792	p=0,108
HTZ	p=0,410	p=0.428	p=0,403	p=0,362	p=0,722
Wiek 1.porodu	p=0,087	p=0.619	p=0,961	p=0,483	p=0,867
BMI> 24,99kg/m²	p=0,431	p=0,567	p=0,774	p=0,282	p=0,177
nikotynizm	p=0,716	p=1	p=0,310	p=0,416	p=0,832

Wykazano istotną statystycznie ($p=0,033$) różnicę pomiędzy wiekiem pierwszej miesiączki a wielkością guza nowotworowego. Do analizy wzięto pod uwagę guzy T1 i T2.

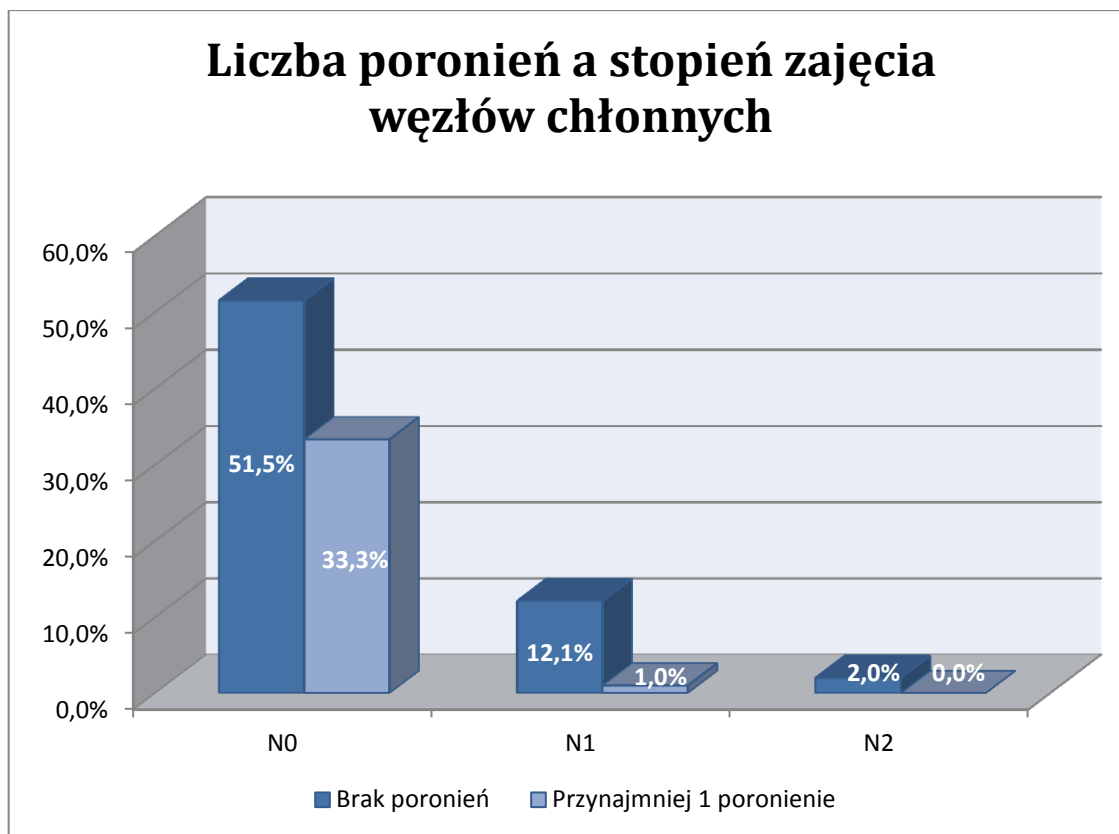


Rycina 10. Porównanie wielkości guza (T) w zależności od wieku wystąpienia pierwszej miesiączki (PM)

% podano jako % całości, czyli $n=96$ kobiet.

U trzech chorych wielkość guza przekraczała 50mm (T3), nie uwzględniono tej grupy w analizie ze względu na niewielką liczebność grupy. Nie brano pod uwagę również chorej u której zmiana została opisana jako zmiana o niepewnym potencjale złośliwości. Analizując wiek wystąpienia pierwszej miesiączki częściej stwierdzano guza T2 u kobiet, u których pierwsza miesiączka wystąpiła powyżej 14 roku życia (21,88%), aniżeli w grupie, gdzie pierwsza miesiączka wystąpiła przed 14 r.ż. (7,29%). Guz T1 występował w obu grupach z podobną częstością, odpowiednio 36,46% i 34,38%.

Analizując czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi wykazano istotną statystycznie ($p=0,03$) zależność pomiędzy ilością poronień w przeszłości a stopniem zajęcia węzłów chłonnych.



Rycina 11. Wpływ występowania przynajmniej 1 poronienia w wywiadzie na stopień zajęcia węzłów chłonnych.

W analizie nie uwzględniono stopnia zaawansowania pN3, badano tylko pacjentki, u których w wyniku patologicznym stwierdzono stopień zaawansowania w węzłach chłonnych od pN0 do pN2. Kobiety, które nie roniły w przeszłości w 51,5% miały stopień zaawansowania pN0 w stosunku do chorych, które podawały przynajmniej 1 poronienie w wywiadzie - 33,3% i stopniem zaawansowania pN0. U kobiet z wywiadem przynajmniej 1 poronienia nie stwierdzono u żadnej wyższego stopnia zaawansowania pN2, natomiast pN1 wystąpił u 1% pacjentek. Pacjentki, które nie roniły w 12,1% miały stopień zaawansowania pN1.

Cechy immunohistochemiczne guza w zależności od czynników ryzyka wystąpienia raka piersi przedstawiono w tabeli XXXVI.

Tabela XXXVI. Czynniki ryzyka raka piersi a cechy immunohistochemiczne nowotworu w grupie badanej (n=100)

	ER	PgR	HER2	Ki67	P53	Cyklina D1
PM	p=0,418	p=0,164	p=0,838	p=0,295	p=0,617	p=0,890
OM	p=0,371	p=0,083	p=0,914	p=0,282	p=0,983	p=0,792
Zachorowania w rodzinie	p=0,086	p=0,103	p=0,617	p=0,442	p=0,226	p=0,351
Liczba porodów	p=0,307	p=0,301	p=0,868	p=0,739	p=0,207	p=0,592
Poronienia	p=0,628	p=0,335	p=0,497	p=0,712	p=0,622	p=0,509
Karmienie piersią	p=0,314	p=0,539	p=0,647	p=0,855	p=0,506	p=0,186
Stosowanie antykoncepcji	p=0,645	p=0,956	p=0,820	p=0,432	p=0,469	p=0,988
HTZ	p=1,000	p=0,670	p=0,562	p=0,966	p=0,734	p=0,058
Wiek 1.porodu	p=0,681	p=0,853	p=0,861	p=0,955	p=0,826	p=0,293
BMI> 24,99kg/m2	p=0,111	p=0,157	p=0,579	p=0,671	p=0,696	p=0,160
Palenie	p=0,488	p=0,500	p=0,757	p=0,727	p=0,323	p=0,524

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy pozostałymi czynnikami ryzyka raka piersi a poszczególnymi cechami nowotworu ($p>0,05$).

Analiza wybranych parametrów dotyczących tarczycy i ich wpływ na występowanie chorób współistniejących u pacjentek badanych – dane z wywiadu. (Tabela XXXVII.)

Tabela XXXVII. Analiza wybranych parametrów dotyczących tarczycy i ich wpływ na występowanie chorób współistniejących

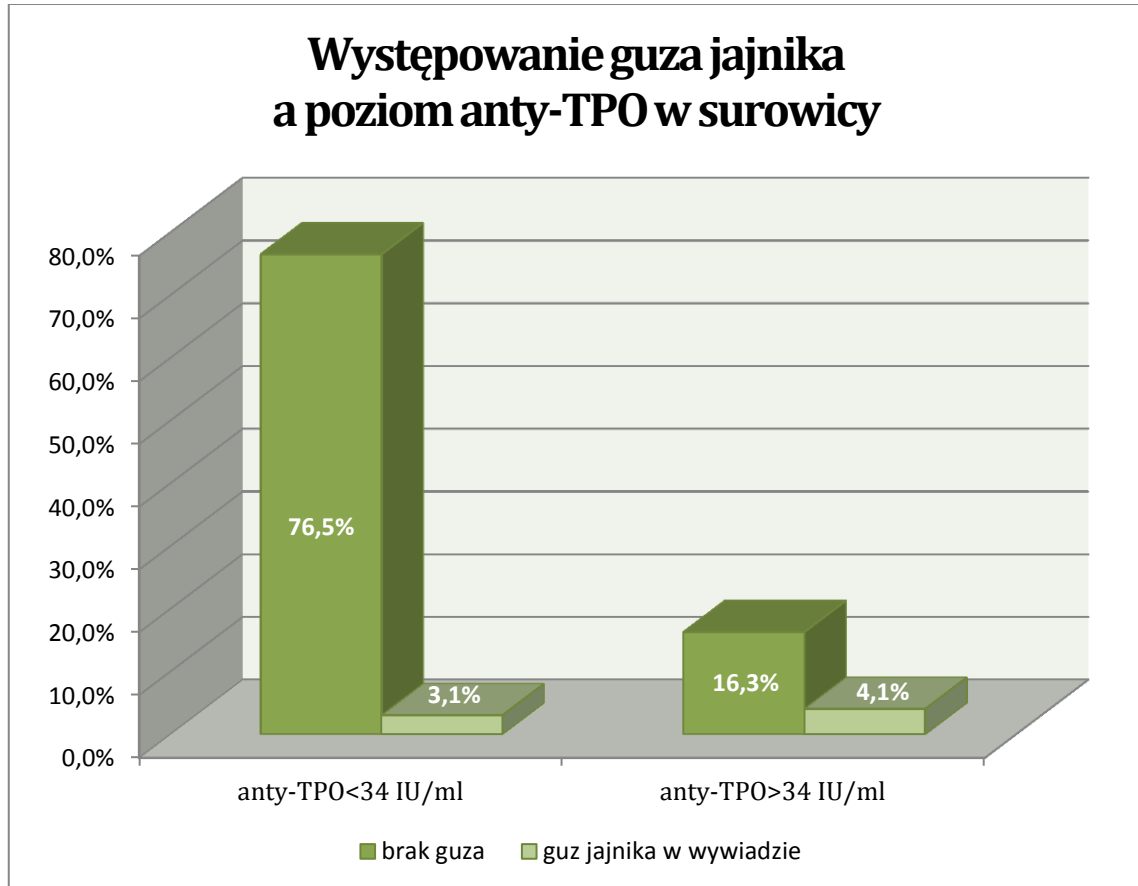
Choroba w wywiadzie	Anty-TPO	Zaburzenie struktury tarczycy	Guzki hypoechogenne w tarczycy
NT	p=0,18719	p= 0.2284	p=0,12861
Inne choroby krążenia*	p=0,90335	p= 0.2775	p=0,41506
POCHP	p=0,44880	p= 0.7124	p=0,30978
DM	p=0,16591	p= 0.01523	p=0,77251
Niedoczynność tarczycy**	p=0,05293	p=0.1818	p=0,56576
Mięśniaki macicy	p=0,96888	p= 0.8155	p=0,10778
Guz jajnika***	p=0,04381	p=0.5032	p=0,78275
Przerost endometrium	p=0,68864	p=0.6684	p=0,75829
Łagodny guz piersi	p=0,46051	p= 1	p=,91954

*inne choroby krążenia obejmowały: sztuczna zastawka aortalna, niewydolność krążenia NYHA I/II, choroba niedokrwienna serca, utrwalone/napadowe migotanie przedsionków, stan po wszczepieniu stymulatora

**niedoczynność tarczycy w wywiadzie w trakcie suplementacji L-tyroksyną, obecnie w trakcie eutyreozy

***guz jajnika, to grupa obejmująca torbiel/ torbiel czekoladowa jajnika, potworniak jajnika i rak jajnika u dwóch pacjentek w stopniu zaawansowania IA

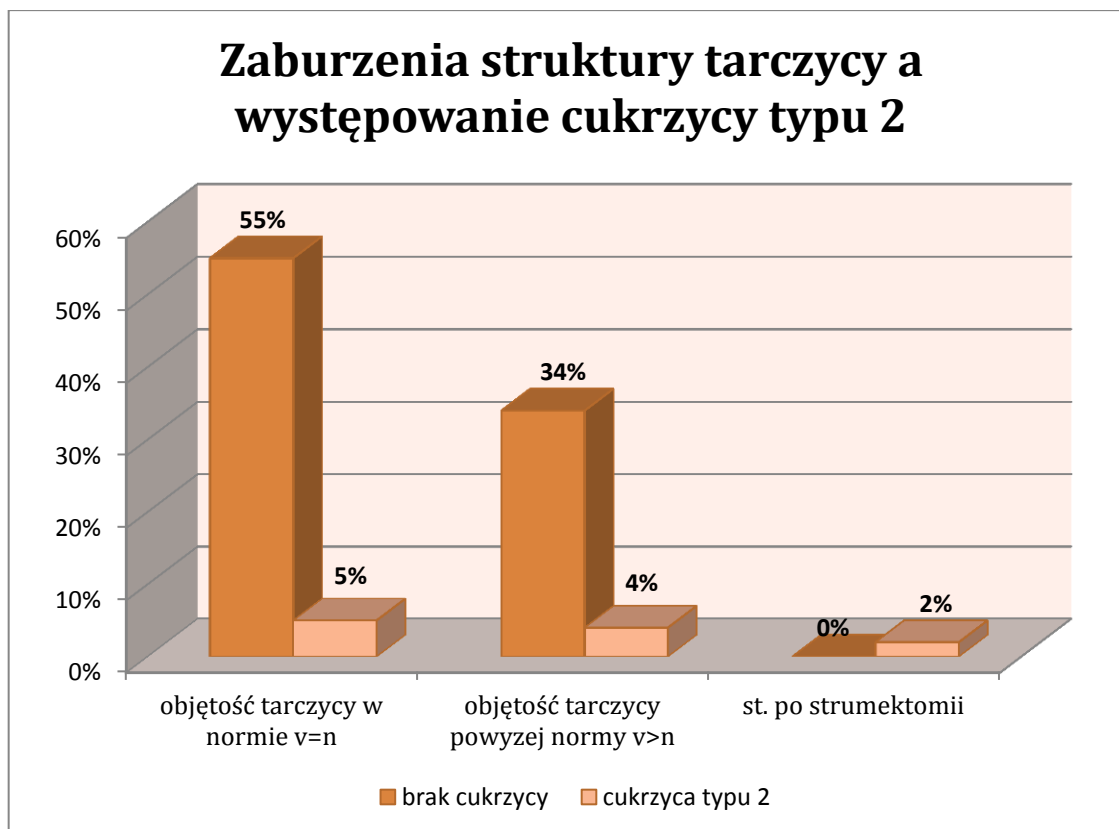
W teście chi-kwadrat z poprawką Yatesa wykazano zależność statystyczną pomiędzy występowaniem guza jajnika w przeszłości a poziomem anty-TPO ($p=0,04381$), co przedstawiono na rycinie 12.



Rycina 12. Zależność pomiędzy poziomem anty-TPO w surowicy a występowaniem guza jajnika w wywiadzie

***Guz jajnika wystąpił u 4,1% kobiet z podwyższonym poziomem przeciwciał, w stosunku do 3,1% pacjentek z guzem jajnika i prawidłowym poziomem anty-TPO.

W dokładnym dwustronnym teście Fishera wykazano istotną statystycznie ($p=0,01523$) zależność pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a występowaniem cukrzycy typu 2.



Rycina 13. Częstość występowania cukrzycy typu 2. u kobiet badanych z zaburzeniem struktury tarczycy

Cukrzyca typu 2. była obecna u 4% kobiet, u których współwystępowało wole oraz u 2% po strumektomii (2 pacjentki) i u 5% z prawidłową strukturą tarczycy.

Analizując pozostałe choroby współistniejące oraz cechy tarczycy pacjentek nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy tymi zaburzeniami ($p > 0,05$).

5.2 Analiza wpływu białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym

Analizowano wpływ oznaczonego białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym na inne cechy kliniczne, histopatologiczne i immunohistochemiczne nowotworu.

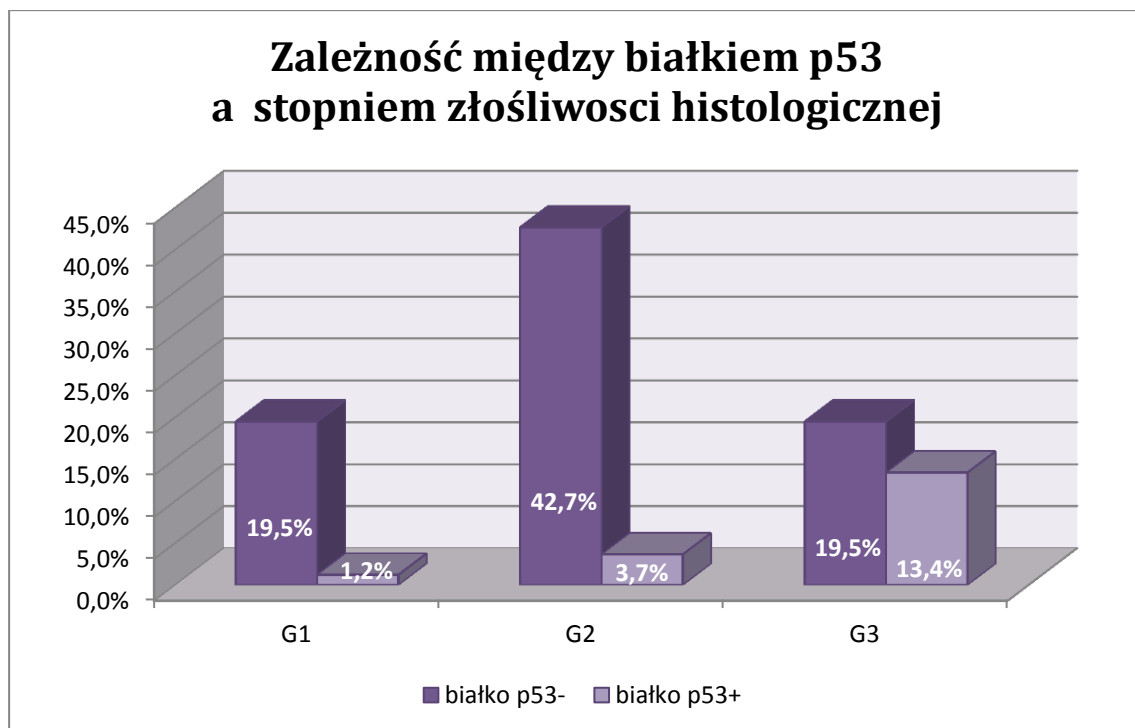
Analizowane cechy przedstawiono w tabeli XXXVIII.

Tabela XXXVIII. Analiza wpływu białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym na inne cechy kliniczne, histopatologiczne i immunohistochemiczne raka

	T	N	hist-pat	G	DCIS	ER +	PgR +	HER2 +/-	Ki67
p53	p= 0,565	p= 0,653	p= 0,347	p= 0,0018	p= 0,802	p= 0,0049	p= 0,0001	p= 0,707	p= 0,00006
Cyklina D1	p= 0,740	p= 0,397	p= 0,088	p= 0,0678	p= 0,748	p= 0,0031	p= 0,0006	p= 0,322	p= 0,0732

Analizując poszczególne cechy nowotworu nie stwierdzono zależności istotnej statystycznie pomiędzy wielkością guza i stopniem zaawansowania w węzłach chłonnych oraz poziomem białka p53 i cykliną D1 w komórkach raka. Ekspresja tych dwóch białek nie miała też wpływu na rozpoznanie histopatologiczne i występowanie komponentu DCIS w guzie oraz ekspresję receptora HER2.

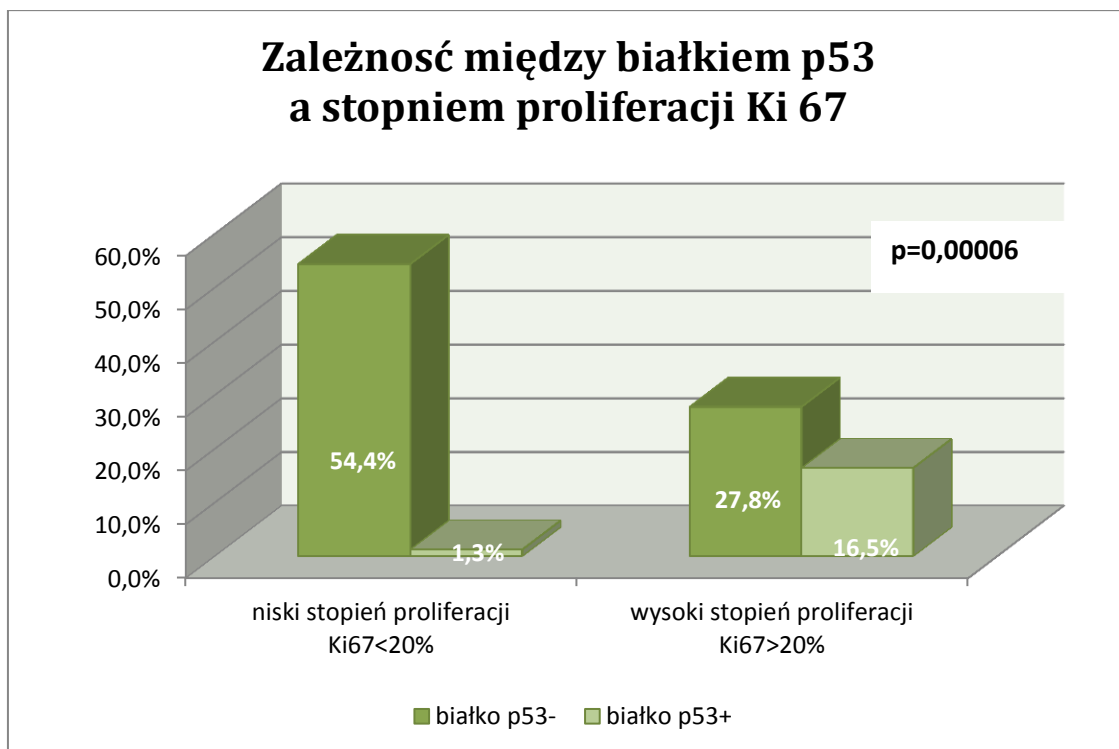
Wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy obecnością białka p53 w komórkach nowotworu a stopniem złośliwości histologicznej G (p=0,0018).



Rycina 14. Zależność pomiędzy ekspresją białka p53 w komórkach raka a stopniem złośliwości histologicznej

Wykazano obecność białka p53 w 13,4% nowoworów o wysokim stopniu złośliwości histologicznej G3 i tylko w 1,2% w G1 oraz 3,7% w G2.

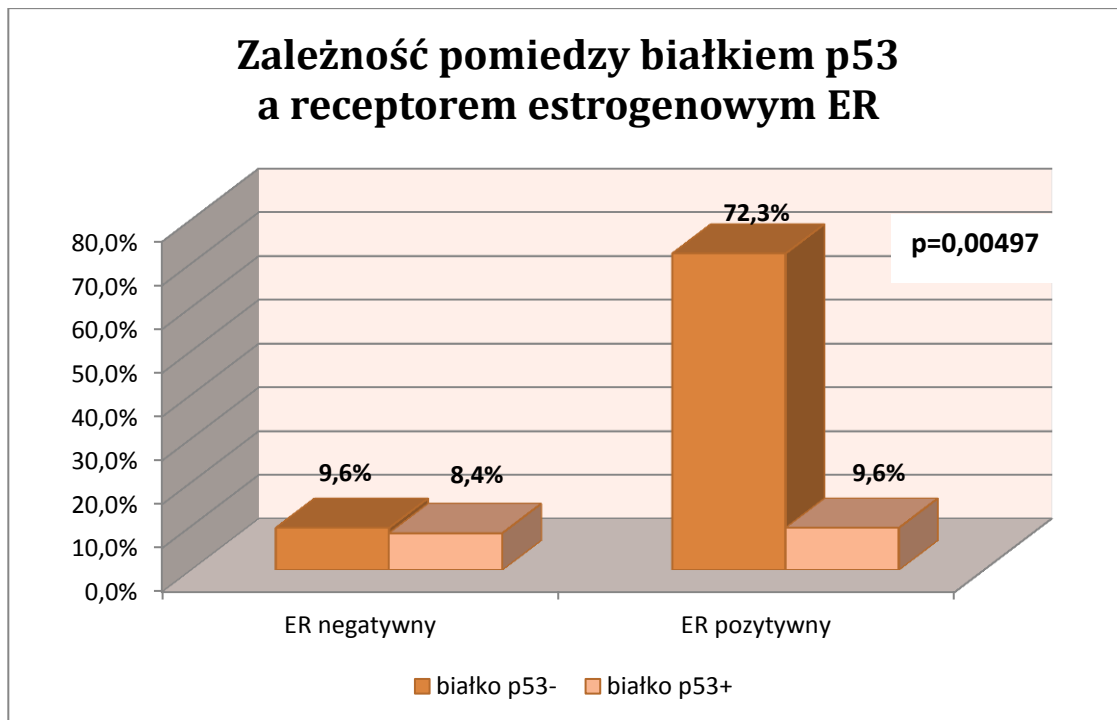
Analiza pokazała istotną statystycznie różnicę pomiędzy ekspresją białka p53 w komórkach nowotworowych a stopniem proliferacji nowotworu Ki67 ($p=0,00006$).



Rycina 15. Zależność pomiędzy ekspresją białka p53 w komórkach raka a stopniem proliferacji Ki67

W 16,5% nowotworów z ekspresją białka p53 wykazano wysoki stopień proliferacji Ki67 > 20%, a tylko w 1,3% nowotworów niski stopień proliferacji Ki67 < 20%.

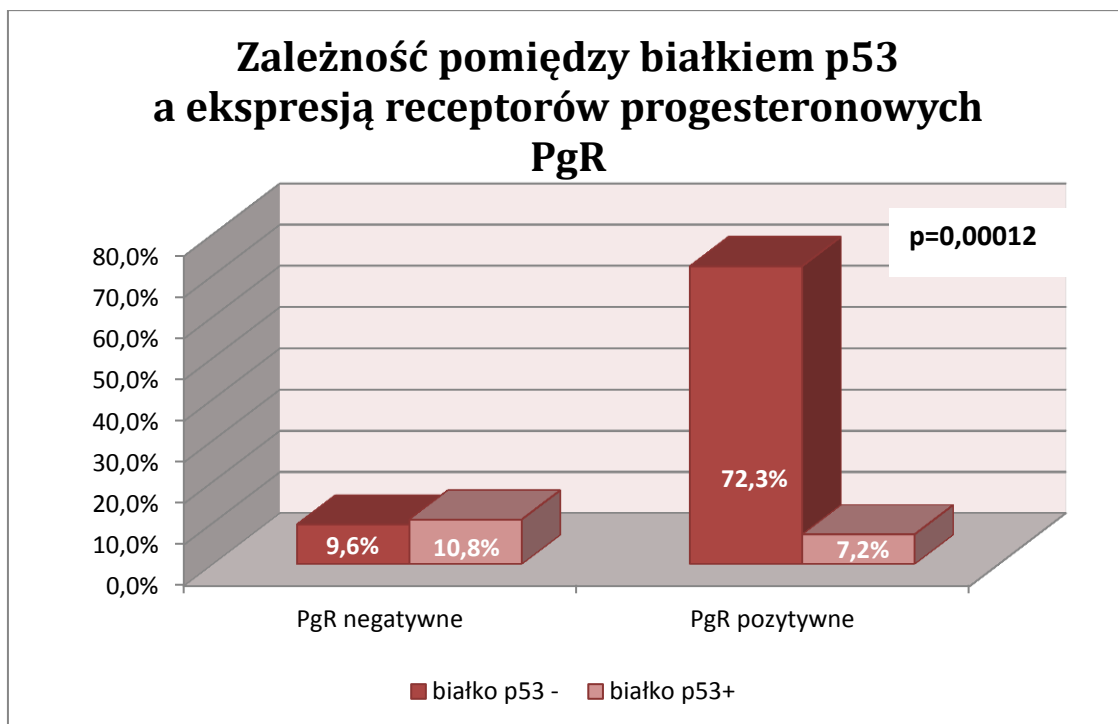
Wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy ekspresją receptorów estrogenowych (p=0,00497) a obecnością białka p53 w komórkach nowotworowych.



Rycina 16. Zależność pomiędzy obecnością białka p53 w komórkach nowotworowych a ekspresją receptorów estrogenowych w guzie.

Zdecydowanie częściej ekspresja receptorów estrogenowych miała miejsce przy nieobecności białka p53 w komórkach raka - 72,3%, przy dodatnim białku p53 – tylko w 9,6%.

Wykazano także istotną statystycznie zależność pomiędzy białkiem p53 w komórkach raka a ekspresją receptorów progesteronowych (p=0,00012) w nowotworze.

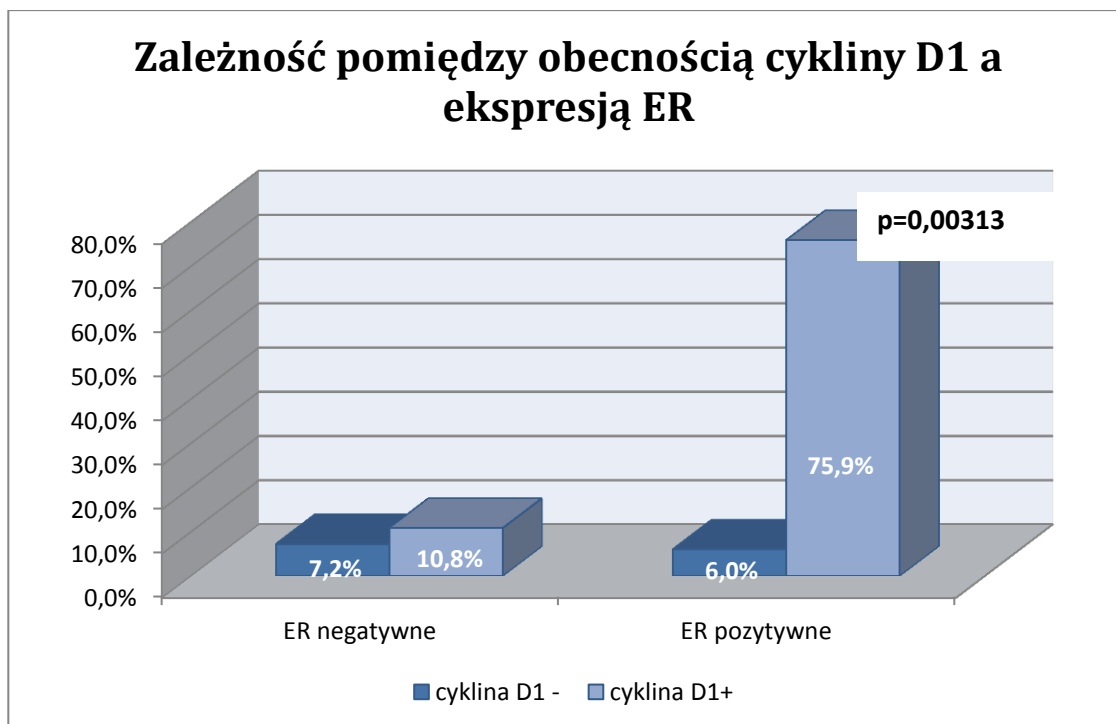


Rycina 17. Zależność pomiędzy obecnością białka p53 w komórkach nowotworowych a ekspresją receptorów progesteronowych w guzie.

Zdecydowanie częściej wykazano ekspresję receptorów progesteronowych przy braku białka p53 w komórkach raka - 72,3%. Jednoczesna ekspresja białka p53 i PgR w komórkach nowotworu miała miejsce tylko w 7,2%.

Analizując obecność cykliny D1 w komórkach nowotworowych nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy stopniem złośliwości histologicznej G, ani stopniem proliferacji nowotworu Ki67 ($p > 0,05$).

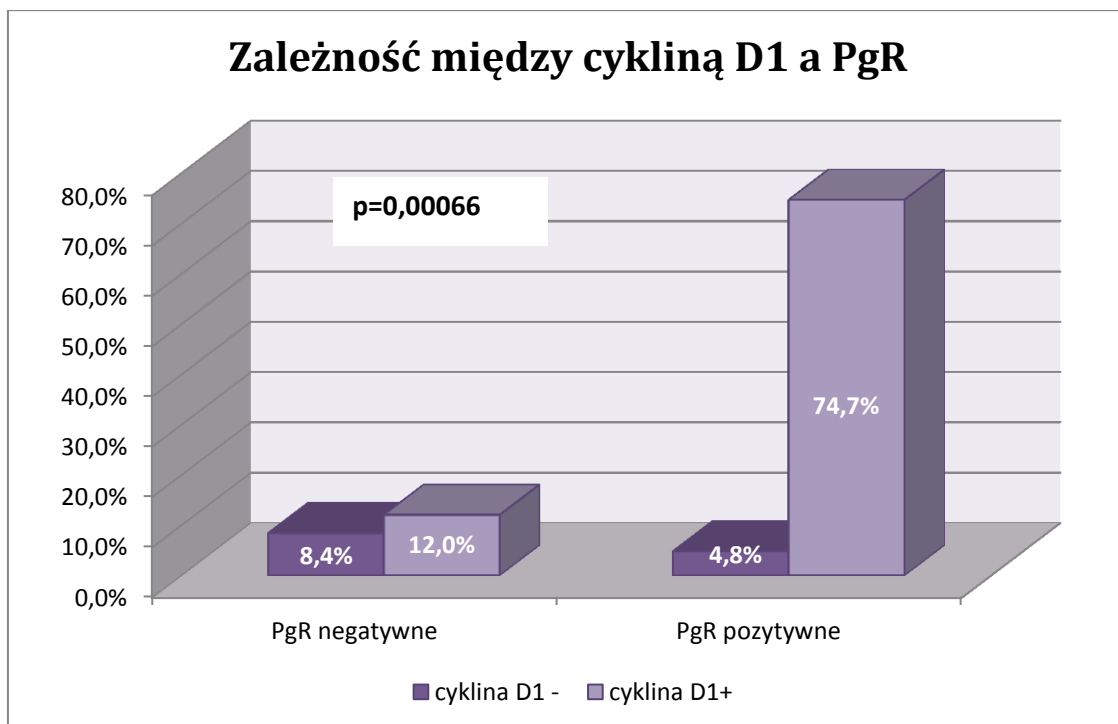
Wykazano zależność istotną statystycznie między ekspresją receptorów estrogenowych ($p = 0,00345$) a obecnością cykliny D1 w komórkach raka.



Rycina 18. Zależność pomiędzy ekspresją cykliny D1 w komórkach raka a obecnością receptorów estrogenowych w komórkach nowotworowych.

Receptory estrogenowe w komórkach nowotworowych zdecydowanie częściej współwystępowały z cykliną D1. W przypadkach braku ekspresji cykliny D1 tylko w 6% receptory estrogenowe były dodatnie.

Wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy ekspresją receptorów progesteronowych ($p=0,00066$) a obecnością cykliny D1 w komórkach raka.



Rycina 19. Zależność pomiędzy ekspresją cykliny D1 w komórkach raka a obecnością receptorów progesteronowych w komórkach nowotworowych.

Ekspresję receptorów progesteronowych obserwowano zdecydowanie częściej w przypadkach z obecnością cykliny D1 w komórkach nowotworowych 74,7%, brak PgR przy jednoczesnej ekspresji cykliny D1 wykazano tylko w 12% przypadków. PgR dodatnie przy braku cykliny D1 były obecne tylko w 4,8% guzów.

Przeanalizowano występowanie cykliny D1 oraz białka p53 w komórkach nowotworu i sprawdzono, czy ekspresja jednego białka ma wpływ na obecność drugiego – nie wykazano istotnej statystycznie zależności, $p=0,20334$.

5.3 Wpływ zaburzeń zależnych od tarczycy na cechy guza nowotworowego

Wszystkie chore na raka piersi przyjęte do Oddziału Chirurgii Onkologicznej były w stanie eutyreozy, jednak w wywiadzie u 16 (16%) z nich stwierdzono zaburzenia czynności tarczycy. U 9 (9%) chorych –nadczynność, u 7 (7%) – niedoczynność tarczycy. Niewielka liczność grup nie pozwoliła na wiarygodną analizę statystyczną.

Analiza poszczególnych cech nowotworu i poziomu przeciwciał anty-TPO w surowicy

Poszukując zależności pomiędzy cechami klinicznymi guza nowotworowego w piersi a poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy – nie stwierdzono istotnej statystycznie ($p=0,73570$) zależności pomiędzy wielkością guza (pT1-pT2) a poziomem przeciwciał w surowicy oraz pomiędzy stopniem zajęcia węzłów chłonnych (pN0-pN2) a poziomem przeciwciał w surowicy ($p=0,3657$).

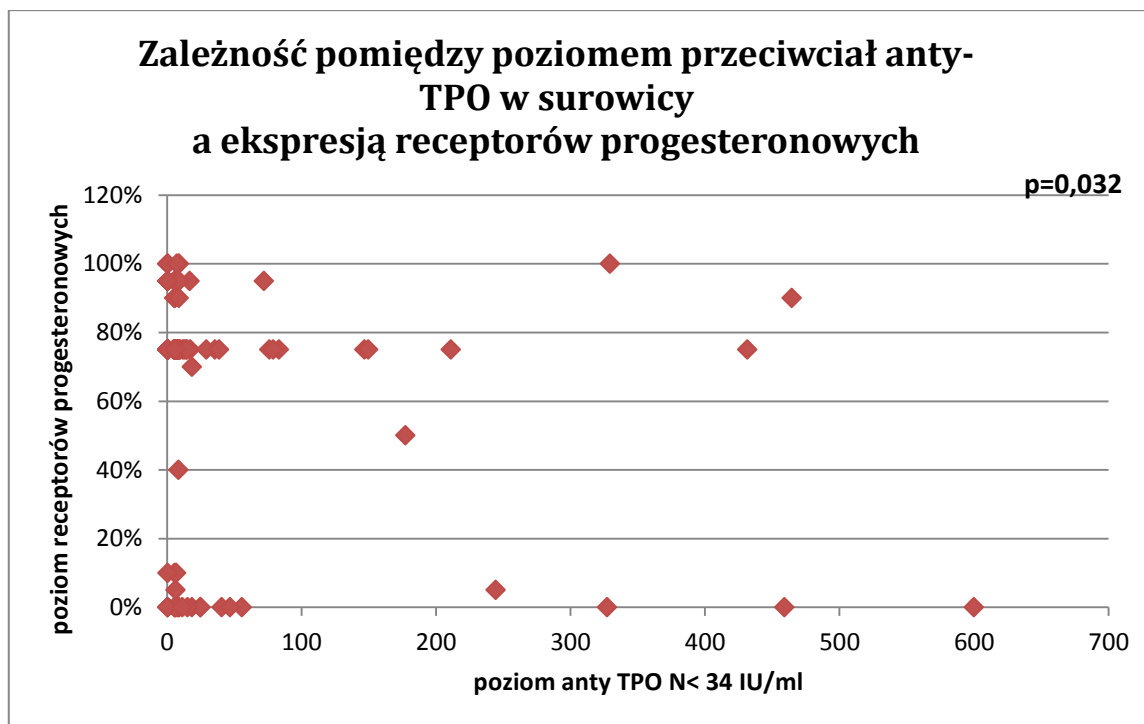
Nie stwierdzono statystycznie istotnej zależności pomiędzy rozpoznaniem histopatologicznym a podwyższonym poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy ($p=0,1186$).

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy a występowaniem raka przedinwazyjnego ($p=0,129$).

Nie stwierdzono statystycznie istotnej zależności pomiędzy stopniem złośliwości histologicznej nowotworu (G1-G3) a podwyższonym poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy ($p=0,5626$).

Poszukiwano związku pomiędzy ekspresją receptorów steroidowych (ER, PgR) a poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy.

Korelacja porządku rang Spearmana wykazała istnienie słabej ujemnej $R=-0,216158$ zależności pomiędzy poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy a ekspresją receptorów progesteronowych w guzie nowotworowym ($p=0,032$).



Rycina 20. Zależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-TPO w surowicy a ekspresją receptorów progesteronowych.

Im niższy poziom anti-TPO w surowicy u pacjentek w grupie badanej tym częściej występowała ekspresja receptorów progesteronowych w guzie nowotworowym.

Zależność ta nie została potwierdzona w teście chi-kwadrat z poprawką Yatesa dla obu zmiennych, co pokazano w tabeli poniżej:

Tabela XXXIX. Analiza poziomu anti-TPO w surowicy na ekspresję receptorów steroidowych (ER, PgR) w guzie nowotworowym ($p>0,05$)

Anti-TPO	PgR +	PgR neg.	$p= 0,458$
$\leq 34\text{IU/ml}$	$n=63$	$n=15$	
$>34\text{ IU/ml}$	$n=14$	$n=6$	
Anti-TPO	ER +	ER neg	$p= 0,910$
$\leq 34\text{IU/ml}$	$n=63$	$n=15$	
$>34\text{ IU/ml}$	$n=17$	$n=3$	

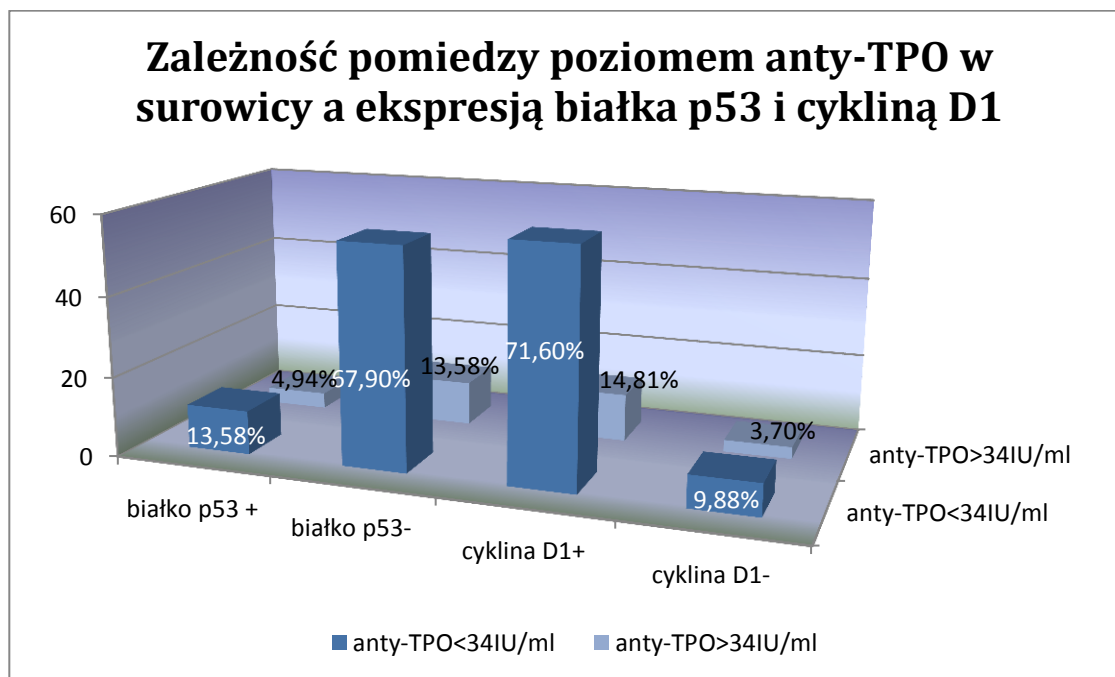
Badano zależność pomiędzy pozostałymi cechami immunohistochemicznymi guza nowotworowego a poziomem przeciwciał anti-TPO w surowicy.

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy ekspresją receptora HER2 a

podwyższonym poziomem anty-TPO w surowicy($p=0,104$).

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy wysokim stopniem proliferacji Ki67 (>20%) a poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy ($p=0,223$).

Analizując ekspresję białka p53 i cykliny D1 w komórkach nowotworu nie stwierdzono zależności ich występowania od poziomu przeciwciał anty-TPO w surowicy, odpowiednio $p=0,594$ i $p=0,699$.



Rycina 21. Zależność pomiędzy poziomem przeciwciała anty-TPO w surowicy a ekspresją białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym

Ekspresję białka p53 wykazano w 4 przypadkach z podwyższonym poziomem anty-TPO w surowicy (4,94%) i w 11 (13,58%) z prawidłowym poziomem przeciwciał. U 11 (13,58%) chorych z podwyższonym poziomem anty-TPO w surowicy nie stwierdzono ekspresji białka p53. Ekspresja cykliny D1 była obecna w 12 (14,81%) przypadkach i ujemna tylko w 3 (3,70%) przypadkach z podwyższonym poziomem przeciwciał w surowicy.

Analiza poszczególnych cech nowotworu a zaburzeniem struktury tarczycy.

Badając związek pomiędzy klinicznymi cechami nowotworu a zaburzeniem struktury tarczycy nie znaleziono istotnej statystycznie zależności pomiędzy wielkością guza w piersi (pT1-pT2), ani stopniem zaawansowania w węzłach chłonnych (pN0-pN2) a zaburzeniem struktury tarczycy (odpowiednio $p=0,56621$ i $p=1$).

W dokładnym dwustronnym teście Fishera nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy rozpoznaniem histopatologicznym a zaburzeniem struktury tarczycy ($p=0,099$).

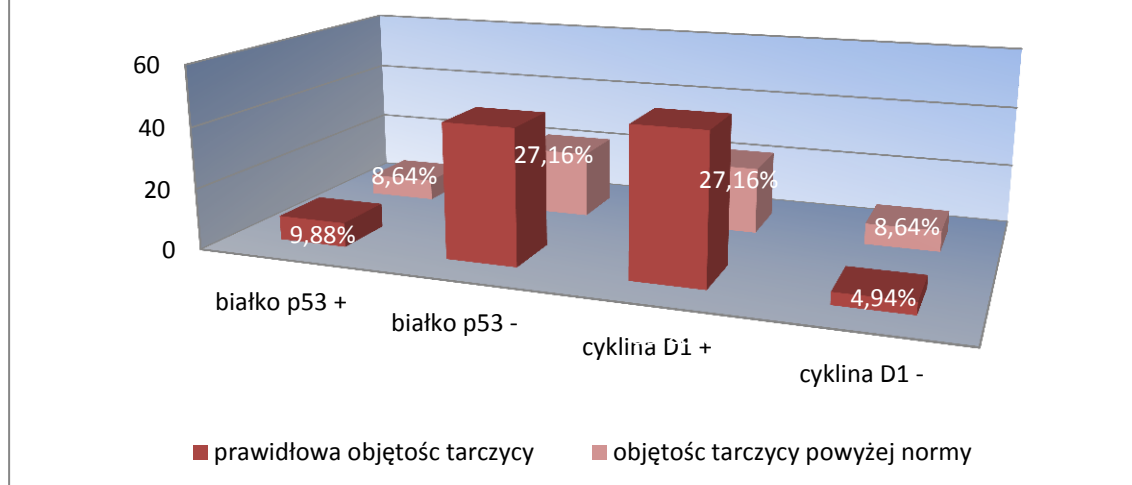
Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a występowaniem raka przedinwazyjnego w piersi ($p=0,4387$).

Nie stwierdzono istotnej statystycznie ($p=0,088$) zależności pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy i stopniem złośliwości histologicznej (G1-G3).

Poszukiwano związku pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a cechami immunohistochemicznymi guza nowotworowego.

Dokładny dwustronny test Fishera nie wykazał zależności pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a ekspresją receptorów estrogenowych ($p=0,073$), ekspresją receptorów progesteronowych ($p=0,876$), ekspresją receptora HER2 ($p=0,822$) oraz wysokim stopniem proliferacji Ki67 ($p=0,225$) w raku piersi. Nie wykazano również zależności pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a ekspresją cykliny D1 ($p=0,083$) oraz obecnością białka p53 ($p=0,330$). Zauważono jednak, że u chorych z prawidłową strukturą tarczycy rzadziej było obecne białko p53 – u 8 (9,88%) kobiet w stosunku do 44 (54,32%) bez ekspresji białka p53. Natomiast cyklina D1 była obecna w 22 (27,16%) przypadkach nowotworu ze współistniejącym wolem i 48 (59,26%) chorych z prawidłową strukturą tarczycy.

Zależność pomiędzy objętością tarczycy a białkiem p53 i cykliną D1



Rycina 22. Zależność pomiędzy objętością tarczycy a ekspresją białka p53 i cykliny D1 w guzie nowotworowym

Analiza poszczególnych cech nowotworu a występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy.

Z wśród chorych z zaburzeniem struktury tarczycy wyodrębniono grupę kobiet, u których w badaniu usg tarczycy zostały stwierdzone hypoechogenne zmiany ogniskowe. Pszukiwano związku pomiędzy występowaniem tych zmian a cechami guza nowotworowego w piersi.

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności ($p=0,656$) pomiędzy wielkością guza w piersi oraz stopniem zajęcia węzłów chłonnych ($p=0,551$) a występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych stwierdzonych w badaniu ultrasonograficznym w badanej grupie chorych na raka piersi.

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy a rozpoznaniem histopatologicznym ($p=0,707$), stopniem złośliwości histologicznej nowotworu ($p=0,805$) oraz występowaniem raka przedinwazyjnego w piersi ($p=0,143$).

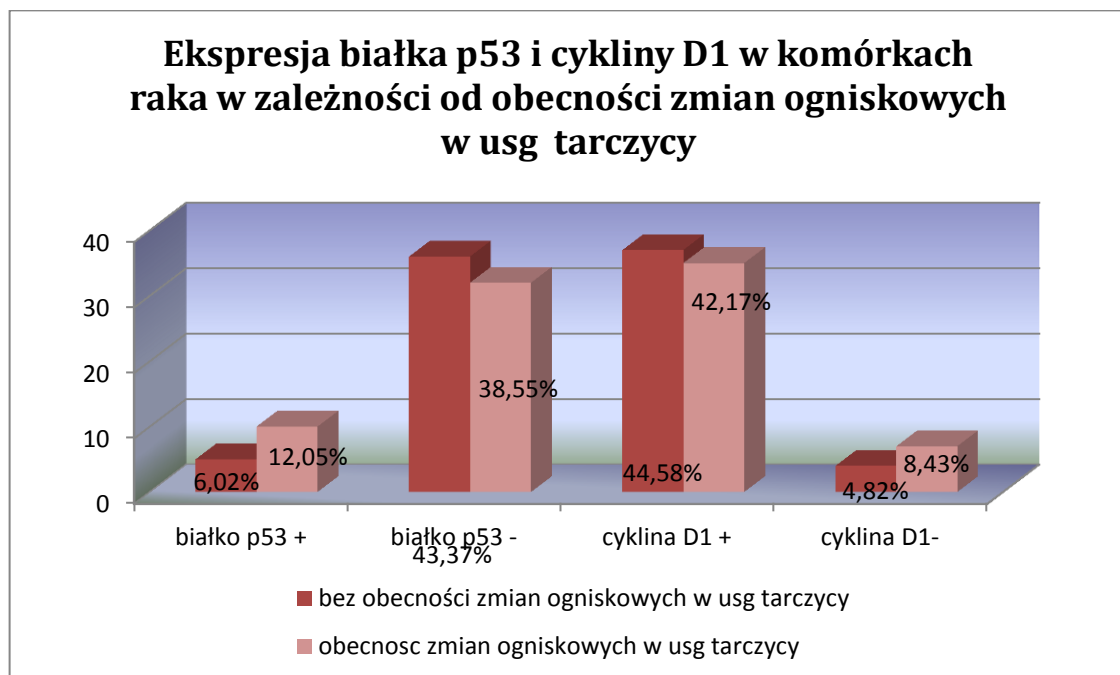
Poszukiwano zależności pomiędzy występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych stwierdzonych w badaniu usg tarczycy a cechami immunohistochemicznymi guza nowotworowego w piersi.

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem

hypoechoogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy a ekspresją receptorów steroidowych: estrogenowych ($p=0,958$) i progesteronowych w komórkach raka piersi ($p=0,474$).

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem hypoechoogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy a ekspresją receptora HER2 w guzie nowotworowym piersi ($p=0,562$).

Analizując ekspresję białka p53 i cykliny D1 w komórkach raka nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy obecnością tych białek a występowaniem hypoechoogennych zmian ogniskowych stwierdzonych w usg tarczycy, odpowiednio $p=0,169$ i $p=0,353$. Zauważono, że ekspresja cykliny D1 występowała u 35 (42,17%) chorych na raka piersi z obecnością zmian ogniskowych w badaniu usg tarczycy, a tylko u 7 (8,43%) chorych ze zmianami ogniskowymi w usg tarczycy była ujemna. Białko p53 było ujemne u 32 (38,55%) chorych na raka piersi z obecnością zmian ogniskowych w usg tarczycy, a dodatkowo u 10 (12,05%) w tej grupie chorych.



Rycina 23. Ekspresja białka p53 i cykliny D1 w komórkach raka piersi u chorych z obecnością hypoechoogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy i bez ich obecności

Badano zależność pomiędzy występowaniem hypoechoogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy a wysokim stopniem proliferacji nowotworu piersi Ki67.

W teście chi-kwadrat Pearsona wykazano istnienie słabej zależności między występowaniem hypoechoogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy a wysokim stopniem proliferacji Ki67 ($p=0,025$). Współczynnik kontyngencji 0,2283.



Rycina 24. Zależność pomiędzy występowaniem hypoechoogennych zmian ogniskowych w tarczycy a stopniem proliferacji Ki67 nowotworu piersi.

U 30,8% chorych na raka piersi, u których stwierdzono hypoechoogenne zmiany ogniskowe w badaniu usg tarczycy wykazano wysoki stopień proliferacji nowotworu Ki67 >20%, w stosunku do 16,5% chorych bez zmian ogniskowych w usg tarczycy. Niski stopień proliferacji stwierdzono u 22,0% kobiet ze zmianami ogniskowymi w usg vs 30,8% bez zmian ogniskowych.

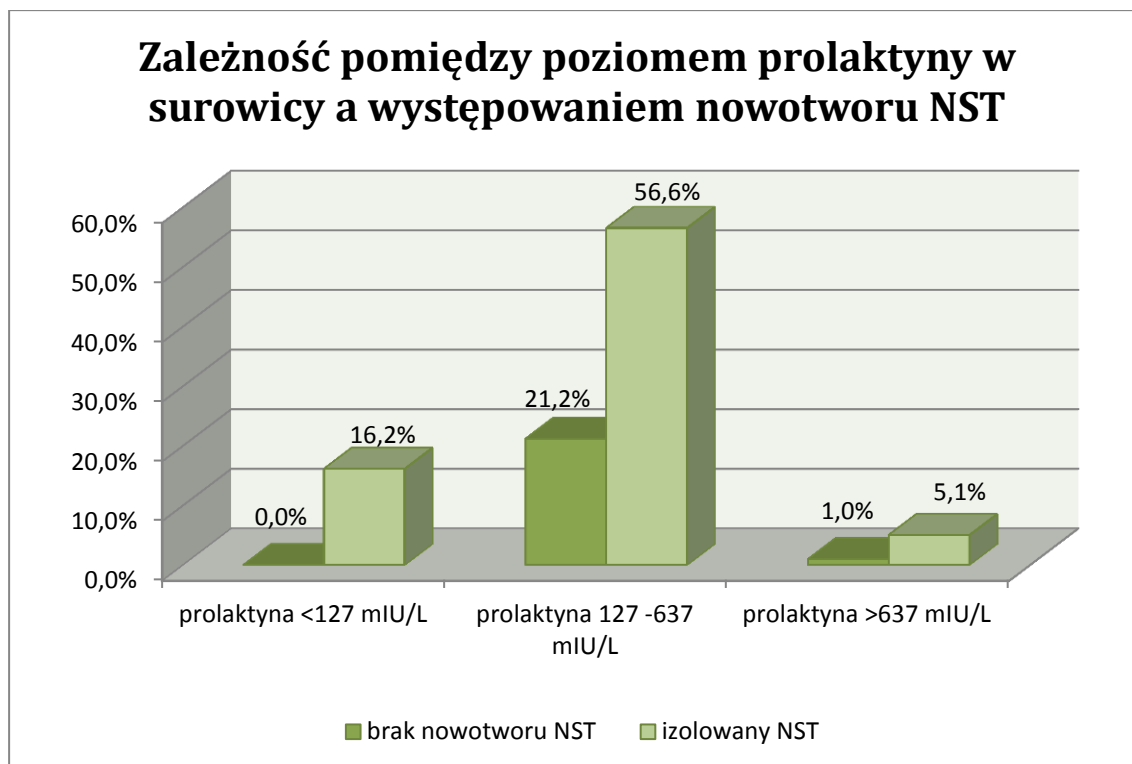
Analiza poszczególnych cech nowotworu a poziomem hormonu – prolaktyna w surowicy.

Szukając zależności istotnych statystycznie pomiędzy poziomem prolaktyny surowicy a cechami klinicznymi guza w piersi – nie stwierdzono istotności statystycznej pomiędzy wielkością guza piersi (pT1-pT2) ($p=0,914$), ani stanem węzłów chłonnych (pN0-pN2) ($p=0.923$).

Badano zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a rozpoznaniem histopatologicznym.

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy nieprawidłowym poziomem prolaktyny w surowicy, a rozpoznaniem histopatologicznym ($p=0,976$), występowaniem raka przedinwazyjnego ($p=0,356$) i stopniem złośliwości histologicznej (G1-G3) ($p= 0,389$).

Z grupy badanych kobiet wyodrębniono chore z rozpoznaniem raka NST i badano zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a wystąpieniem wyłącznie raka bez specjalnego typu (NST). Dokładny dwustronny test Fishera wykazał istotną statystycznie ($p=0,031$) zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem nowotworu NST.



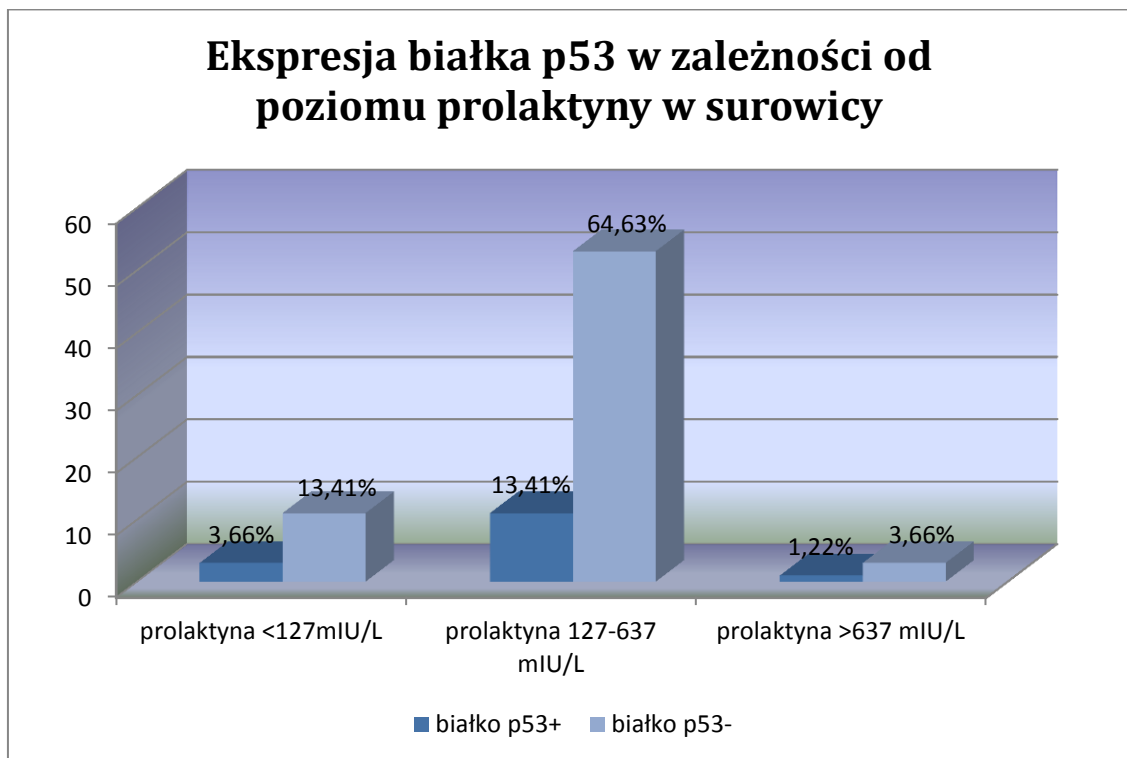
Rycina 25. Zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem izolowanego nowotworu bez specjalnego typu (NST)

W ponad 50% przypadków izolowanego raka bez specjalnego typu poziom prolaktyny w surowicy był w normie. Jednak ze względu na małą licznosc grup z nieprawidlowa wartoscia prolaktyny mozna przypuszczac, ze zarowno wysoki jak i niski poziom prolaktyny w surowicy moze miec wplyw na wystepowanie raka NST. Wartość tego testu jest najprawdopodobniej nieprzydatna klinicznie. Dla ewentualnego potwierdzenia wyniku i określenia wpływu nieprawidłowego poziomu prolaktyny na typ histopatologiczny nowotworu należałoby przeprowadzić badania na znacznie większej grupie chorych, a u chorych z nieprawidłowym poziomem prolaktyny w surowicy powtórzyć badanie krwi w celu weryfikacji (potwierdzenia/wykluczenia) wyniku, co w badanej grupie nie było możliwe.

Poszukiwano zależności pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a cechami immunohistochemicznymi nowotworu.

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a ekspresją receptorów estrogenowych ($p=0,118$), ekspresją receptorów progesteronowych ($p=0,143$), ekspresją receptora HER2 ($p=0,154$) oraz wysokim stopniem proliferacji nowotworu Ki67 ($p=0,341$) w guzie nowotworowym

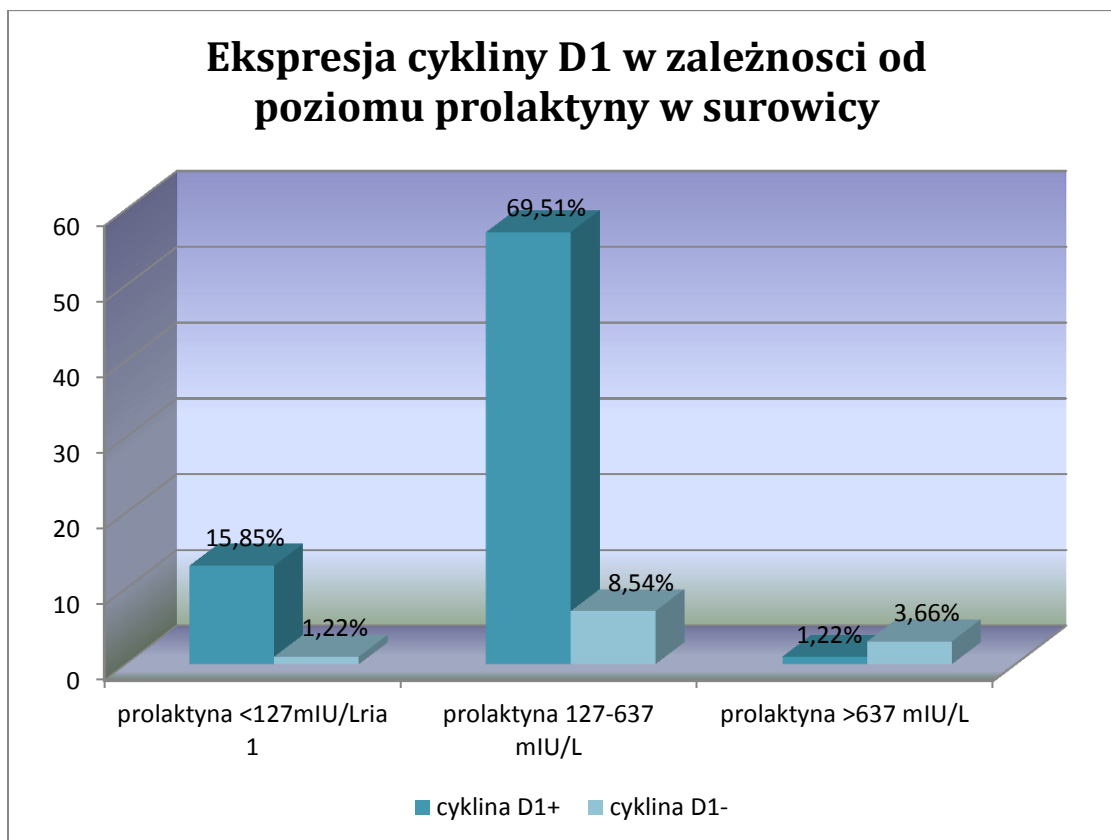
piersi. Analizowano zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a ekspresją białka p53 w komórkach raka i nie wykazano ekspresji białka p53 w 53 (64,63%) przypadkach z prawidłowym poziomem prolaktyny w surowicy; w tej grupie białko p53 było obecne w 11 przypadkach (13,41%) . Zależność ta nie była istotna statystycznie $p=0,6402$.



Rycina 26. Ekspresja białka p53 w komórkach guza nowotworowego w zależności od poziomu prolaktyny w surowicy

Podobną analizę wykonano dla cykliny D1 i stwierdzono, że istnieje zależność istotna statystycznie pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a ekspresją cykliny D1 ($p=0,009876$).

W 69,51% nowotworów z ekspresją cykliny D1 poziom prolaktyny w surowicy u chorych na raka piersi był w normie. W 8,54% nowotworów bez ekspresji cykliny D1 stwierdzono prawidłowy poziom prolaktyny w surowicy.



Rycina 27. Ekspresja cykliny D1 w komórkach guza nowotworowego w zależności od poziomu prolaktyny w surowicy

Badano zależność między poziomem prolaktyny w surowicy a zaburzeniem struktury tarczycy u chorych z rozpoznaniem raka piersi.

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem wola ($p=0,076$).

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy ($p=0,754$).

5.4 Analiza cech klinicznych tarczycy w zależności od stanu menopauzalnego

Analiza cech klinicznych tarczycy, guza nowotworowego w piersi oraz czynników wystąpienia raka piersi w grupie chorych w zależności od stanu menopauzalnego.

Grupę chorych na raka piersi podzielono w zależności od stanu menopauzalnego na kobiety miesiączkujące w momencie rozpoznania (n=23) oraz kobiety po menopauzie (n=77). Analizowano poszczególne cechy guza oraz stan tarczycy i czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi w tych dwóch podgrupach.

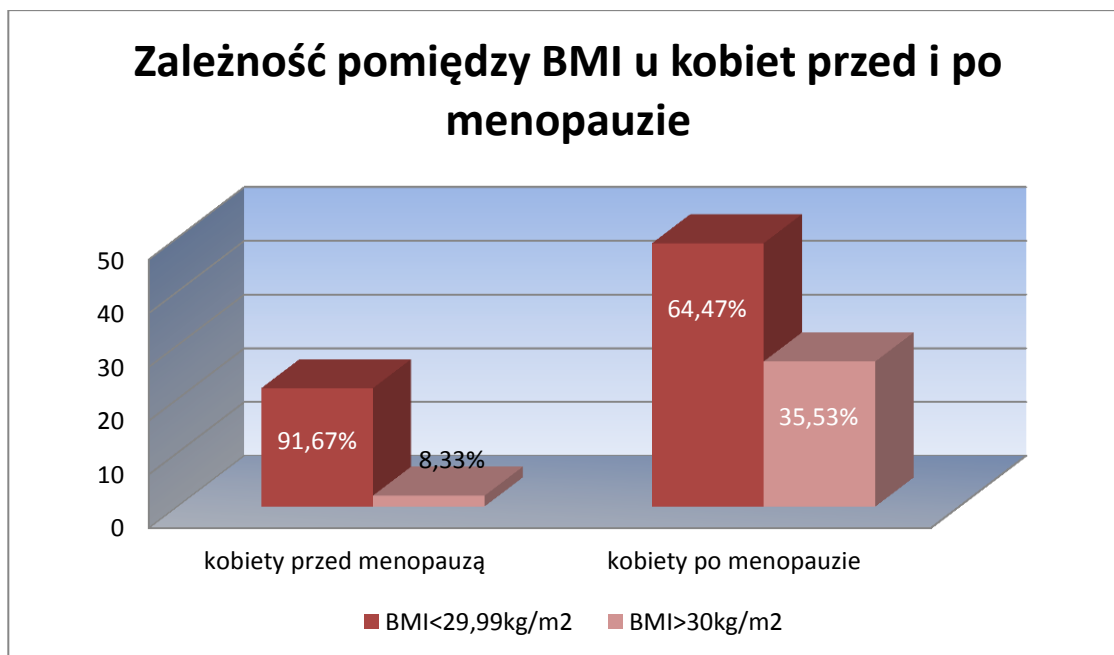
Nie analizowano wpływu stosowanej hormonoterapii zastępczej w obu grupach, gdyż była ona stosowana wyłącznie w grupie po menopauzie z oczywistych przyczyn, natomiast porównanie stosowanej antykoncepcji z długością stosowania HTZ nie miałyby uzasadnienia.

Analizowano zależność pomiędzy masą ciała a wystąpieniem nowotworu piersi w obu grupach, co przedstawiono w tabeli XL.

Tabela XL. Zależność pomiędzy masą ciała (BMI) a występowaniem nowotworu w grupie kobiet przed i po menopauzie (p=0,01)

	Przed menopauzą N=24	Po menopauzie N=76	p
BMI w normie + nadwaga	N=22 91,67%	N=49 64,47%	p=0,01048
otyłość	N=2 8,33%	N=27 35,53%	p=0,01048

Wykazano istotną statystycznie (p=0,01) zależność pomiędzy masą ciała a wystąpieniem nowotworu piersi. Oznacza to, że kobiety przed i po menopauzie istotnie statystycznie różnią się wartością BMI. U chorych przed menopauzą częściej stwierdzano masę ciała prawidłową lub w zakresie nadwagi, natomiast po menopauzie częściej stwierdzano otyłość.



Rycina 28. Porównanie masy ciała (BMI) u kobiet przed i po menopauzie

Badano wpływ zachorowań w rodzinie na wystąpienie nowotworu w obu grupach – nie stwierdzono istotnej statystycznie ($p=0,257$) zależności pomiędzy ilością zachorowań w rodzinie a wystąpieniem nowotworu w obu grupach. Badano czy stan menopauzalny chorych miał wpływ na wielkość guza nowotworowego w piersi – nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy wielkością guza (pT) a stanem menopauzalnym badanych kobiet ($p=0,236$).

Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy stanem menopauzalnym chorych na raka piersi a zajęciem węzłów chłonnych pachowych (pN), $p=0,719$. Analizując cechy immunohistochemiczne guza w obu grupach: nie stwierdzono istotnej statystycznie ($p=0,793$) zależności pomiędzy ekspresją receptorów steroidowych a stanem menopauzalnym chorych na raka piersi.

Nie stwierdzono istotnej statystycznie ($p=0,769$) zależności pomiędzy ekspresją receptora HER2 a stanem menopauzalnym chorych na raka piersi.

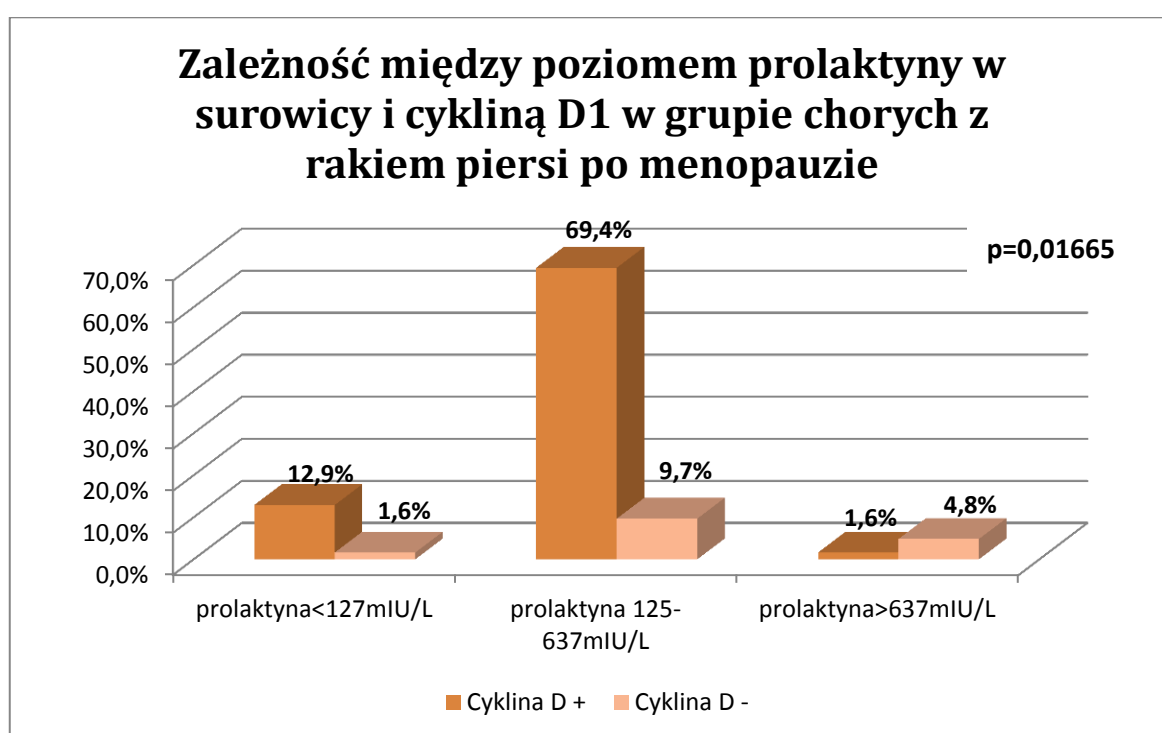
Nie stwierdzono istotnej statystycznie ($p=0,949$) zależności pomiędzy stanem menopauzalnym chorych na raka piersi a wysokim indeksem proliferacji Ki67.

Analizowano wpływ stanu menopauzalnego na ekspresję białka p53 i cykliny D1w guzie nowotworowym, nie wykazano różnicy między obecnością tych białek w obu grupach: przed i po menopauzie (odpowiednio $p=0,395$ i $p=0,339$).

Badano czy istnieje zależność w grupie kobiet badanych przed menopauzą pomiędzy obecnością białka p53 i cykliny D1 w komórkach raka a poziomem prolaktyny surowicy i cechami zależnymi od tarczycy. Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy poziomem anty-TPO i prolaktyny w surowicy, obecnością wola i hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy ($p>0,05$) a ekspresją białka p53 i cykliny D1.

Podobną analizę przeprowadzono w grupie chorych po menopauzie.

Wykazano istotną statystycznie zależność ($p=0,01665$) pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a obecnością cykliny D1 w komórkach raka.



Rycina 29. Zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy chorych z rakiem piersi i ekspresją cykliny D1 w komórkach raka

Nie stwierdzono natomiast zależności pomiędzy cykliną D1 a poziomem anty-TPO w surowicy, obecnością wola i hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy ($p>0,05$). Nie wykazano także zależności pomiędzy ekspresją białka p53 a poziomem anty-TPO i prolaktyny w surowicy, obecnością wola i zmian ogniskowych w usg tarczycy w grupie chorych na raka piersi po menopauzie.

Badano zależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-TPO w surowicy a wiekiem zachorowania na nowotwór. Wykazano brak istotnej statystycznie ($p=0,0588$) zależności pomiędzy poziomem anti-TPO w surowicy a wiekiem zachorowania na nowotwór.

U chorych na raka piersi po menopauzie poziom anti-TPO w surowicy był w normie u 58 chorych (76,32%), podwyższone u 18 (23,68%). Przed menopauzą podwyższony poziom przeciwciał w surowicy zanotowano u 2 (8,33%) chorych, a normę u 22 (91,67%) jednak różnica ta nie była istotna statystycznie

Porównując grupy przed i po menopauzą nie wykazano istotnej statystycznie ($p=0,231$) różnicy między poziomem przeciwciał anti-TPO w surowicy w obu grupach.

Badano również zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy w obu grupach – nie wykazano istotnej statystycznie różnicy ($p=0,676$) dla obu grup.

Analizowano stan strukturalny tarczycy w obu grupach. Nie wykazano istotnej statystycznie ($p=0,320$) zależności między zaburzeniem struktury tarczycy a stanem menopauzalnym chorych na raka piersi. Z grupy kobiet z nieprawidłową strukturą tarczycy wyodrębniono chore z hypoechogennymi zmianami ogniskowymi w usg tarczycy. Stwierdzono istotną statystycznie ($p=0,048$) różnicę w obu grupach pod względem występowania hypoechogenych zmian ogniskowych w usg tarczycy.



Rycina 30. Zależność pomiędzy występowaniem hypoechoicznych zmian ogniskowych w usg tarczycy a stanem menopauzalnym – porównanie grupy chorych przed - i po menopauzie.

Hypoechoiczne zmiany ogniskowe w usg tarczycy stwierdzono zdecydowanie częściej u chorych na raka piersi po menopauzie 60,5% vs 37,5% przed menopauzą.

Porównano obie grupy – przed - i po menopauzie z grupą kontrolną (Tabela XLI.).

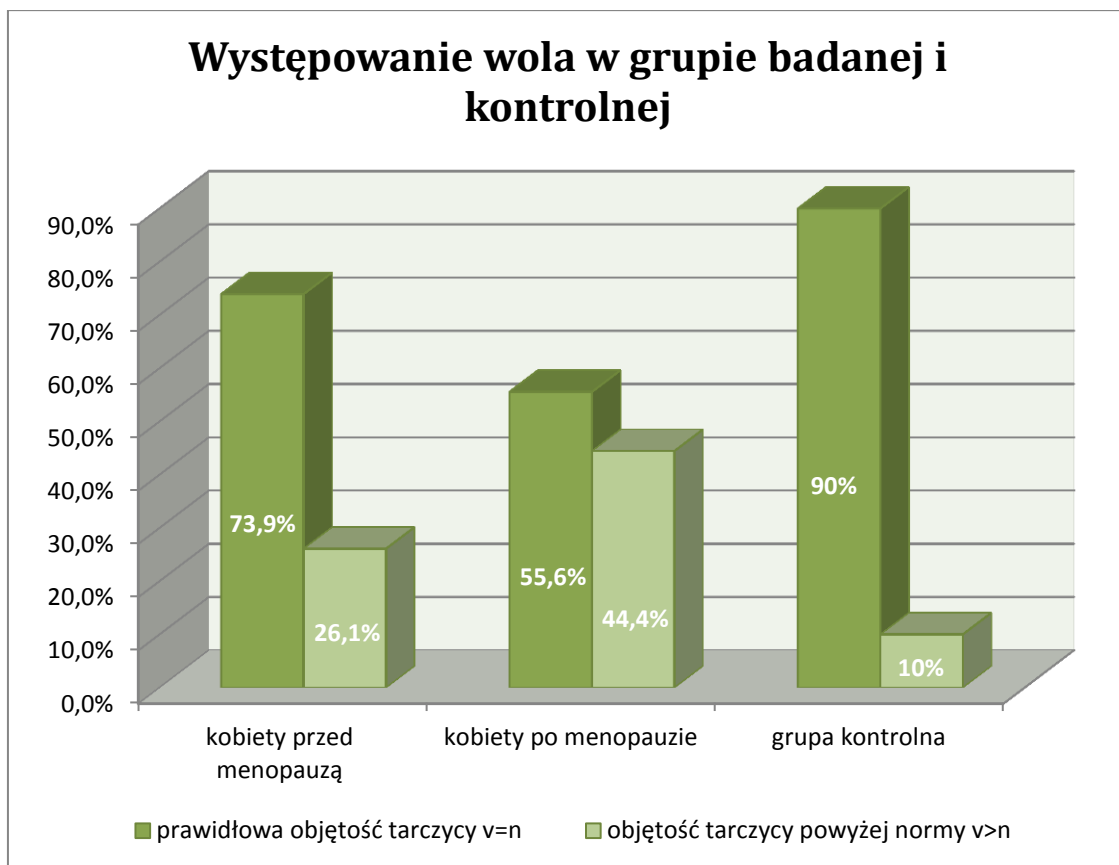
Tabela XLI. Porównanie chorych na raka piersi przed (n=24) i po menopauzie (n=76) z grupą kontrolną (n=30) pod względem poziomu w surowicy anty-TPO, prolaktyny oraz objętości tarczycy i obecności hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy

	Przed menopauzą n=24	Po menopauzie n=76	Grupa kontrolna n=30	p
Poziom anty-TPO	Me=8,50 Zakres kwartylowy: 5,6 -15,2	Me=7,95 Zakres kwartylowy: 5,4 – 18,6	Me=7,50 Zakres kwartylowy: 5,0 -15,7	p=0,9776*
Poziom prolaktyny	Me=189,55 Zakres kwartlowy: 144,8 - 249,1	Me=194,00 Zakres kwartlowy: 154,9 - 233,3	Me=245,30 Zakres kwartlowy: 170,8 - 339,6	p=0,1186*
usg tarczycy v>n	Norma n=17 (73,91%) Powyżej normy n=6 (26,09%)	Norma n=40 (55,56%) Powyżej normy n=32 (44,44%)	Norma n=27 (90,00%) Powyżej normy n=3 (10%)	p=0.0014*
hypoechogenne zmiany ogniskowe w usg	Nie n=15 (65,22%) Tak n=8 (34,78%)	Nie n=30 (40,54%) Tak n=44 (59,46%)	Nie n=13 (43,33%) Tak n=17 (56,67%)	p= 0.1232*

* porównano testem nieparametrycznym Kruskala-Wallisa

Grupy te nie różnią się istotnie statystycznie pod względem poziomu przeciwciał anty-TPO (p=0,977) i poziomu prolaktyny (p=0,118) w surowicy oraz występowania hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy (p= 0.123).

W teście nieparametrycznym Kruskala-Wallisa stwierdzono istotną statystycznie (p=0.0014) różnicę w występowaniu wola.



Rycina 31. Częstość występowania wola w grupie chorych z rakiem piersi: przed i po menopauzie oraz w grupie kontrolnej

Wole występowało zdecydowanie częściej w grupie chorych na raka piersi aniżeli w grupie kontrolnej (10%), przy czym znacznie częściej u kobiet po menopauzie (44,4%) niż w grupie kobiet miesiączkujących (26,1%).

Ponieważ grupę kontrolną również stanowiły kobiety przed i po menopauzie, wyodrębniono podgrupy i porównano z grupami badanymi.

Tabela XLII. Porównanie kobiet przed menopauzą: grupa badana (n=23) i grupa kontrolna (n=19) pod względem poziomu w surowicy anty-TPO, prolaktyny oraz objętości tarczycy i obecności hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy

	Grupa badana Przed menopauzą n=23	Grupa kontrolna Przed menopauzą n=19	p
Poziom anty-TPO	Me=8,50 Zakres kwartylowy: 5,6 -15,2	Me=8,50 Zakres kwartylowy: 5,5 -15,7	p=0,654640*
Poziom prolaktyny	Me=189,55 Zakres kwartylowy: 144,8 - 249,1	Me=282,60 Zakres kwartylowy: 181,1 - 436,3	p=0,028077*
usg tarczycy v>n	Norma n=17 (73,91%) Powyżej normy n=6 (26,09%)	Norma n=16 (84,21%) Powyżej normy n=3 (15,79%)	p=0,434195*
hypoechogenne zmiany ogniskowe w usg	Nie n=15 (65,22%) Tak n=8 (34,78%)	Nie n=12 (63,16%) Tak n=7 (36,84%)	p=0,88973

* porównano testem nieparametrycznym Kruskala-Wallis

Wykazano istotą statystycznie różnice w poziomie prolaktyny w surowicy w grupie badanej i kontrolnej przed menopauzą (p=0,028).

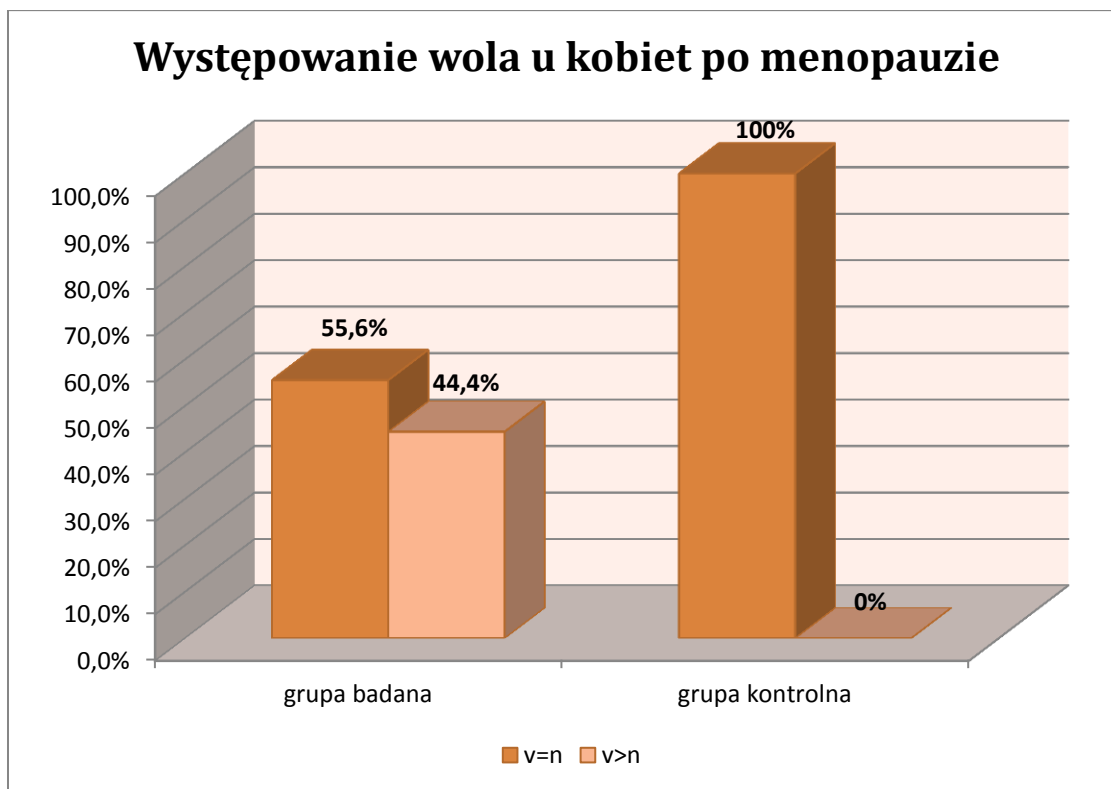
Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w poziomie anty-TPO (p=0,654) w surowicy, w występowaniu wola (p=0,434) oraz występowaniu hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy (p=0,889).

Tabela XLIII. Porównanie kobiet po menopauzie: grupa badana (n=74) i grupa kontrolna (n=11) pod względem poziomu w surowicy anty-TPO, prolaktyny oraz objętości tarczycy i obecności hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy

	Grupa badana po menopauzie n=74	Grupa kontrolna po menopauzie n=11	p
Poziom anty-TPO	Me=7,95 Zakres kwartlowy: 5,4 – 18,6	Me=6,7 Zakres kwartlowy: 5,0 -144,7	p=0,698133*
Poziom prolaktyny	Me=194,0 Zakres kwartlowy: 154,9 - 233,3	Me=188,2 Zakres kwartlowy: 135,9 - 272,8	p=0,984331*
usg tarczycy v>n	Norma n=40 (55,56%) Powyżej normy n=32 (44,44%)	Norma n=11 (100,00%) Powyżej normy n=0 (0%)	p=0,005179*
hypoechogenne zmiany ogniskowe w usg	Nie n=30 (40,54%) Tak n=44 (59,46%)	Nie n=1 (9,09%) Tak n=10 (90,91%)	p= 0,04319*

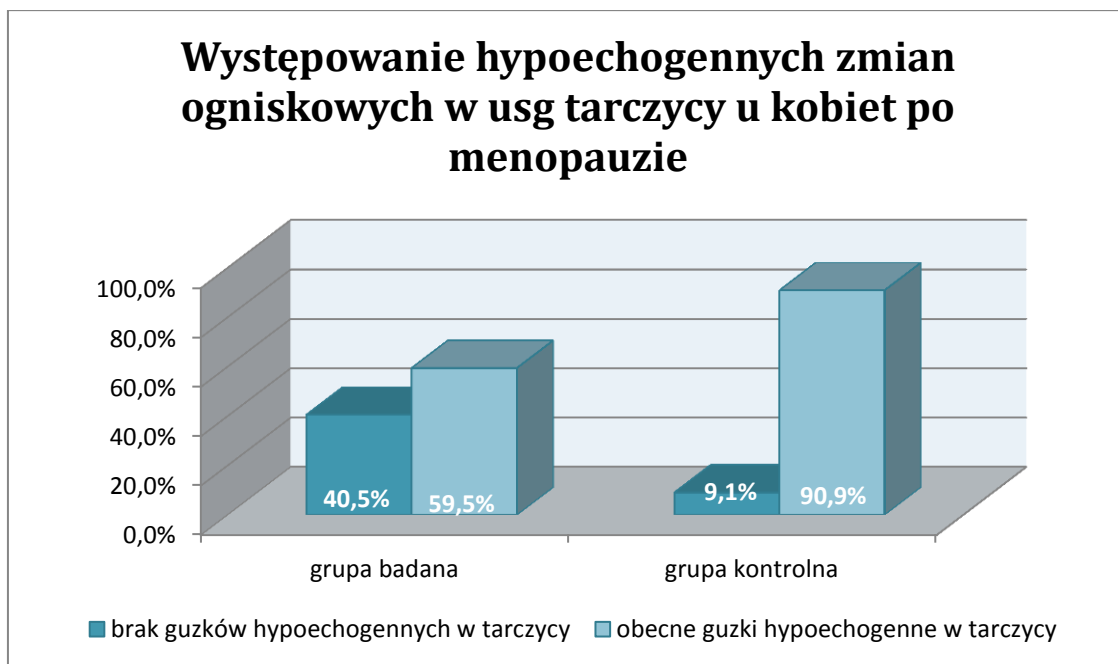
* porównano testem nieparametrycznym Kruskala-Wallisa

W grupie kobiet po menopauzie, porównując grupę badaną i kontrolną, wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy występowaniem wola (p=0,005).



Rycina 32. Występowanie wola u kobiet po menopauzie w grupie badanej (n=74) i grupie kontrolnej (n=11)

Po menopauzie u chorych z rakiem piersi wole stwierdzono u 44,4% kobiet, natomiast w grupie kontrolnej u kobiet po menopauzie nie stwierdzono powiększenia objętości tarczycy. Porównując kobiety po menopauzie: grupę badaną i kontrolną stwierdzono statystyczną ($p=0,043$) zależność między występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy.



Rycina 33. Występowanie hypoechoogenych zmian ogniskowych w usg tarczycy u chorych z rakiem piersi po menopauzie (n=74) i grupie kontrolnej (n=11)

U kobiet po menopauzie bez rozpoznania raka znacznie częściej stwierdzano guzki hypoechoogenne przy prawidłowej objętości tarczycy (90,9%) w stosunku do kobiet z grupy badanej (59,5%). Nie wykazano istotnej statystycznie zależności między poziomem prolaktyny ($p=0,984$) i poziomem przeciwciał anti-TPO ($p=0,698$) w surowicy w obu grupach.

5.5 Analiza cech klinicznych tarczycy w zależności od ekspresji ER i PgR

Dokonano podziału grupy badanej w zależności od ekspresji receptorów steroidowych w guzie: dodatnie receptorowo (rak luminalny A i B) i ujemne receptorowo (ER, PgR i HER2 negatywne). Poszukiwano zależności między czynnikami ryzyka wystąpienia nowotworu piersi a wystąpieniem raka potrójnie ujemnego oraz guza z ekspresją receptorów estrogenowych i progesteronowych. Do analizy nie włączono pacjentek bez ekspresji receptorów steroidowych z ekspresją HER2 ze względu na małą liczebność grupy i w związku z tym brak wpływu na analizę statystyczną.

Analiza poszczególnych cech u pacjentek z rozpoznaniem raka potrójnie ujemnego (ER, PgR, HER2 negatywne). Analizowano zależność pomiędzy cechami klinicznymi (T i N) i patologicznymi (pT, pN) guza piersi a występowaniem nowotworu potrójnie ujemnego.

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem raka potrójnie ujemnego a wielkością guza nowotworowego ($p=0,167$). Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem raka potrójnie ujemnego a stopniem zajęcia węzłów chłonnych ($p=1$). Analizowano czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi u chorych z potrójnie ujemnym guzem. Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy stosowaniem hormonoterapii zastępczej a występowaniem raka potrójnie ujemnego ($p=0,410$). Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy otyłością a występowaniem raka potrójnie ujemnego ($p=0,775$). Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem nowotworów w rodzinie a zachorowaniem na raka potrójnie ujemnego ($p=0,336$).

Badano wpływ czynników zależnych od tarczycy na występowanie nowotworu potrójnie ujemnego.

Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a wystąpieniem raka potrójnie ujemnego ($p=0,891$).

Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy a wystąpieniem raka potrójnie ujemnego ($p=0,943$).

Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy podwyższonym poziomem anty-TPO w surowicy a rakiem potrójnie negatywnym ($p=0,676$).

Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem raka potrójnie ujemnego ($p=0,682$).

Analiza poszczególnych cech u chorych z rozpoznaniem raka z ekspresją receptorów steroidowych (ER, PgR pozytywne)

Badano cechy kliniczne i patologiczne nowotworu piersi (pT i pN) i ich wpływ na ekspresję receptorów steroidowych w guzie nowotworowym.

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych a wielkością guza ($p=0,58007$).

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych a zajęciem węzłów chłonnych ($p=1$).

Analizowano zależność pomiędzy czynnikami ryzyka wystąpienia nowotworu a ekspresją receptorów steroidowych w guzie.

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy stosowaniem hormonoterapii zastępczej a wystąpieniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych ($p=0,267$).

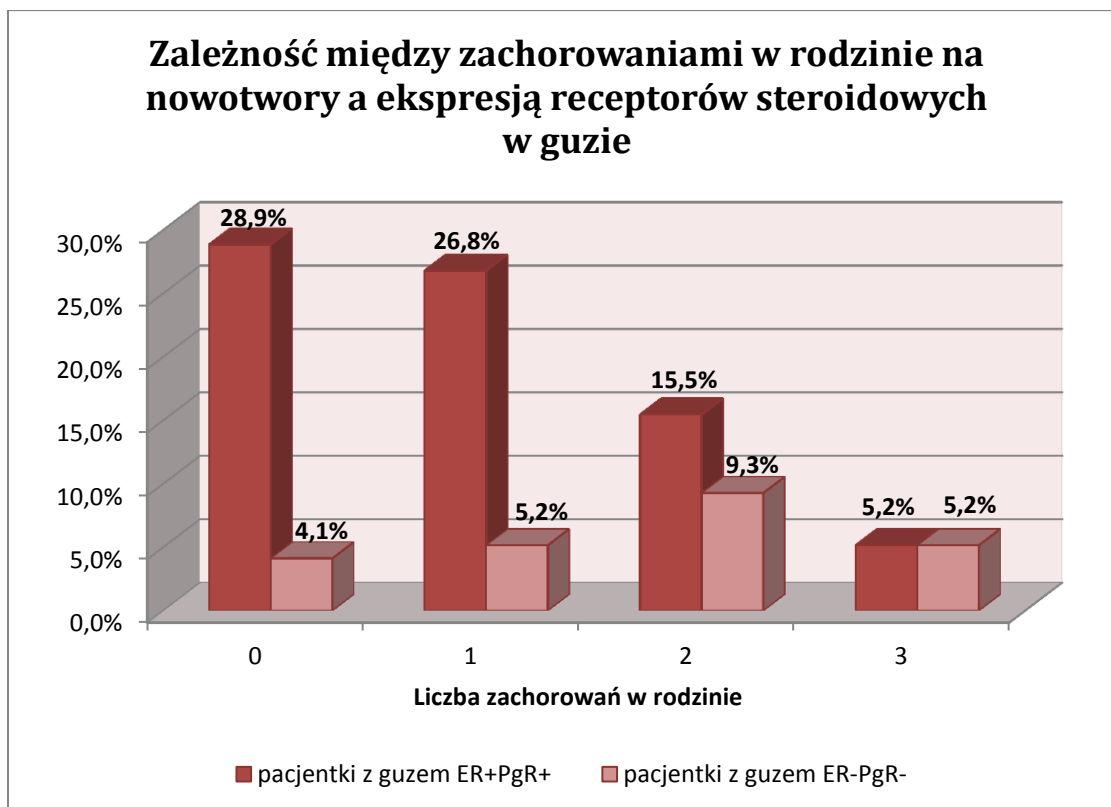
Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy występowaniem otyłości a ekspresją receptorów steroidowych w guzie ($p=0,736$).

Analizę liczby zachorowań w rodzinie u chorych z ekspresją receptorów steroidowych przedstawiono w tabeli poniżej.

Tabela XLIV. Analiza liczby zachorowań w rodzinie u chorych na raka piersi z guzem wykazującym ekspresję receptorów steroidowych

Ilość zachorowań w rodzinie	ER, PgR pozytywne	pozostałe	p
0	28	4	0,02388
1	26	5	
2	15	9	
> 2	5	5	

Wykazano zależność istotną statystycznie ($p= 0,0238$) pomiędzy zachorowaniami w rodzinie na nowotwory a ekspresją receptorów steroidowych w guzie u chorych na raka piersi. Im więcej zachorowań na nowotwory w rodzinie tym rzadziej występował nowotwór z ekspresją receptorów steroidowych, co koreluje z danymi literaturowymi. Przedstawiono tą zależność na rycinie 34.



Rycina 34. Zależność pomiędzy ilością zachorowań na nowotwory w rodzinie a występowaniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych (ER, PgR)

Badano wpływ czynników zależnych od tarczycy na występowanie nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych.

Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a występowaniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych ($p=0,530$).

Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy występowaniem hypoechoicznych zmian ogniskowych w usg tarczycy a występowaniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych ($p=0,874$).

Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy podwyższonym poziomem anty-TPO w surowicy a występowaniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych ($p=0,503$).

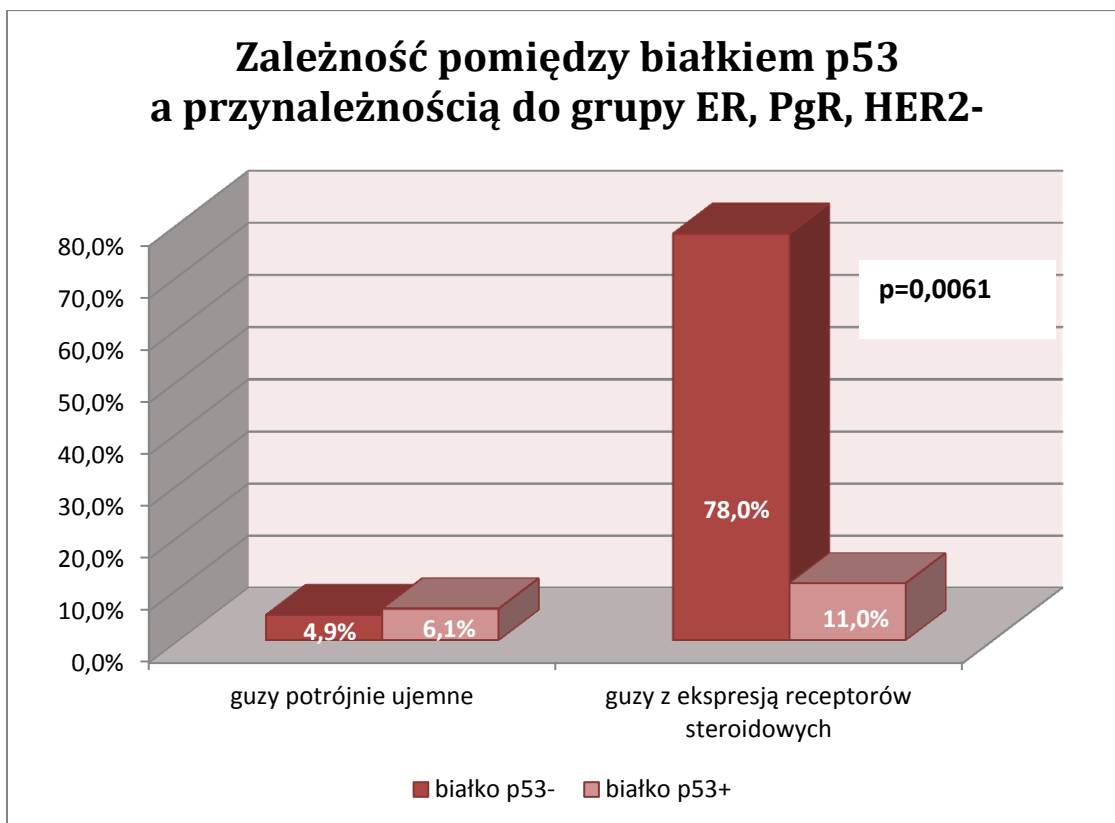
Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem nowotworu z ekspresją receptorów steroidowych ($p=0,275$).

Analizowano, czy istnieje związek pomiędzy obecnością białka p53 i cykliny D1 w zależności od ekspresji receptorów steroidowych. Wyniki przedstawiono w tabeli XLV.

Tabela XLV. Analiza obecności białka p53 i cykliny D1 w grupie chorych na raka potrójnie ujemnego w porównaniu z grupą chorych z rakiem luminalnym

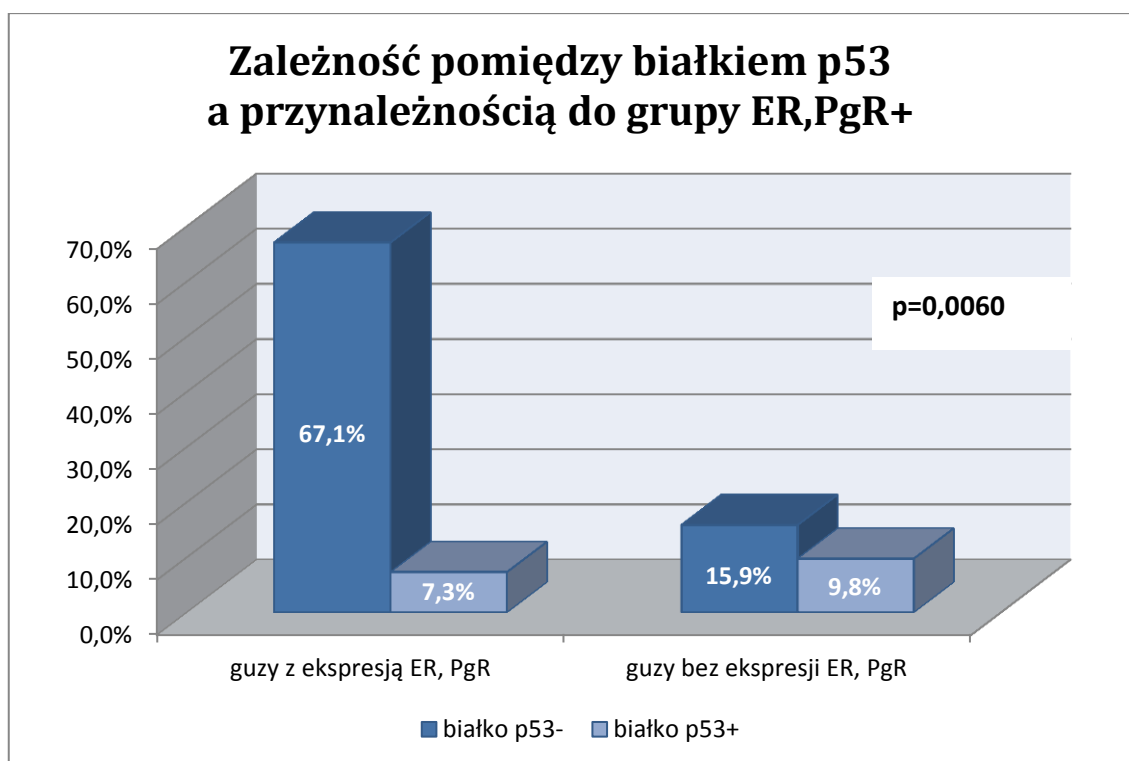
	ER-, PgR-, HER2- n=23	ER+,PgR+ n=73
Białko p53	p=0,0061 OR=8,89 Zakres kwartylowy: 2,01- 39,39	p=0,0060 OR= 0,1773 Zakres kwartylowy: 0,052 to 0,60
Cyklina D1	p=0,3011	p=0,1141

Wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy ekspresją białka p53 w komórkach raka a występowaniem nowotworu potrójnie ujemnego ($p=0,0061$). Szansa obecności białka p53 w komórkach raka była prawie 9-krotnie większa w grupie chorych z potrójnie ujemnym nowotworem aniżeli u kobiet z rakiem luminalnym.



Rycina 35. Zależność pomiędzy ekspresją białka p53 w guzie nowotworowym a rakiem potrójnie ujemnym.

Prawdopodobieństwo wystąpienia białka p53 w komórkach nowotworu w grupie chorych na raka z ekspresją receptorów steroidowych jest o około 82% niższe niż u pozostałych chorych.



Rycina 36. Zależność pomiędzy białkiem p53 a ekspresją receptorów steroidowych (ER, PgR) w guzie nowotworowym

Nie wykazano związku istotnego statystycznie pomiędzy ekspresją cykliny D1 w grupie z obecnością receptorów steroidowych w nowotworze i z nowotworem potrójnie ujemnym.

W obu grupach analizowano zależność pomiędzy cykliną D1 i białkiem p53, a cechami zależnymi od tarczycy oraz poziomem prolaktyny w surowicy. W grupie z ekspresją receptorów steroidowych nie wykazano zależności pomiędzy poziomem przeciwciał anti-TPO i prolaktyną w surowicy, obecnością wola i hypoechoicznych zmian ogniskowych w usg tarczycy a obecnością cykliny D1 i białka p53 w komórkach raka ($p > 0,05$). Podobne cechy sprawdzano w grupie chorych z nowotworem potrójnie ujemnym i nie wykazano zależności istotnych statystycznie pomiędzy badanymi cechami. Jednak w grupie chorych z nowotworem potrójnie ujemnym udało się oznaczyć ekspresję białka p53 i cykliny D1 w komórkach raka u 9 chorych, u pozostałych ze względu na brak materiału umożliwiającego retrospektywną ocenę ekspresji tych białek w guzie nie udało się wykonać badania. W związku z małą liczebnością grupy, aby potwierdzić brak zależności pomiędzy cechami należałoby przeprowadzić badanie na większej liczbie chorych.

Analizowano korelację pomiędzy poszczególnymi badanymi cechami klinicznymi zależnymi od tarczycy, poziomem prolaktyny w surowicy a rodzajem nowotworu – potrójnie ujemny nowotwór i nowotwór z ekspresją steroidową oraz grupą kontrolną .

Tabela XLVI. Porównanie grupy chorych na raka piersi z guzem z ekspresją receptorów steroidowych, z guzem potrójnie ujemnym oraz grupy kontrolnej pod względem poziomu anty-TPO i prolaktyny w surowicy oraz objętości tarczycy i obecności hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy

	Grupa trójujemna N=23	Grupa pozytywna receptorowo N=73	Grupa kontrolna N=30	p
Poziom anty-TPO	Me=10,25 Zakres kwartylowy: 8,20 - 47,00	Me=7,40 Zakres kwartylowy: 5,10 – 14,50	Me=7,50 Zakres kwartylowy: 5,00 -15,70	0,1096*
Poziom prolaktyny	Me=207,3 Zakres kwartylowy: 137,3 - 264,0	Me=189,4 Zakres kwartylowy: 151,7 - 233,3	Me=245,3 Zakres kwartylowy: 170,8 - 339,6	0,1039*
usg tarczycy v>n	Norma=13 (56,52%) Powyżej normy=10 (43,48%)	Norma=44 (61,11%) Powyżej normy=28 (38,89%)	Norma=27 (90%) Powyżej normy=3 (10%)	0,005415*
hypoechogenne zmiany ogniskowe w usg tarczycy	Tak=12 (52,17%) Nie=11 (47,83%)	Tak=40 (54,05%) Nie=34 (45,95%)	Tak=17 (56,67%) Nie=13 (43,33%)	0,94583

*porównanie testem nieparametrycznym Kruskala-Wallisa

Wykazano obecność istotnej ($p=0,0054$) statystycznie zależności pomiędzy objętością tarczycy w poszczególnych grupach: rak piersi z ekspresją receptorów steroidowych i rak potrójnie negatywny w porównaniu do grupy kontrolnej.



Rycina 37. Porównanie objętości tarczycy u kobiet w grupie kontrolnej z grupa chorych na raka piersi z potrójnie ujemnym guzem oraz z ekspresją receptorów steroidowych w guzie nowotworowym

Wykazano zdecydowanie większą częstość występowania wola u chorych z rozpoznaniem raka piersi w stosunku do grupy kontrolnej (10%). Wśród chorych z rozpoznaniem rakiem potrójnie negatywnym u 43,5% , u chorych z rozpoznaniem rakiem luminalnym A lub B u 38,9%.

Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem anty-TPO i poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy i występowaniem raka w porównaniu do grupy kontrolnej.

5.6 Analiza cech nowotworu piersi w zależności od funkcji i struktury tarczycy w grupie chorych na raka piersi z potwierdzoną mutacją *BRCA1/2*

Do końca lutego 2016 r. do Poradni Genetycznej *GENESIS* zgłosiły się 32 chore na raka piersi. Trzy chore przeprowadziły konsultację genetyczną przed rozpoznaniem raka piersi i posiadały wynik badania genetycznego w czasie zbierania z nimi wywiadu. Tabela XLVII

Tabela XLVII. Wyniki badań genetycznych u chorych na raka piersi – dane z wywiadu i dokumentacji własnej pacjentek (n=3)

Badane mutacje	A*	B*	C*
BRCA 1 (5382insC, C61G, 4153delA)	+	-	-
BRCA2 (C5972T)	-	+	-

*A – chora, która w wywiadzie podawała raka jajnika, w rodzinie u krewnych I i II stopnia wystąpiły >3 zachorowań na nowotwory

*B – chora, u której w rodzinie u krewnych I i II stopnia wystąpiły >3 zachorowania na nowotwory, w wywiadzie torbiel jajnika wymagająca leczenia chirurgicznego

*C - chora, która w wywiadzie podawała raka jajnika i guz ślinianki, po leczeniu radykalnym, u której w rodzinie u krewnych I i II stopnia wystąpiły >3

Trzy chore, które zgłosiły się do Poradni nie spełniały kryteriów rodowodowo-klinicznych do wykonania badań genetycznych. U 29 chorych na raka piersi wykonano badania nosicielstwa mutacji wpływających na zwiększone ryzyko wystąpienia raka piersi. Podstawowym testem było badanie wykrywające powtarzalne mutacje założycielskie genu *BRCA1* 5382insC, C61G, 4153delA. Rozszerzony test wykrywał 7 mutacji w genie *BRCA1* i 6 w genie *BRCA2* (*BRCA1/2* x 13). Badanie 11 mutacji objęło 7 zmian w genie *BRCA1* i 4 w *BRCA2*.

Tabela XLVIII. Badania przeprowadzone w Poradni Genetyczne *GENESIS* u chorych na raka piersi (n=32)

Zakres badania	BRCA1 x 3	BRCA1 x 4	BRCA1/2 x 11	BRCA1/2 x 13	NOD2	Brak wskazań
Liczba chorych	11	1	1	16	1	3

Wszystkie chore na raka piersi, u których wykonano badanie nosicielstwa mutacji genów *BRCA1/2* miały wynik prawidłowy – nie stwierdzono wystąpienia poszukiwanych mutacji. U jednej chorej na podstawie cech rodowodowo-klinicznych poszerzono badanie o gen *NOD2*, w którym stwierdzono obecność mutacji.

Z danych literaturowych nosicielstwo mutacji *BRCA1/2* w grupie chorych na raka piersi wynosi od 3-6%, w grupie badanej mutacja *BRCA1* – 1%, *BRCA2* – 1%. Należy jednak zauważyć, że badania wykonało tylko część chorych, nie wiadomo jaki jest statut genów u pozostałych chorych. Aby stwierdzić częstość występowania mutacji w grupie chorych na raka piersi należałoby wykonywać testy genetyczne obligatoryjnie u

wszystkich kolejno przymowanych chorych z rozpoznany rakiem piersi. Wówczas istnieje duże prawdopodobieństwo, że częstość występowania w/w mutacji w grupie badanej byłaby zbliżona do danych literaturowych.

Uzyskane wyniki badań genetycznych uniemożliwiły utworzenie podgrupy chorych ze stwierdzoną mutacją i analizę cech guza nowotworowego w zależności od czynności i struktury tarczycy i porównanie tych cech z grupą chorych na raka piersi bez potwierdzonej mutacji. W pracy przeanalizowano czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi oraz poszczególne cechy tarczycy i guza nowotworowego u każdej z chorych ze stwierdzoną mutacją.

Tabela XLIX. Wybrane czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi u nosicielek mutacji w genach *BRCA1*, *BRCA2*, *NOD2*

	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>NOD2</i>
PM/OM	15 r.ż./44 r.ż.	12 r.ż./48 r.ż.	14 r.ż./48 r.ż.
Antykoncepcja/HTZ	-/-	5 lat/-.	-/-
Porody/Poronienia	2/1	2/0	-/-
Wiek 1. porodu	23 r.ż.	23 r.ż.	-
Karmienie piersią	6 miesięcy	2 lata 3 miesiące	-
BMI (n = 18,5 - 24,9kg/m2)	26,6 kg/m2	24,44 kg/m2	28,2 kg.m2
Aktywność fizyczna	1	0	1
Sposób odżywiania	0	1	1
Alkohol	-	-	-
Papierosy	-	tak	tak
Inne czynniki toksyczne	-	-	-
I131	-	-	-

Tabela L. Cechy guza nowotworowego i tarczycy u nosicielek mutacji w genach *BRCA1*, *BRCA2*, *NOD2*

	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>NOD2</i>
Stopień zaawansowania patologicznego	pT1c pN0	pT1a pN0	pT1c pN0
Rozpoznanie histopatologiczne	NST, NHG3	Zmiana o niepewnym potencjale złośliwości	NST, NHG2
Ekspresja receptorów estrogenowych	>5%	-	>75%
Ekspresja receptorów progesteronowych	0%	-	>75%
Ekspresja receptora HER2	negatywny	-	negatywny
Indeks proliferacji nowotworu Ki67	80%	-	15%
Choroba tarczycy w wywiadzie	Niedoczynność	Wole Hashimoto	Niedoczynność
Objętość tarczycy	v>n	v>n	v=n
Obecność zmian ogniskowych w usg tarczycy	brak	Hypoechogenne zmiany ogniskowe	brak
Poziom anty-TPO	>34 IU/ml	>34 IU/ml	>34 IU/ml

Szczególne uwagę zwrócić należy na występowanie u wszystkich chorych niedoczynności tarczycy w wywiadzie, wszystkie miały też podwyższone miano przeciwciał anty-TPO w surowicy (wartości trzy cyfrowe). W przypadkach mutacji *BRCA1/2* zaobserwowano również większą objętość tarczycy obliczoną na podstawie wyniku badania usg. Grupa jest zbyt mała by wyciągać wnioski z tej analizy, jednak obserwacja ta mogłaby stanowić podłoże do poszerzonego badania z większą grupą chorych na raka piersi z potwierdzoną mutacją *BRCA1/2*.

6. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Od czasu gdy Beatson po raz pierwszy opisał regresję nowotworu piersi po obustronnej owariektomii rozpoczęto badania nad wpływem hormonów na rozwój nowotworu. Badania prowadzono nie tylko w zakresie hormonów płciowych, ale poszerzano je o oś hormonów podwzgórze-przysadka i ich działanie na narządy docelowe. Rozwijająca się coraz skuteczniejsza diagnostyka umożliwiała rozpoznanie choroby na wczesnym etapie, a coraz lepsze metody leczenia raka umożliwiły obserwację chorych na raka piersi po leczeniu radykalnym przez długie lata. Rozpoczęły się dyskusje na temat możliwego wpływu tarczycy na ryzyko wystąpienia raka piersi. Do dnia dzisiejszego nie ma jednak jednoznacznego stanowiska co do wpływu czynności lub/i struktury tarczycy na raka piersi.

W rozprawie badano związki czynników zależnych od gruczołu tarczowego z rakiem piersi. Do badania włączono grupę chorych z pierwotnie operacyjnym rakiem piersi, hospitalizowanych w Oddziale Chirurgii Onkologicznej Kliniki Onkologii w Poznaniu. Z każdą chorą na raka piersi zebrano dokładny wywiad dotyczący czynników ryzyka wystąpienia nowotworu piersi i przeanalizowano związek tych czynników z cechami guza nowotworowego (klinicznymi, histopatologicznymi i immunohistochemicznymi). Wśród badanych chorych na raka piersi 7 podało w wywiadzie niedoczynność tarczycy, 9 – nadczynność tarczycy. Ponieważ badane chore były w stanie eutyreozy, a grupy chorych z zaburzeniem czynności tarczycy w wywiadzie były zbyt małe i nie pozwoliłoby to na uzyskanie statystycznie wiarygodnych wyników, nie analizowano wpływu zaburzeń czynności tarczycy – nadczynności i niedoczynności na wystąpienie raka piersi i poszczególne cechy nowotworu. Należy jednak zwrócić uwagę, że populacyjna częstość występowania zaburzeń czynności tarczycy w Polsce wynosi 1,6%-2% nadczynności i 1%-6% niedoczynności, w grupie badanej odpowiednio 9% i 7%.

W badanej grupie u wszystkich chorych na raka piersi poziom przeciwciał przeciwko receptorowi dla TSH (TRAK) w surowicy był w granicach normy, w związku z tym nie analizowano poszczególnych czynników ryzyka i cech guza nowotworowego w zależności od poziomu przeciwciał TRAK. W literaturze jest niewiele doniesień na temat zależności pomiędzy chorobą Graves-Basedowa a rakiem piersi. W 2010 roku Ditsch i wsp. badali poziom przeciwciał w surowicy u chorych ze złośliwymi zmianami w piersi, ze zmianami łagodnymi i w grupie kontrolnej. Miano

przeciwciał TRAK w surowicy nie przekroczyło normy w żadnej podgrupie.⁶⁷ Inny badacz zaraportował podwyższone miano przeciwciał przeciwko receptorowi dla TSH w surowicy w grupie 139 chorych na raka piersi w stosunku do ogólnej populacji, przy czym wartości cały czas pozostawały w granicach normy.⁶⁸ W łódzkim Szpitalu Klinicznym przeprowadzono retrospektywne badanie opierające się na fakcie, iż w tkance guza piersi występują receptory dla tyreotropiny. Badacze postanowili sprawdzić, czy wzrost przeciwciał przeciwko receptorowi dla TSH w surowicy, występujący w chorobie Graves-Basedowa może wpływać na ryzyko wystąpienia raka piersi. Oceniano częstość występowania raka piersi i guzów łagodnych w piersi u pacjentek z chorobą tarczycy. Do badania włączono 1686 kobiet z rozpoznaniem autoimmunologicznej choroby tarczycy oraz 1600 – bez chorób tarczycy, hospitalizowanych z innych powodów w oddziale, obserwacja trwała 3 lata. Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w poziomie TRAK w surowicy w grupie z chorobą Graves-Basedowa pomiędzy chorymi z rozpoznaniem raka piersi i grupą kontrolną ($p=0,0021$); nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupą z łagodnymi zmianami w piersi a rakiem piersi ($p>0,05$). We wszystkich grupach była istotność statystyczna w poziomie anty-Tg w surowicy, nie stwierdzono zależności pomiędzy grupami w poziomie anty-TPO w surowicy.⁶⁹

Wśród chorych włączonych do badania własnego analizowano związki pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a także poziomem przeciwciał anty-TPO i prolaktyny w surowicy z poszczególnymi cechami nowotworu, ze szczególnym zwróceniem uwagi na ekspresję cykliny D1 i białka p53 w guzie nowotworowym.

6.1 Analiza czynników ryzyka wystąpienia raka piersi w badanej grupie

Analizowano czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi w badanej grupie na cechy kliniczne/patologiczne guza nowotworowego.

Od lat wiadomo, iż czynniki reprodukcyjne oraz wczesny wiek pokwitania i późny przekwitania są czynnikami ryzyka zachorowania na raka piersi. W badanej grupie wykazano słabą zależność ($C=0,21$) pomiędzy wiekiem pierwszej miesiączki a wielkością guza nowotworowego ($p=0,033$). Klinicznie przełożyło się to na większy rozmiar guza (T2) im później wystąpiła pierwsza miesiączka, co nie koreluje z danymi epidemiologicznymi. Wiadomo, że wczesna pierwsza miesiączka jest jednym z

czynników ryzyka wystąpienia raka piersi. U kobiet, które podały wiek PM powyżej 14 r. ż. guz T2 wykryty był w 21,88% w stosunku do 7,29% chorych, które zaczęły miesiączkować przed 14 r.ż. W stopniu T1 guz został wykryty u 36,46% kobiet, które zaczęły miesiączkować później, w porównaniu do 34,38%, które wiek PM podały poniżej 14 r. ż. Różnica ta nie była istotna statystycznie. Za punkt graniczny uznano 14 r. ż. Wśród kobiet, które podały wiek pierwszej miesiączki powyżej tego wieku, BMI nie mieściło się w granicach masy prawidłowej, w związku z tym można przypuszczać, że chore z większą masą ciała rzadko same wykrywały sobie guz, a wykrycie guza przez samobadanie wiązało się jego większym rozmiarem. Statystycznie nie została potwierdzona zależność pomiędzy masą ciała (BMI) a wielkością guza w badanej grupie.

Badając stopień zaawansowania regionalnego stwierdzono zależność statystyczną pomiędzy liczbą poronień a stopniem zajęcia węzłów chłonnych ($p=0,03$). Z literatury wiadomo, że ryzyko zachorowania na raka piersi jest wyższe u kobiet, które poddały się zabiegowi usunięcia ciąży. Fakt ten wynika z wysokiego poziomu hormonów na jaki narażony jest organizm kobiety przez pierwsze trzy miesiące ciąży, w którym najczęściej dokonuje się zabiegu aborcji. W dalszym etapie ciąży poziom ten wyrównuje się naturalnie i ryzyko zachorowania na raka piersi redukuje się w sposób samoistny. Do niedawna uważano, że samoistne poronienia również zwiększają ryzyko wystąpienia raka, jednak do poronienia dochodzi wówczas, gdy poziom hormonów w organizmie kobiety jest niewystarczający, w związku z tym nie ma też zwiększonego ryzyka raka piersi – wpływu nadmiaru hormonów na tkankę gruczołu piersiowego, jeśli do poronienia dochodzi w pierwszym trymestrze ciąży. Późniejsze poronienia mogą wpływać na zwiększone ryzyko raka piersi, ze względu na utrzymujący się wyższy poziom hormonów, który utrzymuje jeszcze płód, ale na tyle niewystarczający, aby zakończyć ciążę pomyślnie. W badanej grupie pytano o samoistne poronienia. Temat aborcji pozostaje wśród chorych tematem trudnym do rozmowy, w związku z tym nie rozwijanym w trakcie wywiadu. Stopień zaawansowania N0 w momencie wykrycia nowotworu stwierdzono u 51,5% kobiet, które nigdy nie roniły i u 33,3% kobiet, które podały w wywiadzie przynajmniej jedno poronienie. W stopniu zaawansowania N2 wykryto nowotwór u 2% chorych, które nie podawały w przeszłości poronienia, natomiast w grupie kobiet z dodatnim wywiadem w kierunku poronień nie stwierdzono zaawansowania nowotworu w stopniu N2.

W grupie chorych, które zgłosiły w przeszłości przynajmniej jedno poronienie samoistne stwierdzono mniejsze zaawansowanie choroby nowotworowej w węzłach chłonnych ($p < 0,05$). Ten fakt można wytłumaczyć wyuczonymi zachowaniami kobiet – chore, które w przeszłości straciły przynajmniej jedną ciążę, częściej kontrolowały się ginekologicznie, a każda wizyta u lekarza ginekologa mogła wiązać się z badaniem lekarskim piersi i węzłów dołu pachowego, stąd mniejsze zaawansowanie nowotworu w momencie wykrycia choroby.

Analizując pozostałe czynniki ryzyka podawane przez chore nie wykazano istotnej statystycznie zależności ($p > 0,05$) z poszczególnymi cechami guza nowotworowego.

6.2 Analiza cech zależnych od tarczycy na występowanie chorób współistniejących

Wykazano zależność istotną statystycznie ($p = 0,015$) pomiędzy nieprawidłową strukturą tarczycy ocenioną w badaniu ultrasonograficznym, a występowaniem cukrzycy typu 2. Wiele prac podaje, że cukrzyca typu 2. może być związana z zaburzeniem zarówno struktury jak i czynności tarczycy. Jest to spowodowane niewłaściwym wykorzystywaniem glukozy przez mięśnie i nadprodukcją glukozy przez wątrobę oraz nadmiernym wchłanianiem trzewnym, a u podłoża tej sytuacji leży insulinooporność i nieprawidłowa czynność tarczycy.⁷⁰ W argentyńskim badaniu, w którym analizowano parametry tarczycy u chorych z zespołem metabolicznym, wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy stężeniem hemoglobiny glikowanej (HbA1c) i objętością tarczycy ($p = 0,027$) oraz liczbą zmian ogniskowych w tarczycy ($p = 0,023$) u chorujących na cukrzycę typu 2. oraz w grupie bez cukrzycy typu 2. Wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy stężeniem hemoglobiny glikowanej (HbA1c) i objętością tarczycy ($p = 0,027$) oraz liczbą zmian ogniskowych w tarczycy ($p = 0,023$). W grupie chorych z cukrzycą typu 2 objętość tarczycy była istotnie statystycznie ($p < 0,008$) większa aniżeli w grupie bez cukrzycy.⁷¹ Polscy badacze w pracy, w której analizowano występowanie chorób u kobiet w okresie menopauzy, zwracają uwagę na fakt, że z wiekiem zachodzi szereg zmian w strukturze i funkcji tarczycy: zmniejsza się wychwyty jodu, obniża się poziom fT4 i fT3 w surowicy, zmniejsza się katabolizm rT4. Poziom TSH w surowicy pozostaje w granicach normy z tendencją do górnej granicy.⁷²

TSH jest czynnikiem mitogennym dla tarczycy i może powodować rozrost narządu. W innych pracach dowodzi się, że w przypadku cukrzycy typu 1. u osób dorosłych często dochodzi do dysfunkcji tarczycy i wzrostu przeciwciał anti-TPO w surowicy. Poziom przeciwciał w surowicy jest tym wyższy im dłużej chorują oni na cukrzycę i często wyprzedza zaburzenie czynności tarczycy.⁷³ Inni badacze analizowali częstość współwystępowania chorób autoimmunologicznych tarczycy z idiopatyczną niedoczynnością przytarczyc, cukrzycą typu 1 i przedwczesną niewydolnością jajników. Częstość zaburzeń tarczycy i wysoki poziom przeciwciał w surowicy był statystycznie wyższy u chorych z cukrzycą typu 1. i przedwczesnym wygaśnięciem czynności jajników.⁷⁴

W kolejnym badaniu obserwowano chore z rozpoznaniem zespołu policystycznych jajników (PCO). Zbierano z nimi wywiad pod kątem chorób tarczycy w rodzinie oraz innych chorób autoimmunologicznych. Sprawdzano szeroki zakres przeciwciał w surowicy, badano strukturę tarczycy i porównywano wyniki do grupy kontrolnej pacjentek bez rozpoznania PCO. Częstość występowania chorób autoimmunologicznych tarczycy (przeciwciała anti-TPO) była znacząco wyższa w grupie z rozpoznaniem zespołu policystycznych jajników aniżeli w grupie kontrolnej ($p < 0,001$). Inne choroby autoimmunologiczne nie występowały w grupie badanej.⁷⁵

Analizując w pracy własnej występowanie chorób współistniejących w wywiadzie i poszczególne cechy tarczycy stwierdzono zależność statystyczną ($p = 0,043$) pomiędzy poziomem anti-TPO w surowicy a guzem jajnika. Ze względu na niewielką licznosc grupy wzięto pod uwagę zmiany łagodne i złośliwe jajnika, żadna z pacjentek w wywiadzie nie potwierdziła zespołu policystycznych jajników.

Biorąc pod uwagę wyniki innych badań jak i obecnej pracy należałoby zwrócić uwagę na zasadność przesiewowych badań tarczycy u kobiet z wywiadem choroby jajnika w przeszłości.

Nie wykazano zależności istotnej statystycznie z pozostałymi chorobami współistniejącymi oraz zaburzeniem struktury tarczycy i poziomem przeciwciał anti-TPO w surowicy ($p > 0,05$).

6.3 Analiza wpływu ekspresji białka p53 i cykliny D1 na cechy guza nowotworowego

Białko p53 jest kodowane przez gen *TP53* położony w *locus* 17p13.1, jest czynnikiem transkrypcyjnym hamującym bądź aktywującym wiele genów, m.in. *Gadd45*, którego produkt hamuje cykl komórkowy. Posiada zdolność wiązania się z DNA z sekwencją p53RE.

Zaburzenia w genie *TP53* są najczęstsze u chorych na sporadyczne nowotwory, występują u około 50% chorych na raka piersi, rzadko są związane z dziedzicznym rakiem piersi. Szacuje się od 15% w DCIS do 50% rakach inwazyjnych. W badaniach nad chorymi z rakiem piersi stwierdzono zależność pomiędzy nadekspresją cykliny E a brakiem białka p53. Nieaktywne białko p53 w komórce sprzyja niekontrolowanemu wzrostowi (brak apoptozy). Mutacje *p53* są czynnikiem prognostycznym nawrotów po pierwotnym leczeniu miejscowym.⁷⁶

W pracy własnej analizowano występowanie ekspresji białka p53 a innymi cechami nowotworu. Wykazano statystycznie istotną zależność pomiędzy obecnością białka a wysokim stopniem złośliwości histologicznej nowotworu ($p=0,001$). Statystycznie istotną różnicę zauważono pomiędzy G1 a G3 ($p=0,002$) oraz między G2 a G3 ($p=0,001$). Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy częstością występowania niskiego stopnia złośliwości a pośrednim stopniem złośliwości histologicznej (G1 i G2). Zauważono również istotną statystycznie ($p=0,00006$) zależność pomiędzy ekspresją białka p53, a wysokim stopniem proliferacji Ki67. Wyniki te korelują z danymi literaturowymi.

Podobne wyniki uzyskali chińscy badacze, analizujący prognostyczne znaczenie białka p53, cykliny D1 i Ki67 u pacjentów, u których po leczeniu onkologicznym wystąpił drugi niezależny nowotwór. Grupa badana była bardzo zróżnicowana pod względem rodzaju drugiego niezależnego nowotworu. Wzrost ekspresji białka p53 w guzie nowotworowym wiązał się z wyższym stopniem złośliwości histologicznej oraz bardziej zaawansowaną chorobą w węzłach chłonnych, podobnie jak nadekspresja cykliny D1. Wzrost inwazyjności i potencjału przerzutowego obserwowano także przy wysokim indeksie proliferacji. Wykazano zależność pomiędzy wysoką ekspresją białka p53 i cykliny D1 oraz p53 i indeksem Ki67. Przy nadekspresji białka p53 i cykliny D1 w pierwszym nowotworze obserwowano pojawianie się bardziej agresywnego drugiego nowotworu, co wiązało się z krótszym czasem całkowitego przeżycia. Różnice te były

istotne statystycznie. Wysoka ekspresja białka p53 w guzie nowotworowym wiązała się z wystąpieniem przerzutów w węzłach chłonnych w momencie rozpoznania drugiego nowotworu. Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie w przypadku wysokiego indeksu proliferacji Ki67 i przeżycia całkowitego - wskaźnik przeżycia był niższy, ale nieistotny statystycznie. Autorzy zwracają uwagę na konieczność poszerzenia badań i dobranie chorych w grupy jednakowe pod względem typu nowotworu, co umożliwiłoby uzyskanie pełnego obrazu opisywanych czynników prognostycznych.⁷⁷

W niniejszej pracy nie wykazano zależności pomiędzy ekspresją białka p53 w guzie nowotworowym, a stopniem zaawansowania w węzłach chłonnych oraz wielkością guza w momencie rozpoznania nowotworu w grupie badanej.

Inne wyniki uzyskali koreańscy badacze, którzy analizowali ekspresję białka p53 w guzach nowotworowych piersi diagnozowanych w latach od 1993 do 2001. Nadexpresję białka p53 stwierdzono w 51,6% przypadków raka i była ona odwrotnie skorelowana z przerzutami do węzłów chłonnych ($p=0,005$). Pozostałe cechy histopatologiczne i immunohistochemiczne nie były związane z nadmierną ekspresją białka p53. Analiza statystyczna pokazała, że wielkość guza, obecność przerzutów w węzłach chłonnych oraz obecność białka p53 były istotnymi czynnikami prognostycznymi dla przeżycia całkowitego. Przerzuty w węzłach chłonnych, ekspresja receptora estrogenowego oraz białko p53 – czynnikami prognostycznymi dla przeżycia bez nawrotu choroby. W 7-letniej obserwacji wykazano, że chore bez ekspresji białka p53 w guzie nowotworowym miały dłuższe przeżycia całkowite i przeżycia bez nawrotu choroby, niż chore z wysoką ekspresją białka p53 i przerzutami do węzłów chłonnych. W grupie chorych z cechą N0 wskaźniki przeżycia nie różniły się statystycznie w zależności od ekspresji białka p53. Sama ekspresją białka p53 w komórkach nowotworowych była niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym co do przeżycia chorych na raka piersi.⁷⁸ Podobnie oceniono prognostyczną wartość białka p53 w komórkach nowotworu w badaniu japońskim. Naukowcy badali prognostyczne znaczenie obecności białka p53 w guzach piersi. Badano chore po leczeniu oszczędzającym raka piersi. Białko p53 oznaczano immunohistochemicznie w skrawkach z guza nowotworowego. 5-letnie przeżycia wolne od choroby zanotowano u 92% chorych na raka piersi z guzami bez ekspresji białka p53, a tylko u 51% chorych z nadexpresją białka p53 w guzie nowotworowym ($p<0,05$).⁷⁹

Zaskakujące były wyniki dużego badania, w którym jedną grupą były kobiety w wieku przed i okołomenopauzalnym z rozpoznaniem raka piersi, zakwalifikowane do leczenia cytostatykami wg schematu CMF (6 x), a następnie przez 18 lub 24 miesiące leczenia hormonalnego gosereliną w latach 1990 – 1999, a drugą grupę stanowiły chore po menopauzie, które w latach 1988 do 1999 otrzymały albo 5 lat leczenia tamoksifenem albo 6 cykli chemioterapii wg schematu CMF, a następnie 5 lat leczenia hormonalnego. W guzie oceniano ekspresję receptorów steroidowych, za dodatnie uznano guzy z ekspresją ER w przynajmniej 1% jąder komórkowych; oraz ekspresję białka p53 – za dodatnie uznano guzy, w których >10% jąder komórkowych było wybarwionych pozytywnie. Mediana obserwacji wynosiła 12 lat. Chore z ekspresją białka p53 w guzie z dodatnim receptorem dla estrogenów miały gorszy DFS i OS aniżeli chore na raka piersi bez ekspresji receptorów steroidowych i z ekspresją białka p53 w guzie. Do tej pory uważano, że obecność białka p53 wiąże się z gorszym rokowaniem, w związku z tym autorzy postulowali dalsze badania, aby uściślić rolę prognostyczną p53 w komórkach raka.⁸⁰

Krótki czas obserwacji pacjentek w grupie badanej uniemożliwił ocenę całkowitego czasu przeżycia i czasu wolnego od nawrotu w zależności od ekspresji białka p53 i skorelowania z ekspresją receptorów steroidowych.

W badanej grupie wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy ekspresją białka p53 w komórkach guza nowotworowego a ekspresją receptorów steroidowych (ER p=0,004, PgR p=0,0001). U chorych z ekspresją białka p53 zdecydowanie częściej występował nowotwór bez obecności ER, PgR. W guzach potrójnie negatywnych szansa na wystąpienie białka p53 była prawie 9-krotnie wyższa niż u pozostałych chorych. Podobne wyniki uzyskali ukraińscy badacze, których celem było zbadanie ekspresji receptorów, jak ER, PgR, HER2 oraz Ki67, białka p53 i czynnika transkrypcyjnego NF – kB w raku piersi i analiza korelacji pomiędzy tymi markerami. Zbadano 62 guzy pochodzące od chorych na raka piersi. Nagromadzenie białka p53 w komórkach nowotworowych korelowało z brakiem ekspresji ER i PgR, a także kumulacją czynnika NF – KB.⁸¹

Analizując w pracy własnej ekspresję obu białek (cykliny D1 i białka p53) w komórkach nowotworowych nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności w ich występowaniu (p=0,203).

Nadekspresję cykliny D1 obserwuje się w około 20% nowotworów piersi i uważa się, że może ona podwyższać agresywność raka (przejście raka przedinwazyjnego w inwazyjny nowotwór). Zidentyfikowano także polimorfizm 870G>A genu *CCND1* który predysponuje do wystąpienia raka piersi. Podobnie do cykliny D1 działają cykliny E (1,2), które jak się okazało, wykazują większą ekspresję w nowotworach bez ekspresji receptorów steroidowych. Białko blokujące działanie kinaz zależnych od cyklin – p27 również może wpływać na rokowanie w raku piersi, gdyż wykazano, że jego niski poziom wiąże się z gorszym rokowaniem.

W przeprowadzonym doświadczeniu na myszach, u zwierząt doświadczalnych, które były pozbawione genu kodującego cyklinę D1 nie obserwowano pojawiania się raka piersi.⁸²

Cyklina D1 hamuje przeciwnowotworowe działanie białka BRCA1, ponieważ oba białka wiążą się z receptorem ER alfa. W zdrowych komórkach białko BRCA1 wiąże się z ER i hamuje aktywność genów stymulujących podziały komórkowe, natomiast połączenie cykliny D1 - ER alfa uniemożliwia połączenie z BRCA1, więc nowotwór może dalej się rozwijać nawet przy prawidłowym białku BRCA1. Dodatkowo komórki nowotworowe mają wielokrotnie zwiększone stężenie cykliny D1, co powoduje, że wszystkie potencjalne miejsca wiązania ER alfa są zablokowane, zatem BRCA1 nie ma jak działać hamująco na nowotwór.

W 1999 r. badacze oceniali ekspresję cykliny D1 w guzach nowotworowych piersi u 253 kobiet. Stwierdzono prognostyczne znaczenie tylko w guzach z jednoczesną ekspresją ER.⁸³ W 2010 r. londyńscy naukowcy analizujący biomarkery prognostyczne i predykcyjne w raku piersi doszli do wniosków, że wzrost ekspresji cykliny D1 w komórkach raka piersi jest czynnikiem prognostycznym, szczególnie u pacjentek z guzem z ekspresją receptora estrogenowego i może mieć wartość predykcyjną w leczeniu antyestrogenowym.⁸⁴

Rola ekspresji cykliny D1 w komórkach nowotworu piersi przez długi czas była dyskusyjna i nadal nie jest do końca wyjaśniona. Pierwszą metaanalizę przeprowadzono w 2004 r., objęła ona badania opublikowane do czerwca 2004 r. W każdym z badań brało udział minimum 100 pacjentek, w sumie wzięto pod uwagę 132 badania oceniające markery proliferacji nowotworu jako wartość prognostyczną i predykcyjną w raku piersi, siedem z nich analizowało prognostyczne znaczenie cykliny D1. Autorzy podkreślali, że tylko w jednym badaniu retrospektywnym zaznaczono predykcyjną rolę

cykliny D1. Pacjentki z niskim i umiarkowanym poziomem cykliny D1 oraz ekspresją receptorów estrogenowych miały korzyść z leczenia antyestrogenowego. Natomiast w dwóch innych badaniach odnotowano, że podwyższona wartość cykliny D1 była związana z dłuższym czasem całkowitego przeżycia.⁸⁵

Kolejna metaanaliza, która objęła badania opublikowane w przedziale ostatnich dziesięciu lat u chorych z przedinwazyjnym rakiem piersi, nie potwierdziła wcześniejszych obserwacji. Jedno z analizowanych badań potwierdzało korelację pomiędzy ekspresją cykliny D1 i ER, dwa inne badania nie potwierdziły tej zależności. W pięciu badaniach pacjentki z niskim poziomem cykliny D1 miały wyższe ryzyko wznowy miejscowej niż z wysoką ekspresją cykliny D1.⁸⁶

Wnioski te potwierdzają wyniki badań Jstrom'a i wsp. Badacze oceniali ekspresję cykliny E, D1 oraz białek p27 i p16 wykorzystując metody mikromacierzy tkankowych w rakach przewodowych in situ. Niskie stężenie cykliny D1 korelowało z wysoką ekspresją cykliny E i było czynnikiem ryzyka wznowy miejscowej po radykalnym leczeniu chirurgicznym.⁸⁷

W badaniu własnym nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy wielkością guza, stopniem zaawansowania w węzłach chłonnych w momencie rozpoznania, a także stopniem złośliwości histologicznej, indeksem proliferacji Ki67 i obecnością receptora HER2 a ekspresją cykliny D1 w komórkach nowotworowych ($p > 0,05$). Nie stwierdzono różnicy także w rodzaju histopatologicznym i obecnością komponentu DCIS.

Wykazano natomiast istotną statystycznie zależność pomiędzy ekspresją receptorów estrogenowych ($p = 0,003$) i progesteronowych ($p = 0,0006$), a obecnością cykliny D1 w komórkach raka. Nowotwory luminalne znacznie częściej wykazywały ekspresję cykliny D1 w komórkach.

Podobne wyniki odnotowano w innej pracy, badającej ekspresję cykliny D1 w przewodowym raku piersi. Badaniem objęto 39 chorych, w tym ER, PgR było obecne u 65%, a 25% raków było potrójnie negatywnych. W grupie ER, PgR – dodatniej i HER2 –negatywnej wykazano ekspresję cykliny D1 w 92% przypadków. W grupie chorych z potrójnie negatywnym guzem nie odnotowano nowotworu z ekspresją cykliny D1. Pozostałe parametry, jak wielkość guza, stopień zajęcia węzłów chłonnych nie były skorelowane z obecnością cykliny D1 w komórkach raka.⁸⁸

Tureckie badanie nad ekspresją cykliny D1 u chorych z rakiem piersi w II i III stopniu zaawansowania, analizujące jej związek z innymi czynnikami prognostycznymi, tj. ER, PgR, C-erbB2, Ki67, p53 nie potwierdziło prognostycznego znaczenia cykliny D1, jednak jej poziom był skorelowany z indeksem proliferacji Ki67 oraz ekspresją ER (odpowiednio $p=0,001$ i $p<0,0001$).⁸⁹

W innym badaniu oznaczano metodą immunohistochemiczną ekspresję cyklin A, D1 i D3. Stwierdzono, że ekspresja cykliny D3 i A jest związana z wystąpieniem przerzutów odległych w trakcie obserwacji chorych oraz z zajęciem regionalnych węzłów chłonnych w chwili rozpoznania. Analizując zgony pacjentek, tylko cyklina A miała znaczenie rokownicze, nie wykazano wpływu poziomu cykliny D1 na wystąpienie przerzutów odległych.⁹⁰

6.4 Analiza wpływu parametrów zależnych od tarczycy na ryzyko występowania raka piersi

Zależność pomiędzy chorobami tarczycy a częstością występowania raka piersi wśród kobiet zauważono już w połowie XX w., jednak wyniki wielu badań były sprzeczne. Obserwacja ponad 2000 kobiet z chorobami tarczycy pokazała, iż nie mają one zwiększonego ryzyka raka piersi w stosunku do grupy kontrolnej.⁹¹ Blisko dwie dekady później opublikowano pracę, która obejmowała chore na raka piersi leczone od 1976 r. do 1999 r. Wynikiem tych obserwacji było stwierdzenie, że rak piersi częściej występuje u kobiet, które w przeszłości były leczone z powodu raka tarczycy, jednak autorzy pracy zaznaczali, że dla potwierdzenia tego faktu potrzebna jest dłuższa obserwacja większej grupy chorych na raka piersi.³² Wzajemne zależności stały się podłożem do prowadzenia wielu badań i obserwacji. Niemal jednocześnie inni naukowcy opublikowali pracę, która obejmowała grupę chorych na raka piersi po zastosowanej radioterapii, obserwowaną pomiędzy 1973 r. a 1993 r. w kierunku wystąpienia raka tarczycy. Badanie to nie potwierdziło zakładanej tezy, że radioterapia uzupełniająca z powodu raka piersi zwiększa ryzyko raka tarczycy.⁹² Zauważono natomiast inną zależność – po leczeniu raka piersi w II i III stopniu zaawansowania choroby częściej u kobiet występowała niedoczynność tarczycy niż w grupie kontrolnej. Do badania włączono 403 chore na raka piersi w stopniu zaawansowania choroby II lub III, które poddane były radioterapii standardowymi technikami. Chore miały

wykonane badania czynności tarczycy przed leczeniem promieniami, a następnie od 35 do 120 miesięcy po zakończonym leczeniu. Częstość występowania niedoczynności tarczycy u kobiet z rozpoznaniem raka piersi przed leczeniem napromienianiem była zbliżona do częstości występowania w grupie kontrolnej, natomiast ocena po radioterapii dała zaskakujące wyniki – zwiększoną częstość występowania niedoczynności tarczycy w grupie badanej u chorych, które wcześniej były w stanie eutyreozy. Różnica ta w stosunku do grupy kontrolnej była istotna statystycznie (odpowiednio 18% vs. 6%, $p < 0,001$). Należy zaznaczyć, że radioterapia nie obejmowała tarczycy, a narząd ten był określony jako „narząd krytyczny” i objęty ochroną w trakcie napromieniania. Stwierdzono zatem, że radioterapia uzupełniająca jest czynnikiem sprawczym niedoczynności tarczycy i pacjentki po zakończonym leczeniu powinny być objęte rutynowymi badaniami w kierunku niedoboru fT4, fT3.⁹³ W kolejnym badaniu próbowano udowodnić wzrost ryzyka wystąpienia raka piersi u chorych z zaburzeniami czynności i struktury tarczycy, porównując grupę chorych na raka piersi ($n=4575$) i grupę kontrolną ($n=4682$). Nie znaleziono dowodu na związek między chorobami tarczycy a wzrostem ryzyka wystąpienia raka piersi, z wyjątkiem raka tarczycy. Naukowcy zasugerowali, że wyniki tego badania mogą potwierdzać wspólną dla obu nowotworów oś hormonalną lub też podłoże genetyczne, a dla potwierdzenia wniosków należałoby poszerzyć grupę badaną oraz wydłużyć czas obserwacji.⁹⁴

Idąc dalej tą drogą izraelscy naukowcy próbowali dowieść wzajemnego wpływu obu nowotworów, badając chore z rakiem tarczycy jako pierwotnym nowotworem i drugim niezależnym rakiem piersi oraz drugą grupę, która chorowała na raka piersi, a drugim niezależnym nowotworem był rak tarczycy. Analizując obie grupy chorych stwierdzono, iż leczenie pierwszego raka nie może być inicjatorem powstania drugiego nowotworu, jednak wysunięto podobną tezę do poprzednich badaczy, że oba nowotwory mają podobną drogę kancerogenezy.⁹⁵ Poszukiwano wspólnego punktu dla obu nowotworów, analizując nowotworowe i nienowotworowe choroby tarczycy. W 12% badanych raków brodawkowatych znaleziono receptory estrogenowe, u 33% receptory progesteronowe, podobnie w guzach nienowotworowych – guzach Hurlta, guzach pęcherzykowych oraz w rakach rdzeniastych ($n=3$). Wyniki te mogą potwierdzać wspólną drogę nowotworzenia z rakiem piersi.⁹⁶ Trzy lata później przeanalizowano ekspresję receptorów steroidowych w komórkach tarczycy zmienionej

nowotworowo i porównano do zdrowej tkanki tarczycy. Badacze zauważyli, że ekspresja ER i PgR jest wyższa w zmianach łagodnych tarczycy aniżeli w zmianach nowotworowych, różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,05$) i zdecydowanie wyższa w zdrowej tkance tarczycy niż w zmianach złośliwych ($p = 0,003$). W związku z uzyskanymi wynikami wysunięto hipotezę, że receptory estrogenowe i progesteronowe mogą pełnić funkcję w prawidłowej aktywności tarczycy.⁹⁷

W 2015 r. opublikowano pracę, która miała udowodnić prawdopodobne zależności pomiędzy rakiem piersi i rakiem tarczycy. Obserwacja chorych trwała 5 lat. Z 4243 chorych z rakiem tarczycy u 55 rozwinął się rak piersi, natomiast z 6833 kobiet z rakiem piersi po zakończonym leczeniu u 81 rozwinął się rak tarczycy. Chore z grupy badanej nie miały standardowo wykonywanych badań genetycznych w kierunku najczęstszych mutacji zwiększających ryzyko obu nowotworów (np. w kierunku mutacji markerowej w genie *CHEK2*, która zwiększa ryzyko zachorowania na raka piersi 2-4-krotnie oraz zachorowania na raka brodawkowatego tarczycy około 5-krotnie). Autorzy porównując grupę badaną z grupą kontrolną stwierdzili, że rak piersi i tarczycy występuje razem u tych samych chorych częściej, aniżeli w grupie kontrolnej. Ponadto u chorych na raka piersi ze współistniejącym rakiem tarczycy częściej obserwowano ekspresję receptorów steroidowych.⁹⁸

W badaniu własnym poszukiwano zależności pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy, poziomem przeciwciał przeciw-tarczycowych oraz poziomem prolaktyny w surowicy a poszczególnymi cechami guza nowotworowego w piersi w całej grupie badanej. Ze względu na zbyt krótki czas obserwacji grupy badanej nie była możliwa obserwacja chorych w kierunku ewentualnego wystąpienia drugiego pierwotnego nowotworu - raka tarczycy wśród badanych chorych na raka piersi. Natomiast ze względu na rozpoznanie podstawowe u chorych dla celów pracy nie brano pod uwagę molekularnej diagnostyki tarczycy.

Bardzo liczne doniesienia literaturowe o zależności występowania podwyższonego poziomu anty-TPO w surowicy u chorych na raka piersi dały początek badaniom nad wpływem poziomu przeciwciał w surowicy na poszczególne cechy guza nowotworowego.

W grupie badanej podwyższone miano przeciwciał w surowicy zarejestrowano u 20 chorych (20%). W badaniu ultrasonograficznym tarczycy stwierdzono u nich zaburzenie struktury narządu, sugerujące przewlekłe zapalenie, podczas gdy

populacyjną częstość występowania tego schorzenia szacuje się na około 5% dorosłych kobiet w Polsce. Jednak nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy występowaniem raka a wysokim mianem przeciwciał w surowicy.

Inne wyniki uzyskano w greckim badaniu, które objęło 310 chorych na raka piersi, 100 - z łagodnymi zmianami w piersi i 190 bez zmian w gruczole piersiowym. Chorym wykonywano pełną diagnostykę tarczycy: badanie kliniczne, badania laboratoryjne i biopsję aspiracyjną cienkoigłową tarczycy. Autoimmunologiczne zapalenie tarczycy stwierdzono u 136 chorych na raka piersi (43,87%) (u 95 na podstawie obecności przeciwciał przeciw-tarczycowych w surowicy, u 19 na podstawie nacieków limfocytarnych w biopsji, u 22 na podstawie obu badań). Odpowiednio w grupie ze zmianami łagodnymi i w grupie kontrolnej stwierdzono u 19% i 18,4% autoimmunologiczną chorobę tarczycy.⁹⁹

Podobnie zwiększoną częstość autoimmunologicznego zapalenia tarczycy stwierdziła słowacka grupa badaczy. 110 chorych na raka piersi zostało przebadane pod względem funkcji tarczycy przed rozpoczęciem leczenia systemowego lub przed uzupełniającym leczeniem energią promienistą. Zapalenie tarczycy typu Hashimoto stwierdzono u 37,3% badanych, zaś u 20% subkliniczną niedoczynność tarczycy, co oznacza znacznie większą częstość występowania tych schorzeń, aniżeli w zdrowej populacji. Badacze zauważyli jeszcze jedną zależność – pacjentki ze stwierdzonym schorzeniem tarczycy miały niski stopień złośliwości histologicznej nowotworu G1.¹⁰⁰

W materiale własnym nie potwierdzono zależności pomiędzy stopniem złośliwości histologicznej a poziomem anty-TPO w surowicy ($p=0,562$).

Świadomość, że autoimmunologiczne choroby tarczycy częściej występują u chorych na raka piersi, aniżeli w zdrowej populacji dało początek poszukiwaniom odpowiedzi na pytanie, czy sama choroba nowotworowa niezależnie od narządu może przyczyniać się do większego występowania chorób autoimmunologicznych tarczycy i odwrotnie: czy choroba autoimmunologiczna tarczycy może zwiększać ryzyko wystąpienia innych nowotworów. Przebadano 66 chorych na raka piersi, 68 na raka jelita grubego i 49 osób grupy kontrolnej. Badano poziom hormonów tarczycy oraz przeciwciał przeciw-tarczycowych w surowicy. Nie stwierdzono podwyższonego miana przeciwciał TRAK w surowicy w żadnej grupie. Autoimmunologiczne zapalenie tarczycy zdecydowanie częściej występowało u chorych na raka piersi – odpowiednio 24,2%; 16,7%; 16,2%. U chorych na raka piersi wykazano znaczny wzrost przeciwciał

anty-Tg ($p < 0,001$) oraz anty-TPO w surowicy, jednak miano tych ostatnich nie było istotne statystycznie. Jednocześnie u 80% chorych na raka piersi zaobserwowano większą objętość tarczycy niż w pozostałych grupach.¹⁰¹

Analizując wszystkie aspekty problemu szukano też odwrotnych zależności, badając grupy kobiet ze schorzeniami gruczołu tarczowego.

Porównując grupę chorych na raka piersi z towarzyszącą chorobą tarczycy, rakiem tarczycy i chorobami autoimmunologicznymi tarczycy, nie stwierdzono żadnej konkretnej choroby tarczycy jako dominującej w przypadku raka piersi. Grupą kontrolną były kobiety z chorobami tarczycy bez raka piersi w wywiadzie. Miano przeciwciał anty-TPO w surowicy było wyższe w grupie chorych na raka piersi, jednak różnica ta nie była istotna statystycznie. Autorzy pracy zarekomendowali rutynowe badania przesiewowe tarczycy u chorych po leczeniu raka piersi.¹⁰²

Muller i wsp. przebadali 622 chore z łagodnymi schorzeniami tarczycy. Rak piersi wystąpił w grupie badanej u 6,11% pacjentek w wieku powyżej 49 lat, co było znacznie częstsze aniżeli w ogólnej populacji (2,07%) odpowiedniej wiekowo, różnica ta była istotna statystycznie ($p = 0,006$). W grupie wiekowej 30-49 lat rak piersi występował częściej niż w odpowiedniej grupie wiekowej, jednak różnica ta nie była istotna statystycznie ($p = 0,06$). Nie zauważono różnic w poszczególnych grupach ze względu na ich niewielką licznosc: wole guzkowe, zapalenie autoimmunologiczne typu Hashimoto i obecność przeciwciał anty-TPO w surowicy oraz choroba Graves-Basedowa - każda z tych chorób według autorów miała zwiększać ryzyko wystąpienia raka piersi. Autorzy sugerowali, podobnie jak poprzednicy zintensyfikowane wykonywanie badań przesiewowych w kierunku raka piersi u pacjentek z chorobami tarczycy.¹⁰³ W innej pracy ten sam autor wysunął hipotezę, że zarówno w komórkach raka piersi jak i w komórkach tarczycy występuje wspólny antygen, stanowiący cel dla układu immunologicznego (zarówno odpowiedzi humoralnej i komórkowej). Takim kandydatem mógłby być symporter sodowo/jodowy, który znajduje się w tarczycy i w komórkach raka piersi lub/i peroksydaza tarczycowa (TPO) oraz laktoperoksydaza (LPO), które wykazują między sobą reakcję krzyżową. Badano ekspresję tyreoperoksydazy w tkankach guza i okołoguzowych. Wykazano, że różne izoformy tyreoperoksydazy są obecne w różnych tkankach. Najmniej wyrażona jest w tkance nowotworowej piersi. W konsekwencji stwierdzono, że może ona mieć protekcyjne

działanie, a chore na raka piersi z obecnością przeciwciał przeciwtarczycowych mają lepsze rokowanie niż bez obecności przeciwciał.¹⁰⁴

Kontynuacją tej myśli była włoska praca, gdzie przebadano blisko 4000 kobiet, które podzielono na grupy w zależności od chorób tarczycy: z wolem guzkowym, wolem bez zmian ogniskowych w tarczycy i ze zróżnicowanym rakiem tarczycy. U 1453 chorych stwierdzono podwyższone miano przeciwciał przeciwko tyreoglobulinie lub/i przeciwko peroksydazie tarczycowej w surowicy, u 124 pacjentek przeciwko receptorowi dla TSH. Analiza w zależności od wieku wykazała, że młodsze chore z chorobami tarczycy mają większe ryzyko wystąpienia raka piersi. Kobiety z chorobami tarczycy i obecnością przeciwciał przeciwtarczycowych rzadziej chorowały na raka piersi aniżeli kobiety bez obecności przeciwciał przeciwtarczycowych. W związku z tym wysunięto hipotezę, że przeciwciała antyTPO i/lub anty-Tg mogą mieć działanie ochronne wobec raka piersi.¹⁰⁵ Wcześniejsze badania nad chorymi z rozpoznaniem raka piersi, u których stwierdzono wyższe miano anty-TPO wykazały, że wysoki poziom anty-TPO w surowicy wiązał się z mniejszym rozmiarem guza, mniejszym zaawansowaniem w węzłach chłonnych i dłuższym czasem wolnym od choroby w porównaniu do grupy z prawidłowym mianem przeciwciał - stąd teoria, że autoimmunizacja tarczycy może mieć wpływ na poprawę rokowania w raku piersi.¹⁰⁶ Podobne wyniki uzyskali szwedzcy badacze - badanie zakończono w grudniu 2006 r. Porównywali oni poziom hormonów tarczycy i przeciwciał przeciwtarczycowych u chorych leczonych w latach 1991 r. a 1996 r. Autorzy wykazali, że tylko wyższy poziom wolnej tyroksyny wiązał się z większą zapadalnością na raka piersi, ryzyko było tym większe, im większa była masa ciała badanych kobiet; zaś podwyższone miano przeciwciał anty-TPO w surowicy było związane z obniżonym ryzykiem wystąpienia raka piersi.¹⁰⁷

Chore na raka piersi z wysokim mianem przeciwciał anty-TPO w surowicy stały się grupą badań, gdzie próbowano wyjaśnić jaki czynnik mógłby mieć wpływ na poprawę rokowania. Pięcioletnia obserwacja 47 chorych z rozpoznaniem raka piersi oraz analiza profilu immunohistochemicznego guza pokazała, że w przypadkach ekspresji receptorów estrogenowych w guzie nowotworowym u pacjentek z wyższym mianem przeciwciał anty-TPO rzadziej występował nawrót choroby w ciągu lat obserwacji. W grupie tej była również mniejsza śmiertelność aniżeli wśród chorych bez ekspresji receptora estrogenowego ($p=0,008$).¹⁰⁸ Obserwacja większej ($n=340$) grupy

kobiet ze zdiagnozowanym rakiem piersi pomiędzy 2002 r. a 2006 r., poszerzona o badanie markerów nowotworowych: CEA (antygen karcynoembrionalny) oraz Ca 15-3 pokazała, że podwyższone miano przeciwciał przeciwtarczycowych jest związane z poprawą wyników leczenia tych chorych oraz koreluje odwrotnie z poziomem CEA oraz Ca 15-3 w surowicy. W grupie z wysokimi wartościami przeciwciał nie zauważono w ciągu czasu obserwacji rozsiewu choroby, a także w momencie rozpoznania przerzutów odległych (mniejszy rozmiar guza, mniejszy stopień zaawansowania w węzłach chłonnych) i stwierdzono wyższą wartość hormonu TSH. Różnice te były istotne statystycznie.¹⁰⁹ Podobne badanie przeprowadzono wcześniej, w latach 1998 do 2002 na tureckiej populacji kobiet w wieku 38-80 r.ż. ze zdiagnozowanym rakiem piersi (n=150) i porównano z grupą kontrolną zdrowych kobiet (n=100). Założeniem badania było, że kobiety biorące w nim udział, nigdy wcześniej nie miały zdiagnozowanej choroby tarczycy. Wykonywano usg tarczycy, mierzono poziom hormonów tarczycy i przeciwciał przeciwtarczycowych w surowicy i wykonywano BAC tarczycy. Radiologicznie w grupie badanej oceniono u 8% wole rozlane, zaś u 50% wole guzkowe, natomiast w grupie kontrolnej stwierdzono te choroby odpowiednio u 4% i 26%. Poziom anty-TPO w surowicy był zdecydowanie wyższy w grupie badanej (p=0,030) niż w grupie kontrolnej. Choroby autoimmunologiczne tarczycy (38%) oraz nieautoimmunologiczne (26%) obserwowano zdecydowanie częściej w grupie badanej niż w grupie kontrolnej (odpowiednio 17% i 9%, p=0,001). Autorzy poszukiwali zależności pomiędzy autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy a czynnikami prognostycznymi raka piersi. Nie znaleziono zależności pomiędzy ekspresją receptora estrogenowego w guzie a podwyższonym poziomem anty-TPO w surowicy.¹¹⁰ Nieco później zbadano 318 kobiet z rakiem piersi zdiagnozowanym pomiędzy 2008 r. a 2012 r. Wyłączono chore z wcześniej zdiagnozowaną chorobą tarczycy i analizowano podobne parametry: TSH, fT3, fT4 oraz poziom anty-TPO w surowicy a także cechy guza nowotworowego: stopień złośliwości histologicznej, ER, PgR, HER2, wielkość guza i stopień zaawansowania w węzłach chłonnych pachowych. Nie wykazano statystycznej zależności pomiędzy powyższymi cechami guza a wysokim mianem przeciwciał anty-TPO w surowicy. Wykazano zależność statystyczną pomiędzy mianem anty-TPO a podwyższonym poziomem TSH w surowicy oraz zauważono, iż w grupie anty-TPO + rzadziej obserwowano przerzuty odległe w momencie rozpoznania choroby (n=1/64), natomiast w grupie anty-TPO - rozsiew choroby stwierdzono u 14/253

pacjentek. Różnica ta była istotna statystycznie ($p=0,040$). Autorzy wnioskowali, że podwyższone miano anty-TPO może być dobrym czynnikiem prognostycznym u chorych na raka piersi, jednak potwierdzenie tego wymagałoby dalszych badań i obserwacji.¹¹¹ W dalszych pracach potwierdzono obecność tyreoperoksydazy w gruczole piersiowym oraz udowodniono, że przeciwciała przeciw tyreoperoksydazie reagują zarówno z TPO jak i LPO. Podłożem do badań była obecność wcześniej wspomnianego symportera sodowo/jodowego (NIH) zarówno w guzie piersi jak i w tkance tarczycy i próba odpowiedzi na pytanie, czy obecność przeciwciał anty-NIH może być odpowiedzialna za poprawę rokowania chorych na raka piersi. W wyniku badań obu tkanek stwierdzono, że często występują jednocześnie, jednak jest mało prawdopodobne, by były odpowiedzialne za poprawę rokowania chorych na raka piersi.¹¹² Podłożem do tych badań było spostrzeżenie, że białko odpowiedzialne za transport błonowy jodu w komórkach pęcherzykowych tarczycy jest obecny w 88% DCIS oraz 76% inwazyjnych raków piersi oraz w około 30% próbek tkanki okołoguzowej gruczołu piersiowego.¹¹³

Wiadomo, że zarówno tarczyca i gruczoł piersiowy wykorzystują jod do prawidłowego funkcjonowania. Jod cząsteczkowy jest utleniany przez nadtlenek wodoru, a reakcję tą katalizuje tyreoperoksydaza w tarczycy i laktoperoksydaza w piersi. Proces pochłaniania jodu w tarczycy podlega autoregulacji (efekt Wolffa – Chaikoffa). Uważa się również, że jodki mogą działać antyproliferacyjnie na komórki tarczycy a także odgrywać pewną rolę w gruczole piersiowym. Badania wykazały również niższe stężenie jodu w tkance guza nowotworowego piersi niż w tkance zmiany łagodnej, jak włókniakogruczolak.¹¹⁴ Funashashi wysunął tezę, że wzrost zawartości jodu w komórkach nowotworowych u zwierząt doświadczalnych może prowadzić do apoptozy przez wzrost TGF beta. Działanie to porównano do 5-fluorouracylu, cytostatyku stosowanego również w leczeniu raka piersi. Jednocześnie wzrost jodu prowadzi do wzrostu anty-Tg, co może przyczyniać się do autoimmunizacji tarczycy, a w gruczole piersiowym stanowić czynnik ochronny, zapobiegający złośliwej transformacji komórek i być czynnikiem poprawiającym odpowiedź na terapię onkologiczną i poprawiającym wskaźnik przeżycia. Jednocześnie u gryzoni z rakiem piersi może prowadzić do wzrostu poziomu IL-8 i IL-6, a tym samym mniejszego poziomu fT3 i fT4. Jednak nie ma dowodów na to, że poziom tych cytokin u chorych na raka piersi może przyczyniać się do jawnych zaburzeń czynności tarczycy.¹¹⁵ Hipoteza

ta jest zgodna z mniejszą zachorowalnością kobiet na raka piersi w Japonii, gdzie dieta jest bogata w wodorosty obfitujące w jod. Japonki, które emigrują do krajów Europy Zachodniej oraz Stanów Zjednoczonych i przejmują dietę innej kultury, uboższą w jod mają podobny wskaźnik zachorowalności na raka piersi jak populacja zachodnich kobiet. Wyniki tych obserwacji sugerują znaczny wpływ środowiska na zapadalność na raka piersi.

Próbie wyjaśnienia współistnienia chorób autoimmunologicznych tarczycy i raka piersi podjęto także badając naciek limfocytarny w guzach nowotworowych piersi i w komórkach tarczycy u chorych z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy, potwierdzonym wysokim poziomem przeciwciał anti-TPO w surowicy. Przypuszczano, że wzrost nacieku limfocytarnego w tkance piersi może wyjaśnić związek z chorobami autoimmunologicznymi. Jednak różnica w wielkości nacieku limfocytarnego w tkance raka piersi u chorych z lub bez choroby autoimmunologicznej tarczycy nie była statystycznie istotna, w związku z tym wydaje się, że naciek limfocytarny nie ma żadnego wpływu na tworzenie się guzów nowotworowych w piersi.¹¹⁶

Jedną z tez wyjaśniającą zaburzenia tarczycy w raku piersi była ingerencja anestezyjologiczna i sam zabieg operacyjny, który poprzez stres dla organizmu miał zmieniać poziom hormonów tarczycy oraz wpływać na poziom przeciwciał anti-TPO w surowicy. W związku z tym w jednym z badań porównano poziom anti-TPO, anti-Tg, TSH i hormonów tarczycy w surowicy u chorych na raka piersi i kobiet ze zmianami łagodnymi przed i po zabiegu operacyjnym. Poziom przeciwciał anti-TPO w surowicy był znacząco wyższy u chorych na raka piersi ($p < 0,01$) zarówno przed i po zabiegu operacyjnym. Dodatkowo pacjentkom wykonano usg tarczycy, w którym częściej stwierdzano rozlaną hypoechogeniczność narządu u chorych na raka piersi, w stosunku do grupy ze zmianami łagodnymi w gruczole piersiowym, różnica ta była istotna statystycznie ($p = 0,03$). Autorzy zwracają uwagę na przydatność badań przesiewowych w kierunku raka piersi u kobiet z podwyższonym mianem przeciwciał anti-TPO. Nie wykazano natomiast zależności między procedurami chirurgicznymi i anestezyjologicznymi a podwyższonym poziomem przeciwciał.¹¹⁷

Kontrowersje dotyczące związków pomiędzy chorobami tarczycy a rakiem piersi nakłoniły badaczy do metaanalizy dotychczasowych prac nad chorobami tarczycy współistniejącymi z rakiem piersi. Przeszukano bazy: MEDLINE, EMBASE, PubMed, Current Contents Connect i Google Scholar. Początkowo przeanalizowano 28 prac i

przekazano następujące wnioski: zaburzenia czynności tarczycy, tj. niedoczynność i nadczynność nie miały wpływu na ryzyko wystąpienia raka piersi, natomiast występowanie chorób autoimmunologicznych – obecność przeciwciał anti-TPO i anti-Tg w surowicy było zdecydowanie wyższe w grupie chorych na raka piersi, a zależność ta była istotna statystycznie. Konieczne są zatem według autorów dalsze badania w tym kierunku.¹¹⁸ Później badacze przestudowali prace opublikowane między 2000 r. a 2014 r. i podsumowali dotychczasowe wyniki badań. Źródłem publikacji była elektroniczna baza danych MEDLINE i EMBASE. Wzięto pod uwagę poziomy hormonów tarczycy i przeciwciał w surowicy chorych z rozpoznaniem raka piersi. Wyniki zbiorcze pokazały, że poziom TSH w surowicy u chorych na raka piersi był wyższy niż w grupie kontrolnej, jednak nieistotny statystycznie. Poziomy fT3 i fT4 w surowicy były wyższe niż w grupie kontrolnej, co było istotne statystycznie ($p=0,043$). Poziomy przeciwciał anti-TPO i anti-Tg w surowicy był zdecydowanie wyższy u kobiet z rakiem piersi niż w grupie kontrolnej ($p=0,000$) i według autorów w przyszłości mógłby potencjalnie stać się czynnikiem prognostycznym dla raka piersi.¹¹⁹

W materiale własnym poszukiwano zależności pomiędzy podwyższonym poziomem anti-TPO w surowicy a cechami guza nowotworowego, jak wielkość guza, rozpoznanie histopatologiczne, stopień złośliwości histologicznej, stopień zaawansowania w węzłach chłonnych. Nie znaleziono istotnych statystycznie zależności pomiędzy tymi cechami. Analizując cechy immunohistochemiczne nowotworu wykazano słabą ujemną $R=-0,216158$ zależność pomiędzy niskim poziomem przeciwciał w surowicy a ekspresją receptorów progesteronowych w guzie.

Odnosząc się do wcześniejszych prób wyjaśnienia w literaturze wpływu poziomu anti-TPO w surowicy na rokowanie chorych na raka piersi, wynik ten można uznać za dyskusyjny. Wiadomo, że utrata syntezy PgR wiąże się z opornością na terapię hormonalną oraz zwiększoną inwazyjnością guza nowotworowego. Natomiast według powyżej przedstawionych badań, to wysokie miano przeciwciał przeciwtarczycowych miałyby działać protekcyjnie i poprawiać rokowanie chorych na raka piersi. U człowieka zidentyfikowano trzy receptory progesteronowe: A, B, C. W gruczole piersiowym występują dwie izoforny receptora: PR-A występuje głównie w jądrze komórkowym i hamuje ekspresję genów zależnych od progesteronu. PR-B ma działanie przeciwstawne i występuje zarówno w jądrze jak i cytoplazmie. Rola receptora progesteronowego w rozwoju raka piersi i jego terapii jest niezaprzeczalna. W trakcie

hormonoterapii komórki nowotworowe tracą ekspresję ER/PgR. Jest to poprzedzone hyperaktywacją PgR i powstaniem superczułych form receptora progesteronowego, które wydają się być początkiem dla progresji nowotworu. Aktywność PgR przebiega na trzy różne sposoby. Klasyczna droga zakłada, że cytoplazmatyczna forma receptora po związaniu z ligandem przemieszcza się do jądra komórki i reguluje ekspresję genów, posiadających sekwencje promotorowe, a następnie ulega degradacji – efekt po stworzeniu kompleksu ligand- receptor pojawia się po długim czasie, często po wielu godzinach. Alternatywna droga, prowadząca do regulacji transkrypcji genów niezwiązanych bezpośrednio z progesteronem, aktywuje ścieżki sygnalizacyjne zależne od kinaz aktywowanych miogenami (MAPK miogen-activated protein kinases) oraz zależne od EGFR/c-Src/Ras/Erk/PI3K, które wpływają na proliferację komórek. Receptor progesteronowy składa się z dwóch domen – jednej bogatej w reszty proliny oraz drugiej oddziałującej z receptorem estrogenowym. Poprzez związanie się z domeną SH3 (reszty proliny) lub z ER prowadzą do natychmiastowej aktywacji ścieżek zależnych od opisanych wcześniej czynników (EGFR, c-Src, Ras, Erk, PI3K). Trzecia niegenomowa droga sygnalizacyjna – może się odbywać na dwa różne sposoby. Wiadomo, że istnieją formy błonowe receptora progesteronowego, które z kolei składają się z siedmiu domen transbłonowych. Połączenie się liganda z jedną z domen może prowadzić do relokalizacji z cytozolu do jądra komórkowego i dawać efekt genomowy lub aktywować białko G i ścieżkę sygnalizacyjną MAPK. Drugi sposób polega na tym, że PgR wchodzi w procesy potranslacyjne, jak: sumoilacja, fosforylacja, acetylacja, czy ubikwitylacja. Sumoilacja wpływa na regulację cyklu komórkowego, degradację i upakowanie chromatyny. Fosforylacja jest łącznikiem pomiędzy sygnałami ze środowiska zewnątrzkomórkowego przez receptory dla czynników wzrostu. Wchodząc w reakcję z receptorami dla czynników wzrostu (GFR), te ostatnie mają wpływ na aktywację i degradację PgR i regulują poziom jego syntezy. Prowadząc do degradacji PgR prowadzą do powstawania fenotypu z ujemną ekspresją receptora progesteronowego. Lepsza odpowiedź na terapię hormonalną wykazują guzy z ekspresją obu receptorów (ER i PgR) aniżeli guzy z ekspresją tylko receptora estrogenowego. Sam progesteron reguluje syntezę takich czynników jak białka z rodziny naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR, HER2, HER3). Powoduje on wzrost syntezy EGFR w błonie komórkowej, a stymulacja EGF przyczynia się do spadku PgR. Receptor progesteronowy oddziałuje z receptorem dla czynnika wzrostu fibroblastów typu 2, tworząc z nim kompleksy razem z czynnikiem transkrypcyjnym STAT5, czym

regulują ekspresję protoonkogenu c-myc. Czynnikiem, który oprócz regulacji poziomu transkrypcji PgR bierze udział w różnicowaniu komórek gruczołu piersiowego i transformacji nowotworowej jest insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1). Powoduje on obniżenie poziomu transkrypcji PgR poprzez oddziaływanie ze ścieżką mTOR.¹²⁰

W 2010 r. autorzy opublikowali wyniki pochodzące z 17 badań prospektywnych z 12 krajów. Analizowali wpływ poziomu IGF-1 na ryzyko wystąpienia raka piersi – poziom IGF1 był słabo dodatni u chorych przed menopauzą i silnie związany z rakiem piersi u chorych po menopauzie. Obserwacja ta była tym silniej zaznaczona im wyższe było BMI kobiet badanych, szczególnie w guzach receptorowo dodatnich (ER, PgR).¹²¹ Inny autor sugeruje, że wzrost ekspresji IGF-1 mRNA w tkance nowotworowej wiąże się ze znacznie lepszym rokowaniem i dłuższym przeżyciem wolnym od choroby u pacjentek z ekspresją ER w przeciwieństwie do poziomu IGF-1 w surowicy.¹²² Mechanizm progresji choroby za pośrednictwem szlaków IGF-1- zależnych jest obiektem szerokich badań.

W japońskim badaniu nad poziomem IGF-1 i IGFBP-3 w surowicy u chorych z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto i chorobą Graves-Basedowa wykazano, że ich poziomy były znacząco wyższe u chorych z chorobami autoimmunologicznymi w stosunku do grupy kontrolnej ($p < 0,05$).¹²³

Balci i wsp. badali poziom IGF-1 w surowicy u kobiet z chorobami tarczycy. Do badania włączono chore z autoimmunologiczną subkliniczną niedoczynnością tarczycy i mierzono poziom przeciwciał anti-TPO oraz hormonów: TSH, fT3 i fT4 w surowicy i szukano zależności między poziomem IGF-1 oraz białkiem wiążącym insulinopodobny czynnik wzrostu typu 1 (IGFBP-3). Analiza nie wykazała spodziewanych zależności pomiędzy poszczególnymi parametrami.¹²⁴ Zatem rola IGF-1 pozostaje nadal niejasna w chorobach autoimmunologicznych, a doniesienia sprzeczne, w związku z tym wymaga poszerzonych badań.

Inni badacze zastanawiali się nad rolą IGF-2 w raku piersi. Przeanalizowali 75 próbek naciekającego raka piersi pod względem ekspresji IGF-2, ER, PgR, Ki67 oraz białka p53 i p21. Obecność insulinopodobnego czynnika wzrostu typu 2 nie był skorelowany z menopauzą, przerzutami do węzłów chłonnych, ekspresją ER, białka p53 i aktywnością proliferacyjną Ki67. Wykazano zależność pomiędzy ekspresją PgR i białkiem p21.¹²⁵

Łącznikiem w niniejszej pracy pomiędzy ekspresją receptora progesteronowego w guzie nowotworowym a niskim poziomem przeciwciał anti-TPO

w surowicy u badanych chorych być może mógłby być czynnik IGF-1 lub i IGF-2. Jest to stwierdzenie hipotetyczne ponieważ w pracy nie badano poziomu w surowicy insulinopodobnego czynnika wzrostu, ani ekspresji jego mRNA w tkance nowotworowej. Nie znaleziono danych w literaturze, mówiących o tym, że im niższy poziom przeciwciał anty-TPO w surowicy u chorych na raka piersi, tym większa ekspresja receptora progesteronowego w guzie nowotworowym. W pracy podjęto próbę wyjaśnienia możliwego mechanizmu prowadzącego do powyższych wyników, a w celu wyjaśnienia problemu należałoby poszerzyć zakres badań u chorych oraz powiększyć grupę badaną.

Analizując w pracy ekspresję receptorów steroidowych – ER, PgR w zależności od poziomu przeciwciał anty-TPO w surowicy ($< 34\text{IU/ml}$ i $> 34\text{IU/ml}$) nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie. Podobnie wykazano brak zależności pomiędzy ekspresją HER2 w guzie nowotworowym a poziomem anty-TPO w surowicy.

Wyniki te są podobne do widocznych w literaturze, od wielu lat diskutowanych. Badanie włoskie analizowało zaburzenia tarczycy u 102 chorych na raka piersi przed rozpoczęciem leczenia (radioterapia lub/i chemoterapia lub/i hormonoterapia). Choroby tarczycy występowały zdecydowanie częściej w grupie chorych na raka piersi, aniżeli w grupie kontrolnej 100 zdrowych kobiet w podobnym wieku ($p < 0,0001$). Częściej występowało wole obojętne ($p = 0,003$) oraz choroba Hashimoto ($p < 0,005$). Poziom anty-TPO w surowicy był częściej ponad normę w grupie chorych na raka piersi niż w grupie kontrolnej, odpowiednio 23,5% vs 8%, poziom anty-Tg w surowicy nie różnił się istotnie. Podwyższone miano przeciwciał w surowicy występowało częściej u młodych kobiet z rozpoznaniem raka piersi. Badacze analizowali również wpływ poziomu anty-TPO w surowicy na ekspresję receptorów steroidowych w guzie nowotworowym. Nie wykazano zależności pomiędzy ER, PgR a poziomem anty-TPO w surowicy.¹²⁶

W styczniu 2016 r. opublikowano pracę, w której analizowano grupę 112 chorych na raka piersi ze współistniejącymi chorobami tarczycy. Częstość występowania nieprawidłowych wartości TSH oraz poziomu przeciwciał przeciwtarczycowych w surowicy była podobna w grupie badanej i w grupie kontrolnej. Nie stwierdzono również zależności pomiędzy wielkością guza, stopniem zajęcia węzłów chłonnych a obecnością choroby autoimmunologicznej tarczycy ($p = 0,316$). Chore podzielono na dwie grupy: z podwyższonym poziomem anty-TPO w surowicy i

prawidłowym mianem przeciwciał. Nie stwierdzono różnic w ekspresji receptorów steroidowych i HER2 między obiema grupami. Zauważono zależność, że rak piersi występował częściej u chorych, które podawały, że w rodzinie występowały choroby tarczycy ($p=0,001$).¹²⁷ Natomiast obecność choroby autoimmunologicznej tarczycy u chorych na raka piersi nie miała wpływu na obraz kliniczny guza, rozpoznanie histopatologiczne i cechy immunohistochemiczne.

W materiale własnym nie wykazano także zależności pomiędzy poziomem anti-TPO w surowicy a ekspresją cykliny D1 i białkiem p53 w komórkach raka.

W szwedzkim badaniu przeanalizowano poziom hormonów fT3, fT4 oraz przeciwciał anti-TPO w surowicy u ponad 600 chorych na raka piersi i u tyle samo kobiet w grupie kontrolnej. Niska wartość przeciwciał anti-TPO w surowicy była skorelowana ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia przewodowego raka piersi ER, PgR dodatniego, z niską lub brakiem ekspresji cykliny D1. Podobną zależność zauważono przy wysokim poziomie fT4 w surowicy. Wysoki poziom fT3 w surowicy nie był związany ze zwiększonym ryzykiem raka.¹²⁸

W pracy własnej analizowano wpływ zaburzeń struktury tarczycy na poszczególne cechy nowotworu piersi. Nie znaleziono zależności istotnych statystycznie pomiędzy wielkością guza, stopniem zaawansowania w węzłach chłonnych, rozpoznaniem histopatologicznym, stopniem złośliwości histologicznej, ani cechami immunohistochemicznymi guza.

Badania przeprowadzone w latach 90 ubiegłego wieku, porównujące wielkość tarczycy u chorych na raka piersi i w grupie kontrolnej pokazywały większą częstość występowania wola u kobiet z nowotworem. Smyth porównał objętość tarczycy u chorych na raka piersi z grupą kontrolną, różnica objętości była statystycznie istotna ($p<0,01$). W pierwszej grupie stwierdził znacznie powiększoną tarczycę (39,7%), zaś w drugiej powiększona była tylko u 8,6%, różnica ta była istotna statystycznie ($p<0,001$). Nie stwierdził różnicy w objętości tarczycy przed i po leczeniu systemowym raka piersi.¹²⁹ Trzy lata później przeprowadził podobne badanie na większej grupie kobiet – 200 chorych z rozpoznaniem rakiem piersi i 354 chore ze zmianami łagodnymi w gruczole piersiowym. Chore z rozpoznaniem raka piersi ocenił zarówno przed jak i po terapii systemowej i wyciągnął podobne wnioski jak w poprzednim badaniu. U kobiet z rakiem piersi zarejestrował istotnie większą objętość tarczycy, a różnica ta była istotna statystycznie ($p<0,01$), nie było różnic w wielkości wola przed i po terapii raka piersi.

Stwierdził zatem, że powiększona tarczyca jest czynnikiem ryzyka wystąpienia raka piersi.¹³⁰ Inna praca, badająca zależność pomiędzy chorobami tarczycy a rakiem piersi, w której przebadano 143 chore na raka piersi i 128 kobiet w grupie kontrolnej, raportowała, że zarówno większa objętość tarczycy jak i choroby autoimmunologiczne występowały z taką samą częstością w obu grupach. Nie znaleziono też różnicy w zależności od stanu menopauzalnego. Nie wykazano także związku pomiędzy ekspresją receptorów steroidowych a mianem przeciwciał anti-TPO w surowicy.¹³¹

W badaniu własnym analizowano występowanie hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy i ich związek z cechami nowotworu piersi. Z grupy chorych z zaburzeniem struktury tarczycy wyodrębniono chore, u których w badaniu usg tarczycy stwierdzono hypoechogenne zmiany ogniskowe i badano, czy zmieniały się poszczególne cechy nowotworu. Nie znaleziono zależności pomiędzy wielkością guza w piersi, stopniem zaawansowania w węzłach chłonnych, rozpoznaniem histopatologicznym, stopniem złośliwości histologicznej oraz ekspresją receptorów steroidowych i HER2 w guzie nowotworowym. Wykazano natomiast zależność pomiędzy występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych stwierdzonych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy a stopniem proliferacji Ki67 ($p=0,025$).

W piśmiennictwie nie ma wiele badań dotyczących zależności indeksu proliferacji Ki67 w guzie nowotworowym piersi a chorobami tarczycy. Pierwszym, który zwrócił uwagę na większą śmiertelność chorych na raka piersi ze współistniejącym wołem guzkowym obojętnym w stosunku do chorych ze współistniejącym autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy był Goldman w 1992 r. (co zostało opisane powyżej), jednak temat ten nie został szerzej podjęty w literaturze. Grecy naukowcy przebadali kobiety hospitalizowane w oddziale chirurgii z powodu raka piersi. Wykluczono chore, które wcześniej otrzymywały terapię systemową lub radioterapię. Wszystkie chore były w stanie eutyreozy, nigdy nie leczone z powodu chorób tarczycy. Nie znaleziono korelacji pomiędzy Ki67 a poziomem TSH, fT3 i fT4 w surowicy. U pacjentek z guzem HER2 dodatnim stwierdzono ujemną zależność pomiędzy poziomem fT3 w surowicy a Ki67 ($p=0,004$), ale nie potwierdzono jej dla fT4 i TSH. W grupie HER2 ujemnej nie znaleziono zależności pomiędzy Ki67 a poziomem fT3, fT4, i TSH w surowicy.¹³² W kolejnym badaniu, oceniającym występowanie chorób autoimmunologicznych z rakiem piersi analizowano pełen zakres cech immunohistochemicznych nowotworu piersi. Chore z wysokim mianem przeciwciał

przeciwtarczycowych miały mniejsze zaawansowanie – mniejszy guz, mniejsze zaawansowanie w węzłach chłonnych oraz niski indeks proliferacji Ki67 <14%. Różnica ta była istotna statystycznie $p=0,025$. Pozostałe parametry jak ekspresja receptorów steroidowych i HER2 nie różniła się w obu grupach (z obecnością przeciwciał i bez).¹³³ Nie podjęto jednak problemu zależności pomiędzy wartością indeksu proliferacji nowotworu Ki67 a zmianami ogniskowymi w tarczycy.

W piśmiennictwie nie znaleziono badań analizujących występowanie hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy i ich wpływie na stopień proliferacji nowotworu piersi. Można jednak wysunąć teorię, że jednym z czynników odpowiedzialnym za tworzenie się zmian ogniskowych w tarczycy jest niedobór jodu, chociaż etiopatogeneza nie została do końca wyjaśniona. Niedobór jodu powoduje obniżenie wytwarzania hormonów tarczycy, co powoduje zwiększone wydzielanie TSH, które stymuluje przerost komórek pęcherzykowych tarczycy. Niski poziom jodu powoduje także wzrost liczby komórek pęcherzykowych i wzrost ich wrażliwości na TSH oraz uwalnianie czynniki wzrostu (m.in. IGF-1, EGF, które powodują wzrost gruczołu). Niedobór jodu jest również, jak pisano powyżej czynnikiem pro-proliferacyjnym, a duże stężenie jodu mogłoby mieć właściwości ochronne. Można przyjąć hipotezę, że istotą wysokiego indeksu proliferacji Ki67 u pacjentek z wolem guzkowym jest niedobór jodu. Aby wyjaśnić tę zależność należałoby przeprowadzić badanie większej grupy chorych z rakiem piersi, u których w badaniu usg stwierdzono hypoechogenne zmiany ogniskowe w tarczycy i porównać z grupą kontrolną kobiet z rakiem piersi i prawidłową strukturą tarczycy lub ewentualnie wolem bez obecności zmian ogniskowych.

W materiale własnym zwraca uwagę fakt wysokiego indeksu proliferacji Ki67, a tym samym nowotworu z większą tendencją do szybkiego rozwoju i progresji choroby u kobiet ze zmianami ogniskowymi w usg tarczycy. Powinno się zwrócić szczególną uwagę na grupę kobiet ze stwierdzonymi guzkami hypoechogennymi w tarczycy w kierunku zintensyfikowania badań przesiewowych raka piersi, by wykryć guz w jak najniższym stopniu zaawansowania, gdyż tylko wczesne wykrycie może dać szansę na całkowite wyleczenie.

W pracy analizowano poziom prolaktyny w surowicy i jej możliwy wpływ na guz nowotworowy. Nie wykazano zależności pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a wielkością guza, stopniem zaawansowania w węzłach chłonnych,

rozpoznaniem histopatologicznym, stopniem złośliwości histologicznej. Analizując ekspresję cykliny D1 w komórkach nowotworu wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy jej obecnością a poziomem prolaktyny w surowicy ($p=0,0098$). Chore z prawidłowym poziomem prolaktyny w surowicy częściej wykazywały obecność cykliny D1 w komórkach raka. Pozostałe cechy immunohistochemiczne guza nie były skorelowane z poziomem prolaktyny.

Wyodrębniając grupę chorych z rozpoznaniem histopatologicznym raka bez specjalnego typu NST bez innych komponentów, w dokładnym dwustronnym teście Fishera wykazano zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a izolowanym rozpoznaniem NST ($p=0,031$). Jednak ze względu na małe liczebnie grupy chorych z podwyższonym lub obniżonym poziomem prolaktyny w surowicy, nie ma to znaczenia klinicznego.

Prolaktyna jest wydzielana przez komórki laktotropowe przedniego płata przysadki, nie zidentyfikowano swoistego czynnika stymulującego wydzielanie PRL, inne hormony i czynniki wywołują efekt pobudzający. TRH pobudzając wydzielanie TSH, pobudza równocześnie PRL, podobne działanie mają wazoaktywny peptyd jelitowy (VIP), estrogeny, serotonina. Hormony tarczycy zaburzają wydzielanie PRL stymulowane przez TRH. Głównym czynnikiem hamującym wydzielanie prolaktyny jest dopamina, która wiąże się z receptorami komórek laktotropowych przysadki. Podobnie działa kwas gamma – aminomasłowy (GABA) i stymulacja cholinergiczna. Wydzielanie PRL jest związane ze snem, zwiększa się około 60-90 min. po zaśnięciu, jednak nie jest związane z fazą snu i nie wykazuje rytmu dobowego. Szczyt osiąga między godziną 4 a 7 rano. W czasie ciąży wzrasta wydzielanie PRL, która z innymi hormonami powoduje rozwój gruczołów piersiowych. W tym czasie estrogeny hamują wpływ PRL na laktację, natomiast po porodzie spadek estrogenów i progesteronu zapoczątkowuje wydzielanie mleka pod wpływem PRL i oksytocyny.

W grupie chorych na raka piersi poziom prolaktyny w surowicy powyżej normy zanotowano w 6 przypadkach, zaś w grupie kontrolnej u 2 kobiet. Należy jednak pamiętać, że jednorazowe badanie poziomu prolaktyny może nie być w pełni diagnostyczne i dla potwierdzenia wyniku należałoby je powtórzyć. Stymulację wydzielania prolaktyny mogą powodować także inne bodźce: stres, wysiłek fizyczny, hipoglikemia, uraz – przynajmniej niektóre czynniki były obecne u chorych w momencie przejścia do leczenia. Dodatkowo przyczyną zwiększonego stężenia PRL w

surowicy są przyjmowane leki: fenotiazyny, trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne, alfa-metyldopa, a także metoklopramid, sulpiryd, cimetyna, estrogeny (antykontracepcja, HTZ). Do innych czynników mogących powodować wzrost PRL zaliczyć można: guz przysadki – prolactinoma, inne guzy przysadki i podwzgórza, nacieki zapalne, urazy szypuły przysadki, niewydolność nerek i wątroby, niedoczynność tarczycy, uszkodzenie ściany klatki piersiowej, zakażenie Herpes zoster i ciążę.

W badanej grupie jak i grupie kontrolnej chore z podwyższonym poziomem prolaktyny w surowicy nie zgłaszały, że leczą się z powodu depresji, jednak leki przeciwdepresyjne często przepisane są przez Lekarza POZ bez regularnej kontroli w Poradni Zdrowia Psychicznego. Przyznanie się przez kobiety do leczenia przez specjalistę - psychiatrę często jest krępujące. W związku z tym kilka z wymienionych czynników mogło wpłynąć na podwyższone wartości prolaktyny w surowicy u chorych na raka piersi. Grupy, w których stwierdzono podwyższony poziom w surowicy tego hormonu były mało liczne i wyodrębnienie ich dla analizy statystycznej nie pozwoliłoby na wiarygodne obliczenia statystyczne.

U 10 chorych na raka piersi i 4 kobiet w grupie kontrolnej poziom prolaktyny w surowicy był obniżony. Ponieważ pozostałe hormony, a w szczególności poziom TSH w surowicy był w granicach normy należy uznać, że wyniki te trzeba potraktować jako błąd laboratoryjny – nie mieliśmy doczynienia z niedoczynnością przysadki/podwzgórza, choć dla pełnej interpretacji należałoby powtórzyć badanie poziomu prolaktyny i w razie ponownego wyniku poniżej normy poszerzyć badania endokrynologiczne. Ograniczone fudusze przeznaczone na wykonywanie badań laboratoryjnych uniemożliwiły wykonywanie ponownych badań laboratoryjnych celem weryfikacji błędów laboratoryjnych

Ponieważ prolaktyna jak opisano wcześniej może stanowić czynnik mitogenny dla tarczycy sprawdzano zależność poziomu hormonu w surowicy z zaburzeniem struktury tarczycy. Nie wykazano istotnych statystycznie zależności pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a występowaniem wola i hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy.

6.5 Analiza poszczególnych cech nowotworu u chorych przed i po menopauzie

W pracy podzielono chore na raka piersi na dwie grupy w zależności od stanu menopauzalnego i porównano występowanie czynników ryzyka w obu grupach oraz cechy nowotworu i wpływ zaburzeń tarczycowych na guz piersi. Porównując czynniki ryzyka w obu grupach stwierdzono istotną statystycznie różnicę w BMI ($p=0,0104$). Chore przed menopauzą częściej miały masę ciała w granicach normy, natomiast po menopauzie częściej stwierdzano otyłość. Według danych literaturowych po menopauzie znacznie wzrasta częstość otyłości trzewnej, co sprzyja rozwojowi wcześniej opisywanego zespołu metabolicznego (u kobiet po menopauzie do 60%, przed menopauzą około 13%). W Polsce 2/3 kobiet po menopauzie ma nadwagę lub otyłość. Uważa się, że menopauza wiąże się z istotnym wzrostem masy ciała, średnio 2-2,5 kg w ciągu 3 lat.

Dalal i wsp. badali wskaźnik BMI i otyłość trzewną u kobiet w I-III stopnia zaawansowania raka piersi. Przebadali ponad 1200 kobiet po menopauzie i doszli do wniosku, że wysokie BMI lub/i wysoki wskaźnik otyłości trzewnej były niezależnymi czynnikami gorszej odpowiedzi na leczenie przeciwnowotworowe, wiązały się z mniejszym prawdopodobieństwem całkowitej odpowiedzi patologicznej u kobiet leczonych cytostatykami przed operacją oraz większym ryzykiem nawrotu i krótszym czasem przeżycia całkowitego.¹³⁴

Ze względu na ograniczony czas obserwacji chorych, które wyraziły zgodę na udział w badaniu własnym, nie można stwierdzić jakie losy czekają pacjentki z BMI > 24,99 kg/m². Nie brano też pod uwagę kobiet, które przed zabiegiem operacyjnym otrzymywały leczenie, warunkiem włączenia do badania był pierwotnie operacyjny rak piersi. Aby potwierdzić założenia powyższych badaczy należałoby poszerzyć pracę o dłuższą obserwację chorych po zakończonym leczeniu, co może stać się zaczątkiem kolejnych badań.

Nie stwierdzono wpływu ilości zachorowań w rodzinie na ryzyko zachorowania na raka piersi w zależności od statutu menopauzalnego, nie wykazano zależności pomiędzy wielkością guza, stopniem zaawansowania w węzłach chłonnych, rozpoznaniem histopatologicznym, stopniem złośliwości histologicznej oraz cechami immunohistochemicznymi guza. W obu grupach badano wpływ czynników zależnych od tarczycy oraz poziomu prolaktyny w surowicy na ekspresję cykliny D1 i białka p53

w komórkach guza nowotworowego. W grupie przed menopauzą nie wykazano zależności istotnych statystycznie. U chorych po menopauzie wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy poziomem prolaktyny w surowicy a obecnością cykliny D1 w komórkach raka ($p=0,0166$). U 69,4% chorych poziom prolaktyny w surowicy był w granicach normy z obecną ekspresją cykliny D1 a tylko u 9,4% chorych bez ekspresji cykliny D1. Analizowano poziom anty-TPO w surowicy w poszczególnych grupach i nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy wiekiem zachorowania a mianem przeciwciał w surowicy ($p=0,0588$).

Podobne wyniki uzyskano w innej pracy. Badano chore z rozpoznaniem rakiem piersi po menopauzie i szukano zależności między chorobami autoimmunologicznymi tarczycy. Nie stwierdzono zależności istotnej statystycznie pomiędzy podwyższonym poziomem anty-TPO a ryzykiem wystąpienia raka piersi, natomiast wyższe ryzyko wystąpienia raka piersi wiązało się w tej grupie z obniżonym poziomem fT4 w surowicy i stwierdzoną niedoczynnością tarczycy.¹³⁵ Jak wcześniej wspomniano, chore biorące udział w badaniu były w stanie eutyreozy, zatem poziom hormonów fT3 i fT4 mieścił się w zakresie normy. Dane z wywiadu o zaburzeniach czynności tarczycy nie pozwoliły na uzyskanie grup o liczebności, która pozwoliłaby na wiarygodne obliczenia statystyczne.

W pracy nie stwierdzono zależności pomiędzy poziomem przeciwciał przeciwtarczycowych w surowicy a wiekiem zachorowania. Analizując poziom przeciwciał zauważono, że początkowo wzrastał z wiekiem do 50-59 r. ż., gdzie osiągnął maksymalną wartość, a następnie spadał do minimalnych wartości w wieku 70 lat i więcej. Im młodsza pacjentka tym poziom przeciwciał w surowicy był większy, ale bez istotności statystycznej. Wynik ten jest spójny z tym, co zaobserwowali Giani C. i wsp.⁹⁸ Porównując miano przeciwciał w obu grupach – wartości powyżej normy wystąpiły u 18 chorych po menopauzie, a tylko u 2 przed menopauzą i nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między grupami.

Wyodrębniając grupę kobiet z hypoechogennymi zmianami ogniskowymi w usg tarczycy, stwierdzono większą częstość zmian ogniskowych u chorych po menopauzie ($p= 0,048$). Porównując podgrupy badane z grupą kontrolną, znacznie częściej stwierdzano wole w grupie chorych na raka piersi, aniżeli w grupie kontrolnej ($p=0,0014$), co koreluje z opisanymi wcześniej wynikami badań Smitha.

W pracy własnej dla lepszego porównania grupy badanej z grupą kontrolną, podzielono tę ostatnią podobnie jak grupę badaną, w zależności od stanu menopauzalnego i badano podobne cechy strukturalne tarczycy, poziom przeciwciał przeciwtarczycowych i poziom prolaktyny w surowicy. Porównując grupę młodszych kobiet zauważono różnicę w poziomie prolaktyny w surowicy, która u chorych na raka piersi była nieco niższa aniżeli w grupie kontrolnej, ale cały czas w zakresie normy. Pozostałe cechy były nieistotne statystycznie. Analizując podobne cechy u kobiet po menopauzie wykazano istotną statystycznie różnicę w występowaniu wola ($p=0,0051$) oraz hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy ($p=0,043$). Wyniki te korelują z wcześniej opisywanymi danymi z piśmiennictwa.

6.6 Analiza ekspresji receptorów steroidowych w guzie nowotworowym

Badaną grupę podzielono w zależności od ekspresji receptorów steroidowych w guzie i analizowano czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi oraz cechy kliniczne tarczycy. Przyczyną podziału pacjentek na dwie grupy: z guzem receptorowo dodatnim oraz potrójnie ujemnym było odmienne traktowanie tych pacjentek, inne możliwości i potrzeba leczenia, rokowanie oraz inna patogeneza tych guzów (co zostało opisane na początku rozprawy), a także ekspresja receptorów steroidowych w komórkach zmienionej nowotworowo i zdrowej tarczycy (co zostało opisane powyżej). Do analizy nie włączono chorych z guzem bez ekspresji receptorów steroidowych i dodatnim receptorem HER2 ze względu na niewielką liczebność grupy ($n=4$).

W grupie kobiet z potrójnie ujemnym rakiem piersi nie wykazano zależności ani z czynnikami ryzyka wystąpienia raka piersi, ani z badanymi cechami tarczycy. Te same czynniki badano w grupie chorych z nowotworem z ekspresją receptorów steroidowych. Wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy liczbą zachorowań w rodzinie ($p=0,023$). Im więcej zachorowań w rodzinie tym rzadziej występował nowotwór z ekspresją receptorów estrogenowych i progesteronowych.

Wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy ekspresją białka p53 w komórkach nowotworu a występowaniem nowotworu potrójnie ujemnego ($p=0,0061$) oraz nowotworu z ekspresją receptorów estrogenowych i progesteronowych ($p=0,006$). Częstość występowania białka p53 w guzach potrójnie ujemnych była 8,89-krotnie wyższa niż u pozostałych pacjentek i odwrotnie o ponad 80% niższa w grupie ER, PgR-pozytywnej. Nie wykazano korelacji pomiędzy ekspresją cykliny D1 w obu grupach.

Nie znaleziono istotnych statystycznie zależności pomiędzy poziomem przeciwciał anti-TPO i poziomem prolaktyny w surowicy oraz występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy a ekspresją lub brakiem receptorów steroidowych w guzie nowotworowym piersi.

Analizując podgrupy i porównując z grupą kontrolną wykazano istotną statystycznie ($p=0,0054$) zależność pomiędzy występowaniem wola: w grupie chorych z ekspresją receptorów steroidowych 38,89%, w grupie z guzem potrójnie ujemnym 43,48% w stosunku do występowania wola w grupie kontrolnej 10%, co koreluje z wcześniej opisanymi wynikami badań Smitha.

6.7 Analiza mutacji występujących w badanej grupie

Badanie nosicielstwa mutacji genów predysponujących do wystąpienia raka piersi wykonały 32 chore na raka piersi. U 29 chorych nie stwierdzono występowania zmian w genach. Wynik nieprawidłowy był obecny u trzech chorych – mutacja *BRCA1/2* i *NOD2*. Mutacje w w/w genach wiążą się z podwyższonym ryzykiem wystąpienia raka piersi i raka jajnika. Silna predyspozycja do raka piersi/ jajnika jest najczęściej powiązana z mutacjami *BRCA1* lub *BRCA2* i ujawnia się jako zespół: zespół dziedzicznego raka piersi specyficznego narządowo (hereditary breast cancer – site specific; HBC-ss), dziedzicznego raka piersi – jajnika (hereditary breast-ovarian cancer; HBOC) i dziedzicznego raka jajnika specyficznego narządowo (hereditary ovarian cancer; HOC). Kryteria umożliwiające rozpoznanie rodzin z tymi zespołami są oparte na cechach rodowodowo – klinicznych, m.in. występowanie raka piersi lub jajnika wśród krewnych I lub II stopnia, rozpoznanie u mężczyzny raka piersi, wystąpienie obustronnego raka piersi, raka piersi i jajnika u jednej osoby, zdiagnozowanie raka piersi przed 40 r. ż., wystąpienie raka piersi rdzeniastego lub atypowego rdzeniastego.¹³⁶ U trzech chorych, które zgłosiły się do Poradni Genetycznej z grupy badanej stwierdzono brak wskazań do wykonania badań w kierunku nosicielstwa genów predysponujących do wystąpienia raka piersi/ jajnika.

Nosicielki mutacji genu *BRCA1* mają około 80% ryzyko rozwoju raka piersi i około 40% ryzyko rozwoju raka jajnika. W ośrodku szczeciński zaobserwowano, że ryzyko zachorowania na raka piersi jest blisko 2- krotnie wyższe u nosicielek 5382insC w porównaniu z ryzykiem u nosicielek 4153delA. Najmniejsze ryzyko zachorowania mają nosicielki mutacji w eksonie 2. – 185delAG. Średni wiek diagnozowania raków

piersi u nosicielek mutacji *BRCA1* to 42-45 lat, a jajnika powyżej 50 r. ż. Często stwierdza się obustronne raki piersi (18-32%). Guz piersi wykazuje wysoki stopień złośliwości histologicznej G3 oraz często brak ekspresji receptorów steroidowych.¹³⁶

U chorej na raka piersi, u której stwierdzono mutacje w genie *BRCA1* zdiagnozowano raka NST, NHG3 z wysokim indeksem proliferacji Ki67 80% i niewielką ekspresją receptorów estrogenowych (około 5%), bez PgR i HER2, wiek rozpoznania nowotworu to 65 lat. Ponad 20 lat wcześniej stwierdzono u niej raka jajnika w stopniu zaawansowania IA.

Ryzyko raka piersi u nosicielek mutacji *BRCA2* wynosi 31-56% , a raka jajnika 11-27%. W Polsce według danych literaturowych mutacje genu *BRCA2* u chorych na raka piersi występują u około 3-5%. W populacji chorych kobiet przed 50 r.ż. zmiana w genie *BRCA2* występuje u około 6%. Badania szczecińskiego ośrodka wykazały, że w rodzinach, w których rak piersi diagnozowany był przed 50 r. ż i rak żołądka u mężczyzn przed 55 r. ż. mutacja *BRCA2* występowała w 10-20%. Mutacje *BRCA2* wiążą się także ze zwiększeniem ryzyka występowania raka żołądka, jelita grubego, trzustki oraz raka piersi u mężczyzn.¹³⁶ Nosicielki mutacji C5972T mają przed 50 rokiem życia większe ryzyko wystąpienia raka przedinwazyjnego (DCIS) o 3% u heterozygot i o 5% u homozygot.

Zmiana w genie *NOD2* 3020insC wiąże się z podwyższonym ryzykiem rozwoju raka piersi, szczególnie w młodym wieku. Szacuje się około 5-krotny wzrost zachorowania na raka piersi przed 50 r.ż. Najczęściej histopatologicznie rozpoznawany jest rak typu NTS z komponentą DCIS. Zmianom często towarzyszą mikrozwapnienia, stąd podstawowym badaniem profilaktycznym w tej grupie jest mammografia. Nosicielstwo tej mutacji zwiększa także ryzyko wystąpienia raka jajnika, szczególnie o histologii *cystadenocarcinoma* oraz zmian o granicznym potencjale złośliwości *bordenline malignancy tumors*. Występuje u 12 % wszystkich raków płuc oraz u około 15% wszystkich raków jelita grubego, zwiększając ryzyko zachorowania na ten nowotwór około 2-krotnie po 60 r. ż.¹³⁶

Białko *NOD2* jest regulatorem układu odpornościowego, wiążąc się z receptorem TLR2, szczególnie na terenie układu pokarmowego i odpowiada za wygaszanie stanu zapalnego.

Chora na raka piersi, u której wykryto mutację w genie *NOD2* zachorowała w 48 r.ż. Histopatologicznie rozpoznano pT1c, pN0, NST, NHG2, z ekspresją receptorów

steroidowych, bez obecności HER2. W badaniu mammograficznym nie opisano mikrozwapnień.

Wszystkie chore, u których stwierdzono mutację podawały niedoczynność tarczycy w wywiadzie (n=3), u wszystkich stwierdzono podwyższony poziom przeciwciał anty-TPO w surowicy, a w przypadku mutacji *BRCA1/2* w badaniu ultrasonograficznym stwierdzono powiększenie tarczycy.

Grupa chorych na raka piersi, u których stwierdzono mutacje w genach związanych z wysokim ryzykiem wystąpienia nowotworu piersi była za mała, by można przeanalizować cechy guza w zależności od czynności i struktury tarczycy. W piśmiennictwie nie znaleziono danych, które potwierdzałyby takie zależności.

Wśród chorych na raka piersi coraz częściej obserwuje się obecność chorób tarczycy. W pracy przedstawiono większą częstość występowania wola u kobiet z rakiem piersi, aniżeli w grupie kontrolnej. Często występował podwyższony poziom przeciwciał anty-TPO w surowicy, chociaż nie stwierdzono zależności istotnej statystycznie. Natomiast niski poziom przeciwciał w surowicy korelował z występowaniem receptorów progesteronowych w guzie. W praktyce klinicznej obserwuje się chore po leczeniu radykalnym raka piersi, które rozwijają niedoczynność tarczycy, często na podłożu autoimmunologicznym. Dość zaskakującym odkryciem był wyższy indeks proliferacji Ki67 w komórkach raka u kobiet ze stwierdzonymi hypoechoogennymi zmianami ogniskowymi w usg tarczycy.

Wzajemny wpływ tych schorzeń nie jest jeszcze wyjaśniony i wymaga dalszych poszerzonych badań na zdecydowanie szerszej populacji kobiet zarówno chorych na raka piersi jak i grupy kobiet ze schorzeniami tarczycy oraz dłuższego czasu obserwacji. W obecnej pracy przedstawiono niektóre czynniki o jeszcze niewyjaśnionej roli w patogenezie raka piersi i hipotetyczne teorie, które mogłyby zapoczątkować szersze badania w tym kierunku.

Podsumowując, postuluje się za cytowanymi wcześniej badaczami konieczność wykonywania badań przesiewowych w kierunku niedoczynności tarczycy u kobiet po leczeniu radykalnym raka piersi, co umożliwi wczesne wdrożenie leczenia ewentualnej niedoczynności tarczycy.

Przebyte choroby tarczycy, występowanie wola, a w szczególności obecność hypoechogennych zmian ogniskowych w tarczycy powinny skłaniać do większej czujności pod kątem wykrycia zmian w gruczole piersiowym.

Chore na raka piersi, zwłaszcza te z wysokim indeksem proliferacji Ki67 w guzie nowotworowym powinny mieć wdrożoną diagnostykę w kierunku chorób tarczycy celem wczesnego wykrycia zmian ogniskowych, ich monitorowania i w razie konieczności leczenia.

8. WNIOSKI

1. Zaburzenia czynności tarczycy występowały częściej u chorych na raka piersi niż w ogólnej populacji (16% vs 5%), ale zależność ta nie miała cech istotności statystycznej.
2. Większa częstość występowania wola u chorych na raka piersi (szczególnie po menopauzie), aniżeli w grupie kontrolnej oraz istotnie częstsze występowanie hypoechogennych zmian ogniskowych w badaniu ultrasonograficznym tarczycy sugerują celowość szerszych badań nad zakwalifikowaniem powyższych do czynników zwiększających ryzyko zachorowania na raka piersi.
3. Istotna statystycznie zależność pomiędzy obecnością hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy, a wysokim stopniem proliferacji Ki67 nowotworu piersi powinna skłaniać do bardziej intensywnego monitorowania kobiet ze zmianami ogniskowym w gruczole tarczowym pod kątem wystąpienia raka piersi.
4. Pomimo istotnej zależności pomiędzy obecnością białka p53 w komórkach raka, a stopniem złośliwości histologicznej (G), wysokim indeksem proliferacji (Ki67) i ekspresją receptorów steroidowych (ER, PgR) oraz ekspresją cykliny D1, a obecnością receptorów steroidowych w guzie i poziomem prolaktyny w surowicy chorych na raka piersi, nie stwierdzono związku obu badanych białek z poziomem anty-TPO w surowicy, obecnością wola, czy hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy.
5. Obserwowana słaba ujemna zależność pomiędzy wybranymi parametrami: niższym poziomem przeciwciał anty-TPO w surowicy, a ekspresją receptorów progesteronowych w guzie nowotworowym piersi oraz poziomem prolaktyny w surowicy, a występowaniem raka przewodowego typu NST wymaga przeprowadzenia badań na większej grupie chorych.
6. Zbliżony poziom przeciwciał anty-TPO w surowicy w grupie badanej i kontrolnej, ale wyższy niż w ogólnej populacji (20% vs 5%) może być cechą charakterystyczną dla kobiet z regionu Wielkopolski.
7. Liczba trzech chorych na raka piersi z potwierdzoną mutacją genetyczną nie pozwala na wnioskowanie statystyczne, chociaż u wszystkich występowała niedoczynność tarczycy w wywiadzie oraz podwyższony poziom przeciwciał anty-TPO w surowicy.

9. STRESZCZENIE

Wstęp: Rak piersi jest najczęstszym nowotworem występującym u kobiet. Coraz częściej obserwuje się go u kobiet po leczeniu lub w trakcie terapii chorób tarczycy, a zaburzenia czynności tarczycy coraz częściej pojawiają się u chorych po leczeniu radykalnym raka piersi

Cel pracy: Celem pracy była ocena zaburzeń czynności i struktury tarczycy u chorych na raka piersi.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiły chore przyjęte do Oddziału Chirurgii Onkologicznej Kliniki Onkologii w Poznaniu z rozpoznaniem pierwotnie operacyjnego nowotworu piersi. Grupę kontrolną – kobiety z prawidłowym wynikiem badań obrazowych piersi, które w wywiadzie nie podawały chorób tarczycy. Wszystkim badanym oznaczano stężenie: TSH, fT4, fT3, prolaktyny oraz poziom przeciwciał anti-TPO i TRAK w surowicy oraz wykonywano badanie usg tarczycy. Chorym na raka piersi, poza typowymi badaniami histopatologicznymi i immunohistochemicznymi, oznaczano ekspresję białka p53 i cykliny D1. Każda chora z grupy badanej miała możliwość przeprowadzenia konsultacji genetycznej.

Analizę statystyczną wykonano w Zakładzie Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Wyniki: Analiza czynników ryzyka wystąpienia raka piersi w grupie badanej wykazała wpływ wieku pierwszej miesiączki na wielkość guza ($p=0,33$) oraz związek poronień w wywiadzie, ze stopniem zaawansowania nowotworu w węzłach chłonnych ($p=0,03$). Częstość zaburzeń czynności tarczycy w wywiadzie u chorych na raka piersi była znacznie wyższa niż w populacji ogólnej, odpowiednio nadczynności: 9% vs 1,6%-2%, niedoczynności: 7% vs 1-6%. Różnice te nie były istotne statystycznie. Wykazano zależność statystyczną pomiędzy zaburzeniem struktury tarczycy a występowaniem cukrzycy typu 2. ($p=0,015$) oraz poziomem przeciwciał anti-TPO w surowicy a występowaniem guza jajnika ($p=0,043$). U wszystkich chorych na raka piersi poziom przeciwciał TRAK w surowicy był w granicach normy.

Wykazano istotną zależność pomiędzy ekspresją białka p53 a stopniem złośliwości histologicznej ($p=0,001$), indeksem proliferacji nowotworu Ki67 ($p=0,00006$) oraz ekspresją receptorów steroidowych ER, PgR (odpowiednio $p=0,004$, $p=0,0001$). Stwierdzono zależność pomiędzy obecnością cykliny D1 w komórkach nowotworowych, a ekspresją receptorów steroidowych ER i PgR (odpowiednio

$p=0,003$, $p=0,0006$). Wykazano istnienie słabej ujemnej zależności pomiędzy poziomem anty-TPO w surowicy a ekspresją receptorów progesteronowych w komórkach nowotworu ($R= -0,216158$; $p=0,032$). U chorych na raka piersi z prawidłowym poziomem przeciwciał w surowicy, znacznie częściej obserwowano obecność cykliny D1 i brak białka p53 w komórkach raka (odpowiednio 71,60% i 67,90%), chore z podwyższonym poziomem przeciwciał – odpowiedni 14,81% i 13,58%. Odwrotnie (ujemna cyklina D1 i obecność białka p53) przy przeciwciałach powyżej normy – odpowiednio 3,7% i 4,94%; przy prawidłowych przeciwciałach – 9,88% i 13,58%. Wartości te nie były istotne statystycznie.

Badając cechy strukturalne tarczycy i ich wpływ na poszczególne cechy nowotworu zauważono, że chore na raka piersi z prawidłową strukturą tarczycy miały guzy o profilu: białko p53 negatywne (54,32%), cyklina D1 pozytywna (59,26%). Wykazano istnienie słabej zależności między występowaniem hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy a wysokim stopniem proliferacji Ki67 ($p=0,025$). U chorych na raka piersi, u których w badaniu usg tarczycy stwierdzono hypoechogenne zmiany ogniskowe, obserwowano białko p53 pozytywnie i brak cykliny D1 w komórkach raka.

Istotność statystyczną ($p=0,009$) stwierdzono pomiędzy ekspresją cykliny D1 w komórkach nowotworu a poziomem prolaktyny w surowicy. W 69,51% nowotworów z ekspresją cykliny D1 i 8,54% bez jej obecności u chorych poziom prolaktyny w surowicy był w normie.

Stwierdzono zależność statystyczną pomiędzy BMI w badanych grupach ($p=0,01$). Wykazano istnienie zależności pomiędzy ekspresją cykliny D1 a poziomem prolaktyny w surowicy w grupie chorych po menopauzie ($p=0,016$). Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w występowaniu hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy zależnie od stanu menopauzalnego. Porównując grupę badaną z grupą kontrolną zauważono istotną statystycznie różnicę w występowaniu wola mięszonego ($p=0,0014$), ale nie stwierdzono zależności w występowaniu wola guzkowego ($p=0,123$). W grupie kobiet przed menopauzą (grupa badana i kontrolna) stwierdzono istotną statystycznie różnicę w poziomie prolaktyny w surowicy ($p=0,028$), nie stwierdzono różnic w występowaniu wola i hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy. U kobiet po menopauzie (grupa badana i kontrolna) wykazano istotną statystycznie różnicę w obecności wola i zmian ogniskowych w usg tarczycy (odpowiednio $p=0,005$ i $p=0,04$), nie było różnic w poziomie prolaktyny w surowicy.

Grupę badaną podzielono w zależności od ekspresji receptorów steroidowych. W grupie z ekspresją receptorów steroidowych wykazano zależność pomiędzy ilością zachorowań w rodzinie ($p=0,023$). Analizowano ekspresję białka p53 w komórkach guza w obu grupach i wykazano istotną różnicę w grupie potrójnie negatywnej ($p=0,0061$) oraz w grupie ER, PgR dodatniej ($p=0,006$), nie stwierdzono różnic w obu grupach w ekspresji cykliny D1. Porównując obie grupy z grupą kontrolną wykazano istotną różnicę w występowaniu wola u pacjentek z rozpoznaniem raka ($p=0,005$).

Wśród chorych na raka piersi nie wyodrębniono odpowiedniej liczebnie podgrupy nosicielek mutacji genów *BRCA1/2* i *NOD2*, co nie pozwoliło na analizę poszczególnych cech zależnych od tarczycy i cech guza nowotworowego w takiej podgrupie.

Wnioski: Zaburzenia czynności tarczycy w wywiadzie występowały znacznie częściej u chorych na raka piersi niż w ogólnej populacji (16% vs 5%). Wyższy poziom przeciwciał anti-TPO w surowicy w obu grupach (badanej i kontrolnej) niż w danych literaturowych (20% vs 5%) może być cechą charakterystyczną dla kobiet z regionu Wielkopolski.

Większa częstość wola mięszzowego i guzkowego u chorych na raka piersi, aniżeli w grupie kontrolnej może sugerować celowość badań nad zakwalifikowaniem powyższych do czynników zwiększających ryzyko zachorowania na raka piersi.

Chore na raka piersi, u których stwierdzono obecność zmian ogniskowych w usg tarczycy miały wyższy stopień proliferacji nowotworu Ki67, co powinno skłonić do bardziej intensywnego monitorowania kobiet ze zmianami ogniskowymi w gruczole tarczowym pod kątem wystąpienia raka piersi.

Nie potwierdzono związku z ekspresją cykliny D1 i białka p53 z poziomem anti-TPO w surowicy, obecnością wola i hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy. Chore z wolem miały w zdecydowanej przewadze profil: białko p53 negatywne, cyklinaD1+.

Potwierdzenia w dalszych badaniach wymaga uzyskana w pracy słaba ujemna zależność pomiędzy niższym poziomem przeciwciał anti-TPO w surowicy a ekspresją receptorów progesteronowych w guzie oraz poziomem prolaktyny i występowaniem raka typu NST. Większa grupa badana i dłuższy czas obserwacji mogłaby pozwolić na sformułowanie pewniejszych wniosków.

U wszystkich chorych z obecną mutacją *BRCA1/2* i *NOD2* w wywiadzie odnotowano niedoczynność tarczycy, a w badaniach laboratoryjnych podwyższone miano

przeciwciał anty-TPO w surowicy, jednak grupa była zbyt mała (n=3), aby wyciągnąć wnioski statystyczne.

Niepodważalny jest fakt, że pacjentki z obecnością wola tarczycy chorują na raka piersi zdecydowanie częściej, aniżeli kobiety z prawidłową strukturą tarczycy. Powinno to zwrócić szczególną uwagę klinicystów na tę grupę chorych i zintensyfikować badania przesiewowe w kierunku raka piersi, a wyjątkową czujność zachować u kobiet z obecnością hypoechogennych zmian ogniskowych w usg tarczycy, gdyż stopień proliferacji nowotworu Ki67, był w tej grupie zdecydowanie wyższy niż u pozostałych pacjentek, a tym samym nowotwór ma prawo do znacznie szybszego rozwoju.

Na podstawie przedstawionego piśmiennictwa można również wysunąć wniosek, iż pacjentki po leczeniu radykalnym raka piersi powinny być poddane badaniom przesiewowym w kierunku niedoczynności tarczycy, dzięki czemu, wcześniejsze wykrycie i wczesna suplementacja fT4 może zapobiegać idącym za tym powikłaniom jak depresja, przyrost masy ciała, zaburzenia sercowo-naczyniowe. Podobnie pacjentki po leczeniu raka tarczycy powinny być poddane intensywniejszemu skriningowi w kierunku raka piersi ze względu na opisane wcześniej korelacje.

10. ABSTRACT

Introduction: Breast cancer is the most common cancer occurring in women. Most often this type of cancer is seen in women after or during thyroid disorder therapy, and thyroid disorder is often seen in women after radical breast cancer treatment.

Material and Methods: The study group were women diagnosed with early stage of breast cancer, admitted to the Department of Surgical Oncology, Chair of Oncology in Poznan. The control group consists of women with normal breast imaging, which in the interview do not mention thyroid disease. All patients had blood samples taken to analyse the existence of TSH, fT4, ft3, prolactin hormones, as well as evaluation of the anti-TPO and TRAK levels and performed ultrasound examination of the thyroid gland. Patients with breast cancer, in addition to conventional histological and immunohistochemical studies were examined for the expression of p53 protein and cyclin D1. Each patient in the study group had an opportunity to perform genetic counseling.

Statistical analysis was performed in the Department of Computer Science and Statistics, University of Medical Sciences in Poznan.

Results: Analysis of risk factors for breast cancer in the study group showed the effect of age at menarche on tumor size ($p = 0.33$) and miscarriage in the time of the interview, and the stage of cancer in the lymph nodes ($p = 0.03$). The incidence of thyroid dysfunction in patients with breast cancer was significantly higher than in the general population, respectively hyperthyroidism 9% vs 1.6% -2%, hypothyroidism 7% vs 1-6%. These differences were not statistically significant.

The study proved the relationship between disorders of thyroid and diabetes type 2. ($p=0.015$) and the level of anti-TPO antibodies in the serum and the presence of an ovarian tumor ($p = 0.043$).

In all patients with breast cancer, TRAK antibody levels in the serum were within norms.

An analysis of the tumor immunohistochemistry showed a significant correlation between the expression of p53 and histological grade ($p = 0.001$), index of tumor proliferation Ki67 ($p = 0.00006$) and the expression of steroid receptors ER, PgR (respectively $p = 0.004$, $p = 0.0001$). The study also showed relationship between the

presence of cyclin D1 in malignant cells and expression of steroid receptors ER and PgR ($p = 0.003$, $p = 0.0006$).

This proved the existence of a weak reverse dependence on the expression of the progesterone receptor in breast tumor and the level of anti-TPO antibodies in the serum ($R = -0.216158$, $p = 0.032$).

In patients with breast cancer and with levels of antibodies in serum within normal significantly more often was observed the presence of cyclin D1 and absence of p53 protein in cancer cells (respectively 71,6% and 67,9%). In women with breast cancer with elevated antibody levels - 14,81% and 13,58%. In reverse, negative cyclin D1 and presence of p53 protein, in antibodies above norm, was present 3,7% and 4,94%. With antibodies within norms - 9,88% and 13,58%. These values were not statistically significant.

Examination of structural features of thyroid gland and their impact on individual features of tumor it was noted that women with breast cancer, with correct structure of thyroid gland had tumors of profile: protein p53 negative 54,32%, cyclin D1 positive 59,26%.

Showed a small correlation between the existence of hypoechoic nodule seizure changes in thyroid ultrasound and a high degree of proliferation Ki67 ($p=0,025$). In patients with breast cancer with changes in hypoechoic nodule seizure, existence of p53 protein was seen and absence of cyclin D1 in tumor cells.

Statistical significance ($p=0,009$) was found between the expression of cyclin D1 in tumor cells and prolactin levels in serum. In 69,51% of tumors with expression of cyclin D1 and 8,54% without its expression, the prolactin levels in serum in patients were within norm.

The study group was divided in menopausal status and a statistical dependence was found between BMI within study groups ($p=0,01$). The study showed the existence of correlation between expression of cyclin D1 and prolactin levels in serum in study group after menopause ($p=0,016$). We found a significant statistical difference in occurrence of hypoechoic changes in ultrasound of thyroid gland in both groups.

When comparing the study group and control group a statistically significant difference was found in occurrence of goiter $p=0,0014$, but was not found statistically significant difference of goiter nodular $p=0,123$. In group of patients before menopause (both study group and control group) was found a statistically significant difference in

prolactine levels in serum ($p=0,028$), differences in occurrence of goiter or hypoechoic in ultrasound of thyroid gland. In group of patients after menopause was found a statistically significant difference in occurrence of goiter or hypoechoic in ultrasound of thyroid gland (respectively $p=0,005$ and $p=0,04$), there were no differences in prolactine levels in serum.

The study group was divided in dependence of expression of steroid receptors. In the group with steroid receptors expression, a correlation in amount of tumor occurrences in family ($p=0,023$). Analysis of expression of the p53 protein in cancer cells in both groups and showed a significant difference in triple negative group ($p=0,0061$) and in group ER, PgR positive ($p=0,006$), there were not found differences of expressed cyclin D1 in either groups. Comparing both groups with the control group, showed a significant difference in occurrence of goiter in patients with cancer diagnosis ($p=0,005$).

Among patients with breast cancer, the test did not distinguish a subgroup of carriers of gene mutation *BRCA1/2* and *NOD2*, which did not facilitate analysis of individual features dependant on thyroid and tumor in such group.

Conclusions: The occurrence of thyroid gland disease in the interviewed group is seen significantly more often in patients with breast cancer than in the general population (16% vs 5%). The higher level of anti-TPO antibody in serum in both groups (study group and control group) than in general population according to literature data (20% vs 5%) could be characteristic to women in Wielkopolska region in Poland.

Goiter and hypoechoic focal lesions in thyroid ultrasound among patients with breast cancer occurs definitely more often than in control group, which could suggest desirability of research to qualify the above written factors as factors increasing the risk of developing breast cancer. Patients with diagnosed focal lesions in thyroid ultrasound had a higher degree of proliferation in Ki67, which should induce a more intensive monitoring of women with focal lesions in thyroid gland for the occurrence of breast cancer.

There was no association of p53 protein in tumor cells and cyclin D1 expression with the level of anti-TPO antibodies in the serum, the presence of goitre and hypoechoic focal lesions in thyroid ultrasound.

Patients with goitre had the vast majority the profile: p53 protein negative, cyclin D1+. Verification is also needed for described weak inverse correlation between lower level of anti-TPO antibodies in serum and expression of progesterone receptors in tumor as

well as prolactin level and occurrence of cancer type NST. Findings of this study should become the starting point for expanding the study group and extension of observation time, which could lead to more precise conclusions.

Results of genetic research do not allow for statistical conclusion (n=3), although all patients had hypothyroidism and elevated level of anti-TPO antibodies.

It is an irrefutable fact that patients with presence of goitre in thyroid gland get cancer more often, than women with a proper structure of the thyroid gland. This should make clinicians pay special attention to this group of patients and to intensify screening for breast cancer, and exceptional vigilance to keep women out of the presence of hypoechoic focal lesions in ultrasound of the thyroid, because the level of proliferation of tumor Ki67 in this group was significantly higher than in other patients and thus the tumor is entitled to a much faster development.

This study can also draw a conclusion that patients after radical treatment of breast cancer should undergo screening for hypothyroidism, so early detection and early supplementation of fT4 can prevent complications like depression, weight gain and cardiovascular disorders. Similarly, a patient after thyroid cancer treatment should be more actively screened for breast cancer due to the correlations previously described.

11. PIŚMIENICTWO

- ¹ Wojciechowska U., Didkowska J., Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2012 roku. Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie; „Rejestracja Nowotworów Złośliwych” Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych. Warszawa 2014.
- ² Krajowy Rejestr Nowotworów. Zakład Epidemiologii i Prewencji Nowotworów Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa. Raport na podstawie danych z lat 2008-2010. www.onkologia.org.pl.
- ³ Hoffman D.A., McConahey W.M., Brinton L.A., Fraumeni J.F.Jr: Breast cancer In hypothyroid women Using thyroid supplements. *JAMA* 1984; 251 (5): 616-9.
- ⁴ Hedley A.J., Jones S.J., Spiegelhalter D.J. Clements P., Bewsher P.D. et al., Breast cancer in thyroid disease: fact or fallacy? *Lancet* 1981;17;1(8212): 131-3.
- ⁵ Joensuu H. , Viikari J . Thyroid function after postoperative radiation therapy In patients with breast cancer. *Acta Radiol Oncol.* 1986; 25 (3): 167-70.
- ⁶ Goldman M.B., Monson R.R. , Maloof F . Benign thyroid diseases and the risk of death from breast cancer. *Oncology* 1992; 49 (6): 461-6.
- ⁷ Shering S.G., ZBar A.P , Moriarty M. , McDermott E.W. , O'Higgins N.J. , Smyth P.P. Thyroid disorders and breast cancer. *Eur J Cancer Prev.* 1996; 5 (6): 504-6.
- ⁸ Vassipoulou-Sellin R., Palmer L., Taylor S, Cooksley C.S., Incidence of breast carcinoma in women with thyroid carcinoma. *Cancer* 1999; 85: 696-705.
- ⁹ Li Ci, Rossing M.A , Voigt L.F. , Daling J.R. Multiple primary breast and thyroid cancers: role of age at diagnosis and cancer treatments (United States). *Cancer Causes Control* 2000; 11: 805-11.
- ¹⁰ Chen A.Y., Levy L., Goepfert H., Brown B.W., Spitz M.R., Vassilopoulou-Sellin R. The development of breast carcinoma in women with thyroid carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 225-31.
- ¹¹ Mizia-Stec K., Zych F., Widala E. Mastopathy and simple goiter mutual relationships. *Przegl. Lek.* 1998; 55: 250-8.
- ¹² Ginsburg E., Vonderhaar B.K. Prolactin synthesis and secretion by human breast cancer cells. *Cancer Res.*, 1995; 55: 2591-2595.
- ¹³ Tworoger S.S., Eliassen A.H., Sluss P., Hankinson S.E.: A prospective study of plasma prolactin concentration and risk of premenopausal and postmenopausal breast cancer. *J Clin Oncol*, 2007; 25: 1482-1488.
- ¹⁴ Fenton S.E., Sheffield L.G.: Control of mammary epithelial cell DNA synthesis by epidermal growth factor, cholera toxin, and IGF-1: specific inhibitory effect of prolactin on EGF-stimulated cell growth. *Exp Cell Res*, 1994; 210: 102-106.
- ¹⁵ Clapp C., Martial J.A., Guzmán R.C., Rentier-Delure F., Weiner R.I.: The 16-kilodalton N-terminal fragment of human prolactin is a potent inhibitor of angiogenesis. *Endocrinology*, 1993; 133: 1292-1299.
- ¹⁶ Turkington R.W., Underwood L.E., Van Wyk J.J.: Elevated serum prolactin levels after pituitary-stalk section in man. *N Engl J Med*, 1971; 285: 707-710.

-
- ¹⁷ Wang D.Y., Hampson S., Kwa H.G., Moore J.W., Bilbrook R.D., Fentiman I.S., Hayward J.L., King R.J., Illis R.R., Rubens R.D.: Serum prolactin levels in women with breast cancer and their relationship to survival. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1986; 22: 487-492.
- ¹⁸ Hennighausen L., Robinson G.W., Wagner K.U., Liu W.: Prolactin signaling in mammary gland development. *J Biol Chem*, 1997; 272: 7567-7569.
- ¹⁹ Świst K., Pajtasz-Piasecka E.: Wpływ czynników transkrypcyjnych na różnicowanie limfocytów T CD4+. *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 2011; 65: 414-426.
- ²⁰ Skokowskai J., Jankau J., Renkielska A., Jaśkiewicz J.: 500 lat krzywej uczenia się chirurgii raka piersi. *Forum Medycyny Rodzinnej* 2011, tom 5, nr 2, 123–129.
- ²¹ Apantaku L.M: Breast-conserving surgery for breast cancer. *Am Fam Physician* 2002; 66: 2271-2278.
- ²² Early Breast Cancer Trialists' Colaborative Group. Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic or immune therapy: 133 randomised trials involving 31000 recurrences and 24000 deaths among 75000 women. *Lancet* 1992; 339: 71-85.
- ²³ Francis P.A., Regan M.M., Fleming G.F., et al. Adjuvant Ovarian Suppression in Premenopausal Breast Cancer. *N Engl J Med* 2015; 372:436-46.
- ²⁴ Garcia-Closas M., Brinton L.A., Lissowska J. i WSP. Established breast cancer risk factors by clinically important tumor characteristics. *Br J Cancer* 2006; 95: 123-129.
- ²⁵ Park S., Garcia-Closas M., Lissowska J. i wsp. Intrauterine environment and breast cancer risk in population-based case-control study in Poland. *Int J Cancer* 2006;119:2136-2141.
- ²⁶ Krzakowski M., Warzocha K. i wsp. *Onkologia w Praktyce Klinicznej. Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych 2013 rok. Rak piersi. Poradnictwo genetyczne.*
- ²⁷ Kreige M., Brekelmans C.T., Obdeijn I.M., Boetes C., Zonderland H.M., i wsp.: Factors affecting sensitivity and specificity of screening mammography and MRI in women with an inherited risk for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 100(1):109-119.
- ²⁸ Sunil R. Lakhani, Ian O. Ellis, Stuart J. Schnitt, Tan P.H., Marc J.van de Vijver. WHO Classification of Tumours of the Breast. IARC, Lyon 2012.
- ²⁹ Elston C.W., Ellis I.O., Pthological prognostic factors In breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long – term fallow- up. *Histopathology* 1991; 19: 403-410.
- ³⁰ Krzakowski M., Warzocha K., Jassem J. i wsp. *Onkologia w Praktyce Klinicznej. Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych 2013 rok. Rak piersi. Raki przedinwazyjne.*
- ³¹ Wolff A.C., Hammond M.E., Hicks D.G. et al. American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;31:3997-4013.
- ³² Hayes D.F. Prognostic and predictive factors revisited. *The Breast* 2005; 14: 493-499.

-
- ³³ Rosen P.P., Groshen S. Factors influencing survival and prognosis In Early breast carcinoma (T1N0Mo-T1N1M0). Assessment of 644 patients with median follow-up of 18 years. *Sur Clin North Am* 1990; 70:937-962.
- ³⁴ Golhrish A., Ingle J.N., Gelber R.D., Coates A.S., Thurlimann B. Et al. Threshold criteria for choice of therapy the main questions Consensus of International Experts in St.Gallen discussed during Conference "Primary Therapy of Early Breast Cancer 2009." *Ann Oncol* 2009 Reprint.
- ³⁵ Wełnicka-Jaśkiewicz M. Wczesny rak piersi – uzupełniające leczenie systemowe. *Onkologia po Dyplomie*, 2015; 5: 7-11.
- ³⁶ Kawiak J., Zabel M. *Seminaria z cytofizjologii. Kancerogeneza*. 2002; Rozdział 13: 345-388.
- ³⁷ Gonzales-Sancho J.M, Figueroa A, Lopez-Barahona M., Lopez E., Beug H., Munoz A. Inhibition of proliferation and expression of T1 and cyclin D1 genes by thyroid hormone in mammary epithelial cells. *Mol Carcinog* 2002;34:164.
- ³⁸ Janik-Papis K., Błasiak J. Molekularne wyznaczniki raka piersi. Inicjacja i promocja – część I. *Nowotwory Journal of Oncology* 2010; 3:236-247.
- ³⁹ Kawiak J., Zabel M. *Seminaria z cytofizjologii. Cząsteczki adhezyjne i składniki substancji międzykomórkowej*. 2002; Rozdział 11: 285-316.
- ⁴⁰ Januszewicz W., Kokot F., Czekalski S., Syrenicz A., i in. *Interna. Choroby układu wydzielenia wewnętrznego. Tom 3. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002.*
- ⁴¹ Dinda S, Sanchez A., Moudgil V. Estrogen-like effect of thyroid hormone on the regulation of tumor suppressor proteins, p53 and retinoblastoma, in breast cancer cells. *Oncogene* 2002;21:761-8.
- ⁴² Jerzak J.K., Sukhbinder K., Dhesy-Thind, Bane A. Prognostic potential of thyroid receptor TR alfa 2 in breast cancer. *J Clin Oncol* 2014; 32.
- ⁴³ Jerzak J.K., Cockburn J., Russell Staw G., Hallett R., Hassell J., Pritchard K.I. et al. Expression of thyroid hormone receptor alpha (THR alpha) isoforms in triple negative breast cancer (TNBC). *J Clin Oncol* 2015; 33.
- ⁴⁴ Nou E., Kwong N., Alexander L.K. i wsp.: Determination of the optimal time interval for repeat evaluation after a benign thyroid nodule aspiration. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014; 99: 510–516.
- ⁴⁵ Burguer, Gharib; *Endocrinol Matab Clin North Am* 2000; 29: 187-203.
- ⁴⁶ Smith-Bindman R., Lebda P., Feldstein V.A i wsp.: Risk of thyroid cancer based on thyroid ultrasound imaging characteristics: results of a population-based study. *JAMA Intern Med*, 2013; 173: 1788–1796.
- ⁴⁷ Kim H.G., Moon H.J., Kwak J.Y. i wsp.: Diagnostic accuracy of the ultrasonographic features for subcentimeter thyroid nodules suggested by the Revised American Thyroid Association Guidelines Thyroid, 2013; 23: 1583–1589.
- ⁴⁸ Lewiński A. *Endokrynologia postępy 2013/2014. Tarczyca postępy 2013/2014. Med. Prakt.*; 2014; 7-8: 28-44.

-
- ⁴⁹ Adamczewski Z., Lewiński A.: Proposed algorithm for management of patients with thyroid nodules/focal lesions, based on ultrasound (US) and fine-needle aspiration biopsy (FNAB); our own experience. *Thyroid Res*, 2013; 6: 6.
- ⁵⁰ Górnicka B. Trudności i pułapki w diagnostyce cytologicznej zmian ogniskowych tarczycy *Onkologia po Dyplomie* 2015, 5: 46-50.
- ⁵¹ Szczeklik A. Jarzab B., Lewiński A., Płaczkiwicz-Jankowska E.: *Choroby wewnętrzne*, tom I, *Choroby tarczycy* 2005; IV, 1033-1082.
- ⁵² Komorowski J., Badanie nad wpływem tyreoliberyny (TRH) oraz hormonów glikoproteinowych przysadki (TSH, LH, FSH) na czynność układu immunologicznego człowieka. Praca habilitacyjna. Instytut Endokrynologii. 13.12.1994.
- ⁵³ Krzakowski M., Warzocha K., Jassem J. i wsp. *Onkologia w praktyce klinicznej. Rak piersi*. 2013; 215-218.
- ⁵⁴ Lewandowski J.: Epidemiologia nadciśnienia tętniczego oraz badanie chorego na nadciśnienie tętnicze. *Przewodnik Lekarza* (online) 4/2010.
- ⁵⁵ Begum P, Richardson C.E, Carmichael A.R. Obesity in post menopausal women with a family history of breast cancer: prevalence and risk awareness. *Int Semin Surg Oncol* 2009; 6(1): 1.
- ⁵⁶ Dal Maso L, Zucchetto A., Talamini R., Serraino D. et al. Effect of obesity and other lifestyle factors on mortality in women with breast cancer. *Int J Cancer* 2008, 123(9): 2188-2194.
- ⁵⁷ Goodwin P.J., Ennis M., Pritchard K.I., Trudeau M.E. et al. Fasting insulin and outcome in early-stage breast cancer: results of a prospective cohort study. *J Clin Oncol* 2002; 20(1): 42-51.
- ⁵⁸ Arpino G., Crispo A., Giuliano M., De Angelis C., Grimaldi M., Cavalcanti E. Et al. Breast cancer subtypes according to body mass index and insulin resistance. *J Clin Oncol* 2014; 32.
- ⁵⁹ Bobin L., Malinowski A.: Rozrosty endometrium – diagnostyka i leczenie. *Przegląd menopauzalny* 2007; 4: 22-219.
- ⁶⁰ Jassem J., Krzakowski M., Brożek I., Limon J.: Poradnictwo genetyczne w dziedzicznym raku piersi. *Rak piersi. Praktyczny przewodnik dla lekarzy*. 2014; rozdz.2: 21-30.
- ⁶¹ Dupon W.D., Page D.L. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N England J Med* 1985; 312: 146-51.
- ⁶² Wardzyńska K., Wesołowska E., Barańska J.: Rozrosty wewnątrzrzazikowe piersi – zmiany z pogranicza zmian łagodnych i złośliwych a ryzyko wystąpienia inwazyjnego raka piersi. Opis przypadku inwazyjnego raka zrazikowego (CLI) 13 lat po chirurgicznym usunięciu blizny promienistej z wielogniskowym rakiem zrazikowym *in situ* (CLIS). ; *Nowotwory Journal of Oncology* 2010; 2: 129–135.
- ⁶³ Wielkopolska Onkologia; www.wielkopolska-onkologia.pl/o-projekcie/informacje-o-projekcie.
- ⁶⁴ *Am J Clin Pathol* 2009; 132:658-665, zmodyfikowane przez Polską Grupę do Spraw Nowotworów Endokrynnych, *Endokrynologia Polska*; 61 (5): 518-568.

-
- ⁶⁵ Śnietura M., Lange D. Aktualne rekomendacje ASCO/CAP 2013 dotyczące badań statusu receptora HER2 w raku piersi. *Pol J Pathol* 2014; 65 (4) (suplement 2): 32-41.
- ⁶⁶ Lubiński J., Dymerska D., Trubicka J., Masojć B., Kurzawski G. Manografia - Genetyka Kliniczna Nowotworów. Analizy molekularne DNA i RNA w wykrywaniu dziedzicznych predyspozycji do nowotworów. 2011, Rozdział 2.
- ⁶⁷ Ditsch N., et al. Thyroid function in breast cancer patients. *Anticancer Res*, 2010. 30(5):1713-7.
- ⁶⁸ Prinzi N., et.al Thyroid autoantibodies and breast cancer. *Asian Pac.J.Cancer Prev.* 2014. 15: 10999.
- ⁶⁹ Szychta P.,Szychta W., Gesing A., Lewiński A. et al. TSH receptor antibodies have predictive value for Brest cancer – retrospective analysis. *Thyroid Research* 2013. 6:8.
- ⁷⁰ Wang C.:The Relationship between Type 2 Diabetes Mellitus and Related Thyroid Diseases;*J Diabetes Res.*; 2013. Published on-line 2013:390534.
- ⁷¹ Blanc E., Ponce C., Brodschi D.et al.Association between worse metabolic control and increased thyroid volume and nodular disease in elderly adults with metabolic syndrome; *Metab Syndr Relat Disord.*2015;13(5):221-6.
- ⁷² Stachowiak G., Pertyński T., Pertyńska-Marczewska M.; Metabolic disorders in menopause; *Przegląd Menopauzalny* 2015; 14(1): 59-64.
- ⁷³ Madej A.,Walczak K., Korzeniewska-Dyl I. et al. Prevalence of thyroid autoantibodies and thyroid dysfunction in adults with type 1 diabetes; *Diabetologia Praktyczna* 2011; tom 12, nr 6: 223-228.
- ⁷⁴ Goswami R. Marwaha R.K.,Goswami D., Gupta N.,Ray D.,Tomar N.,Singh S.; Prevalence of thyroid autoimmunity in sporadic idiopathic hypoparathyroidism in comparison to type 1 diabetes and premature ovarian failure.; *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91 (11): 4256-9.
- ⁷⁵ Garelli S., Masiero S.,Plebani M.,Chen S., Furmaniak J., Armanini D.,et al.; High prevalence of chronic thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome; *European Jurnal of Obsterics and Gynecology and Reproductive Biology*; 2013; 169 (2): 248–251.
- ⁷⁶ Elledge R.M., Fuqua S.A.W., Clark G.M., Pujol P., Allred D.C. *Breast Cancer Research and Treatment* 1993; 27(1): 95-102.
- ⁷⁷ Dong M., Wei H., Hou J-M., Gao S., Yang D-Z. Et al. Possible prognostic significance of p53, cyclin D1 and Ki-67 in the second primary malignancy of patients with double primary malignancies. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7(7): 3975-3983.
- ⁷⁸ Suk Song H., Do Y.R., Kang S.H., Jeong K.Y., Kim Y.S. Prognostic Significance of Immunohistochemical Expression of p53 Gene Product in Operable Breast Cancer. *Cancer Res Treat.* 2006; 38(4): 218–223.
- ⁷⁹ Noguchi S., Koyama H., Kasugai T.,Tsuji N., Tsuda H., Akiyama F. The Possible Prognostic Significance of p53 Immunostaining Status of the Primary Tumor in Patients Developing Local Recurrence after Breast-Conserving Surgery. *Oncology* 1998; 55(5): 450-5.
- ⁸⁰ Coates A.S., Millar E.K.A., O'Toole S., Molloy T.J.,Viale G., Goldhirsch A., Regan M.M.,et.al. Prognostic interaction between expression of p53 and estrogen receptor in patients

with node-negative breast cancer: results from IBCSG Trials VIII and IX. *Breast Cancer Research* 2012; 14 (6): 1143-1186.

⁸¹ Shapochka D.O, Zaletok S.P, Gnidyuk M.I. Relationship between NF- κ B, ER, PR, Her2/neu, Ki67, p53 expression in human breast cancer. *Exp Oncol*. 2012;34(4):358-63.

⁸² Yu Q., Geng Y., Sicinski P. Specific protection against breast cancers by cyclin D1 ablation. *Nature* 2001; 411: 1017-21.

⁸³ Kenny F.S., Hui R., Musgrove E.A. Overexpression of cyclin D1 messenger RNA predicts for poor prognosis in estrogen receptor positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:2069-2076.

⁸⁴ Weigl M.T., Dowsett M. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction. *Society for Endocrinology* 2010; 17: 245-262.

⁸⁵ Colozza M., Azambuja E., Cardoso F., Sotiriou C. et al. Proliferative markers as prognostic and predictive tools in early breast cancer: where are we now? *Ann Oncol* 2005; 16(11) 1723-39.

⁸⁶ Lari S.A., Kuerer H.M. Biological markers in DCIS and risk of breast recurrence: a systematic review. *J Cancer* 2011; 2: 232-261.

⁸⁷ Jistrom K., Ringberg A., Ferno M., Anagnostaki L., Landberg G. Tissue microarray analyses of G1/S –regulatory proteins on ductal carcinoma in situ of the breast indicate that low cyclin D1 is associated with local recurrence. *Br J Cancer* 2003; 89:1920-1926.

⁸⁸ Ravikumar G, Ananthamurthy A., Cyclin D1 expression in ductal carcinoma of the breast and its correlation with other prognostic parameters. *J Cancer Res Ther*. 2014;10(3):671-5.

⁸⁹ Haydaroglu A., Demirci S., Demir D., Aydin B. et al. Expression of cyclin D1 and its relation with ER, PgR, C-erbB2, Ki67 and p53 in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28.

⁹⁰ Buckholm I.R.K., Bukholm G., Nesland JM. Over-expression of cyclin A is highly associated with early relapse and reduced survival in patients with primary breast carcinoma. *Int J Cancer* 2001;93:283-287.

⁹¹ Hedley A.J., Jones S.J., Spiegelhalter D.J., Clements P., Bewsher P.D., et al. Breast cancer in thyroid disease: fact or fallacy?, *Lancet* 1981; 1(8212): 131-3.

⁹² Huang J., Walker R., Groome PG., Shelley W., Mackillop W.J. Risk of thyroid carcinoma in female population after radiotherapy for breast carcinoma. *Cancer* 2001; 19(6): 1411-8.

⁹³ Reinertsen K.V., Cvancarova M., Wist E., Biooro T., Dahl A.A., Danielsen T., Fossaa S.D. Thyroid function in women after multimodal treatment for breast cancer stage II/III: comparison with controls from a population sample. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009;75(3):764-70.

⁹⁴ Simon M.S., Mei-Tzu C.Tang, Bernstein L., Norman S.A., Weiss L. Et al. Do thyroid disorders increase the risk of breast cancer? *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 2002; 11: 1574-1578.

⁹⁵ Sadetzki S., Calderon-Margalit R., Peretz C., Novikov I., et al. Second primary breast and thyroid cancers (Israel). *Cancer Causes Control* 2003; 14(4) 367-75.

⁹⁶ Bur M., Shiraki W., Masood S. Estrogen and progesteron receptor detection in neoplastic and non-neoplastic thyroid tissues. *Mod Pathol*. 1993; 6(4):469-72.

-
- ⁹⁷ Bonacci R., Pichera A., Fierabracci P., Gigliotti A., Graso L., Giani C. Relevance of estrogen and progesterone receptors enzyme immunoassay in malignant, Benin and surrounding normal thyroid tissue. *J Endocrinal Invest* 1996;19(3):159-64.
- ⁹⁸ An J.H., Hwangbo Y., Ahn H.Y., Keam B., Lee K.E., et al., A Possible Association Between Thyroid Cancer and Breast Cancer. *Thyroid* 2015; 25 (12): 1330-8.
- ⁹⁹ Gogas J., Kouskos E., Tseleni-Balafouta S., Markopoulos C. et al. Autoimmune thyroid disease in women with breast carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2001; 27(7): 626-30.
- ¹⁰⁰ Hajtmanova E., Murin P., Kinclova I., Hajtman A., Pec M., Kostkova L., Kocisova M. Thyroid disorders in women with breast cancer. *Klin Onkol* 2012; 25(2): 124-9.
- ¹⁰¹ Jiskra J., Limanova Z., Barkmanova J., Friedmanova Z., Smutek D. Autoimmune thyroid diseases in women with breast cancer and colorectal cancer. *Physiol Res* 2004;53: 693-702.
- ¹⁰² Grani G., Dicorato P., Dainelli M., Coleta I., Calvanese A. Thyroid diseases In women with breast cancer. *ClinTer.* 2012;163(6): 401-4.
- ¹⁰³ Muller I., Pinchera A., Fiore E., Belardi V., Roselini V., et al. High prevalence of breast cancer in patients with benign thyroid diseases. *J Endocrinol Invest* 2011;34(5):349-52.
- ¹⁰⁴ Muller I., Giani C., Zhang L., Grennan-Jones F.A., Fiore E., et al. Does thyroid peroxidase provide an antigenic link between thyroid autoimmunity and breast cancer? *Int J Cancer* 2014;134(7): 1706-14.
- ¹⁰⁵ Prinzi N., Baldini E., Sorrenti S., De Vito C., Tuccilli C., Catania A., et al. Prevalance of breast cancer in thyroid diseases: results of a cross-sectional study of 3921 patients. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 144(3): 683-8.
- ¹⁰⁶ Smyth P.P., Shering S.G., Kilbane M.T., Murray M.J., McDermott E.W., Smith D.F., et al. Serum thyroid peroxidase autoantibodies, thyroid volume, and outcome in breast carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(8): 2711-6.
- ¹⁰⁷ Tosovic A., Becker Ch., Bondeson A.G., Bondeson L., Ericsson U.B., et al. Prospectively measured thyroid hormones and thyroid peroxidase antibodies in relation to breast cancer risk. *Int J Cancer* 2012;131(9):2126-33.
- ¹⁰⁸ Fiore E., Giustarini E., Mammoli C., Fragomeni F., Campani D., Muller I., et al. Favorable predictive value of thyroid autoimmunity in high aggressive breast cancer. *J Endocrinol Invest* 2007;30(9):734-8.
- ¹⁰⁹ Farahati J., Roggenbuck D., Gilman E., Schuutte M., Jagminaitė E. Et al. Anti- thyroid peroxidase antibodies are associated with the absence of distant metastases in patients with newly diagnosed breast cancer. *Clin Chem Lab Med* 2012;50(4):709-14.
- ¹¹⁰ Turken O., Nann Y., Demirbas S., Onde M.E., Sayan O., et.al. Breast cancer in association with thyroid disorders. *Breast Cancer Research* 2003; 5: 110-113.
- ¹¹¹ Kemal Y., Demirag G., Ekiz K., Yucel I. Antithyroid peroxidase positivity is associated with lower incidence of metastasis in breast cancer. *Molecular and Clinical Oncology* 2015; 3:629-632.
- ¹¹² Muller I., Zhang L., Giani C., Dayan C.M., et al. The sodium iodide symporter is unlikely to be a thyroid/breast shared antigen. *J Endocrinol Invest* 2016; 39: 323.

-
- 113 Dohan O., et al. The sodium/iodide symporter (NIS): characterization, regulation, and medical significance. *Endocrinol Obj* 2003; 24:48-77.
- 114 Smyth P.A. The thyroid, iodine, and breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2003;5:235-238.
- 115 Funahashi H et al. Wakame seaweed suppress the proliferation of 7,12-dimethylbenz(alfa)-anthracene induced mammary tumors in rats. *JPN J Cancer Res* 1999;90:922-927.
- 116 Fierabracci P., Pinchera A., Campani D., Pollina L.E., Giustarini E., Giani C. Association between Breast cancer and autoimmune thyroid disorders no increase of lymphocytic infiltrates In Breast malignant tissues. *J Endocrinol. Invest.* 2006; 29 (3):248-51.
- 117 Giustarini E., Pinchera A., Fierabracci P., Roncella M., Fustaino L., et al. Thyroid autoimmunity In patients with malignant and Benign Breast diseases before surgery. *Eur J Endocrinol* 2006; 154(5): 645-9.
- 118 Hardefeldt P.J., Eslick G.D., Edirimanne S. Benign thyroid disease is associated with breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2012;133(3):1169-77.
- 119 Shi X.Z., Jin X., Xu P., Shen H.M. Relationship between breast cancer and levels of serum thyroid hormones and antibodies: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(16): 6643-6647.
- 120 Piasecka D., Składanowski A.C., Kordek R., Romańska HM. Aspects of progesterone receptor (PR) activity regulation – impact of breast cancer. 2015; www.postepybiochemii.pl.
- 121 The Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies. *Lancet Oncol* 2010; 11(6): 530–542.
- 122 Christopoulos P.F., Msaouel P., Koutsilieris M. The role of the insulin-like growth factor-1 system in breast cancer. *Molecular Cancer* 2015; 14:43
- 123 Inukai T., Takanashi K., Takebayashi K., Fujiwara Y., Tayama K., Takemura Y. Thyroid hormone modulates insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-3, without mediation by growth hormone, in patients with autoimmune thyroid diseases. *Horm Metab Res* 1999;31(10):576-9.
- 124 Balci H., Erdem T.Y., Ugurlu S. et al. Serum IGF-1 and IGFBP-3 levels in subclinical hypothyroid women. *Central European Journal of Medicine* 2011;6:158.
- 125 Giani C., Campani D., Rasmussen A., Fierabracci P., Miccoli P., et al. Insulin – like growth factor II (IGF –II) immunohistochemistry In breast cancer: relationship with the most important morphological and biochemical prognostic parameters. *Int J Biol Markers* 2002; 17(2):90-5.
- 126 Giani C., Fierabracci P., Bonacci R., Gigliotti A., Campani D., et al. Relationship between Breast cancer and thyroid disease: relevance of autoimmune thyroid disorders In breast malignancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81(3):990-4.
- 127 Freitas P.A., Vissoci G.M., Pinto R.M., Lajolo P.P., Jorge P.T. Study of the prevalence of autoimmune thyroid disease in women with breast cancer. *Endocrinol Pract* 2016; 22(1):16-21.
- 128 Brandt J, Borgquist S, Manjer J. Prospectively measured thyroid hormones and thyroid peroxidase antibodies in relation to risk of different breast cancer subgroups: a Malmö Diet and Cancer Study. *Cancer Causes Control.* 2015;26(8):1093-104.

-
- 129** Smyth P.P., Thyroid disease and breast cancer. *J Endocrinol Invest* 1993;16(5):396-401.
- 130** Smyth P.P., Smith D.F., McDermott E.W., Murray M.J., Geraghty J.G. Et al. A direct relationship between thyroid enlargement and breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(3):937-41.
- 131** Michalaki V., Kondi-Pafiti A., Gennatas S., Antoniou A. et al. Breast cancer in association with thyroid disorders. *J Buon* 2009;14(3):425-8.
- 132** Mourouzis I., Tzouvaras A., Armonis B., Ardavanis A., Skondra M., et al. Are Thyroid Hormone and Tumor Cell Proliferation in Human Breast Cancers Positive for HER2 Associated? *International Journal of Endocrinology* 2015; Article ID 765406, 6 (online).
- 133** Özmen T., Güllüoğlu B.M., Yegen C.S., Soran A. Autoimmune Thyroid Disease and Breast Cancer Prognosis. *J Breast Health* 2015; 11: 67-71.
- 134** Dalal S., Hui D., Sai-ching J. Yeung, Chisholm G.B., Ihenacho IS., Ogunti R., et.al. Association between visceral adiposity, BMI, and clinical outcomes in postmenopausal with operable breast cancer. *J Clin Oncol* 2014; 32: 5.
- 135** Kuijpers J.L., Nyklictek I., Louwman M.W., Weetman T.A., Pop V.J., Coebergh J.W. Hypothyroidism might be related to breast cancer in post-menopausal women. *Thyroid* 2005; 15(11):1253-9.
- 136** Gronwald J., Byrski T., Huzarski T., Oszurek O., Janicka A., Szymańska-Pasternak J., Górski B., Menkiszak J., Rzepka-Górska I., Lubiński J. Monografia. *Genetyka Kliniczna Nowotworów* 2011. *Genetyka kliniczna raka piersi i jajnika*. 2011, Rozdział 5.