

**GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

Daniel Maliszewski

*Porównanie ekspresji biomarkerów  
w guzie pierwotnym i we wznowie  
miejscowej u chorych na raka piersi*

**GDAŃSK 2015**

Wydano za zgodą  
Dziekana Wydziału Lekarskiego

Praca doktorska wykonana w Klinice Chirurgii Onkologicznej  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Promotor  
dr hab. med. Jacek Zieliński, prof. nadzw.

Gdański Uniwersytet Medyczny 2015  
ISBN 978-83-65098-22-1

Pragnę w szczególny sposób podziękować mojemu Promotorowi Panu dr hab. med. Jackowi Zielińskiemu za cenne uwagi merytoryczne, okazałą pomoc i nieustanne motywowanie mnie do dalszej pracy

Panu Profesorowi Januszowi Jaśkiewiczowi wyrażam podziękowanie za możliwość przeprowadzenia badań naukowych w Katedrze i Klinice Chirurgii Onkologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, pomoc merytoryczną i wyrozumiałość

Podziękowanie dla Joli Szade i Eli Senkus za nieustanne wsparcie w zakresie aspektów patologicznych i onkologicznych mojej pracy



## Spis treści

Wykaz stosowanych skrótów .....	7
1. Wstęp.....	9
1.1 Epidemiologia raka piersi .....	10
1.2 Charakterystyka histologiczna inwazyjnego raka piersi.....	11
1.3 Ocena stopnia złośliwości raka piersi .....	12
1.4 Molekularne czynniki predykcyjne w raku piersi.....	14
1.5 Podtypy biologiczne raka piersi.....	19
1.6 Technika oceny ekspresji receptora estrogenowego, progesteronowego oraz HER2 w raku piersi .....	21
1.7 Receptory steroidowe .....	21
1.8 ReceptorHER2.....	24
1.9 Nawrotowy rak piersi – wznowa miejscowa .....	26
2. Cele pracy.....	27
3. Materiał i metody .....	28
3.1 Badane chore.....	28
3.2 Stosowane metody .....	29
3.2.1 Przygotowanie mikromacierzy tkankowych.....	29
3.2.2 Badania immunohistochemiczne .....	29
3.2.3 Ocena odczynów immunohistochemicznych.....	30
3.2.4 Ocena statystyczna.....	31
4. Wyniki.....	32
4.1 Statystyka opisowa –ognisko pierwotne raka piersi: .....	32
4.2 Statystyka opisowa – wznowa lokoregionalna raka piersi.....	41
4.3 Statystyka opisowa – zmiana stanu receptorów.....	46
4.4 Przyczyny zmiany stanu receptorów .....	46
4.5 Efekt zmiany stanu receptorów.....	47

---

5. Dyskusja .....	48
5.1 Wady i zalety badania.....	48
5.2 Zmienność receptorów ER/PR/HER2.....	50
5.3 Przyczyny zmiany stanu receptorów .....	53
5.4 Zmiana stanu receptorów, a rokowanie .....	58
5.5 Zmiana stanu receptorów – zmiana leczenia systemowego? .....	60
5.6 Zmiana podtypu molekularnego .....	62
5.7 Bezpieczeństwo biopsji.....	62
5.8 Obowiązujące wytyczne .....	63
6. Wnioski .....	68
7. Piśmiennictwo .....	69
8. Streszczenie .....	85
9. Summary.....	87

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- AGO** – *Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie*
- ATLAS** – *Adjuvant Tamoxifen Longer Against Shorter*
- aTTOM** – *Adjuvant Tamoxifen –To offer more?*
- ASCO** – American Society of Clinical Oncology
- BAC** – biopsja aspiracyjna cienkoigłowa
- BG** – biopsja gruboigłowa
- BCT** – *Breast Conserving Treatment/* leczenie oszczędzające piersi
- BRITS** – *Breast Recurrence in Tissues Study*
- CISH** – *chromogenic in situ hybridization/* chromogeniczna hybrydyzacja *in situ*)
- DCIS** – *ductal carcinoma in situ/* rak piersi przewodowy, przedinwazyjny
- DESTINY**–*Does Performing a Confirmatory Tumor Biopsy in Patients with Metastatic Breast Cancer Alter their Management?*
- ER** – *estrogen receptor /* receptor estrogenowy
- FISH** – *fluorescence in situ hybridization /* fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*
- G** – *grading/* stopień złośliwości histologicznej
- HE** – hematoksylina i eozyna, barwienie
- HER2** –*human epidermal growth factor receptor 2 /* receptor naskórkowego czynnika wzrostu 2
- HERA** – *HERceptin Adjuvant*
- IDC** – *invasive ductal carcinoma/* inwazyjny rak przewodowy
- ILC** – *invasive lobular carcinoma /* inwazyjny rak zrazikowy
- IS** – *intensity score/* siła wybarwienia jąder komórkowych
- LBD** – *ligand binding domain /* domena wiążąca ligand
- Ki67**–białko, marker komórkowe proliferacji
- NCCN** – National Comprehensive Cancer Network
- NCCTG** –North Central Cancer Treatment Group
- NSABP** –National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project
- NG** – *nuclear grade/* stopień atypii jądrowej komórek raka
- NOS** –*No Otherwise Specified Breast Cancer /* rak o niespecyficznym utkaniu
- NST** –*no special type of invasive breast carcinoma /* inwazyjny rak piersi o nieokreślonym typie
- PR** – *progesterone receptor /* receptor progesteronowy
- PS** – *proportion score/* odsetek wybarwionych jąder komórkowych

**SD** – *standard deviation*/ odchylenie standardowe)

**SLND** – *sentinel lymph node dissection*/ wycięcie węzła wartowniczego

**TAM** – tamoksyfen

**TN** – *triple negative cancer*/ rak piersi potrójnie ujemny

**TNM** – *Tumor, Nodes, Metastases*/ stopień zaawansowania klinicznego nowotworu

**TS** – *total score* / sumaryczna ocena wybarwienia jąder komórkowych

**VABB** – *vacuum assisted breast biopsy*/ biopsja mammotomiczna



## 1. WSTĘP

Rak piersi jest jednym z najczęściej rozpoznawanych nowotworów złośliwych w krajach rozwiniętych – w roku 2012 na świecie rozpoznano 1,67 miliona nowych przypadków raka piersi, co plasuje go na drugim miejscu, po raku płuc jako najczęściej rozpoznawany nowotwór złośliwy na świecie [1]. Jednocześnie każdego roku odnotowuje się ponad 450 tys. zgonów z powodu raka piersi [2,3]. W Polsce jest to najczęściej występujący nowotwór złośliwy u kobiet [4]. Obecnie już blisko 1/4 rozpoznań onkologicznych stawianych wśród polskich kobiet to rak piersi (22,8%) [1, 5]. W roku 2012 wśród Polek odnotowano 17 tys. nowych zachorowań na raka piersi [4]. Leczenie raka piersi składa się z leczenia chirurgicznego oraz leczenia systemowego – chemioterapii, radioterapii, hormonoterapii lub leczenia celowanego herceptyną [6, 7]. Leczenie systemowe stanowi nieodłączny element terapii raka piersi u większości pacjentek [8,9]. Ma ono na celu zabezpieczenie pacjentki przed pojawieniem się wznowy raka piersi. Pomimo istotnych postępów w zakresie leczenia systemowego, u znacznego odsetka pacjentek po leczeniu raka piersi (20-30% pacjentek) [3,10], pojawiają się wznowy miejscowe i przerzuty odległe, będące główną przyczyną zgonów chorych na raka piersi [11]. Obecnie jednym z głównych kryteriów doboru leczenia systemowego jest ocena biologicznych właściwości raka piersi, na co składają się między innymi: stan receptora estrogenowego (ER), progesteronowego (PR), ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2 (HER2) [12,13], oraz poziom białka Ki67. Rak piersi jest heterogenną chorobą, oceniając powyższe parametry biologiczne możemy wyróżnić następujące podtypy: Luminalny A, Luminalny B, HER2(+), lub potrójnie ujemny (TN) [20]. Powyższe grupy różnią się nie tylko odpowiedzią na leczenie systemowe, ale przede wszystkim rokowaniem [13]. Opublikowana metaanaliza badaczy z Oksfordu na grupie ponad 30.000 pacjentek wykazała, że korzyść ze stosowania Tamoksyfenu odnoszą wyłącznie pacjentki ER/PR(+) [14]. Najnowsza literatura wskazuje, że stan receptorów ER, PR i HER2 może ulec zmianie u pacjentek ze wznową miejscową lub odległą raka piersi [15], co pośrednio powinno wpłynąć na dobór terapii systemowej i rokowanie w tej grupie chorych [16]. Pomimo powyższych faktów oraz licznych prac analizujących stan receptorów ER, PR i HER2 w przerzutowym raku piersi,

nadal bardzo skąpa jest literatura dotycząca zagadnienia zmiany stanu receptorów ER, PR i HER2 we wznowie lokoregionalnej.

### **1.1 Epidemiologia raka piersi**

Rak piersi jest jednym z najczęściej rozpoznawanych nowotworów złośliwych na świecie. Corocznie potwierdza się około 1,4 - 1,67 miliona nowych przypadków, co plasuje go na drugim miejscu, zaraz za rakiem płuc. [1,17] Jednocześnie co roku odnotowuje się ponad 450 tys. zgonów z powodu raka piersi [2,3,17]. W Polsce obecnie już blisko ¼ rozpoznań onkologicznych stawianych wśród polskich kobiet stanowi rak piersi (22,8%) [5]. Najczęściej rozpoznawany jest u kobiet w wieku 50–69 lat [7], jednak rokrocznie rośnie liczba przypadków diagnozowanych u kobiet młodszych. U kobiet w wieku 20-49 lat zachorowalność na raka piersi wzrosła prawie 2-krotnie w ciągu ostatnich 30 lat [5]. Szacuje się, że co roku notuje się ponad 16,5 tys. nowych zachorowań [18], a w ciągu najbliższych 10 lat liczba kobiet, które co roku zachorują, przekroczy 20 tys. rocznie [18]. Pomimo wzrostu w Polsce liczby nowych przypadków zachorowań na raka piersi, w ostatnim dwudziestoleciu obserwujemy wyraźną tendencję spadkową liczby zgonów z powodu raka piersi, co prowadzi do sytuacji, w której rośnie liczba osób żyjących z rozpoznaniem rakiem piersi [1]. W roku 2012 w Polsce odnotowaliśmy 17 tys. nowych zachorowań na raka piersi oraz 12 tys. zgonów [4]. W stadium zaawansowania lokoregionalnego raka piersi 5-letnie przeżycia w USA wynoszą ok. 93%, w kontraście do stadium rozsiewu uogólnionego, gdzie zaledwie 22% pacjentek przeżyje najbliższe 5 lat. W Polsce te odsetki cały czas utrzymują się na niższym poziomie. Obecnie w Polsce żyje blisko 70 tys. osób ze zdiagnozowanym rakiem piersi w ciągu ostatnich 5 lat [19]. Główną przyczyną zgonów w grupie chorych na raka piersi jest wystąpienie przerzutów odległych, dotyczące w trakcie przebiegu choroby 20-30% pacjentek z wczesnym rakiem piersi. [17,20,21]. W chwili rozpoznania raka u 6% pacjentek występuje już subkliniczne, uogólnione stadium choroby nowotworowej [17,22].

## 1.2 Charakterystyka histologiczna inwazyjnego raka piersi

Rak piersi pod względem histologicznym stanowi bardzo heterogenną grupę. Według uproszczonej klasyfikacji WHO wyróżniamy następujące podtypy histologiczne raka naciekającego gruczołu piersiowego [23,24]:

- Rak o niespecyficznym utkaniu (NOS), dawny przewodowy
- Rak zrazikowy
- Rak cewkowy
- Rak rdzeniasty
- Rak śluzotwórczy
- Rak brodawkowy
- Inne rzadkie podtypy.

Według NCCN 2015 rozróżniamy nawet 15 podtypów raka piersi [23]. W IV edycji Klasyfikacji Nowotworów Piersi WHO z 2012 roku zrezygnowano (w przypadku naciekających raków) z określania najczęstszego z nich mianem raka przewodowego (*ductal carcinoma*). Zamiast tego wprowadzono określenie „rak naciekający bez specjalnego typu” (NST, *no special type*) [25]. Każdy z podtypów charakteryzuje się odmiennymi właściwościami biologicznymi, co może wpływać na ewentualną decyzję odnośnie leczenia chirurgicznego oraz rokowanie u danej pacjentki. Dla przykładu: prognozowana długość życia u pacjentek z rakiem cewkowym jest podobna do tej prognozowanej u osób zdrowych [26]. Pomimo mnogości podtypów histologicznych, 70-80% raków piersi stanowi rak przewodowy [27] - NOS, a drugi w kolejności jest rak zrazikowy 5-15% [28]. Szacuje się, że około u 25% pacjentek występują co najmniej 2 podtypy histologiczne [28]. Najczęstszej postaci raka inwazyjnego piersi – NOS, towarzyszy bardzo często komponenta przedinwazyjna (DCIS), będąca najczęstszą przyczyną konieczności poszerzenia marginesu po leczeniu oszczędzającym – BCT. Według literatury, poszerzenia marginesu chirurgicznego z przyczyn niezależnych od techniki chirurgicznej wymaga około 10-15% przypadków pacjentek po leczeniu oszczędzającym (BCT). Rak zrazikowy, drugi, najczęstszy podtyp raka inwazyjnego ma tendencje do występowania wielogniskowego oraz niedoszacowania w badaniach obrazowych – mammografii i USG piersi. Rak cewkowy występuje znacznie częściej w postaci bezobjawowych guzów, wykrytych mammograficznie.

Cechuje się podobnie jak podtyp śluzotwórczy, rdzeniasty i sitowaty znacznie lepszym rokowaniem. Rak rdzeniasty znacznie częściej występuje w grupie nosicielek mutacji BRCA1 [24].

Poza podtypem histologicznym podejmując decyzje terapeutyczne powinniśmy wziąć pod uwagę również inne czynniki histopatologiczne i biologiczne:

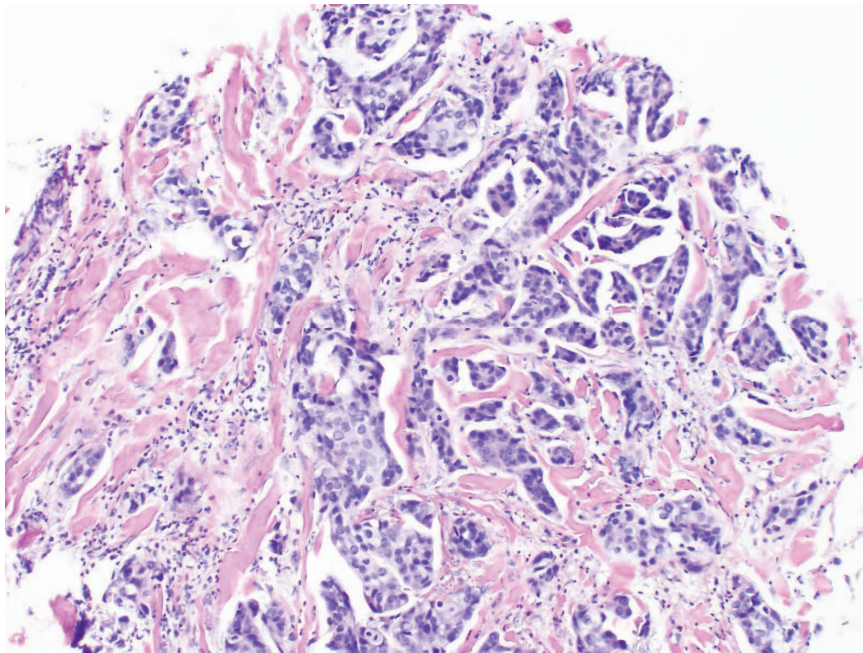
- 1) rozmiar guza
- 2) stan węzłów chłonnych
- 3) stan marginesów po leczeniu chirurgicznym
- 4) stan receptorów ER,PR,HER2
- 5) Stopień złośliwości histologicznej (G)
- 6) Naciek struktur otaczających
- 7) Poziom Ki67
- 8) Obecność komponenty przedinwazyjnej

Stopień złośliwości histologicznej (G) określa pośrednio potencjalne ryzyko wystąpienia wznowy i przerzutów odległych. Aby zredukować ryzyko pojawienia się raka piersi w stadium uogólnionym, pacjentki kwalifikowane są do odpowiedniego leczenia systemowego. Obecnie jednym z głównych kryteriów doboru leczenia systemowego jest ocena biologicznych właściwości raka piersi, na co składają się między innymi: stan receptora estrogenowego (ER), progesteronowego (PR), ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2 (HER2) [12,13], oraz poziom białka Ki67.

### **1.3 Ocena stopnia złośliwości raka piersi**

Stopień złośliwości histologicznej (G – *grading*) stanowi bardzo istotną klinicznie informację dotyczącą noworozpoznanego raka piersi. Jest to jeden z czynników określający pośrednio potencjalne ryzyko wystąpienia wznowy, a tym samym rokowanie w grupie pacjentek z rakiem piersi. Powinien być oceniony w każdym przypadku rozpoznania nowego ogniska raka piersi. Stopień złośliwości histologicznej (G) opisywany również jako NG – *Nottingham Grade* stanowi modyfikację autorstwa Elstona i Ellisa systemu oceny punktowej

pierwotnie zaproponowanej przez Blooma i Richardsona [23]. Oceniany jest sumarycznie na podstawie oceny właściwości morfologicznych komórek raka – pleomorfizmu/atypii jądrowej, aktywności mitotycznej oraz zdolności do tworzenia struktur cewkowych. Rutynowo oceniany jest w 3-stopniowej skali, gdzie 1 – uznajemy za raka dobrze zróżnicowanego (G1) – czynnik korzystny rokowniczy – niski stopień złośliwości, 2 – rak umiarkowanie zróżnicowany (G2), 3 – rak nisko zróżnicowany (G3), wysoki stopień złośliwości, niekorzystny rokowniczo. W skali zmodyfikowanej 3-5 pkt uznajemy jako G1, - 6-7 – G2, a 8-9 punktów jako G3. Odsetek przeżyć 5-letnich u pacjentek z rakiem piersi G1 utrzymuje się na poziomie 85%, natomiast przy G3 jest to 45% [26]. Ocena w skali NG stanowi jeden z czynników decydujących o podejmowaniu klinicznie istotnych decyzji i włączeniu leczenia systemowego [23].

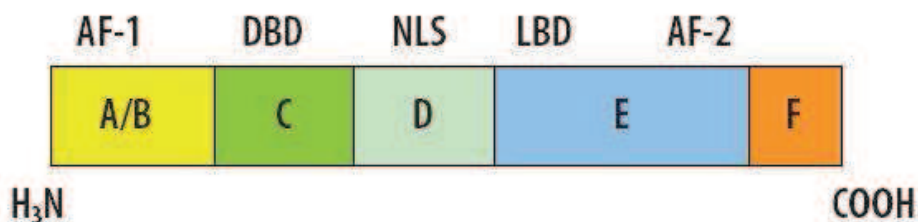


Ryc. 1. Rak przewodowy inwazyjny (Ca ductale inv), stopień 2 HE (powiększenie x10)  
*Fig. 1. Invasive ductal breast carcinoma (Ca ductale inv), grade 2 HE (zoom x 10)*

## 1.4 Molekularne czynniki predykcyjne w raku piersi

### Receptor estrogenowy

Oznaczenie receptorów estrogenowych wykonywane jest u wszystkich osób z nowo rozpoznanym rakiem piersi oraz wykorzystywane jako wskaźnik predykcyjny. Receptor estrogenowy występuje w dwóch izoformach ER–alfa oraz ER–beta, które są transkrybowane przez dwa różne geny.



Ryc. 2. Budowa receptora estrogenowego

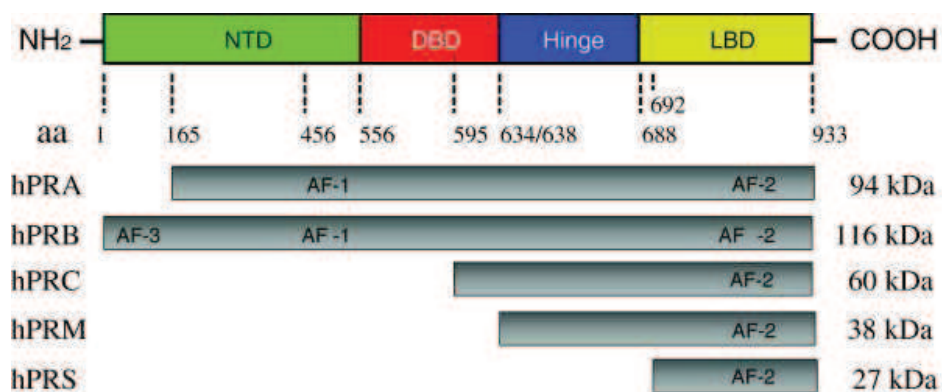
Fig. 1. Estrogen receptor structure

Podobnie jak pozostałe receptory steroidowe, receptor estrogenowy ma strukturę domeny wiążącej DNA (DBD – *DNA-binding domain*), otoczonej przez dwa transkrypcyjne obszary aktywacyjne (AF-1 oraz AF-2) [19] (ryc. 1). Receptor wiąże swój ligand – estradiol w miejscu do tego przystosowanym strukturalnie – LBD (*ligand binding domain*). Badania na szczurach wykazały, że receptory ER–alfa oraz ER–beta są obecne w zdrowym gruczole piersiowym, a ekspresja receptora ER–alfa jest kluczowa dla prawidłowego rozwoju gruczołów piersiowych [19]. Badania kliniczne na ludziach potwierdziły ekspresję receptora ER w zdrowym gruczole piersiowym, aczkolwiek wykazano także nadmiernie wysoką ekspresję receptora ER–alfa w przypadku wczesnych zmian przednowotworowych gruczołu piersiowego. Według różnych danych 60-75% pierwotnych raków piersi jest ER+ [19, 29, 30]. Ponad połowa raków ER+ jest także PR+ [30]. Stan receptora ER jest silnym czynnikiem prognostycznym odnośnie odpowiedzi pacjentki na leczenie hormonalne [19,30]. Wykazano

nawet zależność pomiędzy poziomem receptora ER, a odpowiedzią na Tamoksyfen, aczkolwiek odnotowuje się pozytywne odpowiedzi na leczenie hormonalne nawet u pacjentek u których poziom ER był na poziomie 4-10 fmol/mg białka ER lub 1-10% komórek ER pozytywnych w immunohistochemii [31,32]. Ostatnie badania pokazują, że poziom receptora estrogenowego może ulec zmianie podczas progresji choroby, co wpływa na rokowanie w grupie pacjentek ze wznową raka piersi [29,33]. Praca Gongz 2011 wykazała zmianę stanu receptora estrogenowego we wznowie lokoregionalnej raka piersi na poziomie 10%, w porównaniu do 25% w przypadku przerzutów do wątroby oraz 42% w przypadku przerzutów do kości [33].

### Receptor progesteronowy

Receptor progesteronowy (PR) określany jest jako receptor estrogenozależny. Uczestniczy w procesie dystrybucji progesteronu podczas rozwoju, zarówno prawidłowego gruczołu piersiowego, jak i komórek raka piersi. Znajduje się w podrodzynie receptorów jądrowych NR3, grupa C –zawierająca dwie izoformy receptora progesteronu PRA i PRB. Receptory te są białkami o wyraźnej budowie modułowej, w których wyróżnić można pięć funkcjonalnych domen (ryc. 2).



Ryc. 3. Budowa receptorów progesteronowych

*Fig. 3. Progesterone receptor structure*

Domena N-końcowa, zawierająca sekwencję AF-1 odpowiadającą za wiązanie się kompleksów koaktywacyjnych. Występujące następnie dwie

domeny środkowe: domena C odpowiedzialna za wiązanie z DNA (DBD – *DNA binding domain*) i domena E za przyłączenie ligand (LBD – *ligand binding domain*). Znajdująca się częściowo w domenie E oraz kończąca w C-terminalnym rejonie białka sekwencja AF-2 również odpowiada za aktywację transkrypcji. Receptory progesteronowe są dwoma izoformami powstałymi przez alternatywny *splicing* tego samego genu (*PGR*). Mimo dużego podobieństwa budowy receptory progesteronowe są funkcjonalnie różnymi czynnikami transkrypcyjnymi, wykazującymi często przeciwstawne działanie [19,34]. Wykazano, że progesteron pełni istotną rolę w rozwoju płątów i zrazików w obrębie gruczołu piersiowego, a właściwy stosunek PRA do PRB jest kluczowy w prawidłowym rozwoju gruczołu piersiowego [19]. Jednocześnie udowodniono, że nadekspresja izoformy PR–A w komórkach raka piersi może prowadzić do oporności na Tamoksyfen [35], podczas gdy nadekspresja PR–B prowadzi do podwyższonego ryzyka wystąpienia raka piersi w populacji osób zdrowych. Drastyczny wzrost liczby kobiet przyjmującej progesteron lub hormonalną terapię zastępczą (HRT – *hormone replacement therapy*), świadczy o istotnej roli receptora progesteronowego w populacji kobiet, zarówno zdrowych, jak i chorych [19]. Szacuje się, że ponad 50% raków piersi wykazuje się PR+ [19]. Pomimo bezsprzecznej roli, jaką pełni receptor estrogenowy w ocenie odpowiedzi na Tamoksyfen, rola receptora progesteronowego pozostaje niejasna. Również w przypadku receptora progesteronowego zaobserwować można, zmianę stanu na PR– podczas leczenia Tamoksyfenem. Szacuje się, że w przypadku raków piersi PR+, zmiana stanu receptorów jest bardziej dynamiczna i stanowi wyższy odsetek niż w przypadku ER+. U 14–32% pacjentek ze wznową raka piersi [30], stan receptora progesteronowego ulegnie zmianie, w tej grupie u 50% pacjentów wystąpi całkowity brak receptora progesteronowego, co może być jedną z przyczyn wytworzenia oporności na Tamoksyfen w tej grupie chorych [19,30].

### **Receptor HER2**

Receptor HER2 (*human epidermal growth factor 2*, ludzki nabłonkowy czynnik wzrostu, erbB2, HER2/neu, C–ERBB2) należy do grupy receptorów błonowych, czyli powierzchniowych. Jest to protoonkogen, zlokalizowany na chromosomie 17, kodujący przezbłonową 185 kDa kinazę tyrozynową. Zmodyfikowany poprzez amplifikację genu onkogen C–ERBB2 powoduje



nadekspresję białek w wielu nowotworach złośliwych. Nadekspresja HER2 uaktywnia kaskadę sygnałową prowadzącą do wzmożonej angiogenezy, rozrostu guza pierwotnego, a także podwyższonej skłonności pojawienia się wznowy miejscowej i odległej raka piersi [30]. Klinicznie raki piersi HER2(+) cechują bardziej agresywnym przebiegiem choroby, skłonnością do przerzutowania, opornością na hormonoterapię oraz krótszym czasem wolnym od choroby nowotworowej. Na chwilę obecną receptor HER2 w standardzie oznaczany jest w raku piersi i raku żołądka. Szacuje się, że nadekspresja HER2 obecna jest w około 20% raków piersi [36]. Nadekspresja HER2 ma znaczenie prognostyczne i stanowi wskazanie do włączenia terapii Trastuzumabem. Trastuzumab, łącząc się z receptorem HER2 blokuje wzrost komórek raka, zmniejsza ich zdolność do naprawy po chemioterapii, przypuszczalnie indukuje także apoptozę [30]. Niestety podczas przebiegu choroby ekspresja HER2 może ulec zmianie, dlatego też podczas wystąpienia nawrotu raka piersi celowe wydaje się ponowne oznaczenie stanu HER2 [36]. Niepowodzenie w leczeniu może być spowodowane heterogennością raka, skłonnością do zmiany stanu receptora, wyindukowaniem oporności komórek lub błędem technicznym podczas oznaczania stanu receptora HER2 [30,36]. Jako alternatywę dla Trastuzumabu, pojawia się coraz więcej doniesień odnośnie skuteczności stosowania Pertuzumabu oraz T-DM1, oferując pacjentkom w zaawansowanym stadium choroby dodatkową opcję terapeutyczną oraz nadzieję na lepsze rokowanie.

### **Działanie Tamoksyfenu**

Kluczową rolę w redukcji ryzyka wystąpienia wznowy lokoregionalnej oraz przerzutów odległych raka piersi pełni leczenie systemowe. Jak dotychczas najlepiej poznanym lekiem antyestrogennym jest Tamoksyfen i pomimo coraz większej roli inhibitorów aromatazy, to Tamoksyfen nadal stanowi standard leczenia systemowego hormonozależnych raków piersi (ER+). Szacuje się, że stosowanie Tamoksyfenu – selektywnego inhibitora receptora estrogenowego wywiera kliniczny efekt terapeutyczny u 60% ER+ raków piersi, a tym samym znacząco obniża o około 40% ryzyko wystąpienia wznowy miejscowej oraz przerzutów odległych raka piersi [37]. Jednocześnie zmniejsza się ryzyko zgonu z powodu raka piersi o 29%, niezależnie od stanu PR, wieku, obecności przerzutów do węzłów chłonnych i stosowania chemioterapii [24]. Jednakże nadal około 40% pacjentek przyjmujących Tamoksyfen jako leczenie

adjuwantowe rozwinięciu wznówę lokoregionalną, a u większości pacjentek z rakiem piersi w stadium uogólnionym wystąpi oporność na Tamoksyfen (EBCTCG 1998).

Główne działanie Tamoksyfenu opiera się na wiązaniu się i blokowaniu receptora estrogenowego ER alfa, a tym samym niedopuszczeniu do przyłączenia się do niego estrogenów i hamowanie stymulującego działania estrogenów na wzrost masy guza. Poprzez swoje działanie blokuje receptorową funkcję AF-2. Pomimo pojawiających się doniesień odnośnie innych działań tamoksyfenu, na chwilę obecną brak jest na to twardych dowodów. Ochronne działanie Tamoksyfenu ogranicza się tylko do raków ER+ – mówimy tu o zapobieganiu przerzutom raka piersi oraz wydłużaniu przeżyć w grupie pacjentów ze stadium uogólnionego rozsiewu raka piersi. Wydaje się, że protekcyjne działanie Tamoksyfenu w stosunkowo niewielkiej grupie raków ER (-),PR (+) wynika z błędów technicznych i stwierdzenia fałszywie ujemnego wyniku ER (-). Wyniki dwóch badań ATLAS i aTTom wykazały wydłużenie czasu do nawrotu nowotworowego oraz czasu przeżycia w następstwie przedłużenia stosowania Tamoksyfenu do 10 lat [24]. Wcześniejsze prace pokazują, że około 20% nawrotowych (ER+) raków piersi, leczonych wcześniej Tamoksyfenem, wykazuje ER (-) [20,126]. Jednak, pomimo, że obecność receptora estrogenowego (ER+) stanowi główny warunek działania Tamoksyfenu, to strata tego receptora w nawrotowych rakach piersi tłumaczy zaledwie część oporności na Tamoksyfen, występującej w tej grupie chorych.

### **Działanie Trastuzumabu**

Trastuzumab jest rekombinowanym, humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym IgG1, łączącym się wybiórczo z receptorem ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (*Human Growth Factor Receptor – HER2*). Jako przeciwciało monoklonalne, ma zdolność do specyficznego wiązania się z domeną IV pozakomórkowej części białka HER2. Blokując receptor, hamuje nadmierną proliferację komórek, które wykazują jego nadekspresję, tym samym spowalniając rozwój nowotworu. Receptor HER-2 kodowany jest przez mający charakter protoonkogenu gen HER-2, zlokalizowany na chromosomie 17. Wskazaniem do zastosowania uzupełniającego leczenia Trastuzumabem jest obecność nadmiernej ekspresji białka HER2 lub amplifikacji genu HER2, potwierdzoną w około 25% przypadków raka

piersi. Nadekspresja HER2 wiąże się z gorszym rokowaniem, wysokim prawdopodobieństwem oporności na Tamoksyfen oraz szansą lepszej odpowiedzi na chemioterapię z udziałem Trastuzumabu. Trastuzumabu nie stosuje się jedynie u chorych we wczesnym stadium zaawansowania raka, to jest z inwazyjnym komponentem guza o średnicy < 0,5 cm (w Polsce 1 cm) przy braku przerzutów w pachowych węzłach chłonnych [24]. Dalsze badania są konieczne, gdyż wg amerykańskiego NCCN w tej grupie chorych T1a–bN0Mx HER2(+) ryzyko wznowy raka piersi jest o 15-30% wyższe w stosunku do grupy HER2(–) [23]. Pooperacyjne zastosowanie Trastuzumabu w poszczególnych badaniach III fazy wiązało się ze zmniejszeniem ryzyka nawrotu nowotworu o 0-13% oraz ryzyka zgonu o 0-6% w porównaniu z wyłączną chemioterapią. [24]. Metaanaliza dostępnego piśmiennictwa wykazała, że dodanie Trastuzumabu do pooperacyjnej chemioterapii zmniejsza o 40% ryzyko nawrotu o 36%, a względne ryzyko zgonu w porównaniu z podaniem wyłącznie chemioterapii [24,38]. Wykazano, że optymalny czas stosowania Trastuzumabu do 12 m–cy, a równoczesne podawania z chemioterapią cechuje się wyższą skutecznością niż leczenia sekwencyjne [24, 39, 40, 41]. Badania kliniczne NSABP B3, NCCTG N9831 oraz HERA trial wykazały znaczne wydłużenie czasu przeżycia w grupie pacjentek, u których stosowano Trastuzumab z powodu HER2(+), niekorzystnej rokowniczo postaci raka piersi [23].

## 1.5 Podtypy biologiczne raka piersi

Na podstawie analizy właściwości biologicznych komórek raka piersi – oceny stanu receptorów estrogenowych, progesteronowych, receptora HER2 oraz Ki67 można dokonać podziału raków piersi, z uwzględnieniem podtypów biologicznych. Dodatkowo w poszczególnych sytuacjach musimy uwzględnić także rodzaj histologiczny raka piersi. Ocena powyższych parametrów pozwoliła w roku 2011 na Międzynarodowej Konferencji Raka Piersi w St. Gallen na sklasyfikowanie raka piersi jako heterogennej grupy [33], i wprowadzenie następującego podtypów [24]:

- Luminalny A
- Luminalny B
- HER2(+)

- potrójnie ujemny (TN)

Każdy z podtypów charakteryzuje się innym rokowaniem, agresywnością przebiegu choroby oraz wrażliwością na określony rodzaj leczenia systemowego. W roku 2013 na konferencji w St. Gallen zmodyfikowano powyższy podział, wyodrębniając dwa warianty raka piersi Luminalnego B – wariant HER2(+) oraz HER2(-) (tabela1).

Tabela 1. Kryteria kwalifikacji do poszczególnych podtypów biologiczno-molekularnych raka piersi, St. Gallen, 2013 [24]

*Table 1. Criteria of qualification to specific biologic-molecular subtypes of breast cancer, St. Gallen, 2013 [24]*

Podtyp biologiczny	Receptor ER	Receptor PR	HER2	IM ki67
Luminalny A	Dodatni	20% lub więcej	ujemny	Niski(<14%)
Luminalny B (HER2(-))	Dodatni	<20%	ujemny	Niski(<14%)
	Dodatni	ujemny	ujemny	Wysoki (>14%)
Luminalny B (HER2(+))	Dodatni		dodatni	Każdy
HER2(-)dodatni	Ujemny		dodatni	Każdy
Trójujemny	Ujemny		ujemny	Każdy

Dodatkowo w zakresie specjalnych typów raka pod względem histopatologicznym dokonano podziału na raki hormonozależne:

- sitowaty
- cewkowy
- śluzowy

oraz hormononiezależne (ujemne receptory ER/PR):

- apokrynowy
- rdzeniasty
- adenoid cystic carcinoma
- metaplastyczny

Taki podział warunkuje ewentualne leczenie systemowe. Raki hormonozależne są też najczęściej HER2(-). W raku Luminalnym A leczeniem

systemowym z wyboru jest hormonoterapia. W raku luminalnym B do hormonoterapii może być dołączona chemioterapia i ewentualnie Trastuzumab (HER2(+)). W raku HER2(+) standardem jest chemioterapia z Trastuzumabem, a w raku trójjemnym wyłącznie chemioterapia [24].

W naszym badaniu nie oznaczano parametru Ki67, niezbędnego do sklasyfikowania wszystkich przypadków do odpowiedniego podtypu. Dlatego dla celów analizy statystycznej wykorzystany został podział obecny w literaturze, ale stosowany rzadziej [20]:

- Rak piersi HR+ – ER+ lub PR+
- Rak piersi HER2(+)
- Rak piersi trójjemny (TN)

## **1.6 Technika oceny ekspresji receptora estrogenowego, progesteronowego oraz HER2 w raku piersi**

### **1.7 Receptory steroidowe**

Receptory steroidowe, czyli estrogenowe i progesteronowe we wszystkich rakach piersi oznaczane są metodą immunohistochemiczną [42]. Ocena materiału powinna być wykonana w komponencie naciekającym raka, najlepiej przed leczeniem neoadjuwantowym. W badanej wznowie lokoregionalnej receptory steroidowe muszą być ocenione ponownie. Określenie stanu receptorów ER i PR opiera się na interpretacji wyniku barwienia immunopatologicznego jąder komórek naciekającego raka piersi.

Zgodnie z zaleceniami XIII Międzynarodowej Konferencji Raka Piersi w St. Gallen w roku 2013 wystarczająca jest ocena odsetka wybarwionych jąder komórek naciekającego raka. Każdy wyższy od zera odsetek wybarwionych komórek, niezależnie od siły wybarwienia uznawany jest za klinicznie dodatni. W licznych pracach jako dodatnie uznaje się przypadki wybarwienia >10% jąder komórek raka, uznając, że raki piersi z ekspresją wybarwienia jąder w przedziale 1-10% zachowują się klinicznie i prezentują profil genowy jak raki trójjemne(TN) [10, 17, 43, 44].

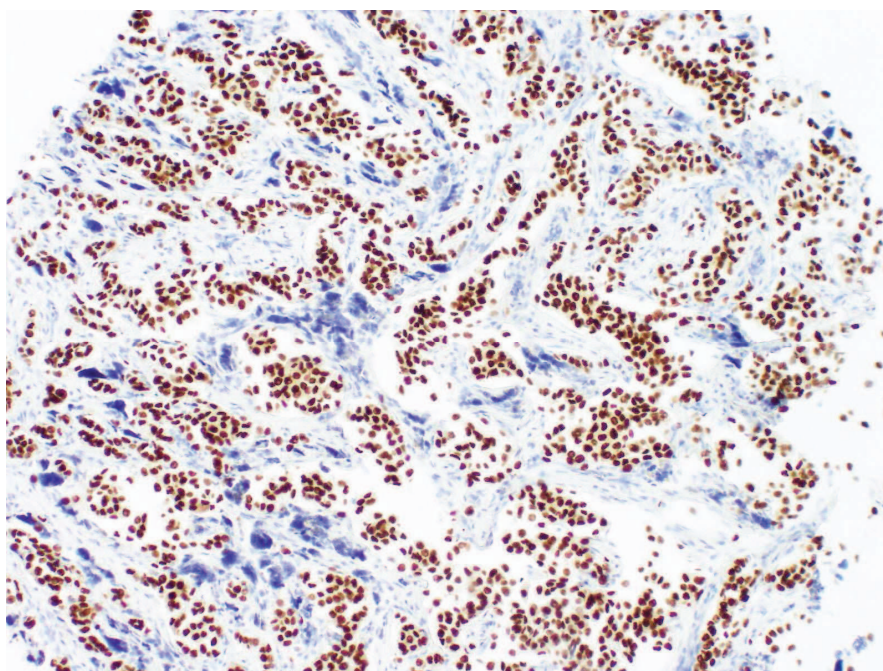
Innym sposobem oceny, zalecanym przez College of American Pathologists jest skala wg Allreda (tabela 2). W tym przypadku ocenia się dwie składowe: odsetek wybarwionych jąder komórkowych (PS – *proportion score*) – od 0 do 5

oraz siłę ich wybarwienia (IS – *intensity score*) – od 0 do 3, które się sumuje uzyskując wynik sumaryczny (TS – *total score*) – od 0 do 8. Szczegółowe kalkulacje przedstawiono w tabeli2 [24, 30].

Tabela 2. Skala Allreda

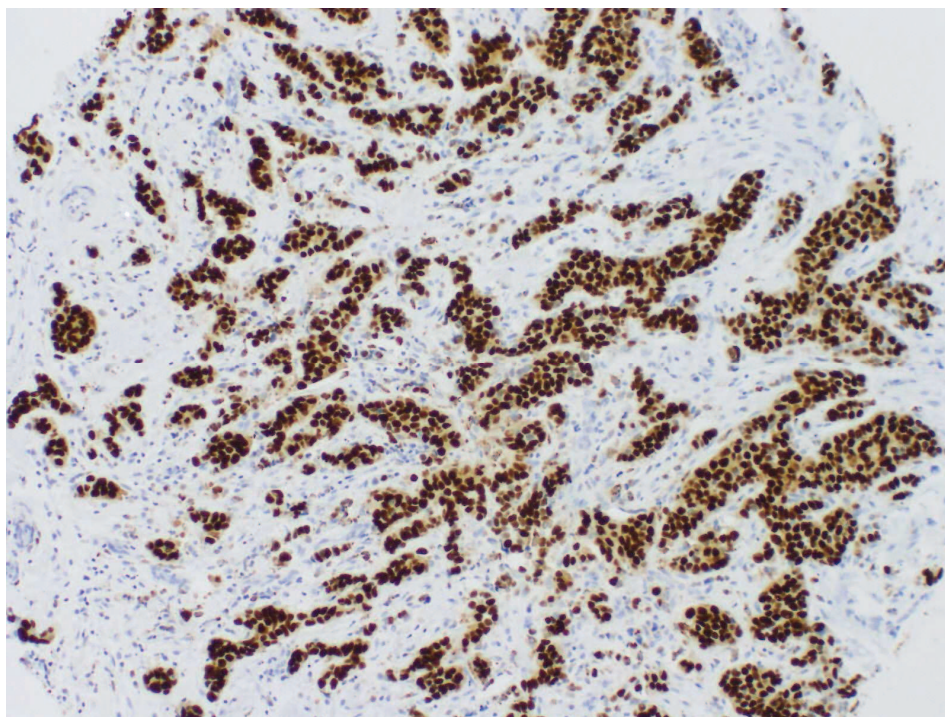
Table 2. Allred Scale

PS	Odsetek wybarwionych jąder komórkowych	IS	Siła wybarwienia jąder komórkowych
PS0	0%	IS0	brak
PS1	>0% do 1%	IS1	słaba
PS2	1–10%	IS2	średnia
PS3	11–33%	IS3	silna
PS4	34–66%	TS – PS + IS Stan ujemny TS=0–2 Stan dodatni TS=+3–8	
PS5	67–100%		

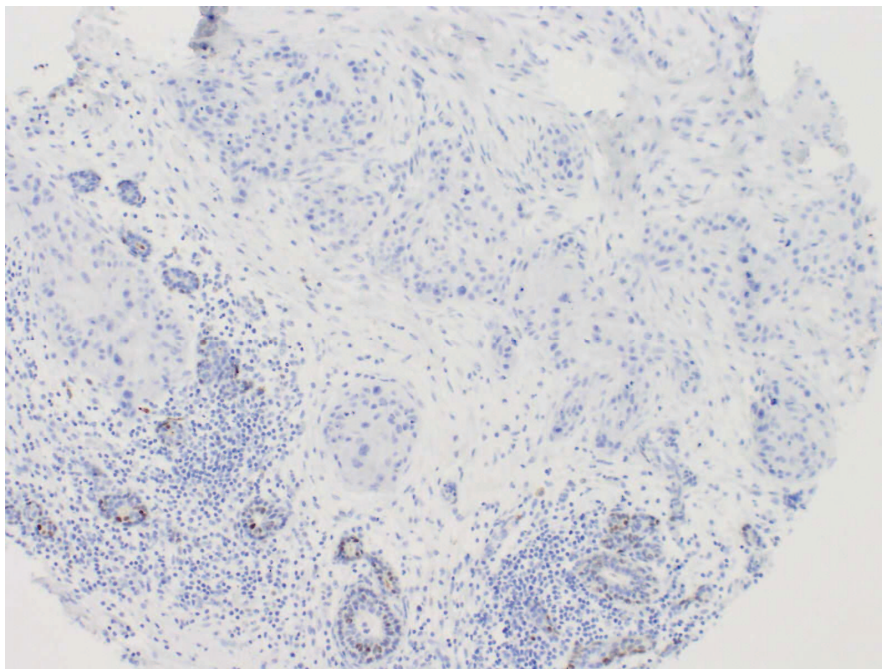


Ryc. 4. Receptor estrogenowy – odczyn silnie pozytywny (powiększenie x 10)

Fig. 4. Estrogen receptor – strongly positive reaction (zoom x 10)



Ryc. 5. Receptor progesteronowy – odczyn silnie pozytywny (powiększenie x 10)  
*Fig. 5. Progesterone receptor – strongly positive reaction (zoom x 10)*



Ryc. 6. Receptor progesteronowy, odczyn ujemny, brak reakcji w komórkach raka. Ognikowo pozytywna reakcja w komórkach zachowanych gruczołów sutka – dolna i lewa część fotografii (powiększenie x 10)

*Fig. 6. Progesteron receptor, negative reaction, no reaction in cancer cells. Focally positive reaction in mammary gland cells – lower and left part of photography (zoom x 10)*

W niniejszej pracy do analizy zastosowano skalę Allreda. Dla celów statystycznych wyniki obliczone w skali Allreda (od 0 do 8 pkt) przeliczono na 3 grupy:

- wynik ujemny: 0–2 pkt
- wynik słabo dodatni: 3–5 pkt
- wynik silnie dodatni: 6–8 pkt

## 1.8 ReceptorHER2

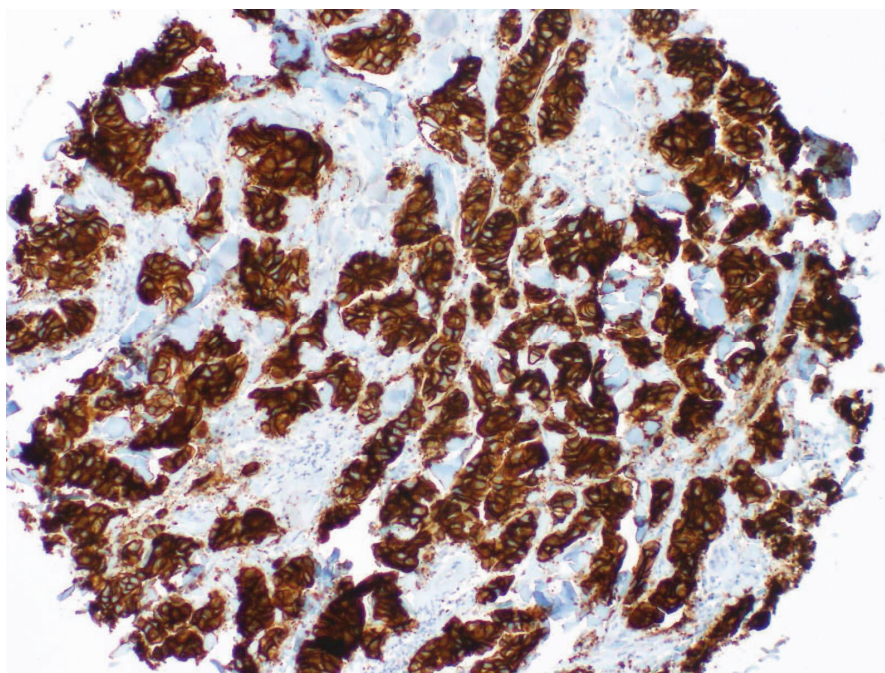
Status receptora HER2 rutynowo określany jest metodą immunohistochemiczną. Zaleca się do oceny HER2 korzystanie z materiału z biopsji grubo igłowej lub mammologicznej. Nie zalecane jest korzystanie z BAC. W ocenie stanu HER2 powszechnie stosuje się czterostopniową reakcję barwną (tabela 3):



Tabela 3. Skala oceny barwienia immunopatologicznego receptora HER2 i interpretacja wg ASCO 2013 [13,24]

*Table 3. The scale of immunopathology receptor HER2 staining evaluation and interpretation according to ASCO 2013 [13, 24]*

Wynik	Interpretacja (stan receptora HER2)
0	Stan negatywny
1+	Stan negatywny
2+	Stan niejednoznaczny(graniczny) (wymaga oceny metodą ISH z tego samego materiału lub ponownej oceny immunohistochemicznej lub ISH z innego materiału z badanego nowotworu)
3+	Stan pozytywny



Ryc. 7. Receptor HER2 odczyn 3+ (powiększenie x10)

*Fig. 7. Receptor HER2, 3+ reaction (zoom x 10)*

Okolo 15-20% przypadków zostanie w badaniu immunohistochemicznym zweryfikowane jako HER2(2+). Dalsza weryfikacja w tej grupie pacjentek odbywa się poprzez ocenę amplifikacji genu HER2 w chromosomie 17 metodą hybrydyzacji in situ FISH lub CISH. Analiza obecności amplifikacji opiera się na policzeniu kopii genu HER2 lub kopii genu HER2 i liczby centromerów chromosomu 17, na którym gen HER2 jest położony. Średnia liczba kopii genu HER2 na komórkę lub proporcja pomiędzy tymi liczbami decyduje o wykazaniu obecności lub nieobecności amplifikacji genu HER2 [24]. 10% przypadków wykazujących amplifikację interpretowanych jest jako dodatni stan HER2, pozostałe 90% nie wykazujące amplifikacji kwalifikujemy jako HER2(-). W naszym przypadku weryfikacja odbywała się metodą FISH [13,24]. W materiale ze wznowy lokoregionalnej stan receptora HER2 oceniany powinien zostać ponownie.

### **1.9 Nawrotowy rak piersi – wznowa miejscowa**

U okolo 20-30% pacjentek z wczesnym rakiem piersi wystąpi nawrotowy rak piersi pod postacią wznowy miejscowej lub przerzutów odległych [3,17,20,21]. W naszym badaniu analizujemy chore z wznową miejscową raka piersi, czyli lokoregionalną. Leczeniem z wyboru wznowy lokoregionalnej jest leczenie chirurgiczne, a następnie do rozważenia pozostaje włączenie odpowiedniego leczenia systemowego. Pod pojęciem wznowy lokoregionalnej rozumiemy:

- a) pacjentki ze wznową węzłową lub tkankową w pasze po stronie operowanej po limfadenektomii pachowej lub pobraniu węzła wrotniczego
- b) pacjentki ze wznową w resztkowym gruczole po BCT
- c) pacjentki ze wznową na ścianie klatki piersiowej lub skórze po amputacji gruczołu piersiowego

Jako granicę czasową przyjęliśmy włączanie zmian, które pojawiły się rok po zakończeniu leczenia chirurgicznego, a pacjentki były wcześniej pod kontrolą i nie zaobserwowano ognisk patologicznych, podejrzanych w kierunku wznowy raka piersi.

**2. CELE PRACY**

- 1) Ocena częstości zmiany receptorów ER/PR/HER2 w nawrotowym raku piersi w populacji polskiej
- 2) Analiza czynników histopatologicznych/biologicznych skutkujących zmianą stanu receptorów
- 3) Analiza wpływu zmiany stanu receptorów na rokowanie (czas wystąpienia wznowy/czas zgonu)

### 3. MATERIAŁ I METODY

#### 3.1 Badane chore

Do badania włączono chore po leczeniu operacyjnym nawrotu miejscowego raka piersi, u których dostępne były bloki tkankowe z guza pierwotnego oraz nawrotu lokoregionalnego. Pierwotna grupa pacjentek zakwalifikowana do badania liczyła 172 pacjentki, z 6 ośrodków: Uniwersyteckie Centrum Kliniczne w Gdańsku, Wojewódzkie Centrum Onkologii w Gdańsku, Szpital Specjalistyczny im. Św. Wojciecha w Gdańsku, SP ZOZ Opolskie Centrum Onkologii, Zachodniopomorskie Centrum Onkologii w Szczecinie, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi. Materiał tkankowy uzyskany na drodze zabiegu chirurgicznego/BAG (Biopsja Gruboigłowa)/VABB (Vacuum Assisted Breast Biopsy) pochodził z archiwów Zakładów Patomorfologii wyżej wymienionych szpitali. Pomimo wstępnego zakwalifikowania tkanek od 179 chorych w celu uzyskania jednorodnego materiału do analizy, ostatecznie do finalnej badania włączono 35 pacjentek.

Pozostałe pacjentki zdyskwalifikowano z udziału w badaniu z następujących przyczyn:

- Pierwotnie zlokalizowano **179** pacjentek u których wystąpiła wznowa miejscowa raka piersi według dokumentacji medycznej bądź wywiadu pacjenta
  - wykluczono 80 pacjentek ze względu na brak możliwości zlokalizowania szpitala, w którym pacjentka była operowana w zakresie ogniska pierwotnego – 45 chorych lub wznowy – 35 chorych
  - wykluczono 26 pacjentek ze względu na brak numeru badania histopatologicznego właściwego preparatu tkankowego
    - wykluczono 16 pacjentek ze względu na brak bloków histopatologicznych
    - wykluczono 22 pacjentek ze względu na brak raka w materiale/materiał niediagnostyczny lub materiał z BAC – niekwalifikujący się do włączenia do badanej grupy

**Finalnie pozostało 35 chorych włączonych do naszego badania.**

Praca ma charakter retrospektywno–prospektywny, wieloośrodkowy. Stanowi element i jest finansowana z grantu badawczego Polskiego Towarzystwa Onkologicznego, przydzielonego w drodze konkursu w roku 2012.

W analizowanej grupie chorych przeprowadzona została ocena ekspresji receptorów zarówno w guzie pierwotnym, jak i wznowie lokoregionalnej: estrogenowego, progesteronowego i HER2. Następnie dokonana została ocena częstości zmiany stanu receptorów ER/PR/HER2 w nawrotowym raku piersi w populacji polskiej oraz analiza korelacji zmienności stanu biomarkerów z prowadzonym w momencie wznowy leczeniem celowanym, czynnikami demograficznymi oraz rokowaniem w analizowanej grupie chorych.

## **3.2 Stosowane metody**

### **3.2.1 Przygotowanie mikromacierzy tkankowych**

Zgromadzono materiał tkankowy z ogniska pierwotnego oraz wznowy lokoregionalnej. Ponowną analizę patomorfologiczną przeprowadzono w Zakładzie Patomorfologii UCK (kierownik: prof. W. Biernat, wykonujący lek. Jolanta Szade). Celem weryfikacji rozpoznania oraz wybrania najbardziej reprezentatywnych fragmentów nowotworu wycinki z guza wybarwione hematoksyliną i eozyną poddano ponownej ocenie histopatologicznej. Wyselekcjonowane preparaty wraz z odpowiednimi bloczkami parafinowymi posłużyły do wyboru obszarów guza, z których pobrano wycinki do sporządzenia macierzy tkankowych. Biopaty guzów umieszczono w beztkankowych blokach parafinowych. Mikromacierze tkankowe wykonano przy użyciu *Manual tissue arrayer* I firmy Beecher Instruments (MTAI, K7 BioSystems). Zarówno z ogniska pierwotnego, jak i wznowy lokoregionalnej pobrano co najmniej dwa wałeczki tkanki nowotworowej. W każdym powstałym bloku umieszczono fragmenty migdałka podniebiennego, ułatwiającego orientację bloku parafinowego i lokalizację wycinków.

### **3.2.2 Badania immunohistochemiczne**

Celem oznaczenia stanu ER, PR oraz HER2, materiał tkankowy uzyskany na drodze zabiegu chirurgicznego lub biopsji grubo igłowej/mammotomicznej,

rutynowo procesowano (utrwalano w 10% buforowanej formalinie i zatapiano w parafinie). Z powstałych bloków parafinowych skrawano na adhezyjne szkiełka podstawowe (SuperFrost® Plus firmy Menzel– Gläser®) skrawki tkankowe o grubości 4 µm. Uzyskane preparaty histologiczne były barwione immunohistochemicznie przy użyciu Autostainer Link 48 firmy Dako. Używano następujących przeciwciał firmy Dako:

- 1) Monoclonal Rabbit Anti–Human Estrogen Receptor alfa Clone EP1
- 2) Monoclonal Mouse Anti–Human Progesterone Receptor Clone PgR 636

HER2 oznaczano na maszynie BenchMark GX firmy Roche. Używano przeciwciał: anti–HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody.

### **3.2.3 Ocena odczynów immunohistochemicznych**

Oceny ekspresji receptorów steroidowych (ER, PR) w naszym badaniu dokonano analizując odsetek komórek nowotworowych wykazujących odczyn jądrowy. Używano mikroskopu świetlnego (Olympus BX43) wykorzystując skalę Allreda – metodę oceny sumującą odsetek pozytywnych komórek i intensywność uzyskanego odczynu. Ekspresję receptora HER2 oceniano w błonie komórkowej komórek raka piersi, kwalifikując jako dodatnie przypadki (HER2(3+), w których reakcja barwna wystąpiła w powyżej 10% wyraźnie obwiedzionych komórkach. Odczyn niejednoznaczny(HER2(2+)) występował w przypadku niecałkowitego obwiedzenia o umiarkowanym natężeniu barwienia w ponad 10% komórek lub w przypadkach całkowicie obwiedzionych intensywnym odczynem w ≤10% komórek. W przypadku nieobecności wybarwienia oraz niepełnego i słabego odczynu błonowego w poniżej 10% komórek nowotworowych, odczyn klasyfikowano jako ujemny(HER2(0/1+)).

### 3.2.4 Ocena statystyczna

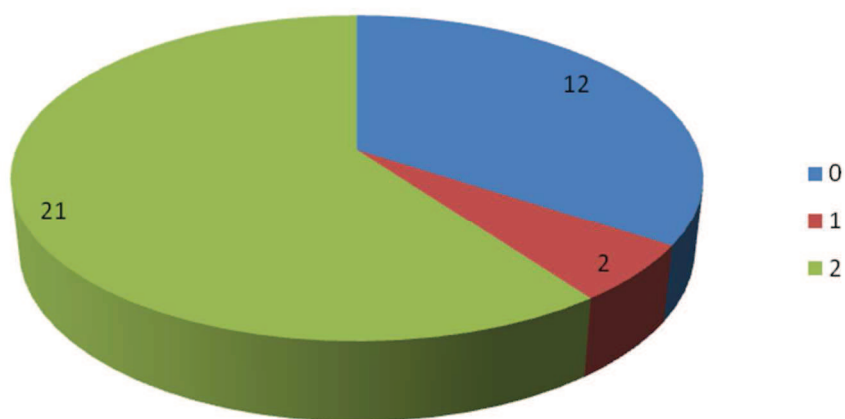
W badaniu analizowano statystycznie dane 35 chorych z wznową lokoregionalną raka piersi. Dla potrzeb oceny cech klinicznych oraz demograficznych wykorzystano statystykę opisową. Do analizy statystycznej otrzymanych wyników użyto testów nieparametrycznych. Do analizy przeżyć w badanej grupie chorych użyto testu Kaplana–Meiera. Do oceny zależności pomiędzy zmianą stanu receptorów a zmiennymi kategoryzowanymi użyto testu Chi–kwadrat wg Pearsona (z poprawką Yeatsa i dokładnym testem Fishera). Do oceny zależności pomiędzy zmianą stanu receptorów, a zmiennymi ciągłymi zastosowano test nieparametryczny: U Mann Whitney. Poziom zgodności pomiędzy otrzymanymi danymi określono testem istotności kappa Cohena, wyrażony wartością współczynnika kappa Cohena ( $\kappa$ ). Miary zależności zmiennych określono za pomocą korelacji rangowej, wyrażoną wartościami współczynnika korelacji rang Spearmana ( $r_s$ ). Wszystkich obliczeń dokonano przy użyciu programu Statistica w wersji 10 firmy StatSoft® Polska

## 4. WYNIKI

### 4.1 Statystyka opisowa –ognisko pierwotne raka piersi:

Do badania finalnie włączono 35 pacjentek ze wznową lokoregionalną raka piersi. Średni wiek pacjentek w chwili rozpoznania ogniska pierwotnego raka to 58,1 roku, (mediana 56 lat, SD 11,3, min. 39, max 80). Średni czas obserwacji chorych od rozpoznania ogniska pierwotnego do zgonu (o ile wystąpił) lub zakończenia obserwacji (2015) to 9,5 roku. (mediana 8, SD 5,6, min. 1, max 23). Średni czas od rozpoznania ogniska pierwotnego do zgonu to 5,2 roku, (mediana 4, SD 3,9, min. 1,5 roku, max 14).

W analizowanej grupie 35 pacjentek, w ognisku pierwotnym u 12 pacjentek receptory ER były ujemne (0), u 2 słabo dodatnie (1), a u 21 silnie dodatnie (2), przy założeniach: 0-2 w skali Allreda – ujemny, 3-5 – słabo dodatnie, 6-8 – silnie dodatnie (ryc. 8).

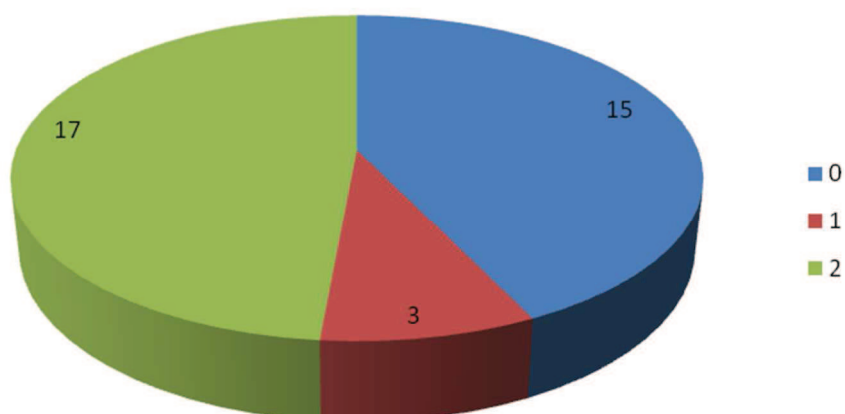


Ryc. 8. Stan receptora ER w ognisku pierwotnym raka: 0 – ujemny, 1– słabo dodatni, 2– silnie dodatni

*Fig. 8. ER receptor in primary breast cancer: 0 – negative, 1 – weakly positive, 2 – strongly positive*



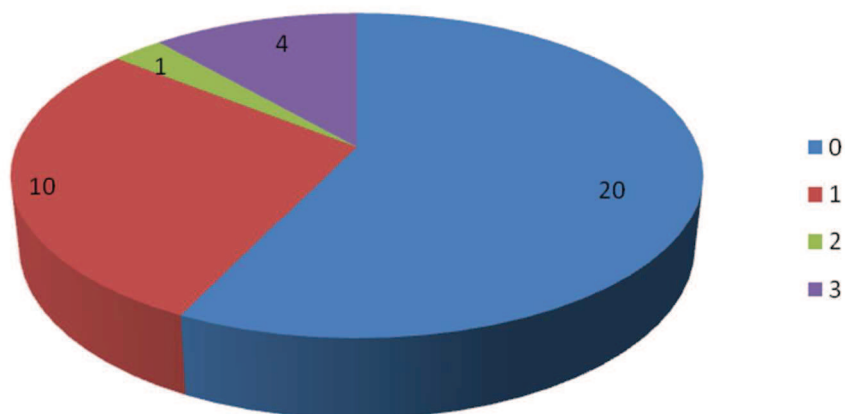
W badanej grupie 35 chorych, w ognisku pierwotnym u 15 pacjentek receptory PR były ujemne, u 3 słabo dodatnie, a u 17 silnie dodatnie, przy założeniach: 0-2 w skali Allreda – ujemny, 3-5 – słabo dodatnie, 6-8 – silnie dodatnie (ryc. 9).



Ryc. 9. Stan receptora PR w ognisku pierwotnym raka: 0 – ujemny, 1– słabo dodatni, 2– silnie dodatni

*Fig. 9. PR receptor in primary breast cancer: 0 – negative, 1 – weakly positive, 2 – strongly positive*

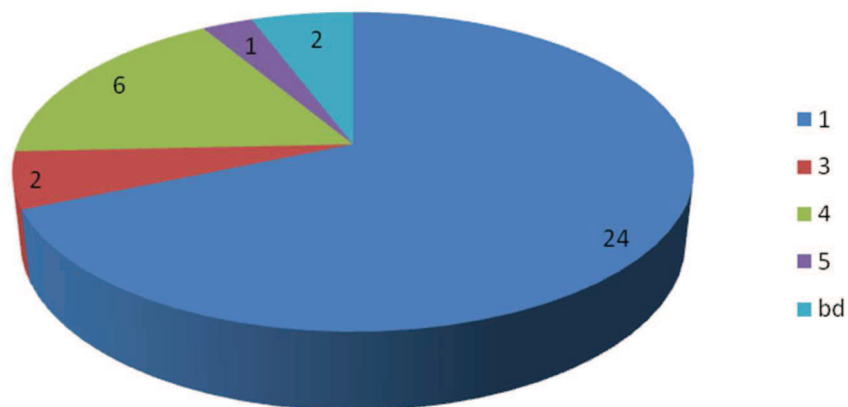
W badanej grupie receptor HER2 w guzie pierwotnym przyjmował następujące wartości: 0 – 20 pacjentek, 1+ – 10 pacjentek, 2+ – 1 pacjentka, do weryfikacji w badaniu FISH, 3+ – 4 pacjentki (ryc. 10).



Ryc. 10. Stan receptora HER2 w ognisku pierwotnym raka: 0 – ujemny, 1– słabo dodatni, 2–silnie dodatni

*Fig. 10. HER2 receptor in primary breast cancer: 0 – negative, 1 – weakly positive, 2 – strongly positive*

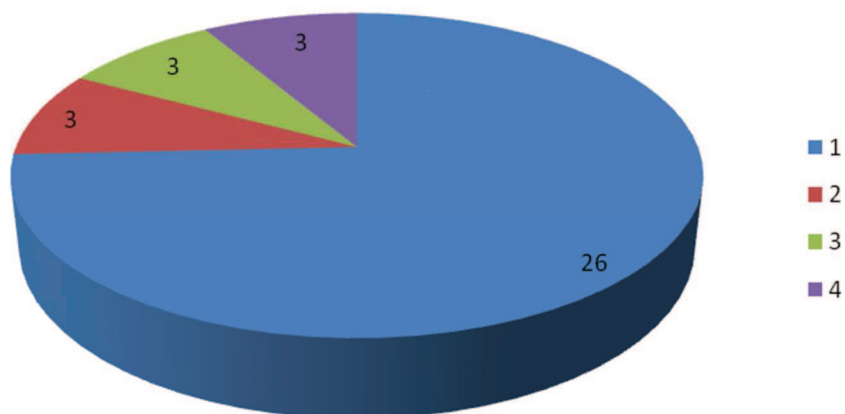
Ognisko pierwotne raka operowane było u 24 chorych w Uniwersyteckim Centrum Klinicznym w Gdańsku, 2 – Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym im. M. Kopernika w Łodzi., 2 – Zachodniopomorskim Centrum Onkologii w Szczecinie, 6 – SP ZOZ Opolskim Centrum Onkologii, 1 – Szpitalu Specjalistycznym im. Św. Wojciecha w Gdańsku, 2– brak danych (ryc. 11).



Ryc. 11. Lokalizacja wycięcia ogniska pierwotnego: 1 – UCK w Gdańsku, 3 – Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi., 5 – Zachodniopomorskie Centrum Onkologii w Szczecinie, 4 – SP ZOZ Opolskie Centrum Onkologii, 1 – Szpital Specjalistyczny im. Św. Wojciecha w Gdańsku, 2– brak danych

*Fig. 11. The localization of primary breast cancer excision: 1 – UCK Gdańsk, 3 – Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi., 5 – Zachodniopomorskie Centrum Onkologii w Szczecinie, 4 – SP ZOZ Opolskie Centrum Onkologii, 1 – Szpital Specjalistyczny im. Św. Wojciecha w Gdańsku, 2 – no data*

U 20 pacjentek stwierdzono raka piersi prawej, u 15 chorych raka piersi lewej. W grupie 26 pacjentek rozpoznano raka przewodowego, u 3 chorych raka zrazikowego, u kolejnych 3 chorych wystąpiły oba rodzaje raka piersi, u 3 pacjentek wykryto raka rdzeniastego. (ryc. 12).

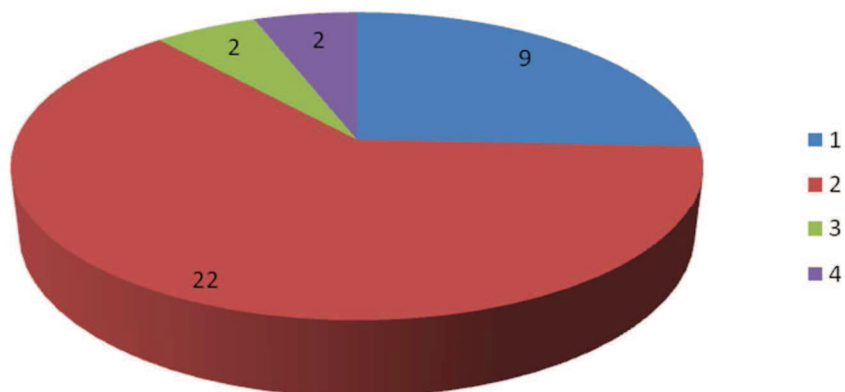


Ryc. 12. Rak piersi – ognisko pierwotne – podział histopatologiczny: 1 – rak przewodowy, 2 – rak zrazikowy, 3 – 1+2, 4 – rak rdzeniasty

*Fig. 12. Primary breast cancer – histologic subtypes: 1 – carcinoma ductale, 2 – carcinoma lobular, 3 – 1+2, 4 – carcinoma medullar*

W analizowanej grupie u 23 pacjentek wystąpiła cecha NG2, u 12 NG3. Brak pacjentek z NG1. W odniesieniu do podtypów molekularnych raka piersi, odnotowano: 16 – rak piersi HR+, 5 – rak piersi HER2(+), 14 – rak piersi trójjemny (TN).

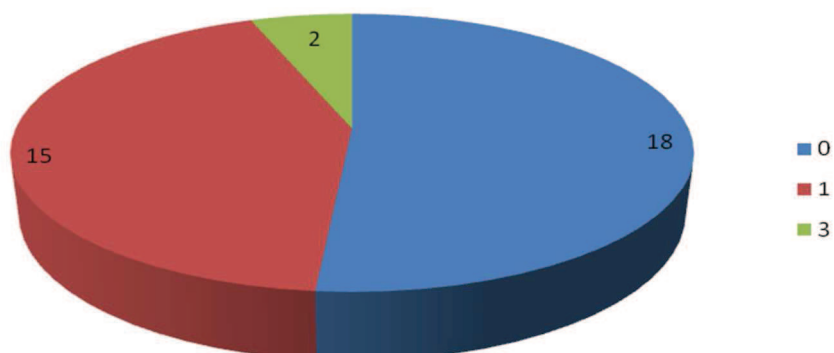
Oceniając badaną grupę chorych pod kątem zaawansowania klinicznego według TNM (25), u 9 wystąpiła cecha T1, u 22 T2, u 2 T3 i u 2 T4 (ryc. 13).



Ryc. 13. Wielkość ogniska pierwotnego (cecha T według TNM)

*Fig. 13. Primary tumor (T attribute according to TNM scale)*

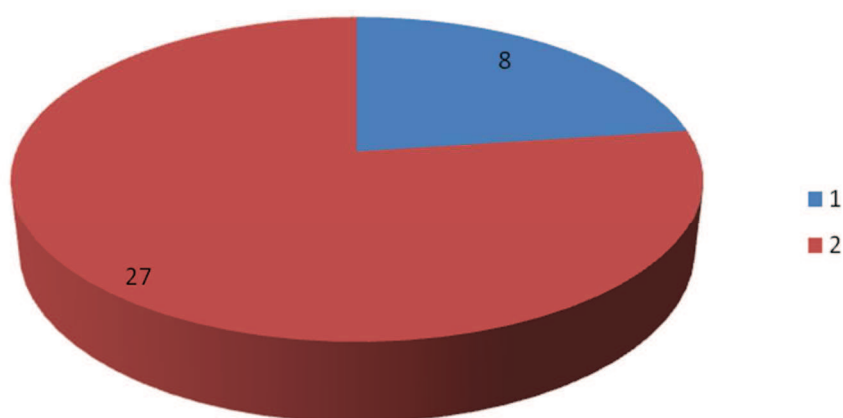
Analizując stan zaawansowania węzłowego u 18 pacjentek wykazano cechę N0, u 15 N1, u pozostałych dwóch N2. W badanej grupie średnio zajętych było średnio 1,97 węzła chłonnego, (mediana 1, SD 3,45, min. 0, max 17) (ryc. 14).



Ryc. 14. Stan zaawansowania węzłowego raka pierwotnego (cecha N według TNM)

*Fig. 14. Lymph nodes evaluation in primary breast cancer (N attribute according to TNM scale)*

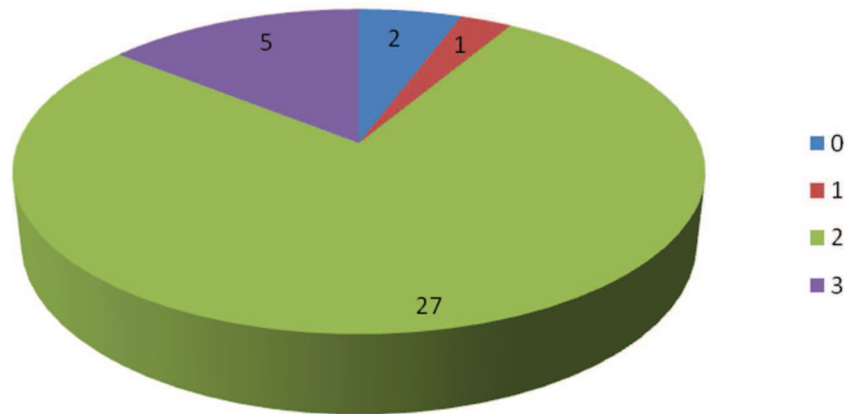
Biorąc po uwagę zastosowane leczenie chirurgiczne, u 8 chorych przeprowadzono leczenie oszczędzające (BCT), pozostałe 27 pacjentek zostało zakwalifikowanych do radykalnej zmodyfikowanej mastektomii metodą Maddena (ryc. 15). W metodzie Maddena wykonywano amputację gruczołu wraz z usunięciem węzłów chłonnych pachy, bez przecinania mięśnia piersiowego mniejszego.



Ryc. 15. Rodzaj leczenia chirurgiczne pierwotnego ogniska raka piersi: 1 – BCT, 2 – amputacja metodą Maddena

*Fig. 15. Surgical treatment of primary breast cancer: 1 – BCT, 2 – MRM modo Madden*

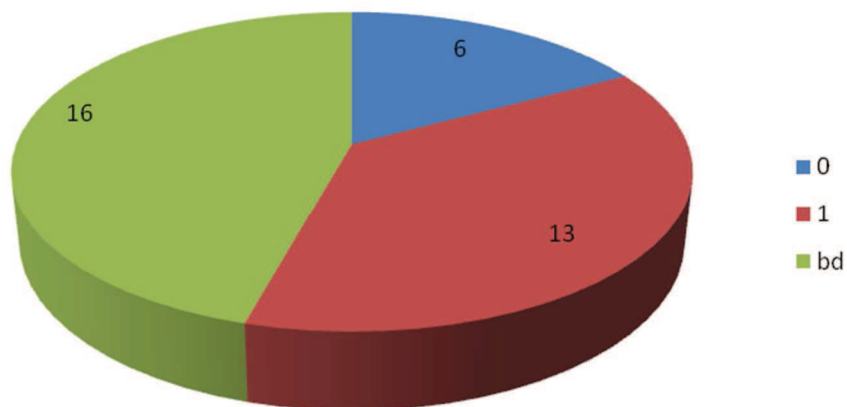
W obrębie dołu pachowego u 27 chorych wykonano standardową limfadenektomię pachową (I i II piętro), u 5 pacjentek przeprowadzono pełną limfadenektomię, w czasie której usunięto I, II i III piętro, 1 pacjent zakwalifikowany został do pobrania węzła wartowniczego (SLND), u 2 pacjentek nie wykonano żadnej procedury w obrębie dołu pachowego. Średnio w całej grupie usunięto 13,7 węzła chłonnego (mediana 14, SD 6,05, min. 0, max 27)(ryc. 16).



Ryc. 16. Rodzaj zastosowanego leczenia chirurgicznego węzłów chłonnych pachowych: 0 – brak leczenia chirurgicznego pachy, 1 – SLND, 2 – limfadenektomia (I + II piętro), 3 – limfadenektomia (I+II+III piętro)

*Fig. 16. Surgical treatment of axillary lymph nodes: 0 – no surgical treatment, 1 – SLND, 2 – limfadenectomy (I + II level), 3 – limfadenectomy (I+II+III level)*

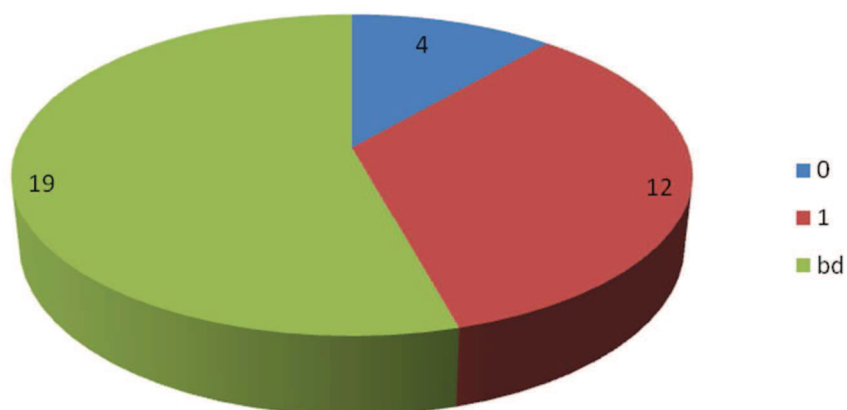
13 pacjentek zostało zakwalifikowanych do radioterapii, u 6 pacjentek brak wskazań, u 16 pacjentek brak danych (ryc. 17).



Ryc. 17. Kwalifikacja do radioterapii

*Fig. 17. Qualification to radiotherapy*

Chemioterapię włączono u 12 chorych, u 4 odstąpiono, u 19 pacjentek brak danych (ryc. 18).

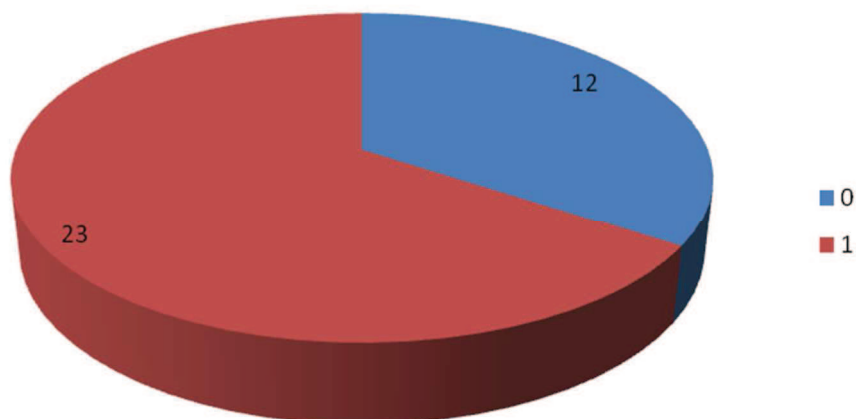


Ryc. 18. Kwalifikacja do chemioterapii

*Fig. 18. Qualification to chemotherapy*



Hormonoterapię zastosowano u 23 chorych, u 12 pacjentek odstąpiono (ryc. 19).

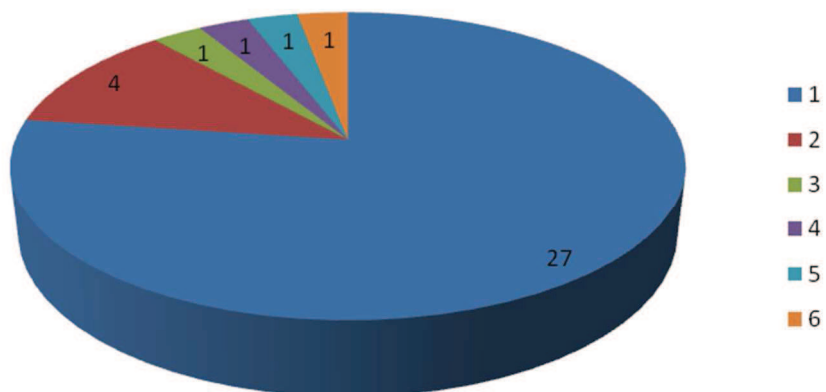


Ryc. 19. Kwalifikacja do hormonoterapii  
*Fig. 19. Qualification to hormone therapy*

#### 4.2 Statystyka opisowa – wznowa lokoregionalna raka piersi

Średni wiek w chwili wystąpienia wznowy to 63,2 lata, (mediana 62, SD 11,1, min. 40, max 85). Średni czas obserwacji chorych od rozpoznania wznowy do zgonu (o ile wystąpił) lub zakończenia obserwacji (2015) to 4,3 roku (mediana 4, SD 3,7, min. 0, max 14).

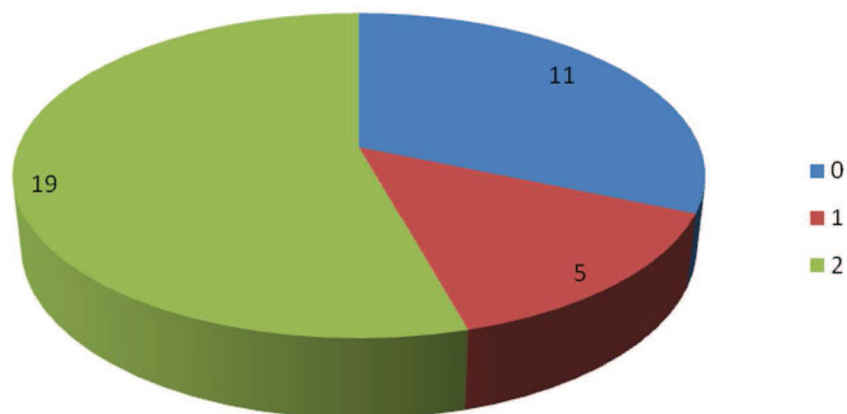
U 27 pacjentek rozpoznano wznowę raka przewodowego, u 4 – raka zrazikowego, po 1 wznowie jednoczesowej raka przewodowego oraz zrazikowego, raka rdzeniastego, śluzowego oraz mięsaka (ryc. 20).



Ryc. 20. Podział histopatologiczny – wznowa raka piersi: 1 – rak przewodowy, 2 – rak zrazikowy, 3– 1+2, 4 – rak rdzeniasty, 5 – rak śluzowy, 6 – mięsak

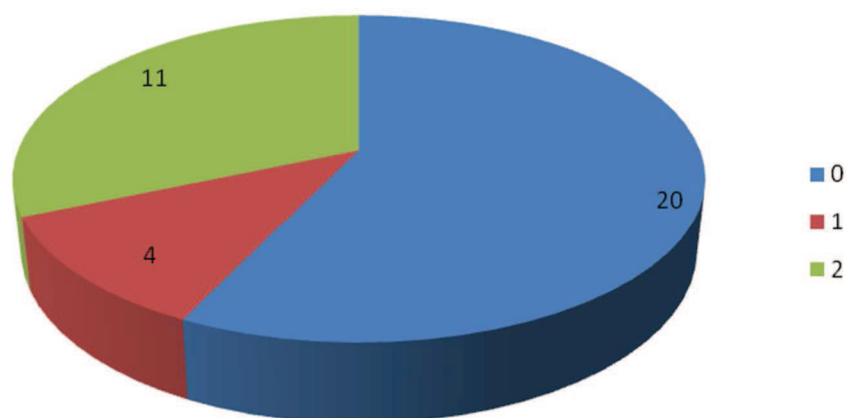
Fig. 20. *Recurrent breast cancer – histologic subtypes: 1 – carcinoma ductale, 2 – carcinoma lobular, 3 – 1+2, 4 – carcinoma medullar, 5 – carcinoma mucinuous, 6 – sarcoma*

W analizowanej grupie 35 pacjentek, we wznowie miejscowej u 11 pacjentek receptory ER były ujemne, u 5 pacjentek słabo dodatnie, u 19 silnie dodatnie (ryc. 21).



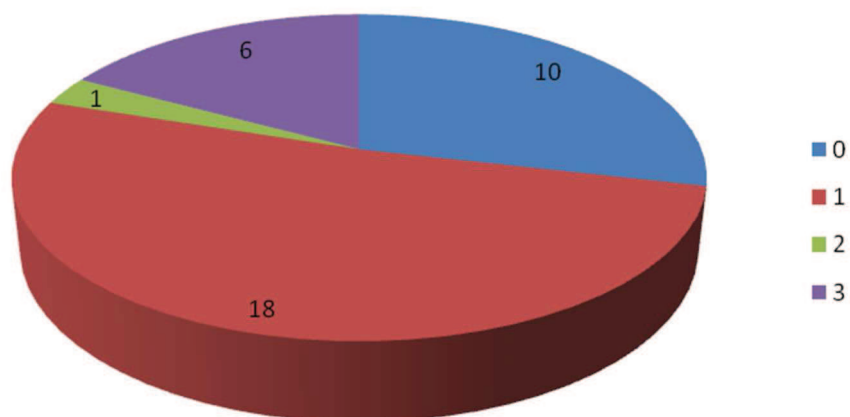
Ryc. 21. Stan receptora estrogenowego we wznowie lokoregionalnej  
*Fig. 21. Estrogen receptor in recurrent breast cancer*

Receptory progesteronowe we wznowie miejscowej u 20 pacjentek były ujemne, u 4 słabo dodatnie, u 11 silnie dodatnie (ryc. 22).



Ryc. 22. Stan receptora progesteronowego we wznowie lokoregionalnej  
*Fig. 22. Progesteron receptor in recurrent breast cancer*

W badanej grupie czynnik HER2 przyjmował następujące wartości: 0 – 10 chorych, 1 – 18 chorych, 2 – 1 chory oraz 3 – u 6 chorych (ryc. 23).

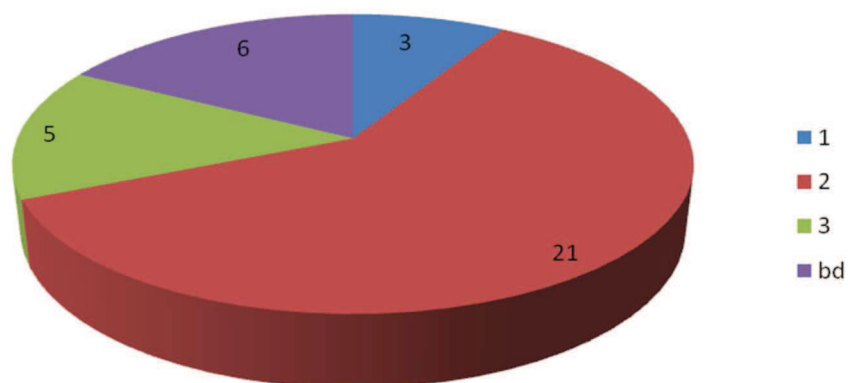


Ryc. 23. Stan receptora HER2 we wznowie lokoregionalnej

*Fig. 23. HER2 receptor in recurrent breast cancer*

Udało się uzyskać dane dotyczące NG wznowy miejscowej u 10 chorych: w tej grupie przyjął wartość 1 u 3 chorych, 2 u 3 chorych oraz 3 u 4 chorych. U 25 chorych brak danych odnośnie czynnika NG we wznowie miejscowej. Dane dotyczące wielkości wznowy udało się ustalić dla 16 pacjentek – średnia wielkość wznowy miejscowej to 17,8 mm, mediana 14,5, SD 12,2, min. 4, max 55 mm. Analizując podział molekularny, w grupie ze wznową lokoregionalną raka piersi wyliczono: HR+ – 22, HER2(+) – 7, TN – 6.

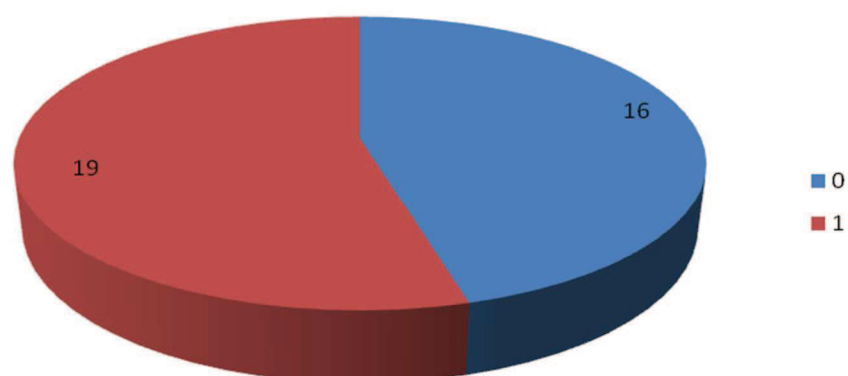
Wznowa miejscowa u 3 chorych pojawiła się w gruczole po BCT, u 21 chorych w bliźnie po amputacji, a u 5 chorych w węzłach chłonnych dołu pachowego. Brak danych dla 6 pacjentek (ryc. 24).



Ryc. 24. Lokalizacja wznowy lokoregionalnej: 1 – gruczoł po BCT, 2 – blizna po amputacji, 3 – węzły chłonne dołu pachowego

*Fig. 24. Localization of breast cancer recurrence: 1 – mammary gland after BCT, 2 – tissue scar after MRM, 3 – axillary lymph nodes*

W badanej grupie u 19 pacjentek włączono hormonoterapię (ryc. 25).



Ryc. 25. Kwalifikacja do hormonoterapii z powodu wznowy lokoregionalnej raka piersi

*Fig. 25. Qualification to hormone therapy due to recurrent breast cancer*

### 4.3 Statystyka opisowa – zmiana stanu receptorów

- W analizowanej grupie chorych u 8 pacjentek doszło do zmiany stanu receptorów ER (22,9%), w tym u 3 chorych (8,6%) z 0 na 1, a u 5 chorych (14,3%) z 1 na 0.
- U 10 chorych (28,6%) wykazano zmianę stanu receptorów PR, w tym u 7 chorych (20%) z 0 na 1, a u 3 chorych (8,6%) z 1 na 0.
- Stan receptora HER2 uległ zmianie u 6 pacjentów (17,1%), w tym u 2 pacjentek z 0 na 1 (5,7%), a u 4 chorych z 1 na 0 (11,4%).
- Jednoczasowa zmiana stanu receptorów ER i PR wystąpiła u 9 chorych (25,7%), w tym u 4 chorych z 0 na 1 (11,4%), a u 5 chorych z 1 na 0 (14,3%).
- Jednoczasową zmianę stanu receptorów ER, PR i HER 2 wykazano u 7 pacjentek (20%), w tym u 2 pacjentek z 0 na 1 (5,7%), a u 5 pacjentek z 1 na 0 (14,3%).

### 4.4 Przyczyny zmiany stanu receptorów

1) W grupie z rakiem przewodowym częściej dochodziło do zmiany stanu receptorów ER z 1 na 0 ( $p=0,029$ ), zmiany ER/PR z 1 na 0 ( $p=0,049$ ), zmiany ER/PR/HER2 z 1 na 0 ( $p=0,049$ ).

2) W badanej grupie jednoczasowa zmiana ERPRHER2 ( $p=0,021$ ) występowała najczęściej u chorych z T1 i T2.

3) W analizowanej grupie chorych zastosowanie hormonoterapii zwiększało prawdopodobieństwo zmiany ER10  $p=0,02$  (Fisher  $p=0,038$ ), PR10  $p=0,012$  (Fisher 0,034), ER/PR10  $p=0,001$  (Fisher  $p=0,002$ ), zmiany ER/PR  $p=0,018$  (Fisher  $p=0,026$ ), ER/PR/HER2 10  $p=0,001$  (Fisher  $p=0,002$ ), zmiany ER/PR/HER2  $p=0,021$  (Fisher  $p=0,033$ ).

4) W badanej grupie chorych wykazano zależność pomiędzy ilością zajętych węzłów chłonnych a zmianą panelu ER/PR/HER2 z 0 na 1 ( $p=0,042$ ):

- średnia zajętych węzłów chłonnych u pacjentów bez zmiany

- ER/PR/HER2 01 – 1,73 (SD 3,32; 95%CI 0,55– 2,9) min. 0, max 17
- średnia liczba zajętych węzłów chłonnych u pacjentów ze zmianą ER/PR/HER2 01 – 6 (SD 4,24; 95%CI –32,1–44,11) min. 3, max 9

#### 4.5 Efekt zmiany stanu receptorów

1. W grupie, w której doszło do zmiany receptorów ER zaobserwowano skrócenie czasu przeżycia od rozpoznania ogniska pierwotnego ( $p=0,033$ ) oraz od wystąpienia wznowy ( $p=0,054$ ).
2. W grupie pacjentek, u których wykazano zmianę receptorów ER i PR z 0 na 1 zaobserwowano skrócenie czasu przeżycia od rozpoznania ogniska pierwotnego ( $p=0,023$ ) oraz skróceniem czasu od rozpoznania guza pierwotnego do wznowy ( $p=0,052$ ).
3. W badanej grupie chorych, jednoczasowa zmiana ER i PR przekładała się na skrócenie czasu przeżycia od rozpoznania ogniska pierwotnego ( $p=0,044$ ) oraz wznowy ( $p=0,034$ ) oraz skróceniem czasu od rozpoznania guza pierwotnego do wznowy ( $p=0,033$ ).
4. W grupie, w której doszło do zmiany receptorów PR z 0 na 1 wykazano skrócenie czasu przeżycia od rozpoznania wznowy ( $p=0,034$ ).
5. U chorych z jednoczasową zmianą ER/PR/HER2 z 0 na 1 wykazano skrócenie czasu przeżycia od wystąpienia wznowy ( $p=0,005$ ).
6. Rokowanie w grupach ER/PR/HER2 (–)?  
Czas przeżycia od guza pierwotnego jest dłuższy (średnia 15,3, SE (*standard error*) 1,64) u pacjentów z jakąkolwiek zmianą receptorów aniżeli TN (średnia 8,1, SE 2,8) (ale w związku z małą liczebnością brak istotności statystycznej ( $p=0,327$ )) czas między guzem pierwotnym a wznową podobnie jest dłuższy u pacjentów ze zmianą (8,9, SE 1) vs TN (średnia 4,3 SE 1,9)  $p=0,075$ .

## 5. DYSKUSJA

Rak piersi jest w Polsce najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet [1,4,30,37]. Rokrocznie odnotowujemy wzrostu liczby nowych przypadków zachorowań na raka piersi w Polsce, jednocześnie obserwujemy wyraźną tendencję spadkową odnośnie liczby zgonów w grupie pacjentek z rakiem piersi [1,2,6,45]. Główną przyczyną zgonów w tej grupie chorych jest rozsiew choroby nowotworowej. Celem zniwelowania ryzyka wystąpienia stadium uogólnionego rozsiewu raka piersi oraz wydłużenia przeżycia w tej grupie chorych stosujemy odpowiednio dobrane leczenie systemowe – chemioterapia, hormonoterapia, leczenie anty-HER2 oraz radioterapia. Precyzyjna ocena właściwości biologicznych (ER/PR/HER2/NG) raka oraz stanu zaawansowania klinicznego umożliwia dobranie leczenia systemowego, przynoszącego najwięcej wymiernych korzyści pacjentowi – wydłużenie czasu przeżycia, czasu wolnego od nawrotu choroby oraz poprawy jakości życia w stadium uogólnionym raka piersi. Liczne badania kliniczne pokazują, że profil biologiczno-molekularny może ulec zmianie podczas przebiegu choroby nowotworowej [16,17,46,47,48,49]. Stwarza to pytanie odnośnie konieczności ponownej oceny profilu biologiczno-molekularnego wznowy raka piersi pod kątem zmiany leczenia systemowego w przypadku wystąpienia wznowy raka piersi. Tylko nieliczne prace zajmują się tym zagadnieniem selekcyjnie przypadki wznowy lokoregionalnej raka piersi. Brak jest piśmiennictwa analizującego powyższe zagadnienie pod kątem populacji polskiej. W naszym badaniu przeprowadzamy ocenę częstości zmiany receptorów ER/PR/HER2 w nawrotowym raku piersi w populacji polskiej. Dokonujemy analizy wpływu zmiany stanu receptorów na rokowanie w grupie pacjentek z lokoregionalną wznową raka piersi, jednocześnie poszukując czynników histopatologicznych/biologicznych skutkujących zmianą stanu receptorów.

### 5.1 Wady i zalety badania

Zaletą badania jest ponowna ocena badanego materiału dokonywana przez jednego, tego samego patologa, co eliminuje błędy związane z oceną przez kilku lekarzy i potencjalnie różne podejście do przypadków granicznych. Pomimo, że



badanie ma charakter retrospektywno-prospektywny i pochodzi z różnych ośrodków medycznych w Polsce, każdy materiał tkankowy był oceniany ponownie w takich samych warunkach laboratoryjnych, przy użyciu jednolitych środków technicznych i zastosowaniu tych samych standardów merytorycznych.

Niewątpliwie największym minusem badania, szczególnie ze względu na ograniczenie możliwości analizy statystycznej jest mała liczba chorych. Początkowo do badania zakwalifikowano 179 pacjentek, u których według dokumentacji wystąpiła wznowa lokoregionalna raka piersi, leczonych chirurgicznie w latach 1994–2014. U 80 pacjentek, pomimo potwierdzenia leczenia uogólnionego z powodu wznowy lokoregionalnej raka piersi, brak było możliwości ustalenia gdzie operowana było ognisko pierwotne – 45 chorych lub wznowa – 35 chorych. W grupie pozostałych 99 pacjentek – u 26 pacjentek brak jest numeru badania histopatologicznego, co uniemożliwiło dotarcie do konkretnych bloków tkankowych. Pozostały 73 pacjentki z kompletnymi numerami badania histopatologicznego. Podczas próby wybrania z archiwum bloków tkankowych, u 16 pacjentek odnotowano brak bloków histopatologicznych, brak możliwości ustalenia lokalizacji preparatów. Do dalszej selekcji zakwalifikowano 57 pacjentek z dostępnymi blokami tkankowymi, z tej grupy u 22 pacjentek w blokach tkankowych odnotowano brak raka, materiał został sklasyfikowany jako nie diagnostyczny lub materiał pochodził z biopsji cienkoigłowej (BAC). Finalnie do naszego badania zakwalifikowało się 35 pacjentek. Kolejnym mankamentem jest retrospektywny charakter badania w znacznej części, pozostaje otwarte pytanie w jaki sposób czynnik czasu wpłynął na jakość materiału histopatologicznego, czy nie doprowadził do straty antygenów komórkowych i nie wpłynął na wyniki naszej analizy. Brak oceny Ki67 uniemożliwił rozróżnienie podtypów luminalnego a od b raka piersi, a tym samym zakwalifikowanie do konkretnych podtypów biologicznych raka piersi, wg kryteriów z St. Gallen z roku 2013 [24]. Skorzystano z podziału zmodyfikowanego, rzadziej występującego w literaturze [13]. W przypadku jednej pacjentki, dla której HER2(2+), nie powtarzano badania FISH, oparto się na weryfikacji wcześniejszej.

## 5.2 Zmienność receptorów ER/PR/HER2

Według piśmiennictwa właściwości biologiczne raka piersi ulegają zmianie podczas przebiegu choroby nowotworowej. Wg różnych danych niestabilność receptorów estrogenowych, progesteronowych oraz HER2 występuje odpowiednio u: ER – 6-54%, PR – 14-49%, HER2 – 0-43% pacjentek z uogólnioną postacią raka piersi [16,17,30,47,48,49](tabela 4).

Tabela 4. Zmiana stanu receptorów ER/PR/HER2 u pacjentek z rozsianym rakiem piersi (NR – brak danych)

*Table 4. ER/PR/HER2 receptor discordance in patients with disseminated breast cancer (NR – not reported)*

Badanie kliniczne	Zmiana ER(%)	Zmiana PR(%)	Zmiana HER2(%)
Lindstrom i wsp. [50]	32,4	40,7	14,5
Niikura i wsp. [51]	NR	NR	43
Curigliano i wsp. [52]	15	49	14
Gong I wsp [53]	7	NR	NR
Miar i wsp. [54]	12,6	31,2	5,5
Obgina i wsp. [55]	6	21	1
Wilking i wsp. [56]	NR	NR	10
Aitken i wsp. [57]	28	23	9
Amir i wsp.[58]	16	40,4	9,6
Idirisinghe i wsp. [59]	16	38	5
Simmons i wsp.[60]	40	40	8
Liedtke i wsp.[61]	18	40	14
Lower i wsp. [62]	NR	NR	33
Broom i wsp. [63]	17,7	37,3	5,5
Santinelli i wsp.[64]	NR	NR	18,9
Tapia i wsp.[65]	NR	NR	8
Lower i wsp. [66]	30	39	NR
Carlsson i wsp.[67]	NR	NR	0
Edgerton i wsp. [68]	NR	NR	15
Gancberg i wsp. [69]	NR	NR	9
Simon i wsp. [70]	NR	NR	3
Mobbs i wsp. [71]	14	28	NR
Guarneri i wsp. [72]	22	36	16
Hoefnagel i wsp. [73]	10,3	30	5,2

Badanie kliniczne	Zmiana ER(%)	Zmiana PR(%)	Zmiana HER2(%)
Thompson i wsp. [74]	10,2	24,8	2,9
Broggi i wsp. [75]	16,2	20,6	5
Chang i wsp. [76]	25	NR	12,5

Większość badań klinicznych obejmuje sumarycznie wyniki dotyczące niestabilności receptorów zarówno u pacjentek ze wznową lokoregionalną, jak i przerzutami odległymi. Nieliczne, dostępne prace pokazują niższy odsetek zmienności receptorów w grupie pacjentek ze wznową lokoregionalną [33,48,77].

W badaniu Yu–Feng z 2014 [48], gdzie dokonano podziału na grupę ze wznową lokoregionalną oraz przerzutami odległymi procentowe wyniki zmienności receptorów w obydwu grupach wynoszą odpowiednio: ER 14,3 vs 21, PR 17,9 vs 38,1 oraz HER2 7,1 vs 6,7. Widać wyraźnie niższy odsetek zmienności receptorów ER i PR w grupie ze wznową lokoregionalną [48].

Metaanaliza dostępnych badań przeprowadzona przez Jabbour i wsp. [78] wykazała w grupie z wznową miejscową raka piersi zmienność receptorów 5,5-38,1% dla ER, 11,8-36% dla PR oraz 1,1– 16,7% dla HER2 (tabela 5). Występował ogólny trend zmiany z receptora dodatniego na ujemny.

Tabela 5. Zmiana stanu receptorów ER/PR/HER2 u pacjentek ze wznową miejscową raka piersi (NR – brak danych)

Table 5. ER/PR/HER2 receptor discordance in patients with locally recurrent breast cancer (NR – not reported)

Badanie kliniczne	Zmiana ER(%)	Zmiana (PR%)	Zmiana HER2(%)
Bogina i wsp.[79]	5,5	15,5	1,1
Guarneri i wsp. [80]	22	36	16,7
Idrissinghe i wsp.[81]	13	33	2
Lower i wsp. [82]	38,1	34,9	NR
Rosen i wsp. [83]	13,8	NR	NR
Shimizu i wsp. [84]	28,6	28,6	0
Hahnle i wsp. [85]	15	NR	NR
Badanie własne	22,9	28,6	17,1

Metaanaliza 14 badań zawierających pacjentki ze wznową węzłową w pasze [78] wykazała średnio 13,1% zmiany receptora ER, 13,8% dla receptora PR oraz

7,7% dla receptora HER2 (tabele 6 i 7). Najwyższe odsetki niestabilności receptora ER i PR występowały w jednym badaniu (23,5 i 28,3%), większość zmian odbywała się z dodatniego na ujemny[36,45,86].

Tabela 6. Zmiana receptora HER2 w ognisku pierwotnym vs przerzutach raka piersi  
*Table 6. HER2 receptor discordance in primary vs metastatic breast cancer*

Badanie	Liczba pacjentów	HER2 0 → 1	HER2 1 → 0
Giotta i wsp.[87]	20	5%	5%
Gancberg i wsp.[88]			
Immunohistochemia	100	6%	–
FISH/CISH	68	4%	3%
Nikura i wsp. [89]	182	–	24%
Amir i wsp. [90]	83	8%	20%
Gong i wsp. [91]	60	1,6%	1,6%
Tapia i wsp [92]	105	1,9%	0,9%
Fabi i wsp. [93]	137	8,7%	1,5%
Simon i wsp. [94]	122	2,2%	6,5%
Lindstrom i wsp [95]	76	6,5%	10,5%

Tabela 7. Zmiana stanu receptorów ER/PR/HER2 u pacjentek ze wznową węzłową raka piersi (NR – brak danych)

*Table 7. ER/PR/HER2 receptor discordance in patients with nodal recurrence of breast cancer (NR – not reported)*

Badanie kliniczne	Zmiana ER(%)	Zmiana (PR%)	Zmiana HER2(%)
Aitken i wsp.	28,3	23,5	8,9
Carlsson i wsp. [96]	NR	NR	0
Coradini i wsp. [97]	10,4	22,9	NR
D'andrea i wsp. [98]	3,4	3,4	3,9
Dikicioglu i wsp. [99]	18,2	18,2	NR
Falck i wsp. [100]	7	16	3
De la Haba-Rodriguez i wsp. [101]	6,7	15	28,3
Iguchi i wsp. [102]	24,1	NR	NR
Kamby i wsp. [103]	10	NR	NR
Mori i wsp. [104]	0	NR	NR

Badanie kliniczne	Zmiana ER(%)	Zmiana (PR%)	Zmiana HER2(%)
Simon i wsp. (105)	NR	NR	2
Tsutsui i wsp. [106]	19,2	21,2	6,6
Van Agthoven i wsp. [107]	3,8	3,8	NR
Xu i wsp. 29/76 [108]	NR	NR	14

Nasze badanie obejmuje wyłącznie pacjentki ze wznową lokoregionalną, czyli sumarycznie grupę ze wznową miejscową oraz wznową węzłową w pasze. Odsetek niestabilności receptorów w tej grupie wyniósł:

- **ER**– 8 chorych (**22,9%**), w tym u 3 chorych (8,6%) z 0 na 1, a u 5 chorych (14,3%) z 1 na 0.
- **PR** – 10 chorych (**28,6%**), w tym u 7 chorych (20%) z 0 na 1, a u 3 chorych (8,6%) z 1 na 0.
- **HER2** – 6 pacjentów (**17,1%**), w tym u 2 pacjentek z 0 na 1 (5,7%), a u 4 chorych z 1 na 0 (11,4%).
- Jednoczesowa zmiana stanu receptorów ER i PR wystąpiła u 9 chorych (25,7%), w tym u 4 chorych z 0 na 1 (11,4%), a u 5 chorych z 1 na 0 (14,3%).
- Jednoczesową zmianę stanu receptorów ER, PR i HER 2 wykazano u 7 pacjentek (20%), w tym u 2 pacjentek z 0 na 1 (5,7%), a u 5 pacjentek z 1 na 0 (14,3%).

### 5.3 Przyczyny zmiany stanu receptorów

Na chwilę obecną brak jest jednoznacznej odpowiedzi na pytanie: dlaczego w trakcie przebiegu choroby nowotworowej dochodzi do zmiany stanu receptorów. Mnogość hipotez pokazuje brak konsensusu odnośnie stopnia i przyczyn niestabilności receptorów w trakcie przebiegu choroby nowotworowej.

Jedną z potencjalnych przyczyn może być tzw. „heterogenność guza”, teoria wg której w obrębie guza występują różne subpopulacje raka piersi, różniące się właściwościami biologicznymi [6,77,109,110,111] – stanem receptorów ER/PR/HER2. Pobierając materiał tkankowy z ogniska pierwotnego raka piersi techniką biopsji gruboigłowej, pobieramy materiał z konkretnego miejsca, a tym

samym pobieramy materiał zawierający konkretną subpopulację komórek raka. Nie mamy informacji, czy materiał tkankowy z subpopulacji, która została przez nas oddana do badania histopatologicznego stanowi frakcję dominującą, czy może stanowi na przykład 5% masy guza. Tym samym według powyższej teorii podczas pobierania materiału ze wznowy raka piersi nie jesteśmy w stanie określić czy stan receptorów uległ zmianie, czy może pojawiła się wznowa subpopulacji, która nie została „trafiona” podczas biopsji ogniska pierwotnego [112,113]. Subpopulacji charakteryzującej się na przykład opornością na zastosowane leczenie adjuwantowe lub też wykazującą tendencję do bardziej agresywnego dzielenia się komórek nowotworowych [112]. Praca Shah z 2009 wykazała, że 6 mutacji somatycznych dominujących w komórkach przerzutowego stadium lobularnego raka piersi obecnych było tylko w 1–15% komórek subpopulacji ogniska pierwotnego w tej grupie chorych [114]. Jak dotychczas nie wykazano związku pomiędzy zastosowanym leczeniem systemowym, a stopniem heterogenności [115].

Z teorią heterogenności wiąże się teoria: “dryfu genetycznego”, czyli teoria, w której postrzegamy ognisko pierwotne raka piersi jako „pulę genową” zawierającą zbiór subpopulacji raka (alleli). Wg tej teorii w obrębie puli genowej dochodzi do przypadkowej zmiany częstości alleli, a pula genowa nowej populacji (rozsiana postać raka piersi) jest różna od populacji początkowej [116].

Kolejna teoria – “równoległego rozsiewu” z założenia przyjmuje dogmat o wczesnym rozsiewie raka piersi. Według powyższej tezy już we wczesnym stadium raka piersi dochodzi do rozsiewu, w związku z czym część komórek raka tworzy ognisko pierwotne raka, a część komórek niezależnie i równolegle w stosunku do ogniska pierwotnego rozwija się w kierunku wznowy lokoregionalnej lub przerzutu odległego [112].

Teoria „komórek macierzystych raka” jako przyczynę niespójności stanu receptorów pomiędzy pierwotnym ogniskiem raka, a wznową lokoregionalną podaje obecność komórek macierzystych raka piersi, które następnie ewoluują w kierunku różnych subpopulacji biologicznych raka piersi. Jak dotychczas brak klinicznych danych na potwierdzenie tej tezy [6].

Pojawiają się również teorie kwestionujące faktyczną zmianę stanu receptorów podczas przebiegu choroby nowotworowej, a jako główną przyczynę rozbieżności pomiędzy ogniskiem pierwotnym raka piersi, a wznową raka piersi

podają błędy techniczne [13,16,33,39,113,117,118,119] pojawiające się podczas procesu oznaczania receptorów. Jeśli technika laboratoryjna nie jest w 100% czuła oraz powtarzalna, a priori mogą występować nieznaczne odchylenia od wyniku prawidłowego. Niestety, w przypadku badania immunohistochemicznego występuje pewna dowolność interpretacyjna, mająca wpływ na ostateczną powtarzalność wyników. Na końcowy rezultat barwienia preparatów tkankowych ma wpływ technika utrwalania preparatów, uwidaczniania antygenów oraz technika barwienia tkanek. Czas przeznaczony na utrwalanie materiału może wpłynąć na wynik końcowy analizy – niektóre raki piersi ER+, silnie dodatnie, mogą stać się ujemne przy zbyt krótkim czasie utrwalania [120]. Formalina, najbardziej popularny utrwalczyk penetruje tkanki z prędkością 1 mm/godzinę, jednak czas utrwalenia nie jest równy czasowi przenikania formaliny i wynosi 6-72 godzin. Potrzebny czas zależy od techniki biopsyjnej oraz rodzaju tkanki – gruczoł piersiowy należy do tkanek wymagających więcej czasu do pełnego utrwalenia [121]. Krótsze utrwalenie w formalinie powoduje obniżoną intensywność wybarwienia jąder komórkowych, tym samym zaburzając wynik badania histopatologicznego. Obecnie wytyczne dotyczące technicznych aspektów utrwalania preparatów dopuszczają jedynie formalinę jako standardowy utrwalczyk. Aby uniknąć artefaktów wtórnych, wynikających z tzw. „zimnego niedokrwienia” nie należy opóźniać zalania preparatu formaliną dłużej niż godzinę od czasu zakończenia biopsji. Przechowywanie nieprawidłowo utrwalonego preparatu, przez noc, w chłodzarnie również wiąże się z resztkowym zachowaniem antygenów na powierzchni komórek raka [122]. Nie zaleca się również przechowywania w chłodzarnie preparatu zalanego formaliną, gdyż niska temperatura opóźnia proces utrwalania preparatu w formalinie. Odchylenie przy każdej ze zmiennych obecnych podczas technicznej obróbki preparatu spowoduje uzyskanie odmiennego wyniku końcowego [120,123,124]. Przed rokiem 1990 w wielu laboratoriach ocena receptorów ER/PR/HER2 u pacjentek piersi przeprowadzana była techniką *ligand-binding assays* (LBAs), zastąpiona następnie tańszą techniką immunohistochemiczną. Zmiana techniczna doprowadziła do sytuacji, w której ognisko pierwotne oceniano LBA, a wznowę, ISH, co stało się oczywistą przyczyną osiągnięcia odmiennych wyników [16,33,41]. Rozbieżności interpretacyjne i odchylenia wynikające z aspektów technicznych mogą w efekcie powodować pozorną zmianę stanu receptorów raka piersi w trakcie

przebiegu choroby nowotworowej. Niektóre prace pokazują, że rozbieżności istotne klinicznie podczas oceny receptora ER w tym samym materiale tkankowym przez różne laboratoria mogą stanowić nawet 60% przypadków klinicznych. [41, 125]. Prosta analiza statystyczna pokazuje, że nawet gdy ocena ogniska pierwotnego i wznowy raka piersi cechują się czułością na poziomie 90%, potencjalna odmienność wyników receptorów wynosi 19% [117]. Stosując *Bayesian misclassification correction method* wykazano, że czułość i swoistość ISH w przypadku oznaczania receptora ER i PR w raku piersi wynosi 0,971 i 0,920 dla ER oraz 0,952 i 0,905 dla PR [119]. Dodatkowo w roku 2010 na ASCO College of American Pathologists zmieniło wartość graniczną ocenianą jako dodatnia wartość receptora ER/PR z 10% jąder komórkowych wybarwionych na 1%, co spowodowało rozbieżność w wynikach wcześniejszych i tych analizowanych po zmianie wytycznych. [119]. Wykazano również znaczącą różnicę w czułości metod IHC oraz FISH podczas oznaczania stanu HER2. Piśmiennictwo pokazuje czułość IHC oraz FISH dla celu oznaczania HER2 odpowiednio na poziomie 78% i 99% [49,113]. W przypadku IHC takie czynniki jak: rozbieżności podczas utrwalania preparatu, czy sposób ekspozycji antygenów mogą doprowadzić do zaburzenia wyniku końcowego. Dodatkowo FISH jako technika cechuje się wyższą powtarzalnością [39,45]. Kolejne różnice w wynikach receptorów ER/PR/HER2 mogą wynikać z różnych technik biopsyjnych – wielkość wycinka BAC vs BAG/VABB może wpłynąć na wynik końcowy w obu grupach chorych [33]. Nie zaleca się dokonywania oceny ICH na podstawie materiału z biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej. W naszym badaniu w celu minimalizacji ryzyka zmienności receptorów wynikającej z błędów technicznych materiał, zarówno z ogniska pierwotnego jak i wznowy oceniany był przez tego samego patologa, według tych samych standardów utrwalania i oceny preparatu. Do oceny użyta została skala Allreda, w naszej ocenie przejrzysta i szeroko rozpowszechniona. Z badania zdyskwalifikowano wznowy potwierdzone jedynie w biopsji cienkoigłowej.

Kolejna hipoteza jako przyczynę niestabilności receptorów podaje interakcje pomiędzy szlakami sygnałowymi ER/PR/HER2. Pojawiają się prace wykazujące utratę receptorów ER w grupie pacjentek zyskujących dodatni wynik HER2 we wznowie lokoregionalnej, będących po leczeniu hormonalnym [112,126,127].

Istnieją liczne badania kliniczne wykazujące wpływ zastosowania terapii systemowej na zmianę stanu receptorów we wznowie lokoregionalnej raka



piersi. Liczne badania naukowe dowodzą jakoby pod wpływem terapii systemowej dochodziło do zniszczenia komórek wrażliwych na Trastuzumab – HER2(+) lub Tamoksyfen (ER/PR(+)) i selekcji subpopulacji opornych na leczenie systemowe. Inna teza dowodzi, że w wyniku zastosowania terapii systemowej dochodzi do transformacji komórek wrażliwych na leczenie w kierunku komórek opornych i utraty receptorów powierzchniowych. [16,113]; Powyższe teorie nie uzasadniają jednak zmiany receptorów na komórkach nawrotowego raka piersi z ujemnych na dodatnie. Jedną z argumentacji takiego stanu rzeczy podaje, że w wyniku zastosowania chemioterapii neoadjuwantowej dochodzi do eliminacji wrażliwej subpopulacji ER/PR(-), a tym samym dalszego rozwoju komórek opornych – ER/PR(+) w raku nawrotowym. Grupa badań klinicznych analizujących wpływ chemioterapii neoadjuwantowej na stan receptorów w nawrotowym raku piersi wykazała znaczną zmianę receptora estrogenowego – w większości przypadków z dodatniego (ER+) na ujemny (ER-) [33,39]. Inne badania wykazały stabilność receptorów po chemioterapii neoadjuwantowej albo brak wyników istotnych statystycznie [33,72]. Powyższe analizy pokazują brak konsensusu odnośnie faktycznego wpływu chemioterapii neoadjuwantowej na stan receptorów raka piersi. W naszym badaniu analizie poddano wyłącznie wznowy lokoregionalne, nie wykazano wpływu zastosowania chemioterapii na zmianę stanu receptorów. Niestety w dużej części badanej grupy brak danych odnośnie zastosowania chemioterapii, dlatego trudno ocenić czy problemem nie jest zbyt mała grupa statystyczna. Jednocześnie niektóre badania wykazały niestabilność receptorów u chorych ze wznową lokoregionalną na niższym poziomie w stosunku do przerzutów odległych, co dodatkowo utrudnia wykrycie zależności w tak małej grupie chorych [33,103]. Wcześniejsze badania wykorzystujące technikę LBAs do oznaczania receptora ER wykazały znaczący spadek poziomu receptora ER w nawrotowym raku piersi [33]. Było to początkowo przypisywane selektywnej eliminacji komórek ER+ przez terapię hormonalną. Później wykazano, że otrzymane dane były wynikiem interferencji pomiędzy LBAs a Tamoksyfenem. Następne badania, przeprowadzone z wykorzystaniem metod immunohistochemicznych nie wykazały jednoznacznego wpływu TAM na zmianę stanu receptorów w nawrotowym raku piersi [33], choć pojawiła się również seria badań wykazująca zastosowanie Tamoksyfenu jako niezależny czynnik utraty receptorów w uogólnionej postaci raka piersi [17,30,112]. Na podstawie dostępnego obecnie

piśmiennictwa nie można wysnuć jednoznacznych wniosków. Prace dotyczące jedynie wznowy lokoregionalnej są bardzo nieliczne. W naszym badaniu wykazano statystycznie istotną zależność pomiędzy zastosowaniem Tamoksyfenu, a zmianą stanu receptorów estrogenowych i progesteronowych z ER/PR(+) na ER/PR(-). Wykazano również zależność pomiędzy zastosowaniem Tamoksyfenu, a utratą ER/PR/HER2, czyli otrzymaniem nawrotowych postaci raka potrójnie ujemnego (TN). Obecne piśmiennictwo nie wykazuje jednoznacznego wpływu Trastuzumabu na zmianę stanu ER/PR/HER2 w przebiegu choroby nowotworowej [112,39,77]. Na chwilę obecną prowadzone jest prospektywne badanie SHERSig (*Study of HER2 Signature in Metastatic Breast Cancer*) oceniające odpowiedź kliniczną pacjentek z HER2(+), nawrotowym rakiem piersi oraz analizujące jakie zmiany molekularno-biologiczne zachodzą w komórkach raka pacjentek, z pozytywną odpowiedzią kliniczną na zastosowane leczenie systemowe. Badanie ma na celu wyznaczenie markerów molekularno-biologicznych wyznaczających przypadki odporne na leczenie Trastuzumabem [13].

W naszym badaniu wyłączyliśmy analizę zależności pomiędzy podaniem Trastuzumabu a poziomem ER/PR/HER2 w nawrotowym raku piersi, gdyż pewną informację odnośnie zastosowania Trastuzumabu lub nie udało się uzyskać tylko dla wąskiej grupy chorych, niewystarczającej do przeprowadzenia analizy statystycznej.

W naszym badaniu wykazano istotne statystycznie zależności pomiędzy czynnikami klinicznymi, a zmianą stanu receptorów. W analizowanej grupie wznowy lokoregionalne pojawiały się tylko u pacjentek z rakami piersi NG2 i NG3. Brak wznów lokoregionalnych u chorych z rakami piersi NG1.

#### **5.4 Zmiana stanu receptorów, a rokowanie**

Analiza dostępnego piśmiennictwa wykazała, że zmiana stanu receptorów ER i HER2 u pacjentek z uogólnioną postacią raka piersi pogarsza rokowanie w tej grupie chorych, skracając czas całkowitego przeżycia (OS) oraz czas przeżycia wolnego od progresji (PRS) [48,49]. Pogorszenie OS i PRS związane było statystycznie częściej z utratą niż zyskaniem receptorów ER i HER2 [48]. Gorsze rokowanie w grupie chorych z niezgodnością receptora HER2 może

wynikać z faktu, że pacjentki w tej grupie chorych nie były leczone Trastuzumabem lub wyindukowały oporność na Trastuzumab lub włączone chemioterapeutyki [39]. Na chwilę obecną brak konsensusu odnośnie dalszego leczenia systemowego w tej grupie chorych. Pomimo, że najczęściej dochodzi do zmiany stanu receptora PR, nie wykazano istotnego statystycznie wpływu zmiany PR na przeżycia. Zmiana stanu receptora PR nie wpływa bezpośrednio na zmianę prowadzonego schematu leczenia systemowego, aczkolwiek utrata receptora PR powinna być wzięta pod uwagę, gdyż może doprowadzić do wytworzenia agresywnego biologicznie podtypu raka piersi [48,49,50]. Utrata wszystkich receptorów prowadzi do powstania raka trójujemnego (TN), cechującego się gorszym rokowaniem nie tylko ze względu na niekorzystny „fenotyp“ biologiczny, aczkolwiek także ze względu na ograniczone możliwości terapeutyczne w tej grupie chorych [49]. Piśmiennictwo pokazuje, że w grupie pacjentek w której doszło do zmiany stanu receptorów rokowanie jest podobne, jak u pacjentek z trójujemnym, zgodnym receptorowo pomiędzy ogniskiem pierwotnym raka, a wznową lokoregionalną raka piersi [47,113]. Najgorsze rokowanie opisywane jest w grupie, w której doszło do zmiany stanu receptorów, w wyniku czego powstał TN [10]. Niezgodność receptora estrogenowego pomiędzy ogniskiem pierwotnym, a wznową węzłową raka piersi jest szczególnie istotna, gdyż może być przyczyną niepowodzeń terapeutycznych – adjuwantowego leczenia hormonalnego w grupie pacjentek z rakami piersi pierwotnie ER dodatnimi [49]. W naszej analizie średni wiek w chwili wystąpienia wznowy to 63,2 lata. Średni czas obserwacji chorych od rozpoznania wznowy do zgonu (o ile wystąpił) lub zakończenia obserwacji (2015 r.) to 4,3 roku. W badanej grupie doszło do zmiany receptora **ER** u **22,9%**, **PR** u **28,6%**, a **HER2** u **17,1%** pacjentek. Analiza statystyczna wykazała, że w grupie, w której doszło do zmiany receptorów ER zaobserwowano skrócenie czasu przeżycia od rozpoznania ogniska pierwotnego ( $p=0,033$ ) oraz od wystąpienia wznowy ( $p=0,054$ ). Ponadto, w grupie pacjentek, u których wykazano zmianę receptorów ER i PR z 0 na 1 zaobserwowano skrócenie czasu przeżycia od rozpoznania ogniska pierwotnego ( $p=0,023$ ) oraz skróceniem czasu od rozpoznania guza pierwotnego do wznowy ( $p=0,052$ ). W badanej grupie chorych jednoczesowa zmiana ER i PR przekładała się na skrócenie czasu przeżycia od rozpoznania ogniska pierwotnego ( $p=0,044$ ) oraz wznowy ( $p=0,034$ ) oraz skróceniem czasu od rozpoznania guza pierwotnego do

wznowy ( $p=0,033$ ). W grupie, w której doszło do zmiany receptorów PR z 0 na 1 wykazano skrócenie czasu przeżycia od rozpoznania wznowy ( $p=0,034$ ). U chorych z jednoczasową zmianą ER/PR/HER2 z 0 na 1 wykazano skrócenie czasu przeżycia od wystąpienia wznowy ( $p=0,005$ ). Powyższe wyniki potwierdzają literaturowe doniesienia odnośnie gorszego rokowania w grupie pacjentek, u których doszło do zmiany stanu receptorów.

W naszej analizie czas przeżycia od guza pierwotnego jest dłuższy (średnia 15,3, SE 1,64) u pacjentów z jakąkolwiek zmianą receptorów aniżeli u pacjentek z rakiem trójjemnym (TN) (średnia 8,1, SE 2,8), a czas między resekcją ogniska pierwotnego raka piersi, a pojawieniem się wznowy jest dłuższy u pacjentów ze zmianą receptorów (8,9, SE 1) vs TN (średnia 4,3 SE 1,9)  $p=0,075$ , aczkolwiek w związku z małą liczebnością badanej grupy brak istotności statystycznej ( $p=0,327$ ).

Piśmiennictwo pokazuje, że w wyniku biopsji wznowy lokoregionalnej może dochodzić do przypadkowego wykrycia zmiany nowotworowej o innym charakterze histopatologicznym. W kanadyjskim badaniu DESTINY (*Does Performing a Confirmatory Tumor Biopsy in Patients with Metastatic Breast Cancer Alter their Management*) i brytyjskim BRITS (*Breast Recurrence in Tissues Study*) dokonując biopsji wznowy raka piersi wykryto odpowiednio 3/121 (2,5%) oraz 18/205 (8,8%) nowotworowych zmian niezłośliwych. U jednej pacjentki z protokołu DESTINY wykryto inny pierwotny nowotwór złośliwy [16,47].

## 5.5 Zmiana stanu receptorów – zmiana leczenia systemowego?

W badaniach BRITS and DESTINY analizowano zależność pomiędzy zmianą stanu receptorów, a zmianą włączonego wcześniej leczenia systemowego. Wykazano, że w badanej grupie chorych u 14,2% pacjentek ze zmianą stanu receptorów we wznowie raka piersi, doszło do zmiany schemat leczenia systemowego, aczkolwiek implikacje kliniczne tej decyzji nie zostały zbadane [16]. Do modyfikacji leczenia systemowego dochodziło częściej, gdy we wznowie stan receptorów zmieniał się na dodatni [16]. Zmiana receptora HER2 na dodatni spowodowała zmianę terapii systemowej u 11 chorych, a zmiana stanu receptorów na dodatni skutkowała zmianą leczenia systemowego u

9 chorych. Utrata receptora HER2 lub utrata receptorów prowadziła do zmiany leczenia systemowego odpowiednio u 1 i 11 chorych [16]. Według piśmiennictwa, zmiana stanu receptorów prowadzi do zmiany leczenia systemowego u 17-20% pacjentek ze wznową lokoregionalną lub odległą raka piersi [16,77] (tabela 8).

Tabela 8: Odsetek Zmiany leczenia systemowego w grupie pacjentek z niestabilnym receptorem ER/PR/HER2 we wznowie raka piersi

*Table 8: The percentage of systemic treatment modification in patients with unstable ER/PR/HER2 in patients with recurrent breast cancer*

Badanie kliniczne	Liczba pacjentów w badaniu	Zmiana leczenia systemowego (%)
Lindstrom i wsp. [50]	1010	23 (HER2), 50 (ER)
Curigliano i wsp.[21]	255	12,1
Amir i wsp. [2]	289	14,2
Bogina i wsp. [55]	140	73
Amir i wsp.[7]	121	14
Simmons i wsp.[60]	40	20
Thompson i wsp. [54]	137	17,5

Oczywiście istnieje zasadnicza różnica w obu grupach, w których doszło do zmiany leczenia systemowego pod wpływem zmiany stanu receptorów. Dzięki zmianie terapii systemowej, wynikającej z utraty receptorów możemy uniknąć skutków toksycznej i potencjalnie nieskutecznej terapii systemowej u tych chorych. Włączenie Trastuzumabu łącznie z Paklitakselem wydłuża przeżycie o 5 miesięcy w stosunku do zastosowania samego Paklitakselu w grupie pacjentek HER2(+), aczkolwiek uważny dobór pacjentek jest kluczowy ze względu na kardiotoxycznosc Trastuzumabu [30,49]. Z drugiej strony, włączenie terapii u pacjentek, które zyskały dodatnie receptory daje nam dodatkowe narzędzie terapeutyczne w tej grupie chorych. Niestety na chwilę obecną brak jest standardów postępowania odnośnie modyfikacji terapii, w sytuacji zmiany stanu receptorów w nawrotowym ognisku raka piersi [16,47].

## 5.6 Zmiana podtypu molekularnego

Ze względu na brak dostępnej informacji o poziomie Ki67 zastosowano w pracy następujący podział molekularny raków piersi: HR+ – luminalny A i luminalny B, HER2(+) oraz TN – rak trójjemny. W analizowanej grupie, analizując podtypy molekularne raka piersi, odnotowano: 16 – rak piersi HR+, 5 – rak piersi HER2(+), 14 – rak piersi trójjemny (TN). W grupie ze wznową lokoregionalną raka piersi wyliczono: HR+ – 22, HER2(+) – 7, TN – 6. Raki HR+ cechują się zdecydowanie lepszym rokowaniem w stosunku do HER2(+) oraz TN. W naszym badaniu o 17% w grupie pacjentek ze wznową wzrosła grupa pacjentek ER+, cechująca się lepszym rokowaniem, jednocześnie o 50% zredukowała się grupa pacjentek TN – cechująca się najgorszym rokowaniem. Dalsze, randomizowane badania potrzebne są celem wyjaśnienia tak radykalnych zmian profilu molekularnego w analizowanej grupie chorych.

## 5.7 Bezpieczeństwo biopsji

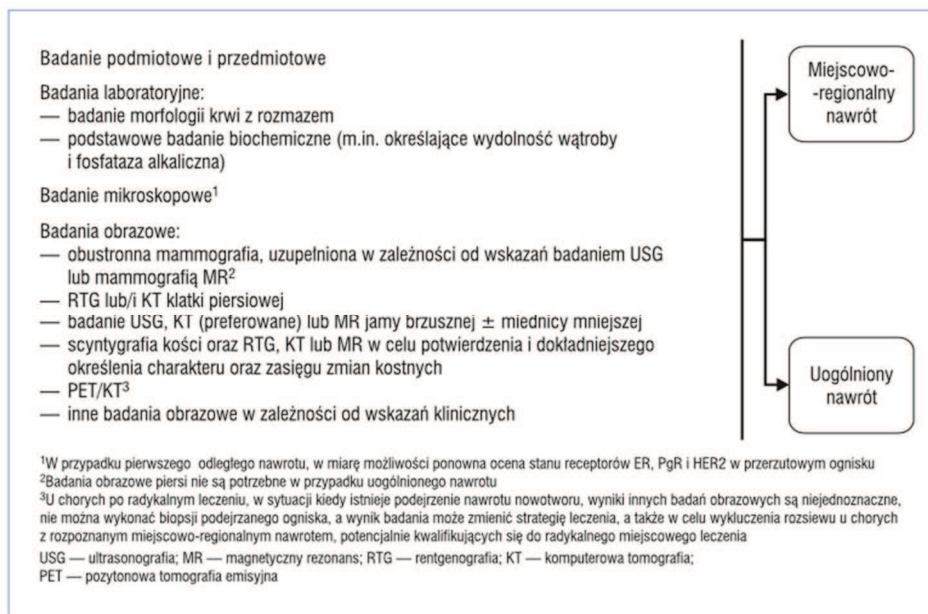
W przypadku wznów odległych raka piersi jednym z podnoszonych argumentów i problematycznych zagadnień było bezpieczeństwo procedury biopsyjnej, niejednokrotnie kwestionowane ze względu na lokalizację guza. Metodą z wyboru w przypadku wznowy odległej jest przezskórna biopsja gruboigłowa wykonywana pod kontrolą badań obrazowych, która związana jest z minimalną ilością komplikacji i nieznacznym dyskomfortem pacjenta. Polskie Towarzystwo Radiologii Interwencyjnej podaje, że odsetek poważnych komplikacji w przypadku tego typu procedur utrzymuje się na poziomie 2% [16]. Powikłania mogą obejmować krwawienie, infekcję w okresie pobiopsyjnym lub też perforację lub klinicznie istotne uszkodzenie danego narządu. Mogą także wystąpić powikłania specyficzne dla biopsji konkretnego narządu, na przykład: krwimocz – po biopsji nerki lub odma opłucnowa po biopsji płuca. Rozsiew nowotworu w kanale po biopsji pozostaje kazuistyką [16]. W roku 2013 na ASCO dr Andree przedstawił wyniki badania SAFIR01, według którego poważne powikłania pojawiły się u 9 z 423 pacjentek poddanych biopsji wznowy odległej raka piersi, co stanowi 2,1% [15]. Dodatkowy aspektem biopsji przerzutów odległych było potencjalne opóźnienie leczenia systemowego

---

z powodu biopsji oraz potencjalne koszty tej procedury, w połączeniu z niepewną korzyścią kliniczną. [16,48]. W przypadku wznowy lokoregionalnej, metodą diagnostyczną – biopsją oraz terapeutyczną jest usunięcie chirurgiczne zmiany w całości, a następnie podanie stosownego leczenia systemowego. Tym samym nie występuje aspekt dodatkowych kosztów i opóźnienia leczenia, ponieważ usunięcie chirurgiczne jest samo w sobie pierwszym etapem postępowania terapeutycznego. Ze względu na lokalizację poważne powikłania występują niezwykle rzadko. Wzrost dostępności oraz dokładności technik diagnostycznych (USG, mammografia, TK) umożliwia precyzyjne zaplanowanie oraz bezpieczne przeprowadzenie zabiegu operacyjnego.

## **5.8 Obowiązujące wytyczne**

Wg zaleceń postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych – 2013 [25], aktualizowanych dla raka piersi na dzień 3.12.2014 r. zaleca się w przypadku pierwszego odległego nawrotu ponowną ocenę stanu receptorów ER/PR/HER2 (ryc.26).

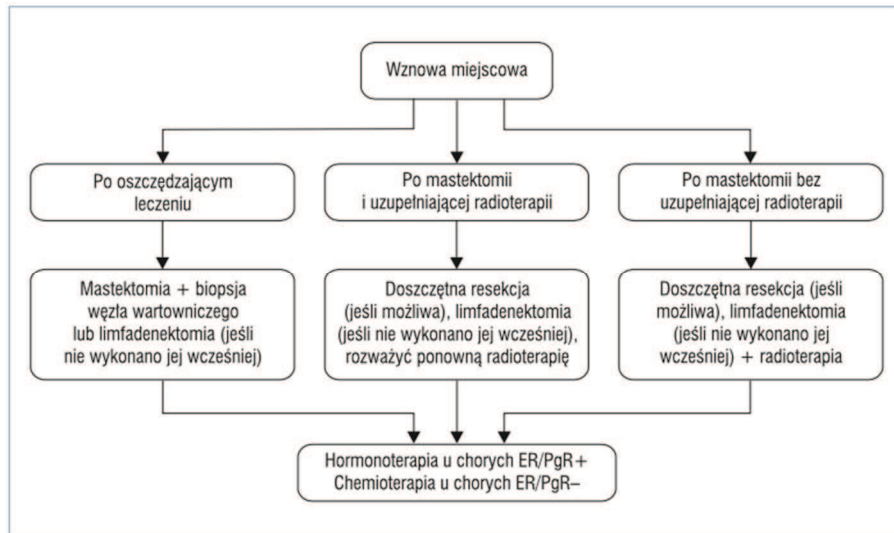


Ryc. 26. Zakres badań obrazowych u chorych z nawrotem lub rozsiewem raka piersi [25]

Fig. 26. Imaging tests in recurrent or disseminated breast cancer [25]

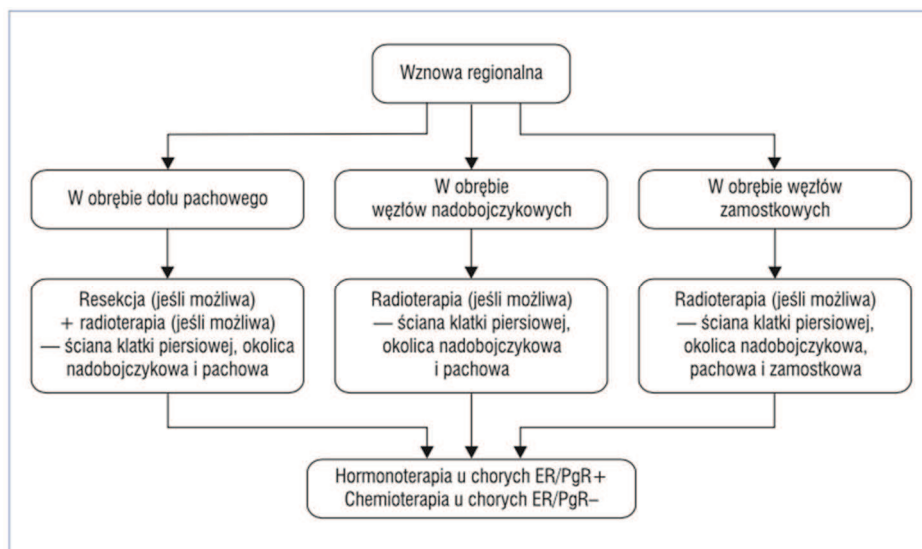
W przypadku wznowy lokoregionalnej gdzie metodą diagnostyczną oraz terapeutyczną jest usunięcie chirurgiczne zmiany w całości, a następnie podanie stosownego leczenia systemowego, nie jest podana konieczność oznaczenia receptora ER/PR/HER2 (ryc.27, 28).





Ryc. 27. Strategia leczenia chorych z miejscowym nawrotem raka piersi [25]

Fig. 27. The guidelines of local recurrence breast cancer treatment [25]



Ryc. 28. Strategia leczenia chorych z regionalnym nawrotem raka piersi [25]

Fig. 28. The guidelines of locoregional breast cancer treatment [25]

Wytyczne National Cancer Comprehensive Network (NCCN), v3.2015, rekomendują jako standard oznaczenie stanu receptorów ER/PR/HER2 przy

lokoregionalnej oraz odległej wznowie raka piersi. W przypadku brak możliwości wykonania biopsji, dopuszcza się włączenie leczenia systemowego w oparciu o stan receptorów w ognisku pierwotnym raka piersi [23] (ryc.29).

Printed by Daniel Maliszewski on 9/9/2015 6:57:50 PM. For personal use only. Not approved for distribution. Copyright © 2015 National Comprehensive Cancer Network, Inc. All Rights Reserved.

**NCCN** National Comprehensive Cancer Network® **NCCN Guidelines Version 3.2015**  
**Invasive Breast Cancer**

[NCCN Guidelines Index](#)  
[Breast Cancer Table of Contents](#)  
[Discussion](#)

**RECURRENT/STAGE IV DISEASE**

CLINICAL STAGE	WORKUP
Recurrent or Stage IV disease	<ul style="list-style-type: none"> <li>• History and physical exam</li> <li>• CBC, platelets</li> <li>• Liver function tests and alkaline phosphatase</li> <li>• Chest diagnostic CT</li> <li>• Abdominal ± pelvic diagnostic CT or MRI</li> <li>• Brain MRI if suspicious CNS symptoms</li> <li>• Bone scan or sodium fluoride PET/CT<sup>§</sup> (category 2B)</li> <li>• FDG PET/CT<sup>¶¶</sup> (optional, category 2B)</li> <li>• X-rays of symptomatic bones and long and weight-bearing bones abnormal on bone scan</li> <li>• First recurrence of disease should be biopsied</li> <li>• Determination of tumor ER/PR and HER2 status on metastatic sites<sup>¶¶¶</sup></li> <li>• Genetic counseling if patient is high risk for hereditary breast cancer<sup>¶¶</sup></li> </ul>

[See Systemic Treatment of Recurrent or Stage IV Disease \(BINV-18\)](#)

<sup>§</sup>See Principles of HER2 Testing (BINV-A).  
<sup>¶</sup>See NCCN Guidelines for Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian.  
<sup>¶¶</sup>FDG PET/CT is performed and clearly indicates bone metastasis, on both the PET and CT component, bone scan or sodium fluoride PET/CT may not be needed.  
<sup>¶¶¶</sup>FDG PET/CT may also be helpful in identifying unsuspected regional nodal disease and/or distant metastases in locally advanced breast cancer when used in addition to standard staging studies.  
<sup>¶¶¶¶</sup>FDG PET/CT can be performed at the same time as diagnostic CT. FDG PET/CT is most helpful in situations where standard staging studies are equivocal or suspicious, especially in the setting of locally advanced or metastatic disease.  
<sup>¶¶¶¶¶</sup>False-negative ER and/or PR determinations occur, and there may be discordance between the ER and/or PR determination between the primary and metastatic tumor(s). Therefore, endocrine therapy may be considered in patients with non-visceral or asymptomatic visceral tumors, especially in patients with clinical characteristics predicting a hormone receptor-positive tumor (eg, long disease-free interval, limited sites of recurrence, indolent disease, older age).  
<sup>¶¶¶¶¶¶</sup>In clinical situations where a biopsy cannot safely be obtained but the clinical evidence is strongly supportive of recurrence, treatment may commence based on the ER/PR/HER2 status of the primary tumor.

**Note:** All recommendations are category 2A unless otherwise indicated.  
**Clinical Trials:** NCCN believes that the best management of any cancer patient is in a clinical trial. Participation in clinical trials is especially encouraged.


Version 3.2015, 07/16/2015 National Comprehensive Cancer Network, Inc. 2015. All rights reserved. The NCCN Guidelines® and this illustration may not be reproduced in any form without the express written permission of NCCN®.

**BINV-17**

Ryc. 29. Postępowanie przy nawrotowym raku piersi (NCCN, v.3.2015)

Fig. 29. Recurrent breast cancer management (NCCN, v3.2015)

Według wytycznych Niemieckiego Towarzystwa Ginekologicznego (AGO), v2014.1 rekomenduje się oznaczenie stanu receptorów ER/PR/HER2 przy wznowie lokoregionalnej raka piersi [128] (rycina 30).



© AGO e. V.  
in der DGOG e.V.  
sowie  
in der DKG e.V.  
Guidelines Breast  
Version 2014.1

www.ago-online.de

Further  
Information

References

FORSCHEN  
LEHREN  
HEILEN

## Loco-regional Recurrence Staging

**Oxford**   **AGO**

**LoE / GR**

---

**Examinations before treatment:**

<b>➤ Tissue Biopsy</b>	<b>5 D</b>	<b>++</b>
<b>➤ Reassessment of ER, PR, HER2</b>	<b>5 D</b>	<b>++</b>
<b>➤ Complete re-staging</b>	<b>5 D</b>	<b>++</b>

Ryc. 30. Postępowanie przy wznowie lokoregionalnej raka piersi (AGO, v2014.1)

Fig. 30. Locoregional breast cancer recurrence management (AGO, v2014.1)

## 6. WNIOSKI

1) U znacznej części chorych ze wznową miejscową raka piersi dochodzi do zmiany stanu receptorów ER/PR i HER2.

2) Rodzaj histologiczny nowotworu, stan zaawansowania lokoregionalnego oraz zastosowanie hormonoterapii mają wpływ na zmianę stanu receptorów u pacjentek ze wznową raka piersi

3) Zmiana stanu receptorów ER i PR skutkuje skróceniem czasu przeżycia u pacjentek ze wznową raka piersi

4) Konieczne są dalsze, randomizowane badania oceniające optymalne postępowanie w grupie chorych ze wznową raka piersi, ze szczególnym uwzględnieniem grupy pacjentek ze zmianą stanu receptorów ER, PR oraz HER2

5) Należy rozważyć rutynową, ponowną ocenę stanu receptorów ER, PR i HER2 u pacjentek ze wznową raka piersi

---

## 7. PIŚMIENNICTWO

1. Smaga A, Mikułowska M, Komorowska A, Falkiewicz B, Gryglewicz J. Raport: Rak piersi – leczenie to inwestycja, Warszawa, Sequence HC Partners, Październik 2014: 63 s.
2. Amir E, Clemons M, Purdie CA, Miller N, Quinlan P, Geddie W, Coleman RE, Freedman OC, Jordan LB, Thompson AM. Tissue confirmation of disease recurrence in breast cancer patients: pooled analysis of multi-centre, multi-disciplinary prospective studies. *Cancer Treat Rev* 2012; 38: 708–14
3. Matsumoto A, Jinno H, Murata T, Seki T, Takahashi M, Hayashida T, Kameyama K, Kitagawa Y. Prognostic implications of receptor discordance between primary and recurrent breast cancer. *Int J Clin Oncol* 2015; 20: 701–8
4. Zatoński WA, Sulkowska U, Didkowska J. Kilka uwag o epidemiologii nowotworów Polsce. *Nowotwory* 2015; 65: 179–96
5. Wojciechowska U., Didkowska J. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie.[Online]. <http://onkologia.org.pl>.
6. Macfarlane R, Seal M, Speers C, Woods R, Masoudi H, Aparicio S, Chia SK. Molecular alterations between the primary breast cancer and the subsequent locoregional/metastatic tumor. *Oncologist*; 2012; 17: 172–8
7. Amir E, Miller N, Geddie W, Freedman O, Kassam F, Simmons C, Oldfield M, Dranitsaris G, Tomlinson G, Laupacis A, Tannock IF, Clemons M. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 587–92
8. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005; 365:1687–717
9. Arapantoni–Dadioti P, Valavanis C, Gavrusea T. Discordant expression of hormone receptors and HER2 in breast cancer. A retrospective comparison of primary tumors with paired metachronous recurrences or metastases. *J BUON* 2012; 17: 277–83

10. Dieci MV, Barbieri E, Piacentini F, Ficarra G, Bettelli S, Dominici M, Conte PF, Guarneri V. Discordance in receptor status between primary and recurrent breast cancer has a prognostic impact: a single-institution analysis. *Ann Oncol* 2013; 24: 101–8
11. Chia SK, Speers CH, D'yachkova Y, Kang A, Malfair-Taylor S, Barnett J, Coldman A, Gelmon KA, O'reilly SE, Olivotto IA. The impact of new chemotherapeutic and hormone agents on survival in a population-based cohort of women with metastatic breast cancer. *Cancer* 2007; 110: 973–9
12. Hull DF 3rd, Clark GM, Osborne CK, Chamness GC, Knight WA 3rd, McGuire WL. Multiple estrogen receptor assays in human breast cancer. *Cancer Res* 1983; 43: 413–6
13. Khasraw M, Brogi E, Seidman AD. The need to examine metastatic tissue at the time of progression of breast cancer: is re-biopsy a necessity or a luxury? *CurrOncol Rep* 2011; 13: 17–25
14. Hoefnagel LD, van de Vijver MJ, van Slooten HJ, Wesseling P, Wesseling J, Westenend PJ, Bart J, Seldenrijk CA, Nagtegaal ID, Oudejans J, van der Valk P, van der Groep P, de Vries EG, van der Wall E, van Diest PJ. Receptor conversion in distant breast cancer metastases. *Breast Cancer Res* 2010;12: R75
15. Gross GE, Clark GM, Chamness GC, McGuire WL. Multiple progesterone receptor assays in human breast cancer. *Cancer Res* 1984; 44: 836–40
16. Criscitiello C, André F, Thompson AM, De Laurentiis M, Esposito A, Gelao L, Fumagalli L, Locatelli M, Minchella I, Orsi F, Goldhirsch A, Curigliano G. Biopsy confirmation of metastatic sites in breast cancer patients: clinical impact and future perspectives. *Breast Cancer Res* 2014; 16: 205
17. Heitz F, Barinoff J, du Bois O, Hils R, Fisseler-Eckhoff A, Harter P, Heitz J, Willenbrock K, Traut A, du Bois A. Differences in the receptor status between primary and recurrent breast cancer—the frequency of and the reasons for discordance. *Oncology* 2013; 84: 319–25
18. Didkowska J., Wojciechowska U. i Zatoński W. Prognozy zachorowalności i umieralności na nowotwory złośliwe w Polsce do 2025 roku. Warszawa: Publikacja wydana w ramach zadania "Rejestracja

- nowotworów złośliwych" Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych, 2009: 115 s.
19. Cui X, Schiff R, Arpino G, Osborne CK, Lee AV. Biology of progesterone receptor loss in breast cancer and its implications for endocrine therapy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7721–35
  20. Johnston SR, Head J, Pancholi S, Detre S, Martin LA, Smith IE, Dowsett M. Integration of signal transduction inhibitors with endocrine therapy: an approach to overcoming hormone resistance in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 524S–32S
  21. Curigliano G, Bagnardi V, Viale G, Fumagalli L, Rotmensz N, Aurilio G, Locatelli M, Pruneri G, Giudici S, Bellomi M, Della Vigna P, Monfardini L, Orsi F, Nolè F, Munzone E, Goldhirsch A. Should liver metastases of breast cancer be biopsied to improve treatment choice? *Ann Oncol* 2011; 22: 2227–33
  22. Barinoff J, Hils R, Bender A, Gross J, Kurz C, Tauchert S. Clinicopathological differences between breast cancer in patients with primary metastatic disease and those without: a multicentre study. *Eur J Cancer* 2013; 49: 305–11
  23. Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, Elias AD, Farrar WB, Forero A, Giordano SH, Goetz M, Goldstein LJ, Hudis CA, Isakoff SJ, Marcom PK, Mayer IA, McCormick B, Moran M, Patel SA, Pierce LJ, Reed EC, Salerno KE, Schwartzberg LS, Smith KL, Smith ML, Soliman H, Somlo G, Telli M, Ward JH, Shead DA, Kumar R. NCCN Breast Cancer Version 2.2015 Clinical Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2015 Apr; 13(4):448–75
  24. Jassem J, Krzakowski M. Rak piersi – praktyczny przewodnik dla lekarzy. *Via Medica*, Gdańsk 2014: 254 s?.
  25. Krzakowski M, Warzocha K. Zalecenia postępowania diagnostyczno–terapeutycznego w nowotworach złośliwych 2013. *Via Medica*, Gdańsk 2013
  26. Rakha EA, Lee AH, Evans AJ, Menon S, Assad NY, Hodi Z, Macmillan D, Blamey RW, Ellis IO. Tubular carcinoma of the breast: further evidence to support its excellent prognosis, *J. Clin. Oncol* 2010; 28: 99–104

27. Malhotra GK, Zhao X, Band K, Band V. Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biol Ther* 2010; 10: 955–60
28. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: how special are they? *Mol Oncol* 2010; 4: 192–208
29. Drury SC, Detre S, Leary A, Salter J, Reis-Filho J, Barbashina V, Marchio C, Lopez-Knowles E, Ghazoui Z, Habben K, Arbogast S, Johnston S, Dowsett M. Changes in breast cancer biomarkers in the IGF1R/PI3K pathway in recurrent breast cancer after tamoxifen treatment. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18: 565–77
30. Idirisinghe PK, Thike AA, Cheok PY, Tse GM, Lui PC, Fook-Chong S, Wong NS, Tan PH. Hormone receptor and c-ERBB2 status in distant metastatic and locally recurrent breast cancer. Pathologic correlations and clinical significance. *Am J Clin Pathol* 2010; 133: 416–29
31. Fisher B, Anderson S, Tan-Chiu E, Wolmark N, Wickerham DL, Fisher ER, Dimitrov NV, Atkins JN, Abramson N, Merajver S, Romond EH, Kardinal CG, Shibata HR, Margolese RG, Farrar WB. Tamoxifen and chemotherapy for axillary node-negative, estrogen receptor-negative breast cancer: Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-23. *J Clin Oncol* 2001; 19: 931–42
32. Nakamura R, Yamamoto N, Onai Y, Watanabe Y, Kawana H, Miyazaki M. Importance of confirming HER2 overexpression of recurrence lesion in breast cancer patients. *Breast Cancer* 2013; 20: 336–41
33. Gong Y, Han EY, Guo M, Pusztai L, Sneige N. Stability of estrogen receptor status in breast carcinoma: a comparison between primary and metastatic tumors with regard to disease course and intervening systemic therapy. *Cancer* 2011; 117: 705–13
34. Zielniok K, Gajewska M, Motyl T. Molekularne aspekty działania 17 $\beta$ -estradolu i progesteronu w komórkowych szlakach sygnałowych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (online)* 2014; 68: 777–92
35. Hopp TA, Weiss HL, Hilsenbeck SG, Cui Y, Allred DC, Horwitz KB, Fuqua SA. Breast cancer patients with progesterone receptor PR-A-rich tumors have poorer disease-free survival rates. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2751–60
36. Holdaway IM, Bowditch JV. Variation in receptor status between primary and metastatic breast cancer. *Cancer* 1983; 52: 479–85



37. Beckmann MW, Bani MR, Fasching PA, Strick R, Lux MP. Risk and risk assessment for breast cancer: molecular and clinical aspects. *Maturitas*. 2007; 57: 56–60
38. Santinelli A, Pisa E, Stramazzotti D, Fabris G. HER-2 status discrepancy between primary breast cancer and metastatic sites. Impact on target therapy. *Int J Cancer* 2008; 122: 999–1004.
39. Niikura N, Liu J, Hayashi N, Mittendorf EA, Gong Y, Palla SL, Tokuda Y, Gonzalez-Angulo AM, Hortobagyi GN, Ueno NT. Loss of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) expression in metastatic sites of HER2(-)overexpressing primary breast tumors. *J Clin Oncol* 2012; 30: 593–9
40. Shou J, Massarweh S, Osborne CK, Wakeling AE, Ali S, Weiss H, Schiff R. Mechanisms of tamoxifen resistance: increased estrogen receptor-HER2/neu cross-talk in ER/HER2(-)positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 926–35
41. Sighoko D, Liu J, Hou N, Gustafson P, Huo D. Discordance in hormone receptor status among primary, metastatic, and second primary breast cancers: biological difference or misclassification? *Oncologist* 2014;19: 592–601
42. Zegarski W, Jastrzębski T, Nowikiewicz T. Rak piersi: postępy diagnostyki i leczenia. Warszawa, MediPage 2013, 93 s.
43. Iwamoto T, Booser DI, Valero V, Murray JL, Koenig K, Esteva FJ, Ueno NT, Zhang J, Shi W, Qi Y, Matsuoka J, Yang EJ, Hortobagyi GN, Hatzis C, Symmans WF, Pusztai L. Estrogen receptor (ER) mRNA and ER-related gene expression in breast cancers that are 1% to 10% ER-positive by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2012; 30: 729–34.
44. Raghav KPS, Hernandez-Aya LF, Lei X, Chavez-Macgregor M, Meric-Bernstam F, Buchholz TA, Sahin A, Do KA, Hortobagyi GN, Gonzalez-Angulo AM. Impact of low estrogen/progesterone receptor expression on survival outcomes in breast cancers previously classified as triple negative breast cancers. *Cancer* 2012; 118: 1498–506
45. Chan A, Morey A, Brown B, Hastrich D, Willsher P, Ingram D. A retrospective study investigating the rate of HER2 discordance between primary breast carcinoma and locoregional or metastatic disease. *BMC Cancer* 2012; 12: 555

46. Gee JM, Robertson JF, Gutteridge E, Ellis IO, Pinder SE, Rubini M, Nicholson RI. Epidermal growth factor receptor/HER2/insulin-like growth factor receptor signalling and oestrogen receptor activity in clinical breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2005 ;12: S99–S111
47. Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Tashima R, Toyozumi Y, Arima N. Changes in the ER, PgR, HER2, p53 and Ki-67 biological markers between primary and recurrent breast cancer: discordance rates and prognosis. *World J Surg Oncol* 2011; 17: 131
48. Johnston S, Pippen J Jr, Pivot X, Lichinitser M, Sadeghi S, Dieras V, Gomez HL, Romieu G, Manikhas A, Kennedy MJ, Press MF, Maltzman J, Florance A, O'Rourke L, Oliva C, Stein S, Pegram M. Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5538–46
49. Kurokawa H, Arteaga CL. Inhibition of erbB receptor (HER) tyrosine kinases as a strategy to abrogate antiestrogen resistance in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 4436s–4442s
50. Lindström LS, Karlsson E, Wilking UM, Johansson U, Hartman J, Lidbrink EK, Hatschek T, Skoog L, Bergh J. Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2601–8
51. Leary AF, Drury S, Detre S, Pancholi S, Lykkesfeldt AE, Martin LA, Dowsett M, Johnston SR. Lapatinib restores hormone sensitivity with differential effects on estrogen receptor signaling in cell models of human epidermal growth factor receptor 2-negative breast cancer with acquired endocrine resistance. *Clin Cancer Res*. 2010;16:1486–97
52. Liu J, Deng H, Jia W, Zeng Y, Rao N, Li S, Jin L, Wu J, Song E, Su F. Comparison of ER/PR and HER2 statuses in primary and paired liver metastatic sites of breast carcinoma in patients with or without treatment. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012;138:837–42
53. Nakamura R, Yamamoto N, Onai Y, Watanabe Y, Kawana H, Miyazaki M. Importance of confirming HER2 overexpression of recurrence lesion in breast cancer patients. *Breast Cancer*. 2013;20:336–41

54. Thompson AM, Jordan LB, Quinlan P, Anderson E, Skene A, Dewar JA, Purdie CA. Prospective comparison of switches in biomarker status between primary and recurrent breast cancer: the Breast Recurrence in Tissues Study (BRITS). *Breast Cancer Res* 2010; 12:R92
55. Bogina G, Bortesi L, Marconi M, Venturini M, Lunardi G, Coati F, Massocco A, Manfrin E, Pegoraro C, Zamboni G. Comparison of hormonal receptor and HER-2 status between breast primary tumours and relapsing tumours: clinical implications of progesterone receptor loss. *Virchows Arch* 2011; 459:1–10
56. Wilking U, Karlsson E, Skoog L, Hatschek T, Lidbrink E, Elmberger G, Johansson H, Lindström L, Bergh J. HER2 status in a population-derived breast cancer cohort: discordances during tumor progression. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 125:553–61
57. Aitken SJ, Thomas JS, Langdon SP, Harrison DJ, Faratian D. Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases. *Ann Oncol* 2010; 21:1254–61
58. Shou J, Massarweh S, Osborne CK, Wakeling AE, Ali S, Weiss H, Schiff R. Mechanisms of tamoxifen resistance: increased estrogen receptor–HER2/neu cross-talk in ER/HER2(–)positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:926–35.
59. Soomro R, Beg MA, ur Rahman SS. Discordance of biomarker status in recurrent breast cancer. *J Pak Med Assoc* 2014;64:163-5
60. Simmons C, Miller N, Geddie W, Gianfelice D, Oldfield M, Dranitsaris G, Clemons MJ. Does confirmatory tumor biopsy alter the management of breast cancer patients with distant metastases? *Ann Oncol* 2009; 20:1499–504
61. Liedtke C, Broglio K, Moulder S, Hsu L, Kau SW, Symmans WF, Albarracin C, Meric-Bernstam F, Woodward W, Theriault RL, Kiesel L, Hortobagyi GN, Pusztai L, Gonzalez-Angulo AM. Prognostic impact of discordance between triple-receptor measurements in primary and recurrent breast cancer. *Ann Oncol* 2009; 20: 1953–8
62. Lower EE, Glass E, Blau R, Harman S. HER-2/neu expression in primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 113: 301–6
63. Broom RJ, Tang PA, Simmons C, Bordeleau L, Mulligan AM, O'Malley FP, Miller N, Andrulis IL, Brenner DM, Clemons MJ. Changes in

- estrogen receptor, progesterone receptor and Her-2/neu status with time: discordance rates between primary and metastatic breast cancer. *Anticancer Res* 2009; 29: 1557–62
64. Ménard S, Balsari A, Tagliabue E, Camerini T, Casalini P, Bufalino R, Castiglioni F, Carcangiu ML, Gloghini A, Scalone S, Querzoli P, Lunardi M, Molino A, Mandarà M, Mottolese M, Marandino F, Venturini M, Bighin C, Canello G, Montagna E, Perrone F, De Matteis A, Sapino A, Donadio M, Battelli N, Santinelli A, Pavesi L, Lanza A, Zito FA, Labriola A, Aiello RA, Caruso M, Zanconati F, Mustacchi G, Barbareschi M, Frisinghelli M, Russo R, Carrillo G; OMERO Group. Biology, prognosis and response to therapy of breast carcinomas according to HER2 score. *Ann Oncol*. 2008; 19: 1706–12
  65. Tapia C, Savic S, Wagner U, Schönegg R, Novotny H, Grilli B, Herzog M, Barascud AD, Zlobec I, Cathomas G, Terracciano L, Feichter G, Bubendorf L. HER2 gene status in primary breast cancers and matched distant metastases. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R31
  66. Lee HJ, Kim JY, Park SY, Park IA, Song IH, Yu JH, Ahn JH, Gong G. Clinicopathologic Significance of the Intratumoral Heterogeneity of HER2 Gene Amplification in HER2(–)Positive Breast Cancer Patients Treated With Adjuvant Trastuzumab. *Am J Clin Pathol*. 2015; 144: 570–8
  67. Carlsson J, Nordgren H, Sjöström J, Wester K, Villman K, Bengtsson NO, Ostenstad B, Lundqvist H, Blomqvist C. HER2 expression in breast cancer primary tumours and corresponding metastases. Original data and literature review. *Br J Cancer* 2004; 90: 2344–8
  68. Edgerton SM, Moore D 2nd, Merkel D, Thor AD. erbB-2 (HER-2) and breast cancer progression. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003; 11: 214–21
  69. Gancberg D, Di Leo A, Cardoso F, Rouas G, Pedrocchi M, Paesmans M, Verhest A, Bernard-Marty C, Piccart MJ, Larsimont D. Comparison of HER-2 status between primary breast cancer and corresponding distant metastatic sites. *Ann Oncol* 2002; 13: 1036–43
  70. Simon R, Nocito A, Hübscher T, Bucher C, Torhorst J, Schraml P, Bubendorf L, Mihatsch MM, Moch H, Wilber K, Schöttau A, Kononen J, Sauter G. Patterns of her-2/neu amplification and overexpression in primary and metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 1141–6

71. Mobbs BG, Fish EB, Pritchard KI, Oldfield G, Hanna WH. Estrogen and progesterone receptor content of primary and secondary breast carcinoma: influence of time and treatment. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987; 23: 819–26
72. Guarneri V, Giovannelli S, Ficarra G, Bettelli S, Maiorana A, Piacentini F, Barbieri E, Dieci MV, D'Amico R, Jovic G, Conte P. Comparison of HER-2 and hormone receptor expression in primary breast cancers and asynchronous paired metastases: impact on patient management. *Oncologist* 2008; 13: 838–44
73. Hoefnagel LD, van der Groep P, van de Vijver MJ, Boers JE, Wesseling P, Wesseling J; Dutch Distant Breast Cancer Metastases Consortium, van der Wall E, van Diest PJ. Discordance in ER $\alpha$ , PR and HER2 receptor status across different distant breast cancer metastases within the same patient. *Ann Oncol* 2013; 24: 3017–23.
74. Bethune GC, Veldhuijzen van Zanten D, MacIntosh RF, Rayson D, Younis T, Thompson K, Barnes PJ. Impact of the 2013 American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) testing of invasive breast carcinoma: a focus on tumours assessed as 'equivocal' for HER2 gene amplification by fluorescence in-situ hybridization. *Histopathology*. 2015 Apr 24. [Epub ahead of print]
75. Brogi E, Murphy CG, Johnson ML, Conlin AK, Hsu M, Patil S, Akram M, Nehhozina T, Jhaveri KL, Hudis CA, Seidman AD. Breast carcinoma with brain metastases: clinical analysis and immunoprofile on tissue microarrays. *Ann Oncol* 2011; 22: 2597–603
76. Chang HJ, Han SW, Oh DY, Im SA, Jeon YK, Park IA, Han W, Noh DY, Bang YJ, Kim TY. Discordant human epidermal growth factor receptor 2 and hormone receptor status in primary and metastatic breast cancer and response to trastuzumab. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41: 593–9
77. Moussa O, Purdie C, Vinnicombe S, Thompson AM. Biomarker discordance: prospective and retrospective evidence that biopsy of recurrent disease is of clinical utility. *Cancer Biomark*. 2012–2013;12: 231–9.
78. Jabbour MN, Massad CY, Boulos FI. Variability in hormone and growth factor receptor expression in primary versus recurrent, metastatic, and

- post-neoadjuvant breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 135: 29–37
79. Sharma A, Crook T, Thompson A, Palmieri C. Surgical Oncology: why biopsying metastatic breast cancer should be routine. *Nat Rev Clin Oncol* 2010; 7: 72–4
  80. Amir E, Clemons M. Should a biopsy be recommended to confirm metastatic disease in women with breast cancer? *Lancet Oncol* 2009; 10: 933–5
  81. Kiang DT, Kennedy BJ. Factors affecting estrogen receptors in breast cancer. *Cancer* 1977; 40: 1571–6
  82. Amir E, Ooi WS, Simmons C, Kahn H, Christakis M, Popovic S, Kalina M, Chesney A, Singh G, Clemons M. Discordance between receptor status in primary and metastatic breast cancer: an exploratory study of bone marrow biopsies. *Clin Oncol* 2008; 20: 763–8
  83. Rosen PP, Menendez-Botet CJ, Urban JA, Fracchia A, Schwartz MK. Estrogen receptor protein (ERP) in multiple tumor specimens from individual patients with breast cancer. *Cancer* 1977; 39: 2194–200
  84. Shimizu C, Fukutomi T, Tsuda H, Akashi-Tanaka S, Watanabe T, Nanasawa T, Sugihara K. c-erbB-2 protein overexpression and p53 immunoreaction in primary and recurrent breast cancer tissues. *J Surg Oncol* 2000; 73: 17–20
  85. Hähnel R, Twaddle E. The relationship between estrogen receptors in primary and secondary breast carcinomas and in sequential primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 1985; 5: 155–63
  86. Faratian D, Aitken SJ, Thomas JS, Langdon SP, Harrison DJ. Reply to: discordant expression of molecular markers between primary and nodal metastases: a histopathological manifestation of the 'self (stem cell)–seeding' nature of breast cancer disease? *Ann Oncol*. 2010; 21: 1375
  87. Giotta F, Simone G, Fazio V, Longo S, Petroni S, Rubini V, Liuzzi M, Addati T, Colucci G. Patterns of HER2/neu, hormonal receptor expression, and proliferative activity in primary and metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27:15s.
  88. Gancberg D, Järvinen T, di Leo A, Rouas G, Cardoso F, Paesmans M, Verhest A, Piccart MJ, Isola J, Larsimont D. Evaluation of HER-2/NEU protein expression in breast cancer by immunohistochemistry: an

- interlaboratory study assessing the reproducibility of HER-2/NEU testing. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 74: 113–20
89. Niikura N, Ueno NT. Change in HER2 status during breast tumor progression. *Cancer Biomark* 2012–2013;12: 251–5
  90. Cawthorn TR, Amir E, Broom R, Freedman O, Gianfelice D, Barth D, Wang D, Holen I, Done SJ, Clemons M. Mechanisms and pathways of bone metastasis: challenges and pitfalls of performing molecular research on patient samples. *Clin Exp Metastasis* 2009; 26: 935–43
  91. Gong Y, Booser DJ, Sneige N. Comparison of HER-2 status determined by fluorescence in situ hybridization in primary and metastatic breast carcinoma. *Cancer* 2005; 103:1763–9
  92. Tapia C, Schraml P, Simon R, Al-Kuraya KS, Maurer R, Mirlacher M, Novotny H, Spichtin H, Mihatsch MJ, Sauter G. HER2 analysis in breast cancer: reduced immunoreactivity in FISH non-informative cancer biopsies. *Int J Oncol* 2004;25:1551–7
  93. Fabi A, Di Benedetto A, Metro G, Perracchio L, Nisticò C, Di Filippo F, Ercolani C, Ferretti G, Melucci E, Buglioni S, Sperduti I, Papaldo P, Cognetti F, Mottolese M. HER2 protein and gene variation between primary and metastatic breast cancer: significance and impact on patient care. *Clin Cancer Res* 2011; 17:2055–64
  94. Zustin J, Boddin K, Tsourlakis MC, Burandt E, Mirlacher M, Jaenicke F, Izbicki J, Ruether W, Rueger JM, Bokemeyer C, Simon R, Sauter G. HER-2/neu analysis in breast cancer bone metastases. *J Clin Pathol* 2009;62:542–6
  95. Kimbung S, Kovács A, Danielsson A, Bendahl PO, Lövgren K, Stolt MF, Tobin NP, Lindström L, Bergh J, Einbeigi Z, Fernö M, Hatschek T, Hedenfalk I. Contrasting breast cancer molecular subtypes across serial tumor progression stages: biological and prognostic implications. *Oncotarget* 2015 Sep 8. [Epub ahead of print]
  96. Tobin NP, Harrell JC, Lövrot J, Egyhazi Brage S, Frostvik Stolt M, Carlsson L, Einbeigi Z, Linderholm B, Loman N, Malmberg M, Walz T, Fernö M, Perou CM, Bergh J, Hatschek T, Lindström LS; TEX Trialists Group. Molecular subtype and tumor characteristics of breast cancer metastases as assessed by gene expression significantly influence patient post-relapse survival. *Ann Oncol* 2015;26:81–8

97. Coradini D, Cappelletti V, Miodini P, Ronchi E, Scavone G, Di Fronzo G. Distribution of estrogen and progesterone receptors in primary tumor and lymph nodes in individual patients with breast cancer, *Tumori* 1984; 70: 165–8
98. D'Andrea MD, Limiti MR, Bari M, Zambenedetti P, Montagutti A, Ricci F, Pappagallo GL, Sartori S, Vinante O, Mingazzini PL. Correlation between genetic and biological aspects in primary non-metastatic breast cancers and corresponding synchronous axillary lymph node metastasis. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 101: 279–84
99. Dikicioglu S, Barutca S, Meydan N, Meteoglu I. Biological characteristics of breast cancer at the primary tumour and the involved lymph nodes. *Int J Clin Pract* 2005; 59: 1039–44
100. Falck AK, Fernö M, Bendahl PO, Rydén L. Does analysis of biomarkers in tumor cells in lymph node metastases give additional prognostic information in primary breast cancer? *World J Surg* 2010; 34: 1434–41
101. De la Haba-Rodríguez MR, Ruiz Borrego M, Gómez España A, Villar Pastor C, Japón MA, Travado P, Moreno Nogueira JA, López Rubio F, Aranda Aguilar E. Comparative study of the immunohistochemical phenotype in breast cancer and its lymph node metastatic location. *Cancer Invest* 2004; 22: 219–24
102. Iguchi C, Nio Y, Itakura M, Heterogenic expression of estrogen receptor between the primary tumor and the corresponding involved lymph nodes in patients with node-positive breast cancer and its implications in patient outcome. *J Surg Oncol* 2003; 83: 85–93
103. Kamby J, Rasmussen BB, Kristensen B. Oestrogen receptor status of primary breast carcinomas and their metastases, Relation to pattern of spread and survival after recurrence. *Br J Cancer* 1989; 60: 252–7
104. Masood C, Bui MM. Assessment of Her-2/neu overexpression in primary breast cancers and their metastatic lesions: an immunohistochemical study. *Ann Clin Lab Sci* 2000; 30: 259–65
105. Filipits M, Rudas M, Jakesz R, Dubsy P, Fitzal F, Singer CF, Dietze O, Greil R, Jelen A, Sevelde P, Freibauer C, Müller V, Jänicke F, Schmidt M, Kölbl H, Rody A, Kaufmann M, Schroth W, Brauch H, Schwab M, Fritz P, Weber KE, Feder IS, Hennig G, Kronenwett R, Gehrman M, Gnant M; EP Investigators. A new molecular predictor of distant



- recurrence in ER-positive, HER2(-)negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clin Cancer Res* 2011;17:6012–20
106. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, Kataoka A, Kinoshita J, Hachitanda Y. EGFR, c-erbB2 and p53 protein in the primary lesions and paired metastatic regional lymph nodes in breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2002; 28: 383–7
  107. van Agthoven T, Timmermans M, Dorssers LC, Henzen-Logmans SC. Expression of estrogen, progesterone and epidermal growth factor receptors in primary and metastatic breast cancer. *Int J Cancer* 1995; 63: 790–3
  108. Xu R, Perle MA, Inghirami G, Chan W, Delgado Y, Feiner H. Amplification of Her-2/neu gene in Her-2/neu-overexpressing and –nonexpressing breast carcinomas and their synchronous benign, premalignant, and metastatic lesions detected by FISH in archival material. *Mod Pathol* 2002; 15: 116–24
  109. Wilking U, Karlsson E, Skoog L, Hatschek T, Lidbrink E, Elmberger G, Johansson H, Lindström L, Bergh J. HER2 status in a population-derived breast cancer cohort: discordances during tumor progression. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 125:553–61
  110. Mittendorf EA, Wu Y, Scaltriti M, Meric-Bernstam F, Hunt KK, Dawood S, Esteva FJ, Buzdar AU, Chen H, Eksambi S, Hortobagyi GN, Baselga J, Gonzalez-Angulo AM. Loss of HER2 amplification following trastuzumab-based neoadjuvant systemic therapy and survival outcomes. *Clin Cancer Res* 2009; 15:7381–8
  111. Finicelli M, Benedetti G, Squillaro T, Pistilli B, Marcellusi A, Mariani P, Santinelli A, Latini L, Galderisi U, Giordano A. Expression of stemness genes in primary breast cancer tissues: the role of SOX2 as a prognostic marker for detection of early recurrence. *Oncotarget* 2014;5:9678–88
  112. Jensen JD, Knoop A, Ewertz M, Laenkholm AV. ER, HER2, and TOP2A expression in primary tumor, synchronous axillary nodes, and asynchronous metastases in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2012; 132: 511–21
  113. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, Tordai A, Mejia JA, Symmans WF, Gonzalez-Angulo AM, Hennessy B, Green M, Cristofanilli M,

- Hortobagyi GN, Pusztai L. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1275–81
114. Shah SP, Morin RD, Khattra J, Prentice L, Pugh T, Burleigh A, Delaney A, Gelmon K, Guliany R, Senz J, Steidl C, Holt RA, Jones S, Sun M, Leung G, Moore R, Severson T, Taylor GA, Teschendorff AE, Tse K, Turashvili G, Varhol R, Warren RL, Watson P, Zhao Y, Caldas C, Huntsman D, Hirst M, Marra MA, Aparicio S. Mutational evolution in a lobular breast tumour profiled at single nucleotide resolution. *Nature* 2009;461:809–13
115. Wu JM, Fackler MJ, Halushka MK, Molavi DW, Taylor ME, Teo WW, Griffin C, Fetting J, Davidson NE, De Marzo AM, Hicks JL, Chitale D, Ladanyi M, Sukumar S, Argani P. Heterogeneity of breast cancer metastases: comparison of therapeutic target expression and promoter methylation between primary tumors and their multifocal metastases. *Clin Cancer Res* 2008;14:1938–46
116. Press MF, Sauter G, Buyse M, Bernstein L, Guzman R, Santiago A, Villalobos IE, Eiermann W, Pienkowski T, Martin M, Robert N, Crown J, Bee V, Taupin H, Flom KJ, Tabah-Fisch I, Pauletti G, Lindsay MA, Riva A, Slamon DJ. Alteration of topoisomerase II-alpha gene in human breast cancer: association with responsiveness to anthracycline-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 2011;29:859–67
117. Pusztai L, Viale G, Kelly CM, Hudis CA. Estrogen and HER-2 receptor discordance between primary breast cancer and metastasis. *Oncologist* 2010;15:1164–8
118. Pérez-Fidalgo JA, Eroles P, Ferrer J, Bosch A, Burgués O, Martínez F, Bermejo B, Lluch A, González-Angulo AM. An evaluation of the impact of technical bias on the concordance rate between primary and recurrent tumors in breast cancer. *Breast*. 2013;22:974–9
119. Akbulut H, Tang Y, Akbulut KG, Maynard J, Zhang L, Deisseroth A. Antitumor immune response induced by i.t. injection of vector-activated dendritic cells and chemotherapy suppresses metastatic breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2006;5:1975–85
120. Rhodes A, Jasani B, Balaton AJ, Barnes DM, Anderson E, Bobrow LG, Miller KD. Study of interlaboratory reliability and reproducibility of

- estrogen and progesterone receptor assays in Europe. Documentation of poor reliability and identification of insufficient microwave antigen retrieval time as a major contributory element of unreliable assays. *Am J Clin Pathol* 2001;115:44–58
121. Untch M, Harbeck N, Huober J, von Minckwitz G, Gerber B, Kreipe HH, Liedtke C, Marschner N, Möbus V, Scheithauer H, Schneeweiss A, Thomssen C, Jackisch C, Beckmann MW, Blohmer JU, Costa SD, Decker T, Diel I, Fasching PA, Fehm T, Janni W, Lück HJ, Maass N, Scharl A, Loibl S. Primary Therapy of Patients with Early Breast Cancer: Evidence, Controversies, Consensus: Opinions of German Specialists to the 14th St. Gallen International Breast Cancer Conference 2015 (Vienna 2015). *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2015; 75:556–565
  122. Johnston S, Pippen J Jr, Pivot X, Lichinitser M, Sadeghi S, Dieras V, Gomez HL, Romieu G, Manikhas A, Kennedy MJ, Press MF, Maltzman J, Florance A, O'Rourke L, Oliva C, Stein S, Pegram M. Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5538–46
  123. Miller KD, Ibrahim M, Barnett S, Jasani B. Technical aspects of predictive and prognostic markers in breast cancer: What UK NEQAS data shows. *Curr Diagn Pathol* 2007; 13: 135–49
  124. Allred DC. Commentary: hormone receptor testing in breast cancer: a distress signal from Canada. *Oncologist* 2008;13:1134–6
  125. Shibata H, Spencer TE, Oñate SA, Jenster G, Tsai SY, Tsai MJ, O'Malley BW. Role of co-activators and co-repressors in the mechanism of steroid/thyroid receptor action. *Recent Prog Horm Res* 1997;52:141–64, discussion 164–5
  126. Gutierrez MC, Detre S, Johnston S, Mohsin SK, Shou J, Allred DC, Schiff R, Osborne CK, Dowsett M. Molecular changes in tamoxifen-resistant breast cancer: relationship between estrogen receptor, HER-2, and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Clin Oncol* 2005; 23:2469–76
  127. Zidan J, Dashkovsky I, Stayerman C, Basher W, Cozacov C, Hadary A. Comparison of HER-2 overexpression in primary breast cancer and metastatic sites and its effect on biological targeting therapy of metastatic disease. *Br J Cancer* 2005; 93: 552–6

128. Diagnostik und Therapie von Patientinnen mit primärem und metastasierten Brustkrebs (aktuelle Empfehlungen der AGO e. V. in der DGGG e.V. sowie in der DKG e.V. vom 28.02.2015; Guidelines Breast Version 2015.1 D)

## 8. STRESZCZENIE

Rak piersi stanowi jeden z najczęściej rozpoznawanych nowotworów złośliwych w krajach rozwiniętych. Leczenie systemowe stanowi kluczowy element leczenia raka piersi u większości pacjentek. Ma ono na celu zabezpieczenie pacjentki przed pojawieniem się wznowy miejscowej lub odległej raka piersi, będących główną przyczyną zgonów w tej grupie chorych. Obecnie jednym z głównych kryteriów doboru leczenia systemowego jest ocena biologicznych właściwości raka piersi, na co składają się między innymi: stan receptora estrogenowego (ER), progesteronowego (PR), ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2 (HER2). Najnowsza literatura wskazuje, że stan receptorów ER, PR i HER2 może ulec zmianie u pacjentek ze wznową miejscową lub odległą raka piersi, co pośrednio może wpłynąć na dobór terapii systemowej i rokowanie w tej grupie chorych.

### Cele pracy

- Ocena częstości zmiany receptorów ER/PR/HER2 w nawrotowym raku piersi w populacji polskiej
- Analiza czynników histopatologicznych/biologicznych skutkujących zmianą stanu receptorów
- Analiza wpływu zmiany stanu receptorów na rokowanie (czas wystąpienia wznowy/czas zgonu)

### Materiał i metody

Do badania włączono 35 chorych po leczeniu operacyjnym nawrotu miejscowego raka piersi, u których dostępne są bloki tkankowe z guza pierwotnego oraz nawrotu lokoregionalnego. Praca ma charakter retrospektywno-prospektywny i wielośrodkowy (6 szpitali). W analizowanej grupie chorych przeprowadzona została ocena ekspresji receptorów: estrogenowego, progesteronowego i HER2 w guzie pierwotnym i zmianie nawrotowej. Następnie dokonana została ocena częstości zmiany receptorów ER/PR/HER2 w nawrotowym raku piersi w populacji polskiej oraz analiza korelacji zmienności stanu biomarkerów z prowadzonym w momencie wystąpienia wznowy leczeniem celowanym, czynnikami demograficznymi oraz rokowaniem w analizowanej grupie chorych. Dla potrzeb oceny cech klinicznych oraz demograficznych wykorzystano statystykę opisową. Do analizy statystycznej otrzymanych wyników użyto testów nie-

parametrycznych. Do analizy przeżyć w badanej grupie chorych użyto testu Kaplana-Meiera. Do oceny zależności pomiędzy zmianą stanu receptorów a zmiennymi kategoryzowanymi użyto testu Chi-kwadrat Pearsona (z poprawką Yeatsa i dokładnym testem Fishera). Do oceny zależności pomiędzy zmianą stanu receptorów a zmiennymi ciągłymi zastosowano test nieparametryczny: U Mann-Whitney.

#### Wyniki

Finalnie oceniono i zanalizowane dane od 35 pacjentek, koncentrując się na znalezieniu odpowiedzi na postawione w badaniu cele. W wynikach oceniono częstość zmiany stanu receptorów we wznowie lokoregionalnej raka piersi, zanalizowano czynniki potencjalnie odpowiedzialne oraz zbadano wpływ zmiany stanu receptorów na rokowanie w populacji polskiej kobiet ze wznową lokoregionalną raka piersi.

#### Wnioski

- 1) U znacznej części chorych ze wznową miejscową raka piersi dochodzi do zmiany stanu receptorów ER/PR i HER2.
- 2) Rodzaj histologiczny nowotworu, stan zaawansowania lokoregionalnego oraz zastosowanie hormonoterapii mają wpływ na zmianę stanu receptorów u pacjentek ze wznową raka piersi
- 3) Zmiana stanu receptorów ER i PR skutkuje skróceniem czasu przeżycia u pacjentek ze wznową raka piersi
- 4) Konieczne są dalsze, randomizowane badania oceniające optymalne postępowanie w grupie chorych ze wznową raka piersi, ze szczególnym uwzględnieniem grupy pacjentek ze zmianą stanu receptorów ER, PR oraz HER2
- 5) Należy rozważyć rutynową, ponowną ocenę stanu receptorów ER, PR i HER2 u pacjentek ze wznową raka piersi.

## 9. SUMMARY

Breast cancer is one of the most common cancer in developed countries. Systemic therapy is crucial for majority of breast cancer patients. It decreases significantly risk of occurring breast cancer local relapses and distant metastases, which are the main cause of breast cancer patients death. Presently we should know the exact ER, PR and HER2 receptors status to choose the right systemic therapy. Unfortunately the newest research trials demonstrate that there is a clinically significant discordance between ER, PR and HER2 status, when comparing primary and recurrent/metastatic breast cancer. It may have influence on survival and systemic therapy in breast cancer patients.

### Aim of the study

- Evaluation of discordance rate of ER/PR/HER2 receptor status in breast cancer locoregional relapse, in polish population.
- Analysis of histopathological and biological factors, responsible for ER/PR/HER2 receptor status discordance.
- Evaluation of the influence of ER/PR/HER2 receptor status discordance on prognosis in recurrent breast cancer patients.

### Material and methods

In our study we examined a tissue samples of 35 recurrent breast cancer patients, whose tissue samples from primary tumor and locoregional relapse we were able to obtain. Our study is multicentre (6 hospitals included), mainly retrospective trial. In analyzed group of patients we evaluated ER, PR and HER2 receptors status in primary breast cancer and locoregional relapse. Then we assessed the discordance rate of ER/PR/HER2 receptor status in breast cancer locoregional relapse and its relation to demographic, histological, biological factors and systemic treatment and its influence on prognosis in this group of patients. To evaluate the clinical and demographic characteristics the descriptive statistics was used. To analyze the results nonparametric tests were used. To evaluate survival rate in examined group the Kaplan-Meier test was used. To assess the relation between discordance rate and categorized variables the Chi-quadrat test Pearsona (with Yeats modification and Fisher test) was implemen-

ted. To evaluate the relations between discordance rate and continuous variables the nonparametric U Mann-Whitney test was used.

#### Results

Finally the data of 35 patients were evaluated and analyzed to give precise answers to study questions. In results we analyzed the discordance rate of ER/PR/HER2 receptor status in breast cancer locoregional relapse, its potential causes and finally, both prognostic and therapeutic consequences.

#### Conclusions

- 1) The discordance of ER/PR/HER2 receptor status is present in significant part of breast cancer locoregional relapse patients.
- 2) The histologic type, locoregional staging and hormonotherapy use have influence on discordance rate of breast cancer locoregional relapse patients.
- 3) The discordance of ER and PR decreases survival rate in breast cancer locoregional relapse patients.
- 4) There is a continuous necessity of randomized trials, evaluating optimal management of recurrent breast cancer patients, with focus on the group with discordant ER, PR and HER2 receptors.
- 5) The routine rebiopsy and ER, PR and HER2 receptor status evaluation should be considered in locoregional recurrence breast cancer patients.