

Czynniki przepowiadające ryzyko miejscowego nawrotu raka piersi

Femke van der Leij, MD, Paula H.M. Elkhuisen, MD, PhD, Harry Bartelink, MD, PhD, Marc J. van der Vijver, MD, PhD

Semin Radiat Oncol 2012, 22: 100-107.

Dr van der Leij,

Division of Radiation Oncology,
The Netherlands Cancer Institute/
Antoni van Leeuwenhoek Hospital,
Amsterdam, Holandia.

Dr Elkhuisen,

Division of Radiation Oncology,
The Netherlands Cancer Institute/
Antoni van Leeuwenhoek Hospital,
Amsterdam, Holandia.

Dr Bartelink,

Division of Radiation Oncology,
The Netherlands Cancer Institute/
Antoni van Leeuwenhoek Hospital,
Amsterdam, Holandia.

Dr van de Vijver,

Division of Diagnostic Oncology,
The Netherlands Cancer Institute/
Antoni van Leeuwenhoek Hospital
i Department of Pathology,
Academic Medical Center,
Amsterdam, Holandia.

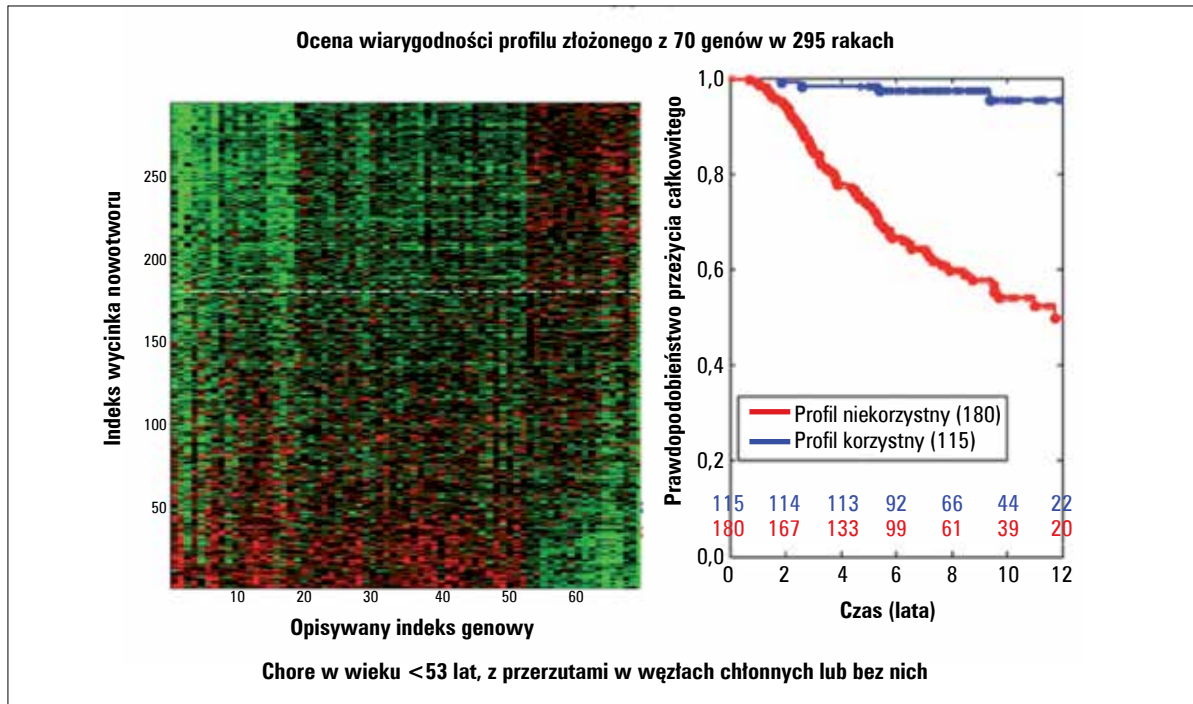
Adres do korespondencji:

Marc J. van de Vijver, MD, PhD,
Department of Pathology, Academic
Medical Center, Meibergdreef 9,
1105 AZ,
Amsterdam, The Netherlands;
e-mail:
M.J.vandevijver@amc.uva.nl

Czynniki ryzyka wystąpienia miejscowego nawrotu raka piersi po leczeniu oszczędzającym pierś (breast conserving therapy, BCT) istotnie różnią się od czynników ryzyka nawrotu po mastektomii. W celu lepszego doboru optymalnego postępowania dla każdej z chorych należy wskazać, które z nich są obciążone zwiększonym ryzykiem wystąpienia miejscowego nawrotu nowotworu. Znanymi czynnikami klinicznymi i histopatologicznymi pozwalającymi przewidzieć pojawienie się nawrotu po BCT są młody wiek i występowanie raka przewodowego *in situ*. Głównymi czynnikami ryzyka nawrotu po mastektomii są natomiast stan węzłów chłonnych i wielkość pierwotnego ogniska nowotworu. Uzyskane niedawno wyniki badań profilowania ekspresji genów wyjaśniły różnice w rokowaniu i zagrożeniu miejscowym nawrotem, a także oczekiwaną odpowiedź na różne metody leczenia (adiuwantowe leczenie systemowe i radioterapię). Z uwagi na występowanie różnych podtypów raka piersi i różnice w masie nowotworu pozostałej po operacji określenie wiarygodnych czynników przepowiadających jest złożone. Autorzy chcą przedstawić znane i analizowane obecnie czynniki predykcyjne i prognostyczne u chorych po mastektomii i BCT, a także znaczenie promieniowrażliwości w odniesieniu do powstawania miejscowych nawrotów.

S tosowanie radioterapii (radiotherapy, RT) po mastektomii i w ramach leczenia oszczędzającego pierś (BCT) pozwoliło na znaczne ograniczenie częstości występowania miejscowych nawrotów oraz zgonów z powodu raka piersi. Wykazano to na podstawie metaanalizy przeprowadzonej przez Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group z 15-letnim okresem obserwacji. Uznano, że każde 4 miejscowe nawroty powstałe w ciągu pierwszych 5 lat po leczeniu wiążą się z jednym zgonem z powodu raka piersi.¹ Przewidywanie ryzyka wystąpienia miejscowego nawrotu umożliwia właściwy wybór leczenia u każdej z chorych i uzyskanie lepszych wyników. Takie indywidualizowane dostosowanie już jest możliwe i polega np. na modyfikacji dawki radioterapii. Po napromienianiu całej piersi (whole-breast irradiation, WBI) w dawce całkowitej 45-50 grayów (Gy) częstość miejscowych nawrotów zmniejsza się o 60-70%. Dalsze zmniejszenie ryzyka nawrotu można osiągnąć dzięki eskalacji dawki o 16 Gy, co sprawia, że ryzyko względne zmniejsza się o około 50%.² Zmniejszenie ryzyka względnego nawrotu w tej sytuacji jest niezależne od chorej, nowotworu ani od czynników związanych z leczeniem. Uzupełnienie postępowania terapeutycznego sekwencyjną hormonoterapią i/lub chemioterapią redukuje ryzyko względne miejscowego nawrotu o 50%.¹

RYCINA 1

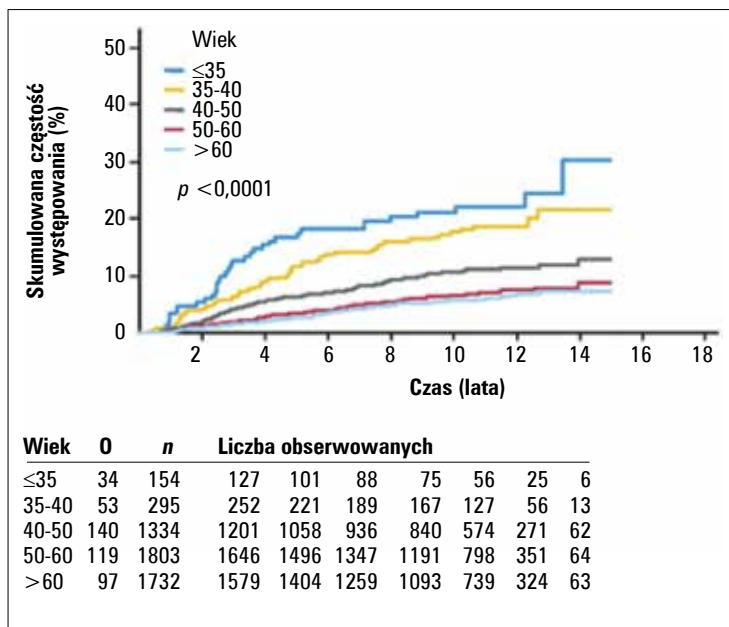


Ocena wiarygodności profilu złożonego z 70 genów u 295 chorych na raka piersi, w wieku <53 lat, z przerzutami do węzłów chłonnych lub bez nich (Zaadaptowano za zgodą z van de Vijver i wsp.³ © 2002 Massachusetts Medical Society. Wszelkie prawa zastrzeżone). (Wersja kolorowa ryciny jest dostępna na stronie internetowej).

Lepszy dobór optymalnego leczenia dla każdej z chorych byłby możliwy dzięki określeniu grup kobiet obciążonych większym ryzykiem wystąpienia miejscowego nawrotu. Wyłonienie chorych, u których ryzyko to jest małe, pozwoliłoby natomiast na ograniczenie podawanych dawek napromieniania lub wręcz pominięcie radioterapii. Wiadomo, że kilka czynników klinicznych i histopatologicznych pozwala przewidzieć prawdopodobieństwo pojawienia się miejscowego nawrotu. W przypadku BCT szczególnie zagrożone nawrotem są kobiety w młodym wieku, jednak dotąd nie poznano dobrze biologicznych mechanizmów tej zależności (wspomniano o tym w dalszej części artykułu). Niedawno dzięki badaniom profilów ekspresji genów z użyciem mikromacierzy DNA udało się określić profile rokownicze, pozwalające przewidzieć wynik leczenia chorych na raka piersi.³⁻⁶ Opracowano testy molekularne oparte na ekspresji genów o znaczeniu prognostycznym, a niektóre z nich są już dostępne na rynku. W kilku badaniach określono profile ekspresji genów w przypadku raka piersi pozwalające przewidzieć przeżycie bez pojawienia się przerzutów odległych.

Niektóre z tych doświadczeń przełożyły się na podjęcie badań klinicznych, w których profile ekspresji genów wykorzystywane są podczas podejmowania decyzji terapeutycznych, zwłaszcza dotyczących adiuwantowego leczenia systemowego. Przykładem jest profil ekspresji 70 genów pozwalający przewidzieć wczesne pojawienie się przerzutów odległych u chorych na raka z lub bez receptorów estrogenowych (estrogen receptor, ER) i bez przerzutów w węzłach chłonnych. Profil ten wyłoniono na podstawie analizy 78 mrożonych wycinków raków piersi wielkości poniżej 5 cm w przypadkach bez przerzutów do węzłów chłonnych, pochodzących od kobiet w wieku poniżej 55 lat leczonych w Netherlands Cancer Institute. Porównanie profilów ekspresji genów pochodzących z nowotworów chorych, u których w ciągu 5 lat po ustaleniu rozpoznania wystąpiły przerzuty odległe, z profilami u chorych, u których przerzuty nie pojawiły się, pozwoliło na wyłonienie złożonej z 70 genów sygnatury prognostycznej, której wiarygodność potwierdzono w kilku badaniach (ryc. 1). Na podstawie takich testów można wyróżnić nowotwory związane z dobrym lub złym rokowaniem. Sygnatura okazała się skutecz-

RYCINA 2



Skumulowana częstość występowania nawrotów raka w tej samej piersi po napromienieniu dawką wynoszącą 50 Gy lub dawką 50 Gy uzupełnioną eskalacją dawki, przedstawiona w zależności od wieku chorych. 0 – częstość występowania, n – liczba chorych obciążonych ryzykiem. (Przedrukowano za zgodą z Bartelink i wsp.,² © 2008 American Society of Clinical Oncology. Wszelkie prawa zastrzeżone). (Wersja kolorowa ryciny jest dostępna na stronie internetowej).

niejszą od cech klinicznych i patomorfologicznych metodą oceny, pozwalającą przewidzieć ryzyko powstania przerzutów odległych i przeżycie całkowite.⁷ Chore, których rokowanie jest dobre, mogą w bezpieczny sposób uniknąć chemioterapii.^{3,9} Dostępny na rynku profil złożony z 70 genów, MammaPrint (Agendia, Amsterdam, Holandia), został zarejestrowany przez amerykańską Food and Drug Administration. Niedawno zakończono badanie MINDACT (Microarray In Node-negative and 1-3 positive lymph node Disease May Avoid ChemoTherapy). Podczas tego prospektywnego badania oceniano przydatność profilów MammaPrint w kwalifikowaniu do leczenia adiuwantowego chorych na wczesnego raka piersi z przerzutami w 0-3 węzłach chłonnych.¹⁰ Niedawno zakończono też podobne badanie TAILOR (Trial Assigning Individualized Options for Treatment),¹¹ oparte na teście Oncotype DX (Oncotype DX Genomic Health, Inc., Redwood City, CA, Stany Zjednoczone). Jest to test oparty na reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkryptazą, oceniający 21 genów (16 związanych z nowotworem i 5 genów referencyjnych) w RNA komórek pierwotnego raka piersi, wyłonionych z wycinków przechowywanych w bloczkach parafinowych. Poziomami ekspresji 21 genów ma-

nipulowano, posługując się opracowanym empirycznie, prospektywnie potwierdzonym algorytmem matematycznym w celu obliczenia indeksu nawrotu (recurrence score, RS). Na podstawie tego indeksu chore zaliczono do jednej z 3 grup oszacowanego ryzyka powstania przerzutu odległego w przyszłości. Były to grupy małego, pośredniego i dużego ryzyka.⁴ Celem obu badań było ograniczenie liczby chorych otrzymujących chemioterapię adiuwantową.

Przewidywanie odpowiedzi na leczenie, w tym chemioterapię, hormonoterapię i radioterapię, jest przydatne w praktyce klinicznej. Chociaż w kilku badaniach próbowano wyłonić profile ekspresji genów pozwalające przewidzieć miejscowy nawrót i ustalić indywidualny schemat leczenia,¹²⁻¹⁴ ocena ryzyka powstania nawrotu nadal opiera się głównie na tradycyjnych czynnikach klinicznych i histopatologicznych. Autorzy niniejszego artykułu omawiają badania oceniające możliwość przewidywania ryzyka miejscowego nawrotu raka piersi. Nadal uważa się, że chore obciążone dużym ryzykiem odnoszą korzyść dzięki zastosowaniu RT (większej dawki), chociaż nawet w tej grupie obserwowane są znaczne różnice w zakresie odpowiedzi na napromienianie. Z tego powodu sama promieniowrażliwość może być zatem czynnikiem ryzyka. Poza omówieniem czynników predykcyjnych dla miejscowego nawrotu raka piersi po BCT i po mastektomii autorzy skupiają się na roli wewnętrznej promieniowrażliwości w aspekcie przewidywania wyniku leczenia.

PRZEWIDYWANIE MIEJSCOWEGO NAWROTU PO BCT

Czynniki ryzyka: kliniczne i histopatologiczne

W kilku badaniach stwierdzono, że głównym niezależnym czynnikiem ryzyka nawrotu raka piersi po BCT jest młody wiek chorej (<50 lat).^{2,15-18} Szczególnie zagrożone są chore w wieku poniżej 35 lat. Opisywana częstość występowania miejscowych nawrotów raka piersi w ciągu 10 lat sięga w tej grupie 30% lub więcej.^{15,17} W badaniu dotyczącym oceny korzyści z podwyższenia całkowitej dawki napromieniania² (ryc. 2) młody wiek chorych był jednym z najważniejszych czynników ryzyka występowania miejscowego nawrotu. We wszystkich grupach wiekowych wykazano wyraźne zmniejszenie ryzyka względnego nawrotu dzięki podwyższeniu dawki napromieniania po WBI, ale wśród chorych młodszych wskaźniki bezwzględnego zredukowania ryzyka w ciągu 10 lat były większe. Częstość występowania miejscowego nawrotu raka piersi zmniejszyła się z 23,9 do 13,5% wśród kobiet w wieku <40 lat, z 12,5 do 8,7% wśród kobiet w wieku 41-50 lat, z 7,8 do 4,9% wśród

kobiet w wieku 51-60 lat i z 7,3 do 3,8% wśród kobiet w wieku powyżej 60 lat.²

Uważa się, że miejscowe nawroty raka piersi wywodzą się z mikroskopowych ognisk nowotworu przetrwałych po operacji. Powstanie miejscowego nawrotu po BCT można przewidzieć na podstawie dodatniego marginesu chirurgicznego po operacji,^{15,19,20} choć częstość pojawiania się nawrotów w takich sytuacjach była w poszczególnych badaniach różna. Znaczenie wątpliwego marginesu resekcji, definiowanego zmiennie jako 1-2 mm grubości tkanek wolnych od nacieku, budzi kontrowersje. Definicja ujemnego marginesu waha się od przypadków niewystępowania bezpośrednio w jego zakresie komórek nowotworowych, do wymaganej grubości wolnych od nacieku tkanek prawidłowych > 1-2 mm. Park i wsp.²¹ nie stwierdzili różnic w częstości miejscowych nawrotów między chorymi, u których stwierdzano margines ujemny, a chorymi z marginesem wątpliwym (≤ 1 mm). Po 8 latach od BCT w obu grupach częstość rozpoznawania miejscowych nawrotów wyniosła 7%. Największy odsetek nawrotów (27%) obserwowano wśród chorych z rozległym naciekiem w zakresie marginesu chirurgicznego. U chorych z ogniskowym naciekiem marginesu resekcji (≤ 3 ogniska w małym polu widzenia) nawroty miejscowe były umiarkowanie częste (14%). W analizie podgrup uczestniczek wspomnianego uprzednio badania, dotyczącego oceny skuteczności podwyższania dawki całkowitej napromieniania, Jones i wsp. ocenili znaczenie stanu marginesu u chorych na inwazyjnego raka piersi i chorych na przewodowego raka piersi *in situ* (ductal carcinoma *in situ*, DCIS). Uwzględniono margines wątpliwy (≤ 2 mm) i margines dodatni (czyli komórki inwazyjnego raka piersi lub DCIS stwierdzone w obrębie marginesu resekcji oznakowanego atramentem).²² W badaniu tym stan marginesu u chorych na inwazyjnego raka piersi i na DCIS nie wpłynął znamienne na powstawanie miejscowych nawrotów nowotworu. Werkhoven i wsp. przeprowadzili niedawno podobne badanie wśród chorych, u których podwyższano lub nie podwyższano całkowitej dawki napromieniania.²³ Zaproponowano nomogram pozwalający przewidzieć ryzyko powstania miejscowego nawrotu po BCT (<http://research.nki.nl/ibr>). Czynniki wpływającymi w najsilniejszym stopniu na pojawianie się nawrotów były młody wiek, występowanie DCIS w jakiegokolwiek formie oraz podwyższanie dawki napromieniania. Innymi czynnikami uwzględnionymi w nomogramie były leczenie systemowe, wielkość ogniska pierwotnego oraz wysoki stopień złośliwości nowotworu.²³

U 15-30% chorych inwazyjnemu rakowi piersi towarzyszą rozległe zmiany o charakterze DCIS (extensive DCIS, EDCIS). Zmiany typu DCIS szerzą się wzdłuż przewodów piersiowych nie naciekając ich ściany, co sprawia,

że są niewyczuwalne i trudno je usunąć z właściwym, wolnym od komórek nowotworowych, marginesem. W kilku wcześniej przeprowadzonych badaniach występowanie EDCIS stanowiło czynnik ryzyka powstania miejscowego nawrotu.^{15,20} Natomiast doszczętne wycięcie EDCIS wraz z ujemnym marginesem chirurgicznym powoduje, że takie rozpoznanie traci wartość w aspekcie przewidywania miejscowego nawrotu.^{20,24}

Wskaźniki immunohistochemiczne

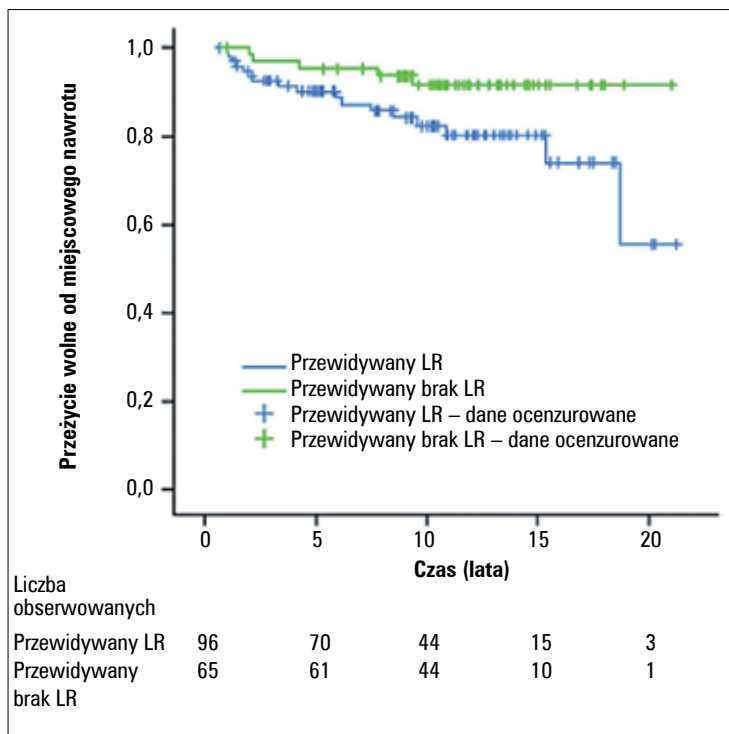
Ważnymi czynnikami rokowniczymi i przepowiadającymi odpowiedź na hormonoterapię i leczenie ukierunkowane na ludzki naskórkowy czynnik wzrostu typu 2 (human epidermal growth factor, HER2) po BCT i mastektomii są status ER, receptora progesteronowego (progesterone receptor, PR), oraz HER2.²⁵⁻²⁷

Ki-67 jest jądrowym wskaźnikiem proliferacji komórek. W kilku badaniach wykazano, że duże wartości Ki-67 wiążą się z pogorszeniem zmiennych przeżycia wolnego od przerzutów odległych i przeżycia całkowitego u chorych na raka piersi z przerzutami lub bez przerzutów do węzłów chłonnych.²⁸⁻³⁰ Na podstawie przeprowadzonej metaanalizy Azambuja i wsp.³¹ stwierdzili, że duże wartości Ki-67 są związane z gorszym rokowaniem, ale również paradoksalnie skutkują większym prawdopodobieństwem odpowiedzi na chemioterapię.²⁹ Przyjęto, że punkt odcięcia dla poziomu Ki-67 może być definiowany w zakresie 7 decyła, co odpowiada dużej wartości wskaźnika proliferacji Ki-67 w więcej niż 20% zabarwionych komórek nowotworowych.²⁸ Elkhuisen i wsp.³² stwierdzili, że duże wartości Ki-67 są czynnikiem ryzyka nawrotu po BCT. Badano również znaczenie w aspekcie przewidywania miejscowego nawrotu raka piersi i zmiennych czasu przeżycia kilku innych czynników, takich jak TP53, bcl-2 i cyklina D, ale uzyskano niejednoznaczne wyniki.

Podtypy molekularne

Na podstawie badań ekspresji genów wyodrębniono pięć podtypów raka piersi o udowodnionej wartości rokowniczej. Klasyfikacja ta świadczy o różnorodności raka piersi, a przy tym może ułatwić wybór leczenia systemowego i ocenić ryzyko nawrotu. Do omawianych podtypów zalicza się raka luminalnego A z występującymi receptorami estrogenowymi (luminalny A), raka luminalnego B z receptorami estrogenowymi (luminalny B), raka HER2-dodatniego, raka typu podstawnego oraz typowego raka piersi. Raki HER2 i typu podstawnego charakteryzuje brak ekspresji receptorów estrogenowych oraz niekorzystne rokowanie. Podtyp HER2 cechuje się nasiloną ekspresją genu *HER2* i innych genów z ampli-

RYCINA 3



Krzywe Kaplana-Meiera oszacowanego przeżycia wolnego od miejscowego nawrotu po BCT, porównujące chore wolne od czynników ryzyka miejscowego nawrotu z chorymi, u których można przewidywać wystąpienie miejscowego nawrotu ($p=0,041$ według testu logarytmicznego rang [log-rank]). Liczby w górnej części ryciny odzwierciedlają liczbę chorych obciążonych ryzykiem miejscowego nawrotu w pewnych przedziałach czasowych. LR – miejscowy nawrót nowotworu. (Przedrukowano z Kreike i wsp.¹²). (Wersja kolorowa ryciny jest dostępna na stronie internetowej).

konu HER2. W rakach typu podstawnego występuje nasiloną ekspresja genów proliferacyjnych. Z kolei luminalne raki piersi wykazują nasiloną ekspresję genów towarzyszących ER, przy czym nowotwory luminalne B rokują gorzej niż luminalne A.³³ Główna różnica biologiczna między podtypami luminalnymi A i B leży w sygnaturze proliferacji. Obejmuje ona geny *CCNB1*, *MKI67* (kodujący Ki-67) i *MYBL2* ulegające silniejszej ekspresji w rakach luminalnych B niż w luminalnych A.³⁴ W przeprowadzonym niedawno badaniu Dawood i wsp.³⁵ wykorzystali omawiane podtypy raka piersi w celu porównania wyników leczenia. W modelu wieloczynnikowym podtyp luminalny B, HER2, podstawny i niesklasyfikowany wiązały się z większym zagrożeniem zgonem z powodu raka piersi niż podtyp luminalny A. Podobną tendencję stwierdzono w odniesieniu do przeżycia całkowitego i przeżycia bez nawrotu nowotworu.³⁵

Autorzy kilku badań oceniali zależność między molekularnym podtypem raka piersi a częstością występowania nawrotów miejscowych. Nguyen i wsp.³⁶ wykorzystali status receptorowy nowotworów piersi u 793 chorych w celu określenia molekularnych podtypów raka. Rak ER⁺/PR⁺/HER2⁻ odpowiadał podtypowi luminalnemu A, ER⁺/PR⁺/HER2⁺ podtypowi luminalnemu B, ER⁻/PR⁻/HER2⁺ podtypowi HER2, a ER⁻/PR⁻/HER2⁻ podtypowi podstawnemu. Po okresie obserwacji, którego mediana wyniosła 70 miesięcy, częstość miejscowych nawrotów w ciągu 5 lat wyniosła 1,8%. Odsetki te były różne w zależności od podtypu nowotworu i wahały się od 0,8% (95% przedział ufności [PU] 0,3-2,2%) dla podtypu luminalnego A i 1,5% (95% PU 0,2-10%) dla podtypu luminalnego B do 8,4% (95% PU 2,2-30%) dla podtypu HER2 i 7,1% (95% PU 3,0-16%) dla podtypu podstawnego.³⁶ Voduc i wsp.³⁷ wyróżnili wśród nowotworów piersi rozpoznanych u 2985 kobiet raki luminalne A, luminalne B, HER2 dodatnie, podstawne i niepodstawne potrójnie receptorowo ujemne na podstawie analizy ER, PR, Ki-67, HER2, receptora naskórkowego czynnika wzrostu i cytokeratyny 5/6. W okresie obserwacji, którego mediana wyniosła 12 lat, raki podtypu HER2 i podstawnego wiązały się ze znacznie większym ryzykiem miejscowego nawrotu po BCT.³⁷ Żadna z uczestniczek tych badań nie otrzymywała uzupełniająco trastuzumabu, choć właściwe leczenie ukierunkowane przeciw HER2 mogłoby zapewnić poprawę miejscowej wyleczalności w odniesieniu do nowotworów podtypu HER2.³⁸

Profilowanie ekspresji genów

Profilowanie ekspresji genów oparte na analizie metodą mikromacierzy ułatwiło badanie związków między ekspresją wielu genów a powstawaniem miejscowego nawrotu po leczeniu z powodu raka piersi. Kreike i wsp.¹² oceniali zależność między profilami ekspresji genów pierwotnych raków piersi a nawrotem po BCT w grupie 165 chorych. Po okresie obserwacji, którego mediana trwała 3 lata, u 56 chorych doszło do miejscowego nawrotu, a u 109 nie stwierdzano nawrotu przez co najmniej 10 lat. Autorzy wykazali różnicę w profilu ekspresji genów między przypadkami, w których doszło do nawrotu po BCT, a tymi, w których nawrót nie nastąpił. Na podstawie klasyfikatora miejscowego nawrotu udało się właściwie przewidzieć 77% wszystkich nawrotów (ryc. 3). Geny związane z proliferacją charakteryzowała silniejsza ekspresja w przypadku raków, w przebiegu których doszło do nawrotu po BCT. Natomiast w analizie wieloczynnikowej przeprowadzonej przez autorów tego badania wiek chorych ponownie okazał się jedynym niezależnym czynnikiem pozwalającym przewidzieć miejscowy nawrót. Stwierdzono

również znamiennej zależność między charakterystyką molekularną raka piersi a występowaniem miejscowych nawrotów. Nowotwory z profilem ekspresji genów przypominającym typowego raka piersi, a także większość nowotworów luminałnych A cechowało małe ryzyko miejscowych nawrotów, w przeciwieństwie do często nawracających raków luminałnych B i raków HER2. Dane te pochodzą z czasów przed wprowadzeniem do leczenia trastuzumabu i mogą nie w pełni odnosić się do współczesnych grup chorych.

Nuyten i wsp.¹³ oceniali na podstawie analizy metodą mikromacierzy profile ekspresji genów, które – jak wykazali wcześniej – pozwalały przewidzieć przeżycie wolne od przerzutów i przeżycie całkowite. Obecnie wykorzystano je w celu przewidywania miejscowych nawrotów u chorych poddanych operacji oszczędzającej pierś oraz RT. Posłużono się sygnaturą ekspresji genu odpowiedzi ze strony rany,³⁹ profilem rokowniczym złożonym z 70 genów³ oraz profilem niedotlenienia.⁴⁰ Tylko pierwsza z tych sygnatur okazała się znamiennej związana z prawdopodobieństwem miejscowego nawrotu.

Wspomniana wcześniej metoda RS umożliwia określenie ryzyka wystąpienia w przyszłości przerzutów odległych u chorych bez przerzutów w węzłach chłonnych, leczonych tamoksyfenem z powodu raka piersi z ekspresją ER. Wiarygodność tej metody oceniano w niezależnych badaniach.⁴ Mamounas i wsp.¹⁴ przeprowadzili ostatnio badanie zależności między RS a ryzykiem nawrotu loko-regionalnego (loco-regional recurrence, LRR) u chorych na raka piersi z ekspresją ER. Kobiety te uczestniczyły w dwóch badaniach National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP B-14 i B-20). Stwierdzono, że wśród chorych leczonych tamoksyfenem powstanie LRR znamiennej wiązało się z grupą ryzyka RS. W analizie wieloczynnikowej punktacja w RS była niezależnym znamienym czynnikiem pozwalającym przewidzieć LRR, obok wieku chorych i rodzaju pierwotnego leczenia (mastektomia lub operacja oszczędzająca pierś połączona z RT).

Ograniczeniem omówionych badań jest retrospektywny charakter analiz. Ich wyniki wymagają zatem uwiarygodnienia w innych grupach chorych, a najlepiej potwierdzenia w prospektywnych badaniach randomizowanych, takich jak Young Boost Trial (<http://clinicaltrials.gov/show/NCT00212121>). W tym prowadzonym obecnie badaniu uczestniczą chore w wieku poniżej 51 lat. Są one przydzielane losowo do grupy, w której po BCT stosuje się RT w dawce standardowej (50 Gy WBI i eskalacja dawki o 16 Gy) lub do grupy większej eskalacji dawki całkowitej (50 Gy WBI i eskalacja dawki o 26 Gy). Autorzy tego badania gromadzą zamrożone preparaty nowotworów, które pozwolą na prospektywną ocenę wiarygodności określonych wcześniej profilów ekspresji genu.

PRZEWIDYWANIE MIEJSCOWYCH NAWROTÓW PO MASTEKTOMII

Czynniki ryzyka: kliniczne i histopatologiczne

Wyodrębniono kilka czynników ryzyka wystąpienia miejscowego nawrotu raka piersi u chorych po mastektomii. Wśród nich dobrze znana jest rola występowania przerzutów w węzłach chłonnych pachowych oraz wielkości pierwotnego guza.¹ Jednoczynnikowa analiza wyników uzyskanych u uczestniczek randomizowanych badań 82b i c, przeprowadzonych przez Danish Breast Cancer Cooperative Group, wykazała, że czynnikami ryzyka powstania LRR są zaawansowanie pierwotnego ogniska nowotworu, rozpoznanie raka przewodowego w badaniu histopatologicznym, wysoki stopień złośliwości nowotworu, naciekanie powięzi, niewielka liczba usuniętych węzłów chłonnych, występowanie przerzutów w wielu węzłach oraz naciekanie poza torebkę węzła.⁴¹ Jagsi i wsp.⁴² przeanalizowali retrospektywnie grupę 877 chorych na raka piersi bez przerzutów w węzłach chłonnych, poddanych mastektomii, u których nie przeprowadzono uzupełniającego napromieniania. Niezależnymi czynnikami ryzyka wystąpienia LRR okazały się wielkość pierwotnego ogniska nowotworu >2 cm, szerokość marginesu chirurgicznego <2 mm, stan przed menopauzą i zajęcie naczyń chłonnych. Po 10 latach LRR stwierdzono u 1,2% chorych nieobciążonych żadnym czynnikiem ryzyka, 10% obciążonych pojedynczym czynnikiem ryzyka, 17,9% obciążonych dwoma i 40,6% obciążonych 3 czynnikami ryzyka. Ściana klatki piersiowej stanowiła lokalizację nawrotu u 80% chorych.⁴² Ważnym czynnikiem ryzyka miejscowego nawrotu po mastektomii okazał się też, choć nie we wszystkich badaniach, młody wiek chorych,⁴³ uznawany za główny czynnik ryzyka nawrotu po BCT.^{1,18,44-47}

Wskaźniki immunohistochemiczne i podtypy molekularne

Ważnymi czynnikami pozwalającymi przewidzieć odpowiedź na hormonoterapię i leczenie ukierunkowane na HER2 są statusy ekspresji ER, PR i HER2. Analiza przeprowadzona podczas duńskich badań 82b i c wykazała zwiększone ryzyko miejscowego nawrotu po mastektomii u chorych na raka potrójnie receptorowo ujemnego, raka niewykazującego ekspresji ER i PR oraz raka HER2-dodatniego w porównaniu z ryzykiem obserwowanym w przypadku nowotworów cechujących się innymi kombinacjami receptorowymi.⁴⁸ Korzystny wpływ na przeżycie całkowite związany z RT uzupełniająca mastektomię u uczestniczek tego badania był wyraźniejszy u chorych na lepiej rokujące nowotwory podtypów luminałnych. Voduc i wsp.³⁷ obserwowali

większe ryzyko miejscowego i regionalnego nawrotu po mastektomii wśród chorych na raka piersi o podtypie luminalnym B, podtypie luminalnym z ekspresją HER2, podtypie HER2 oraz podtypie podstawnym. W przedstawionych badaniach analizowano wyniki uzyskiwane u chorych leczonych w latach 80. ubiegłego wieku, gdy leczenie systemowe nie odbiegało od standardów obowiązujących dzisiaj. Jednym z pytań, na które ma odpowiedzieć badanie Selective Use of Postoperative Radiotherapy after Mastectomy (SUPREMO) prowadzone przez Medical Research Council/European Organisation for Research and Treatment of Cancer (MRC/EORTC), jest to, czy czynniki takie jak ekspresja HER2 nadal mają niekorzystny wpływ na miejscową wyleczalność, przy uwzględnieniu stosowanego obecnie leczenia systemowego.⁴⁹

Profilowanie ekspresji genów

Cheng i wsp. oceniali profil pozwalający przewidzieć miejscowy nawrót raka piersi u chorych po mastektomii, u których nie wdrożono uzupełniającej RT.⁵⁰ Przeanalizowano wyniki uzyskane u 94 kobiet, obserwowanych przez co najmniej 3 lata. W tym czasie LRR rozpoznano w 27 przypadkach, natomiast w pozostałych 67 nie stwierdzono miejscowego nawrotu. Autorzy wyodrębnili 2 rodzaje profilów ekspresji genów, będące niezależnymi czynnikami pozwalającymi przewidzieć LRR. Jeden z nich składa się z 258 genów, drugi zaś z 34 genów. Za pomocą modelu złożonego z 258 genów można przewidzieć prawdopodobieństwo niewystąpienia miejscowego nawrotu w ciągu 3 lat, przy czym wskaźnik predykcyjny $>0,8$ wyniósł 95%, a wskaźnik predykcyjny $\leq 0,8$ 46%. Model złożony z 34 genów pozwala przewidzieć różnicę w prawdopodobieństwie miejscowego wyleczenia w ciągu 3 lat, przy czym wartość wskaźnika predykcyjnego $>0,8$ wyniosła 91%, a wskaźnika predykcyjnego $\leq 0,8$ 40%. Szlaki przemian odpowiadające tym sygnałom wiążą się ze śmiercią komórki, cyklem komórkowym i proliferacją, replikacją i naprawą DNA oraz odpowiedzią immunologiczną.

PRZEWIDYWANIE MIEJSCOWEGO NAWROTU PO BCT W PORÓWNIANIU DO MASTEKTOMII

Występowanie utkania raka przewodowego *in situ* jest czynnikiem ryzyka miejscowego nawrotu raka piersi po BCT, lecz nie po mastektomii. Młody wiek chorych jest niekorzystnym czynnikiem pozwalającym przewidzieć miejscowy nawrót po BCT, natomiast rola tego czynnika po mastektomii okazała się zmienna w różnych badaniach. Liczba węzłów chłonnych z przerzutami jest znamienym czynnikiem ryzyka u chorych po

mastektomii. Rozpoznanie raka zrazikowego uznano za czynnik ryzyka miejscowego nawrotu po mastektomii, lecz nie po BCT.⁵¹

Odkrycie rozmaitych podtypów raka piersi, klasyfikowanych na podstawie wyników badań immunohistochemicznych i analiz metodą mikromacierzy, ujawniło, że każdy z nich wiąże się z odmiennym rokowaniem. Po uwiarygodnieniu tych wyników w badaniach prospektywnych dostępna stanie się nowa strategia przewidywania przebiegu choroby umożliwiająca w większym niż obecnie stopniu indywidualizowany dobór właściwego leczenia.

WRAŻLIWOŚĆ NA RT

Po operacji oszczędzającej pierś niemal wszystkie chore są napromieniane, natomiast po mastektomii zastosowanie RT jest wskazane w wybranej grupie przypadków charakteryzujących się pośrednim lub dużym stopniem ryzyka. Stwierdzono, że RT zmniejsza częstość występowania miejscowego nawrotu u 60-70% wszystkich chorych, choć bardzo prawdopodobne, że różne typy raka piersi odmiennie reagują na napromienianie. Promieniowrażliwość może być zatem czynnikiem ryzyka. Miejscowy nawrót rozwija się w następstwie pozostawienia komórek nowotworowych po operacji w połączeniu z opornością tychże komórek na napromienianie. Z tego powodu przydatne jest zrozumienie mechanizmów wrażliwości i oporności na RT.

Naprawa pęknięć w podwójnym łańcuchu DNA

Jedną z ważnych cech określających wrażliwość na działanie promieniowania jest zdolność komórek do naprawy pęknięć w podwójnym łańcuchu DNA. W naprawie uszkodzeń DNA, w tym pęknięć podwójnego łańcucha w następstwie RT, uczestniczą białka BRCA1 i BRCA2. Mutacje zarodkowe genów *BRCA1/2* zaburzają tę naprawę. Opublikowano wyniki kilku badań retrospektywnych, w których oceniano ryzyko miejscowego nawrotu nowotworu u nosicielek mutacji genów *BRCA1/2*.⁵²⁻⁵⁴ Są one niejednoznaczne, prawdopodobnie z powodu zastosowania różnych metod adiuwantowego leczenia systemowego oraz w zależności od tego, czy chore poddawano usunięciu przydatków. Pierce i wsp.⁵⁵ ocenili ogółem 160 nosicielek mutacji *BRCA1/2* chorych na raka piersi, które porównali z dobranymi 445 chorymi na sporadycznego raka piersi, stanowiącymi grupę kontrolną. U wszystkich chorych zastosowano BCT. Po 10 i 15 latach obserwacji nie stwierdzono znamienych różnic w częstości występowania nawrotu raka piersi między grupą nosicielek mutacji a grupą kontrolną (odpowiednio u 12 i 24% w grupie nosicielek mutacji i u 9 i 17%

chorych z grupy kontrolnej, $p=0,19$). Analiza wieloczynnikowa ujawniła, że status genów *BRCA1/2* nie pozwala przewidzieć ryzyka miejscowego nawrotu po stronie pierwotnego ogniska nowotworu. Natomiast po wykluczeniu z analizy chorych poddanych operacji usunięcia jajników status genów *BRCA1/2* okazał się niezależnym czynnikiem przepowiadającym nawrót raka (iloraz zagrożeń 1,99, $p=0,04$).⁵⁵ Trzeba dodać, że trudno odróżnić kolejne, niezależne ognisko pierwotnego raka piersi od rzeczywistego nawrotu nowotworu po leczeniu oszczędzającym piersi.

W dwóch badaniach oceniono promieniowrażliwość raków powstałych w następstwie mutacji genów *BRCA1/2* na podstawie działań niepożądanych RT zastosowanej po BCT. Grupę badaną tworzyły chore na raka piersi z mutacjami genów *BRCA1/2*, a grupę kontrolną chore na raka sporadycznego.^{56,57} W obu badaniach uczestniczyły łącznie 202 kobiety z mutacjami *BRCA1/2*, a wczesne i późne następstwa RT były u nich zbliżone do obserwowanych w przypadkach nowotworu sporadycznego.^{56,57} Prawidłowe komórki somatyczne są heterozygotyczne pod względem zmienionego genu, natomiast w komórkach nowotworowych utrata heterozygotyczności jest bardziej prawdopodobna i powinny one być wrażliwsze na działanie promieniowania.

Badania *in vitro*

W kilku badaniach oceniano sygnatury ekspresji genu związane z promieniowrażliwością w liniach komórkowych. Amundsen i wsp.⁵⁸ porównywali całkowitą ekspresję genu i parametry przeżycia po napromienianiu. Oparto się na 60 liniach komórkowych wykorzystywanych w badaniach leków przeciwnowotworowych przez National Cancer Institute w Stanach Zjednoczonych (NCI60), wśród których 5 było liniami komórkowymi raka piersi. Stwierdzono, że niektóre zapoczątkowane przez działanie promieniowania zmiany w ekspresji genów wiążą się z parametrami przeżycia po napromienianiu, a podstawowa ekspresja genu przed napromienianiem może stanowić czynnik przewidujący wrażliwość na radioterapię.

Opracowano też klasyfikację ekspresji genów, pozwalającą przewidzieć reakcje tkanek prawidłowych na działanie promieniowania. Rodningen i wsp.⁶⁰ zgromadzili profile ekspresji genów pochodzące z linii komórkowych fibroblastów uzyskanych od chorych na raka piersi, w których nastąpiło lub nie nastąpiło nasilone zwłóknienie popromienne. W warunkach *in vitro* fibroblasty napromieniano według różnych schematów. Po 24 godzinach od podania ostatniej frakcji napromieniania izolowano RNA. Stwierdzono, że klasyfikator złożony z 18 genów może być wykorzystany jako czyn-

nik predykcyjny ryzyka zwłóknienia popromiennego. W dwóch innych dużych badaniach nie potwierdzono jednak wartości wrażliwości fibroblastów na działanie promieniowania jako czynnika przepowiadającego zwłóknienie tkanek po RT.^{61,62}

Badania *in vivo*

Helland i wsp.⁶³ oceniali molekularne podstawy odpowiedzi na RT w materiale uzyskanym z 19 raków piersi. Wycinki pobrano drogą biopsji przed napromienianiem oraz po 10 frakcjach radioterapii dawką 2 Gy. W celu wyłonienia genów odpowiadających za odpowiedź na działanie promieniowania posłużono się analizą ekspresji genów przeprowadzoną metodą mikromacierzy. Stwierdzono znamienne pobudzenie przez RT kilku genów uczestniczących w regulacji cyklu komórkowego i naprawie DNA. Kreike i wsp.¹² wykazali, że profile ekspresji genów komórek pierwotnego nowotworu i nawrotu powstałego po napromienianiu były bardzo podobne.

Nie opracowano dotąd żadnego profilu pozwalającego przewidzieć wrażliwość raka piersi na RT. Trwa badanie prowadzone jednocześnie w Netherlands Cancer Institute, Institut Gustave Roussy i Karolinska Institute, którego uczestniczki przebyły napromienianie przed operacją (Preoperative Accelerated Partial Breast Irradiation trial, informacje dostępne na stronie <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01024582>). Odpowiedź na RT będzie oceniana wraz z profilem ekspresji genów komórek nowotworowych. Być może pozwoli to wykryć w warunkach *in vivo* profile przepowiadające wrażliwość na napromienianie, które okażą się przydatne w praktyce klinicznej. Opracowanie wiarygodnego profilu promieniowrażliwości wymaga połączenia omówionych wcześniej danych pochodzących z badań *in vitro* z wynikami badań klinicznych określających geny, których ekspresja odpowiada za reakcję na RT i uzyskiwane wyniki leczenia.

PODSUMOWANIE

Czynniki ryzyka powstania miejscowego nawrotu mogą odegrać znaczącą rolę w podejmowaniu decyzji o wyborze metody leczenia u chorych na raka piersi. Decyzję tę można zoptymalizować po określeniu grup chorych obciążonych wysokim ryzykiem nawrotu. Obecnie odbywa się to głównie na podstawie czynników klinicznych, histopatologicznych oraz kilku wskaźników immunohistochemicznych. Badania dotyczące profilowania ekspresji genów mogą wyjaśnić różnice w rokowaniu, ryzyku wystąpienia miejscowego nawrotu i odpowiedzi na zastosowanie różnych metod leczenia (uzupełniającego leczenia systemowego i RT). Z uwagi jednak na zmienność podtypów raka piersi i masy nowotworu pozostałe

po operacji opracowanie rzetelnych profilów predykcyjnych jest złożone. Tylko określenie profilów pozwalających przewidzieć wystąpienie miejscowego nawrotu oraz odpowiedź na leczenie systemowe i RT ułatwi właściwy dobór leczenia dla poszczególnych chorych na raka piersi.

© 2012 Elsevier Inc. This article from Seminars in Radiation Oncology 2012,22:100-107 Predictive Factors for Local Recurrence in Breast Cancer by Femke van der Leij, Paula H.M. Elkhuizen, Harry Bartelink, Marc J. van de Vijver is translated and reprinted with permission of Elsevier.

PIŚMIENNICTWO

- Clarke M, Collins R, Darby S, et al: Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: An overview of the randomised trials. *Lancet* 366:2087-2106, 2005.
- Bartelink H, Horiot JC, Poortmans PM, et al: Impact of a higher radiation dose on local control and survival in breast-conserving therapy of early breast cancer: 10-Year results of the randomized boost *versus* no boost EORTC 22881-10882 trial. *J Clin Oncol* 25:3259-3265, 2007.
- van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al: A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 347:1999-2009, 2002.
- Paik S, Shak S, Tang G, et al: A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 351:2817-2826, 2004.
- Wang Y, Klijn JG, Zhang Y, et al: Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet* 365:671-679, 2005.
- Liu R, Wang X, Chen GY, et al: The prognostic role of a gene signature from tumorigenic breast-cancer cells. *N Engl J Med* 356:217-226, 2007.
- van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al: Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 415:530-536, 2002.
- Buyse M, Loi S, Van't Veer L, et al: Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 98:1183-1192, 2006.
- Mook S, Schmidt MK, Viale G, et al: The 70-gene prognosis-signature predicts disease outcome in breast cancer patients with 1-3 positive lymph nodes in an independent validation study. *Breast Cancer Res Treat* 116:295-302, 2009.
- Mook S, van't Veer LJ, Rutgers EJ, et al: Individualization of therapy using Mammaprint: From development to the MINDACT trial. *Cancer Genomics Proteomics* 4:147-155, 2007.
- Zujewski JA, Kamin L: Trial assessing individualized options for treatment for breast cancer: The TAILORx trial. *Future Oncol* 4:603-610, 2008.
- Kreike B, Halfwerk H, Armstrong N, et al: Local recurrence after breast-conserving therapy in relation to gene expression patterns in a large series of patients. *Clin Cancer Res* 15:4181-4190, 2009.
- Nuyten DS, Kreike B, Hart AA, et al: Predicting a local recurrence after breast-conserving therapy by gene expression profiling. *Breast Cancer Res* 8:R62, 2006.
- Mamounas EP, Tang G, Fisher B, et al: Association between the 21-gene recurrence score assay and risk of locoregional recurrence in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer: Results from NSABP B-14 and NSABP B-20. *J Clin Oncol* 28:1677-1683, 2010.
- Fourquet A, Campana F, Zafrani B, et al: Prognostic factors of breast recurrence in the conservative management of early breast cancer: A 25-year follow-up. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 17:719-725, 1989.
- Veronesi U, Marubini E, Del Vecchio M, et al: Local recurrences and distant metastases after conservative breast cancer treatments: Partly independent events. *J Natl Cancer Inst* 87:19-27, 1995.
- Elkhuizen PH, van de Vijver MJ, Hermans J, et al: Local recurrence after breast-conserving therapy for invasive breast cancer: High incidence in young patients and association with poor survival. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 40:859-867, 1998.
- Fowble BL, Schultz DJ, Overmoyer B, et al: The influence of young age on outcome in early stage breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 30:23-33, 1994.
- Borger J, Kemperman H, Hart A, et al: Risk factors in breast-conservation therapy. *J Clin Oncol* 12:653-660, 1994.
- Schnitt SJ, Abner A, Gelman R, et al: The relationship between microscopic margins of resection and the risk of local recurrence in patients with breast cancer treated with breast-conserving surgery and radiation therapy. *Cancer* 74:1746-1751, 1994.
- Park CC, Mitsumori M, Nixon A, et al: Outcome at 8 years after breast-conserving surgery and radiation therapy for invasive breast cancer: Influence of margin status and systemic therapy on local recurrence. *J Clin Oncol* 18:1668-1675, 2000.
- Jones HA, Antonini N, Hart AA, et al: Impact of pathological characteristics on local relapse after breast-conserving therapy: A subgroup analysis of the EORTC boost *versus* no boost trial. *J Clin Oncol* 27:4939-4947, 2009.
- Werkhoven E, Hart G, Tinteren H, et al: Nomogram to predict ipsilateral breast relapse based on pathology review from the EORTC 22881-10882 boost *versus* no boost trial. *Radiother Oncol* 100:101-107, 2011.
- Gage I, Schnitt SJ, Nixon AJ, et al: Pathologic margin involvement and the risk of recurrence in patients treated with breast-conserving therapy. *Cancer* 78:1921-1928, 1996.
- Esteva FJ, Hortobagyi GN: Prognostic molecular markers in early breast cancer. *Breast Cancer Res* 6:109-118, 2004.
- Payne SJ, Bowen RL, Jones JL, et al: Predictive markers in breast cancer—The present. *Histopathology* 52:82-90, 2008.
- 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* 365:1687-1717, 2005.
- Ahlin C, Aaltonen K, Amini RM, et al: Ki67 and cyclin A as prognostic factors in early breast cancer. What are the optimal cut-off values? *Histopathology* 51:491-498, 2007.
- Colozza M, Azambuja E, Cardoso F, et al: Proliferative markers as prognostic and predictive tools in early breast cancer: Where are we now? *Ann Oncol* 16:1723-1739, 2005.
- Jung SY, Han W, Lee JW, et al: Ki-67 expression gives additional prognostic information on St. Gallen 2007 and adjuvant! Online risk categories in early breast cancer. *Ann Surg Oncol* 16:1112-1121, 2009.
- de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, et al: Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: A meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer* 96:1504-1513, 2007.
- Elkhuizen PH, Voogd AC, van den Broek LC, et al: Risk factors for local recurrence after breast-conserving therapy for invasive carcinomas: A case-control study of histological factors and alterations in oncogene expression. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 45:73-83, 1999.
- Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al: Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:8418-8423, 2003.
- Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M, et al: Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:9212-9217, 1999.
- Dawood S, Hu R, Homes MD, et al: Defining breast cancer prognosis based on molecular phenotypes: Results from a large cohort study. *Breast Cancer Res Treat* 126:185-192, 2011.
- Nguyen PL, Taghian AG, Katz MS, et al: Breast cancer subtype approximated by estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2 is associated with local and distant recurrence after breast-conserving therapy. *J Clin Oncol* 26:2373-2378, 2008.
- Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, et al: Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol* 28:1684-1691, 2010.
- Kiess AP, McArthur HL, Mahoney K, et al: Adjuvant trastuzumab reduces locoregional recurrence in women who receive breast-conservation therapy for lymph node-negative, human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer. *Cancer* 2011 Sep 1 [Epub ahead of print].
- Chang HY, Nuyten DS, Sneddon JB, et al: Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:3738-3743, 2005.
- Chi JT, Wang Z, Nuyten DS, et al: Gene expression programs in response to hypoxia: Cell type specificity and prognostic significance in human cancers. *PLoS Med* 3:e47, 2006.
- Nielsen HM, Overgaard M, Grau C, et al: Locoregional recurrence after mastectomy in high-risk bre-

ast cancer—Risk and prognosis. An analysis of patients from the DBCG 82 b&c randomization trials. *Radiother Oncol* 79:147-155, 2006.

42. Jagsi R, Raad RA, Goldberg S, et al: Locoregional recurrence rates and prognostic factors for failure in node-negative patients treated with mastectomy: Implications for postmastectomy radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 62:1035-1039, 2005.
43. de Bock GH, van der Hage JA, Putter H, et al: Isolated loco-regional recurrence of breast cancer is more common in young patients and following breast conserving therapy: Long-term results of European organisation for research and treatment of cancer studies. *Eur J Cancer* 42:351-356, 2006.
44. Fredholm H, Eaker S, Frisell J, et al: Breast cancer in young women: Poor survival despite intensive treatment. *PLoS ONE* 4:e7695, 2009.
45. Willner J, Kiricuta IC, Kölbl O: Locoregional recurrence of breast cancer following mastectomy: Always a fatal event? Results of univariate and multivariate analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 37:853-863, 1997.
46. Taghian AG, Jeong JH, Mamounas EP, et al: Low locoregional recurrence rate among node-negative breast cancer patients with tumors 5 cm or larger treated by mastectomy, with or without adjuvant systemic therapy and without radiotherapy: Results from five national surgical adjuvant breast and bowel project randomized clinical trials. *J Clin Oncol* 24:3927-3932, 2006.
47. de la Rochefordiere A, Asselain B, Campana F, et al: Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet* 341:1039-1043, 1993.
48. Kyndi M, Sørensen FB, Knudsen H, et al; The Danish breast cancer cooperative group: Estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer. *J Clin Oncol* 26:1419-1426, 2008.
49. Kunkler IH, Canney R, van Tienhoven G, et al: Elucidating the role of chest wall irradiation in “intermediate-risk” breast cancer: The MRC/EORTC SUPREMO trial. *Clin Oncol R (Coll Radiol)* 20:31-34, 2008.
50. Cheng SH, Horng CF, West M, et al: Genomic prediction of locoregional recurrence after mastectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 24:4594-4602, 2006.
51. Voogd AC, Nielsen M, Peterse JL, et al: Differences in risk factors for local and distant recurrence after breast-conserving therapy or mastectomy for stage I and II breast cancer: Pooled results of two large European randomized trials. *J Clin Oncol* 19:1688-1697, 2001.
52. Garcia-Etienne CA, Barile M, Gentilini OD, et al: Breast-conserving surgery in BRCA1/2 mutation carriers: Are we approaching an answer? *Ann Surg Oncol* 16:3380-3387, 2009.
53. Robson M, Levin D, Federici M, et al: Breast conservation therapy for invasive breast cancer in Ashkenazi women with BRCA gene founder mutations. *J Natl Cancer Inst* 91:2112-2117, 1999.
54. Haffty BG, Harrold E, Khan AJ, et al: Outcome of conservatively managed early-onset breast cancer by BRCA1/2 status. *Lancet* 359:1471-1477, 2002.
55. Pierce LJ, Levin AM, Rebbeck TR, et al: Ten-year multi-institutional results of breast-conserving surgery and radiotherapy in BRCA1/2-associated stage I/II breast cancer. *J Clin Oncol* 24:2437-2443, 2006.
56. Pierce LJ, Strawderman M, Narod SA, et al: Effect of radiotherapy after breast-conserving treatment in women with breast cancer and germline BRCA1/2 mutations. *J Clin Oncol* 18:3360-3369, 2000.
57. Shanley S, McReynolds K, Ardern-Jones A, et al: Late toxicity is not increased in BRCA1/BRCA2 mutation carriers undergoing breast radiotherapy in the United Kingdom. *Clin Cancer Res* 12:7025-7032, 2006.
58. Amundson SA, Do KT, Vinikoor LC, et al: Integrating global gene expression and radiation survival parameters across the 60 cell lines of the National Cancer Institute anticancer drug screen. *Cancer Res* 68:415-424, 2008.
59. Torres-Roca JF, Eschrich S, Zhao H, et al: Prediction of radiation sensitivity using a gene expression classifier. *Cancer Res* 65:7169-7176, 2005.
60. Rødningen OK, Børresen-Dale AL, Alsner J, et al: Radiation-induced gene expression in human subcutaneous fibroblasts is predictive of radiation-induced fibrosis. *Radiother Oncol* 86:314-320, 2008.
61. Russell NS, Grummels A, Hart AA, et al: Low predictive value of intrinsic fibroblast radiosensitivity for fibrosis development following radiotherapy for breast cancer. *Int J Radiat Biol* 73:661-670, 1998.
62. Peacock J, Ashton A, Bliss J, et al: Cellular radiosensitivity and complication risk after curative radiotherapy. *Radiother Oncol* 55:173-178, 2000.
63. Helland A, Johnsen H, Frøyland C, et al: Radiation-induced effects on gene expression: An *in vivo* study on breast cancer. *Radiother Oncol* 80:230-235, 2006.