

Tradycyjne markery molekularne i odpowiedź na adiuwantową hormonoterapię lub leczenie oparte na trastuzumabie

Giuseppe Viale, Mariacristina Ghioni, Mauro G. Mastropasqua

Current Opinion in Oncology 2010, 22: 541–546.

Dr Viale,

Department of Pathology and Laboratory Medicine, European Institute of Oncology i University of Milan School of Medicine, Mediolan, Włochy.

Dr Ghioni,

Department of Pathology and Laboratory Medicine, European Institute of Oncology, Mediolan, Włochy.

Dr Mastropasqua,

Department of Pathology and Laboratory Medicine, European Institute of Oncology, Mediolan, Włochy.

Adres do korespondencji:

Professor Giuseppe Viale,
Department of Pathology and Laboratory Medicine,
European Institute of Oncology,
Via Ripamonti 435,
20141 Milan, Italy;
e-mail: giuseppe.viale@ieo.it

CEL PRACY

Dokładna ocena tradycyjnych markerów molekularnych odgrywa kluczową rolę w doborze uzupełniającego leczenia systemowego u chorych na raka piersi. Trwają intensywne badania analizujące możliwość ustalenia prawdopodobieństwa rzeczywistej odpowiedzi terapeutycznej po zastosowaniu różnych metod leczenia w zależności od ekspresji tych markerów.

OSTATNIE ODKRYCIA

Za postać raka piersi potencjalnie wrażliwego na hormonoterapię ostatecznie uznano nowotwór, w którym w co najmniej 1% komórek inwazyjnych występuje ekspresja receptorów estrogenowych. Ilościowa ocena receptorów estrogenowych, progesteronowych (progesterone receptors, PgR), a także wskaźnik proliferacyjny Ki-67, mogą ułatwić dobór chorych na raka z ekspresją receptorów estrogenowych i pozbawionego ekspresji HER2, które mogą uniknąć uzupełnienia hormonoterapii chemioterapią lub odnieść korzyść dzięki chemioterapii. Wydano zalecenia dotyczące optymalnych metod oceny receptorów estrogenowych i PgR, mających służyć pomocą patologom w dokładnej ocenie tych markerów. Nastąpił też postęp w wyłanianiu chorych mających wskazania do leczenia ukierunkowanego przeciw HER2, a także w przewidywaniu odpowiedzi na trastuzumab.

PODSUMOWANIE

Tradycyjne markery molekularne odgrywają istotną rolę w doborze chorych do leczenia systemowego. Ich przydatność w przewidywaniu odpowiedzi na różne metody leczenia jest jednak ograniczona, zwłaszcza jeśli poszczególne markery ocenia się odrębnie.

SŁOWA KLUCZOWE

rak piersi, biologiczne markery przepowiadające, tamoksyfen, trastuzumab, dobór leczenia

WPROWADZENIE

W 2009 r. uczestnicy dyskusji panelowej zespołu ekspertów w St. Gallen^{1••} podkreślili znaczenie tradycyjnych markerów molekularnych w doborze leczenia systemowego u chorych na raka piersi. W zależności od ekspresji lub braku ekspresji receptorów estrogenowych i HER2 w komórkach nowotworu można rozpatrywać różne strategie terapeutyczne, w tym hormonoterapię wyłączną (u chorych na raka z ekspresją receptorów estrogenowych i pozbawionego ekspresji HER2) lub skojarzoną z chemioterapią, wyłączną chemioterapię (u chorych na raka pozbawionego ekspresji receptorów estrogenowych i HER2), a także trastuzumab i chemioterapię w połączeniu lub bez hormonoterapii u chorych na raka z ekspresją HER2. Szczególny nacisk położono na zdefiniowanie grupy chorych, którym należałoby zaproponować skojarzenie hormonoterapii i chemioterapii z powodu raka z wykazaną ekspresją receptorów estrogenowych, a pozbawionego ekspresji HER2. W celu rozwiązania tego problemu uczestnicy spotkania zaproponowali uwzględnienie wielu czynników klinicznych i patomorfologicznych, takich jak ilościowa ocena receptorów estrogenowych i progesteronowych (PgR) oraz wskaźnika proliferacyjnego Ki-67. Ekspresja receptorów estrogenowych i PgR w większym odsetku komórek nowotworu oraz niewielka wartość wskaźnika proliferacyjnego Ki-67 oznaczają względne wskazanie do odstępowania od chemioterapii u chorych, u których wielkość guza pierwotnego jest ograniczona (do 2 cm), stwierdza się stopień złośliwości G1 i nie występują przerzuty w węzłach chłonnych. Natomiast mniejsza ekspresja receptorów estrogenowych i PgR i duże wartości wskaźnika proliferacyjnego Ki-67 przemawiają za skojarzeniem hormonoterapii z chemioterapią. Nadal jednak brakuje jednoznacznych czynników przepowiadających odpowiedź terapeutyczną po zastosowaniu różnych metod leczenia. Jest to jedno z najważniejszych zagadnień, na które powinny odpowiedzieć obecne i przyszłe badania translacyjne.

RECEPTORY ESTROGENOWE I HORMONOTERAPIA

Za odpowiadające na hormonoterapię uznano ostatecznie nowotwory, w których co najmniej 1% komórek inwazyjnych wykazuje ekspresję receptorów estrogenowych. Rozstrzygnięto w ten sposób długo rozpatrywaną kwestię optymalnej wartości progowej, na podstawie której można zdefiniować postać raka piersi z dodatkimi receptorami estrogenowymi.^{1••} Wcześniej wykazano, że taka właśnie wartość progowa pozwala przewidzieć kliniczną korzyść odnoszoną dzięki hormonoterapii (głównie tamoksyfenem).^{2,3} Powyższą wartość uwzględniono również w zaleceniach American Society of Clinical Oncology (ASCO)/College of American Pathologists (CAP) dotyczących badań immunohistochemicznych receptorów estrogenowych i PgR.^{4••}

Obecnie przyjmuje się, że dokładny pomiar odsetka inwazyjnych komórek nowotworu cechujących się ekspresją różnych markerów odgrywa zasadniczą rolę w doborze adekwatnej metody leczenia systemowego. W rzeczywistości, większa ekspresja receptorów estrogenowych (tj. w >50% immunoreaktywnych komórek nowotworu) koreluje z korzystnym wynikiem hormonoterapii, a dodanie chemioterapii nie przynosi znamiennej poprawy. Natomiast chore na raki niereagujące na hormonoterapię lub cechujące się niewielką ekspresją receptorów estrogenowych odnoszą korzyść dzięki zastosowaniu chemioterapii systemowej (w połączeniu lub bez hormonoterapii) w sekwencji neoadiuwantowej, jak również adiuwantowej.⁵

W grupie chorych otrzymujących pierwotnie chemioterapię prawdopodobieństwo uzyskania całkowitej odpowiedzi patologicznej (pathological complete response, pCR) było większe w przypadkach raka pozbawionego ekspresji receptorów estrogenowych w porównaniu do przypadków nowotworu cechującego się nasiloną ekspresją tych receptorów (w >50% komórek immunoreaktywnych).^{6•} Przeprowadzono także ponowną analizę (przy medianie czasu obserwacji wynoszącej 13 lat) odległych wyników dwóch badań International Breast Cancer Study Group (VII i 12-93) dotyczących leczenia adiuwantowego. Włączono do nich 893 kobiety po menopauzie chore na estrogenozależnego raka piersi, które w ramach leczenia uzupełniającego przydzielono losowo do grupy hormonoterapii skojarzonej z chemioterapią lub do grupy wyłącznej hormonoterapii. Wśród chorych otrzymujących tamoksyfen łącznie z chemioterapią stwierdzono znaczącą redukcję ryzyka zdarzeń związanych z przeżyciem bez objawów nowotworu w przypadkach raka z niewielką ekspresją receptorów estrogenowych. Natomiast u chorych na raka z nasiloną ekspresją receptorów estrogenowych otrzymujących uzupełniające leczenie skojarzone korzyści związane z podaniem chemioterapii były nieznaczne i nieznamienne statystycznie.^{7•}

Warto zauważyć, że ilościowa ocena immunoreaktywności receptorów estrogenowych może dokładniej przewidywać brak korzyści wynikających z dodania chemioterapii do leczenia tamoksyfenem niż oznaczenie stopnia ekspresji wielu genów markerowych. W badaniu Southwest Oncology Group (SWOG) 8814 kobiety po menopauzie chore na raka piersi cechującego się ekspresją receptorów estrogenowych i przerzutami do węzłów chłonnych przydzielono losowo do grupy otrzymującej wyłącznie tamoksyfen lub do grupy leczonej tamoksyfenem w skojarzeniu z cyklofosfamidem, adriamycyną i fluorouracylem (CAF). Chore, u których istniało największe prawdopodobieństwo odniesienia korzyści z dołączenia chemioterapii, wyłoniono za pomocą testu oceniającego ryzyko nawrotu nowotworu na podstawie profilu ekspresji 21 genów. Stwierdzono, że znamienne wydłużenie czasu przeżycia bez objawów nowotworu dzięki dodaniu chemioterapii CAF było ograniczone do chorych obciążonych dużym ryzykiem progresji. Jednak w przypadku chorych na raka cechującego się bardziej

nasiloną ekspresją receptorów estrogenowych (tj. 7 lub 8 punktów w skali Allreda) i pozbawionego ekspresji HER2 dodanie chemioterapii CAF do hormonoterapii nie przyniosło korzyści, niezależnie od wyniku badania 21 genów określającego prawdopodobieństwo nawrotu.^{8••}

Naturalnym wiarygodnym narzędziem oceny stopnia ekspresji receptorów estrogenowych jest analiza immunohistochemiczna. Głównym problemem związanym z tym badaniem jest jednak niejednorodność wyników i niemożność powtarzania go w rutynowej praktyce klinicznej.⁹ Członkowie zespołu ekspertów ASCO/CAP i National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Task Force wydali ostatnio wytyczne mające na celu optymalizację wykonywania badań ekspresji receptora estrogenowego i PgR w celu zwiększenia dokładności i powtarzalności badań immunohistochemicznych.^{4••,10••} Ponownie zwrócono uwagę na konieczność standaryzowania czynności poprzedzających badanie, w tym zapewnienia szybkiego i właściwego utrwalania materiału tkankowego w zbuforowanym roztworze formaliny przez 6-48 godzin. Zaleca się również immunohistochemiczną analizę tylko tych tkanek, które oceniano klinicznie, a także krytyczną ocenę czułości i swoistości wyników znakowania za pomocą odpowiednio dobranych zewnętrznych i wewnętrznych kontroli jakości.

Jeśli ocena stanu ekspresji receptorów estrogenowych nowotworu ma rzeczywiście ułatwić wskazanie chorych wymagających zastosowania hormonoterapii, należy poszukiwać dodatkowych markerów ułatwiających dokładniejsze przewidywanie odpowiedzi na tamoksyfen i inne leki hormonalne. Fosforylacja receptorów estrogenowych w pozycji seryny 118 (receptor estrogenowy alfa S118-P) jest niezbędna w celu zależnego od tamoksyfen hamowania indukowanej aktywności receptora estrogenowego ekspresji genów. Zależność między przeżyciem bez progresji nowotworu po leczeniu tamoksyfenem a ekspresją receptora estrogenowego alfa S118-P oceniano metodami immunohistochemicznymi (immunohistochemistry, IHC) w grupie 239 kobiet przed menopauzą chorych na raka piersi uczestniczących w randomizowanym badaniu, podczas którego w jednej z grup przez 2 lata podawano tamoksyfen, a w drugiej nie stosowano leczenia systemowego.¹¹ Korzystny wpływ adiuwantowego podawania tamoksyfeny obserwowano u chorych z nasiloną ekspresją receptora estrogenowego alfa S118-P (iloraz zagrożeń nawrotom 0,36, 95% przedział ufności [PU] 0,20-0,65). Nie stwierdzono natomiast korzyści u chorych na raki wykazujące niewielką ekspresję tego receptora (iloraz zagrożeń nawrotom 0,87, 95% PU 0,51-1,48). Różnica była znamienna statystycznie (p dla interakcji 0,037). W grupie chorych nieleczonych ekspresji receptora estrogenowego alfa S118-P nie towarzyszyło wydłużenie czasu przeżycia bez nawrotu nowotworu. Wydaje się zatem, że ekspresja tego receptora wiąże się z odpowiedzią na leczenie tamoksyfenem.

Kontrowersje budzi prognostyczne i predykcyjne znaczenie koaktywatora 1 receptora estrogenowego, powielanego w raku piersi (AIB1).^{12••,13••,14••} Analiza

immunohistochemiczna, podczas której porównano materiał pobrany od 349 uczestniczek randomizowanego badania przydzielonych losowo do grupy tamoksyfeny lub do grupy kontrolnej niezależnie od stanu receptorów estrogenowych, wykazała znamienne lepszą odpowiedź na leczenie tamoksyfenem w przypadku raka z ekspresją receptorów estrogenowych i bardziej nasiloną ekspresją AIB1 ($p=0,002$). Sugeruje to, że nasiloną ekspresją AIB1 jest niezależnym czynnikiem przepowiadającym lepszą odpowiedź na tamoksyfen, przy czym ocena AIB1 nie pozwala jednak przewidzieć oporności na ten lek. Również w badaniu przeprowadzonym z udziałem bardzo niewielkiej liczby chorych, otrzymujących pierwotnie hormonoterapię eksemestanem, większej ekspresji AIB1 towarzyszyła lepsza odpowiedź na leczenie.

ANTYGEN Ki-67

Antygen Ki-67 jest najlepszym markerem immunohistochemicznej oceny frakcji komórek raka piersi ulegających proliferacji. Ostatnio potwierdzono jego znaczenie prognostyczne u chorych nieleczonych adiuwantowo.^{15••} Uczestnicy dyskusji panelowej w St. Gallen uznali Ki-67 za jeden z najbardziej przydatnych parametrów ułatwiających wybór adiuwantowego leczenia systemowego dla chorych na raki hormonozależne i pozbawione ekspresji HER2.^{1••} Zwłaszcza zwiększone wartości wskaźnika proliferacyjnego Ki-67 (>30%) są względnym wskazaniem do wdrożenia hormonoterapii skojarzonej z chemioterapią. Znaczenie wskaźnika Ki-67 w przewidywaniu odpowiedzi na pierwotną chemioterapię pozostaje jednak przedmiotem dyskusji. W rzeczywistości, w badaniu przeprowadzonym z udziałem 175 chorych poddanych chemioterapii neoadiuwantowej wyjściowe oznaczenie wartości wskaźnika proliferacyjnego Ki-67 nie okazało się niezależnym czynnikiem pozwalającym przewidzieć odpowiedź zarówno kliniczną, jak i patologiczną.^{16•} Natomiast w innym badaniu w grupie 783 chorych otrzymujących pierwotnie chemioterapię stwierdzono wyraźną zależność między wartością Ki-67 a pCR.^{17•} Autorzy tego badania wykorzystali wskaźnik proliferacyjny Ki-67 wraz z receptorami estrogenowymi, PgR i liczbę kursów chemioterapii do opracowania nomogramu pozwalającego przewidzieć prawdopodobieństwo uzyskania pCR po leczeniu neoadiuwantowym.

Wśród chorych leczonych adiuwantowo docetaksemem wartość wskaźnika proliferacyjnego Ki-67 korelowała z wydłużeniem czasu przeżycia bez objawów nowotworu w porównaniu do chorych otrzymujących fluorouracyl, epirubicynę i cyklofosamid. Było to badanie przeprowadzone wśród uczestniczek Programmes d'Actions Concertées du Seine 01, chorych na raka piersi z ekspresją receptorów estrogenowych.^{18••}

Bez wątpliwości jednak rzeczywista wartość prognostyczna i predykcyjna wskaźnika proliferacyjnego Ki-67 będzie w pełni wykorzystana dopiero po przyjęciu wspólnego stanowiska w sprawie optymalnego znakowania

i standaryzacji oceny wyników. Działania w tym kierunku zapoczątkował już utworzony komitet, sponsorowany przez Breast International Group i North American Breast Cancer Group.

EKSPRESJA HER2 I LECZENIE UKIERUNKOWANE PRZECIWIW HER2

Leczenie ukierunkowane przeciw HER2 poprawia przeżycie chorych na raka piersi z ekspresją HER2 bez względu na to, czy jest stosowane neoadiuwantowo,^{19,20} adiuwantowo,²¹ czy u chorych z przerzutami.²²⁻²⁶ Dostępne badania służące ocenie ekspresji HER2 to IHC w kierunku nadmiernej ekspresji białek i hybrydyzacja *in situ* (*in-situ* hybridization, ISH) w kierunku amplifikacji genu. W celu zwiększenia dokładności testów ISH opracowano techniki specjalne ISH, takie jak chromogeniczna hybrydyzacja *in situ* (chromogenic *in-situ* hybridization, CISH) oraz hybrydyzacja *in situ* ze wzmocnieniem sygnału związkami srebra (silver-enhanced *in-situ* hybridization, SISH). Ich wykorzystanie pozwala na uniknięcie trudności wynikających z analizy ciemnego pola preparatów w ocenie fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (fluorescent *in-situ* hybridization, FISH), ułatwia też korelację wyników badań z morfologicznymi cechami nowotworu. Metody te są już dostępne na rynku.²⁷ Uzyskane dzięki nim wyniki cechuje duża zgodność z wynikami FISH, a ponadto badania można wielokrotnie powtarzać w różnych laboratoriach.^{28,29}

Ciekawe spostrzeżenie przyniosły badania poświęcone zaburzeniom w chromosomie 17 obserwowanym w rakach piersi, klasyfikowanych na podstawie ISH jako nowotwory z polisomią. Posługując się alternatywnymi testami molekularnymi, wykazano, że prawdziwa polisomia chromosomu 17 jest w rakach piersi niezwykle rzadka, a w znacznej większości nowotworów uznawanych za polisomiczne na podstawie wyników ISH w rzeczywistości dochodzi do pojawienia się dodatkowych sekwencji lub powielenia regionu centromerowego chromosomu 17.^{30,31,32} Wobec tego stosunek między liczbą kopii genu *HER2* a sygnałami odpowiadającymi regionowi centromeru może być parametrem niewystarczającym w celu wykrycia wszystkich nowotworów cechujących się powieleniem genu *HER2*. W praktyce raki z amplifikacją genu *HER2* i jednoczesnym powieleniem regionu centromerowego chromosomu 17 mogą zostać uznane za polisomiczne, a chore za niekwalifikujące się do leczenia ukierunkowanego przeciw HER2. W celu uniknięcia zaniżonej oceny amplifikacji genu *HER2* w takich sytuacjach zaleca się uznawanie za raki HER2-dodatnie wszystkich nowotworów wykazujących średnio ponad 6 sygnałów odpowiadających HER2, niezależnie od liczby sygnałów odpowiadających centromerowi chromosomu 17. Testy ISH ujawniające średnio 4-6 sygnałów odpowiadających kopiom genu *HER2* należy uznać za niejednoznaczne, a sposób leczenia wybrać na podstawie występowania lub braku zwiększonej ekspresji białka HER2, oznaczonego metodą IHC.³³

Ostateczne leczenie ukierunkowane przeciw HER2 przynosi korzyść u ograniczonego odsetka chorych. Obecnie wiele badań ukierunkowanych jest na opracowanie metod pozwalających na określenie takich chorych, a także chorych z pierwotną lub nabytą opornością na działanie trastuzumabu i innych leków, dla których punktem uchwytu jest HER2. Na powstanie oporności wpływa kilka czynników, w tym nierównomierny rozkład nadmiernej ekspresji lub amplifikacji genu *HER2* w obrębie nowotworu, ekspresja skróconej cząsteczki białka HER2, aktywacja cząsteczek sygnałowych położonych dalej na szlaku przekazywania sygnałów HER2, zmniejszenie lub utrata aktywności *PTEN* oraz jednoczesne powielenie *c-Myc*.

Wewnętrzna niejednorodność nadmiernej ekspresji lub amplifikacji *HER2* w obrębie nowotworu (heterogenność genetyczna, za którą uznaje się rozpoznanie amplifikacji genu w 5-50% inwazyjnych komórek nowotworu)³⁴ występuje stosunkowo rzadko i budzi coraz większe zainteresowanie z uwagi na potencjalne znaczenie w praktyce klinicznej. W rzeczywistości może być jedną z przyczyn rozbieżnych wyników oceny stanu HER2 w tkance nowotworu pobranej drogą biopsji gruboigłowej (core needle biopsy, CNB) w porównaniu z uzyskanymi po badaniu tkanek usuniętych w trakcie operacji, a także po porównaniu mikromacierzy tkankowych (tissue microarray, TMA) z przekrojami tkankowymi tego samego nowotworu. Podczas badania oceniającego 500 przypadków raka piersi wyniki ekspresji genu *HER2*, określanej metodą IHC, były w 45 rakach (9%) odmienne w CNB i odpowiadających tkankach usuniętych podczas operacji.³⁵ Po porównaniu przekrojów całej usuniętej tkanki z TMA metodą FISH udokumentowano heterogenność genetyczną w 30-40% nowotworów z odpowiednio znacznym i nieznacznym powieleniem genu *HER2*.³⁶ Co więcej, niejednorodność tkanki nowotworu może wpływać na odpowiedź na leczenie ukierunkowane przeciw HER2. W badaniu z udziałem 142 chorych na raka piersi z ekspresją HER2, otrzymujących neoadiuwantowo chemioterapię i jednocześnie trastuzumab, amplifikacja genu *HER2* ustąpiła u ośmiu (32%) spośród 25 chorych, u których przetrwałe ognisko nowotworu było wystarczająco duże, aby je powtórnie oceniać. Zaproponowano, że zmiany ekspresji HER2 mogą odzwierciedlać heterogenność nowotworów. W takich przypadkach trastuzumab skutecznie eliminuje klony komórek z ekspresją HER2, a po zakończeniu leczenia pozostają jedynie klony komórek pozbawione ekspresji HER2. Heterogenność genetyczna może też odpowiadać za odmienną ekspresję HER2 w pierwotnych ogniskach nowotworu i w przerzutach. Z tego powodu, gdy tylko to możliwe warto wykonać biopsję ogniska przerzutowego w celu potwierdzenia ekspresji HER2.³⁸

Aby ocenić korelację między odpowiedzią na leczenie trastuzumabem a intensywnością immunoreaktywności HER2 lub nasileniem amplifikacji genu, w ośrodku centralnym badania HERceptin Adjuvant (HERA) dokonano ponownej analizy tkanek nowotworowych uzyskanych od 2071 uczestniczek doświadczenia

przydzielonych do grupy leczonej trastuzumabem lub do grupy leczonej bez tego leku.³⁹ Nie udowodniono zmniejszenia korzyści wynikających ze stosowania trastuzumabu u chorych na raka cechującego się niejednoznacznością immunoreaktywnością (2+) i amplifikacją genu w badaniu FISH. Ponadto nasilenie amplifikacji genu *HER2* (oceniane zarówno na podstawie liczby kopii genu, jak i stosunku liczby kopii genu do liczby sygnałów odpowiadających centromerowi chromosomu 17) nie wpływało na wyniki leczenia ani na korzyści odnoszone dzięki adiuwantowemu podawaniu trastuzumabu. Co ciekawe, ocena przeprowadzona w centralnym laboratorium badania National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-31 wykazała skuteczność leczenia trastuzumabem również w przypadkach, w których nie występowała ekspresja *HER2*.⁴⁰ Przyczyną tego może być zarówno niejednorodność ekspresji *HER2* w obrębie nowotworu, widoczna podczas oceny różnych obszarów guza przeprowadzanej w ośrodkach uczestniczących w badaniu i w ośrodku centralnym, albo nieoczekiwany mechanizm działania trastuzumabu u chorych na raka bez ekspresji *HER2*.

Stan receptorów hormonalnych może też korelować z zakresem korzyści wynikających z leczenia trastuzumabem. W badaniu HERA obserwowano nieco większą skuteczność takiego postępowania u chorych na raka pozabawionego ekspresji receptorów hormonalnych (iloraz zagrożeń 0,52, 95% PU 0,39-0,69) w porównaniu z obserwowaną u chorych na raka odpowiadającego na hormonoterapię (iloraz zagrożeń 0,61, 95% PU 0,38-1,00).⁴¹

Uważa się, że z mechanizmem oporności na trastuzumab wiąże się ekspresja p95-*HER2*, odmiany cząsteczki *HER2* z krótszą domeną zewnątrzkomórkową, w której brakuje miejsca wiązania trastuzumabu. Te skrócone formy białka *HER2* występują w 30% raków piersi z ekspresją genu *HER2* i powstają w wyniku skracania proteolitycznego domeny zewnątrzkomórkowej *HER2* lub dzięki rozpoczęciu procesu translacji mRNA dla *HER2* w innym locus, co zdarza się częściej. Skrócone formy *HER2* zachowują aktywność kinazy i sprzyjają progresji nowotworu nawet silniej niż *HER2* pełnej długości.⁴²•• Badania przeprowadzone ostatnio w liniach komórkowych i obogatunkowych przeszczepach nowotworów z nadmierną ekspresją p95-*HER2* wykazały, że farmakologiczne hamowanie białka szoku

ciepłego HSP90 powstrzymuje wzrost nowotworu. Świadczy to o możliwości wykorzystania inhibitorów HSP90 w leczeniu chorych na raki odporne na działanie trastuzumabu, ponieważ w nowotworach tych zachodzi ekspresja p95-*HER2*.⁴³ Jest jednak mało prawdopodobne, by ekspresja skróconych receptorów p95-*HER2* wpływała na odpowiedź na alternatywne leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej *HER2*. Udokumentowano to w retrospektywnej analizie wyników z badań chorych na zaawansowanego raka piersi (nieleczonych lub otrzymujących wcześniej chemioterapię i trastuzumab), u których zastosowano lapatynib w monoterapii lub w skojarzeniu z kapecytabiną. W obu przypadkach lapatynib był równie skuteczny u chorych na nowotwór z ekspresją p95-*HER2*, jak i na nowotwór pozabawiony tego receptora.⁴⁴

PODSUMOWANIE

Jednym z najtrudniejszych wyzwań stojących przed autorami badań translacyjnych i klinicznych jest możliwość przewidywania odpowiedzi chorych na raka piersi na leczenie. W doborze chorych do leczenia systemowego główną rolę odgrywają tradycyjne markery, przy czym ich przydatność w przewidywaniu odpowiedzi na różne metody postępowania jest jednak ograniczona, zwłaszcza jeśli wyniki oznaczeń są interpretowane pojedynczo. Dalsze badania należałoby poświęcić wartości przepowiadającej tradycyjnych markerów w interpretacji łącznej, co pozwala na bardziej wszechstronną ocenę biologicznych cech komórek nowotworu.⁴⁵ Bardziej spektakularne testy molekularne oparte na profilowaniu ekspresji genów są już dostępne i mogą uzupełnić informacje uzyskane dzięki oznaczaniu już uznanych markerów.⁴⁶ Można oczekiwać, że wspólna ocena cech klinicznych, tradycyjnych markerów oraz profilów ekspresji genów ułatwi indywidualny dobór optymalnego leczenia dla chorych na raka piersi.

Tłumaczenie oryginalnej angielskiej wersji artykułu z *Current Opinion in Oncology*, November 2010, 22 (6): 541-546, wydawanego przez Lippincott Williams & Wilkins. Lippincott Williams & Wilkins nie ponosi odpowiedzialności za błędy powstałe w wyniku tłumaczenia ani nie popiera i nie poleca jakichkolwiek produktów, usług lub urządzeń.

PIŚMIENNICTWO

- szczególnie interesujące
- wyjątkowo interesujące

1 Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer. *Ann Oncol* 2009;20:1319-1329.

•• Podsumowanie zaleceń uczestników dyskusji panelowej zespołu ekspertów w zakresie leczenia chorych na wczesnego raka piersi, dotyczących znaczenia markerów molekularnych w doborze leczenia systemowego.

2 Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:1474-1481.

3 Viale G, Regan MM, Maiorano E, et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed expression of estrogen and progesterone receptors in a randomized trial comparing letrozole and tamoxifen adjuvant therapy for postmenopausal early breast cancer: BIG 1-98. *J Clin Oncol* 2007;25:3846-3852.

4 Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28:2784-2795.

•• Zwrócono uwagę na ważne zagadnienia przed i w trakcie analiz immunohistochemicznych i przedstawiono zalecenia mające na celu optymalizację wykonywania tych badań oraz interpretacji ich wyników.

- 5 Colleoni M, Viale G, Goldhirsch A. Lessons on responsiveness to adjuvant systemic therapies learned from the neoadjuvant setting. *Breast* 2009;18:S137–S140.
- 6 Colleoni M, Bagnardi V, Rotmensz N, et al. Increasing steroid hormone receptors expression defines breast cancer subtypes non responsive to preoperative chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2009;116:359–369.
- U chorych na raki z nasiloną ekspresją receptorów estrogenowych (>50% komórek immunoreaktywnych) zastosowanie pierwotnej chemioterapii nie pozwala na uzyskanie dużego odsetka pCR.
- 7 Pagani O, Gelber S, Simoncini E, et al. Is adjuvant endocrine therapy of benefit for postmenopausal women who receive endocrine treatment for highly endocrine-responsive, node-positive breast cancer? International Breast Cancer Study Group Trials VII and 12-93. *Breast Cancer Res Treat* 2009;116:491–500.
- W okresie obserwacji, którego mediana wyniosła 13 lat, korzystny wpływ uzupełnienia hormonoterapii chemioterapią był odwrotnie proporcjonalny do nasilenia ekspresji receptorów estrogenowych.
- 8 Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with nodepositive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11:55–65.
- Korzystny wpływ dodania chemioterapii do leczenia tamoksyfenem jest ograniczony do chorych obciążonych dużym ryzykiem nawrotu. Ekspresja receptorów estrogenowych pozostaje jednak ważnym czynnikiem przewidyującym, ponieważ jej ocena ilościowa połączona z punktacją określającą prawdopodobieństwo nawrotu na podstawie oceny 21 genów może zwiększyć wartość przewidyującą.
- 9 Nkoy FL, Hammond ME, Rees W, et al. Variable specimen handling affects hormone receptor test results in women with breast cancer: a large multihospital retrospective study. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:606–612.
- 10 Allred DC, Carlson RW, Berry DA, et al. NCCN Task Force Report: estrogen receptor and progesterone receptor testing in breast cancer by immunohistochemistry. *J Natl Compr Canc Netw* 2009;7:S1–S21.
- Podkreślono znaczenie przewidywające receptorów estrogenowych i PgR oraz przedstawiono zalecenia zmierzające do poprawienia jakości oceny immunohistochemicznej tych markerów.
- 11 Kok M, Holm-Wigerup C, Hauptmann M, et al. Estrogen receptor-alpha phosphorylation at serine-118 and tamoxifen response in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1725–1729.
- 12 Lahusen T, Henke RT, Kagan BL, et al. The role and regulation of the nuclear receptor co-activator AIB1 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009;116:225–237.
- Wszelstronna analiza mechanizmów, za pośrednictwem których rozregulowanie AIB1 na wielu poziomach może prowadzić do zapoczątkowania i progresji raka piersi. Skupiono się też na roli AIB1 jako czynnika pozwalającego przewidzieć odpowiedź na leczenie systemowe.
- 13 Yamashita H, Takahashi S, Ito Y, et al. Predictors of response to exemestane as primary endocrine therapy in estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Sci* 2009;100:2028–2033.
- Pierwsze doniesienie poświęcone roli AIB1 w przewidywaniu odpowiedzi na leczenie eksemestanem. Uzyskane wyniki wymagają potwierdzenia w większej grupie chorych.
- 14 Alkner S, Bendahl PO, Grabau D, et al. AIB1 is a predictive factor for tamoxifen response in premenopausal women. *Ann Oncol* 2010;21:238–244.
- W przeciwieństwie do wcześniejszych doniesień wyniki uzyskane w dużej grupie chorych wskazują, że AIB1 pozwala na przewidywanie odpowiedzi na leczenie tamoksyfenem. Wymagają one potwierdzenia w innych badaniach.
- 15 Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM, et al. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol* 2010;11:174–183.
- Analiza dostarczająca wszechstronnych aktualnych danych dotyczących rokowniczej i przewidywającej roli Ki-67. Przedstawiono też technikę laboratoryjną jego oznaczania.
- 16 Jones RL, Salter J, AHern R, et al. Relationship between oestrogen receptor status and proliferation in predicting response and long-term outcome to neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;119:315–323.
- Wykazano, że jedynym niezależnym parametrem rokowniczym pCR był w badanej grupie stan ekspresji HER2.
- 17 Colleoni M, Bagnardi V, Rotmensz N, et al. A nomogram based on the expression of Ki-67, steroid hormone receptors status and number of chemotherapy courses to predict pathological complete remission after preoperative chemotherapy for breast cancer. *Eur J Cancer* 2010;46:2216–2224.
- Stwierdzono, że połączenie cech klinicznych i patologicznych pozwala lepiej przewidzieć pCR po pierwotnej chemioterapii niż ocena pojedynczych parametrów.
- 18 Penault-Llorca F, André F, Sagan C, et al. Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2809–2815.
- Badanie retrospektywne, w którym po raz pierwszy wykazano związek między wskaźnikiem Ki-67 i odpowiedzią na leczenie docetaksem chorych na nowotwory wrażliwe na hormonoterapię.
- 19 Untch M, Rezaei M, Loibl S, et al. Neoadjuvant treatment with trastuzumab in HER2-positive breast cancer: results from the GeparQuattro study. *J Clin Oncol* 2010;28:2024–2031.
- 20 Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab *versus* neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet* 2010;375:377–384.
- 21 Joensuu H, Bono P, Kataja V, et al. Fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide with either docetaxel or vinorelbine, with or without trastuzumab, as adjuvant treatments of breast cancer: final results of the FinHer Trial. *J Clin Oncol* 2009;27:5685–5692.
- 22 Kaufman B, Mackey JR, Clemens MR, et al. Trastuzumab plus anastrozole *versus* anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM study. *J Clin Oncol* 2009;27:5529–5537.
- 23 Finn RS, Press MF, Dering J, et al. Estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), and epidermal growth factor receptor expression and benefit from lapatinib in a randomized trial of paclitaxel with lapatinib or placebo as first-line treatment in HER2-negative or unknown metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:3908–3915.
- 24 Kaufman B, Trudeau M, Awada A, et al. Lapatinib monotherapy in patients with HER2-overexpressing relapsed or refractory inflammatory breast cancer: final results and survival of the expanded HER2+ cohort in EGF103009, a phase II study. *Lancet Oncol* 2009;10:581–588.
- 25 Capri G, Chang J, Chen SC, et al. An open-label expanded access study of lapatinib and capecitabine in patients with HER2-overexpressing locally advanced or metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2010;21:474–480.
- 26 Sutherland S, Ashley S, Miles D, et al. Treatment of HER2-positive metastatic breast cancer with lapatinib and capecitabine in the lapatinib expanded access programme, including efficacy in brain metastases: the UK experience. *Br J Cancer* 2010;102:995–1002.
- 27 Penault-Llorca F, Bilous M, Dowsett M, et al. Emerging technologies for assessing HER2 amplification. *Am J Clin Pathol* 2009;132:539–548.
- Przegląd omawiający testy CISH i SISH, w tym zalecenia dotyczące oceny wyników oraz analizy zgodności z FISH i analizą immunohistochemiczną.
- 28 Gong Y, Sweet W, Duh YJ, et al. Performance of chromogenic *in situ* hybridization on testing HER2 status in breast carcinomas with chromosome 17 polysomy and equivocal (2+) herceptest results: a study of two institutions using the conventional and new ASCO/CAP scoring criteria. *Am J Clin Pathol* 2009;132:228–336.
- Wieloośrodkowe badanie, w którym stwierdzono znaczny (>98%) odsetek zgodności testów CISH z FISH oraz dużą (>98%) powtarzalność wyników między poszczególnymi laboratoriami. Analiza CISH jest zatem wiarygodnym narzędziem oceny stanu ekspresji HER2 w raku piersi.
- 29 Bartlett JM, Campbell FM, Ibrahim M, et al. Chromogenic *in situ* hybridization: a multicenter study comparing silver *in situ* hybridization with FISH. *Am J Clin Pathol* 2009;132:514–520.
- Wieloośrodkowe badanie ukazujące dobrą korelację (>96%) testów SISH i FISH, potwierdzające zatem wiarygodność SISH w oznaczaniu HER2.
- 30 Marchio C, Lambros MB, Gugliotta P, et al. Does chromosome 17 centromere copy number predict polysomy in breast cancer? A fluorescence *in situ* hybridization and microarray-based CGH analysis. *J Pathol* 2009;219:16–24.
- Pierwszy opis nabywania lub powielania regionu centromeru chromosomu 17 w niemal wszystkich nowotworach uznanych za polisomiczne na podstawie wyników FISH. Odkrycie to ma ważny wpływ na dokładność oceny ekspresji HER2.
- 31 Yeh I-T, Martin MA, Robetorye RS, et al. Clinical validation of an array CGH test for HER2 status in breast cancer reveals that polysomy 17 is a rare event. *Mod Pathol* 2009;22:1169–1175.
- Potwierdzono wyniki wcześniejszego badania i uznano prawdziwą polisomię chromosomu 17 w raku piersi za rzadką.
- 32 Moelans CB, de Weger RA, van Diest PJ. Absence of chromosome 17 polysomy in breast cancer: analysis by CEP17 chromogenic *in situ* hybridization and multiplex ligation-dependent probe amplification. *Breast Cancer Res Treat* 2010;120:1–7.
- Wykorzystano inny test, ale dokonano podobnego odkrycia: polisomia chromosomu 17 jest rzadka, a zawyżanie częstości jej występowania na podstawie wyników testów ISH może powodować błędną ocenę stanu genu HER2.
- 33 Viale G. Be precise! The need to consider the mechanisms for CEP17 copy number changes in breast cancer. *J Pathol* 2009;219:1–2.

- 34 Vance GH, Barry TS, Bloom KJ, et al. Genetic heterogeneity in HER2 testing in breast cancer: panel summary and guidelines. *Arch Pathol Lab Med* 2009;133:611–612.
- 35 Lebeau A, Turzynski A, Braun S, et al. Reliability of human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemistry in breast core needle biopsies. *J Clin Oncol* 2010;28:3264–3270.
- 36 Brunelli M, Manfrin E, Martignoni G, et al. Genotypic intratumoral heterogeneity in breast carcinoma with HER2/neu amplification. *Am J Clin Pathol* 2009;131:678–682.
- 37 Mittendorf EA, Wu Y, Scaltriti M, et al. Loss of HER2 amplification following trastuzumab-based neoadjuvant systemic therapy and survival outcomes. *Clin Cancer Res* 2009;15:7381–7388.
- Oceniano, czy niejednorodność nasilonej ekspresji lub powielenia HER2 może odpowiadać za dobór klonów komórek pozbawionych HER2 podczas leczenia trastuzumabem.
- 38 Simmons C, Miller N, Geddie W, et al. Does confirmatory tumor biopsy alter the management of breast cancer patients with distant metastases? *Ann Oncol* 2009;20:1499–1504.
- 39 Dowsett M, Procter M, McCaskill-Stevens W, et al. Disease-free survival according to degree of HER2 amplification for patients treated with adjuvant chemotherapy with or without 1 year of trastuzumab: the HERA Trial. *J Clin Oncol* 2009;27:2962–2969.
- Badanie dostarczyło zaskakujących wyników wykazujących, że stopień powielenia genu nie koreluje z zakresem korzyści wynikających z leczenia trastuzumabem.
- 40 Paik S, Kim C, Jeong J, et al. Benefit from adjuvant trastuzumab may not be confined to patients with IHC 3+ and/or FISH-positive tumors: central testing results from NSAB B-31 [abstract]. *J Clin Oncol* 2007;25:511.
- 41 Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *New Engl J Med* 2005;353:1659–1672.
- 42 Pedersen K, Angelini P-D, Laos S, et al. A naturally occurring HER2 carboxy-terminal fragment promotes mammary tumor growth and metastases. *Mol Cell Biol* 2009;29:3319–3331.
- Charakterystyka biologicznych cech skróconych wariantów HER2, ze szczególnym uwzględnieniem onkogennej roli fragmentu 611.
- 43 Chandralapaty S, Scaltriti M, Angelini P, et al. Inhibitors of HSP90 block p95-HER2 signaling in trastuzumab-resistant tumors and suppress their growth. *Oncogene* 2010;29:325–334.
- 44 Scaltriti M, Chandralapaty S, Prudkin L, et al. Clinical benefit of lapatinib-based therapy in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive breast tumors coexpressing the truncated p95HER2 receptor. *Clin Cancer Res* 2010;16:2688–2695.
- Wykazano, że ze względu na dostępność większej liczby leków ukierunkowanych przeciw HER2 należy wybierać metodę leczenia opierając się na nowych czynnikach przepowiadających.
- 45 Millar EK, Graham PH, O'Toole SA, et al. Prediction of local recurrence, distant metastases, and death after breast-conserving therapy in early-stage invasive breast cancer using a five-biomarker panel. *J Clin Oncol* 2009;27:4701–4708.
- 46 Albain KS, Paik S, van't Veer L. Prediction of adjuvant chemotherapy benefit in endocrine responsive, early breast cancer using multigene assays. *Breast* 2009;18:S141–S145.

KOMENTARZ



Dr hab. n. med.
Tadeusz Pięnkowski
*Klinika Nowotworów Piersi
i Chirurgii Rekonstrukcyjnej,
Centrum Onkologii
– Instytut
im. Marii Skłodowskiej-Curie,
Warszawa*

Wybór leczenia uzupełniającego u chorych na raka piersi jest uzależniony od dwóch grup czynników. Pierwsza z nich opisuje rozległość oraz zakres zmian nowotworowych i tradycyjnie jest ujmowana w klasyfikacji TNM. Drugą grupą czynników o charakterze predykcyjnym są biologiczne cechy raka określone tradycyjnie metodami immunohistochemicznymi. Szerokie zastosowanie tych metod jest związane z niewielkim kosztem tych oznaczeń i możliwością ich przeprowadzenia w większości laboratoriów histopatologicznych. Tradycyjnie metodą tą jest oznaczana ekspresja receptora estrogenowego, progesteronowego i receptora HER2. Oznaczenia immunohistochemiczne mogą być zastosowane również do określenia innych parametrów, np. ekspresji wskaźnika proliferacji Ki-67. W przypadku receptora HER2 w praktyce klinicznej znajduje również zastosowanie technika polegająca na oznaczeniu liczby kopii genu *HER2* w komórce.

Na podstawie wyników tych badań inwazyjne raki piersi można podzielić na raki z dodatnim odczynem receptora w kierunku estrogenów, raki z nadmierną ekspresją receptora HER2 oraz raki niezawierające receptora estrogenowego ani progesteronowego, ale z fizjologiczną zawartością receptora HER2 (tzw. raki trójreceptorowo ujemne).

W przypadku oznaczeń immunohistochemicznych ogromny problem stwarza uzyskanie powtarzalności wyników między

pracownikami. Problem ten od wielu lat absorbuje zarówno patomorfologów, jak i klinicystów. Ukazały się ostatnio rekomendacje ASCO i amerykańskiego towarzystwa patomorfologów opisujące szczegółowo procedury konieczne w celu uzyskania wiarygodnych wyników. Rekomendacje dotyczą zagadnień związanych z utrwalaniem tkanek, rodzajem stosowanych przeciwciał oraz koniecznością prowadzenia wewnętrznych kontroli jakości. Warto podkreślić, że sam fakt stwierdzenia dodatniego odczynu receptora estrogenowego nie jest równoznaczny ze stwierdzeniem czynności tego receptora. Sytuację ponadto komplikuje fakt, że funkcjonują dwa receptory estrogenowe, alfa i beta, a ponadto receptor alfa niefosforyzowany, który nie jest czynnikiem prognostycznym ani predykcyjnym. Mimo ustalenia międzynarodowych rekomendacji oznaczania i raportowania tych wyników wiele pracowni nie stosuje się do tych zaleceń i powtarzalność wyników jest niezadowalająca. W codziennej praktyce klinicznej stosowane są liczne sposoby opisu wyniku i oznaczeń tych receptorów, co praktycznie uniemożliwia porównywanie wyników uzyskanych w różnych pracowniach. Najwłaściwsze jest podawanie odsetku wybarwionych komórek lub stosowanie oznaczeń receptorów według skali Allreda.

Metodyka oznaczeń immunohistochemicznych i fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* receptora HER2 oraz jego genu u chorych na raka piersi była przedmiotem ustaleń gremium klinicystów i patomorfologów. Wypracowane procedury zapewniają dużą powtarzalność tych oznaczeń. Ustalono również zasady raportowania wyników, dzięki czemu dane z różnych pracowni mogą być między sobą porównywane.

Kolejnym problemem o fundamentalnym znaczeniu jest przyjęcie wartości granicznych, które pozwoliłyby zakwalifikować poszczególne nowotwory do raków hormonozależnych, hormononiezależnych, HER2 dodatnich i receptorowo potrójnie ujemnych.

Raki z nadmierną ekspresją receptora estrogenowego i raki HER2 dodatnie są identyfikowane na podstawie występowania odczynów umownie przyjętych za dodatnie. Za raki trójreceptorowo ujemne uznaje się te, w których nie stwierdza się takich odczynów. Jest to istotna różnica metodologiczna. Umownie przyjęto, że do trójreceptorowo ujemnych zaliczane są raki, w których wybarwienie w kierunku receptorów estrogenowego i progesteronowego wystąpiło w mniej niż 1% komórek, a zawartość receptora HER2 oceniono jako fizjologiczną. W tym przypadku oznacza to ujemny wynik badania FISH lub odczyn immunohistochemiczny oceniony jako 0 lub 1+.

Czy stwierdzenie dodatniego odczynu w kierunku receptorów estrogenowych w więcej niż 1% komórek wystarcza, by uznać raka za hormonozależnego, a występowanie takiego odczynu w np. 2% komórek jest wskazaniem do rekomendowania leczenia hormonalnego? Przez wiele lat kliniczne rekomendacje zakładały zasadność stosowania leczenia hormonalnego u chorych z odczynem stwierdzanym w 10-20% komórek, a w przypadku posługiwania się oznaczeniami ilościowymi – u chorych z zawartością białka cytozolu przekraczającą 10 fmol/mg. Z danych pochodzących z badań klinicznych oraz metaanalizy przeprowadzonej przez Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group wynika jednoznacznie, że istnieje zależność między zawartością receptora estrogenowego w komórce lub odsetkiem wybarwianych komórek a wynikiem leczenia hormonalnego. Badania nad hormonalnym leczeniem adiuwantowym wskazują, że w przypadku ekspresji receptora w ponad 50% komórek dołączenie programu CMF do leczenia tamoksyfenem nie przynosi chorym dodatkowych korzyści. Jeśli odsetek wybarwionych komórek nowotworu był mniejszy, dołączenie chemioterapii nie wydłużało znacząco mediany czasu przeżycia chorych. W przypadku chorych, w których rakach stwierdzono mniejszy odsetek wybarwionych komórek, dodatek chemioterapii znacząco wpływał na wydłużenie mediany czasu przeżycia. Podobne wyniki uzyskano w badaniach oceniających leczenie neoadiuwantowe. Metaanaliza przedstawiona w 2005 r. przez zespół z Oxfordu wykazała, że w grupie chorych na raka, u których stężenie receptora było mniejsze niż 10 fmol/mg, leczenie tamoksyfenem nie wydłużało mediany czasu przeżycia wolnego od nowotworu ani mediany czasu przeżycia całkowitego. U chorych, u których stężenie receptora przekraczało 10 fmol/mg, obserwowano zmniejszenie ryzyka nawrotu nowotworu o 40% i zmniejszenie ryzyka zgonu o 34%. Według tych samych danych stężenie receptora estrogenowego przekraczające 100 fmol/mg zmniejszało ryzyko na-

wrotu nowotworu i zgonu z jego powodu w porównaniu z chorymi na raka, w którego komórkach stężenie tego receptora mieściło się w granicach 10-100 fmol/mg.

Wyniki badania SWOG 8814 wskazują, że chorym na raka piersi obfitującego w receptory estrogenowe i z ujemnym odczynem w kierunku receptora HER2 dołączenie programu CAV do leczenia tamoksyfenem nie przynosi dodatkowych korzyści. Podsumowując, odróżnienie raków trójreceptorowo ujemnych od raków hormonozależnych odgrywa bardzo ważną rolę, zastosowanie hormonoterapii jest bowiem uzasadnione jedynie u chorych na raka wrażliwego na działanie leków hormonalnych. Raki trójreceptorowo ujemne rozpoznaje się na podstawie występowania odczynu w kierunku receptora estrogenowego w mniej niż 1% komórek, podczas gdy z klinicznego punktu widzenia uznanie raka piersi za hormonozależny wymaga występowania takiego odczynu w 10-20% komórek lub dodatniego odczynu w skali Allreda.

Zaliczenie raka piersi do grupy nowotworów HER2 dodatnich wymaga wystąpienia odczynu immunohistochemicznego ocenionego na 3+. Odczyn 0 lub 1+ uznaje się za prawidłową ekspresję HER2. Jeśli wynik badania immunohistochemicznego wyniósł 2+, należy oznaczyć amplifikację genu *HER2* metodą FISH. Dodatni wynik tego testu pozwala na zakwalifikowanie raka do grupy z nadmierną ekspresją receptora HER2.

Antygen Ki-67 jest markerem proliferacji. Zdaniem niektórych autorów jego zwiększone wartości pozwalają przewidzieć odpowiedź na chemioterapię. Antygen ten powinien być przedmiotem dalszych badań, ponieważ jak dotąd nie ustalono standardów jego oznaczania.

Ustalenie wskazań do zastosowania leczenia uzupełniającego i wybór metody tego leczenia wymagają oznaczenia ekspresji receptorów estrogenowych, progesteronowych i receptora HER2 u każdej z chorych. Patomorfolodzy powinni wykonywać takie oznaczenia, opierając się na zasadach uznanych na świecie. Konieczne jest porozumienie między patomorfologami a praktykującymi lekarzami pozwalające na właściwą interpretację wyników. Istnieje różnica między stężeniem receptorów estrogenowych, które można uznać za predykcyjne dla hormonoterapii, a przyjętą umownie granicą odcięcia, na podstawie której nowotwór zalicza się do grupy trójreceptorowo ujemnych. Pogłębienie wiedzy o czynnikach predykcyjnych ważnych u chorych na raka piersi wymaga przeprowadzenia dalszych badań. Dużą nadzieję na możliwość bardziej precyzyjnego ustalania rozpoznania stwarza prowadzenie indeksów prognostycznych opartych na analizie ekspresji wybranych genów.