

## **STRESZCZENIE**

Rak piersi jest jednym z najczęstszych nowotworów złośliwych u kobiet. Według danych pochodzących z Krajowego Rejestru Nowotworów spośród wszystkich nowotworów złośliwych rozpoznawanych u kobiet w Polsce około 22% stanowi rak piersi. Raki apokrynowe piersi stanowią od 0,3% do 4% wszystkich raków tego gruczołu i charakteryzują się wyraźnym różnicowaniem apokrynowym w co najmniej 90% komórek nowotworu. Komórki raka, który immunohistochemicznie cechuje się obecnością ekspresji receptora androgenowego (AR+), brakiem ekspresji receptorów estrogenowego (ER-) i progesteronowego (PgR-) oraz obecnością białka HER-2 (HER-2+), w barwieniu hematoksyliną i eozyną często wykazują charakterystyczne cechy morfologiczne komórek apokrynowych. Dodatkową cechą komórek apokrynowych jest obecność silnej ekspresji białka GCDFP-15.

Znaczna rozbieżność w piśmiennictwie częstości występowania apokrynowego raka piersi wynika z braku jednorodnych, powszechnie akceptowanych kryteriów rozpoznania. Dane na temat rokowania w przypadku raków piersi o fenotypie apokrynowym nie są jednoznaczne, ale raki tego typu (o wysokim stopniu złośliwości histologicznej) wiążą się zazwyczaj z niekorzystnym przebiegiem klinicznym. Brakuje jednoznacznych dowodów, czy rokowanie odbiega na niekorzyść od tego cechującego nisko zróżnicowane postaci raka piersi, a rzadkość występowania raka apokrynowego piersi utrudnia wiarygodne porównania oparte na jednorodnych grupach chorych leczonych stosunkowo niedawno.

Celem pracy była ocena charakterystyki morfologicznej i immunofenotypowej apokrynowego raka piersi oraz przeprowadzenie analizy czynników prognostycznych u chorych leczonych z powodu apokrynowego raka piersi.

Przeprowadzone badanie miało charakter retrospektywnej analizy. Ocena mikroskopowa u wszystkich 57 chorych potwierdziła rozpoznanie apokrynowego raka piersi. Rozpoznanie typu apokrynowego raka piersi potwierdzono na podstawie kryteriów morfologicznych (skrawki barwione hematoksyliną i eozyną) oraz dostępnych w piśmiennictwie kryteriów molekularnych (ekspresja receptorów hormonalnych oraz wybranych białek). Ponadto w badanej grupie (w przypadkach, w których był dostępny materiał tkankowy) zweryfikowano stopień zaawansowania (zarówno patologicznego, jak i klinicznego). Dodatkowo wykonano badania immunohistochemiczne (IHC), a w wybranych przypadkach (ocena amplifikacji genu

HER-2) wykorzystano metodę fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH). Powyższe metody wykorzystano do oceny ekspresji:

- receptorów hormonalnych: estrogenowego (ER), progesteronowego (PgR), androgenowego (AR) w jądrach komórek guza,
- białek: receptora naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER-2), GCDFP-15 (ang. *gross cystic disease fluid protein 15*), receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) oraz wybranych białek z grupy filamentów pośrednich (cytokeratyn 5/6 i 8/18) w komórkach guza.

Wyniki oceniano jako oszacowane 10-letnie przeżycie całkowite (OS) i bez objawów nowotworu (DFS). Prawdopodobieństwo przeżyć OS i DFS szacowano przy użyciu metody Kaplana-Meiera, a uzyskane wyniki porównano testem log-rank. W analizie czynników prognostycznych wykorzystano wieloczynnikowy model proporcjonalnego hazardu Coxa. W ocenie zależności pomiędzy badanymi czynnikami stosowano testy: U Manna-Whitneya (dla wartości ciągłych) i  $\chi^2$  Pearsona (dla wartości kategoryzujących).

Wszystkie analizy statystyczne wykonano przy użyciu pakietu STATISTICA v.12 StatSoft Polska Sp. z o.o., przyjmując poziom istotności dla  $p \leq 0,05$ .

Analizowaną grupę stanowiły chore na apokrynowego raka piersi, które w latach 1987-2010 leczone były w Centrum Onkologii Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddziale w Krakowie (COI-OK). Do analizy włączono 57 chorych, u których zweryfikowano typ histologiczny raka piersi stosując jednolite kryteria diagnostyczne, przede wszystkim morfologiczne (zgodnie z definicją określoną w klasyfikacji WHO guzów piersi z 2012 roku). Grupa ta stanowiła 0,5% wszystkich chorych na raka piersi leczonych w wymienionym okresie w Krakowskim Oddziale Centrum Onkologii. Wiek chorych wahał się od 34 do 83 lat i wynosił średnio 58,14 (odchylenie standardowe  $\pm 12,0$ ).

Analiza korelacji czynników morfologicznych i molekularnych apokrynowego raka piersi wykazała korelację pomiędzy: 1) stopniem zajęcia węzłów chłonnych (pN), wielkością guza pierwotnego (pT), obecnością zatorów z komórek raka, natężeniem nacieku limfocytarnego w obrębie nowotworu (TIL), 2) wartością Ki67 i ekspresją cytokeratyn, 3) ekspresją AR i białka GCDFP-15, cytokeratyn, białka HER-2.

W całej badanej grupie średni czas obserwacji wynosił 99,4 miesiąca (mediana 109 miesięcy, zakres 6-285 miesięcy), a oszacowane 5 i 10-letnie odsetki przeżycia wynosiły

odpowiednio: 80,5% i 66,2% (przeżycia całkowite) oraz 78,5% i 62,7% (przeżycia bez objawów nowotworu). W odniesieniu do przeżycia całkowitego (OS) i bez objawów nowotworu (DFS) przeprowadzone zostały analizy jedno- i wielowymiarowe wpływu czynników morfologicznych i molekularnych na wyniki leczenia.

W czasie obserwacji po leczeniu u 8 chorych (14%) stwierdzono rozwój wznowy lokoregionalnej, a u 13 chorych (22,8%) rozwój przerzutów odległych.

Stwierdzono, że niezależnymi czynnikami w odniesieniu do przeżycia całkowitego są: zaawansowanie guza (pT), obecność zatorów z komórek raka, wartość indeksu proliferacyjnego Ki67 oraz brak ekspresji białka GCDFP-15. Natomiast w odniesieniu do przeżycia bez objawów nowotworu takie znaczenie mają: zaawansowanie guza (pT), stan węzłów chłonnych (pN), mikroskopowa doszczętność zabiegu oraz wartość indeksu Ki67. Stwierdzono, że wartość indeksu Ki67  $\geq 20\%$  związana jest z pogorszeniem wyników ponad 6-krotnym dla przeżycia całkowitego i ponad 5-krotnym dla przeżycia bez objawów nowotworu. Brak ekspresji białka GCDFP-15 wiązała się z niemal 6-krotnym zmniejszeniem czasu całkowitego przeżycia. Znaczne zaawansowanie miejscowe nowotworu (pT3-4) wiązało się z niemal 5-krotnym gorszym rokowaniem w odniesieniu do całkowitego czasu przeżycia. Obecność zatorów z komórek raka wpływa na 3-krotne pogorszenie rokowania w odniesieniu do całkowitego czasu przeżycia. Obecność przerzutów w pachowych węzłach chłonnych (cecha pN+) ponad 4-krotnie, a brak doszczętności chirurgicznej niemal 5-krotnie negatywnie wpływają na przeżycia bez objawów nowotworu.

Uzyskane wyniki upoważniły do sformułowania następujących wniosków:

1. Immunofenotypowa charakterystyka apokrynowego raka piersi wskazuje na dominację cech różnicowania apokrynowego (obecność ekspresji receptora androgenowego u 91% chorych oraz białka GCDFP-15 u 94% chorych) i „bazalnego” typu raka piersi (tj. obecności ekspresji badanych cytokeratyn 5/6 u 96% chorych).
2. W apokrynowym raku piersi występuje istotna zależność pomiędzy współwystępowaniem ekspresji: receptora androgenowego, białka GCDFP-15 i cytokeratyn.
3. U chorych na apokrynowego raka piersi niezależnymi czynnikami prognostycznymi są:

- w odniesieniu do przeżycia całkowitego: wielkość guza w piersi (cecha pT), obecność zatorów z komórek nowotworowych, wartość Ki-67  $\geq 20\%$  oraz brak ekspresji białka GCDFP-15;
  - w odniesieniu do przeżycia bez objawów nowotworu: obecność przerzutów w pachowych węzłach chłonnych (pN+), brak doszczętności mikroskopowej podczas operacji oraz wartość Ki-67  $\geq 20\%$ .
4. Wartość wskaźnika proliferacji wyrażona poprzez Ki-67  $\geq 20\%$  jest nie tylko niezależnym czynnikiem prognostycznym, ale również istotnie koreluje z ekspresją cytokeratyn CK5/6.
  5. Korzystne rokowanie u chorych na raka apokrynowego piersi związane jest z małym stopniem zaawansowania lokoregionalnego (pT1-2, pN0-1), który koreluje ze współistnieniem innego korzystnego czynnika prognostycznego, jakim jest brak zatorów z komórek nowotworowych.