

Czynnikami prognostycznymi nazywamy takie elementy (składowe) biologii nowotworu złośliwego, na podstawie których możemy przewidywać prawdopodobny przebieg choroby. W 1994 r. *College of American Pathologists* zaproponował podział tych czynników na trzy grupy. Do grupy pierwszej zakwalifikowano czynniki, których wartość prognostyczna jest w pełni udokumentowana i są one powszechnie uwzględniane w planowaniu dalszego leczenia i określeniu rokowania. W drugiej grupie znalazły się czynniki poddawane obecnie kontrolnym badaniom klinicznym lub badane na zasadzie porównania ich wartości z uznanymi czynnikami prognostycznymi. Trzecią grupę stanowią czynniki niespełniające kryteriów czynników zaliczanych do grupy I i II, których praktyczna wartość prognostyczna nie została dotychczas udokumentowana.

Klasyczne czynniki rokownicze wydają się być niewystarczające do oceny rokowania chorych z rakiem piersi ze względu na różny przebieg kliniczny guzów o podobnych parametrach, stąd potrzeba poszukiwania nowych markerów (grupa II i III) i próba oceny ich przydatności w prognozowaniu. Autorzy dokonali analizy 22 prac opublikowanych w latach 1999–2004. Poddano analizie i przedyskutowano wartość rokowniczą: metaloproteinaz i ich inhibitorów, cykliny D1, E-kadhedryny, katepsyny D, NM-23, tioredoksyny, endonukleaz AP1/Ref1 i AP2, cyklooksygenazy 2, MCM, kalikreiny i P-21.

Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań nad wymienionymi czynnikami są różnicowane. Różnice mogą wynikać ze odmienności badanych populacji oraz z zastosowania innych metod badania poszczególnych grup chorych. Niezbędne wydaje się prowadzenie dalszych badań nad wymienionymi czynnikami w celu potwierdzenia ich wartości rokowniczej oraz badań mogących doprowadzić do wykrycia kolejnych nowoczesnych czynników rokowniczych u chorych na raka piersi.

Słowa kluczowe: rak piersi, czynniki rokownicze, histopatologia.

# Nowe czynniki rokownicze w raku piersi

– przegląd piśmiennictwa

*New prognostic factors in breast cancer;  
review of the literature*

Robert Piotr Pierzchała<sup>1</sup>, Grażyna Pasz-Walczak<sup>2</sup>,  
Arkadiusz Jeziorski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Chirurgii Onkologicznej Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

<sup>2</sup>Zakład Patologii Nowotworów Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Czynnikami prognostycznymi nazywa się takie elementy (składowe) biologii nowotworu złośliwego, na podstawie których można przewidywać prawdopodobny przebieg choroby. W 1994 r. *College of American Pathologists* zaproponował podział tych czynników na 3 grupy [1].

Do grupy pierwszej zakwalifikowano czynniki, których wartość prognostyczna jest w pełni udokumentowana i są one powszechnie uwzględniane w planowaniu dalszego leczenia i określeniu rokowania.

W drugiej grupie znalazły się czynniki poddawane obecnie kontrolnym badaniom klinicznym lub badane na zasadzie porównania ich wartości z uznanymi czynnikami prognostycznymi.

Trzecią grupę stanowią czynniki niespełniające kryteriów czynników zaliczanych do grupy I i II, których praktyczna wartość prognostyczna nie została dotychczas udokumentowana.

*College of American Pathologists* dokonał w 2000 r. weryfikacji czynników prognostycznych i predykcyjnych w raku piersi w oparciu o zgromadzone informacje o ich wartości klinicznej [2]. Za-

proponowano zmodyfikowany wykaz czynników prognostycznych i predykcyjnych, który przedstawia się następująco:

I grupa:

- wielkość guza,
- stan węzłów chłonnych,
- zaawansowanie wg pTNM,
- typ histologiczny,
- stopień złośliwości histologicznej,
- poziom ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych.

II grupa:

- markery proliferacji (MIB 1, faza S cyklu komórkowego),
- poziom amplifikacji HER 2/C-ERBB-2,
- ekspresja P53,
- inwazja komórek nowotworowych do naczyń limfatycznych i krwionośnych.

III grupa:

- nasilenie angiogenezy,
- ekspresja nabłonkowego czynnika wzrostu (*Epithelial Growth Factor EGF*),
- ekspresja transformującego czynnika wzrostu  $\alpha$  (*Transforming Growth Factor  $\alpha$* ),
- ekspresja BCL 2,

*Prognostic factors are features of neoplasm's biology, that allow us to predict the clinical course of the disease. In 1994 the College of American Pathologists proposed dividing prognostic factors into three groups. The first group comprises classic markers, whose prognostic value is fully documented and which are widely used for planning of treatment and evaluation of prognosis. The second group is composed of markers being currently under evaluation in clinical trials. In these trials, new prognostic factors are compared with the classic ones. The third group is composed of markers which do not fulfill criteria of markers from the first and second groups. Prognostic value of markers from the third group has not been documented yet. Classic prognostic factors in breast cancer seem to have a limited value; breast cancers with similar prognostic factors may have different clinical course. Therefore it is necessary to search for new markers, and to evaluate their prognostic value. Twenty two reports published from 1999 to 2004 were analyzed. Authors analyzed and discussed the predictive value of metalloproteinases and their inhibitors, cyclin D1, E-cadherin, cathepsin D, NM-23, thioredoxin, endonucleases AP1/Ref1 and AP2, cyclooxygenase 2, Minichromosome Maintenance (MCM), kallikreins and P21. Published results of studies are not univocal. Differences might be caused by the use of various study populations and different methods of analysis. It seems that further studies on new prognostic factors are warranted.*

*Key words: breast cancer, prognostic features, pathology.*

- ekspresja PS2,
- ekspresja katepsyny D.

Czynniki wymienione wyżej, uważane za klasyczne czynniki rokownicze (grupa I) wydają się być niewystarczające do oceny rokowania chorych z rakiem piersi ze względu na różny przebieg kliniczny guzów o podobnych parametrach, stąd potrzeba poszukiwania nowych markerów i próba oceny ich przydatności w prognozowaniu.

## CZYNNIKI PROGNOSTYCZNE

W ostatnich latach stosunkowo często można spotkać w piśmiennictwie opracowania na temat wpływu ekspresji metaloproteinaz na rokowanie w raku piersi. Metaloproteinazy są grupą 21 enzymów proteolitycznych, odpowiedzialnych za niszczenie składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Występują one zarówno w procesach fizjologicznych, np. dojrzewania gruczołu piersiowego i polaktacyjnej inwolucji czy angiogenezie gojącej się rany, jak i patologicznych, np. w procesach zapalnych [3, 4]. Dzięki zdolności niszczenia błon podstawnych i macierzy zewnątrzkomórkowej, metaloproteinazy mogą sprzyjać wzrostowi guza i jego potencjalnie większym możliwościom dawania przerzutów. Istnieje zatem podejrzenie, że stopień ekspresji metaloproteinaz oraz natężenie tworzenia naczyń mogą być pomocne w określeniu zdolności inwazyjnej komórek nowotworowych i oraz zdolności do tworzenia przez nie przerzutów.

Djonov V. i wsp. [3] próbowali ocenić współzależność ekspresji metaloproteinazy 2 (MMP-2) oraz waskularyzacji guza z klasycznymi czynnikami prognostycznymi, takimi jak wiek, wielkość guza, stan węzłów chłonnych, stopień złośliwości histopatologicznej i poziom ekspresji receptorów estrogenu. Poddano analizie 19 pacjentek z łagodnymi chorobami piersi oraz 75 z rozpoznanym rakiem gruczołu piersiowego, z cze-

go w 45 przypadkach rozpoznano inwazyjne raki przewodowe, w 10 inwazyjne raki zrazikowe, a w pozostałych 20 inne typy raka piersi. Stopień angiogenezy był wyrażony przez gęstość mikronaczyń wewnątrz guza. Ponadto autorzy wprowadzili nowy parametr celem oceny mikroinwazji, który nazwali *vascular grading* (VG), opisujący procentowy udział małych mikronaczyń (poniżej 20  $\mu\text{m}$ ) w całkowitej liczbie naczyń krwionośnych.

Nie znaleziono istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi typami nowotworów złośliwych zarówno jeśli chodzi o ekspresję MMP-2, jak również o stopień waskularyzacji. Autorom nie udało się także znaleźć istotnych statystycznie związków pomiędzy badanymi markerami a klasycznymi czynnikami rokowniczymi. Nie znaleziono również istotnego wpływu ekspresji MMP-2 na czas przeżyć całkowitych i wolnych od choroby. Znaleziono jednak różnicę w VG pomiędzy guzami łagodnymi i złośliwymi, gdzie *vascular grading* był wyższy w grupie pacjentek z nowotworami złośliwymi. Istotna statystycznie zależność została wykazana także pomiędzy VG a poziomem ekspresji MMP-2. Autorzy wnioskujeją zatem, że MMP-2 bierze udział w tworzeniu małych kapilar, a oznaczenie ekspresji metaloproteinazy 2 w komórkach raka piersi może służyć jako wskaźnik indukcji angiogenezy.

Znaczenie dla utrzymania stabilności zewnątrzkomórkowej macierzy oprócz metaloproteinaz mają również ich inhibitory. Znane są co najmniej 4 tkankowe inhibitory metaloproteinaz – TIMP-1, 2, 3, 4 [4].

Nakopoulou L. i wsp. [4] próbowali w swojej pracy prześledzić ekspresję mRNA tkankowego inhibitora metaloproteinazy 1 (*Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1*, TIMP-1) i znaleźć zależność pomiędzy nim a innymi czynnikami rokowniczymi raka piersi oraz czasem przeżycia pacjentek. Badanie przeprowadzono wśród 117 chorych: w 91 przypad-

kach były to raki przewodowe, a w 26 zrazikowe. Wykazano wprawdzie wyższą ekspresję mRNA w typie zrazikowym raka, ale nie było istotnej statystycznie różnicy w porównaniu z typem przewodowym. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy ekspresją mRNA TIMP-1 a innymi czynnikami rokowniczymi, poza współzależnością z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych i ekspresją C-ERBB-2. Stwierdzono również krótszy czas przeżycia u chorych z nadekspresją mRNA TIMP-1.

W kolejnej pracy autorzy podali analizie ekspresję samego TIMP-1 [5] i stwierdzili brak związku pomiędzy jego ekspresją a ekspresją mRNA TIMP-1 oraz brak współzależności pomiędzy poziomami mRNA a aktywnością tego białka. Zarówno w grupie pacjentek z rakiem zrazikowym, jak i przewodowym wyniki były zbliżone. W guzach o wyższym stopniu złośliwości histologicznej wykazywano nadekspresję TIMP-1 w mniejszej liczbie przypadków w porównaniu z chorymi o niższym stopniu złośliwości nowotworu. Z kolei odwrotna zależność była obserwowana przy porównywaniu ekspresji TIMP-1 i nasilenia proliferacji komórkowej wyrażonej ekspresją Ki 67. Co ciekawe, krzywa przeżyć wg Kaplana-Meiera sugerowała dłuższy czas przeżycia wolnego od choroby u pacjentek, u których wykryto ekspresję badanego inhibitora w ponad 30 proc. komórek raka, niż u chorych, u których ekspresja ta występowała w mniej niż w 30 proc. komórek nowotworowych. Podzielono pacjentki na 4 podgrupy rokownicze, w zależności od obecności lub braku ekspresji TIMP-1 i MMP-2. Okazało się, że grupa o najdłuższym przeżyciu wolnym od choroby to chore z ekspresją TIMP-1 i brakiem ekspresji MMP-2, natomiast najgorzej rokowała grupa 38 pacjentek, u których nie wykazano ekspresji obydwu białek. Stąd sugestie autorów, że TIMP-1 może

być niezależnym czynnikiem rokowniczym, a jego nadekspresja może być związana z wydłużeniem czasu wolnego od choroby.

W innej pracy [6] znaleziono zależność pomiędzy inwazją komórek nowotworu do naczyń a ekspresją MMP-1. Podobna zależność była również obserwowana w przypadku MMP-2, TIMP-1 i TIMP-2, choć autorzy analizowali tylko 44 przypadki raka piersi i, jak sami przyznają, konieczne są kolejne badania na większej liczbie pacjentek, celem próby znalezienia zależności pomiędzy udziałem poszczególnych markerów z grupy metaloproteinaz i ich inhibitorów w procesie powstawania przerzutów i nowotworzenia naczyń.

Cyklina D1 nie jest wprawdzie najnowszym czynnikiem rokowniczym, nad którym trwają badania, istotne jest jednak przedstawienie pracy zespołu z Malezji [7]. W badaniu poddano analizie 440 pacjentek z rakiem piersi, z czego 270 to przypadki raka inwazyjnego przewodowego, a 33 raka inwazyjnego zrazikowego. Amplifikacja genu *cykliny D1* występowała w obu typach nowotworu w zbliżonym odsetku przypadków, odpowiednio 30 i 27 proc., ale ekspresja cykliny D1 znacznie częściej była obserwowana w typie zrazikowym – 73 proc. w stosunku do 58 proc. w przewodowym. Co więcej, istotne zależności zostały wykazane pomiędzy amplifikacją genu i ekspresją białka cykliny D1 a innymi czynnikami kliniczno-patologicznymi. Istotną statystycznie zależność wykazano pomiędzy amplifikacją genu a obecnością przerzutów do węzłów chłonnych pachy. Z kolei nadekspresja cykliny D1 statystycznie istotnie częściej była obserwowana w guzach dobrze zróżnicowanych, wykazujących ekspresję receptorów estrogenowych, nie wykazano natomiast współzależności ekspresji tego białka ze stanem węzłów chłonnych, dlatego autorzy sugerują, że guzy, w których obserwuje

się ekspresję cykliny D1 można uznać za lepiej rokujące, natomiast te wykazujące amplifikację genu za rokujące gorzej.

Również w pracy Sosłowa R. i wsp. [8] ekspresja cykliny D1 częściej była obserwowana w przypadku raków zrazikowych, niemniej jednak różnica ta nie była istotna statystycznie, a autorzy analizując dodatkowo ekspresję C-ERBB-2, Ki 67, P27 i stan receptorów estrogenowych i progesteronowych sugerują, że w związku ze zbliżoną ekspresją ww. czynników w obu typach raka piersi, nie może ona służyć jako czynniki rokownicze.

Katepsyna D jest proteinazą lizosomalną, a także jednym z częściej badanych czynników rokowniczych w raku piersi. Jej ekspresja może być związana ze stopniem złośliwości histologicznej guza oraz nasileniem proliferacji. Obserwuje się wzrost ryzyka przerzutów w przypadkach guzów o podwyższonej aktywności katepsyny D, natomiast nie wykazano jej wpływu na częstość wznów miejscowych. Immunohistochemiczne oznaczenie tego markera może być zatem metodą przydatną do wyodrębnienia grupy pacjentek o gorszym rokowaniu, związanym ze wzrostem ryzyka wystąpienia przerzutów [9].

K.S. Asgeirsson i wsp. [10] podali analizie pod kątem ekspresji E-kadheryny materiał pooperacyjny pobrany od 108 pacjentek z rakiem piersi. U 97 z nich wystąpił rak przewodowy, 14 miało zdiagnozowany typ zrazikowy. Pozakomórkowa domena E-kadheryny jest odpowiedzialna za adhezję międzykomórkową, tworzy ona kompleks poprzez  $\beta$ -kateninę i  $\gamma$ -kateninę z  $\alpha$ -kateniną i białkiem APC (*Adenomatous Polyposis Coli*). Zaburzenie funkcji katenin i kadheryn, poza zmniejszeniem zdolności wzajemnego przylegania komórek wpływa również na zaburzenie ich różnicowania i uzyskanie zdolności do inwazji. Znaleziono istotne różnice w całkowitej utracie ekspresji tej



cząsteczki adhezyjnej. W przypadku raka inwazyjnego zrazikowego cecha ta występowała w 64 proc., natomiast rak inwazyjny przewodowy wykazywał podobne zjawisko w ledwie 19 proc. W analizie wielu zmiennych utrata ekspresji E-kadheryny okazała się być niezależnym czynnikiem ryzyka dla krótszego okresu wolnego od choroby, szczególnie w grupie pacjentek bez przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych. Autorzy sugerują zatem, że utrata ekspresji E-kadheryny w guzach nowotworowych, niezależnie czy to na drodze mutacji genów, czy też wskutek innych mechanizmów, jest ważnym czynnikiem prognostycznym w raku piersi.

Podobne wyniki, biorąc pod uwagę zmniejszoną ekspresję E-kadheryny w poszczególnych typach raka piersi, można spotkać w innych pracach [11–13]. Znalaziono w nich zależność pomiędzy utratą ekspresji E-kadheryny i  $\alpha$ - $\beta$ - oraz  $\gamma$ -kateniny, jak również związek pomiędzy ekspresją tych białek a stopniem złośliwości histologicznej i typem guza. Jednak nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy ekspresją E-kadheryny ani katenin a wielkością guza, stanem węzłów chłonnych i całkowitym czasem przeżycia [11]. Wywnioskowano stąd, że ekspresja tych markerów wydaje się być mało przydatna w przewidywaniu przebiegu choroby u pacjentek z rakiem gruczołu piersiowego.

Nieco odmienne opinie w swojej pracy przedstawiają A. Bankfalvi i wsp. [12]. Analizując 142 fragmenty tkankowe, zarówno rozrosty łagodne, jak i złośliwe zauważono, podobnie jak to miało miejsce w poprzednich pracach, że utrata ekspresji E-kadheryny i  $\beta$ -kateniny występuje częściej w typie zrazikowym raka piersi. Z kolei raki przewodowe wykazywały te cechy tym częściej, im wyższy był stopień złośliwości histologicznej, wiązało się to także z częstszą obecnością przerzutów. Natomiast jednoimienna analiza Kaplan-Meiera sugerowała w tym ba-

daniu krótsze przeżycia całkowite i wolne od choroby u pacjentek z brakiem ekspresji E-kadheryny.

Również inni autorzy w swych pracach obserwują, że niższe poziomy ekspresji E-kadheryny warunkują krótszy czas przeżycia wolny od choroby [14]. Analiza statystyczna przyniosła dodatkowo informacje, że ekspresja E-kadheryny i NM23 oraz ocena angiogenezy są bardziej znaczącymi biomarkerami rokowania w raku piersi niż wielkość guza czy stopień złośliwości histopatologicznej.

NM 23 jest kinazą nukleozydodwufosforanową, hamującą proces powstawania przerzutów odległych w nowotworach. Natomiast wg Gohring i wsp. białko to nie ma wartości prognostycznej w raku sutka, gdyż poddając ocenie 325 przypadków kobiet z inwazyjnym rakiem gruczołu piersiowego, nie znalaziono zależności tego czynnika z przeżyciem całkowitym, jak i wolnym od choroby oraz z klinicznym stopniem zaawansowania choroby [15].

Markerem, z którym wiąże się duże nadzieje na przydatność w ocenie rokowania jest tioredoksyna (Trx) [16]. Jest to enzym odgrywający istotną rolę w utrzymywaniu stanu redox komórki. Tioredoksyna jest również donorem elektronów reduktazy rybonukleotydowej, niezbędnej do syntezy DNA i dlatego może mieć wpływ na proliferację komórkową. Funkcja Trx jest zależna od aktywności reduktazy tioredoksyny (TrxR). Autorzy próbowali oznaczyć w 303 wycinkach z raka piersi (228 inwazyjnych przewodowych, 29 inwazyjnych zrazikowych, 10 inwazyjnych innego typu oraz 36 *in situ*) stopień ekspresji Trx i TrxR oraz przeanalizować potencjalne związki z ekspresją P53 i PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*), który jest m.in. markerem proliferacji. Oznaczeń Trx i TrxR dokonywano zarówno w przedziale jądrowym, jak i cytoplazmatycznym komórki. Wykazana została wyższa immunoreaktywność Trx w rakach

przewodowych, natomiast nie było różnic pomiędzy ekspresją TrxR w rakach przewodowych, zrazikowych i *in situ*. Porównując ekspresję badanych enzymów z danymi klinicznymi stwierdzono, że guzy T1-T2 miały znacząco częściej dodatnią ekspresję jądrową Trx aniżeli guzy T3-T4 oraz że ekspresja ta również była częściej obserwowana w przypadkach niewykazujących ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych. Znalaziono także zależność pomiędzy jądrową i cytoplazmatyczną ekspresją Trx a ekspresją PCNA oraz pomiędzy ekspresją P53 a dodatnim jądrowym odczynem immunohistochemicznym z przeciwciałem przeciwko Trx, oraz ujemną zależność pomiędzy ekspresją P53 a brakiem ekspresji jądrowej TrxR. Stwierdzono także, że pacjentki z dodatnią ekspresją jądrową i cytoplazmatyczną TrxR miały krótszy okres wolny od choroby, czego nie obserwowano w analizie Trx. Nie stwierdzono wpływu badanych markerów na przeżycia całkowite. Autorzy sugerują, że Trx może wpływać na progresję raka piersi poprzez wpływ na ekspresję czynników transkrypcyjnych, a także przez oddziaływanie na proliferację komórkową.

Z grupy enzymów biorących udział w naprawie DNA poddano analizie m.in. jedno z białek z rodziny endonukleaz, a mianowicie endonukleazę AP 1 (APE/Ref-1) [17]. Grupę badaną stanowiły 133 kobiety z rakiem piersi: 120 przypadków stanowiły raki przewodowe, 6 zrazikowe, 1 cewkowy i 6 raki innego typu. Komórki guza poddane barwieniu immunohistochemicznemu wykazywały ekspresję APE/Ref-1 o charakterze jądrowym, cytoplazmatycznym lub mieszanym. Analiza statystyczna pokazała, że grupa chorych z mieszanym dodatnim odczynem APE/Ref-1 zarówno w jądrze komórkowym, jak i w cytoplazmie komórek nowotworowych miała znacząco krótszy czas przeżyć,

a APE/Ref-1 był niezależnym czynnikiem rokowniczym.

Z biologią kwasu DNA jest także związany czynnik transkrypcyjny AP-2 (*Activator Protein-2*). Białko to odgrywa rolę jako regulator ekspresji genów w rozwoju, wzroście i różnicowaniu komórek oraz apoptozie [18]. Badając ten czynnik, poddano analizie 420 inwazyjnych raków piersi (270 przewodowych, 68 zrazikowych i 82 innego typu) oraz, celem kontroli, zastosowano barwienia immunohistochemiczne w 24 rozrostach łagodnych. Ekspresja jądrowa AP-2 była częściej obserwowana w grupie chorób łagodnych, a wśród raków częściej wykazywały ją raki zrazikowe (odpowiednio 63 i 48 proc.). Niska ekspresja AP-2 wykazywała istotną statystycznie zależność z wyższym stopniem zaawansowania klinicznego, obecnością przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych i z niższym zróżnicowaniem histologicznym guza.

Także jednoczynnikowa analiza przeżywalności wykazała, że niska ekspresja jądrowa AP-2 była czynnikiem wpływającym na krótszy czas przeżycia wolny od choroby: 5-letnie przeżycia wolne od choroby u pacjentów z wysokim AP-2 kształtowały się na poziomie 85 proc., podczas gdy w grupie z niską ekspresją AP-2 wynosiły 73 proc.

Kolejna grupa białek, określana nazwą MCM (*Minichromosome Maintenance*), odgrywa rolę w replikacji DNA. Wśród nich wyróżnia się MCM 2 (HsMCM 2), którego ekspresję oraz jej znaczenie jako czynnika rokowniczego oznaczali I.R.K. Bukholm i wsp. [19]. Ponieważ MCM 2 może być markerem proliferacji komórkowej, próbowano również znaleźć korelację z ekspresją innych markerów proliferacji: Ki 67 i PCNA oraz z cykliną A.

Znaleziono istotną statystycznie zależność pomiędzy MCM 2 a ekspresją cykliny A, a ta z kolei częściej występowała w przypadkach guzów o niższym zróżnicowaniu histologicznym.

Można zatem sądzić, że MCM 2, mimo braku udowodnionych związków z przeżywalnością pacjentów, jest czynnikiem związanym z niekorzystnym rokowaniem u chorych z rakiem inwazyjnym piersi.

Rodzina 15 genów kalikreiny ludzkiej jest położona na chromosomie 19q13.4 [20]. Niektóre z ich produktów od wielu lat mają uznaną wartość rokowniczą (do tej grupy zalicza się PSA – *Prostate Specific Antigen* – marker raka gruczołu krokowego). Yousef i wsp. [20] próbowali ocenić wartość rokowniczą kalikreiny 9 (KLK9) w raku piersi. Po zanalizowaniu 169 przypadków raka piersi (66 proc. to raki przewodowe, 17 proc. zrazikowe i 17 proc. inne typy raka piersi) stwierdzono, że ekspresja KLK9 jest istotnie statystycznie związana z wielkością guza i ze stopniem zaawansowania klinicznego. Znamienne częściej pozytywny odczyn dla KLK9 występował w guzach poniżej 2 cm oraz w I stopniu zaawansowania klinicznego niż w II i III stopniu. Również częściej dodatnia ekspresja KLK9 występowała w rakach inwazyjnych zrazikowych niż w przewodowych (odpowiednio 46,4 i 38,7 proc.), ale nie wykazano w tym przypadku zależności istotnej statystycznie, podobnie jak w stosunku do wieku chorych, stanu regionalnych węzłów chłonnych, stopnia złośliwości histologicznej i statusu receptorów estrogenowych i progesteronowych.

Krzywa przeżyć Kaplana-Meiera pokazuje, że chore z dodatnią ekspresją KLK9 mają dłuższy czas przeżyć całkowitych, jak również przeżyć wolnych od choroby.

Kalikreina 9 może być zatem użyteczna jako czynnik rokowniczy w raku piersi, mimo że sama nie jest silnym markerem prognostycznym.

Wraz z poszukiwaniem nowych czynników prognostycznych, zaczęto wiązać duże nadzieje z wpływem witamin i mikroelementów na proces kancerogenezy. Nie opubli-

kowano dotychczas jednoznacznych dowodów przemawiających za ich udziałem w indukcji czy hamowaniu procesu nowotworowego. Niemniej jednak część naukowców zajęła się próbą prześledzenia, czy substancje te mają wpływ na rokowanie w chorobie nowotworowej.

M. Saintot i wsp. [21] próbowali znaleźć zależność pomiędzy stanem oksydacyjno-antyoksydacyjnym osocza a przeżywalnością chorych na raka piersi. W grupie 363 chorych z nowotworem złośliwym gruczołu piersiowego (293 raki przewodowe, 59 zrazikowych i 10 *in situ*) oznaczano poziomy lipoperoksydazy i witaminy E.

Obecnie trudno jest ocenić, czy markery te mają istotny wpływ na rokowanie u chorych z rakiem piersi, bowiem badania te nie potwierdzają takiej zależności, choć znaleziono odwrotną zależność pomiędzy poziomem lipoperoksydazy a wielkością guza.

Sprzeczne doniesienia można spotkać na temat cyklooksygenazy 2 (Cox 2) [22, 23]. Cox 2 jest izoformą indukowaną w odpowiedzi na mediatory zapalenia, czynniki wzrostu, onkogeny i mitogeny.

W analizie 1 576 chorych z inwazyjnym rakiem piersi znaleziono zależność pomiędzy ekspresją cyklooksygenazy 2 a cechami kliniczno-patologicznymi [22]. Ekspresja Cox 2 częściej była znajdowana w typie przewodowym raka aniżeli w typie zrazikowym (odpowiednio 39,9 i 29,4 proc. wykazywało dodatnie barwienia immunohistochemiczne). Tendencję tę stwierdzono również w guzach o większym rozmiarze, z brakiem ekspresji receptorów steroidowych, o wysokim indeksie Ki67 i wysokiej ekspresji P53 oraz wśród guzów wykazujących amplifikację genu Her-2.

Większą wartość prognostyczną Cox 2 znaleziono dla pacjentek z przerzutami do węzłów chłonnych, gdzie wpływ na 5-letnie przeżycia był bardziej wyraźny, a chore z silną ekspresją miały krótszy czas przeżycia. Znaczenie Cox 2

wykazano też u pacjentek z dodatnim statusem receptorów steroidowych i w guzach o niskiej aktywności proliferacyjnej. Wprawdzie analiza wieloczynnikowa nie potwierdziła wartości ekspresji cyklooksyzogenazy 2 jako niezależnego czynnika rokowniczego, to jednak wyniki tego badania pozwalały mieć nadzieję na znalezienie takich zależności w kolejnych badaniach.

Jednak praca z 2003 r. nie potwierdza, a wręcz neguje wcześniej omawiane wyniki [23]. Po analizie 106 przypadków raka piersi stwierdzono brak związku ekspresji cyklooksyzogenazy 2 z uznanymi kliniczno-patologicznymi lub biochemicznymi czynnikami prognostycznymi.

Podobna sytuacja ma miejsce z odkrytą w 1993 r. proteiną P21 (WAF 1) [24]. Mimo wiązania z nią nadziei na możliwość wykorzystania jako czynnika prognostycznego, w pracy M.J. Pellikainena i wsp. nie znaleziono wartości prognostycznej dla ekspresji P21 u chorych na raka gruczołu piersiowego.

## PODSUMOWANIE

Publikacje wyników dotychczasowych badań pozwalają mieć nadzieję na potwierdzenie wartości rokowniczej nowej grupy czynników w raku gruczołu piersiowego, mimo że stanowisko wobec tego zagadnienia nie jest jednoznaczne, a przedstawiane prace różnią się wynikami. Różnice w wynikach, dotyczące analizy tych samych czynników prognostycznych mogą wynikać ze zróżnicowania badanych populacji oraz z zastosowania odmiennych metod badania poszczególnych grup chorych. Niezbędne jest prowadzenie dalszych badań, celem potwierdzenia wartości rokowniczej kolejnych odkrywanych czynników.

## PIŚMIENNICTWO

- Henson DE, Fielding LP, Grignon DJ, et al. *College of American Pathologists Conference XXVI on clinical relevance of prognostic markers in solid tumors. Summary*. Arch Pathol Lab Med 1995; 119: 1109-12.
- Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. *Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999*. Arch Pathol Lab Med 2000; 124: 966-78.
- Djonov V, Cresto N, Aebersold DM, et al. *Tumor cell specific expression of MMP-2 correlates with tumor vascularisation in breast cancer*. Int J Oncol 2002; 21: 25-30.
- Nakopoulou L, Giannopoulou I, Stefanaki K, et al. *Enhanced mRNA expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in breast carcinomas is correlated with adverse prognosis*. J Pathol 2002; 197: 307-13.
- Nakopoulou L, Giannopoulou I, Lazaris CH, et al. *The favorable prognostic impact of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 protein overexpression in breast cancer cells*. APMIS 2003; 111: 1027-36.
- Baker AE, Stephenson TJ, Reed MWR, et al. *Expression of proteinases and inhibitors in human breast cancer progression and survival*. J Clin Pathol 2002; 55: 300-4.
- Naidu R, Wahab NA, Yadav MM, et al. *Expression and amplification of cyclin D1 in primary breast carcinomas: relationship with histopathological types and clinicopathological parameters*. Oncol Rep 2002; 9: 409-16.
- Soslow RA, Carlson DL, Horenstein MG, et al. *A comparison of cell markers in well-differentiated lobular and ductal carcinomas*. Breast Cancer Res Treat 2000; 61: 161-70.
- Jahkola T, Toivonen T, von Smitten K, et al. *Cathepsin D, urokinase plasminogen activator and type-1 plasminogen activator inhibitor in early breast cancer: an immunohistochemical study of prognostic value and relations to tenascin-C and other factors*. Br J Cancer 1999; 80: 167-74.
- Asgeirsson KS, Jonasson JG, Tryggvaddottir L, et al. *Altered expression of E-cadherin in breast cancer: patterns, mechanisms and clinical significance*. Eur J Cancer 2000; 36: 1098-106.
- Gonzalez MA, Pinder SE, Wencyk PM, et al. *An immunohistochemical examination of the expression of E-cadherin,  $\alpha$ - and  $\beta$ / $\gamma$ -catenins, and  $\alpha$ 2- and  $\beta$ 1-integrins in invasive breast cancer*. J Pathol 1999; 187: 523-9.
- Bankfalvi A, Terpe H, J, Breukelmann D, et al. *Immunophenotypic and prognostic analysis of E-cadherin and  $\beta$ -catenin expression during breast carcinogenesis and tumor progression: a comparative study with CD 44*. Histopathology 1999; 34: 25-34.
- Acs G, Lawton TJ, Rebbeck TR, et al. *Differential expression of E-cadherin in lobular and ductal neoplasms of the breast and its biologic and diagnostic implications*. Am J Clin Pathol 2001; 115: 85-98.
- Heimann R, Lan F, McBride R, et al. *Separating favorable from unfavorable prognostic markers in breast cancer: the role of E-cadherin*. Cancer Res 2000; 60: 298-304.
- Gohring U-J, Eustermann I, Becker M, et al. *Lack of prognostic significance of nm 23 expression in human primary breast cancer*. Oncol Rep 2002; 9: 1205-8.
- Turunen N, Karihtala P, Mantyniemi A, et al. *Thioredoxin is associated with proliferation, p53 expression and negative estrogen and progesterone receptor status in breast carcinoma*. APMIS 2004; 112: 123-32.
- Puglisi F, Barbone F, Tell G, et al. *Prognostic role of Ape/Ref-1 subcellular expression in stage I-III breast carcinomas*. Oncol Rep 2002; 9: 11-7.
- Pellikainen J, Kataja V, Ropponen K, et al. *Reduced nuclear expression of transcription factor AP-2 associates with aggressive breast cancer*. Clin Cancer Res 2002; 8: 3487-95.
- Bukholm IRK, Bukholm G, Holm R, et al. *Association between histology grade, expression of Hs MCM2, and cyclin A in human invasive breast carcinomas*. J Clin Pathol 2003; 56: 368-73.
- Yousef GM, Scorilas A, Nakamura T, et al. *The prognostic value of the human kalikrein gene 9 (KLK9) in breast cancer*. Breast Cancer Res Treat 2003; 78: 149-58.
- Saintot M, Mathieu-Daude H, Astre C, et al. *Oxidant-antioxidant status in relation to survival among breast cancer patients*. Int J Cancer 2002; 97: 574-9.
- Ristimaki A, Sivula A, Lundin J, et al. *Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer*. Cancer Res 2002; 62: 632-5.
- Kelly LM, Hill ADK, Kennedy S, et al. *Lack of prognostic effect of Cox-2 expression in primary breast cancer on short-term follow-up*. Eur J Surg Oncol 2003; 29: 707-10.
- Pellikainen MJ, Pekola TT, Ropponen KM, et al. *p21WAF 1 expression in invasive breast cancer and its association with p53, AP-2, cell proliferation, and prognosis*. J Clin Pathol 2003; 56: 214-20.

## ADRES DO KORESPONDENCJI

dr hab. med. **Arkadiusz Jeziorski**  
 Klinika Chirurgii Onkologicznej  
 Katedra Onkologii  
 Uniwersytet Medyczny  
 ul. Paderewskiego 4  
 93-509 Łódź  
 tel. +48 42 689 54 41