

## Potek bolezni pri bolnicah s HER-2 pozitivnim rakom dojk

D. Ribnikar, Š. Fink, S. Frković Grazio, H. Lešničar, A. Sadikov in T. Čufer

### Uvod

Rak dojke je najpogostejša maligna bolezen pri ženskah. Tako kot povsod po svetu tudi v Sloveniji v zadnjih letih opažamo stalen porast incidence, ki že presega 1000 novih bolnic na leto (1). Na potek bolezni in učinkovitost zdravljenja karcinoma dojk vplivajo številni dejavniki, predvsem biološki. Posebno vlogo pridobiva izraženost proteina her-2 (humani epidermalni receptor 2 za rastni faktor) in pomnožitev gena HER-2. Protein her-2 je čezmerno izražen oziroma gen HER2 je pomnožen pri okoli 20 % bolnic z rakom dojke. Na Onkološkem inštitutu v Ljubljani določamo HER-2 status v tkivu raka dojk od leta 2000, vendar na lastni populaciji do sedaj še ni bilo opravljenih analiz o vplivu tega dejavnika na potek bolezni. Pričujoča raziskava je prva analiza preživetja bolnic z HER2 pozitivnim rakom dojk v našem prostoru.

Her-2, imenovan tudi c-erbB-2 ali neu je transmembranski protein s tirozin kinazno aktivnostjo. V majhnih koncentracijah je izražen v duktalnem epiteliju dojke in v mnogih drugih normalnih epitelijih. V večji meri je pomnožen pri petini do četrtini invazivnih rakov dojke. V mnogih raziskavah so dokazali, da je prekomerna izraženost her-2 neodvisen napovedni dejavnik preživetja, posebno pri bolnicah z rakom dojk in zasevki v pazdušnih bezgavkah. Prekomerno izraženi protein napoveduje dober odziv na antraciklinsko kemoterapijo, hkrati pa slab odziv na tamoksifen celo pri bolnicah s pozitivnimi hormonskimi receptorji (2). V zadnjem času je bilo razvito tarčno zdravlilo, ki zavre receptor HER-2, trastuzumab. Določanje prekomerno izraženega proteina her-2 ali pomnožitve gena HER2 je postala metoda za izbiro tistih bolnic z metastatsko in zgodnjo boleznijo, ki imajo dobrobit od zdravljenja s trastuzumabom, humaniziranim protitelesom proti proteinu HER-2. Zato danes določamo HER2 status z izraženostjo proteina in/ali pomnožitvijo gena HER-2 v vsakem na novo odkritem karcinomu dojke. Status HER-2 lahko določamo na dva načina. Število kopij gena HER-2 lahko analiziramo s fluorescentno hibridizacijo *in situ* (FISH), izraženost membranskega proteina her-2 pa z imunohistokemijo. Obe metodi lahko v praksi izvajamo s standardnimi parafinskimi bloki.

Pri oceni proteina her-2 uporabljamo sistem, ki semikvantitativno upošteva dve značilnosti barvne reakcije. Karcinom glede na delež obarvanih celic in glede na intenziteto membranske reakcije uvrstimo v eno od štirih skupin: negativna reakcija (0), šibko pozitivna reakcija (1+), zmerno pozitivna reakcija (2+) in močno pozitivna reakcija (3+). Reakcija 3+ pomeni čezmerno izraženost proteina (pozitivno), reakciji 0 in 1+ pa ne (negativno). V primeru reakcije 2+ gre za nejasen HER2 status in je potrebna določitev pomnožitve gena HER2. Pri metodi FISH določimo pomnožitev gena HER-2. Izkoristimo osnovno lastnost nukleinskih kislin, to je prileganje dveh komplementarnih enojnih verig. Proces imenujemo hibridizacija. V praksi najprej označimo eno od

verig DNK in jo imenujemo sonda. Potem ko se komplementarna sonda prileže na iskano verigo DNK v jedru, lahko s primerno detekcijsko metodo prikažemo nastali hibrid. Prednost FISH je v tem, da nukleinskih kislin iz vzorca ne ekstrahiramo, ampak ostane preiskovano tkivo ohranjeno. Na poseben način obarvan histološki preparat nato analiziramo s fluorescentnim mikroskopom. Za natančnejšo interpretacijo rezultatov uporabljamo dve sondi. Z eno prikažemo število signalov gena, z drugo pa število centromerov kromosoma 17 in s tem število kromosomov 17. Lokalizacije genov so v fluorescentnem mikroskopu obarvane rdeče, centromeri pa zeleno. V analizi vzorca se preštejejo signali v 60 jedrih tumorskih celic invazivnega raka. O pomnožitvi sklepamo na podlagi razmerja med številom signalov gena HER-2 in številom signalov centromera kromosoma 17. Če je količnik med obema enak ali večji od dve, govorimo o pomnožitvi proto-onkogene HER-2 in o pozitivnem HER2 statusu tumorja. Če je količnik manjši, pomnožitve ni (3). V primeru pozitivnega HER statusa tumorja govorimo o HER2-pozitivnem raku dojk, v nasprotnem primeru pa o HER2-negativnem raku dojk.

### Namen in hipoteza

Z retrospektivno raziskavo smo želeli pri bolnicah, ki so bile v letu 2004 diagnosticirane z rakom dojke v stadijih I–III ter zdravljene na Onkološkem inštitutu v Ljubljani in so imele HER-2-pozitivno bolezen:

1. ugotoviti potek njihove bolezni v primerjavi s potekom HER-2-negativnega raka dojk pri bolnicah, zdravljenih na Onkološkem inštitutu v Ljubljani,
2. preučiti soodvisnost med klasičnimi napovednimi dejavniki raka dojk s HER-2 statusom.

Predvidevali smo, da pri bolnicah HER-2-pozitivnim rakom hitreje in pogosteje prihaja do zasevkov v oddaljenih organih kot pri bolnicah, ki so imele HER-2-negativnega raka dojk. Menimo, da obstaja soodvisnost med klasičnimi napovednimi dejavniki in statusom HER-2: HER-2-pozitivni raki so ob diagnozi večji, pogosteje imajo prizadete pazdušne bezgavke, pogosteje vraščajo v žilje in živce znotraj dojke, so redkeje hormonsko odvisni, so višje stopnje in imajo visok mitotski potencial.

### Bolnice in metode

#### ZNAČILNOSTI BOLNIC IN NJIHOVIH TUMORJEV

V raziskavo je bilo vključenih 547 bolnic z rakom dojke. V letu 2004 so bile zdravljene na Onkološkem inštitutu v Ljubljani po smernicah, ki so takrat veljale za zdravljenje raka dojk. Vse so imele patohistološko potrjen invazivni karcinom dojke, od stadija I do III. Če so imele ob postavitvi diagnoze generalizirano bolezen, se pravi oddaljene zasevke, so bile izključene iz raziskave. Izključene so bile tudi bolnice z bilateralnim karcinomom dojk.

		status HER-2		
ZNAČILNOST	N (%)	neg. (0) N (%)	poz. (1) N (%)	p
<b>Patološka velikost tumorja</b>				0,019
pT1 (0–20 mm)	288 (52,7 %)	239 (83 %)	49 (17 %)	
pT2 (21–50 mm)	198 (36,2 %)	146 (73,7 %)	52 (26,3 %)	
pT3 (> 50 mm)	32 (5,9 %)	22 (68,8 %)	10 (31,2 %)	
neznano	29 (5,2 %)			
<b>Status bezgavk</b>				< 0,001
negativne	277 (50,6 %)	234 (84,5 %)	43 (15,5 %)	
pozitivne	248 (45,3 %)	179 (72,2 %)	69 (27,8 %)	
neznano	22 (4,1 %)			
<b>Stopnja malignosti</b>				< 0,001
G 1	106 (19,4 %)	104 (98,1 %)	2	
(1,9 %)				
G 2	235 (43,0 %)	185 (78,7 %)	50 (21,3 %)	
G 3	183 (33,5 %)	123 (67,2 %)	60 (32,8 %)	
neznano	23 (4,1 %)			
<b>Mitoze</b>				< 0,001
1	230 (42,0 %)	208 (90,4 %)	22	
(9,6 %)				
2	123 (22,5 %)	89 (72,4 %)	34 (27,6 %)	
3	163 (29,8 %)	107 (65,6 %)	56 (34,4 %)	
neznano	31 (5,7 %)			
<b>Status ER</b>				< 0,001
ER+	432 (79,0 %)	368 (85,2 %)	64 (14,8 %)	
ER–	111 (20,3 %)	63 (56,8 %)	48 (43,2 %)	
neznano	4 (0,7 %)			
<b>Status PR</b>				< 0,001
PR+	389 (71,1 %)	331		
(85,1 %)	58 (14,9 %)			
PR–	153 (28,0 %)	99 (64,7 %)	54 (35,3 %)	
neznano	5 (0,9 %)			
<b>Vaskularna invazija</b>				0,024
prisotna	110 (20,1 %)	78 (70,9 %)	32 (29,1 %)	
odsotna	408 (74,6 %)	328 (80,4 %)	80 (19,6 %)	
neznana	29 (5,3 %)			
<b>Menopavzni status</b>				0,220
predmenopavzni	130 (23,8 %)	107 (82,3 %)	23 (17,7 %)	
pomenopavzni	417 (76,2 %)	328 (78,7 %)	89 (21,3 %)	

**Tabela 1.** Korelacije statusa HER-2 z značilnostmi tumorjev in bolnic.

Klasične napovedne dejavnike za raka dojk so za vsako bolnico po operativnem posegu določili patologi Onkološkega inštituta v Ljubljani z natančnim patohistološkim pregledom.

Vse bolnice so radikalno lokalno zdravili, bodisi z radikalno modificirano mastektomijo ali s konzervirajočo operacijo in pooperativnim obsevanjem. Pooperativno so bile obsevane tudi nekatere bolnice po mastektomiji, če je bil tumor večji kot 5 cm v največjem premeru, če so bili prisotni zasevki v večjih aksilarnih bezgavkah (več kot 4 pozitivne bezgavke) ali pa je bil tumor multifokalen (več žarišč raka v enem kvadrantu dojke) ali multicentričen (več žarišč raka v več kot enem kvadrantu dojke).

Adjuvantna sistemska kemoterapija in/ali hormonska terapija sta bili večini bolnic pooperativno predlagani po smernicah, ki so na Onkološkem inštitutu v Ljubljani veljale v letu 2004.

Povprečna starost bolnic ob diagnozi je bila 58,83 leta (od 27 do 87 let); 130 bolnic (23,8 %) je bilo predmenopavznih in 417 (76,2 %) pomenopavznih. Značilnosti tumorjev bolnic v povezavi s statusom HER-2 so prikazane v tabeli 1. Bolnice s HER-2-pozitivnim rakom adjuvantno niso prejemale trastuzumaba, ampak so ga, ko so razvile metastatsko bolezen. Dopolnilno sistemske kemoterapije je prejelo 93 bolnic, dopolnilno hormonsko terapijo 244, obe skupaj pa 167 bolnic. Srednji čas sledenja je bil 2,5 leta. V tem času je napredovanje maligne bolezni doživelo 56 bolnic (10,2 %). Med 435 bolnicami s HER-2-negativnimi tumorji se je bolezen ponovila pri 32 (7,6 %), v skupini 112 bolnic, ki so bile HER-2-pozitivne, pa pri 23 bolnicah (20,5 %). Umrlo jih je 12, od teh 8 s HER-2-pozitivnimi tumorji in 4 s HER-2-negativnimi. Osnovni vzrok smrti pri vseh je bil rak dojke.

### Metode dela

Iz natančnih patohistoloških popisov bolnic, zdravljenih na Onkološkem inštitutu v Ljubljani v letu 2004, smo izpisali klasične napovedne dejavnike vsakega raka dojk posebej, nato pa smo ta popis dopolnili s kliničnimi podatki, ki so bili zapisani med sledenjem bolnic v posebni podatkovni bazi Webdoctor. Preučili smo napovedni pomen lastnosti bolnic (menopavzni status) in tumorjev (velikost tumorja, prizadetost aksilarnih bezgavk, stopnja malignosti raka, ER, PR) za razsoj bolezni glede na status HER-2 primarnega tumorja.

### Statistične metode

Za korelacije med klasičnimi napovednimi dejavniki raka dojk in statusom HER-2 smo uporabili test  $\chi^2$ . Od napredovanja bolezni odvisno preživetje smo prikazali s krivuljami po Kaplan-Meierju. Preživetje brez napredovanja bolezni smo merili od datuma diagnoze do napredovanja bolezni (lokalnega, lokoregionalnega ali distalnega) ali do datuma smrti zaradi katerega koli drugega vzroka ali do datuma zadnje kontrole. Celokupno preživetje bolnic smo merili od postavitve diagnoze do datuma smrti iz katerega koli vzroka. Preživetje brez napredovanja bolezni in celotno preživetje kot funkcija statusa HER-2 sta bila ocenjeni in predstavljeni s Kaplan-Meierjevo metodo. Test Logrank je bil uporabljen za testiranje razlik.

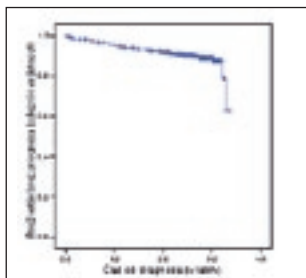
Coxovi uni- in multivariatni modeli so bili uporabljeni za izračun relativnih tveganj in njihovih 95-odstotnih intervalov zaupanja pri analizi PBPB in CP.

### Rezultati

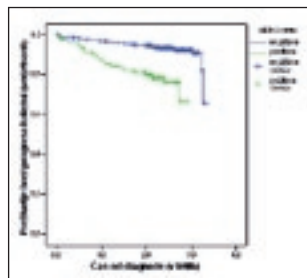
a) KORELACIJE HER2 statusa z ostalimi značilnostmi bolnic oziroma tumorja. Proučili smo soodvisnost med značilnostmi bolnic in njihovih tumorjev ter statusom HER-2. HER2 status karcinomov je statistično pomembno koreliral z vsemi klasičnimi napovednimi dejavniki raka dojk, razen z menopavznim statusom bolnic (tabela 1). Velikost tumorja ( $p = 0,019$ ), prizadetost pazdušnih bezgavk ( $p < 0,001$ ), stopnja malignosti ( $p < 0,001$ ), mitotska aktivnost ( $p < 0,001$ ), status ER (estrogenski receptorji) ( $p < 0,001$ ) in PR (progesteronski receptorji) ( $p < 0,001$ ) in vaskularna invazija ( $p = 0,024$ ) so bili statistično pomembno povezani s statusom HER-2. Povezava med HER-2 in menopavznim statusom bolnic ni bila statistično pomembna ( $p = 0,220$ ).

**b) PREŽIVETJA BOLNIC GLEDE NA HER2 STATUS (UNIVARIATNA IN MULTIVARIATNA ANALIZA)**

V Coxovi univariatni regresijski analizi za PBPB glede na status HER-2 tumorjev smo ugotovili statistično pomembne razlike med skupinama HER-2-pozitivnih in HER-2-negativnih karcinomov dojke ( $p < 0,001$ ). Ob srednjem času sledenja 2,5 leta je bilo preživetje brez napredovanja maligne bolezni za vse bolnice skupaj 90,3-odstotno (diagram 1), za HER-2-pozitivne tumorje 76,1-odstotno, za HER-2-negativne pa 93,4-odstotno (diagram 2). Za HER-2-pozitivne karcinome smo v

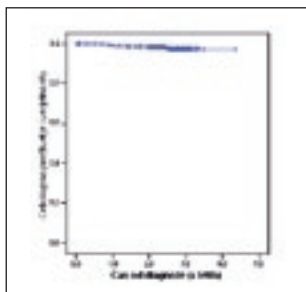


**Diagram 1.** Preživetje brez napredovanja bolezni v odvisnosti od časa pri vseh bolnicah skupaj.

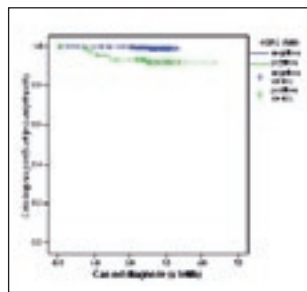


**Diagram 2.** Preživetje brez napredovanja bolezni v odvisnosti od časa glede na status HER-2.

univariatni analizi za PBPB ugotovili statistično pomembno večje relativno tveganje za ponovitev bolezni v primerjavi s HER-2-negativnimi tumorji (RT: 3,98, 95 % IZ: 2,29–6,94,  $p < 0,001$ ). Celokupno preživetje vseh bolnic skupaj je bilo v srednjem času sledenja 2,5 leta 97,8-odstotno (diagram 3). Ugotovili smo, da je bilo celokupno preživetje bolnic s HER-2-pozitivnimi raki pomembno krajše ( $p < 0,001$ ; rezultat regresije logrank). Celokupno preživetje bolnic s HER-2-pozitivnimi raki je bilo 91,9-odstotno, s HER-2-negativnimi pa 99,2-odstotno (diagram 4).\*



**Diagram 3.** Celokupno preživetje pri vseh bolnicah.



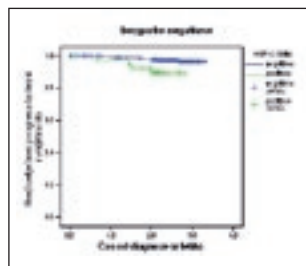
**Diagram 4.** Celokupno preživetje glede na status HER-2.

V Coxovi multivariatni analizi za PBPB smo ugotovili, da je najpomembnejši neodvisni napovedni dejavniki status HER-2 ( $p < 0,001$ , RT: 3,55, 95 % IZ: 1,89–6,67), sledijo prizadetost bezgavk ( $p = 0,001$ , RT: 3,17, 95 % IZ: 1,59–6,29), status PR ( $p = 0,002$ , RT: 2,63, 95 % IZ: 1,43–4,84) in starost bolnic ( $p = 0,028$ , RT: 1,03, 95 % IZ: 1,00–1,06). Velikost tumorja, stopnja malignosti, mitoze, status ER, vaskularna invazija, menopavzni status se v naši skupini bolnic niso izkazali za statistično pomembne.

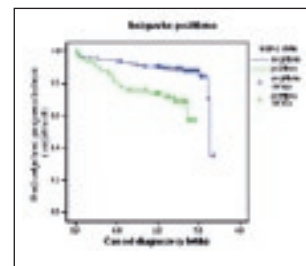
\* Odstotki celokupnega preživetja so izračunani za 2,5 leta, kar je sicer srednji čas za PBPB in ne za CP; želeli smo imeti enotno časovno točko za oboje.

**c) PREŽIVETJA BOLNIC Z NEPRIZADETIMI IN PRIZADETIMI BEZGAVKAMI GLEDE NA HER-2 STATUS**

Ugotovili smo, da je pretirana izraženost gena HER-2 v obeh skupinah bolnic, tako v skupini s pozitivnimi bezgavkami kot v skupini z negativnimi bezgavkami, povezana s krajšim preživetjem brez napredovanja bolezni. Za bolnice z negativnimi pazdušnimi bezgavkami je bila korelacija s statusom HER-2  $p = 0,022$ ; rezultat regresije logrank. Njihovo preživetje brez napredovanja bolezni je bilo pri HER-2-pozitivnih bolnicah 92,3-odstotno, pri HER-2-negativnih pa 97,7-odstotno (diagram 5a)\*. Pri bolnicah s pozitivnimi aksilarnimi bezgavkami je bila povezava s statusom HER-2  $p < 0,001$ ; rezultat regresije logrank. PBPB pri teh bolnicah je bil za HER-2-pozitivne 74,1-odstoten, za HER-2-negativne pa 90,4-odstoten; (diagram 5b).



**Diagram 5a.** Preživetje brez napredovanja bolezni glede na status HER-2 pri bolnicah z negativnimi bezgavkami.



**Diagram 5b.** Preživetje brez napredovanja bolezni glede na status HER-2 pri bolnicah s pozitivnimi bezgavkami.

**Razprava**

Z našo raziskavo smo ugotovili, da je status HER-2 vsakega posameznega tumorja dojk močnejši napovednik poteka bolezni od uveljavljenih napovednih dejavnikov, kot so anatomski obseg maligne bolezni (TNM), patohistološka vrsta raka in njegova stopnja malignosti ter hormonski kazalci. Pomembna ugotovitev je tudi, da je HER2 status neodvisen napovedni dejavnik preživetja ne glede na druge lastnosti bolnic oziroma tumorja, da pa je ob tem HER-2 status statistično značilno povezan z drugimi prognozičnimi faktorji, ki so do obdobja molekularne onkologije napovedovali slabo prognozo raka dojke.

Z raziskavo smo razlojili tudi biološko zelo agresivnega HER-2-pozitivnega raka dojke v dve skupini, in sicer v skupino bolnic, ki imajo zelo slabo napoved in umirajo že v prvih dveh letih po diagnozi (to so bolnice s pozitivnimi pazdušnimi bezgavkami), in v skupino bolnic z boljšo napovedjo (to so bolnice z negativnimi aksilarnimi bezgavkami).

2,5-letno preživetje brez znamenj bolezni vseh naših bolnic skupaj je bilo 90,3-odstotno, bolnic s HER-2-pozitivnimi raki pa 76,1-odstotno, kar je glede na dejstvo, da niso dobivale dopolnilnega zdravljenja s trastuzumabom, v skladu s podatki iz literature (4, 5). Bolnice s HER-2-negativnimi tumorji so imele 93,4-odstotno preživetje brez znamenj bolezni. Ker vemo, da je rak dojke maligni tumor, predvsem HER-2-negativni, pri katerem nemalokrat pride do razsoja bolezni po 15 letih in še pozneje, bi bilo dobro 10 let po diagnozi podatke naših bolnic še enkrat analizirati. To bi bil nedvomno izziv za prihodnje raziskave.

V univariatni analizi smo ugotovili, da je status HER-2 zelo pomemben prognostični faktor raka dojke. Spoznali smo, da je relativno tveganje za ponovitev bolezni 3,98-krat večje, če je v tumorju HER-2 pozitiven. Izsledki naše raziskave se ujemajo z izsledki številnih raziskav po svetu, ki zgovorno opisujejo, da so HER-2-pozitivni raki biološko izredno agresivni, predvsem t. i. pravi HER-2-pozitivni raki dojke, ki so hormonsko neodvisni in anatomsko večji. Taki so zato, ker imajo na celičnih membranah čezmerno izražen protein her-2 (ki je produkt gena HER-2). Ta deluje kot receptor, na katerega se vežejo različni ligandi, kar sprožijo aktivacijo različnih signalnih poti, med drugim tudi rast, proliferacijo, zasevanje v več vitalnih organov (6, 7, 8). HER-2 status se je v številnih raziskavah izkazal tudi za enega izmed napovednih dejavnikov za zgodnjo smrt zaradi raka dojke (9).

Napovedni pomen velikosti tumorja je znan (10, 11). Tudi v naši raziskavi smo ugotovili, da je bilo pri bolnicah s tumorji, velikimi od 21 do 50 mm, se pravi stadija II, 4,85-krat večje tveganje za ponovitev raka kot pri bolnicah, pri katerih so bili tumorji veliki do 2 cm, torej s tumorji T1. Poudariti je treba, da je bilo v naši raziskavi 198 bolnic s tumorji T2 in le 32 s tumorji T3, zato je relativno tveganje za ponovitev bolezni pri naših bolnicah s tumorji T3 le 2,15-krat večje kot pri tistih s tumorji T1.

Prizadetost pazdušnih bezgavk je bila vse do obdobja molekularne onkologije najpomembnejši prognostični dejavnik za raka dojke (10, 12). Čeprav je status bezgavk še vedno pomemben, smo v naši raziskavi ugotovili, da so močan napovedni dejavnik poteka bolezni molekularni kazalci. Spoznali smo, da je relativno tveganje za napredovanje raka dojke pri bolnicah z zasevki v bezgavkah 4,48-krat večje kot pri bolnicah brez zasevkov. V multivariatni analizi pa je nad statusom bezgavk prevladal status HER-2, ki so ga imeli tumorji. Najslabše preživetje so imele v naši raziskavi bolnice, ki so imele oba najmočnejša neodvisna napovedna dejavnika, se pravi pozitiven status HER-2 in pozitivne aksilarne bezgavke. Preživetje brez ponovitve bolezni pri teh bolnicah je bilo 74,1-odstotno, preživetje brez bolezni pri bolnicah z negativnimi bezgavkami pa je bilo 92,3-odstotno.

V mnogih študijah se je pokazalo, da je za prognozo izredno pomembna stopnja malignosti karcinoma (13). Tudi v naši raziskavi smo dokazali, da so tumorji višje stopnje malignosti napredovali hitreje in pogosteje. Relativno tveganje za relaps raka dojke pri bolnicah s stopnjo 2 je bilo v primerjavi z bolnicami s stopnjo 1 6,25-krat večje, pri tumorjih stopnje 3 pa je bilo 2,36-krat večje. To je precej nenavadna ugotovitev, saj vemo, da so tumorji stopnje 3 bolj agresivni kot tumorji stopnje 2. To lahko razložimo z razmeroma majhnim številom bolnic s stopnjo 3 (183 bolnic). Zaradi pogostejše uvrstitve tumorjev naših bolnic v malignostno stopnjo 2 je specifičnost skupine lahko manjša, to pa je povzročilo takšno razliko v univariatni analizi. Stopnja malignosti je subjektivno določena lastnost tumorja, kar zmanjšuje njeno dejansko vrednost. Kljub temu pa ostaja močan napovedni dejavnik. Pomembno je dodati, da danes v svetu že določajo genomsko stopnjo tumorjev, zlasti pri tumorjih malignostne stopnje 2 je genom-ska stopnja tumorjev pomemben podatek, ki loči med bolj in manj agresivnimi tumorji (14).

Še bolj kot stopnja tumorja je za prognozo pomembna mitotska aktivnost karcinoma. Pri tumorjih z malo mitozami je preživetje bistveno boljše in potek počasnejši, kot če je v jedrih tumorskih celic več mitoz. Relativno tveganje za razsoj bolezni pri naših bolnicah z mitozami, ocenjenimi kot 2, je bilo 4,26-krat večje kot pri tistih z mitozami 1. Pri rakah z mitozami 3 je

bilo v naši raziskavi 1,50-krat večje relativno tveganje, da se bodo ponovili, kot pri tistih z mitozami 1.

Estrogenski in progesteronski receptorji že dolgo veljajo za pomembne prognostični kazalec izida karcinoma dojke. Če raka dojke razdelimo na hormonsko odvisnega in hormonsko neodvisnega, je pri slednjem prognoza bistveno slabša. Povsem razumljivo je, da je pri tumorjih z večjimi vrednostmi receptorjev ER in PR boljše napoved kot pri tistih z majhnimi vrednostmi. Pomembno je tudi poudariti, da so receptorji PR predvsem napovedni dejavnik poteka bolezni, medtem ko so receptorji ER napovedni dejavnik odgovora na hormonsko zdravljenje. Izsledki zadnjih velikih raziskav v obdobju novejšje, molekularne onkologije, so pokazali, da je za odgovor na neko hormonsko zdravlilo pomembna jakost izraženosti receptorjev ER in PR (15, 16, 17). Tudi mi smo ugotovili, da je relativno tveganje za razsoj bolezni v primerjavi z bolnicami s hormonsko odvisnimi raki dojke pri bolnicah z negativnimi hormonskimi receptorji ER 3,27-krat večje, z negativnimi receptorji PR pa 3,66-krat večje. Receptorji PR so bili tudi v multivariatnem modelu neodvisni napovedni dejavnik ponovitve bolezni naših bolnic. Da tudi receptorji ER niso bili napovedni dejavnik poteka bolezni, gre pripisati dejstvu, da so praktično vse hormonsko pozitivne bolnice prejele dopolnilno hormonsko zdravljenje. Pomemben morfološki napovedni dejavnik je tudi vaskularna invazija. Rak dojke zaseva limfogeno in hematogeno. Hematogeni razsoj je odgovoren za nastanek oddaljenih zasevkov raka dojke, zato je žilna invazija, še posebno pri tumorjih brez zasevkov v bezgavkah, izredno slabo prognostično znamenje (18). V naši raziskavi smo ugotovili, da za 2,86-krat relativno poveča verjetnost razsoja bolezni.

Poleg tumorskih značilnosti so za prognozo raka dojke pomembne tudi lastnosti bolnic. Ena izmed teh je menopavzni status. Številne raziskave kažejo, da je bolezen prognostično manj ugodna pri predmenopavznih bolnicah, posebno pri mlajših od 35 let (19). Tudi z našo raziskavo smo ugotovili, da imajo predmenopavzne bolnice 1,27-krat večje relativno tveganje za relaps raka kot pomenopavzne ženske z rakom dojke.

Poleg pomembno krajšega preživetja brez napredovanja bolezni pri HER-2-pozitivnih bolnicah smo v naši raziskavi ugotovili tudi statistično pomembno krajše celokupno preživetje teh bolnic v primerjavi s HER-2-negativno boleznijo. Celokupno preživetje vseh bolnic skupaj je bilo 97,8-odstotno, bolnic s HER-2-negativnimi raki dojke 99,2-odstotno, bolnice s HER-2-pozitivno boleznijo pa so imele 91,9-odstotno celokupno preživetje. Skupaj je umrlo 12 (2,2 %) bolnic, od tega 8 (66,7 %) bolnic s HER-2-pozitivnim rakom dojke in 4 (33,3 %) s HER-2-negativnim rakom dojke. Iz tega lahko sklepamo, da bolnice s HER-2-pozitivnimi karcinomi dojke pogosteje umirajo že v prvih dveh letih po diagnozi. Čeprav je vseh 23 bolnic z metastatsko HER-2-pozitivno boleznijo za zdravljenje razsute bolezni prejele trastuzumab, ostaja njihovo celokupno preživetje značilno slabše od preživetja bolnic s HER-2-negativno boleznijo. Izsledki petih velikih kliničnih raziskav kažejo, da je pri bolnicah z agresivnimi HER-2-pozitivnimi tumorji možno za polovico zmanjšati verjetnost ponovitve malignega obolenja in posledične smrti z dodatkom trastuzumaba v dopolnilnem zdravljenju in da je uvedba tarčnega zdravljenja smiselna in učinkovita v okviru dopolnilnega sistemskega zdravljenja, ko je obseg bolezni še majhen (4, 20, 21, 22). V svetu in pri nas so bili objavljeni mnogi članki, ki zelo nazorno prikazujejo, da je izid raka dojke odvisen predvsem od molekularnih bioloških kazalcev, ne pa toliko od anatomskega obsega bolezni izražene s prizadetosti pazdušnih

bezgavk. Danes nam je zaradi teh dejstev bolj jasna usoda mnogih bolnic iz preteklosti s stadijem T1N0M0, ki niso bile deležne nobenega dopolnilnega sistemskega zdravljenja in so po mnogih letih podlegle razsejani bolezni.

Na podlagi opravljene študije lahko sklenemo, da je HER-2-pozitivni rak dojke biološko povsem drugačna bolezen od HER-2-negativnega raka in da tudi tega raka lahko razslojimo na podskupine z različnim potekom. Pomembno je, da te biološko agresivne tumorje na podlagi drugih pomembnih lastnosti spoznamo že ob postavitvi diagnoze in jih že takrat čim ustrežneje zdravimo. Danes vemo, da klasični napovedni dejavniki za načrtovanje uspešnega dopolnilnega sistemskega zdravljenja ne zadoščajo več, zato je bistvenega pomena, da ugotovimo predvsem status HER-2 primarnega tumorja in da v dopolnilno zdravljenje uvedemo biološko zdravilo trastuzumab, če bolnica nima kontraindikacij zanj. Zdravljenje z trastuzumabom je nujno pri HER-2-pozitivnih rakih, saj se na standardne citostatike ne odzivajo v tolikšni meri kot HER-2-negativni. Prihajajo pa še nova proti HER2 usmerjena zdravila, ki bodo sama ali v kombinaciji s trastuzumabom še izboljšala prognozo bolnic s HER2 pozitivnim rakom dojke.

### Sklepi

1. Z opravljeno raziskavo smo potrdili hipotezo, da je preživetje bolnic brez napredovanja bolezni in tudi celokupno preživetje pri HER-2-pozitivnem raku dojke statistično pomembno slabše od celokupnega preživetja in preživetja brez napredovanja bolezni pri HER-2-negativnem raku dojke.
2. Raki dojke s pretirano izraženim genom HER-2 so ob postavitvi diagnoze večji kot HER-2-negativni tumorji, pogosteje so prisotni že zasevki v območnih bezgavkah, so višje stopnje malignosti, imajo višji mitotski potencial kot HER-2-negativni tumorji in pogosteje vraščajo v intramamarno žilje. Približno polovica teh tumorjev je hormonsko odvisnih.
3. Za neodvisne napovedne dejavnike obnove bolezni smo poleg statusa HER-2 tumorja, spoznali še prizadetost pazdušnih bezgavk, status PR in starost bolnic, medtem ko so velikost tumorja, stopnja, mitoze, status ER, vaskularna invazija in menopavzni status v multivariatni analizi izgubili napovedno vrednost.
4. Status HER-2 karcinoma dojke je najmočnejši neodvisni napovedni dejavnik poteka bolezni tako pri bolnicah s prizadetimi kot pri bolnicah z neprizadetimi pazdušnimi bezgavkami.

### Viri

1. Incidenca raka v Sloveniji 1991. Ljubljana: Onkološki inštitut – Register raka za Slovenijo, 1994.
2. Klijn JG, Berns PM, Schmitz PI et al. The clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 patients. *Endocr rev* 1992; 13: 3–17.
3. Primož Drev, Rastko Golouh. Določanje onkogenega HER-2 pri karcinomu dojke. *Onkologija, problemi in perspektive*, 2002: 14–16.
4. Antonio C. Wolff, M. Elizabeth H. Hammond, Jared N. Schwartz, Karen L. Hagerty, D. Craig Allred, Richard J. Cote, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer 2007; 25: 118–45.
5. Eric P. Winer, MD, Martine J. Piccart – Gebhart, MD, PhD, Hope S. Rugo, MD, and George W. Sledge Jr, MD. Management of

HER-2 positive breast cancer 2006; 1092–9118: 3–14.

6. E. Matos, B. Pajk, S. Borštnar, T. Čufer. Dopolnilno zdravljenje bolnic z rakom dojke s trastuzumabom. *Onkologija, priporočila*; 2006, št. 2: 109–12.
7. Nataša Snoj in Tanja Čufer. Biološko in tarčno zdravljenje karcinoma, *Onkologija/novosti* 2007; št. 1: 72–76.
8. Bračko M, Drev P, Frković-Grazio S. Assessment of HER-2 status in invasive breast carcinoma and its association with tumour characteristics; *Research work* 2006.
9. Faneyte I, Peterse J, van Tinteren H, et al. Predicting early failure after adjuvant chemotherapy in high-risk breast cancer patients with extensive lymph node involvement. *Clinical Cancer Research*. 2004; 10, 4457–63.
10. Donegan WL. Prognostic factors: stage and receptor status in breast cancer. *Cancer* 1992; 70: 1755–64.
11. Carter GL, Allen C, Henson DE. Relation of tumour size, lymph node status and survival in 24740 breast cancer cases. *Cancer* 1989; 63: 181–87.
12. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, Redmond CK, Fisher ER. Relation of number of positive axillary lymph node to the prognosis of patients with primary breast cancer. *Cancer* 1993; 542: 1151–7.
13. Freedman LS, Edwards DDM, McConnell EM, Downham DY. Histological grade and other prognostic factors in relation to survival of patients with breast cancer. *Br J Cancer* 1979; 40–44.
14. C. Sotiriou, P. Wirapati, S. Loi, C. Desmedt, A.L. Harris, J. Bergh, J. Smeds, F. Cardoso, M. Delorenzi, M. Piccart. Grade of tumour. *Journal of Clinical Oncology*. 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings. Vol 23, No. 16S, Part I of II (June 1 Supplement), 2005: 506.
15. Nabholz JM, Buzdar A, Pollak M, et al. Anastrozole is superior to tamoxifen as first-line therapy for advanced breast cancer in postmenopausal women: results of a North American multicenter randomized trial. *Arimidex Study Group. J Clin Oncol* 2000; (22): 3758–67.
16. Jakesz R, Jonat W, Gnant M et al. Switching of postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer to anastrozole after 2 years' adjuvant tamoxifen: combined results of ABCSG trial 8 and ARNO 95 trial. *Lancet* 2005; 366 (9484): 455–62.
17. Goss PE, Ingle JN, Tu D. NCIC CTG MAI 17: disease free survival according to estrogen receptor and progesterone receptor status of the primary tumour. *San Antonio Breast Cancer Symposium* 2005.
18. E. Fiorio, A. Auriemma, M. Mandara, A. Caldara, A. Mercanti, et al. The importance of vascular invasion in women with breast cancer and between 1-3 positive nodes: Analysis of 272 patients. *Journal Of Clinical Oncology*, 2006, ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 24, No. 18S, 2006: 20062.
19. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, et al. Relationship of patient age to pathological features of the tumour and prognosis of patients with stage I or II breast cancer. *J. Clin Oncol.* 1994; 12: 888–94.
20. Montemurro F, Aglietta M. Incorporating trastuzumab into the neoadjuvant treatment of HER-2 overexpressing breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2005; 6: 77–80.
21. Montemurro F, Valabrega G, Aglietta M. Trastuzumab – based combination therapy for breast cancer. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5: 81–96.
22. Romond EH, Perez EA, Bryant J et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER-2 positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353: 1673–84.