

# Молекулярните подтипове днес – има ли нужда от нещо повече?

**Иван Иванов<sup>1,2</sup>, Савелина Поповска<sup>2</sup>**

*1 УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ ЕАД - Плевен, Плевен*

*2 МУ-Плевен, Плевен*

# Декларация



Липсват практически  
взаимоотношения за  
деклариране

„Това ме мъчи — няма яснота кой да внесе сега в неяснотата: загубва ли си дъвката вкуса, ако я лепнеш нощем на кревата?“

Кен Киси, *Полет над кукувиче гнездо*

# Цел на настоящия обзор



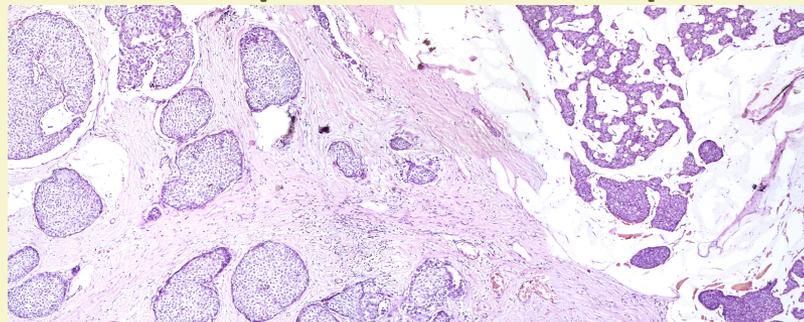
Да представи в синтезиран вид състоянието на проблема, акцентирайки върху предимствата и недостатъците на класическата морфология и молекулярните тестове.

# Морфологичната диагностика в мамарната патология

Диференциалната диагноза между карциномите на гърдата и лезиите, които ги имитират е посилна задача, макар и в някои случаи изключително трудна.

Някои тумори са хетерогенни или съдържат смесица от инвазивни и ин –ситу компоненти с различни характеристики

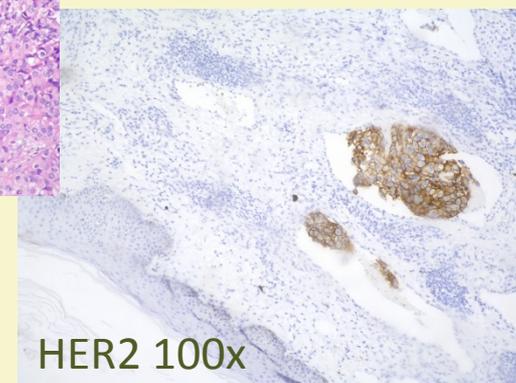
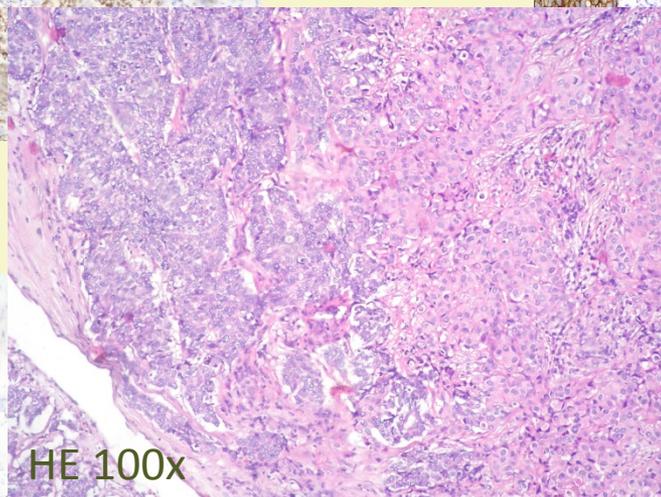
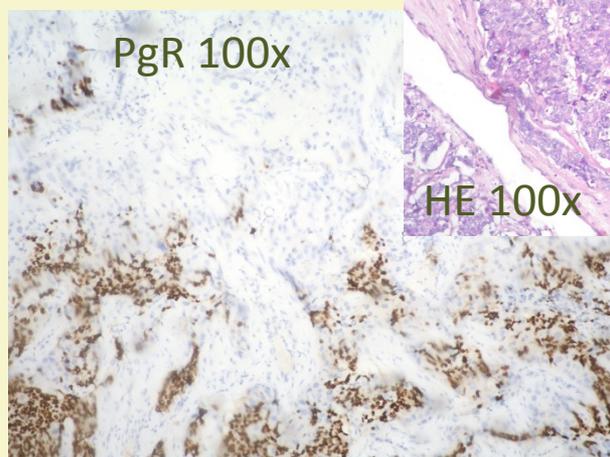
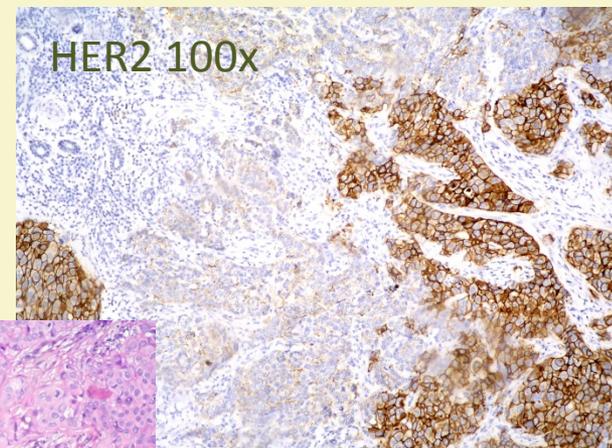
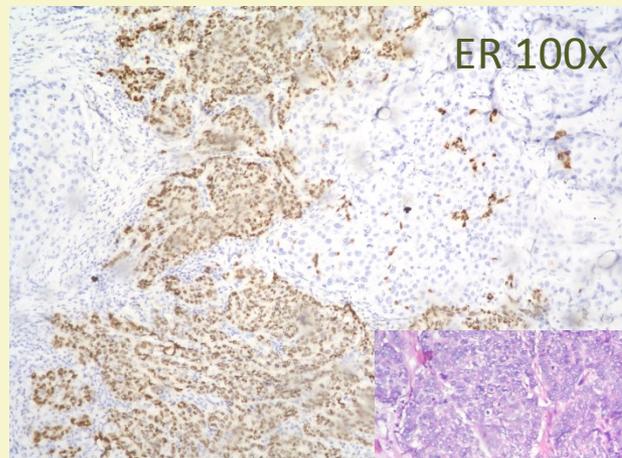
LCIS



XE 200x

инвазивен  
муцинозен  
карцином

# Някои тумори са „твърде“ хетерогенни...



## Акцент

Ако се пренебрегне морфологичното изследване на тъканите и се премине към молекулярните методи на изследване и класификация на мамарните карциноми, неизбежно ще има случаи, които ще създават „диагностични проблеми“, защото реално не са инвазивни злокачествени неоплазми.

# Морфологична диагностика на мамарните карциноми

От съвременна преспектива, карциномът на гърдата е хетерогенно заболяване. \*,\*\*

Въз основа на своите морфологични характеристики, карциномите на гърдата се разделят на морфологични варианти, голяма част от които определят съответна прогноза.\*

При малки по размер тумори и „чист“ хистологичен вариант, след оперативно отстраняване на тумора, тубуларните и крибриформните карциноми на гърдата се характеризират с преживяемост, сходна с тази на общата популация. \*,\*\*

\* Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, et al. WHO classification of tumours of the breast.4th ed. IARC, Lyon, 2012.

\*\* Tavassoli FA, Eusebi V. Tumors of the mammary gland. AFIP Atlas Ser 4, Fasc 10; 2009:173-216.

# Морфологична диагностика на мамарните карциноми

Най-честият морфологичен вариант на мамарен карцином е NST. Този морфологичен вариант се характеризира с разнообразна прогноза в зависимост от своята степен на злокачественост<sup>\*</sup>

Градирането на инвазивните NST карциноми на гърдата се извършва съгласно критериите на Elston и Ellis (модификация на Bloom и Richardson)<sup>\*,\*\*</sup>

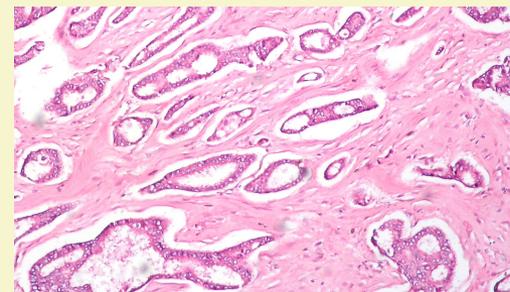
\* Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, et al. WHO classification of tumours of the breast. 4th ed. IARC, Lyon, 2012.

\*\* Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. Histopathology 1991, 19:403-410.

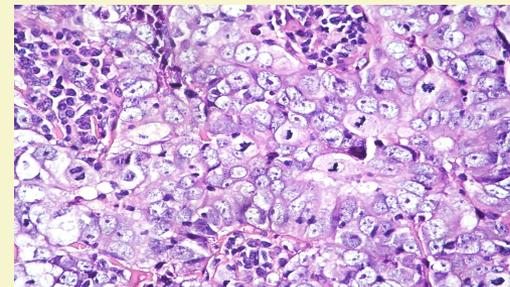
# Морфологична диагностика на мамарните карциноми

## Известно е, че:

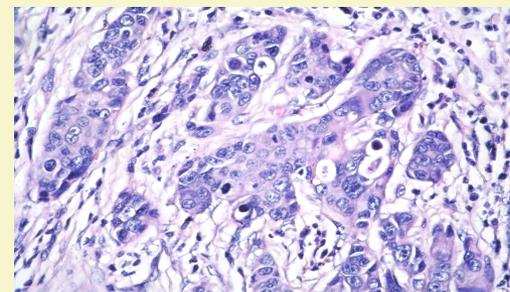
- G1 туморите, при N0 статус, рецидивират рядко (в контекста на неприложена химиотерапия) и не се нуждаят от такава
- G3 туморите при N0 статус, рецидивират често (в контекста на неприложена химиотерапия) и се нуждаят от такава
- Междинната степен на малигненост (G2 ) не определя склонността към рецидивирание



XE 400x



XE 400x



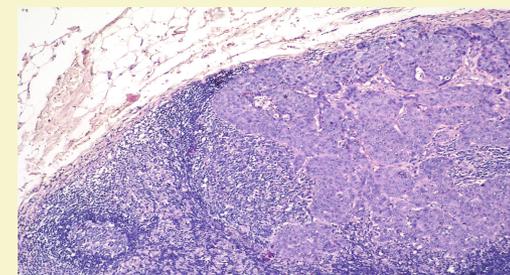
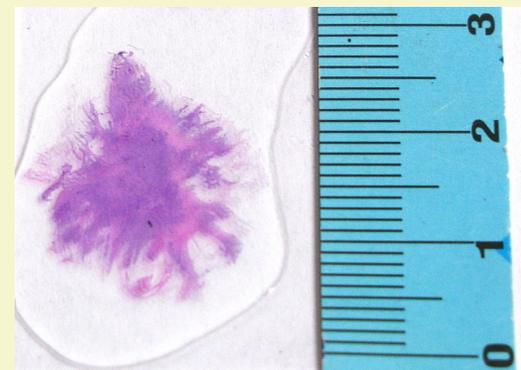
XE 400x

# Морфологична диагностика на мамарните карциноми

Едни от най-силните прогностични рискови фактори при карциномите на гърдата, които към момента са без съответен молекулярен маркер (аналог) са:

- размерите на туморите- pT категория

- статуса на лимфните възли- p N



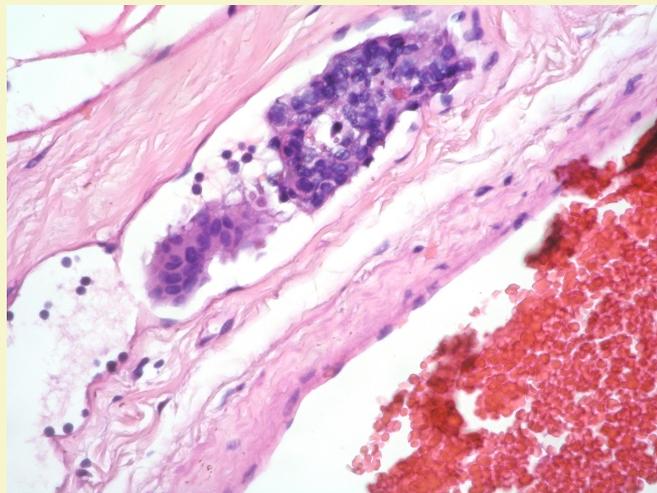
XE 400x

Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, et al. WHO classification of tumours of the breast.4th ed. IARC, Lyon, 2012.

Győrffy B, Hatzis C, Sanft T, et al. Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future. Breast Cancer Research 2015; 17:11. DOI 10.1186/s13058-015-0514-2.

# Морфологична диагностика на мамарните карциноми

Лимфносъдовата инвазия е негативен, независим прогностичен фактор при карцином на гърдата.



XE 400x

Song YJ, Shin SH, Cho JS, et al. The role of lymphovascular invasion as a prognostic factor in patients with lymph node-positive operable invasive breast cancer. *J Breast Cancer*. 2011; 14(3): 198–203. doi: 10.4048/jbc.2011.14.3.198.

# Морфологична диагностика на мамарните карциноми

Съгласно проучване на Tot T и сътр. мултифокалността и дифузното разпределение на инвазивните карциноми на гърдата са свързани с негативна прогноза, независимо от молекулярния субтип на тумора \*

Мултифокалните/мултицентричните карциноми на гърдата са свързани с повишен риск от локални и далечни рецидиви (без значение от вида/обема на операцията) \*\*

Tot T, Pekár G, Hofmeyer S, et al. Molecular phenotypes of unifocal, multifocal, and diffuse invasive breast carcinomas. *Patholog Res Int.* 2011; 2011: 480960.\*

Neri A, Marrelli D, Megha T, et al. "Clinical significance of multifocal and multicentric breast cancers and choice of surgical treatment: a retrospective study on a series of 1158 cases". *BMC Surgery* 2015; 15:1.\*\*

# Акцент

При една част от карциномите на гърдата вземането на решение за адювантна химиотерапия е затруднено (единствено на база морфологични белези на тумора).

След въвеждането в практиката на изследването на стероидния рецепторен статус и HER2 става възможно идентифицирането на „мишени“ за прицелна терапия на карциномите и обособяването на групи от тумори с различна прогноза.

# Стероидни рецептори и HER2

HER2-позитивният статус при инвазивния карцином на гърдата е свързан често с наличие на метастази в лимфни възли, висока степен на малигненост на тумора и е неблагоприятен прогностичен фактор, като същевременно HER2-позитивният статус е добър предиктивен фактор за отговор към таргетна терапия с анти HER2 агенти \*,\*\*.

При инвазивен карцином на гърда, нивата на ER $\alpha$ -експресия са свързани с по-добра петгодишна обща преживяемост, обща преживяемост и отговор към ендокринна терапия \*\*\*,\*\*\*\*.

Туморите с три позитивни таргета ER, PgR и HER2 не са уязвими за прицелна терапия с антиестрогени и анти HER2 агенти. Наличието на двупосочна връзка между HER2 пътя на растеж и този на стероидните рецептори може да бъде в основата както на резистентност към антиендокринна, така и към анти HER2 терапия .\*\*\*\*\*

Nappi O, Carrillo G. Prognostic and predictive factors of breast carcinoma: Beyond hormonal receptors and HER2. EJC Supplements 2008; 6(14): 1-3. \*

Mendes D, Alves C, Afonso N, et al. The benefit of HER2-targeted therapies on overall survival of patients with metastatic HER2-positive breast cancer – a systematic review. Breast Cancer Res 2015; 17: 140.\*\*

Hammond MEH, 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 (16): 2784-2795. \*\*\*

Gown AM. Current issues in ER and HER2 testing by IHC in breast cancer. Mod Pathol. 2008;21 (Suppl. 2):S8-S15. doi: 10.1038/modpathol.2008.34.\*\*\*\*

Vici P, Pizzuti L, Natoli C, et al. Triple positive breast cancer: A distinct subtype? Cancer Treatment Reviews 2015; 41 (2):69-76.\*\*\*\*\*

# Акцент

Взети по отделно, изследваните чрез имунохистохимичен метод ER, PgR и HER2 не дават ясна и еднозначна представа за прогнозата и предикцията за отговор към терапия.

Необходимостта от стратификация на карциномите на гърдата в таксономични единици с ясен клинично значим смисъл води до възникването на концепцията за молекулярно типизиране на карциномите на гърдата.

# Молекулярните субтипове и имунохистохимични сурогати

Единият от вариантите за определяне на молекулярните субтипове на рак на гърдата е експресионно профилиране чрез измерване на транскриптома с помощта на микроарей хибридизация\*.

При изследване на туморна тъкан от пациенти с рак на гърдата с помощта на комплементарни ДНК микроареи са установени определени модели на генна експресия\*\*.

На база тези модели на генна експресия и съответната им клинична прогноза, карциномите на гърдата са разделени в пет „вътрешни субтипа“ : Луминален А; Луминален Б; подобен на нормална гърда; HER2 –свърхекспресиращ и базален\*\*\*.

При последващи анализи е установено, че подобния на нормалната гърда тип не е репродуцируем, като дори се допуска, възможността да се касае за нормални тъканни проби от гърда\*\*\*\*.

Hicks J, Krasnitz A, Lakshmi B, et al. Novel patterns of genome rearrangement and their association with survival in breast cancer. *Genome Res* 2006; 16:1465–1479.\*

Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000, 17;406(6797):747-52.\*\*

Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *PNAS* 2001; 98(19):10869 –10874.\*\*\*

Puztai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF. Molecular classification of breast cancer: limitations and potential. *The Oncologist* 2006; 11 ( 8): 868-877.\*\*\*\*

# Молекулярните субтипове и имунохистохимични сурогати

При последващи проучвания, към основните молекулярни субтипове са предложени и допълнителни категории (нисък на клаудин субтип „Claudin-low“, апокринен молекулярен субтип, както и нов вариант на луминален) \*

За четири от споменатите молекулни субтипове (Луминален А; Луминален Б; HER2 – свръхекспресиращ и базален) са определени сурогатни ИХХ маркери \*\*

Tang P, Tse GM. Immunohistochemical surrogates for molecular classification of breast carcinoma: A 2015 update. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2016; 140(8):806-814.\*

Dai X, Li T, Bai Z, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. Am J Cancer Res 2015;5(10):2929-2943.\*\*

# Сурогатна класификация на имунохистохимични субтипове на карцином на гърдата

	<i>ER</i>	<i>PgR</i>	<i>HER2</i>	<i>Ki-67</i>
<i>Луминален А тип</i>	+	+	-	<i>&lt;14%</i>
<i>Луминален Б тип (с висока пролиферативна активност)</i>	+	+/-	-	<i>&gt;14%</i>
<i>Луминален Б тип (тройно- позитивен)</i>	+	+/-	+	<i>без значение</i>
<b>HER2 свръхекспресиращ</b>	-	-	+	<i>без значение</i>
<i>Тройно-негативен</i>	-	-	-	<i>без значение</i>

Vasconcelos I, Hussainzada A, Berger S, et al. The St. Gallen surrogate classification for breast cancer subtypes successfully predicts tumor presenting features, nodal involvement, recurrence patterns and disease free survival. Breast. 2016;29:181-5. doi: 10.1016/j.breast.2016.07.016.

Stickeler E. Prognostic and predictive markers for treatment decisions in early breast cancer. Breast Care (Basel). 2011; 6(3): 193–198. doi: 10.1159/000329471.

# Сурогатна класификация на ИХХ субтипове на карцином на гърдата

Към споменатите маркери може да се добавят и CK5, AR, p53, EGFR, като позитивността им, разделя базалните от тройно негативните тумори \*.

Молекулярните субтипове са значимо свързани с преживяемост без заболяване, модел на рецидивирание и засягане на лимфни възли \*\*, \*\*\*.

Ki-67 заема важно място при определяне на сурогатните субтипове на рак на гърдата, като същевременно, определянето на конкретни прагови стойности и унифицирана методика при изследването на Ki-67 е цел, трудно постижима към момента \*\*\*\*, \*\*\*\*\*.

Tang P, Tse GM. Immunohistochemical surrogates for molecular classification of breast carcinoma: A 2015 update. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2016; 140(8):806-814.\*

Vasconcelos I, Hussainzada A, Berger S, et al. The St. Gallen surrogate classification for breast cancer subtypes successfully predicts tumor presenting features, nodal involvement, recurrence patterns and disease free survival. Breast. 2016;29:181-5. doi: 10.1016/j.breast.2016.07.016. \*\*

Stickeler E. Prognostic and predictive markers for treatment decisions in early breast cancer. Breast Care (Basel). 2011; 6(3): 193–198. doi: 10.1159/000329471.\*\*\*

Feeley LP, Mulligan AM, Pinnaduwege D, et al. Distinguishing luminal breast cancer subtypes by Ki67, progesterone receptor or TP53 status provides prognostic information Modern Pathology 2014; 27:554–561. doi:10.1038/modpathol.2013.153.\*\*\*\*

Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: Recommendations from the international Ki67 in breast cancer working Group. J Natl Cancer Inst. 2011;103(22): 1656–1664.\*\*\*\*\*

## Акцент

Като основни проблеми, възпрепятстващи приложението на сурогатните маркери се изтъкват използването на различна терминология, липса на стандартизирани биомаркери и стойности, при които те се приемат за позитивни.

# Мультигенни тестове

Индикациите за тяхното приложение и информацията, която носят техните резултати имат известни особености.

Пациенти с NST (дуктални) карциноми; лобуларни карциноми и други морфологични типове ER “+”, HER2 “-” карциноми с междинна степен на малигненост (G2) (и пролиферативен индекс около праговите стойности за висок) биха имали най-голяма полза.

Győrffy B, Hatzis C, Sanft T, et al. Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future. *Breast Cancer Research* 2015; 17:11. DOI 10.1186/s13058-015-0514-2.

Dai X, Li T, Bai Z, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *Am J Cancer Res* 2015;5(10):2929-2943.

Sinn P, Aulmann S, Wirtz R, et al. Multigene assays for classification, prognosis, and prediction in breast cancer: a Critical Review on the background and clinical utility. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2013; 73(9): 932–940. doi: 10.1055/s-0033-1350831.

<http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types/endopredict-test-> линк, актуален към 19.08.2018г.

# Мултигенни тестове и тяхното практическо приложение

	ACES	MammaPrint	Oncotype DX	Prosigna/PAM50 /
Методика /технология	комплексен алгоритъм	технология на микрочипове (базирана на 70 гена)	RT-PCR /RNA/ (21 гена)	Класификационен алгоритъм базиран на PAM50
групи подходящи за теста пациенти	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ ER позитивни</li> <li>➤ с висок риск (определен посредством Oncotype DX)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ ER позитивни, HER2 негативни</li> <li>➤ 1- ви - 2-ри клиничен стадий</li> <li>➤ 0-3 позитивни лимфни възли</li> <li>➤ възраст &lt; 61 години</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ ER позитивни, HER2 негативни</li> <li>➤ 1- ви - 2-ри клиничен стадий</li> <li>➤ 0-3 позитивни лимфни възли</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ ER позитивни, HER2 негативни</li> <li>➤ 1- ви - 2-ри клиничен стадий</li> <li>➤ 0-3 позитивни лимфни възли</li> <li>➤ в менопауза</li> <li>➤ хормонална терапия</li> </ul>
клиничен смисъл	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ определя риска от рецидив след проведена ендокринна и химиотерапия (при инвазивни карциноми)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ определя риска от рецидив за период от 10 години след поставянето на диагнозата (при инвазивни карциноми)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ определя риска от рецидив /предвижда отговора към химиотерапия (при инвазивни карциноми)</li> <li>➤ определя риска от рецидив /прогресия към инвазивен тумор (при дуктален карцином ин ситу )</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ определя риска от рецидив за период от 10 години след поставянето на диагнозата при пациенти провеждали ендокринна терапия в продължение на 5 години (при инвазивни карциноми)</li> </ul>
резултат и интерпретация	бинарен (висок/нисък)	бинарен (висок/нисък)	точкова система 0 до 100 (стратифицирана в три категории на риск)	комплексна интерпретация, (стратифицирана в три категории)

Györfy B, Hatzis C, Sanft T, et al. Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future. Breast Cancer Research 2015; 17:11. DOI 10.1186/s13058-015-0514-2.

Dai X, Li T, Bai Z, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. Am J Cancer Res 2015;5(10):2929-2943.

Sinn P, Aulmann S, Wirtz R, et al. Multigene assays for classification, prognosis, and prediction in breast cancer: a Critical Review on the background and clinical utility. Geburtshilfe Frauenheilkd. 2013; 73(9): 932–940. doi: 10.1055/s-0033-1350831.

<http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types/endopredict-test-> линк, актуален към 19.08.2018г.

## Акцент

Мултигенни тестове са все още  
относително скъпи и с конкретен, тесен  
спектър на приложение, но със  
съществено значение за рутинната  
практика.

# Интегративни клъстери

Изследването „METABRIC“ обхваща значителен брой пациенти (2000), като са проучени алтерациите, свързани с броя на генните копия при туморите и данни от генната експресия.

Събраните данни са обобщени в контекста на клиничния изход от заболяването, след съответна статистическа обработка. В резултат на изследването „METABRIC“ са обособени десет интегративни клъстерни подтипа, които представляват най-подробната молекулярно базирана класификация на карциномите на гърдата към момента .

Russnes HG, Lingjærde OC, Børresen-Dale A-L, et al. Breast cancer molecular stratification from intrinsic subtypes to integrative clusters. *Am J Pathol* 2017;187(10): 2152-2162).

Curtis C, Shah SP, Chin S-F, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature* 2012, 486:346e352.

ER позитивни тумори, стратифицирани на база техния молекулярен тип и допълнително стратифицирани съгласно критериите за съответните интегративни субтипове.

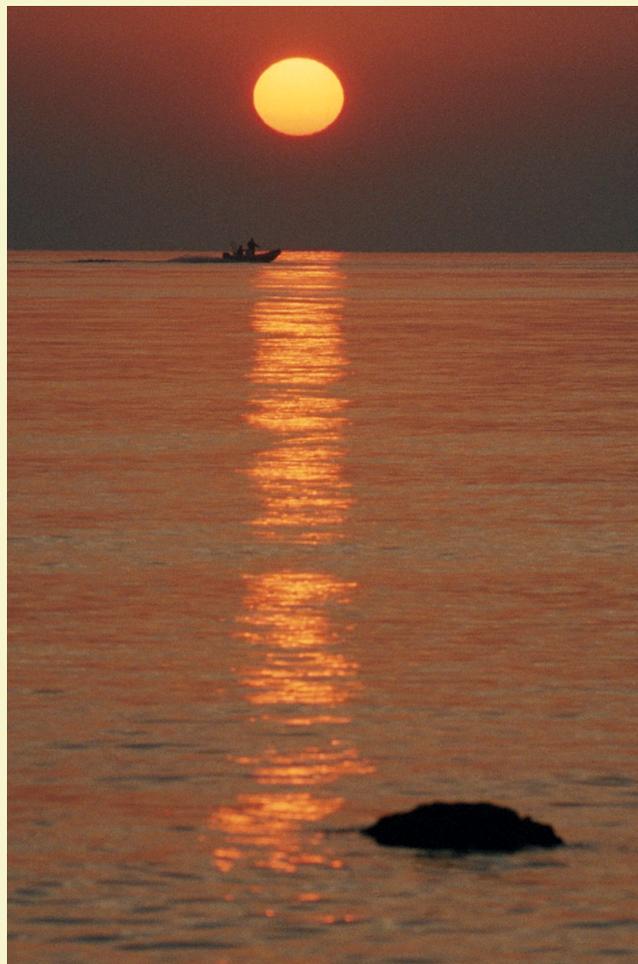


# Акцент

Към момента интегративните клъстери нямат реално приложение в рутинната практика.

Предимството на интегративните клъстери пред класически дефинираните молекулни субтипове е възможността да идентифицират тумори с различни геномни промени в даден молекулярен подтип, които са свързани с различна прогноза.

Взирайки се в детайлите, лесно  
можем да пропуснем цялостната  
картина....



# Акцент

Без определянето на морфологичните белези на лезията, нейната инвазивност и клиничен стадий, прогностичната стойност дори на интегративните кълстери е без съществен клиничен смисъл за конкретния пациент.

# Заключение

Молекулярните подтипове при карциномите на гърдата са една от стъпките към прецизирането на диагностичния и терапевтичен подход. Макар и важни и актуални, с реално приложение в съвременната практика, те в този си вид не отговарят на всички нужди на съвременната диагностика и лечение.

## Заклучение

Индивидуалното и прецизирано поведение при диагностиката и последващото лечение на мамарните карциноми изисква мултидисциплинарен, последователен, системен подход.

Определянето на морфологичните, имунохистохимични и молекулярни характеристики на мамарните карциноми, както и тяхното стадиране са в основата на последващите терапевтични решения при конкретния пациент.





**БЛАГОДАРЯ**

