

1st CONGRESS OF THE WORLD SOCIETY FOR BREAST HEALTH ISTANBUL 2001

VAGUNDOVÁ M., VAGUNDA V.
Masarykův onkologický ústav, Brno

Ve dnech 22-26.9.2001 se konal v Istanbulu 1st Congress of the World Society for Breast Health spojený s 6th National Congress of the Turkish senologic society. Odborný program probíhal paralelně ve 4 sekcích, zahrnoval komplexně celou mamární problematiku, včetně molekulárních metod a řady sdělení k BRCA1(2).

Vybraná sdělení z prezentovaných témat k mamárnímu karcinomu se zaměřením na histopatologické faktory a prognosticko-prediktivní markery:

Stanovení a funkce estrogenového receptoru: dřívější hypotéza o funkci ER předpokládala cytosolický receptor s transformací po vazbě hormonu, translokaci komplexu receptor-hormon do jádra a regulaci genové exprese vedoucí k hormonálnímu efektu. Nová hypotéza: receptor je lokalizovaný v jádře, volně vázaný k DNA. Navázáním hormonu nastane těsnější vazba k DNA a regulace genové exprese. Estrogeny manifestují biologickou aktivitu nejméně na dvou různých receptorech - ER alfa, ER beta s 97% homologií v DNA vazebné doméně, ale jen s 60% homologií v doméně ligand - vazebné. V mamárních, děložních a jaterních epiteliích převažují ER alfa, v plicích, urogenitálním traktu, cévách a kostech ER beta. Obojí se vyskytují v ováriích a mozku. Imunohistochemie na parafinových řezech je dnes metodikou volby stanovení ER. Mezi její výhody patří i nízká cena a možnost provedení prakticky v každé laboratoři. Limitem je semikvantitativní vyhodnocení. Hodnotí se nejen počet pozitivních jader ale i jejich densita, v systému kombinovaného score - H score, Reinerovo score. Sensitivita i specifita je běžně 97%, falešná negativita a pozitivita 2 resp. 3%. U stanovení progesteronového receptoru je celková spolehlivost poněkud horší. Pozitivní odpovědi na endokrinní terapii jsou u fenotypu ER+/PR+ v 78%, u ER-/PR+ v 45%, u ER+/PR- v 34%, u ER-/PR- v 10%. Prediktivní význam ER a PR je zřejmý - např. u ER pozitivních pacientek je goserelin ekvivalentní CMF při hodnocení disease-free intervalu (u negativních je CMF účinnější). Tamoxifen+goserelin je efektivnější než CMF u premenopausálních pacientek pozitivních na PR.

Polymorfismus genu pro estrogen receptor-alpha: genetické polymorphismy ER alfa se zkoumají s ohledem na riziko vzniku karcinomu a také jako faktor agresivity tumoru. Ve studii korejské populace byla nalezena jedna allelická varianta ER alfa - C975G - u poloviny případů. Nebyl prokázán přímý vztah k individuálnímu riziku karcinomu prsu. Byla nalezena pozitivní trend v pro korelace s PR i ER expresí a negativní korelace s p53.

Hodnocení statusu HER2/NEU: HER2 lze hodnotit na úrovni DNA (southern blot, FISH), úrovni transkripční (northern blot, RT-PCR) i proteinu (imunohistochemie, ELISA). Konkordance mezi imunohistochemií a FISH je poměrně nízká ve skupině IHC 2+ (FISH pozitivní v 20-40%). Soubor karcinomů byl nově vyhodnocen real-time PCR (Light Cycler, Roche Diagnostics), klasickou PCR i imunohistochemicky. Mezi metodami byly nalezeny výrazné diskrepance v pozitivitě HER2. Je nezbytná pečlivá standardizace všech metod. Real-time kvantitativní PCR je slibnou metodou pro klinické využití díky její jednoduchosti a rychlosti.

Biopsie sentinelových uzlin: jedná se již o zavedenou vysoce přesnou techniku. Intraoperativní identifikace sentinelových uzlin dosahuje 92- 95%. Při histopatologickém vyšetření je sensitivita 97%. Excise sentinelových uzlin mimo I a II etáž axilly - uzliny podél a. mammaria interna, intramamární, infra či supra klavikulární - se nacházejí v 27% a přispívají k přesnějšímu stagingu. Vyšetřeny musí být všechny radiologicky pozitivní uzliny. Patologický status non-axilárních sentinelových uzlin změnil adjuvatní terapii u 24% pacientek. Prozatím není jasné zda po excisi izolované pozitivní sentinelové uzliny je či není nutno provádět axilární disekci - není k dispozici dlouhodobé prognostické vyhodnocení.

Prognostický význam okultních metastáz v kostní dřeni: pacientky s persistentně negativním nálezem v kostní dřeni měly signifikantně lepší celkové přežití než pacientky s pozitivním nálezem při druhé aspiraci dřene. Průkaz cytokeratinů byl proveden imunohistochemicky, hodnocení výsledků multivariacní analýzou. V klinických trialech by nemělo být opomenuto monitorování stavu kostní dřene. Doporučuje se také ultrasensitivní flowcytometrická technika, kdy epiteliální buňky jsou předem obohaceny pomocí vazby na supramagnetické mikročástice konjugované s anticytokeratinovou protilátkou. V jiných pracích byla provedena detekce mikrometastáz v kostní dřeni kvantitativní RT-PCR: mRNA cytokeratinu 19 a MUC1 byly detekovány real-time PCR. Pozitivní pacientky měly statisticky významně vyšší výskyt vzdálených rekurencí při následném sledování. Pro vyšší sensitivitu i specifitu je doporučeno používat vícečetné specifické primery (začlenění i mammoglobin 1 a 2).

Prognostický a komparativní význam lymfangiogenese a angiogenese: pro angiogenesu je určující systém VEGF/VEGFR. K dnešnímu datu je známo šest VEGF a tři transmembránové receptory VEGFR s tyrosin kinázovou aktivitou. VEGFR3, aktivovaný VEGF-C a VEGF-D je asociován s lymfangiogenesou a může podstatně ovlivňovat šíření karcinomu. Pro vyhodnocení angiogenese v parafinových řezech je metodou volby imunohistochemie s anti-CD31. Hodnocení mikrovaskulatury na 1mm. čtver. se doporučuje nahradit angiogenním indexem tj. počtem mikrocév na 1000 karcinomových bb. Variabilitu výběru hodnocených mikroskopických polí („hot spots“) lze zlepšit použitím obrazové analýzy. Přínosná je také biochemická kvantifikace VEGF v cytosolu enzymoimunochemicky. Cca 80% publikací v odborné literatuře prokazuje nezávislý negativní prognostický význam zvýšené angiogenese - jak pro bezpříznakové, tak pro celkové přežití (i v dlouhodobém sledování, rekurenci se objevují i po 5 letech). Lze tak vytypovat zvýšené rizikovou skupinu pacientek s negativními uzlinami; popsána je i korelace s mikrometastázami do kostní dřene. Z různých typů VEGF byl dosud nejčastěji studován VEGF-A. U karcinomů s negativními uzlinami je silným nezávislým prognostickým faktorem. VEGF-B je také ligandem pro VEGFR-1, koreluje i s lymfatickou invazí mechanismem zvýšení plasminových aktivátorů. VEGF-C byl detekován typicky v případech s pozitivními uzlinami, VEGF-D u inflamatorních karcinomů. Význam lymfangiogenese (imunohistochemie VEGFR3, mRNA VEGF-C) byl zkoumán zatím ojedinele - výsledky prací nejsou dostatečně konklusivní. Inhibice VEGFR3 může být významným postupem pro omezení lymfatického šíření mamárního karcinomu.

Thyminidyl fosforyláza u mamárních karcinomů: experimentální data ukazují, že TP může ovlivňovat terapeutickou efektivitu 5-fluorouracilu a methotrexátu. U žaludečního a kolo-

rektálního karcinomu koreluje s mikrovaskulární densitou. V souboru mamárních karcinomů byla TP stanovena imunohistochemicky. Expresí inverzně korelovala s gradem a p53. Případy s vysokou TP měly signifikantně zvýšené bezpříznakové i celkové přežití. U podskupiny léčené CMF ukázala bivařiční analýza, že TP+ a ER+ tumory jsou asociovány s dlouhým DFS i OS, naopak tumory TP-/ER- mají horší prognosu. Nebyla nalezena korelace TP s mikrovaskulární densitou. Pacientky s vysokou TP mají tedy lepší prognosu při léčbě CMF než skupina s nízkou TP, fenotyp TP/ER může být směrodatný pro výběr chemo/hormonoterapie. TP ale zřejmě nehraje u mamárního karcinomu roli v nádorové angiogenezi. Expresí bcl-2 koreluje s chemosenzitivitou u invazivního karcinomu: chemosenzitivita byla testována in vitro na tkáňových

kultúrách (soubor 133 nádorů). Pro jednotlivá cystostatika chemosenzitivita klesala v pořadí docetaxel, adriamycin, mitomycin C, cyklofosfamid, CDDP, 5-FU od 77% do 33%. Expresí bcl-2 korelovala s gradem, proliferací, ER i PR. Multivariační analýza ukázala signifikanci imunohistochemické negativity bcl-2 pro chemosenzitivitu u všech šesti testovaných cytostatik. Antiapoptotický bcl-2 se ukazuje jako významný faktor rezistence při adjuvantní chemoterapii. Je možno jej specificky blokovat anti-sense oligonukleotidy. Pro p53 nebyly nalezeny statisticky významné korelace k chemosenzitivitě.

Podpořeno MZ ČR, Institucionální výzkumný záměr č. 00020980501