

-4061

doi:10.25143/prom-rsu_2013-17_pdk



Arnis Āboliņš

**KRŪTS VĒŽA
MOLEKULĀRO APAKŠTIPI UN
IMŪNHISTOKĪMISKĀ PROFILA
RAKSTUROJUMS**

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai
Specialitāte – patoloģija

Rīga, 2013

PRK -4061

737387



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Arnis Āboliņš

KRŪTS VĒŽA
MOLEKULĀRO APAKŠTIPU UN
IMŪNHISTOĶĪMISKĀ PROFILA
RAKSTUROJUMS

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – patoloģija

Rīga, 2013

0421007724

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē

Darba zinātniskais vadītājs:

Dr. habil. med., profesors **Jānis Gardovskis**,
Rīgas Stradiņa universitāte (Latvija)

Dr. med., asociētā profesore **Ilze Štrumfa**,
Rīgas Stradiņa universitāte (Latvija)

Oficiālie recenzenti:

Dr. habil. med., profesors **Andrejs Skāgers**,
Rīgas Stradiņa universitāte (Latvija)

Dr. med., **Rūta Brūvere**,
Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs (Latvija)

Dr. habil. med., profesors **Jan Lubinski**,
Pomeranian Medical University, (Polija)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2013. gada 10. jūnijā plkst.15.00
Rīgas Stradiņa universitātes Ķirurģijas promocijas padomes atklātā sēdē
Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā:

www.rsu.lv

Promocijas darbs veikts ar Eiropas Sociālā Fonda projekta “Jaunas starpdisciplināras zinātniskās grupas izveide krūts vēža izpētei, terapijas efektivitātes un pacientu dzīves kvalitātes uzlabošanai” (vienošanās Nr. 2009/0230/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/070) atbalstu.



Promocijas padomes sekretārs:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'A. Skāgers'.

Dr. habil. med., profesors **Andrejs Skāgers**

SATURS

LIETOTIE SAĪSINĀJUMI	5
IEVADS	6
1. MATERIĀLI UN METODEDES	10
1.1. Pacienti	10
1.2. Makroskopiskā izmeklēšana	10
1.3. Mikroskopija	11
1.4. Imūnhistokīmija	12
1.5. Fluorescentā <i>in situ</i> hibridizācija	15
1.6. Datu statistiskā analīze	16
2. REZULTĀTI	17
2.1. Pētāmās grupas raksturojums	17
2.2. Krūts vēža morfoloģisks raksturojums	17
2.3. Klīnisko un imūnhistokīmisko prognostisko faktoru savstarpējās saistības	25
2.4. Dzīvildze	30
2.5. Rezultāti bez statistiskas ticamības	32
3. DISKUSIJA	35
3.1. Operācija	35
3.2. Limfmezglu stāvoklis	36
3.3. Krūts vēža histoloģiskie varianti	36
3.4. Audzēja izmērs (pT)	37
3.5. Iesaistīto paduses limfmezglu apjoms (pN)	39
3.6. Attālās metastāzes (M)	39
3.7. Krūts vēža diferenciacijas pakāpe	40
3.8. Estrogēna un progesterona receptoru ekspresija	40
3.9. Proliferācijas aktivitāte (Ki-67)	41

3.10. HER2 proteīna ekspresija and <i>HER2/neu</i> gēna amplifikācija	42
3.11. Imūnhistoķīmija un krūts vēža molekulārie apakštipi	42
3.12. Pacientu vecums un krūts vēža molekulārie apakštipi	43
3.13. p53 proteīna ekspresija	44
3.14. BCL2 onkoproteīna ekspresija	46
3.15. Ciklooksigenāzes-2 proteīna ekspresija	47
3.16. Ciklīna D1 ekspresija	48
3.17. CK 5/6 bazālā diferenciācija	49
4. SECINĀJUMI	50
5. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS	52
6. ATSAUCES	53
7. PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU	62

LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

ASCO – Amerikas Klīniskās Onkoloģijas biedrība

BCL2 – BCL2 Onkoproteīns

CAP – Amerikas Patologu koledža

CK – Citokeratīns

COX-2 – Ciklooksigenāze – 2

ER – Estrogēnu receptori alfa

FISH – Fluorescentā *in situ* hibridizācija

G – Audzēja diferenciācijas pakāpe

HER – Cilvēka epidermālā augšanas faktora receptors

IHK – Imūnhistoķīmija

M - Attālās metastāzes

N – Metastātiski izmainītie limfmezgli

PR – Progesterona receptori

PVO – Pasaules Veselības organizācija

SN – Standarta novirze

TI – 95% ticamības intervāls

pTNM – Ļaundabīgo audzēju klasifikācija

T – audzēja izmērs

IEVADS

Krūts vēzis ir viens no biežākajiem ļaundabīgajiem audzējiem Eiropas iedzīvotāju populācijā un visbiežākais ļaundabīgais audzējs sievietēm [Bombonati un Sgroi, 2011]. Tā kā krūts vēža ārstēšana ir sarežģīta un kompleksa, medicīnā nepieciešama aizvien plašāka izpratne par krūts vēža bioloģiju.

Krūts vēzis ir heterogēna audzēju kopa, kas iekļauj dažādas formas ar atšķirīgām klīniskām izpausmēm. Klasisko krūts vēža klasifikāciju nosaka Pasaules Veselības organizācija [Tavassoli un Devilee, 2003]. Tomēr audzējiem, kas vienādas morfoloģiskās atradnes dēļ tiktu iekļauti vienā kategorijā, iespējama atšķirīga klīniskā norise. Heterogenitāte jeb viendabīguma iztrūkums visvairāk izteikts audzēju lielākajā morfoloģiskajā grupā, kuru veido duktais vēzis. Klīniski un prognostiski nozīmīgu papildus informāciju par krūts vēža bioloģisko potenciālu var iegūt, nosakot krūts vēža molekulāros apakštīpus. Šī pieeja ir balstīta uz krūts vēzim raksturīgajiem gēnu ekspresijas modeļiem – viena modeļa ietvaros pastāv lielākas atšķirības starp dažādiem audzējiem nekā viena audzēja audos [Perou et al, 2000; Strehl et al, 2011]. Gēnu ekspresijas modeļi atklāj apakštīpus ar dažādām bioloģiskām īpašībām un terapijas iznākumiem. Molekulārie apakštīpi sākotnēji tika noteikti, analizējot gēnu ekspresiju ar mikroartēšanas tehnoloģiju [Perou et al., 2000]. Šobrīd imūnhistoķīmija (IHĶ) tiek pieņemta kā atbilstošākā aizvietojošā surogāt tehnoloģija [Nielsen et al, 2004; Carey et al, 2006] ar augstāku ekonomisko efektu un vienkāršāko tehnisko izpildījumu, neskatoties uz mazāk stabiliem datiem [Sorlie, 2004].

Pētījumos visbiežāk izmantotie krūts vēža molekulārie apakštīpi ir lumināls, cilvēka epidermālā augšanas faktora receptoru (HER) 2 pozitīvs un trīskārši negatīvs [Guarneri un Conte, 2009]. Luminālais apakštīps savukārt

tiek iedalīts luminālā A un luminālā B apakštipā. Bazālais molekulārais krūts vēža apakštips daļēji sakrīt ar trīskārši negatīvo apakštipu, bet nav sinonīms tam, tādējādi radot diskusijas. Luminālajam apakštipam raksturīga estrogēnu (ER) un progesterona (PR) receptoru ekspresija krūts vēža šūnās [Strehl et al., 2011]. Prognostiski sliktākais luminālais B apakštips var tikt noteikts, konstatējot HER2 proteīna ekspresiju vienlaicīgi ar ER un PR ekspresiju pretēji luminālam A apakštipam, kura gadījumā HER2 ekspresiju nenovēro, vai arī saistībā ar paaugstinātu šūnu proliferācijas aktivitāti hormonu receptorus ekspresējošā audzējā [Cheang et al., 2009; Nielsen et al., 2010; Goldhirsch et al., 2011; Strehl et al., 2011]. HER2 pozitīva krūts vēža molekulārā apakštīpa gadījumā netiek novērota ER un PR ekspresija, bet tikai HER2 ekspresija IHĶ un/ vai *HER2/neu* gēna amplifikācija ar *in situ* hibridizācijas metodi [Strehl et al., 2011]. Trīskārši negatīva krūts vēža molekulārā apakštīpa gadījumā audzēja šūnas neekspresē ne ER, ne PR, ne HER2 proteīnu. Trīskārši negatīvs molekulārais apakštips daļēji atbilst bazālajam molekulārajam apakštipam, kuram raksturīga bazālo jeb pamatcitokeratīnu ekspresija. Bazālie keratīni atrodami piena dziedzera kanālu epitēlija bazālās šūnās. Pēdējie divi molekulārie apakštīpi saistīti ar augstu proliferatīvo aktivitāti.

Krūts vēža zinātniskās izpētes aktīvās tēmas ietver epigēnētiskos pētījumus [Huang et al., 2011], mikrovides un krūšu adipocītu izmeklējumus [Place et al., 2011; Tan et al., 2011], pētījumus par imūnhistoķīmiski nosakāmiem nozīmīgiem papildu faktoriem. Jaunākie molekulārie faktori, kas varētu būt nozīmīgi krūts vēža attīstībā, atklāt prognozi un potenciāli tikt saistīti ar mērķterapiju, ir ciklooksigenāze-2 [Kang et al., 2011], interleikīni [Iliopoulos et al., 2011], p53 [Malhotra et al., 2010], p27 [Wander et al., 2011], ciklīns D1 [Li et al., 2011], citokeratīns 5/6 [Li et al., 2011] un ar apoptozi saistītie faktori, tostarp BCL2 onkoproteīns [Zaha un Lazar, 2012]. Starp potenciālajiem prognostiskiem faktoriem perspektīvākie pētniecības mērķi varētu būt tās molekulas, kas nosaka audzēja galvenās bioloģiskās īpašības –

iesaistās šūnu proliferācijā un šūnu cikla kontrolē (ciklīns D1), ļauj audzēja šūnām izvairīties no apoptozes (BCL2 onkoproteīns), saistīti ar mutācijām proto-onkogēnos (p53) un angiogēnēzi (ciklooksigenāze-2).

Pētījuma mērķis: izmantojot imūnhistoķīmiskās vizualizācijas metodi, klasificēt krūts vēža gadījumus pēc molekulāriem apakštipiem un izvērtēt jaunus prognostiskos faktorus krūts vēža audos.

Pētījuma uzdevumi:

1. Pēc totālā testa standartizācijas metodes izveidot imūnhistoķīmiskās tehnoloģijas BCL2 onkoproteīna, p53, ciklīna D1 un ciklooksigenāzes-2 proteīna ekspresijas noteikšanai.
2. Izmantojot iegūtās tehnoloģijas, imūnhistoķīmiski noteikt BCL2 onkoproteīna, p53, ciklīna D1, ciklooksigenāzes-2 proteīna un citokeratīna 5/6 ekspresiju krūts vēža audos.
3. Klasificēt krūts vēža gadījumus pēc molekulāriem apakštipiem (lumināls A, lumināls B (HER2 pozitīvs), lumināls B (HER2 negatīvs), HER2 pozitīvs, trīskārši negatīvs).
4. Izvērtēt saistības starp jaunajiem imūnhistoķīmiskiem marķieriem, molekulāriem apakštipiem un zināmiem prognostiskiem faktoriem (pT, pN un audzēja diferenciācijas pakāpi), kā arī dzīvildzi.
5. Atklāt tos imūnhistoķīmiskos marķierus, kas var tikt rekomendēti klīniskajā krūts vēža diagnostikā kopā ar jau nosakāmiem marķieriem.

Zinātniskie pieņēmumi jeb darba hipotēzes:

Olbaltumvielām, kas iesaistītas nozīmīgos kancerogēneses procesos kā šūnu cikla kontrole un proliferācija, (ciklīns D1), apoptozes bloķēšana (BCL2 onkoproteīns), angiogēnēze (ciklooksigenāze-2), kā arī onkoproteīnu ekspresija proto-onkogēnu mutāciju dēļ (p53), var būt patoģenētiska nozīme, par ko

liecina saistība ar audzēja morfoloģiskajām izpausmēm un molekulāro raksturojumu. Molekulārai klasifikācijai, kā arī ar imūnhistoķīmiskās vizualizācijas metodēm pētāmām un mērāmām krūts vēža īpašībām var būt prognostiska nozīme. Gūtie rezultāti var sniegt ieskatu arī par krūts vēža nevienbīgumu.

Zinātniskā un praktiskā novitāte

Pašreizējā zinātniskā darba ietvaros pieci molekulārie marķieri, kuru diagnostiskā un prognostiskā vērtība dažādos literatūras avotos tiek raksturota pretrunīgi, ir novērtēti plašā un labi raksturotā primāru krūts vēžu grupā. Gūtie secinājumi paplašinās esošo uz pierādījumiem balstītu zināšanu kopumu. Reģionālā aspektā pētījums atklāj lielāko un plašāko morfoloģisko datu kopumu par krūts vēzi. Ņemot vērā ģeogrāfiskās atšķirības krūts vēža sastopamībā un morfoloģijā, reģionālie dati atklāj jaunu informāciju.

Šis darbs ir atvieglojis molekulārās klasifikācijas pielietojumu krūts vēža izmeklēšanā regulārā ikdienas diagnostiskā praksē. Molekulārā klasifikācija ir tikusi pielietota saskaņā ar St.Gallēnas vadlīnijām (2011), kas ir mūsdienīga pieeja pasaules medicīnas praksē.

Personiskais ieguldījums

Autors personīgi piedalījies visās pētījuma stadijās, sākot no pētījuma plānojuma, marķieru, datu ieguves veidu izvēles, līdz pat IHĶ veikšanai, datu ieguvei un statistiskai analīzei, literatūras izpētei, datu analīzei un aprakstam. Autors ir darbā iegūto makroskopisko fotoattēlu un mikrofotogrāfiju autors.

Ētiskie apsvērumi

Pētījums apstiprināts Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejā.

1. MATERIĀLI UN METODEDES

1.1. Pacienti

Pētījumā iekļautas 383 sievietes ar primāru, invazīvu krūts vēzi, kas diagnosticēts un operēts laika periodā no 2008.gada janvāra līdz 2010.gada decembrim Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā. Pacientes, kurām nebija invazīva audzēja vai kuras saņēmušas ķīmijterapiju pirms krūts vēža operācijas, tika izslēgtas no pētījuma.

Dati par audzēja klīnisko ainu un terapiju tika iegūti Ķirurģijas klīnikā, bet morfoloģiskie dati – Patoloģijas institūtā. Audzēja audu makroskopiskā un mikroskopiskā izmeklēšana veikta saskaņā ar krūts vēža morfoloģiskās izmeklēšanas protokolu, novērtējot morfoloģiskos prognostiskos faktorus.

1.2. Makroskopiskā izmeklēšana

Krūts vēža morfoloģiskās izmeklēšanas protokols sastāvēja no divām sadaļām: klīniskajiem datiem un patoloģiskajiem datiem, kas savukārt iekļāva makroskopisko un mikroskopisko novērtējumu. Klīniskā informācija (pacienta identifikācijas dati, vecums, dzimums un pirms operācijas saņemtā terapija) tika iegūta Ķirurģijas klīnikā, bet morfoloģisko sadaļu aizpildījis viens patologs Patoloģijas institūtā. Makroskopiskā izmeklēšana ietvēra krūšu operāciju materiāla svara noteikšanu, izmēru mērījumus trijās dimensijās, audzēja lokalizācijas izvērtēšanu, audzēja krāsas un malas (noapaļotas, atbīdošas vai infiltratīvas) novērtēšanu, audzēja izmēra noteikšanu trīs dimensijās un īsākā attāluma starp audzēja un ķirurģisko rezekcijas līniju mērījumus. Paduses audos tika meklēti limfmezgli. Mikroskopiskai izmeklēšanai tika sagatavoti audu paraugi no ķirurģiskās rezekcijas līnijas, audzēja, krūts gala, ādas virs audzēja

un krūts dziedzeru audiem attālāk no makroskopiski redzamā audzēja. Mikroskopiskai izmeklēšanai tika nodoti arī visi identificētie limfmezgli.

1.3. Mikroskopija

Pēc makroskopiskās izmeklēšanas primārā audzēja audu paraugi tika fiksēti neitrālā buferētā 10% formalīnā, apstrādāti vakuuma infiltrācijas procesorā *Tissue-Tek[®] VIPTM 6* (*Sakura Seiki Co., Ltd., Nagano, Japāna*) un ieguldīti paraplastā, izmantojot ieguldīšanas sistēmu *TES 99* (*Medite GmbH, Burgdorfa, Vācija*). Pēc ieguldīšanas no parafina blokos ietvertajiem audu paraugiem ar mikrotomu *Accu-cut SRM 200CW* (*Sakura Finetek Europa B.V., Nīderlande*) ieguva 4 mikronu biezus griezumus, ko uztvēra uz priekšmetstikliem un krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu audu krāsojamā automātā *TST 44* (*Medite Medizintechnik, Vācija*). Nokrāsotie preparāti tika pārklāti ar segstikliņu. Ar hematoksilīna un eozīna metodi krāsotos paraugos mikroskopiski tika izvērtēts ķirurģisko rezekciju līniju stāvoklis, audzēja histoloģiskais tips un diferenciācijas pakāpe, *carcinoma in situ*, mikrokalcifikātu, audzēja invāzijas limfvados, asinsvados un perineirālas augšanas esamība, sekundārās izmaiņas kā nekroze, skleroze, iekaisums, kā arī limfmezglu stāvoklis. Audzēja diagnostikā izmantota Pasaules Veselības organizācijas (PVO) krūts audzēju klasifikācija un tai atbilstoši diagnostiskie kritēriji [*Tavassoli and Devilee, 2003*]. Audzēja diferenciācijas pakāpe (G) tika novērtēta, pamatojoties uz Skarfa-Bloma-Ričardsona klasifikāciju, ko modificējuši Elstons un Eliss: G1 – labi diferencēts audzējs, G2 – mēreni diferencēts audzējs, G3 – slikti diferencēts audzējs [*Elston et al., 1991*]. *In situ* izvadū vēža bojājumi tika klasificēti kā ductāla *carcinoma in situ* ar vai bez *comedo* tipa komponenta un lobulārs vēzis *in situ*. Audzēja pT un pN parametri tika noteikti saskaņā ar audu izmeklējumiem atbilstošo ļaundabīgo audzēju

klasifikāciju (pTNM) klasifikāciju, balstoties uz *AJCC Cancer staging manual* 7. izdevuma kritērijiem [Edge et al., 2009].

1.4. Imūnhistoķīmija

Imūnhistoķīmiski tika izmeklēti formalīnā fiksēti, paraplastā ieguldīti audi, kas sagriezti 3 mikronu biezos griezumos uz elektrostatiem priekšmetstikliem. Darbā izmantots primāro antivielu panelis ER (klons 1D5, atšķaidījums 1:1), PR (klons PgR636, 1:1), E-kadherīna (klons NCH-38, 1:50), aktīna (klons HHHF35, 1:400), p53 (klons DO-7, 1:400), Ki-67 (klons MIB-1, 1:100), BCL2 onkoproteīna (BCL2; klons 124, 1:800), ciklooksigenāzes-2 (COX-2; klons CX-294, 1:200), ciklīna D1 (klons EP12, 1:80) un citokeratīna (CK) 5/6 (klons D5/16 B4, 1:100) noteikšanai. BCL2, ciklīna D1, COX-2 un p53 proteīna primāro antivielu optimālais atšķaidījums, inkubācijas laiks un antigēna struktūras termiskās atjaunināšanas metodika tika atklāta ar totālā standartizācijas testa metodi. Visi IHĶ reaģenti tika ražoti *Dako*, Glostrupā, Dānijā. HER2 proteīna ekspresija tika noteikta ar *HercepTest*TM.

ER un PR IHĶ izvērtējums tika veikts saskaņā ar Amerikas Klīniskās Onkoloģijas biedrības/Amerikas Patologu koledžas (*ASCO/CAP*) vadlīniju ieteikumiem. Gadījums tika uzskatīts par pozitīvu, ja novēroja vismaz 1% iekrāsotus audzēja šūnu kodolus neatkarīgi no reakcijas intensitātes [Hammond et al., 2010].

HER2 proteīna ekspresijas semikvantitatīvā izvērtēšana veikta saskaņā ar *HercepTest*TM noteiktiem kritērijiem: 0, audzēja šūnās nekonstatē ekspresiju vai membranozu ekspresiju konstatē mazāk nekā 10% audzēja šūnu; 1+, vāja/tikko manāma membranoza ekspresija konstatēta vairāk nekā 10% audzēja šūnu, bet izpaužas tikai daļā šūnas perimetra; 2+, vāji vai mēreni intensīvi pilnībā iekrāsotu membrānu novēro vairāk nekā 10% audzēja šūnu; 3+, stipra, pilnīga membranoza ekspresija konstatēta vairāk nekā 30% audzēja šūnu.

HerceptTest[™] atrade tiek interpretēta kā negatīva (0 un 1+ krāsojuma intensitāte), vāji pozitīva (2+ krāsojuma intensitāte), un pozitīva (3+ krāsojuma intensitāte) saskaņā ar *Dako HerceptTest*[™], 16th ed. Saskaņā ar *ASCO/CAP* vadlīnijām par HER2 testēšanu krūts vēža audos HER2 ekspresija tiek uzskatīta par pozitīvu, ja >30% no šūnām konstatē pilnīgi iekrāsotu membrānu IHĶ vai fluorescentā *in situ* hibridizācijā (FISH) *HER2/neu* gēna kopijas ir amplificētas attiecībā *HER2/neu* pret CEP17 > 2,2 vai vidējais *HER2/neu* gēna kopiju skaits >6 signāliem šūnu kodolos testos bez iekšējās kontroles. FISH tehnoloģija detalizētāk aprakstīta turpmākajā tekstā [Wolff et al., 2007].

Prolifērācijas aktivitāte jeb Ki-67 indekss tika noteikts, saskaitot pozitīvi krāsotos audzēja šūnu kodolus 200 šūnu vidū, un izteikts procentos. Ki-67 indekss tika uzskatīts par zemu, ja tā vērtība bija zem 14%, bet augsts, ja tas bija vienāds vai pārsniedza 14% no audzēja šūnām [Goldhirsch et al., 2011].

p53 procentuālā ekspresija audzēja šūnu kodolos tika izvērtēta puskvantitatīvi: 0, 0%; 1, 1-10%; 2, 11-50%, bet 3, > 50%. Statistiskās analizēs p53 ekspresijas zemākie rezultāti kā 0 un 1 tika uzskatīti par negatīviem, bet rezultāti 2 un 3 par pozitīviem [Yamashita et al., 2006].

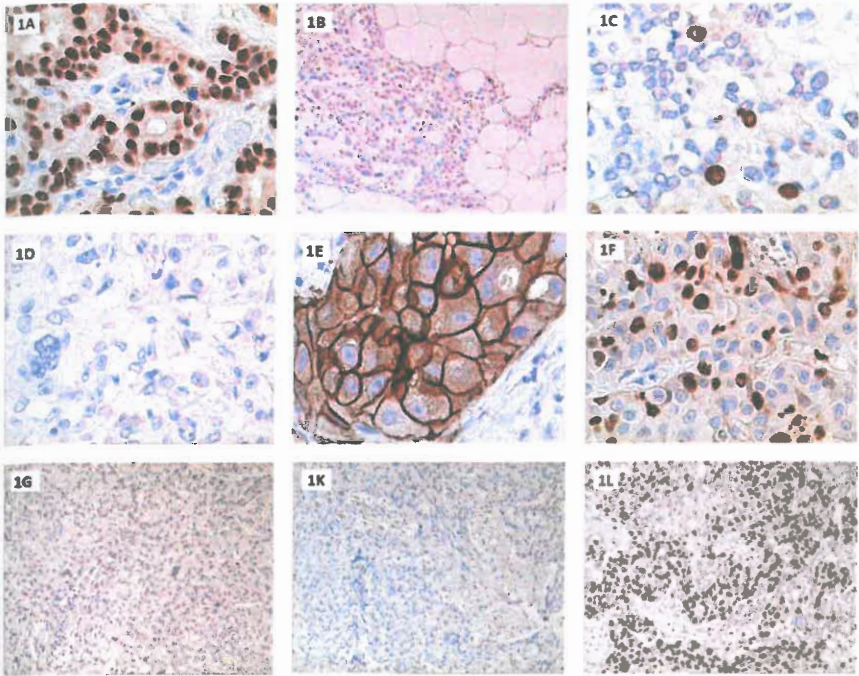
BCL2 ekspresija tika uzskatīta par patiesi pozitīvu, ja to novēroja citoplazmā un/ vai vēža šūnu membrānā. Tika izveidota sekojoša puskvantitatīva sistēma: negatīvs rezultāts 0, 0%; 1+, ja pozitīvas mazāk nekā 10% audzēja šūnu; 2+, ja pozitīvas 10-50% šūnu; 3+, ja pozitīvas vairāk nekā 50% šūnas [Zaha un Lazar, 2012]. Saskaņā ar *Callagy et al.* ieteikumu, BCL2 pozitīvai izteiksmei noteikta 10% robežvērtība [Callagy et al., 2006].

COX-2 ekspresiju novēro šūnu citoplazmā. Izvērtējums tika veikts atbilstoši intensitātei kā 0 (negatīva), 1 (vāja), 2 (mērena), vai 3 (intensīva ekspresija) un pozitīvo audzēju šūnu procentuālajam daudzumam. COX-2 ekspresija tika uzskatīta par pozitīvu, ja intensitāte bija 2 vai 3 un ekspresijas plašums sasniedza vismaz 10% audzēja šūnu [Lee et al., 2010].

Ciklīns D1 tika izvērtēts kā pozitīvo audzēja šūnu procentuālais īpatsvars, vērtējot nukleāro ekspresiju audzēju šūnu kodolos. Pozitīva vērtējuma robežsliksnis bija 10% [Rudas *et al.*, 2008].

Jebkāda specifiska audzēja šūnu citoplazmas reakcija, veicot CK 5/6 imūnhistoķīmisku vizualizāciju, tika uzskatīta par pozitīvu [Callagy *et al.*, 2006].

Pieci krūts vēža molekulārie apakštīpi tika definēti, pamatojoties uz ER, PR, HER2 un Ki-67 līmeņiem, kurus noteica IHĶ (1.1.attēls). Pozitīvi ER un/ vai PR, negatīvs HER2, zems Ki-67 (<14%) atbilda luminālam A apakštīpam. Luminālais B apakštīps tika sadalīts divās grupās - lumināls B (HER2 negatīvs) un lumināls B (HER2 pozitīvs). Lumināls B (HER2 negatīvs) apakštīps iekļāva audzējus ar pozitīvu ER un/vai PR, negatīvu HER2 un augstu Ki-67 ($\geq 14\%$), bet lumināls B (HER2 pozitīvs) apakštīps – gadījumus ar pozitīvu ER un/ vai PR ekspresiju, pozitīvu HER2 un jebkura līmeņa proliferācijas intensitāti (Ki-67). HER2 pozitīvs krūts vēža apakštīps saturēja pozitīvu (3+) HER2 apvienojumā ar ER un PR izzudumu. Krūts vēža gadījumi, kas neekspresēja ER, PR un HER2, tika iekļauti trīskārši negatīvā krūts vēža apakšgrupā [Goldhirsch *et al.*, 2011].



1.1.attēls. Krūts vēža molekulārie apakštipi. A-C, Lumināls krūts vēzis: A, Estrogēna receptoru ekspresija; B, HER2 proteīna ekspresija netiek konstatēta; C, Zema proliferācijas frakcija. D-F, HER2 pozitīvs krūts vēzis: D, Estrogēna receptori netiek konstatēti; E, Izteikta HER2 proteīna ekspresija; F, Vidēja proliferācijas frakcija. G-L, Trīskārši negatīvs krūts vēzis: G, Hormonu receptori netiek ekspresēti; K, HER2 proteīns netiek konstatēts; L, Augsta proliferācijas frakcija. Imūnperoksidāze; A, D and G, Anti-estrogēna receptori alfa; B, E and K, HercepTests; C, F and L, Anti-Ki-67. Attēla palielinājums 100x (B, G-L) un 400x (A, C-F). Mikrofotogrāfiju autors A.Āboliņš.

1.5. Fluorescentā *in situ* hibridizācija

FISH analīzei tika izmantots Dako reaģentu komplekts *HER2/neu FISH pharmDx Kit* pēc ražotāja noteiktās instrukcijas apstrādājot 4 mikronus biežus audu griezumus. Audzēju audu griezumi tika deparafinizēti un rehidratēti istabas temperatūrā. Pēc pirmapstrādes, pepsīna sadalīšanas, dehidratācijas, zondes pievienošanas un pārklāšanas ar segstikliņu, preparāti

Dako hibridizatorā tika automātiski denaturēti un hibridizēti 45°C temperatūrā visu nakti (16 stundas). Nākamā dienā pēc preparātu skalošanas tie tika krāsoti ar 4,6-diamino-2-fenilindolu un pārklāti ar segstikliņu. Ar fluorescences mikroskopu *Olympus CH30LF200* 1000x palielinājumā ar datorizētu attēlveidošanas sistēmu 30 minūtes pēc preparātu sagatavošanas tika izvērtēta fluorescence. Saistībā ar *HER2/neu* amplifikāciju tika izvērtētas vismaz 50 audzēja šūnas un 50 kontroles šūnas. Rezultāti tika izteikti kā amplifikācijas attiecība, respektīvi, *HER2/neu* pret *CEP17* signālu attiecība vienā šūnā. Saskaņā ar ražotāja norādījumiem attiecība, kas vienāda ar 2 vai lielāka par šo vērtību tika uzskatīta par amplifikācijas kritēriju. Normāls izvadū epitēlijs un limfocīti izmeklējamā paraugā kalpoja kā kontroles šūnas [Xu et al., 2003].

1.6. Datu statistiskā analīze

Visi aprēķini tika veikti, izmantojot *IBM SPSS Statistics Version 20,0* statistikas programmatūras paketi (*International Business Machines Corp Armonk, Ņujorka, ASV*), izmantojot vidējo vērtību \pm standarta novirze, aprakstošās statistikas metodes kā aprakstošo un krusteniskās tabulas Hi-kvadrātu metodi, divvariāciju korelāciju kā Spīrmena rangū korelācijas koeficientu, ne-parametriskās metodes kā *Mann-Whitney* U-testu un *Kruskal-Wallis* vienvirziena dispersijas analīzi – ANOVA. Dzīvildzes izvērtējumam izmantota Kaplāna-Meijera analīze. Par statistiski nozīmīgu tika uzskatīta *P* vērtība $< 0,05$.

2. REZULTĀTI

2.1. Pētāmās grupas raksturojums

Pētījumā tika iekļautas 383 sievietes ar primāru, invazīvu krūts vēzi. Pacienšu vecums bija no 27-88 gadiem (vidējais vecums \pm standarta novirze (SN), $59,59 \pm 12,22$).

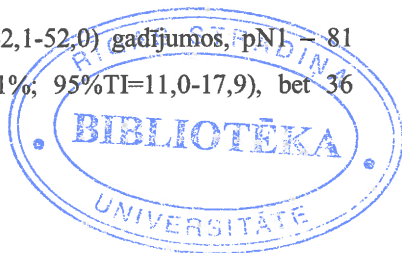
Tika veiktas 229 mastektomijas (59,8%; 95% ticamības intervāls (TI)=54,8-64,5) un 154 sektorālas ekscīzijas (40,2%; 95%TI=35,5-45,2). 197 gadījumos (51,4%; 95%TI=46,5-56,1) krūts vēzis bija attīstījies labajā krūtī, bet 186 gadījumos (48,6%; 95%TI=43,9-53,5) kreisajā krūtī.

Kopā ar krūts operāciju 78 gadījumos tika veikta sargmezgla ķirurģiska izņemšana (21,5%; 95%TI=17,7-26,0), bet 284 gadījumos paduses limfadenektomija (78,5%; 95%TI=74,0-82,3). Izmeklējot 362 limfmezglu operāciju materiālu, limfmezgli morfoloģiski tika atklāti 351 gadījumā (97,0%; 95%TI=94,6-98,3). Katrā izmeklētajā gadījumā vidēji \pm SN tika iegūti $12,5 \pm 8,2$ limfas mezgli. Krūts vēža metastāžu skaits iegūtajos limfmezglos svārstījās robežās 0-32 (vidējais daudzums \pm SN, $2,8 \pm 5,0$).

2.2. Krūts vēža morfoloģisks raksturojums

Balstoties uz krūts audu izmeklējumiem atbilstošo pTNM klasifikāciju, pT sadaļā no 383 izmeklētiem audzējiem pT1 konstatēts 161 gadījumā (42%; 95%TI=37,2-47,0); pT2 – 159 (41,6%; 95%TI=36,7-46,5); pT3 – 35 (9,1%; 95%TI=6,6-12,4) un pT4 – 28 gadījumos (7,3%; 95%TI=5,1-10,4).

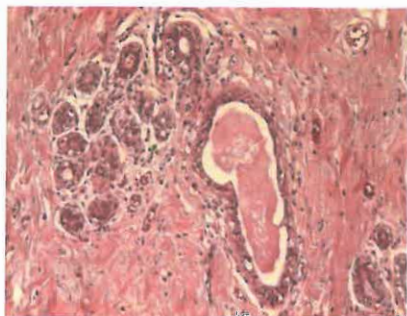
pN0 konstatēts 180 (47%; 95%TI=42,1-52,0) gadījumos, pN1 – 81 (21,1%; 95%TI=17,4-25,5), pN2 – 54 (14,1%; 95%TI=11,0-17,9), bet 36



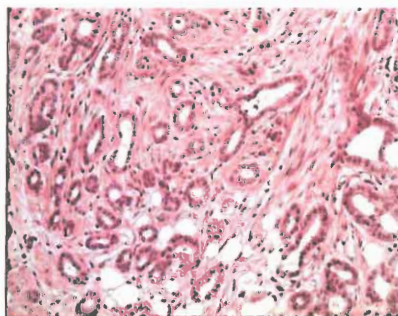
gadījumos (9,4%; 95%TI=6,9-12,7) pacientei bija pN3. 32 gadījumos (8,4%; 95%TI=6,0-11,6) limfmezglus operācijas materiālā identificēt neizdevās (pNx).

12 pacientēm (3,1%, 95%TI=1,8-5,4) vienlaicīgi ar veikto krūts operāciju tika atklātas attālas krūts vēža metastāzes (M1), kas bija skārūšas kaulus – 33,3% (95%TI=13,8-60,9), centrālo nervu sistēmu (galvas smadzenes) – 25% (95%TI=8,9-53,2), plaušas – 25% (95%TI=8,9-53,2) un aknas – 16,7% (95%TI=4,7-44,8) pacienšu ar M1 izplatību.

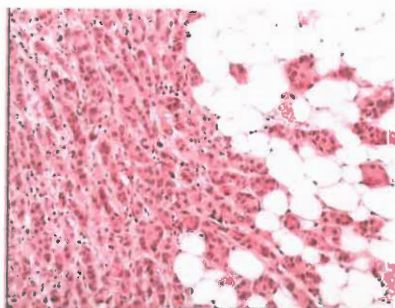
Krūts dziedzerī (2.1.attēls) audzēja diferenciācijas pakāpe bija sekojoša: G1 krūts vēzis (2.2.attēls) tika novērots 61 gadījumā (16,0%; 95%TI=12,2-19,6), G2 (2.3.attēls) – 138 (36,0%; 95%TI=31,9-41,1), bet G3 (2.4.attēls) – 184 gadījumos (48,0%; 95%TI=43,8-52,8).



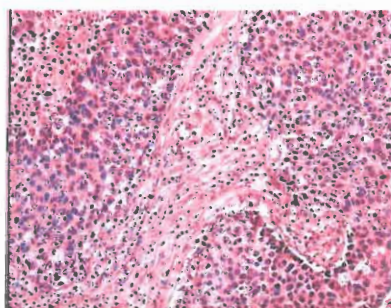
2.1.attēls. Krūts dziedzera audi bez malignitātes. Hematoksilīns – eozīns, attēla palielinājums 100 x.



2.2.attēls. Augstu diferencēts invazīvs duktais krūts vēzis. Hematoksilīns – eozīns, attēla palielinājums 100 x.



2.3.attēls. Vidēji diferencēts invazīvs duktais krūts vēzis. Hematoksilīns – eozīns, attēla palielinājums 100 x.



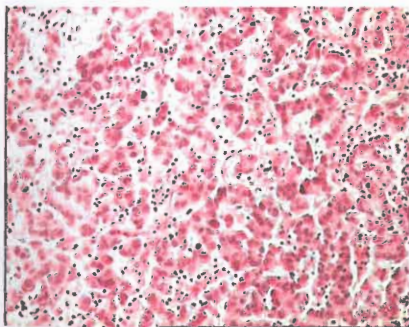
2.4.attēls. Zemu diferencēts invazīvs duktais krūts vēzis. Hematoksilīns – eozīns, attēla palielinājums 100 x.

Invazīvs duktāls krūts vēzis veidoja 79,4% (304) no 383 primāriem krūts vēžiem. Diagnosticēto krūts vēžu sadalījums pēc morfoloģiskā varianta raksturots 2.1.tabulā

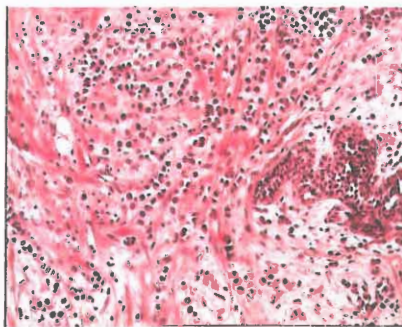
2.1.tabula

Krūts vēža morfoloģisko variantu biežums

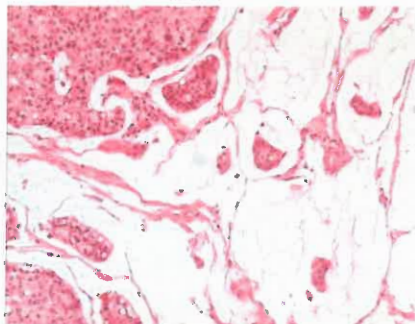
Krūts vēža morfoloģiskais variants	Skaits	Biežums, %	95% ticamības intervāls, %	
			Zemākā robež- vērtība	Augstākā robež- vērtība
Invazīvs duktāls vēzis (2.5.attēls)	304	79,4	75,5	83,6
Invazīvs lobulārs vēzis (2.6.attēls)	51	13,3	9,9	16,7
Mucinozs krūts vēzis (2.7.attēls)	13	3,4	1,6	5,2
Apokrīns vēzis	4	1,0	0,3	2,1
Invazīvs kribriforms vēzis	3	0,8	0,0	1,8
Metaplastisks krūts vēzis	2	0,5	0,0	1,3
Medullārs krūts vēzis (2.8.attēls)	2	0,5	0,0	1,3
Invazīvs papillārs vēzis	3	0,8	0,0	1,8
Tubulārs krūts vēzis	1	0,3	0,0	0,8
Kopā	383	100,0		



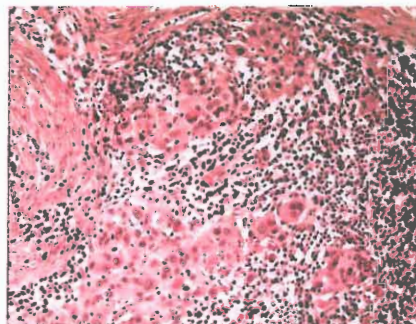
2.5.attēls. Zemu diferencēts invazīvs duktāls krūts vēzis. Hematoksilīns – eozīns, attēla palielinājums 100 x.



2.6.attēls. Invazīvs lobulārs krūts vēzis. Hematoksilīns – eozīns, attēla palielinājums 100 x.



2.7.attēls. Mucinozs krūts vēzis.
Hematoksilīns – eozīns, attēla palielinājums 100 x.



2.8.attēls. Medullārs krūts vēzis.
Hematoksilīns – eozīns, attēla palielinājums 100 x.

Mikrofotogrāfiju autors A.Āboliņš

Imūnhistoķīmiskas vizualizācijas rezultātā tika noteikta ER, PR, HER2 and Ki-67 ekspresija. Ņemot vērā šo datus, noteikti krūts vēža molekulārie apakštipi. Pacienšu un audzēju raksturojums atbilstoši molekulārajiem apakštipiem apkopots 2.2.tabulā.

2.2.tabula

Krūts vēža molekulāro apakštipu raksturojums

Mainīgie parametri	Visi gadījumi n=383	Lumināls A n=153 (39,9%)	Lumināls B (HER2 negatīvs) n=125 (32,6%)	Lumināls B (HER2 pozitīvs) n=24 (6,3%)	HER2 pozitīvs n=32 (8,4%)	Trīskārši negatīvs n=49 (12,8%)	P vē
Vidējais vecums ± SN (gadi)	59,59 ± 12,22	61,62 ± 11,61	59,66 ± 12,18	55,13 ± 11,80	57,56 ± 11,31	56,7 ± 13,88	0,0
Vidējais audzēja tilpums ± SN (cm ³)	18,51 ± 110,53	6,46 ± 18,09	7,96 ± 13,78	36,53 ± 88,94	7,47 ± 10,02	79,98 ± 291,80	0,0

2.2.tabulas turpinājums

Mainīgie parametri	Visi gadījumi n=383	Lumināls A n=153 (39,9%)	Lumināls B (HER2 negatīvs) n=125 (32,6%)	Lumināls B (HER2 pozitīvs) n=24 (6,3%)	HER2 pozitīvs n=32 (8,4%)	Trīskārši negatīvi n=49 (12,8%)	P vērtība
pT 1	161 (42%)	85 (55,6%)	37 (29,6%)	8 (33,3%)	11 (34,4%)	20 (40,8%)	0,002
pT 2	159 (41,5%)	50 (32,7%)	63 (50,4%)	9 (37,5%)	18 (56,3%)	19 (38,8%)	
pT 3	35 (9,2%)	6 (3,9%)	17 (13,6%)	4 (16,7%)	2 (6,3%)	6 (12,2%)	
pT 4	28 (7,3%)	12 (7,8%)	8 (6,4%)	3 (12,5%)	1 (3,1%)	4 (8,2%)	
pN 0	180 (51,3%)	90 (63,8%)	43 (37,7%)	9 (39,1%)	14 (48,3%)	24 (54,5%)	<0,0001
pN 1	81 (23,1%)	30 (21,4%)	33 (29,0%)	5 (21,7%)	8 (27,6%)	5 (11,4%)	
pN 2	55 (15,6%)	12 (8,5%)	26 (22,8%)	8 (34,8%)	3 (10,3%)	6 (13,6%)	
pN 3	35 (10,0%)	9 (6,4%)	12 (10,5%)	1 (4,4%)	4 (13,8%)	9 (20,5%)	
Nx	32	12	11	1	3	5	-
G 1	61 (16,0%)	53 (34,6%)	4 (3,2%)	2 (8,4%)	1 (3,1%)	1 (,0%)	<0,0001
G 2	138 (36,0%)	72 (47,1%)	57 (45,6%)	5 (20,8%)	2 (6,3%)	2 (4,1%)	
G 3	184 (48,0%)	28 (18,3%)	64 (51,2%)	17 (70,8%)	29 (90,6%)	46 (93,9%)	
Invāzija limfas vados	88 (23,0%)	22 (14,4%)	33 (26,4%)	8 (33,3%)	12 (37,5%)	13 (26,5%)	0,012
Invāziju limfas vados nenovēro	295 (77,0%)	131 (85,6%)	92 (73,6%)	16 (66,7%)	20 (62,5%)	36 (73,5%)	
Invāzija asinsvados	22 (5,7%)	5 (3,3%)	9 (7,2%)	1 (4,2%)	2 (6,2%)	5 (10,0%)	0,386
Invāziju asinsvados nenovēro	361 (94,3%)	147 (96,7%)	116 (92,8%)	23 (95,8%)	30 (93,8%)	45 (90,0%)	
Perineirāla invāzija	57 (14,9%)	25 (16,3%)	23 (18,4%)	4 (16,7%)	1 (3,1%)	4 (8,2%)	0,148
Perineirālu invāziju nenovēro	326 (85,1%)	128 (83,7%)	102 (81,6%)	20 (83,3%)	31 (96,9%)	45 (91,8%)	

2.2.tabulas turpinājums

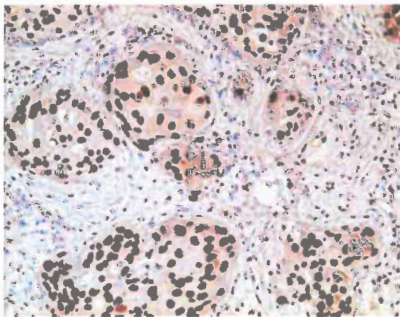
Mainīgie parametri	Visi gadījumi n=383	Lumināls A n=153 (39,9%)	Lumināls B (HER2 negatīvs) n=125 (32,6%)	Lumināls B (HER2 pozitīvs) n=24 (6,3%)	HER2 pozitīvs n=32 (8,4%)	Trīskārši negatīvs n=49 (12,8%)	P vērt
Dutāla <i>carcinoma in situ</i> bez <i>comedo</i> tipa	108 (28,2%)	55 (35,9%)	34 (27,2%)	3 (12,5%)	6 (18,8%)	10 (20,4%)	<0,00
Lobulāra <i>carcinoma in situ</i>	28 (7,3%)	18 (11,8%)	9 (7,2%)	1 (4,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Duktāla <i>carcinoma in situ</i> ar <i>comedo</i> tipu	124 (32,4%)	26 (17,0%)	53 (42,4%)	13 (54,1%)	20 (62,4%)	12 (24,5%)	
<i>Carcinoma in situ</i> nav	123 (32,1%)	54 (35,3%)	29 (23,2%)	7 (29,2%)	6 (18,8%)	27 (55,1%)	
Invazīvs duktāls vēzis	304 (79,4%)	105 (68,5%)	108 (86,4%)	21 (87,5%)	30 (93,8%)	40 (81,7%)	0,00
Invazīvs lobulārs vēzis	51 (13,3%)	33 (21,6%)	12 (9,6%)	2 (8,3%)	1 (3,1%)	3 (6,1%)	
Mucinozs krūts vēzis	13 (3,4%)	10 (6,5%)	3 (2,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Apokrīns vēzis	4 (1,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (4,2%)	1 (3,1%)	2 (4,1%)	
Invazīvs kribriforms vēzis	3 (0,8%)	3 (2,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Metaplastisks krūts vēzis	2 (0,5%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (4,1%)	
Medullārs krūts vēzis	2 (0,5%)	0 (0,0%)	1 (0,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)	
Invazīvs papillārs vēzis	3 (0,8%)	1 (0,7%)	1 (0,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)	
Tubulārs krūts vēzis	1 (0,3%)	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)	

2.2.tabulas turpinājums

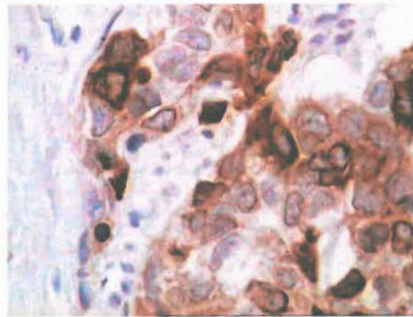
Mainīgie parametri	Visi gadījumi n=383	Lumināls A n=153 (39,9%)	Lumināls B (HER2 negatīvs) n=125 (32,6%)	Lumināls B (HER2 pozitīvs) n=24 (6,3%)	HER2 pozitīvs n=32 (8,4%)	Trīskārši negatīvs n=49 (12,8%)	P vērtība
Mikrokalcīnāti audzējā	148 (38,6%)	68 (44,4%)	47 (37,6%)	8 (33,3%)	15 (46,9%)	10 (20,4%)	0,071
Mikrokalcīnāti artērijās	6 (1,6%)	2 (1,3%)	4 (3,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Mikrokalcīnāti citviet	3 (0,8%)	3 (2,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Mikrokalcīnātus nenovēro	226 (59,0%)	80 (52,3%)	74 (59,2%)	16 (66,7%)	17 (53,1%)	39 (79,6%)	
ER ekspresija	294 (76,8%)	151 (98,7%)	121 (96,8%)	22 (91,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<0,0001
ER nenovēro	89 (23,2%)	2 (1,3%)	4 (3,2%)	2 (8,3%)	32 (100,0%)	49 (100,0%)	
PR ekspresija	270 (70,5%)	137 (89,5%)	113 (90,4%)	20 (83,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<0,0001
PR nenovēro	113 (29,5%)	16 (10,5%)	12 (9,6%)	4 (16,7%)	32 (100,0%)	49 (100,0%)	
HER2 ekspresija	56 (14,6%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	24 (100%)	32 (100,0%)	0 (0,0%)	<0,0001
HER2 ekspresiju nenovēro	327 (85,4%)	153 (100%)	125 (100%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	49 (100,0%)	
Zems Ki-67	170 (44,4%)	153 (100%)	0 (0,0%)	6 (25,0%)	5 (15,6%)	6 (12,2%)	<0,0001
Augsts Ki-67	213 (55,6%)	0 (0,0%)	125 (100%)	18 (75,0%)	27 (84,4%)	43 (87,8%)	
p53 ekspresija (2.9.attēls)	92 (24,1%)	9 (5,9%)	34 (27,2%)	7 (29,2%)	17 (53,1%)	25 (51,0%)	<0,0001
p53 ekspresiju nenovēro	291 (75,9%)	144 (94,1%)	91 (72,8%)	17 (70,8%)	15 (46,9%)	24 (49,0%)	

2.2.tabulas nobeigums

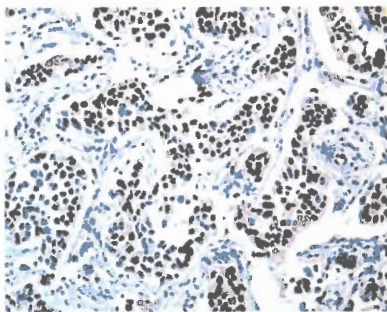
Mainīgie parametri	Visi gadījumi n=383	Lumināls A n=153 (39,9%)	Lumināls B (HER2 negatīvs) n=125 (32,6%)	Lumināls B (HER2 pozitīvs) n=24 (6,3%)	HER2 pozitīvs n=32 (8,4%)	Trīskārši negatīvs n=49 (12,8%)	P vērtība
BCL2 ekspresija (2.10.attēls)	263 (68,7%)	133 (86,9%)	98 (78,4%)	17 (70,8%)	2 (6,2%)	13 (26,0%)	<0,0001
BCL2 ekspresiju nenovēro	120 (31,3%)	20 (13,1%)	27 (21,6%)	7 (29,2%)	30 (93,8%)	36 (74,0%)	
COX-2 ekspresija	5 (1,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (6,3%)	3 (6,1%)	0,021
COX-2 ekspresiju nenovēro	378 (98,7%)	153 (100%)	125 (100%)	24 (100%)	30 (93,7%)	46 (93,9%)	
Ciklīna D1 ekspresija (2.11.attēls)	237 (61,9%)	100 (65,4%)	94 (75,2%)	14 (58,4%)	13 (40,6%)	16 (32,7%)	<0,0001
Ciklīna D1 ekspresiju nenovēro	147 (38,1%)	53 (34,6%)	31 (24,8%)	10 (41,6%)	19 (59,4%)	33 (67,3%)	
CK 5/6 ekspresija (2.12.attēls)	74 (19,3%)	21 (13,7%)	22 (17,6%)	3 (12,5%)	4 (12,5%)	24 (49,0%)	<0,0001
CK 5/6 ekspresiju nenovēro	309 (80,7%)	132 (86,3%)	103 (82,4%)	21 (87,5%)	28 (87,5%)	25 (51,0%)	



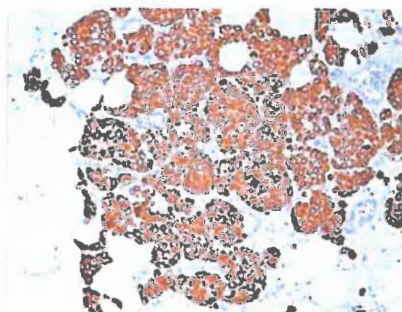
2.9.attēls. p53 ekspresija krūts vēža šūnu kodolos. Anti-p53, imūnperoksidāze, attēla palielinājums 100 x.



2.10.attēls. BCL2 citoplazmatiska ekspresija krūts vēža šūnās. Anti-BCL2, imūnperoksidāze, attēla palielinājums 400 x.



2.11.attēls. Ciklīna D1 nukleāra ekspresija invazīvā duktālā krūts vēzī. Anti-ciklīns D1, imūnperoksīdāze, attēla palielinājums 100 x.



2.12.attēls. Difūza citoplazmatiska CK 5/6 ekspresija krūts vēža šūnās. Anti-CK 5/6, imūnperoksīdāze, attēla palielinājums 50 x.

Mikrofotogrāfiju autors A.Āboliņš

2.3. Klīnisko un imūnhistokīmisko prognostisko faktoru savstarpējās saistības

Limfmezgli tika konstatēti un izmeklēti 351 gadījumos (91,6%). Starp pT1 gadījumiem metastāzes limfmezglos netika novērotas 75,4% pacienšu. pT2 vēža gadījumos pN sadalījums bija atšķirīgs. Metastāzes netika konstatētas 39,3% gadījumu, 1-3 pozitīvu limfmezglu tika identificēti 30% gadījumu, bet 10 vai vairāk metastāzes paduses limfmezglos tika atrastas 10,7% gadījumu. Lielāka izmēra audzējiem bija raksturīgāka plašāka un, iespējams, agresīvāka izplatība kā, piemēram, pT4 gadījumos, kuros 4-9 pozitīvus limfmezglus konstatēja 40% gadījumu, bet ≥ 10 – 36% gadījumu. Visas minētās atšķirības ir savstarpēji statistiski nozīmīgas ($P < 0,0001$).

Iedalot pacientes grupās atbilstoši limfmezglu stāvoklim, pT1 audzēji (59,4%) ir dominējoši pN0 grupā. Turpretī pT4 audzēji N0 grupā bija reti sastopami – 1,1%. pN1 grupā visbiežāk konstatētais audzēja izmērs bija pT2 (55,6%). Arī pN2 un pN3 grupās dominēja lokālā audzēja izplatība atbilstoši pT2 (54,5% un 45,7% attiecīgi). Konstatētās atšķirības ir statistiski nozīmīgas ($P < 0,0001$).

Starp pT un pN parametriem bija statistiski nenozīmīga sakarība ($P = 0,76$), ja tika veikta tikai sargmezglu izmeklēšana. Pretēji, statistiski nozīmīgi dati ($P < 0,0001$) gūti, veicot paduses limfadenektomijas materiāla limfmezglu analīzi. Paduses limfmezglu izņemšana veikta 284 gadījumos, bet limfmezgli konstatēti 275 (96,8%) šo gadījumu. Starp pT1 audzējiem, 67% gadījumos metastāzes netika atrastas, bet 20,9% gadījumu bija 1-3 pozitīvi limfmezgli. Starp pT2 krūts vēža gadījumiem, metastāzes nenovēroja 31,5% gadījumos, bet pN1 bija nedaudz biežāk konstatējams (33,1%). Starp pT3 audzējiem nelielā pārsvarā bija pN1 (27,6%), salīdzinot ar pN2, pN3 vai pN0 atradi. Starp pT4 audzējiem tikai 8% gadījumu bija bez metastāzēm paduses limfmezglos (N0). Tika konstatētas savstarpēji statistiski nozīmīgas atšķirības ($P < 0,0001$).

Statistiski nozīmīga ir arī saistība starp pT un audzēja diferenciācijas pakāpi ($P = 0,003$). pT1 grupā 38,5% no audzējiem bija G2 un G3. Tomēr, G3 bija visbiežāk konstatētā diferenciācijas pakāpe pT2 grupā (50,9%), pT3 (60%) un pT4 gadījumos (71,4%). pT3 un pT4 grupu vēži reti bija sastopami kā G1 (3,3% un 4,9% attiecīgi). G2 grupā neliels pārsvars bija pT1 audzējiem (44,9%), savukārt G3 audzēji bija biežāk pT2 (44%). Konstatētās atšķirības ir statistiski nozīmīgas ($P = 0,003$).

G2 un G3 audzēji gandrīz vienlīdz bieži (40,6% un 39,4% attiecīgi) tika atrasti audzēju grupā bez limfmezglu metastāzēm. Arī starp pN1 audzējiem G2 un G3 biežums bija vienāds: 44,4% katrā grupā. Liels skaits metastātisku limfmezglu (4-9, pN2 un ≥ 10 , pN3) bija saistīts ar zemas diferenciācijas pakāpes audzējiem.

Starp pN0 audzējiem G1, G2 un G3 audzēji veidoja 66,7%, 56,2% un 42,5% no attiecīgās diferenciācijas grupas. G2 un G3 audzējus ar nelielu metastāžu skaitu novēroja nozīmīgam pacientu skaitam: G2/pN1 – 27,7%, G3/pN1 – 21,6%. Tomēr zemu diferencēti audzēji saistīti ar lielāku skaitu metastāžu: G3/pN3 – 14,4%, G2/pN3 – 5,4% un G1/pN3 – 7,4%, kas ir statistiski ticama atrade ($P = 0,002$).

Audzēja invāzija limfvados lielākoties netika novērota. Netika konstatēta arī invāzija vēnās un perineirāla augšana.

Duktāls krūts vēzis biežāk bija G3 pakāpes audzējs atšķirībā no lobulāra un tubulāra krūts vēža, kam raksturīga augsta diferenciācijas pakāpe. Mucinozs un invazīvs papillārs krūts vēzis parasti bija G2 ($P<0,0001$). Medullārs, apokrīns un metaplastisks krūts vēzis nemainīgi ir G3 audzēji ($P<0,0001$).

Starp krūts vēža gadījumiem ar augstu proliferācijas indeksu visbiežāk bija sastopami pT2 audzēji. Zema Ki-67 grupā dominēja pT1 vēža gadījumi. Analizējot pT saistībā ar Ki-67, var secināt, ka lielāka izmēra audzēji saistīti ar augstāku proliferācijas aktivitāti ($P=0,001$).

Ļoti stipra, statistiski nozīmīga asociācija ir atrodama starp krūts vēža proliferācijas frakciju un metastāžu skarto limfmezglu skaitu ($P<0,0001$). Neskatoties uz līdzībām starp augstas un zemas pakāpes Ki-67 grupām, kur pN0 ir biežāka par citām audzēja izplatības pN pakāpēm, tikai pN0 grupā konstatēts gadījumu pārsvars ar zemu Ki-67 indeksu. Palielinoties metastātiski izmainīto paduses limfmezglu skaitam, Ki-67 aktivitātes indekss strauji pieaug ($P<0,0001$).

Krūts vēža diferenciācijas pakāpe statistiski nozīmīgi ($P<0,0001$) saistīta arī ar ER un PR ekspresijas stāvokli (negatīvs vai pozitīvs). G3 krūts vēža gadījumi biežāk ir ER un PR negatīvi ($P<0,0001$), kas ir reti novērojams G1 vai G2 audzējos. G2 audzēja dominance ER un PR pozitīvo krūts vēžu grupā atspoguļo mazāku G1 gadījumu skaitu kopējā grupā, kā arī ER un PR negatīvitātes tendenci starp augstas malignitātes pakāpes vēžiem.

Analizējot Ki-67 ekspresiju, visu diferenciācijas pakāpju audzēji ir gandrīz vienādi pārstāvēti zema proliferācijas indeksa grupā, tomēr audzēji ar augstu proliferācijas indeksu rāda atšķirīgu pārsvaru augstas malignitātes pakāpes audzējos ($P<0,0001$).

HER2 receptoru ekspresija vai neesamība krūts vēža šūnās ir svarīgs prognostiskais un prediktīvais faktors. Sadalot visus krūts vēža gadījumus negatīvos un pozitīvos HER2 receptoru grupā, gūti pierādījumi, ka HER2 negatīvā grupa nav viendabīga pēc diferenciācijas pakāpes. Turpretī HER2 pozitīva krūts vēža grupā skaidri atklāts augstas malignitātes pakāpes audzēju pārsvars ($P < 0,0001$). Analizējot krūts vēzi pēc diferenciācijas pakāpes, G1 un G2 audzēji ir pārsvarā HER2 negatīvi, bet G3 vēzis ietver ievērojamu skaitu HER2 pozitīvu gadījumu ($P < 0,0001$).

Arī p53 negatīva krūts vēža grupa atklāj nevienmērīgu krūts vēža grupu pēc diferenciācijas pakāpes. Ja p53 tiek ekspresēts, tad tas ir redzams augstas malignitātes pakāpes audzējos ($P < 0,0001$).

BCL2 pozitīva grupa nav viendabīga, parādot augstu G1 un G2 audzēju procentuālo īpatsvaru. Pieaugot audzēja anaplāzijas pakāpei, pieaug BCL2 negatīvo gadījumu skaits. Atšķirība ir statistiski nozīmīga ($P < 0,0001$).

p53 negatīvā krūts vēža grupa ietver izteiktu daudzumu ER un PR pozitīvu gadījumu – 84,6% ($P < 0,0001$). ER un PR pozitīvie gadījumi nav viendabīgi pēc p53 proteīna ekspresijas, bet negatīvie gadījumi dominē p53 pozitīvā grupā ($P < 0,0001$).

Gan p53 pozitīvā, gan negatīvā grupa iekļauj HER2 pozitīvus krūts vēža gadījumus, tomēr p53 negatīvajā grupā ietverts relatīvi lielāks skaits HER2 negatīvu gadījumu ($P = 0,001$). Sadalot pētāmo grupu HER2 pozitīvos un negatīvos gadījumos, HER2 negatīvā grupa satur vairāk p53 negatīvus gadījumus nekā HER2 pozitīvā grupa ($P = 0,001$).

p53 negatīvā grupa nav viendabīga, balstoties uz proliferācijas aktivitātes indeksu, tomēr p53 pozitīva grupa satur vairāk gadījumu ar augstu proliferācijas aktivitāti ($P < 0,0001$). Zemā Ki-67 indeksa grupā lielākā daļa no krūts vēža gadījumiem ir p53 negatīvi ($P < 0,0001$).

p53 proteīna un BCL2 olbaltumvielas ekspresijai ir tendence uz savstarpēji izslēdzošu ekspresiju. p53 negatīvajā grupā konstatēts BCL2

pozitīvo gadījumu pārsvars, bet p53 pozitīvajā grupā - BCL2 negatīvo gadījumu pārsvars ($P < 0,0001$).

Pastāv statistiski nozīmīga saistība ($P = 0,002$) starp CK 5/6 un p53 ekspresijas iztrūkumu. Sadalot krūts vēža gadījumus pēc CK 5/6 ekspresijas vai tā trūkuma, vairāk p53 negatīvu gadījumu ir CK 5/6 nesaturoša krūts vēža grupā ($P < 0,0001$).

BCL2 pozitīvā grupa ietver lielāku gadījumu skaitu ar ER un PR ekspresiju ($P < 0,0001$). Krūts vēzis ar pozitīviem ER un PR biežāk ekspresē BCL2 ($P < 0,0001$). Savukārt BCL2 negatīvā grupa nav viendabīga attiecībā uz HER2 ekspresiju un tai raksturīgs augsts proliferācijas indekss. BCL2 pozitīvajā grupā galvenokārt ir HER2 negatīvie gadījumi ($P < 0,0001$). Analizējot HER2 negatīvo grupu, tika konstatēts, ka grupa ietver vairāk BCL2 pozitīvus gadījumus kā HER2 pozitīvā grupa, kurā nedaudz biežāk novēroja BCL2 negatīvus gadījumus ($P < 0,0001$).

Statistiski ticama saistība ir starp diviem jauniem potenciāli prognostiskiem faktoriem kā BCL2 un ciklīnu D1 ($P < 0,0001$). BCL2 pozitīvā grupā ietilpst vairāk ciklīna D1 pozitīvo gadījumu. Ciklīna D1 negatīvā grupa nav viendabīga attiecībā uz BCL2 proteīna klātbūtni. Turpretī ciklīna D1 pozitīva grupa atklāj BCL2 pozitīvo gadījumu pārsvaru ($P < 0,0001$).

Statistiski nozīmīgi dati ($P = 0,02$) ir attiecībā starp BCL2 un CK5/6. BCL2 pozitīvā grupa uzrāda nozīmīgu pārsvaru CK 5/6 negatīvajos gadījumos.

COX-2 negativitāte ir statistiski ticami saistīta ar ER un PR ekspresiju krūts vēža audos ($P = 0,002$ un $P = 0,008$, attiecīgi).

Statistiski nozīmīga saistība tika konstatēta starp diviem potenciālajiem prognostiskiem faktoriem kā COX-2 un CK 5/6 ($P = 0,001$). COX-2 pozitīva ekspresija ir novērojama tikai CK 5/6 pozitīvo gadījumu grupā, bet gandrīz iztrūkst CK 5/6 negatīvo gadījumu grupā ($P = 0,001$).

Ciklīna D1 ekspresija pozitīvi saistās ar ER un PR ekspresiju ($P < 0,0001$).

CK 5/6 negativitāte ir vērojama gan ciklīna D1 negatīvā, gan pozitīvā grupā ar CK 5/6 negativitātes pārsvaru ciklīna D1 pozitīvā grupā ($P=0,004$).

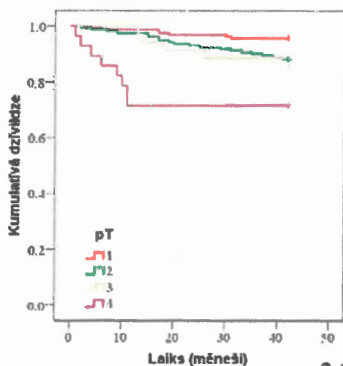
Aplūkojot CK 5/6 negatīvo grupu, ER un PR pozitivitāte ir biežāka nekā negatīva atrade ($P=0,003$ un $P=0,004$, attiecīgi). ER un PR negatīvajā grupā ietverts lielāks skaits CK 5/6 pozitīvu gadījumu ($P=0,003$ un $P=0,004$, attiecīgi).

Ki-67 analīze saistībā ar CK 5/6 ekspresiju ir apgrūtināta sakarā ar to, ka liela daļa krūts vēža gadījumu ir CK 5/6 negatīvi. CK 5/6 negatīvā grupā atšķirība starp zemu un augstu proliferācijas indeksu nav tik ievērojama kā CK 5/6 pozitīvā grupā ($P=0,047$).

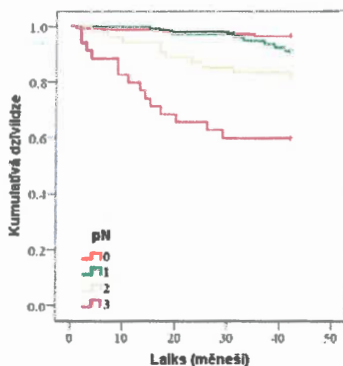
2.4. Dzīvildze

Pētījuma periodā 39 pacientes mirušas no krūts vēža. Vispārējā grupā no 383 pacientēm šāds nelabvēlīgu notikumu skaits ir mazs un apgrūtina pilnvērtīgu statistisku analīzi. Tomēr Kaplāna-Meijera dzīvildzes analīze liecina par statistiski nozīmīgu saistību starp pT stadiju un dzīvildzi ($P<0,0001$). Pacientes ar pT4 stadiju lielākoties nenodzīvo ilgāk par 1 gadu pretēji pT2 vai pT3 stadijām (2.13.A.attēls).

Līdzīgi dati ir iegūti, analizējot pN un dzīvildzi. Vairāk nekā 10 metastātiski izmainīti limfmezgli saistās ar sliktu iznākumu pēc 30 mēnešiem ($P=0,01$). Dzīvildze ar 4-9 pozitīviem limfmezgliem (atbilstoši pN2 stadijai) var būt līdz 7 mēnešiem ilgāka (2.13.B.attēls).



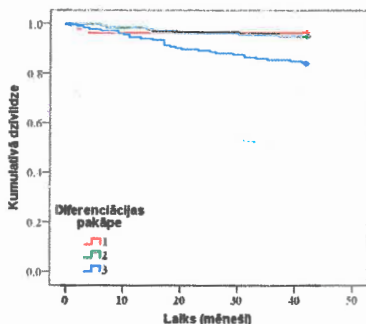
2.13.A



2.13.B

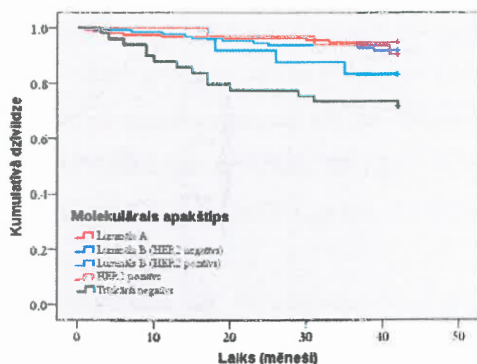
2.13.attēls. Kaplāna-Meijera dzīvīdzes analīze krūts vēža pacientiem saistībā ar audzēja izmēru (2.13.A) un metastātiski izmainītiem limfmezgliem (2.13.B).

Kaplana-Meijera dzīvīdzes analīze parāda statistiski nozīmīgu saistību starp audzēja diferenciācijas pakāpi un dzīvīdzi ($P=0,001$), bet pilnvērtīgu analīzi ietekmē mazs G1 gadījumu skaits (2.14.attēls).



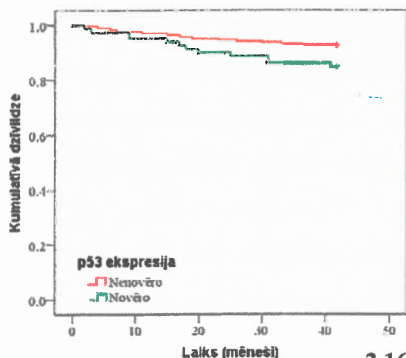
2.14.attēls. Kaplāna-Meijera dzīvīdzes analīze krūts vēža pacientiem saistībā ar audzēja diferenciācijas pakāpi.

2.15.attēlā pacientiem ar lumināla A, lumināla B (HER2 negatīva) un HER2 pozitīva molekulārā apakštipa krūts vēzi dzīvīdze ir par 6 mēnešiem ilgāka nekā pacientiem ar trīskārši negatīva molekulārā apakštipa krūts vēzi ($P<0,0001$, $P<0,0001$ un $P=0,001$, attiecīgi).

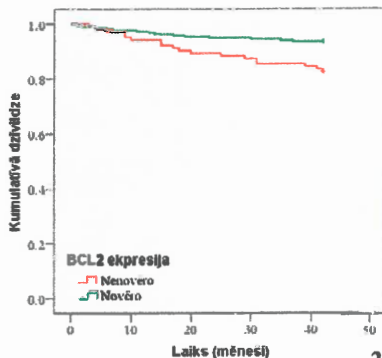


2.15.attēls. Kaplāna-Meijera dzīvildzes analīze krūts vēža pacientiem saistībā ar audzēja molekulāro apakštīpu.

Jaunu potenciāli iespējamu IHĶ marķieru kā p53, BCL2, COX-2, ciklīns D1 un CK 5/6 vidū Kaplāna-Meijera dzīvildzes analīze parāda statistiski nozīmīgu saistību starp dzīvildzi un p53 (2.16.A.attēls) un BCL2 ekspresiju (2.16.B.attēls) vai tās trūkumu ($P=0.03$ un $P=0.002$, attiecīgi).



2.16.A



2.16.B

2.16.attēls. Kaplāna-Meijera dzīvildzes analīze krūts vēža pacientiem saistībā ar p53 (2.16.A) un BCL2 (2.16.B) ekspresiju vai to trūkumu audzējā.

2.5. Rezultāti bez statistiskas ticamības

Nav statistiski nozīmīgas saistības starp pacientu vecumu un audzēja lokālo izplatību pT ($P=0,06$), metastāžu skaitu paduses limfmezglos pN

($P=0,7$) un diferenciācijas pakāpi ($P=0,1$). Statistiski nozīmīga saistība netika novērota arī starp krūts vēža diferenciācijas pakāpi un perineirālu audzēja augšanu ($P=0,2$).

Duktāls krūts vēzis ir visbiežākais sastopamais morfoloģiskais krūts vēža veids. Tas tiek parasti diagnosticēts, kad audzēja izmērs ir mazāks nekā 5 cm lielākajā diametrā (pT1 un pT2). Metaplastisks un tubulārs krūts vēzis bija lielāks par 2 cm, bet nepārsniedza 5 cm lielākajā diametrā (pT2). Tomēr šādu gadījumu daudzums bija ierobežots. Iespējams, tādēļ iztrūkst statistiski nozīmīga sakarība starp krūts vēža morfoloģisko tipu un audzēja vietējo izplatību pT ($P=0,9$). Tāpat netika novērota statistiski ticama saistība starp metastātiski izmainītu paduses limfmezglu skaitu un audzēja morfoloģisko veidu ($P=0,6$).

Nav statistiski nozīmīgas saistības starp krūts vēža lielumu (pT) un jaunu potenciāli prognostisku faktoru pozitīvu ekspresiju krūts vēža šūnās kā p53 ($P=0,1$), BCL2 ($P=0,9$), COX-2 ($P=0,1$), ciklīns D1 ($P=0,1$) un CK 5/6 ($P=0,6$).

Statistikas metodes neatklāja ticamu saistību starp metastāzēm limfmezglos un dažādiem prognostiskiem faktoriem kā ER ($P=0,08$), HER2 ($P=0,6$), p53 ($P=0,6$), BCL2 ($P=0,1$), COX-2 ($P=0,2$), ciklīnu D1 ($P=0,1$) un CK 5/6 ($P=0,1$).

BCL2 pozitīvo un negatīvo krūts vēža gadījumu vidū nav būtiskas atšķirības saistībā ar krūts vēža morfoloģisko variantu ($P=0,1$). Nav statistiski nozīmīgas saistības starp p53 ekspresiju un COX-2 vai ciklīna D1 pozitivitāti ($P=0,7$ un $P=0,4$ attiecīgi).

COX-2 ekspresija nebija statistiski nozīmīgi saistīta ar krūts vēža diferenciācijas pakāpi ($P=0,1$), HER2 ekspresiju ($P=0,3$), proliferācijas aktivitāti ($P=0,7$), ciklīna D1 ekspresiju ($P=0,7$) un BCL2 klātbūtni ($P=0,2$).

Līdzīgi dati iegūti par ciklīna D1 saistību ar krūts vēža diferenciācijas pakāpi ($P=0,1$), HER2 ekspresiju ($P=0,09$) un ar zemu vai augstu krūts vēža proliferācijas aktivitāti ($P=0,3$), kas nav statistiski nozīmīga.

CK 5/6 ekspresija nav statistiski ticami saistīta ar krūts vēža diferenciācijas pakāpi ($P=0,07$) un HER2 ($P=0,1$).

Netika atklāta statistiski nozīmīga saistība starp pacienta dzīvildzi un COX-2 ($P=0,1$), ciklīna D1 ($P=0,2$) un CK 5/6 ($P=0,7$) ekspresiju.

3. DISKUSIJA

Tā kā krūts vēzis pēc būtības ietver heterogēnu audzēju grupu ar dažādu bioloģisko un klīnisko raksturojumu, prognostisko un prediktīvo marķieru identifikācija ir klīniski nozīmīga. ER un PR ekspresija, kas noteikta ar IHĶ palīdzību, tiek izmantota gan kā hormonālas terapijas efektu paredzošs faktors, gan kā prognostisks faktors. HER2 ekspresija, kas noteikta ar IHĶ vai FISH, norāda uz sliktu izdzīvotību. Kā ieguvums jāmin arī iespēja terapeitiski mērķtiecīgi ietekmēt šīs molekulas. Nesen gēnu ekspresijas mikrokartēšanas pētījumi liecināja par atrades spēcīgu prognostisko nozīmi [Hamilton et al., 2000], bet IHĶ joprojām paliek kā ērts un nozīmīgs līdzeklis prognostisko faktoru izvērtēšanā klīniskajā vidē, jo metode ir lētāka un vieglāk izpildāma [Lee et al., 2007].

Prognostiskie vai prediktīvie faktori, ko patlaban izmanto, nesniedz pietiekamu informāciju, lai ļautu precīzi novērtēt pacientes individuālo risku un plānotu ārstēšanu, tādējādi pastāv nepieciešamība pēc papildus prognostiskiem un terapeitiskiem faktoriem [Lee et al., 2007].

3.1. Operācija

Ķirurģijai kā krūts vēža ārstēšanas metodei ir centrālā loma. Patreizējais pētījums apkopo datus par izdarītām 229 mastektomijām (59,8%; 95%TI=54,8-64,5) un 154 sektorālām rezekcijām (40,2%; 95%TI=35,5-45,2). Līdzīgi dati bija *Wiechmann et al.* un *Irigoyen et al.* pētījumos, kuros mastektomijas tika veiktas 59% un 59,2%, bet krūti saudzējošas operācijas 41% un 40,8% gadījumu [Wiechmann et al, 2009; Irigoyen et al, 2011]. *Irigoyen et al.* pētījumā sektorāla rezekcija tika veikta lielākai daļai pacienšu ar lumināla A un lumināla B apakštipa krūts vēzi (65% un 63%, attiecīgi). Mastektomijas tika veiktas pacientēm ar krūts vēzi, kas piederēja bazālam, HER2 pozitīvam un

normāliem audiem līdzīgam molekulāram apakštipam; atbilstošie rādītāji bija attiecīgi 72,7%, 55,5% un 75% [Irigoyen *et al.*, 2011].

Kopumā patreizējā pētījumā gūtie dati par ķirurģisko pieeju un vēža lokalizāciju neatšķiras no publicētiem pierādījumiem, tādējādi dati varētu tikt uzskatīti par reprezentatīviem krūts vēža novērtēšanā.

3.2. Limfmezglu stāvoklis

Krūts vēža ķirurģiskā ārstēšana ietver arī paduses limfmezglu un attālo metastāžu izvērtējumu, tādējādi var tikt veikta sargmezglu izgriešana un/ vai paduses limfmezglu izņemšana. *Lee et al.* pētījumā iekļāva 78 pacientes pēc sargmezglu izgriešanas (21,5%; 95%TI=17,7-26,0) un 284 – pēc paduses limfadenektomijas (78,5%; 95%TI=74,0-82,3). Vidējais izņemto limfmezglu skaits bija 22,9 ar svārstībām robežās no 7 līdz 54 [Lee, *Im et al.*, 2007].

Sistemātiska paduses limfmezglu izņemšana tika veikta visiem 175 pacientiem ar krūts vēzi *Le et al.* pētījumā, kur vidējais izņemto limfmezglu skaits bija 14 paduses limfmezgli, bet to skaita diapazons no 4 līdz 34 limfmezgliem [Le *et al.*, 1999].

Mūsu pētāmajā grupā tika veiktas 362 limfmezglu operācijas un 351 gadījumos (97%; 95%TI=94,6-98,3) limfmezgli tika arī atrasti makroskopiskajā un mikroskopiskā izmeklēšanā. Vidējais limfmezglu skaits \pm SN bija 12,5 \pm 8,2. Tādējādi gūtie dati atbilst pasaulē vērojamai ķirurģiskajai pieejai.

3.3. Krūts vēža histoloģiskie varianti

Šajā pētījumā no 383 primāriem krūts audzējiem 304 (79,4%) gadījumos bija invazīvs duktais krūts vēzis, 51 (13,3%) gadījumā invazīvs lobulārs vēzis un 13 (3,4%) gadījumos mucinozs krūts vēzis. Invazīvā dukstālā krūts vēža plašo izplatību ir atzinuši arī citi zinātnieki. *Lee et al.* bija

konsekvents: duktāls krūts vēzis veido 91,4%, pārējie histoloģiskie krūts vēža veidi – tikai 8,6% [Lee, Im et al., 2007]. Bennis et al. 87,4% gadījumos diagnosticēja invazīvu duktālu karcinomu, 4% invazīvu lobulāru vēzi, 3% metaplastisku krūts vēzi, 2% medullāru krūts vēzi un dažiem pacientiem arī retas krūts vēža morfoloģiskās formas (3%), kas analītiskam izvērtējumam tika apkopotas cita veida krūts vēžu grupā [Bennis et al., 2012].

Patreizējā pētījumā duktāls krūts vēzis ir visbiežāk sastopamā morfoloģiskā forma gan kopumā, gan visos molekulāros apakštipos atsevišķi. Tam seko lobulārs krūts vēzis, mucinozs un citas krūts vēža histoloģiskās formas kā medullārs, apokrīns krūts vēzis u.c. veidi (3,9%). Mucinozu krūts vēzi nenovēro luminālā B (HER2 pozitīvā), HER2 pozitīvā un trīskārši negatīvā molekulārā apakštipa grupā. Krūts vēža histoloģisko veidu biežums un sadalījums atbilstoši molekulārajiem subtipiem atbilst publicētajai pieredzei.

Krūts vēža histoloģiskos tipus un saistību ar molekulāriem apakštipiem analizējis Yang et al. Luminālo molekulāro apakštipu veidoja duktāls krūts vēzis (56% gadījumu), kam sekoja lobulārs krūts vēzis un grupa no jauktiem vai citiem audzējiem (23% un 21%, attiecīgi). Salīdzinot ar luminālo A molekulāro apakštipu, luminālais B molekulārais apakštips ietver vairāk duktāla krūts vēža gadījumus, bet mazāk lobulārā krūts vēža (10%) gadījumus [Yang et al., 2007].

3.4. Audzēja izmērs (pT)

Saskaņā ar pTNM klasifikāciju, visi 383 audzēji tika sadalīti attiecīgi: pT1 – 161 (42%) audzējs; pT2 – 159 audzēji (41,6%); pT3 – 35 audzēji (9,1%) un pT4 – 28 audzēji (7,3%).

Callagy et al. aprakstīja audzēja izmēru milimetros un sadalīja šos audzējus 3 kategorijās: ≤ 20 , > 20 un > 50 mm. Biežāk tika konstatēti pT2 audzēji – 48%, kam sekoja pT1 grupa (≤ 20 mm), kas ietvēra 38% gadījumu

[Callagy et al., 2006]. Dati, ko ieguva Lee et al., parādīja līdzīgus secinājumus: 48,7% audzēja gadījumu bija <2 cm; 43,8% gadījumu ≥ 2 , bet <5 cm un 7,5% bija ≥ 5 cm [Lee et al, 2010].

Visas PVO noteiktās pTNM klasifikācijas pT stadijas izvērtēja Rouzier et al. Šajā pētījumā pT1 bija mazākā grupa (9%), bet T2 (56% no visu gadījumu) veidoja lielāko krūts vēža grupu. T3 audzēji veidoja 18% un T4 – 17% gadījumu [Rouzier et al., 2005].

Spitale et al. klasificēja krūts vēzi atbilstoši pTNM, iegūstot šādu sadalījumu: pT1 – 62,1%; p T2 – 35,2% un pT3 – 2,7% visu gadījumu. Analizējot pēc molekulārā apakštipa, luminālā grupa sastāvēja no pT1 – 65,9% gadījumu; pT2 – 31,4% un pT3 – 2,7% gadījumu. Luminālās B grupas sastāvā pT1 bija 58,3% un pT2 audzēji – 41,7% pacientu. HER2 pozitīvā molekulārā apakštipa grupa uzrāda pretējus datus ar salīdzinoši lielāku audzēju pārsvaru: pT2 – 66,0%, bet pT1 – 34,0%. Bazālo krūts vēža apakštipu, kas ietver aptuveni 7% visu gadījumu, veido nedaudz lielāks skaits pT1 (48,1%) nekā pT2 audzēji (42,0%), bet daļai pacienšu (9,9%) audzējs ir lielāks par 5 cm [Spitale et al., 2009].

Šajā pētījumā iegūtie rezultāti ir salīdzināmi ar publicētajiem datiem. pT1 un pT2 ir dominējošie izmēri, tomēr 9,2% no krūts vēža gadījumiem ir diagnosticēti kā pT3 un 7,3% gadījumu kā pT4 audzēji. Lumināla apakštipa grupa galvenokārt satur pT1 audzējus. Pretēji, pT4 lokālā izplatība arī tika novērota šajā grupā un ir pat biežāks nekā pT3. Reizēm šie pT4 gadījumi saistās ar ļoti ilgu anamnēzi (A. Āboliņš, npublicēti gadījumu novērojumi). Abas lumināla B apakštipa grupas un HER2 pozitīvā molekulārā apakštipa grupa uzrādīja lielāko skaitu pT2 gadījumu, kurai sekoja pT1 stadija. Trīskārši negatīva molekulārā apakštipa grupa uzrādīja līdzīgu daudzumu pT1 un pT2 audzēju.

3.5. Iesaistīto paduses limfmezglu apjoms (pN)

Šajā pētījumā pN0 tika novērots 180 gadījumos (47%), pN1 – 81 gadījumā (21,1%), pN2 – 54 (14,1%) un pN3 – 36 gadījumos (9,4%). Limfmezgli netika konstatēti 32 gadījumos (8,4%).

Lee et al. publicētajā rakstā paduses limfmezglu stāvoklis tika aprakstīts kā pN0 – 51,3% gadījumu; pN1 – 22,5%; pN2 – 11,2% un pN3 – 15% gadījumu [*Lee et al.*, 2010].

Carey et al. limfmezglu metastāzes nekonstatēja aptuveni 2/3 no izmeklēto pacientu (61%), savukārt 39% gadījumu tika konstatētas krūts vēža metastāzes. Limfmezgli bez metastāzēm dominēja luminālā A (66%) molekulārā apakštipā, luminālā B – 53%, bazālā – 61% un neklasificētā apakštipā – 71% gadījumu. Krūts vēža metastāzes limfmezglos biežāk novēroja HER2 pozitīva molekulārā apakštipa gadījumos [*Carey et al.*, 2006].

Šajā pētījumā pN0 grupa bija dominējoša kopumā, kā arī pārsvarā visos molekulāros apakštipos. Lumināla A un lumināla B (HER2 negatīva) molekulāro apakštipu gadījumu skaits samazinājās, pieaugot metastātiski iesaistīto limfmezglu skaitam. Pretēji dati novēroti trīskārši negatīva krūts vēža molekulāro apakštipa gadījumā, ko raksturo bimodāla izplatība: salīdzinoši biežāks metastātiski izmainīto limfmezglu skaits N+ gadījumos.

3.6. Attālās metastāzes (M)

Operatīvas terapijas laikā 12 gadījumos (3,1%) tika atklātas attālas krūts vēža metastāzes (M1). Krūts vēža metastāzes tika atrastas kaulos – 33,3%, centrālajā nervu sistēmā (smadzenēs) – 25%, plaušās – 25% un aknās – 16,7% gadījumu.

Spitale et al. pētījumā attālas metastāzes novēroja līdzīgā gadījumu skaitā – 4,8% [*Spitale et al.*, 2009]. *Onitilo et al.* aprakstīja audzēja recidīvu

8,7% pacientēm. No šiem 8,7% gadījumu lokāls recidīvs bija 45,5% slimnieču, bet atlikušajām pacientēm konstatēja metastāzes kaulos (39,4%), aknās (22,2%), plaušās (15,1%), videnes limfmezglos (10,1%), smadzenēs (7,1%) un citās lokalizācijās, kopumā 11,1% gadījumu [Onitilo *et al.*, 2009].

3.7. Krūts vēža diferenciācijas pakāpe

Pēc diferenciācijas pakāpes visi izmeklējamie gadījumi tika iedalīti kā G1 – 61 (16,0%; 95%TI=12,2-19,6), G2 – 138 (36,0%; 95%TI=31,9-41,1) un G3 – 184 (48,0%; 95 %TI=43,8-52,8) audzēji. Ļoti līdzīgi dati ir Bertolo *et al.* - G1 – 11 (18%), G2 – 21 (35%), un G3 – 28 (47%) gadījumos [Bertolo *et al.*, 2008]. Lee *et al.* klasificēja 19,2% gadījumu kā G1, 35,9% kā G2 un 44,9% kā G3 [Lee *et al.*, 2010].

Onitilo *et al.* sadalīja audzējus pēc diferenciācijas pakāpes šādi: G3 audzēji – 35,9%, G2 audzēji – 38,4%, bet salīdzinoši maza daļa bija G1 audzēji – 21,2%. Luminālā A molekulārā apakštipā biežāk konstatēja G2 krūts vēzi (44,9%), kam sekoja G1 (28,9%) un G3 (21,5%) krūts audzēji. Lumināla B apakštipa krūts vēža grupa bija mazāk heterogēna pēc audzēja diferenciācijas pakāpes, saturot vairāk G3 audzēju (49,1%) un G2 audzējus – 41,4%, ar atsevišķiem labi diferencēta krūts vēža gadījumiem – 6%. HER2 pozitīvā un trīskārši negatīvā molekulārā apakštipā visbiežāk novēroja G3 krūts vēžus (77,7% un 76,3%, attiecīgi), kam sekoja G2 (20,0% un 12,5%, attiecīgi) un G1 (1,2% un 4%, attiecīgi) krūts vēzis [Onitilo *et al.*, 2009].

3.8. Estrogēna un progesterona receptoru ekspresija

Ja visi izmeklētie krūts vēža gadījumi tiek sadalīti ER pozitīvos un negatīvos gadījumos, tad līdz pat 80% vai vairāk no visiem krūts vēžiem tiks novērota ER pozitivitāte.

ER pozitīvo gadījumu īpatsvars bija zemāks *Carey et al.* pētījumā, kur ER receptori tika atrasti 60% visu gadījumu [*Carey et al.*, 2006]. ER receptoru ekspresiju 55% no pētījumā iesaistītiem gadījumiem novēroja *Lee et al.* [*Lee, Im et al.*, 2007.].

PR ekspresijas dati ir paralēli ER izpausmei. Līdz 70% vai vairāk visu krūts vēžu ekspresē PR [*Spitale et al.*, 2009], kam atbilst arī šī pētījuma dati. PR ekspresiju nenovēro bazālā, HER2 pozitīvā un neklasificētā krūts vēža molekulārā apakštipā (saskaņā ar definīciju), kā arī 16% un 14% gadījumu luminālā A un luminālā B molekulārā apakštipā attiecīgi [*Carey et al.*, 2006].

3.9. Proliferācijas aktivitāte (Ki-67)

Ki-67 ekspresijas augsts līmenis saistās ar sliktāku iznākumu [*de Azambuzha et al.*, 2007]. Proliferācijas marķieris Ki-67 ir jāiekļauj ikdienas izmeklējumos, jo marķiera rādījums ir ārkārtīgi svarīgs lumināla A un lumināla B (HER2 negatīva) apakštipu savstarpējā diferenciāldiagnostikā. Ki-67 indeksa robežpunkts <14% noteikts saistībā ar PAM50 patiesā apakštipa nozīmi, kas nosaka, ka lielāka proliferācijas indeksa vērtība atbilst luminālajam B apakštipam ar sliktāku prognozi [*Cheang et al.*, 2009; *Goldhirsch et al.*, 2011].

Agrāk krūts vēža pētniecībā izmantoti dažādi Ki-67 indeksa robežpunkti. *Spitale et al.* sadalīja Ki-67 indeksa rādītāju 3 grupās: ≤ 5%, 5-20% un > 20%. Lielākā daļa no krūts vēža gadījumiem bija grupā ar 5-20% Ki-67 pozitīvo šūnu. Analizējot Ki-67 indeksa saistību ar molekulāriem apakštipiem, luminālais A un luminālais B apakštipi bija vairāk saistīti ar indeksu līdz 20%. Luminālajā B molekulārā apakštipā liels daudzums gadījumu iekļaujas Ki-67 indeksa grupā virs 20%. Arī bazālais un HER2 pozitīvais molekulārais apakštips saistās ar augstu Ki-67 indeksu [*Spitale et al.*, 2009].

Saskaņā ar publicētiem datiem, šis pētījums parādīja saistību starp lumināla A krūts vēža apakštipu un zemu Ki-67 indeksu. Visi pārējie apakštipi

bija saistīti ar augstu Ki-67 indeksu. Pretstatā agrākajiem pētījumiem, tika izmantota robežvērtība 14%, kas atbilst St.Gallēnas vadlīnijām [Goldhirsch et al., 2011]; šāda pieceja ir jauna arī starptautiskajā pētniecībā.

3.10. HER2 proteīna ekspresija un *HER2/neu* gēna amplifikācija

Pacientes, kuru krūts vēža šūnās novēro HER2 proteīna ekspresiju, biežāk cieš no recidīva un viņām mēdz būt īsāka kopējā dzīvildze. HER2 ekspresija būtu jānosaka katrā diagnosticētā krūts vēža gadījumā [Romond et al., 2005]. Lielākajā skaitā gadījumu HER2 ekspresija šobrīd tiek novērtēts ar IHĶ, izņemot gadījumus, kad apšaubāms proteīna ekspresijas līmenis. Šādos gadījumos tiek pielietota FISH vai hromogēnās *in situ* hibridizācijas HER2 gēna kopiju skaita mērījumi [Wolff et al., 2007]. HER2 ekspresijas noteikšana kopā ar ER un PR ir noderīga molekulāro apakštīpu noteikšanai.

HER2 ekspresija šajā pētījumā tiek novērota 14% gadījumu, kas atbilst citiem publicētajiem datiem [Spitale et al., 2009]. Šajā pētījumā starp HER2 ekspresiju un audzēja lokālo augšanu, ko raksturo pT, netika novērota statistiski ticama sakarība ($P=0,8$), bet savukārt Lee et al. konstatēja korelāciju starp HER2 ekspresiju un audzēja izmēru ($P=0,03$) un izteiktu paduses limfmezglu metastātisku bojājumu ($P=0,02$) [Lee, Im et al., 2007]. Pašreizējā pētījumā nav korelācijas starp pN parametru un HER2 ekspresiju.

3.11. Imūnhistoķīmija un krūts vēža molekulārie apakštīpi

12. St Gallēnas Starptautiskā Krūts vēža konferencē 2011 ekspertu grupa pieņēma jaunu krūts vēža klasifikāciju, kas būtu izmantojama pacientei atbilstošas individualizētas terapijas izvēlei, pamatojoties uz atzītiem krūts vēža bioloģiskiem apakštīpiem. Raksturīgie krūts vēža apakštīpi ir lumināls A, lumināls B, Erb-B2 ekspresētais un bazālajam epitēlijam līdzīgais molekulārais

tips, bet atbilstošie klīniski patoloģiskie aizvietojošās jeb surogātklasifikācijas molekulārie apakštīpi ir "lumināls A", "lumināls B (HER2 negatīvs)", "lumināls B (HER2 pozitīvs)", "HER2 pozitīvs (ne lumināls)" un "trīskārši negatīvs" [Goldhirsch *et al.*, 2011].

Jaunākās publikācijas liecina, ka jaunākai krūts vēža molekulārai klasifikācijai ir arī svarīga prognostiskā vērtība [Pusztai *et al.*, 2006]. Lumināla A apakštīpa audzēji saistās ar labu prognozi un mazāk agresīvu dabu, salīdzinot ar bazālam līdzīgo vai HER2 pozitīvo grupu [Sotiriou *et al.*, 2003]. Bazālam līdzīgais krūts vēža molekulārais apakštīps ir saistīts ar agresīvu norisi, sliktu klīnisko iznākumu un atbildi uz endokrīno terapiju, īsāku dzīvildzi un biežāku *BRCA1* mutāciju klātbūtni [Spitale *et al.*, 2009].

Šajā darbā krūts vēža molekulārie apakštīpi tika klasificēti saskaņā ar jauno klasifikāciju un IHĶ datiem. Lielāko daļu krūts vēža gadījumu veidoja luminālais A apakštīps (39,7%), kam seko luminālais B (HER2 negatīvs) molekulārais apakštīps (32,6%). Trīskārši negatīvs krūts vēža apakštīps bija 13,1% gadījumu, savukārt tikai 8,4% un 6,3% no audzējiem tika klasificēti kā HER2 pozitīvs un lumināls B (HER2 pozitīvs) molekulārais apakštīps. Tā kā St. Gallēnas klasifikācija (2011) ir jauna, tikai daži pētnieki ir publicējuši datus saskaņā ar to.

3.12. Pacientu vecums un krūts vēža molekulārie apakštīpi

Spitale et al. pētījumā, izvērtējot 1214 krūts vēža gadījumus, vidējais pacientu vecums \pm SN bija $62,7 \pm 14,0$ gadi. Pēc krūts vēža molekulārās apakštīpu klasifikācijas vidējais vecums \pm SN bazālam līdzīgā jeb trīskārši negatīvā molekulārā apakštīpā bija $58,5 \pm 14,6$ gadi, HER2 pozitīvā grupā – $62,3 \pm 12,5$ gadi. Luminālā A un luminālā B apakštīpā vidējais vecums \pm SN bija attiecīgi $63,4 \pm 13,7$ un $61,4 \pm 15,0$ gadi [Spitale *et al.*, 2009]. Vidējais pacientu vecums 56 gadi (diapazonā no 22-95) aprakstīts *Wiechmann et al.*

pētījumā. Pēc molekulāriem apakštipiem, vidējais vecums luminālā A molekulārajā apakštipā bija 58 gadi; luminālā B – 52 gadi, HER2 pozitīvā – 53 gadi un bazālam līdzīgā apakštipā – 54 gadi [Wiechmann et al., 2009].

Šajā pētījumā vidējais pacientu vecums \pm standarta novirze bija 59,59 \pm 12,22 gadi. Pacientu vecums svārstījās no 27-88 gadiem. Publicētajos pētījumos vidējais vecuma diapazons ir 50-62,7 gadi. Mūsu dati iekļaujas šajā intervālā. Saskaņā ar citiem pētījumiem, augstākais vidējais vecums ir luminālā A molekulārā apakštipa grupā, bet trīskārši negatīvs krūts vēzis tiek diagnosticēts jaunākām pacientēm.

3.13. p53 proteīna ekspresija

Le et al. konstatēja nukleāru p53 proteīna ekspresiju 23% audzēju no 175 krūts vēža gadījumiem, izmantojot 10% robežvērtību [Le et al., 1999]. p53 proteīna ekspresija 30,5% gadījumu tika novērota *Lee et al.* pētījumā [Lee, Im et al, 2007].

Šajā pētījumā IHĶ p53 proteīna ekspresija tika novērota 24% gadījumu. Balstoties uz 5 molekulāriem apakštipiem, HER2 pozitīvais molekulārais apakštips iekļauj vairāk p53 pozitīvo gadījumu. Trīskārši negatīvajā molekulārā apakštipā attiecības starp pozitīvo un negatīvo gadījumu skaitu bija 1:1. Lumināla A un lumināla B (HER2 negatīva) molekulāro apakštipu grupas ir tās, kurās pēc pašreizējiem datiem nav nepieciešamības noteikt p53, sakarā ar parasti negatīvu rezultātu. Saistība starp p53 ekspresiju vai ekspresijas trūkumu ir mazāka luminālā B (HER2 pozitīvajā) grupā, kas iezīmē HER2 agresīvo dabu un augstāku iespējamību p53 izpausmei. Vairāki pētījumi iesaka šo grupu uzskatīt kā trīskārši negatīvu molekulāro apakštipu, neskatoties uz to, ka iegūtie dati liecina par statistiski nozīmīgām atšķirībām.

Statistiski nozīmīgu saistību ($P=0,0001$) starp krūts vēža diferenciācijas pakāpi un p53 aprakstīja *Le et al.* Šajā pētījumā G1 krūts vēža

audos netika konstatēta p53 nukleāra ekspresija (0%), bet p53 pozitīvo gadījumu skaits pieaug, palielinoties vēža anaplāzijas pakāpei: G2, 13% un G3, 41% [Le et al, 1999.]. Šajā pētījumā p53 proteīna ekspresija ir biežāka augstākas malignitātes pakāpes krūts vēžos nekā citās grupās ($P<0.0001$). Tādējādi mūsu secinājumi ir saskaņā ar pasaules pieredzi.

ER un PR ekspresija ir statistiski nozīmīgi saistīta ar p53 ekspresijas iztrūkumu. ER pozitīvo audzēju vidū p53 pozitīvi un negatīvi krūts vēža gadījumi veido 15,1% un 84,9% attiecīgi ($P<0.0001$). Starp hormonu receptoru pozitīviem gadījumiem, sinhronu p53 ekspresiju novēro 16% gadījumu pretstatā 41% krūts vēža audu bez hormonu receptoru ekspresijas [Le et al., 1999].

p53 un BCL2 ir divi faktori ar pretēju sastopamību ($P<0.0001$). Apgrieztas korelācijas izpausmes starp BCL2 un p53 aprakstīja Le et al., kuru pētītajā grupā no 64 BCL2 negatīviem audzējiem 36% bija p53 pozitīvi, bet starp 111 BCL2 pozitīviem audzējiem tikai 16% bija arī p53 pozitīvi ($P=0,003$) [Le et al., 1999]. Iegūtie dati tika apstiprināti Lee et al. pētījumā, kur p53 \leq 25% audzēja šūnu korelē ar augstu BCL2 ekspresiju (68,6%). Krūts vēža grupā, kurā p53 ekspresija pārsniedz 25% neoplastisko šūnu, 56,5% gadījumu ir BCL2 negatīvi [Lee, Im et al., 2007].

p53 ekspresija Kaplāna-Meijera dzīvildzes analīzē atklājas kā statistiski ticams negatīvs prognostiskais faktors, kas novērojams arī citu autoru pētījumos gan saistībā ar molekulāriem apakštīpiem, gan atsevišķi [Guarneri et al., 2010; Jung et al., 2010]. Medicīnas zinātniskajā literatūrā atrodami arī pretrunīgi viedokļi [Rosner et al., 2009; Ryu un Lee, 2012], taču to analīzei nepieciešams izziņāt pētīšanas metodes un robežpunktus.

3.14. BCL2 onkoproteīna ekspresija

Krūts vēža molekulārie apakštīpi un BCL2 ekspresija (54,1% gadījumu) tika analizēta *Zaha* un *Lazar* pētījumā. Lumināla A tipa audzēji izteikti ekspresēja BCL2 – 92,3%, lumināla B apakštipa gadījumos ekspresiju novēroja 60% gadījumu, bet pārējos molekulāros apakštipos BCL2 ekspresiju nenovēroja [*Zaha* un *Lazar*, 2012]. IHĶ noteiktā BCL2 ekspresija bija vērojama 60,9% no visiem *Lee et al.* analizētajiem krūts vēža gadījumiem [*Lee et al.*, 2007]. Izvēloties 30% audzēja šūnu kā pozitīvas ekspresijas robežpunktu, 63% audzēju novēroja BCL2 ekspresiju [*Lee et al.*, 1999].

Šajā pētījumā BCL2 ekspresija konstatēta 67,5% krūts vēža gadījumu. Pozitīva izpausme ir novērota luminālā A un abās luminālā B apakštipa grupās, bet HER2 pozitīvajā un trīskārši negatīvajā molekulārā apakštipā BCL2 ekspresiju visbiežāk nenovēroja.

BCL2 ekspresijas trūkums biežāk novērojams augstas malignitātes pakāpes (G3) krūts vēža šūnās ($P < 0,0001$). *Zaha* un *Lazar* konstatēja, ka, pieaugot audzēja anaplāzijas pakāpei, BCL2 ekspresijai ir tieksme samazināties [*Zaha* un *Lazar*, 2012]. G1 un G2 audzēju kopīgā grupā BCL2 ekspresiju novēroja 78,8%. Atsevišķā G3 audzēju kopā vairāk nekā pusē no visiem pārbaudītajiem gadījumiem (54,5%) netika novērota BCL2 citoplazmatiska ekspresija [*Lee, Im et al.*, 2007].

Izteikta BCL2 ekspresija ir cieši saistīta ar ER un PR ekspresiju, kas saistās ar labu reakciju uz hormonālo terapiju. Ciešo saistību starp BCL2 un ER un/ vai PR ekspresiju apraksta arī pasaules literatūrā [*Zaha* un *Lazar*, 2012]. Konstatēts, ka 92% [*Lee, Im et al.*, 2007] un 83% [*Lee et al.*, 1999] ER pozitīvu audzēju ekspresē BCL2 proteīnu. Rezultāti par PR un BCL2 ekspresiju ir līdzīgi ($P < 0,0001$) un atbilstoši publicētajiem pētījumu rezultātiem [*Lee, Im et al.*, 2007].

HER2 izteikta ekspresija biežāk novērojama BCL2 negatīvā audzēju grupā ($P < 0,0001$). Šie dati atbilst publicētajiem rezultātiem [Lee, Im et al., 2007]. HER2 ekspresijas trūkums vai vājā ekspresija (0 līdz 2+) tiek biežāk novērota reizē ar izteiktu BCL2 ekspresiju (68,6%). HER2 3+ ekspresija tiek biežāk novērota (56,7%) BCL2 negatīvā grupā [Lee, Im et al., 2007.].

BCL2 pozitīvi krūts vēža gadījumi biežāk ir ar zemu Ki-67 indeksu ($P < 0,0001$), kaut gan ir aprakstītas arī pretrunīgas attiecības starp BCL2 un proliferatīvo aktivitāti. Daži autori ir parādījuši, ka BCL2 ekspresija ir ievērojami biežāka krūts vēžu gadījumos ar zemu Ki-67 indeksu, savukārt citu autoru pētījumos nav gūti pierādījumi par negatīvu korelāciju starp BCL2 ekspresiju un Ki-67 indeksu [Lee, Im et al., 2007; Zaha un Lazar, 2012].

Le et al. pētījumā novēroja statistiski nozīmīgu asociāciju starp pT un BCL2 ekspresiju ($P = 0,03$). BCL2 ekspresija pT1 gadījumos bija 83%, bet pT2 – 58% gadījumu un pT3 – 61% gadījumu [Le et al., 1999].

Zaha un Lazar arī apliecina asociāciju starp BCL2 un pT pakāpi ($P = 0,04$), kā arī saistību starp BCL2 ekspresiju un krūts vēža histoloģisko variant [Zaha un Lazar, 2012].

Kaplāna-Meijera dzīvildzes analīze atklāj BCL2 ekspresiju kā nozīmīgu prognostisko faktoru atbilstoši starptautiskiem datiem [Hwag et al., 2012.], lai gan ir pētījumi, kuros šo sakarību nenovēro [Ryu un Lee, 2012].

3.15. Ciklooksigenāzes-2 proteīna ekspresija

Saskaņā ar starptautiski citējamā medicīnas literatūrā minētajiem datiem, COX-2 ekspresija krūts vēzī svārstās no 4,5% līdz 85% [Brueggemeier et al., 2005; Lee et al., 2010], bet šajā pētījumā COX-2 ekspresiju novēroja tikai 1,3% izmeklēto krūts vēža gadījumu. COX-2 ekspresija tika novērota HER2 pozitīvā un trīskārši negatīvā krūts vēža molekulārā apakštipā. Luminālā A un abās luminālā B apakštipa grupās COX-2 ekspresiju nenovēroja. Kopumā

dati līdzinās van *Nes et al.* iegūtiem datiem, kur COX-2 ekspresija tiek biežāk novērota vairāk ER un PR negatīvos audzējos ($P=0,002$ un $P=0,008$, attiecīgi), neskatoties uz atšķirīgām robežvērtībām un matemātiskiem aprēķiniem [van *Nes et al.*, 2010].

Lee *et al.* salīdzināja klīniskus un morfoloģiskus faktorus starp pacientēm ar un bez COX-2 ekspresijas krūts vēža audos. Rezultātā COX-2 ekspresija biežāk konstatēta lielāka izmēra audzējos un audzēja audos pacientēm ar metastātiskiem limfas mezgliem ($P<0,001$ un $P=0,048$, attiecīgi). Tomēr netika konstatēta statistiski ticama korelācija ($P=0,424$) starp COX-2 ekspresiju un laika periodu līdz slimības recidīvam [Lee *et al.*, 2010].

Kā aprakstīja Lee *et al.*, 2007, nav statistiski ticamas saiknes starp COX-2 ekspresiju un pacientes vecumu ($P=0,76$), audzēja lielumu ($P=0,143$), metastāžu skaitu paduses limfmezglos ($P=0,236$), attālām metastāzēm ($P=0,407$), hormonu receptoru ER un PR ekspresiju ($P=0,286$ un $P=0,272$ attiecīgi), HER2 ekspresiju ($P=0,277$), Ki-67 ekspresiju ar robežvērtību 20% ($P=0,23$), p53 pozitivitāti ($P=0,126$) un mirstību ($P=0,674$).

3.16. Ciklīna D1 ekspresija

Ciklīna D1 ekspresija krūts vēža audos dažādos pētījumos konstatēta 28-83% krūts vēža gadījumā. Lielā izklīde ir saistīta ar dažādu antivielu, vizualizācijas tehnoloģiju un robežpunktu pielietojumu. Vairāki autori uzskata, ka imūnhistoķīmiski novērtēt ciklīna D1 ekspresiju ir grūti vai pat neiespējami bieži apšaubāmu rezultātu demonstrācijas dēļ, kaut ir izstrādātas jaunas trušu monoklonālās antivielas pret ciklīnu D1 [Reis -Filho *et al.*, 2006].

Šajā pētījumā pozitīva ciklīna D1 ekspresija konstatēta 61,6% krūts vēža gadījumā. Luminālā A un luminālā B (HER2 negatīvā) molekulārā apakštipa grupās novēroja biežāku ciklīna D1 ekspresiju nekā HER2 pozitīvā vai trīskārši negatīvā krūts vēža molekulārā apakštipā.

Pētījumu dati ir atklājuši statistiski nozīmīgu saistību starp ciklīna D1 ekspresiju un pT parametru ($P=0,04$), bet netika atrasta asociācija starp metastātiski izmainītiem limfmezgliem, menstruālo stāvokli vai pacienta vecumu; šajos aspektos $P>0,05$ [Lee, Park et al., 2007].

Joprojām ir pretrunīgi dati par ciklīna D1 ekspresiju kā prognostisku vai prediktīvu marķieri. Daži autori ziņo, ka ciklīna D1 ekspresija liecina par sliktu prognozi, citos pētījumos konstatēts, ka ciklīna D1 ekspresijai nav nekādas prognostiskās nozīmes, bet citos ziņojumos apgalvots, ka ciklīna D1 ekspresija saistās ar labāku krūts vēža prognozi [Lee, Park et al., 2007].

Stendahl et al. apgalvo, ka pacientiem, kuriem krūts vēzis ekspresē ciklīnu D1 augstā līmenī, ir labāka dzīvildze, ja nav veikta hormonu terapija. Savukārt ciklīna D1 ekspresijai ir negatīva loma krūts vēža pacientēm postmenopauzē, kuru terapijā tiek lietots tamoksifēns [Stendahl et al., 2004]. *Ahnström et al.* ziņoja, ka ciklīna D1 un HER2 kombinēta ekspresija krūts vēža pacientiem saistās ar ātru recidīvu un ļaundabīgu audzēju veidu ar sliktāku prognozi [Ahnström et al., 2005].

3.17. CK 5/6 ekspresija un bazālā diferenciācija

CK 5/6 ekspresija tika konstatēta 19,0% secīgu invazīvu krūts vēža gadījumos. CK 5/6 biežums iekļaujas medicīnas literatūrā publicētā diapazonā [Rattan et al, 2012; Alshareeda et al, 2013]. Statistiski nozīmīgu saistību atrod starp CK 5/6 ekspresiju, trīskāršu negatīvu molekulāro apakštipu, ER, PR un ciklīna D1 proteīnu ekspresijas trūkumu [Pillai et al., 2012; Rattan et al., 2012; Alshareeda et al., 2013.]. Svarīgs atradums ir CK 5/6 izpausmes heterogenitāte.

4. SECINĀJUMI

1. Balstoties uz imūnhistoķīmiski noteiktu ER, PR, Ki-67 un HER2 proteīnu ekspresiju, krūts vēzi var iedalīt savstarpēji izslēdzošos molekulāros apakštipos. Imūnhistoķīmija ir arī tehnoloģiski piemērota metode, lai noteiktu p53, BCL2, COX-2, ciklīna D1 un CK 5/6 ekspresiju krūts vēža audos.
2. Audzēja molekulārie apakštipi atšķiras pēc audzēja tilpuma un lokālās audzēja izplatības (pT). Statistiski nozīmīga saistība konstatēta starp molekulāro apakštipu un metastāžu skaitu paduses limfmezglos, invāziju limfvados, *carcinoma in situ* esamību un audzēja morfoloģisko variantu.
3. p53, BCL2, COX-2, ciklīna D1 un CK 5/6 ekspresija atšķiras starp molekulāriem apakštipiem, kas var liecināt par kancerogēneses atšķirībām.
4. p53 proteīna ekspresija (24,0% no krūts vēža gadījumu) ir saistīta ar ER ($P<0,0001$), PR ($P<0,0001$) un BCL2 ($P<0,0001$) ekspresijas iztrūkumu. Atrade saistībā ar HER2 ekspresiju un proliferācijas aktivitāti ir heterogēna.
5. BCL2 olbaltumvielu ekspresējoša krūts vēža molekulārais portrets ietver pozitīvu ER ($P<0,0001$), PR ($P<0,0001$), ciklīna D1 ($P<0,0001$), CK 5/6 ($P<0,0001$) ekspresiju, kā arī saistās ar HER2 ekspresijas iztrūkumu ($P<0,0001$). Pastāv statistiski nozīmīga saistība ar zemāku proliferācijas aktivitāti ($P<0,0001$), kaut gan konstatēta heterogenitāte. BCL2 proteīna ekspresijas biežums (67,6%) ir piemērots klīniskai analīzei.
6. COX-2 ekspresija krūts vēža audos ir reta (1,3%). Ekspresija saistās ar ER ($P=0,002$) un PR ($P=0,008$) iztrūkumu, CK 5/6 ($P=0,001$) ekspresiju.

7. Ciklīna D1ekspresija krūts vēža audos ir bieži novērojama (61,6%) un saistās ar ER ($P < 0,0001$) un PR ($P < 0,0001$) ekspresiju, kā arī nozīmīgi negatīvi korelē ar CK 5/6 ($P = 0,004$).
8. CK 5/6 ekspresija konstatēta 19,0% krūts vēža gadījumu un saistās ar ER ($P = 0,003$) un PR ($P = 0,004$) ekspresijas izzudumu.
9. Krūts vēža pacientu dzīvildze ir būtiski atkarīga no pT, pN, vēža diferenciācijas pakāpes, molekulārā apakštipa, p53 un BCL2 ekspresijas.

5. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Krūts vēža audu morfoloģiskā izpēte jāveic ar vienveidīga protokola palīdzību. Ieteicams papildināt esošo krūts vēža morfoloģiskās izmeklēšanas protokolu ar molekulārā apakštipa raksturojuma sadaļu. Būtu jānosaka pieci molekulārie apakštipi, izmantojot imūnhistoķīmiju kā ekonomiski atbilstošu aizstājējmetodi.
2. Ņemot vērā p53 ekspresijas biežumu kontekstā ar nozīmīgu saistību ar pacientu dzīvildzi un publicētiem pierādījumiem un, ir ieteicams iekļaut krūts vēža morfoloģiskās izmeklēšanas protokolā imūnhistoķīmisku p53 proteīna noteikšanu.
3. Ņemot vērā BCL2 ekspresijas biežumu kontekstā ar nozīmīgu saistību ar pacientu dzīvildzi un publicētiem pierādījumiem, ir ieteicams iekļaut krūts vēža morfoloģiskās izmeklēšanas protokolā imūnhistoķīmisku BCL2 proteīna noteikšanu.

6. ATSAUCES

1. Ahnström M, Nordenskjöld B, Rutqvist LE, Skoog L, Stål O. Role of cyclin D1 in erbB2-positive breast cancer and tamoxifen resistance. *Breast Cancer Res Treat.* 2005;91:145-151.
2. Alshareeda AT, Soria D, Garibaldi JM, Rakha E, Nolan C, Ellis IO, Green AR. Characteristics of basal cytokeratin expression in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;139(1):23-37.
3. Bertolo C, Guerrero D, Vicente F, Cordoba A, Esteller M, Ropero S, Guillen-Grima F, Martinez-Peñuela JM, Lera JM. Differences and molecular immunohistochemical parameters in the subtypes of infiltrating ductal breast cancer. *Am J Clin Pathol.* 2008;130(3):414-424.
4. Bennis SS, Abbass FF, Akasbi YY, Znati KK, Amrani KK, Elmesbahi OO, Amarti AA. Prevalence of molecular subtypes and prognosis of invasive breast cancer in north-east of Morocco: retrospective study. *BMC Res Notes.* 2012;5(1):436.
5. Bombonati A, Sgroi DC. The molecular pathology of breast cancer progression. *J Pathol.* 2011;223:307-317.
6. Brueggemeier RW, Diaz-Cruz ES, Li PK, Sugimoto Y, Lin YC, Shapiro CL. Translational studies on aromatase, cyclooxygenases and enzyme inhibitors in breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;95:129-136.
7. Callagy GM, Pharoah PD, Pinder SE, Hsu FD, Nielsen TO, Ragaz J, Ellis IO, Huntsman D, Caldas C. Bcl-2 is a prognostic marker in breast cancer independently of the Nottingham Prognostic Index. *Clin Cancer Res.* 2006;12(8):2468-2475.
8. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, Karaca G, Troester M A, Tse CK, Edmiston S, Deming SL, Geradts J, Cheang MC, Nielsen TO, Moorman PG, Earp HS, Millikan RC. Race,

- breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 2006;295(21):2492-2502.
9. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Watson M, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Ellis MJ, Nielsen TO. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101:736-750.
 10. Dako HercepTest™, Code K5204, 16th edition. For immunocytochemical staining.
 11. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart-Gebhart MJ, Paesmans M. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*. 2007;96(10):1504-1513.
 12. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FG, Trotti A, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York: Springer; 2010.
 13. 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(5):403-410.
 14. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011;22(8):1736-1747.
 15. Guarneri V, Barbieri E, Piacentini F, Giovannelli S, Ficarra G, Frassoldati A, Maiorana A, D'Amico R, Conte P. Predictive and prognostic role of p53 according to tumor phenotype in breast cancer patients treated with preoperative chemotherapy: a single-institution analysis. *Int J Biol Markers*. 2010;25(2):104-111.

16. Guarneri V, Conte PF. Metastatic breast cancer: therapeutic options according to molecular subtypes and prior adjuvant therapy. *Oncologist*. 2009;14:645-656.
17. Hamilton A, Piccart M. The contribution of molecular markers to the prediction of response in the treatment of breast cancer: a review of the literature on HER-2, p53 and BCL-2. *Ann Oncol*. 2000;11:647-663.
18. Hammond MH, Hayes DF, Wolff AC, Mangu PB, Temin S. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *J Oncol Pract*. 2010;6(4):195-197.
19. Huang Y, Nayak S, Jankowitz R, Davidson NE, Oesterreich S. Epigenetics in breast cancer: what's new? *Breast Cancer Res*. 2011;13:225.
20. Hwang KT, Woo JW, Shin HC, Kim HS, Ahn SK, Moon HG, Han W, Park IA, Noh DY. Prognostic influence of BCL2 expression in breast cancer. *Int J Cancer*. 2012;131(7):E1109-19. doi: 10.1002/ijc.27539.
21. Iliopoulos D, Hirsch HA, Wang G, Struhl K. Inducible formation of breast cancer stem cell and their dynamic equilibrium with non-stem cancer cells via IL6 secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108(4):1397-1402.
22. Irigoyen MAA, García FV, Iturriagoitia AC, Beroiz BI, Martínez MS, Grima FG. Subtipos moleculares del cáncer de mama: implicaciones pronósticas y características clínicas e inmunohistoquímicas. *An. Sist. Sanit. Navar*. 2011;34(2):219-233.
23. Jung SY, Jeong J, Shin SH, Kwon Y, Kim EA, Ko KL, Shin KH, Ro J, Lee KS, Park IH, Lee S, Kim SW, Kang HS. Accumulation of p53 determined by immunohistochemistry as a prognostic marker in node

- negative breast cancer; analysis according to St Gallen consensus and intrinsic subtypes. *J Surg Oncol*. 2011;103(3):207-211.
24. Kang JH, Song KH, Jeong KC, Kim S, Choi C, Lee CH, Oh SH. Involvement of Cox-2 in the metastatic potential of chemotherapy-resistant breast cancer cells. *BMC Cancer*. 2011;11:334.
 25. Le MG, Mathieu MC, Douc-Rasy S, Le Bihan ML, Adb El All H, Spielmann M, Riou G. c-myc, p53 and bcl-2, apoptosis-related genes in infiltrating breast carcinomas: evidence of a link between bcl-2 protein over-expression and a lower risk of metastasis and death in operable patients. *Int J Cancer*. 1999;84(6):562-567.
 26. Lee A, Park WC, Yim HW, Lee MA, Park G, Lee KY. Expression of c-erbB2, cyclin D1 and estrogen receptor and their clinical implications in the invasive ductal carcinoma of the breast. *Jpn J Clin Oncol*. 2007;37(9):708-714.
 27. Lee JA, Bae JW, Woo SU, Kim H, Kim CH. Correlation between COX-2 expression and hormone receptors in invasive ductal breast cancer. *J Korean Surg Soc*. 2010;78:140-148.
 28. Lee KH, Im SA, Oh DY, Lee SH, Chie EK, Han W, Kim DW, Kim TY, Park IA, Noh DY, Heo DS, Ha SW, Bang YJ. Prognostic significance of bcl-2 expression in stage III breast cancer patients who had received doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel as adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer*. 2007;7:63.
 29. Li XR, Liu M, Zhang YJ, Wang JD, Zheng YQ, Li J, Ma B, Song X. 37. CK5/6, EGFR, Ki-67, cyclin D1, and nm23-H1 protein expressions as predictors of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients. *Med Oncol*. 2011;28, Suppl 1:S129-S134.

30. Malhotra GK, Zhao X, Band H, Band V. Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biol Ther.* 2010;10(10):955-960.
31. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, Hernandez-Boussard T, Livasy C, Cowan D, Dressler L, Akslen LA, Ragaz J, Gown AM, Gilks CB, van de Rijn M, Perou CM. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2004;10:5367-5374.
32. Nielsen TO, Parker JS, Leung S, Voduc D, Ebbert M, Vickery T, Davies SR, Snider J, Stijleman IJ, Reed J, Cheang MC, Mardis ER, Perou CM, Bernard PS, Ellis MJ. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16:5222-5232.
33. Onitilo AA, Engel JM, Greenlee RT, Mukesh BN. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. *Clin Med Res.* 2009;7(1-2):4-13.
34. Perou CM, Sørliie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lønning PE, Børresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406:747-752.
35. Pillai SKK, Tay A, Nair S, Leong CO. Triple-negative breast cancer is associated with EGFR, CK5/6 and c-KIT expression in Malaysian women. *BMC Clin Pathol.* 2012;12:18. doi: 10.1186/1472-6890-12-18.
36. Place AE, Huh SJ, Polyak K. The microenvironment in breast cancer progression: biology and implications for treatment. *Breast Cancer Res.* 2011;13:227.

37. Puztai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF. Molecular classification of breast cancer: limitations and potential. *Oncologist*. 2006;11:868-877.
38. Rattan B, Manjari M, Kahlon SK, Kalra N, Bhalla A, Paul S. The Immunohistochemical expression of the oestrogen receptor (ER), HER-2/NEU and cytokeratin 8/18 and 5/6 in invasive breast carcinoma. *J Clin Diagn Res*. 2012;6(9):1495-1498.
39. Reis-Filho JS, Milanezi F, Steele D, Savage K, Simpson PT, Nesland JM, Pereira EM, Lakhani SR, Schmitt FC. Metaplastic breast carcinomas are basal-like tumours. *Histopathology*. 2006;49(1):10-21.
40. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE Jr, Davidson NE, Tan-Chiu E, Martino S, Paik S, Kaufman PA, Swain SM, Pisansky TM, Fehrenbacher L, Kutteh LA, Vogel VG, Visscher DW, Yothers G, Jenkins RB, Brown AM, Dakhil SR, Mamounas EP, Lingle WL, Klein PM, Ingle JN, Wolmark N. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005; 353:1673-1684.
41. Rossner P Jr, Gammon MD, Zhang YJ, Terry MB, Hibshoosh H, Memeo L, Mansukhani M, Long CM, Garbowski G, Agrawal M, Kalra TS, Gaudet MM, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM. Mutations in p53, p53 protein overexpression and breast cancer survival. *J Cell Mol Med*. 2009;13(9B):3847-3857.
42. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, Hess KR, Stec J, Ayers M, Wagner P, Morandi P, Fan C, Rabiul I, Ross JS, Hortobagyi GN, Puztai L. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2005;11(16):5678-5685.
43. Rudas M, Lehnert M, Huynh A, Jakesz R, Singer C, Lax S, Schippinger W, Dietze O, Greil R, Stiglbauer W, Kwasny W, Grill R, Stierer M,

- Gnant MF, Filipits M; Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. Cyclin D1 expression in breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen-based therapy. *Clin Cancer Res.* 2008;14(6):1767-1774.
44. Ryu DW, Lee CH. Outcome of triple-negative breast cancer in patients with or without markers regulating cell cycle and cell death. *J Korean Surg Soc.* 2012;83(4):187-195.
 45. Sørliie T. Molecular portraits of breast cancer: tumour subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer.* 2004;40:2667-2675.
 46. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, Martiat P, Fox SB, Harris AL, Liu ET. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(18):10393-10398.
 47. Spitale A, Mazzola P, Soldini D, Mazzucchelli L, Bordoni A. Breast cancer classification according to immunohistochemical markers: clinicopathologic features and short-term survival analysis in a population-based study from the South of Switzerland. *Ann Oncol.* 2009;20(4):628-635.
 48. Stendahl M, Kronblad A, Rydén L, Emdin S, Bengtsson NO, Landberg G. cyclin D1 overexpression is a negative predictive factor for tamoxifen response in postmenopausal breast cancer patients. *Br J Cancer.* 2004;90(10):1942-1948.
 49. Strehl JD, Wachter DL, Fasching PA, Beckmann MW, Hartmann A. Invasive breast cancer: recognition of molecular subtypes. *Breast Care.* 2011;6:258-264.
 50. Tan J, Buache E, Chenard MP, Dali-Youcef, Rio MC. Adipocyte is a non-trivial, dynamic partner of breast cancer cells. *Int J Dev Biol.* 2011;55:85-859.

51. Tavassoli FA, Devilee P: World Health Organization: Tumours of the Breast and Female Genital Organs (WHO/IARC Classification of Tumours) (IARC WHO Classification of Tumours): IARC Press, Lyon, France; 2003.
52. van Nes JG, de Kruijf EM, Faratian D, van de Velde CJ, Putter H, Falconer C, Smit VT, Kay C, van de Vijver MJ, Kuppen PJ, Bartlett JM. COX2 expression in prognosis and in prediction to endocrine therapy in early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;125(3):671-685.
53. Wander SA, Zhao D, Slingerland JM. P27: a barometer of signalind deregulation and potential predictor of response to targeted therapies. *Clin Cancer Res.* 2011;17(1):12-18.
54. Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, Jacks LM, Patil SM, King T, Morrow M. Presenting features of breast cancer differ by molecular subtype. *Ann Surg Oncol.* 2009;16(10):2705-2710.
55. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF; American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(1):118-145.
56. Xu R, Feiner H, Li P, Yee H, Inghirami G, Delgado Y, Perle MA. Differential amplification and overexpression of HER-2/neu, p53, MIB1, and estrogen receptor/progesterone receptor among medullary carcinoma, atypical medullary carcinoma, and high-grade invasive

- ductal carcinoma of breast. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127(11):1458-1464.
57. Yamashita H, Toyama T, Nishio M, Ando Y, Hamaguchi M, Zhang Z, Kobayashi S, Fujii Y, Iwase H. p53 protein accumulation predicts resistance to endocrine therapy and decreased post-relapse survival in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2006;8(4):R48.
58. Yang XR, Sherman ME, Rimm DL, Lissowska J, Brinton LA, Peplonska B, Hewitt SM, Anderson WF, Szeszenia-Dabrowska N, Bardin-Mikolajczak A, Zatonski W, Cartun R, Mandich D, Rymkiewicz G, Ligaj M, Lukaszek S, Kordek R, Garcia-Closas M. Differences in risk factors for breast cancer molecular subtypes in a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(3):439-443.
59. Zaha DC, Lazăr E. Molecular characterization of apoptosis by the immunohistochemical evaluation of Bcl-2 in breast cancer. *Rom J Morphol Embryol.* 2012;53(1):155-160.

7. PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Publikācijas

1. Vanags A, Štrumfa I, Gardovskis A, Borošenko V, Āboliņš A, Teibe U, Trofimovičs G, Miklaševičs E, Gardovskis J. *Population screening for hereditary and familial cancer syndromes in Valka district of Latvia. Hered Cancer Clin Pract.* 2010;8(8):doi: 10.1186/1197-4287-8-8 (11 lpp).
2. Vanags A, Strumfa I, Gardovskis A, Melbarde-Gorkusa I, Abolins A, Trofimovics G, Gardovskis J. *The upgrade of hereditary cancer surveillance by Valka district population screening data. Acta Chirurgica Latviensis.* 2010;10/2:9-15.
3. Aboliņš A, Vanags A, Volanska G, Melbarde-Gorkusa I, Gardovskis J, Strumfa I. *Malignant peripheral nerve sheath tumour of the breast in complex clinical background. Acta Chirurgica Latviensis.* 2010;10/2: 112-114.
4. Melbārde-Gorkuša I, Štrumfa I, Āboliņš A, Miklaševičs E, Subatniece S, Gardovskis A, Irmejs A, Gardovskis J. Krūts vēža imūnhistoķīmiskais raksturojums atkarībā no pacienta vecuma diagnozes noteikšanas brīdī. Zinātniskie raksti: 2010.gada medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas: Internā medicīna. Ķirurģija. Medicīnas bāzes zinātnes. Stomatoloģija. Farmācija / Rīgas Stradiņa universitāte. 2011;2.sēj.:73-80.
5. Āboliņš A, Vanags A, Trofimovičs G, Miklaševičs E, Gardovskis J, Štrumfa I. *Molecular subtype shift in breast cancer upon trastuzumab treatment: a case report. Pol J Pathol.* 2011;62:65-68.
6. Abolins A, Vanags A, Strumfa I, Melbarde-Gorkusa I, Abolina M, Trofimovics G, Miklasevics E, Gardovskis J. *Primary breast lymphoma: clinical and morphological characteristics. Acta Chirurgica Latviensis.* 2011;11:9-15.

7. **Abolins A**, Strumfa I, Vanags A, Trofimovics G, Gardovskis J. *Histological and immunohistochemical evaluation of cytokeratin 5/6 expressing breast cancer. Acta Chirurgica Latviensis*. 2011;11:28-33.
8. Melbarde-Gorkusa I, Strumfa I, Irmejs A, **Abolins A**, Miklasevics E, Gardovskis A, Subatniece S, Trofimovics G, Gardovskis J. *Management of BRCA1 mutation carrier with breast cancer. Acta Chirurgica Latviensis*. 2011;11:148-150.
9. **Abolins A**, Strumfa I, Vanags A, Trofimovics G, Gardovskis J. *Granular cell tumour of the breast: challenging clinical and radiological mimic of cancer. Acta Chirurgica Latviensis*. 2012;12:84-86.
10. Strumfa I, Vanags A, **Abolins A**, Gardovskis J. *Pathology of breast cancer; from classic concepts to molecular pathology and pathogenesis. Acta Chirurgica Latviensis*. 2012;12:59-66.
11. Grāmatas nodaļa "Population screening for hereditary and familial cancer syndromes: implications for cancer research and care" by Vanags A, Vasko E, Strumfa I, Simtniece Z, **Abolins A**, Strumfs B, Gardovskis J 2012.g. iesniegta publicēšanai grāmatā "The Research and Biology of Cancer" (kods BK030A), izdevniecība iConcept Press Ltd.
12. Bērziņa D, Nakazawa-Miklaševiča M, Štrumfa I, **Āboliņš A**, Grīviņa A, Lapiņa D, Irmejs A, Gardovskis J, Miklaševičs E. *TP53 mutation status of breast cancer in Latvia. Comparison of detection methods for sporadic TP53 mutations. Raksts iesniegts publicēšanai Acta Chirurgica Latviensis*.
13. **Abolins A**, Strumfa I, Vanags A, Trofimovics G, Gardovskis J. *Expression of cyclin D1, cyclooxygenase-2, p53, BCL2: novel molecular markers in breast cancer. Raksts iesniegts publicēšanai Breast Cancer Research and Treatment 2012*.

Tēzes starptautiska mēroga konferencēs un kongresos

1. **Abolins A**, Strumfa I, Vanags A, Volanska G, Trofimovics G, Gardovskis J. *Morphological and immunohistochemical profile of mucinous breast cancer. Supplement of Acta Chirurgica Latviensis*. 2010;10/1:37.
2. **Abolins A**, Strumfa I, Vanags A, Volanska G, Trofimovics G, Gardovskis J. *Frequency and characteristics of p53 protein overexpressing breast cancer. Supplement of Acta Chirurgica Latviensis*. 2010;10/1:37.
3. Melbarde-Gorkusa I, Strumfa I, **Abolins A**, Miklasevics E, Subatniece S, Gardovskis A, Irmejs A, Gardovskis J. *Immunohistochemical features of familial breast cancer in Latvia by age at diagnosis. Supplement of Acta Chirurgica Latviensis*. 2010;10/1:45.
4. Vanags A, Strumfa I, Gardovskis A, Borosenko V, **Abolins A**, Trofimovics G, Gardovskis J. *The full spectrum of hereditary and familial cancer by population screening in Valka district. Supplement of Acta Chirurgica Latviensis*. 2010;10/1:84.
5. **Abolins A**, Strumfa I, Melbarde-Gorkusa I, Vanags A, Trofimovics G, Gardovskis J. *Mucinous breast cancer: Morphological and immunohistochemical characterisation. The Breast*. 2011;20 (Suppl.1): S23.
6. **Abolins A**, Strumfa I, Melbarde-Gorkusa I, Trofimovics G, Miklasevics E, Gardovskis J. *Comparative analysis of cytokeratin 5/6 expressing breast cancer by histology and molecular subtype. Virchows Arch*. 2011;459(Suppl.1):S64.
7. **Abolins A**, Strumfa I, Melbarde-Gorkusa I, Trofimovics G, Miklasevics E, Gardovskis J. *Ki-67 labeling index by molecular subtype of breast cancer. Virchows Arch*. 2011;459(Suppl.1):S64.

8. Volanska G, **Abolins A**, Strumfa I, Nikulsins S, Abolina M, Gardovskis J, Miklasevics E. *Primary diffuse large B-cell lymphoma of the breast. Virchows Arch.* 2011;459(Suppl.1):S83.
9. **Āboliņš A**, Štrumfa I, Trofimovičs G, Gardovskis J, Miklaševičs E. Krūts vēža molekulārā apakštipa raksturojums Latvijā. Apvienotā Pasaules latviešu zinātnieku 3.kongresa un Letonikas 4.kongresa Medicīnas sekcijas „Medicīnas zinātne un Latvijas sabiedrības veselība XXI gadsimtā” tēzes Rīgā 2011.gada 24.-27.oktobrī, 11.lpp.
10. Vanags A, Štrumfa I, **Āboliņš A**, Melbārde-Gorkuša I, Gardovskis A, Trofimovičs G, Miklaševičs E, Gardovskis J. Pārmantota vēža sindromu kopaina Latvijā. Apvienotā Pasaules latviešu zinātnieku 3.kongresa un Letonikas 4.kongresa Medicīnas sekcijas “Medicīnas zinātne un Latvijas sabiedrības veselība XXI gadsimtā” tēzes Rīgā 2011.gada 24.-27.oktobrī, 105.lpp.
11. **Abolins A**, Strumfa I, Simtniece Z, Vanags A, Trofimovics G, Gardovskis J. *Analysis of BCL2 oncoprotein expressing breast cancer by molecular subtype. Virchows Arch.* 2012;461(Suppl.1):S234.
12. **Abolins A**, Strumfa I, Volanska G, Vanags A, Strumfs B, Gardovskis J. *Extramammary tumour metastasis in the breast. Virchows Arch.* 2012, 461(Suppl.1):S234.
13. **Abolins A**, Strumfa I, Simtniece Z, Miklasevics E, Trofimovics G, Gardovskis J. *Analysis of cyclin D1 expressing breast cancer by molecular subtype.* 8. Nacionālā Vēža Izpētes Institūta vēža konferences tēžu krājums (8th NCRI Cancer Conference) Liverpūlē, Lielbritānijā, 04.-07.11.2012.

Tēzes Latvijas (vietēja) mēroga konferencēs un kongresos

1. Melbārde-Gorkuša I., Štrumfa I., **Āboliņš A.**, Miklaševičs E., Subatniece S., Gardovskis A., Irmejs A., Borošenko V., Gardovskis J. Krūts vēža imūnhistoķīmiskais raksturojums atkarībā no vecuma diagnozes noteikšanas brīdī. Rīgas Stradiņa universitātes 2010.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2010:273.
2. Štrumfa I., Melbārde-Gorkuša I., Vanags A., Miklaševičs E., **Āboliņš A.**, Gardovskis J. Krūts vēža morfoloģijas un imūnfēnotipa īpatnības kā norāde uz BRCA1 gēna mutāciju. Rīgas Stradiņa universitātes 2010.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2010:276.
3. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Vanags A., Volanska G., Trofimovičs G., Gardovskis J. p53 proteīnu ekspresējošu krūts vēžu molekulārā apakštipa salīdzinoša analīze. Rīgas Stradiņa universitātes 2010.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2010:282.
4. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Vanags A., Volanska G., Trofimovičs G., Gardovskis J. Nozīmīgu onkoloģisku parametru (pTNGR) Izvērtējums P53 proteīnu ekspresējošos krūts vēžos. Rīgas Stradiņa universitātes 2010.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2010:283.
5. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Vanags A., Melbārde-Gorkuša I., Gardovskis J. Mammaglobīns kā primāri nezināmas izcelsmes audzēja metastāžu histoģenēzes diagnostikas marķieris. Rīgas Stradiņa universitātes 2010.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2010:284.
6. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Vanags A., Trofimovičs G., Gardovskis J. Citokeratīna 5/6 ekspresējošu krūts vēžu histoloģiskā un molekulārā apakštipa salīdzinoša analīze. Rīgas Stradiņa universitātes 2011.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2011:282.

7. **Abolins A.**, Strumfa I., Vanags A., Melbarde-Gorkusa I., Trofimovics G., Gardovskis J. *Hereditary invasive papillary breast cancer*. Rīgas Stradiņa universitātes 2011.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2011:283.
8. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Vanags A., Melbārde-Gorkuša I., Trofimovičs G., Gardovskis J. Medullāra krūts vēža morfoloģisks un imūnhistoķīmisks raksturojums. Rīgas Stradiņa universitātes 2011.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2011:284.
9. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Ņikuļšins S., Āboliņa M., Gardovskis J. Ne-Hodžkina limfoma krūts dziedzerī: klīniskā gadījuma apraksts. Rīgas Stradiņa universitātes 2011.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2011:285.
10. Melbārde-Gorkuša I., Vanags A., Štrumfa I., **Āboliņš A.**, Miklaševičs E., Trofimovičs G., Gardovskis J. Mioepiteliālā diferenciācija BRCA1-pozitīva krūts vēža audos. Rīgas Stradiņa universitātes 2011.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2011:294.
11. Melbārde-Gorkuša I., Vanags A., Štrumfa I., **Āboliņš A.**, Miklaševičs E., Trofimovičs G., Gardovskis J. Timidilātsintāzes ekspresija pārmantotā invazīvā krūts vēzī. Rīgas Stradiņa universitātes 2011.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2011:295.
12. Melbārde-Gorkuša I., Vanags A., Štrumfa I., **Āboliņš A.**, Miklaševičs E., Trofimovičs G., Gardovskis J. Ciklooksigenāze-2 kā BRCA1-pozitīva krūts vēža marķieris. Rīgas Stradiņa universitātes 2011.gada zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2011:296.
13. Bogdanova T., Simtniece Z., **Āboliņš A.**, Štrumfa I. Ādas melanomas metastāzes krūts dziedzerī. Rīgas Stradiņa universitātes 11. zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2012:259.
14. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Vanags A., Bogdanova T., Trofimovičs G., Gardovskis J. Nozīmīgu onkoloģisku parametru (pTNGR) izvērtējums

- Bcl2 onkoproteīnu ekspresējošos krūts vēžos. Rīgas Stradiņa universitātes 11. zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2012:263.
15. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Vanags A., Jakovļevs A., Trofimovičs G., Gardovskis J. Krūts vēža klīniski radioloģiskais līdzinieks – granulāro šūnu audzējs. Rīgas Stradiņa universitātes 11. zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2012:264.
 16. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Vanags A., Melbārde-Gorkuša I., Trofimovičs G., Gardovskis J. Krūts dziedera primāra maligna fibroza histiocitoma. Rīgas Stradiņa universitātes 11. zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2012:265.
 17. **Āboliņš A.**, Štrumfa I., Simtniece Z., Vanags A., Melbārde-Gorkuša I., Trofimovičs G., Gardovskis J. Bcl2 onkoproteīnu ekspresējošu krūts vēžu molekulārā apakštipa analīze. Rīgas Stradiņa universitātes 11. zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2012:266.
 18. **Āboliņš A.**, Kalniete D., Vasiļevska S., Bērziņa D., Štrumfa I., Miklaševičs E., Gardovskis J. Sinoviāla sarkoma krūts dziedzerī. Rīgas Stradiņa universitātes 11. zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2012:278.
 19. Vanags A., **Āboliņš A.**, Melbārde-Gorkuša I., Štrumfa I., Volanska G., Štrumfs B., Gardovskis J. Ekstramammāru audzēju metastāzes krūts dziedzerī. Rīgas Stradiņa universitātes 11. zinātniskās konferences tēžu grāmata, 2012:279.