

Analiza zależności pomiędzy obecnością receptorów androgenowych a innymi czynnikami prognostycznymi u kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego

Anil Kumar Agrawal¹, Zygmunt Grzebieniak¹, Piotr Żukrowski¹, Michał Jeleń²,
Wojciech Kielan¹, Grzegorz Marek¹, Sebastian Smolarek¹, Joanna Mazurak¹

Wstęp. Liczne modele teoretyczne i badania doświadczalne wskazują na istotną rolę, jaką mogą odgrywać receptory androgenowe jako czynniki rokownicze w raku gruczołu piersiowego. Celem pracy była ocena zależności między występowaniem receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych a wybranymi czynnikami rokowniczymi o potwierdzonym znaczeniu klinicznym u kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego, poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu.

Materiał i metody. Badaną grupę stanowiło 109 kobiet poddanych w latach 2002-2004 radykalnemu leczeniu chirurgicznemu z powodu raka gruczołu piersiowego w II Katedrze i Klinice Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Onkologicznej AM we Wrocławiu. Wszystkie pacjentki podzielono na dwie grupy: pierwszą z nich stanowiły kobiety, u których obecne były receptory androgenowe na komórkach nowotworowych (AR +), a drugą (grupę kontrolną) pacjentki, u których nie stwierdzono występowania tych receptorów (AR -). Użyto testu χ^2 zależności pomiędzy obecnością lub brakiem receptorów androgenowych a czynnikami prognostycznymi raka piersi. Za istotne statystycznie zależności przyjęto te, gdy $p < 0,05$.

Wyniki. Nie stwierdzono różnic dotyczących występowania czynników prognostycznych, warunkujących przebieg choroby pomiędzy pacjentkami z dodatnimi i ujemnymi receptorami androgenowymi. Wykazano natomiast znamienne częstsze występowanie receptorów androgenowych na komórkach zawierających inne receptory steroidowe, zwłaszcza receptory progesteronowe, oraz na komórkach wykazujących nadekspresję HER2.

Wnioski. Uzyskane przez nas wyniki mogą mieć znaczenie w przewidywaniu pozytywnej reakcji pacjentek na leczenie uzupełniające w raku gruczołu piersiowego.

An analysis of the correlations between the presence of androgen receptors and other prognostic factors in women with breast cancer

Objective. Many theoretical and experimental models indicate that androgen receptors can play an important role as prognostic factors in breast cancer. The aim of this study was to evaluate the correlations between the presence of androgen receptors on cancer cells and other selected prognostic and predictive factors with established clinical significance in women with breast cancer after radical surgical treatment.

Results. We found no differences in the presence of prognostic factors between women with positive and negative androgen receptors. However we have found, that androgen receptors were more common in case of the presence of other steroid receptor-positive cancer cells, particularly progesterone receptors, and in HER2/neu over expressed cells.

Material and methods. The study population consisted of 109 women with breast cancer who had undergone radical surgical treatment between the years 2002 and 2004 at the 2nd Department of General and Oncological Surgery of the Wrocław Medical University. All patients were divided into two groups: group 1 – women with positive androgen receptors in cancer cells (AR(+)) and group 2 – women without androgen receptors (AR(-)). The χ^2 test was used to assess the interactions between androgen receptor and prognostic factors for breast cancer. The level of significance was set at $p < 0.05$.

Conclusions. The presence of AR may provide important predictive information as to the possible positive response to chemotherapy or hormonotherapy in women with breast cancer.

¹ II Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Onkologicznej

² Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej
AM we Wrocławiu

Słowa kluczowe: rak piersi, receptory androgenowe, czynniki rokownicze
Key words: breast cancer, androgen receptors, prognostic and predictive factors

Wstęp

Receptory androgenowe należą do grupy receptorów steroidowych, podobnie jak receptory estrogenowe i progesteronowe. Ze względu na zbliżoną budowę chemiczną estrogenów, progesteronu i androgenów oraz podobne mechanizmy działania wszystkich receptorów steroidowych, w sposób naturalny nasuwa się pytanie o znaczenie prognostyczne obecności receptorów androgenowych na komórkach raka gruczołu piersiowego. O ile wartość kliniczna receptorów estrogenowych i progesteronowych w leczeniu nowotworów piersi została potwierdzona licznymi badaniami doświadczalnymi i opisana w wielu publikacjach [1], o tyle wciąż niewiele wiadomo na temat roli, jaką odgrywa trzeci rodzaj receptorów steroidowych w patogenezie i terapii nowotworów gruczołu piersiowego [2].

Obecnie jedynie w przypadku raka gruczołu piersiowego u mężczyzn niektóre ośrodki stosują jako rutynowe oznaczanie receptorów androgenowych. Wykazano bowiem, iż obecność tych receptorów na komórkach nowotworowych jest korzystnym czynnikiem rokowniczym [3]. Ponadto stwierdzono częstsze występowanie mutacji domeny wiążącej DNA receptora androgenowego u mężczyzn chorych na raka gruczołu piersiowego; jednak rola inicjująca tej mutacji w karcynogenezie nie została ostatecznie potwierdzona [4]. Natomiast u kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego oznacza się standardowo jedynie obecność receptorów estrogenowych i progesteronowych na komórkach nowotworowych, co stanowi podstawę do wdrożenia hormonoterapii u pacjentek z ekspresją tych receptorów [1].

Założenia i cel pracy

Celem pracy jest poszukiwanie zależności między występowaniem receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych oraz wybranymi czynnikami rokowniczymi o ustalonym klinicznie znaczeniu w grupie kobiet poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu z powodu raka gruczołu piersiowego. Analiza tych zależności pozwoli na podjęcie próby określenia znaczenia receptorów androgenowych jako czynnika prognostycznego w pierwotnie operacyjnym raku gruczołu piersiowego.

Materiał badawczy

Materiał badawczy stanowiła grupa 109 kobiet poddanych w latach 2002-2004 radykalnemu leczeniu chirurgicznemu z powodu raka gruczołu piersiowego w II Katedrze i Klinice Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Onkologicznej AM we Wrocławiu. U 30 chorych obecne były receptory androgenowe (AR) na komórkach nowotworowych, a u 79 – nie stwierdzono obecności tych receptorów. Amputację piersi sposobem Pateya przeprowadzono u 61 pacjentek (u 17 z dodatnimi AR i u 44 z ujemnymi

AR), a zabieg oszczędzający gruczoł piersiowy u 48 pacjentek (u 13 z dodatnimi AR i u 35 z ujemnymi AR).

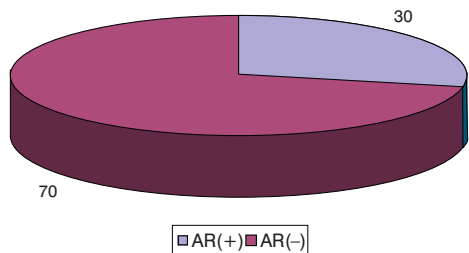
Metody badań

Wszystkie chore poddane radykalnemu leczeniu chirurgicznemu z powodu raka piersi podzielono na dwie grupy: pierwszą z nich stanowiły kobiety, u których obecne były receptory androgenowe na komórkach nowotworowych (AR +), a drugą – (grupę kontrolną) pacjentki, u których nie stwierdzono występowania tych receptorów (AR). Na podstawie dokumentacji medycznej tych chorych zebrano informacje dotyczące obecności receptorów estrogenowych i progesteronowych oraz nadekspresji HER2 na komórkach nowotworowych, wieku i stanu menopauzalnego, oceny zaawansowania choroby nowotworowej według klasyfikacji TNM oraz stadium zaawansowania nowotworu według AJCC przed zabiegiem, typu histopatologicznego i klasyfikacji Blooma Richardsona w modyfikacji Nottingham usuniętego guza gruczołu piersiowego oraz występowania mutacji genu *BRCA1* lub *BRCA2* u operowanych pacjentek. Oznaczenia receptorów dokonano za pomocą badania immunohistochemicznego, wykonanego na skrawkach parafinowych grubości 4 µm, które umieszczano na szkiełkach silanizowanych, a następnie skrawki odparafinowano w ksylenie i przeprowadzono przez szereg alkoholowy o malejących stężeniach aż do wody. Antygen tkanek utrwalonych w formalinie odkrywano w *Target Retrieval Solution*, przez podgrzewanie w łaźni wodnej w temperaturze 96°C w czasie 20 minut. Endogenną peroksydazę blokowano w 3% roztworze H₂O₂ przez 10 minut. Następnie na skrawki nanoszono pierwotne przeciwciała: *Monoclonal Mouse Anti Human BRCA1 Clone: GL-2*, firma DAKO® nr kat 3606, rozcieńczenie 1/50, inkubacja 30 minut w temperaturze pokojowej; *Monoclonal Mouse Anti Human Androgen Receptor Clone: AR441* firma DAKO® nr kat M3562, rozcieńczenie 1/50, inkubacja 30 minut w temperaturze pokojowej; *Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erbB-2 Oncoprotein* firma DAKO® nr kat A 0485, rozcieńczenie 1/50, inkubacja 30 minut w temperaturze pokojowej; *Monoclonal Mouse Anti Human Progesterone Receptor Clone: PGR 636*, firma DAKO® nr kat N1630, inkubacja 20 minut w temperaturze pokojowej; *Monoclonal Mouse Anti Human Estrogen Receptor α Clone 1D5*: nr kat N 1575 firma DAKO®, inkubacja 20 minut w temperaturze pokojowej. Tak przygotowany materiał płukano w TBS i nakładano biotylnowane przeciwciała (LSAB®+ Kit DAKO) przez 15 minut. Po płukaniu w TBS inkubowano skrawki z kompleksem streptawidyny peroksydaza (LSAB®+ Kit, DAKO K 0675) przez 15 minut. Reakcja immunocytochemiczna wywołana była roztworem 3,3 – diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB +, Liquid K 3486 DAKO). Następnie skrawki płukano w wodzie bieżącej i odwadniano w szeregu alkoholowym. Materiał prześwietlano w ksylenie i zamykano w balsamie. Wszystkie zebrane dane uporządkowano przy pomocy programu Excel, a następnie poddano analizie statystycznej przy pomocy testu chi² zależności pomiędzy obecnością lub brakiem receptorów androgenowych, a wyżej wymienionymi czynnikami prognostycznymi. Za istotne statystycznie zależności przyjęto te, gdy p < 0,05.

Wyniki

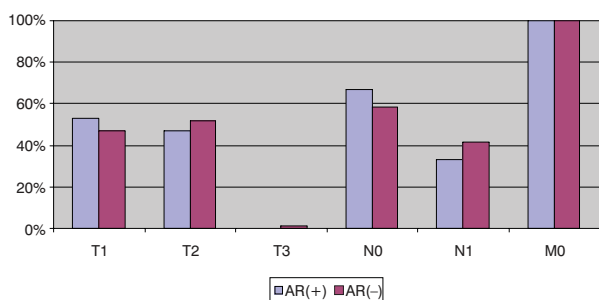
Wśród 109 pacjentek operowanych w latach 2002-2004 w Katedrze i Klinice Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Onkologicznej AM we Wrocławiu z powodu raka gruczołu piersiowego u 30 obecne były receptory androgenowe na

komórkach nowotworowych (AR+) (27,5%), natomiast u 79 nie stwierdzono występowania tych receptorów (AR-) (72,5%) (Ryc. 1). Średnia wieku kobiet w obu badanych grupach była podobna. U pacjentek AR (+) wynosiła ona 54,8 lat (od 40 do 78 lat), a wśród kobiet AR (-) 51,5 lat (od 36 do 79 lat). Jednak w pierwszej grupie więcej kobiet przeżyło menopauzę (20, czyli 66,7%) niż w grupie drugiej (36, czyli 45,6%).



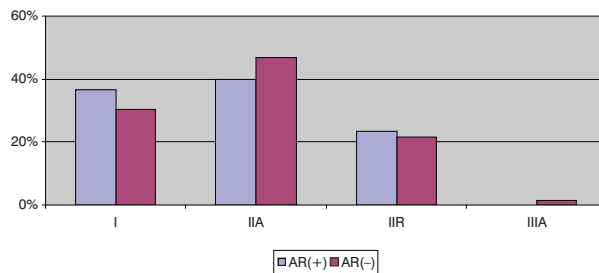
Ryc. 1. Obecność receptorów androgenowych (AR) na komórkach nowotworowych u kobiet poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu w latach 2002-2004

Stopień zaawansowania choroby nowotworowej, określany na podstawie klasyfikacji TNM był dla obu grup podobny. 16 kobiet (53,3%) z dodatnimi AR miało guz gruczołu piersiowego mniejszy niż 2 cm, a u 14 (46,7%) jego średnica wynosiła 2 do 5 cm. Wśród pacjentek, u których nie wykryto AR na komórkach nowotworowych u 37 (46,8%) kobiet pod względem rozmiaru guz zakwalifikowano jako stadium T1, u 41 (51,9%) jako T2, a u 1 (1,3%) jako T3 według klasyfikacji TNM. Przerzutów do węzłów chłonnych nie wykazano u 20 chorych (66,7%) z obecnymi AR i u 46 kobiet (58,2%) bez AR. Natomiast ruchome, zmienione przerzutowo pachowe węzły chłonne stwierdzono przed operacją u 10 pacjentek z AR (+), czyli u 33,3% oraz u 33 pacjentek z AR (-), czyli u 41,8% pacjentek. U żadnej z kobiet nie występowały przerzuty odległe (Ryc. 2). Na podstawie wyżej opi-



Ryc. 2. Wielkość guza (T), przerzuty do węzłów chłonnych (N) i przerzuty odległe (M) u kobiet z obecnymi i nieobecnymi receptorami androgenowymi na komórkach nowotworowych (AR), poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu w latach 2002-2004

sanych cech nowotworu, stadium I choroby rozpoznano u 11 kobiet (36,7%) z obecnymi AR i 24 (30,4%) bez AR, stadium IIA u 12 pacjentek z AR (+) (40%) i 37 z AR (-) (46,8%), stadium IIB u 7 chorych z AR (+) (23,3%) i 17

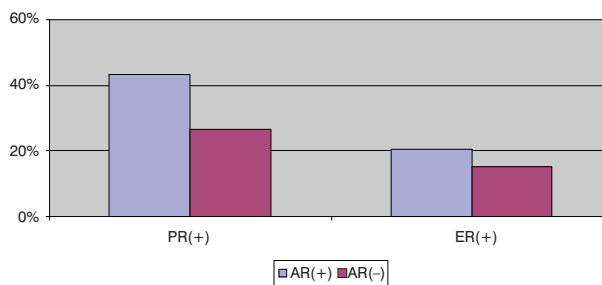


Ryc. 3. Stopień zaawansowania nowotworu według AJCC u kobiet z obecnymi i nieobecnymi receptorami androgenowymi na komórkach nowotworowych (AR), poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu w latach 2002-2004

z AR (-) (21,5%), zaś stadium IIIA u jednej pacjentki z AR (-) (1,3%) (Ryc. 3). Wszystkie opisane zależności między występowaniem receptorów androgenowych i stopniem zaawansowania raka gruczołu piersiowego nie były istotne statystycznie ($p > 0,05$).

W grupie kobiet z dodatnimi receptorami androgenowymi, 12 pacjentek było nosicielkami mutacji genu *BRCA1* (40%), a 5 – mutacji *BRCA2* (16,7%). Wśród kobiet nie posiadających receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych mutację genu *BRCA1* wykryto u 28 badanych (35,4%), a genu *BRCA2* – u 16 (20,3%). Przedstawione różnice, dotyczące występowania mutacji genów *BRCA1* i 2 w obu analizowanych grupach kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego, nie były istotne statystycznie (dla *BRCA1* $p = 0,1$, a dla *BRCA2* $p = 0,08$).

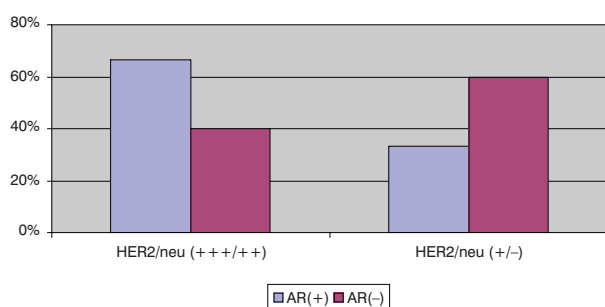
Występowanie receptorów androgenowych silnie korelowało z obecnością receptorów estrogenowych i/lub progesteronowych. Wśród pacjentek z dodatnimi AR u 4 stwierdzono także występowanie receptorów estrogenowych (13,3%), u 9 – występowanie receptorów progesteronowych (30%), a u 4 – obecność wszystkich trzech typów receptorów steroidowych (13,3%). U 4 chorych bez AR wykryto receptory estrogenowe (5,1%), u 9 – znaleziono na komórkach nowotworowych receptory progesteronowe (11,4%), a u 8 chorych dodatnie były zarówno receptory estrogenowe, jak i progesteronowe (10,1%) (Ryc. 4). Tak więc receptory estrogenowe lub/i progesteronowe obecne były u 56,6% pacjentek z AR (+) i tylko u 26,6% pacjentek z AR (-). Zastosowanie testu



Ryc. 4. Występowanie receptorów progesteronowych (PR) i receptorów estrogenowych (ER) u kobiet z obecnymi i nieobecnymi receptorami androgenowymi na komórkach nowotworowych (AR), poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu w latach 2002-2004

chi² wykazało, że była to różnica znamienna statystycznie ($p=0,0008$).

U 20 pacjentek (66,7%), u których występowały AR wykazano nadekspresję receptora HER2 (oznaczoną na +++ lub ++), a u 10 chorych (33,3%) z tej grupy ekspresja receptora HER2 była prawidłowa lub nieznacznie podwyższona (oznaczona jako + lub -). Tymczasem w grupie pacjentek, u których nie wykryto AR, nadekspresja receptora HER2 miała miejsce tylko u 38 kobiet (40,1%) (Ryc. 5). Za pomocą testu chi² stwier-

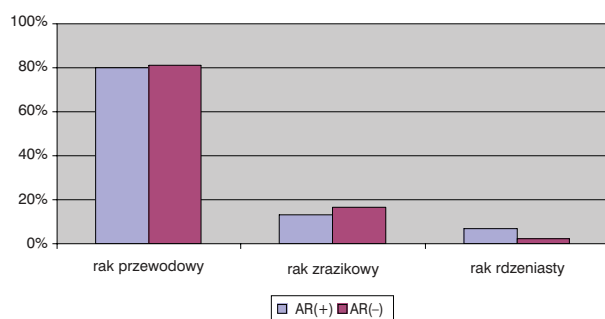


Ryc. 5. Występowanie nadekspresji HER2/neu u kobiet z obecnymi i nieobecnymi receptorami androgenowymi na komórkach nowotworowych (AR), poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu w latach 2002-2004

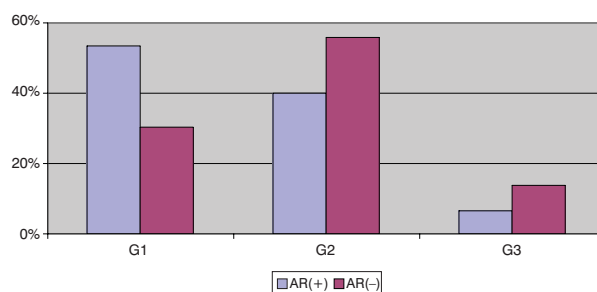
dzono istotną statystycznie zależność ($p=0,002$) między obecnością receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych, a występowaniem nadekspresji receptora HER2.

Zarówno wśród kobiet z obecnymi receptorami androgenowymi na komórkach nowotworowych, jak i u kobiet, u których nie wykryto tych receptorów, najczęstszym typem histologicznym guza był rak przewodowy (odpowiednio 80% i 81% chorych z tych grup). U 4 pacjentek z AR (+) (13,3%) i u 13 kobiet z AR (-) (16,5%) rozpoznano raka zrazikowego, a u 2 chorych z AR (+) (6,7%) i 2 z AR (-) (2,5%) wykryto raka rdzeniastego (Ryc. 6).

Obie grupy pacjentek różniły się pod względem stopnia złośliwości histologicznej nowotworu. Guz o stopniu złośliwości histologicznej G1 rozpoznano u 16 chorych z dodatnimi AR (53,3%) i u 24 z ujemnymi AR (30,4%),



Ryc. 6. Typ histopatologiczny nowotworu u kobiet z obecnymi i nieobecnymi receptorami androgenowymi na komórkach nowotworowych (AR), poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu w latach 2002-2004



Ryc. 7. Stopień złośliwości histologicznej nowotworu według klasyfikacji Blooma i Richardsons w modyfikacji Nottingham (G) u kobiet z obecnymi i nieobecnymi receptorami androgenowymi na komórkach nowotworowych (AR), poddanych radykalnemu leczeniu chirurgicznemu w latach 2002-2004

o stopniu G2 u 12 chorych z AR (+) (40%) i u 44 chorych z AR (-) (55,7%), a o stopniu G3 u 2 kobiet z AR (+) (6,7%) i 11 kobiet z AR (-) (13,9%) (Ryc. 7). Były to różnice istotne statystycznie (dla G1 $p=0,002$, dla G2 $p=0,03$, dla G3 $p=0,008$).

Dyskusja

Podobieństwo strukturalne i funkcjonalne hormonów i receptorów steroidowych pozwala przypuszczać, iż obok receptorów estrogenowych (ER) i progesteronowych (PR), których znaczenie kliniczne w raku gruczołu piersiowego jest potwierdzone, także receptory androgenowe (AR) mogą spełniać istotną rolę w patogenezie i leczeniu tego nowotworu [2-4]. Na rolę AR w raku gruczołu piersiowego zwrócono uwagę już ponad 40 lat temu. Persign w krótkim artykule zauważył, że obecność AR u 51 pacjentek była wyznacznikiem lepszej odpowiedzi pacjentek na leczenie etynylem estradiolu [5]. Macedo dowiódł, że androgeny i to zarówno podlegające aromatyzacji do estrogenów (androstendion), jak i nie ulegające aromatyzacji (5-alfa-dihydrotestosteron) mogą hamować rozwój linii komórek MCF-7 raka gruczołu piersiowego. Dzieje się tak jednak tylko przy braku lub przy niskich stężeniach estrogenu oraz przy niskim stężeniu aromatazy [6]. Natomiast przy dużych stężeniach aromatazy następuje konwersja androstendionu do estrogenów i pobudzenie wzrostu komórek nowotworowych; efekt ten jest hamowany przez inhibitory aromatazy [6]. W niedawno opublikowanym artykule, Garreau zaobserwował na komórkach nowotworowych pierwotnie pozbawionych wszystkich receptorów steroidowych, po wtórnym wprowadzeniu do ich materiału genetycznego genu dla receptora androgenowego, zahamowanie ich wzrostu pod wpływem siarcznanu dehydroepiandrosteronu [7]. Ponieważ receptory androgenowe były jedynymi receptorami steroidowymi na tych komórkach nowotworowych, opisane doświadczenie w warunkach *in vitro* dowodzi istotnego wpływu receptorów androgenowych na biologię guza. Badania na komórkach raka gruczołu piersiowego, indukowanych u szczurów, pokazały, że AR są najczęściej występującymi receptorami steroidowymi na komórkach guzów pierwotnych i przerzutowych raka gruczołu piersiowego [8]. Podobne dane dotyczą również raka gruczołu piersiowego

u ludzi [4, 9]. Występowanie AR u pacjentek z rakiem gruczołu piersiowego waha się według różnych autorów od 35% [9] do 84% [8].

Częstość wykonywania amputacji piersi sposobem Pateya i zabiegów oszczędzających gruczoł piersiowy była niemal identyczna u pacjentek z dodatnimi i ujemnymi receptorami androgenowymi (odpowiednio 56,7% i 43,3% u chorych z dodatnimi receptorami androgenowymi oraz 55,7% i 44,3% u chorych z ujemnymi receptorami androgenowymi). Dlatego też technika zabiegu nie miała wpływu na wyniki leczenia chirurgicznego w obu analizowanych grupach pacjentek.

Średnia wieku była podobna u chorych z obecnymi i nieobecnymi receptorami androgenowymi, choć wśród pacjentek z AR (+) przeważały kobiety, które

przebyły menopauzę. Brak receptorów estrogenowych na komórkach nowotworowych był rzadszy u kobiet po menopauzie, natomiast nie zaobserwowano podobnej zależności dla receptorów progesteronowych i androgenowych [9].

Kilka publikacji zwraca uwagę na znaczenie polimorfizmu genu dla receptora androgenowego w patogenezie raka gruczołu piersiowego [10, 11]. Wong wykazał, że jeśli liczba powtórzeń tripletu CAG w egzonie 1 tego genu przekracza 22 w chociaż jednym z alleli to ryzyko rozwoju nowotworu jest 3-krotnie większe niż ryzyko populacyjne [10]. U nosicielek mutacji BRCA częściej obserwuje się raka gruczołu piersiowego, nie wykazującego ekspresji receptorów steroidowych [12]. W naszym materiale nie zaobserwowaliśmy żadnych korelacji mię-

Tab. I. Ilość (%) pacjentek z rakiem piersi z dodatnim lub ujemnym receptorem androgenowym w zależności od ocenianej cechy

Oceniana cecha	Obecność receptora androgenowego AR (+)	Brak receptora androgenowego AR (-)
Ilość pacjentek	30 (27,5%)	79 (72,5%)
Średni wiek pacjentek	54,8 lat (od 40 do 78 lat)	51,5 lat (od 36 do 79 lat)
Ilość pacjentek po menopauzie	20 (66,7%)	36 (45,6%)
Ilość pacjentek przed menopauzą	10 (33,3%)	43 (54,4%)
Stopień zaawansowania nowotworu: T1	16 (53,3%)	37 (46,8%)
Stopień zaawansowania nowotworu: T2	14 (46,7%)	41 (51,9%)
Stopień zaawansowania nowotworu: T3	0	1 (1,3%)
Brak przerzutów do węzłów chłonnych	20 (66,7%)	46 (58,2%)
Obecność przerzutów do węzłów chłonnych	10 (33,3%)	33 (41,8%)
Obecność przerzutów odległych	0	0
Stadia zaawansowania klinicznego: I	11 (36,7%)	24 (30,4%)
Stadia zaawansowania klinicznego: II A	12 (40,0%)	37 (46,8%)
Stadia zaawansowania klinicznego: II B	7 (23,3%)	17 (21,5%)
Stadia zaawansowania klinicznego: III A	0	1 (1,3%)
Mutacja genu <i>BRCA1</i>	12 (40,0%)	28 (35,4%)
Mutacja genu <i>BRCA2</i>	2 (6,7%)	16 (20,3%)
Obecność receptora estrogenowego	4 (13,3%)	4 (5,1%)
Obecność receptora progesteronowego	9 (30,0%)	9 (11,4%)
Obecność receptora estrogenowego i progesteronowego	4 (13,3%)	8 (10,1%)
Obecność receptora estrogenowego i/lub progesteronowego	17 (56,6%)	21 (26,6%)
Nadekspresja receptora HER2	20 (66,7%)	38 (40,1%)
Typ histologiczny guza: rak przewodowy	24 (80,0%)	64 (81,0%)
Typ histologiczny guza: rak zrakowy	4 (13,3%)	13 (16,5%)
Typ histologiczny guza: rak rdzeniasty	2 (6,7%)	2 (2,5%)
Stopień złośliwości histologicznej G1	16 (53,3%)	24 (30,4%)
Stopień złośliwości histologicznej G2	12 (40,0%)	44 (55,7%)
Stopień złośliwości histologicznej G3	2 (6,7%)	11 (13,9%)

dzy występowaniem mutacji BRCA1 lub 2 oraz częstością wykrywania receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych.

Stadium zaawansowania choroby nowotworowej było w obu grupach chorych podobne, choć u kobiet z obecnymi receptorami androgenowymi nieco częściej występowały mniejsze guzy (u ponad 53% chorych jego średnica była mniejsza od 2 cm) i rzadziej pojawiały się przerzuty do pachowych węzłów chłonnych (znaleziono je u 1/3 chorych) niż w grupie kontrolnej. W konsekwencji tego u pacjentek z AR (+) nieznacznie częściej niż u pacjentek z AR (-) rozpoznawano stadium I i IIA choroby. Wszystkie opisane spostrzeżenia dotyczące zaawansowania choroby nie były jednak istotne statystycznie. Problematyka zależności między obecnością receptorów steroidowych, a zaawansowaniem raka gruczołu piersiowego była podejmowana w licznych doniesieniach [9, 13-19]. We wszystkich publikacjach z ostatnich 5 lat, nawet jeśli znajdowano zależności pomiędzy występowaniem receptorów steroidowych (głównie estrogenowych) a wielkością guza, obecnością przerzutów węzłowych lub przerzutów odległych, nie były to zależności istotne statystycznie [19].

Nie stwierdzono różnic między obydwoma grupami chorych a typem histopatologicznym guza. Według kilku autorów obecność receptorów androgenowych częściej stwierdza się w inwazyjnych rakach zrazikowych w porównaniu z rakami przewodowymi, a najczęściej w rakach przewodowych *in situ* [4, 13, 16]. Anim podaje, że występowanie receptorów estrogenowych i progesteronowych jest rzadsze w typach histologicznych raka gruczołu piersiowego o gorszym rokowaniu (rak rdzeniasty, atypowy rak rdzeniasty); zależności takiej nie wykazał dla receptorów androgenowych [15]. Natomiast wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy obecnością receptorów androgenowych w komórkach raka, a stopniem jego złośliwości histologicznej według klasyfikacji Blooma i Richardsona w modyfikacji Nottingham. Ponad połowa guzów AR (+) charakteryzowała się niskim stopniem złośliwości histologicznej (G1), podczas gdy tylko 1/3 guzów AR (-) zakwalifikowano do stopnia G1. Jednocześnie o połowę mniej guzów AR (+), w porównaniu do guzów AR (-), wykazywało stopień złośliwości G3. W badaniu Moinfar ekspresja AR była najwyższa w guzach G1 (88% przypadków), nieznacznie niższa w guzach G2 (71% przypadków) i najniższa w guzach G3 (47% przypadków) [16]. Liczni autorzy podkreślają, że obecność AR w guzach piersi jest korzystnym czynnikiem rokowniczym, a brak AR koreluje z większym stopniem złośliwości nowotworu [18]. Schippinger wprawdzie wykazał na grupie 232 pacjentek z przerzutami odległymi raka gruczołu piersiowego, że zarówno czas przeżycia bez objawów choroby, jak i średni czas przeżycia po nawrocie choroby były dłuższe dla kobiet z dodatnimi receptorami androgenowymi, jednak wykazane różnice nie były istotne statystycznie [18].

Analiza wieloczynnikowa nie wykazała znaczenia obecności receptorów androgenowych jako samodzielnych czynników rokowniczych wystąpienia wznowy nowo-

tworu. Dlatego można przypuszczać, że receptory androgenowe nie mają znaczenia jako czynniki prognostyczne, warunkujące przebieg choroby nowotworowej i całkowity czas przeżycia chorych.

Natomiast wykazano silne powiązanie pomiędzy występowaniem receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych, a obecnością receptorów estrogenowych i/lub progesteronowych oraz nadekspresją HER2. Szczególnie często dodatnie były jednocześnie AR i PR (u 43,3% chorych z dodatnimi receptorami androgenowymi i jedynie u 20,5% chorych z ujemnymi receptorami androgenowymi). Doświadczalne badania immunohistochemiczne wykazały, że androgeny mogą wiązać się nie tylko z AR, lecz także z ER [1]. Wielu badaczy zauważyło zależności między występowaniem wszystkich trzech typów receptorów steroidowych, mianowicie u chorych z ER (+) i PR (+), AR jest wykrywany w 60-90% [14]. Według Ellis, Wittliff i Bryant receptory progesteronowe są ważniejszym czynnikiem prognostycznym w leczeniu hormonalnym raka gruczołu piersiowego niż receptory estrogenowe [20]. W tym kontekście ze względu na częste współwystępowanie PR i AR można przypuszczać, że pacjentki, które posiadają zarówno PR, jak i AR na komórkach nowotworowych, będą częściej reagowały pozytywnie na leczenie hormonalne niż chore z innymi układami receptorów steroidowych [20].

Wiele publikacji przedstawia zależności pomiędzy AR oraz PR, ER, typem histopatologicznym guza, rokowaniem i odpowiedzią pacjentek na leczenie [14]. Choć nie znaleziono statystycznie istotnej zależności między receptorami steroidowymi a stopniem złośliwości guza, to jednak w materiale Kuenen-Boumeestera wszystkie guzy w stopniu G3 charakteryzował brak wszystkich receptorów steroidowych, czyli były one ER (-), PR (-), AR (-). Autor ten uważa, że dalsze badania prospektywne powinny wyjaśnić, czy określenie statusu receptorów steroidowych guza nie jest lepszym niezależnym czynnikiem rokowniczym niż określenie cechy G guza [9]. Zaobserwowano, że typy nowotworów o gorszym rokowaniu częściej są ER/ PR (-) [17]. Carreno udowodnił częstsze występowanie wznowy lokalnej po radykalnej mastektomii u chorych z dodatnimi receptorami estrogenowymi i progesteronowymi, natomiast nie wykazano tego dla kobiet z dodatnimi receptorami androgenowymi [17]. W przeciwieństwie do tych spostrzeżeń Smith zaobserwował, iż w nowotworach nie zawierających receptorów estrogenowych i w postaciach mniej zróżnicowanych częściej wykrywa się receptory androgenowe [21]. Szczególnie zainteresowanie budzi grupa kobiet z dodatnimi receptorami androgenowymi oraz ujemnymi receptorami estrogenowymi i progesteronowymi. W stosunku do nich pozostaje otwarte pytanie o skuteczność ewentualnego stosowania hormonoterapii. Niektóre badania doświadczalne dowodzą, iż ten rodzaj leczenia uzupełniającego może przynieść korzyści terapeutyczne kobietom z obecnymi jedynie receptorami androgenowymi [19].

U kobiet z obecnymi receptorami androgenowymi bardzo często stwierdzano nadekspresję HER2 (u 66,7% chorych z AR (+) i tylko u 40,1% chorych z AR (-)). Uży-

skane dane są zgodne z wieloma innymi doniesieniami na ten temat [13, 16, 17]. Dlatego bardzo istotne wydaje nam się sprawdzenie doświadczalne, czy wyniki leczenia trastuzumabem pacjentek z nadekspresją HER2 i dodatnimi receptorami androgenowymi są lepsze niż chorych z nadekspresją HER2 bez receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych. Nadekspresję HER2 stwierdza się u 20-25% pacjentek i w tej grupie kobiety z ER/PR (+) najczęściej są one odporne na leczenie hormonalne [22]. Natomiast chore z AR (+) i nadekspresją HER2 częściej reagują pozytywnie na leczenie trastuzumabem [22]. Takie informacje będą miały oczywiście ogromne znaczenie przy kwalifikowaniu chorych do leczenia uzupełniającego trastuzumabem [22].

W świetle przedstawionych wyników omawianego badania wydaje się najbardziej prawdopodobne, że obecność receptorów androgenowych pozwala wyznaczyć subpopulację pacjentek, które korzystniej niż pozostałe będą reagowały na niektóre warianty leczenia uzupełniającego po leczeniu chirurgicznym. Natomiast występowanie receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych nie stanowi samodzielnego czynnika rokowniczego w raku gruczołu piersiowego.

Ostateczne określenie wartości rokowniczej receptorów androgenowych będzie możliwe po oznaczeniu czasu wolnego od objawów nowotworu i współczynnika 5-letnich przeżyć pacjentek z dodatnimi i ujemnymi receptorami androgenowymi, co dla badanej grupy pacjentek będzie możliwe dopiero za rok (ostatnie chore były operowane pod koniec 2004 roku).

Wnioski

1. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stopniem zaawansowania nowotworu według klasyfikacji TNM i typem histologicznym guza, a występowaniem receptorów androgenowych na komórkach nowotworowych. Jednak w guzach AR (+) częściej obserwowano niższe stopnie złośliwości histologicznej nowotworu. Dlatego znaczenie kliniczne receptorów androgenowych jako samodzielnego czynnika rokowniczych w raku gruczołu piersiowego wymaga dalszych badań.
2. Istnieje silna korelacja pomiędzy obecnością receptorów androgenowych, a obecnością receptorów estrogenowych i/lub progesteronowych na komórkach nowotworowych, dlatego występowanie receptorów androgenowych może odgrywać rolę jako czynnik prognostyczny odpowiedzi pacjentek na hormonoterapię.
3. Dalszych badań klinicznych wymaga możliwość stosowania hormonoterapii u pacjentek z dodatnimi receptorami androgenowymi, a ujemnymi receptorami estrogenowymi i progesteronowymi, które obecnie nie są kwalifikowane do leczenia hormonalnego.
4. Wykazano częste występowanie receptorów androgenowych u pacjentek z nadekspresją receptora HER2. Znaczenie obecności receptorów androgenowych, jako dodatkowego wskaźnika pozytywnej odpowiedzi

na leczenie trastuzumabem chorych z nadekspresją HER2, winno być sprawdzone doświadczalnie.

Dr med. Anil Kumar Agrawal

II Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Onkologicznej
AM we Wrocławiu
ul. M. Skłodowskiej-Curie 66, 50-369 Wrocław
e-mail: dranilpreeti@hotmail.com

Piśmiennictwo

1. Sasano H, Suzuki T, Nakata T i wsp. New development in intracrinology of breast carcinoma. *Breast Cancer* 2006; 13: 129-36.
2. Kato S, Sato T, Watanabe T i wsp. Function of nuclear sex hormone receptors in gene reguys.ion. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56 Suppl 1: 4-9.
3. Murphy CE, Carder PJ, Lansdown MR i wsp. Steroid hormone receptor expression in male breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 44-7.
4. Birrel SN, Hall RE, Tilley WD. Role of the androgen receptor in human breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1998; 3: 95-103.
5. Persijn JP, Korsten CB, Engelsman E. Oestrogen and androgen receptors in breast cancer and response to endocrine therapy. *Br Med J (Clin Res)* 1975; 4: 503-9.
6. Macedo LF, Guo Z, Tilghman SL i wsp. Role of androgens on MCF-7 breast cancer cell growth and on the inhibitory effect of letrozole. *Cancer Res* 2006; 66: 7775-782.
7. Garreau JR, Muller P, Pommier R i wsp. Transgenic introduction of androgen receptor into AR, PR, ER (-) breast cancer. *Am J Surg* 2006; 191: 576-80.
8. Lea OA, Kvinnsland S, Thorsen T. Improved measurement of androgen receptors in human breast cancer. *Cancer Res* 1989; 49: 7162-7.
9. Kuonen-Boumeester V, van der Kwast TH, van Putten WL i wsp. Immunohistochemical determination of androgen receptors in relation to oestrogen and progesterone receptors in female breast cancer. *Int J Cancer* 1992; 52: 581-4.
10. Wang W, John EM, Ingles SA. Androgen receptor and prostate-specific antigen gene polymorphisms and breast cancer in African-American women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 2990-4.
11. Anghel A, Raica M, Marian C i wsp. Combined profile of the tandem repeats CAG, TA and CA of the androgen and estrogen receptor genes in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 727-33.
12. Rosen EM, Fau S, Isaacs C. BRCA1 in hormonal carcinogenesis: basic and clinical research. *Endocr Revs Cancer* 2005; 12: 533-48.
13. Brys M. Androgens and androgen receptor: do they play a role in breast cancer? *Med Sci Monit* 2000; 6: 433-8.
14. Kuonen-Boumeester V, van der Kwast TH, Claassen CC i wsp. The clinical significance of androgen receptors in breast cancer and their relation to histological and cell biological parameters. *Eur J Cancer* 1996; 32A: 1560-5.
15. Anim JT, John B, Abdulsathar S SA i wsp. Relationship between the expression of various markers and prognostic factors in breast cancer. *Acta Histochem* 2005; 107: 87-93.
16. Mainfar F, Oku M, Tsybrovsky O i wsp. Androgen receptors frequently are expressed in breast carcinomas: potential relevance to new therapeutic strategies. *Cancer* 2003; 98: 703-11.
17. Carreno G, Del Casar JM, Corte MD i wsp. Local recurrence after mastectomy for breast cancer: analysis of clinicopathological, biological and prognostic characteristics. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 102: 61-73.
18. Shipping W, Regitning P, Dandachi N i wsp. Evaluation of the prognostic significance of androgen receptor expression in metastatic breast cancer. *Virchows Arch* 2006; 449: 24-30.
19. Doane AS, Danso M, Lal P, Danaton M i wsp. An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen. *Oncogene* 2006; 25: 3994-4008.
20. Ellis LM, Wittliff JL, Bryant MS i wsp. Correlation of estrogen, progesterone, and androgen receptors in breast cancer. *Am J Surg* 1989; 157: 577-80.
21. Smith RA, Lea RA, Weinstein SR i wsp. Detection of mRNA levels for the estrogen alpha, estrogen beta and androgen nuclear receptor genes in archival breast cancer tissue. *Cancer Lett* 2006; 237: 248-55.

22. Konecny G, Pauletti G, Pegram M i wsp. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 142-53.

Otrzymano: 20 września 2006 r.

Przyjęto do druku: 3 grudnia 2006 r.