

POTRÓJNIE UJEMNY RAK SUTKA (*TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER*) – JEDNORODNA CZY HETEROGENNA GRUPA NOWOTWORÓW?

JANUSZ RYŚ, ANNA KRUCZAK

Zakład Patomorfologii Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

1. Charakterystyka

Rak sutka jest heterogenną grupą nowotworów różniących się obrazem morfologicznym, przebiegiem klinicznym oraz rokowaniem. W ostatnich latach, dzięki wprowadzeniu nowoczesnych technik badawczych, wyróżniono szereg molekularnych postaci raka sutka. To właśnie molekularna klasyfikacja raka sutka, w większym stopniu niż stosowany dotychczas podział histologiczny, pozwoliła na wdrożenie efektywnego, indywidualnego leczenia chorych [1]. Na podstawie wyników badań uzyskanych techniką mikromacierzy cDNA oraz analiz immunohistochemicznych wyróżniono 5 podstawowych molekularnych podtypów raka sutka:

- podtypy luminalne A i B, zbudowane z komórek cechujących się silną ekspresją receptorów steroidowych,
- podtyp z nadekspresją genu *HER2*,
- podtyp podstawny (*basal-like*),
- podtyp z ekspresją genów typowych dla komórek prawidłowego gruczołu sutkowego (*normal breast-like*) [2].

Kilka lat później zidentyfikowano dodatkową molekularną odmianę raka sutka charakteryzującą się obniżoną ekspresją genów kodujących białka odpowiedzialne za wiązania międzykomórkowe i adhezję komórek nabłonka, tj. kładynę i kadherynę E [3].

W rutynowej praktyce klinicznej wspomniane wyżej molekularne postaci raka sutka definiowane są na podstawie badania immunohistochemicznego trzech białek receptorowych [receptora estrogenowego (*estrogen receptor* – ER), progesteronowego (*progesterone receptor* – PR) i receptora *HER2*], z dodatkowym badaniem statusu genu *HER2* techniką hybridyzacji *in situ* (*in situ hybridization* – ISH). Ocenia się, że wśród zdefiniowanych w ten sposób raków sutka guzy z komórek luminalnych typu A, luminalnych typu B/*HER2*(–), luminalnych typu B/*HER2*(+) oraz raki wyłącznie z ekspresją białka *HER2* stanowią odpowiednio: 25%, 32%, 18,5% i 7% [4].

Wśród tzw. molekularnych podtypów raka sutka w ostatnich latach największą uwagę badaczy skupia podtyp potrójnie ujemny (*triple-negative breast cancer* – TNBC) z komórek charakteryzujących się brakiem ekspresji zarówno receptorów steroidowych (ER/PR), jak i receptora *HER2*. Częstość występowania raków potrójnie ujemnych waha się od 12% do 19% ogółu złośliwych nowotworów nabłonkowych sutka [4–7]. Wśród raków sutka leczonych operacyjnie TNBC stanowią jedynie ok. 9% [8].

Potrójnie ujemne raki sutka dotyczą głównie kobiet poniżej 50. roku życia, w szczególności tych z rodzinną mutacją genu *BRCA1*. W populacji amerykańskiej trzykrotnie częściej obserwuje się ten typ raka u kobiet z rodzin imigrantów z Afryki (*African Americans*).

W porównaniu z innymi rakami sutka TNBC cechują się częściej większym zaawansowaniem klinicznym choroby w chwili rozpoznania, obecnością guza o większych rozmiarach i o niskim stopniu zróżnicowania histologicznego (wg klasyfikacji Blooma-Richardsona: G3). Chorobę charakteryzuje agresywny przebieg kliniczny, szybki wzrost guza pierwotnego, wczesny nawrót choroby po leczeniu (w ciągu 1–3 lat) i szybkie pojawienie się przerzutów odległych. Gorsze rokowanie (większe ryzyko wczesnego zgonu) u chorych z TNBC zostało potwierdzone w dużym badaniu klinicznym, które objęło 15 204 kobiet chorych na raka sutka (w tym ponad 2500 chorych na TNBC) [9]. Należy podkreślić, że złe rokowanie nie dotyczy wszystkich chorych na TNBC (patrz podrozdział: *Szczególne postaci potrójnie ujemnych raków sutka wg klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia*).

Zgony chorych na TNBC obserwowane są w pierwszych 3 latach od rozpoznania choroby. Poprzedza je wystąpienie przerzutów odległych. W porównaniu z chorymi na raka sutka z ekspresją receptorów steroidowych lub receptora *HER2* u chorych na TNBC rzadziej obserwuje się przerzuty do węzłów chłonnych i kości, natomiast znacznie częściej przerzuty do płuc i ośrodkowego układu nerwowego.

Potrójnie ujemne raki sutka są ściśle związane z zaburzeniami genów *BRCA* i ich produktów białkowych. Wśród TNBC mutacje w genach *BRCA* stwierdza się u ok. 10–15% chorych. Przeciwnie, w grupie kobiet z wrodzoną mutacją w genie *BRCA1* 80–90% rozpoznawanych raków sutka ma postać TNBC. Co więcej, w przypadkach TNBC, w których nie obserwuje się mutacji w genie *BRCA1*, często stwierdzana jest obniżona ekspresja „dzikiego” białka *BRCA1* spowodowana metylacją (wyciszeniem) promotorowego regionu genu lub nadekspresją białek hamujących ekspresję genu *BRCA1*. Ponieważ w prawidłowych warunkach białko *BRCA1* bierze udział w naprawie uszkodzeń podwójnej nici DNA, brak lub niska ekspresja białka *BRCA1* prowadzi do niestabilności genetycznej [10, 11].

W ponad połowie przypadków TNBC obserwuje się dodatkowo nadekspresję receptora *MGFR* (*c-Met growth factor receptor*), który jest związany ze ścieżką sygnałową inicjującą przemianę nabłonkowo-mezenchymalną (*epithelial-mesenchymal transition* – EMT) [12]. W rakach potrójnie ujemnych stwierdza się też często mutację genu *P53*, utratę genu *PTEN* i aktywację ścieżki sygnałowej *PI3K/AKT* oraz utratę heterozygotyczności szeregu *loci* 4p14, 4p15.3, 5q11.1, 5q14, 18q22–23 [13].

W przeszłości TNBC utożsamiano z rakami typu podstawnego (*basal-like carcinoma*) wyróżnianymi na podstawie badania ekspresji genów [3]. Obecnie wiadomo, że te dwa pojęcia nie są synonimami, a odsetek rozbieżnych przypadków identyfikowanych na podstawie badań immunohistochemicznych i molekularnych dochodzi nawet do 30% [13]. Termin „*basal-like carcinoma*” należy stosować w odniesieniu do raków zdefiniowanych na podstawie badania mikromacierzy DNA, natomiast pojęcie TNBC jest zarezerwowane dla podtypu raka zdefiniowanego na podstawie immunohistochemicznego badania statusu dwóch receptorów steroidowych oraz receptora *HER2* [14].

Najnowsze badania naukowe dowiodły, że TNBC pod względem molekularnym są niejednorodną grupą rozrostów. Lehmann i wsp. [15] na podstawie analizy profili ekspresji genów blisko 600 raków typu TNBC zidentyfikowali 6 podtypów potrójnie ujemnego raka sutka:

- dwa podtypy podstawne: BL1 i BL2 (*basal-like 1 and 2*),
- immunomodulujący (*immunomodulatory* – IM),
- mezenchymalny (*mesenchymal* – M),
- mezenchymalny *stem-like* (*mesenchymal stem-like* – MSL),
- luminalny z ekspresją receptora androgenowego (*luminal androgen receptor* – LAR)
- oraz dodatkowy podtyp zmienny (*unstable* – UNS).

Dalsze badania immunohistochemiczne ujawniły, że wszystkie TNBC, z wyjątkiem podtypu LAR, charakteryzują się wysoką ekspresją cytokeratyn podstawnych: CK5, 6A, 6B, 14, 16, 17, 23, 81, a także

białek: EGFR i p53, aktyny mięśni gładkich, kadheryny P, receptora c-Kit. Z kolei większość TNBC podtypu LAR (82%) ma charakter luminalny, tj. cechuje się ekspresją cytokeratyn luminalnych (CK7, 8, 18, 19), a w miejsce ER i PR wykazuje ekspresję receptora androgenowego.

Przeprowadzone badania doświadczalne wykazały, że rozwój różnych postaci potrójnie ujemnego raka sutka jest związany z indukcją odmiennych ścieżek sygnałowych (tab. I), a ich komórki są wrażliwe na odmiennie leki [13, 14]. Nadzieje na skuteczne leczenie TNBC związane są z takimi lekami, jak: inhibitory cyklooksygenaz (*COX-1*, *COX-2*), inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) (*PARP*), inhibitory kinazy serynowo-treoninowej *mTOR* (inhibitory ścieżek sygnałowych związanych z receptorami: *IGF1*, *PI3K/AKT/mTOR*), a także z inhibitorami receptora *EGFR1* oraz niesteroidowymi antyandrogenami [16].

Co najważniejsze, wspomniane wyżej podtypy TNBC cechują się odmiennym rokowaniem. Spośród nich najdłuższe przeżycia wolne od nawrotów choroby obserwuje się w podtypie MSL, a najkrótsze w LAR [16].

2. Szczególne postaci potrójnie ujemnych raków sutka wg klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia z 2012 roku [17]

Z histologicznego punktu widzenia większość TNBC stanowią raki o różnicowaniu przewodowym (wg klasyfikacji WHO 2012: *invasive carcinoma of no specific type* – NST) [8]. Potrójnie ujemne raki sutka stanowią również znaczący odsetek (40–100%) wybranych, tzw. szczególnych histologicznych postaci raka sutka, w tym raka rdzeniastego, metaplastycznego, apokrynowego, raków typu śliniankowego (*adenoid cystic carcinoma*, *mucoepidermoid carcinoma*, *polymorphous carcinoma*) [8], raka wydzielniczego (*secretory carcinoma*) oraz raka z komórek obfitujących w tłuszcz (*lipid-rich carcinoma*) i raka zrazikowo-komórkowego (*acinic cell carcinoma*; tab. II) [17]. W tym przypadku to właśnie rodzaj histologicznego utkania guza determinuje biologiczne właściwości nowotworu; część ze wspomnianych jednostek morfologiczno-klinicznych charakteryzuje się nietypowym dla TNBC powolnym przebiegiem choroby i korzystnym rokowaniem [8, 18].

2.1. Rak rdzeniasty (*medullary carcinoma*)

Klasyfikacja WHO [17] wyróżnia trzy jednostki morfologiczno-kliniczne objęte wspólną nazwą *carcinoma with medullary features*. Są to: rak rdzeniasty (*medullary carcinoma*, ICD-O 8610/3), atypowy rak rdzeniasty (*atypical medullary carcinoma*, ICD-O 8513/3) oraz rak naciekający NST wykazujący niektóre cechy raka rdzeniastego (*invasive carcinoma NST with medullary features*, ICD-O 8500/3).

Tabela I. Charakterystyka podtypów raka potrójnie ujemnego (wg Nowackiej-Zawiszy i wsp. [5] oraz den Hollandera i wsp. [16] – zmodyfikowana)

PODTYP	AKTYWNE GENY*	CYTOKERATYNY KOMÓREK RAKA	ZABURZONE PROCESY KOMÓRKOWE	STRATEGIE TERAPEUTYCZNE	ROKOWANIE
podstawny BL1 (basal-like 1)	związane z regulacją cyklu komórkowego, proliferacją komórek oraz procesami naprawy i replikacji DNA	podstawne**	cykl komórkowy replikacja DNA sygnalizacja uszkodzeń DNA (szlak ATR/BRCA)	leki hamujące podziały mitotyczne (np. paklitaksel, docetaksel, iksabepilon), inhibitory PARP1 i 2, cytostatyki (np. cisplatylna)	pośrednie czasy przeżyć wolnych od nawrotu choroby
podstawny BL2 (basal-like 2)	zaangażowane w przekazywanie sygnału w komórce przez czynniki wzrostu oraz w syntezę białek włączonych w proces glikolizy i glukoneogenezy	podstawne	szlaki sygnalizacyjne EGF, NGF, MET, Wnt β -katenina, IGF1R glikoliza i glukoneogeneza	inhibitory PARP1 i 2, cytostatyki (np. cisplatylna) inhibitory EGFR	pośrednie czasy przeżyć wolnych od nawrotu choroby
immunomodulujący (immunomodulatory – IM)	odpowiedzialne za układ odporności, w tym przekazywanie sygnału w komórkach układu odpornościowego i prezentowanie antygeny	podstawne	szlaki sygnalizacyjne komórek B, T, DC, NK, Th1/Th2 szlaki sygnalizacyjne NF- κ B, TNF, JAK/STAT, ATR/BRCA	inhibitory PARP1 i 2, cytostatyki (np. cisplatylna)	w porównaniu z podtypem MSL krótsze czasy przeżyć wolnych od nawrotu choroby
mezenchymalny (mesenchymal – M)	decydujące o ruchliwości komórek i oddziaływaniu z macierzą zewnątrzkomórkową (ECM) oraz regulujące różnicowanie się i wzrost komórek	podstawne	ruchliwość komórek interakcja z ECM różnicowanie i wzrost komórek (szlak TGF- β , Wnt/ β -katenina, IGF/mTOR, Rho, ALK)	inhibitory kinaz Src/Abl (np. desatynib) inhibitory szlaku PI3K/mTOR (np. NVP-BEZ235)	w porównaniu z podtypami BL1/2, MSL i IM krótsze czasy przeżyć wolnych od nawrotu choroby
mezenchymalny (mesenchymal stem-like – MSL)	zaangażowane w proces angiogenezy, w szlaki przekazywania sygnału przez czynniki wzrostu (szlak TGF- β , EGFR, PDGF, białek G, ERK1/2), szlaki sygnalizacyjne transporterów ABC i adipocytokin oraz szlaki metabolizmu fosforanu inozytolu	podstawne	angiogeneza szlaki sygnałowe: TGF- β , Wnt/ β -katenina, IGF/ mTOR, Rho, ALK, EGF, PDGF, GPCR, ERK1/2, NF- κ B, transporterów ABC, adipocytokin metabolizm fosforanu inozytolu, jonów wapnia	inhibitory EGFR i VEGF inhibitory kinaz Src/Abl (np. desatynib) inhibitory szlaku PI3K/mTOR (np. NVP-BEZ235)	najdłuższe czasy przeżyć wolnych od nawrotu choroby
luminalny z ekspresją receptora androgenowego (luminal androgen receptor – LAR)	regulujące syntezę steroidów, metabolizm androgenów i estrogenów oraz metabolizm porfiryn	luminalne	synteza i metabolizm steroidów metabolizm porfiryn i szeregu aminokwasów, cukrów i kwasów tłuszczowych oraz cytochromu P450, synteza ATP	niesteroidowe antyandrogeny (np. bicalutamid), inhibitory szlaku PI3K/mTOR	najkrótsze czasy przeżyć wolnych od nawrotu choroby

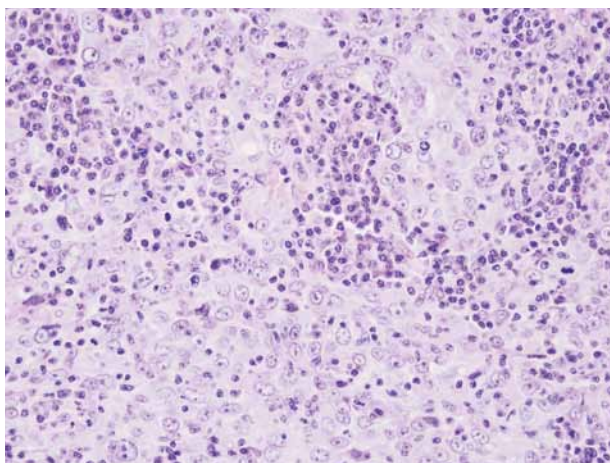
*Szczegółowa lista aktywnych genów w artykule: Nowacka-Zawisza M, Krajewska WM. Potrójnie ujemny rak piersi: molekularna charakterystyka i potencjalne strategie terapeutyczne. *Postępy Hig Med Dow (Online)* 2013; 67: 1090-1097.
 **Cytokeratyny podstawne: CK 5, 6, 14, 16, 17, 23, 81; cytokeratyny luminalne: CK 7, 8, 18, 19.
 TGF- β – transformujący czynnik wzrostu β (transforming growth factor β); EGFR – receptor nabłonkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor receptor); PDGF – płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor); ERK1/2 – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo (extracellular signaling-regulated kinase); EGF – nabłonkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor); NGF – czynnik wzrostu nerwu (nerve growth factor); MET; NF- κ B – czynnik jądrowy κ B (nuclear factor κ B); TNF – czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor)

Tabela II. Postacie histologiczne raka sutka o potrójnie ujemnym immunofenotypie wg klasyfikacji WHO z 2012 r.

POSTAĆ HISTOLOGICZNA (ORYGINALNA TERMINOLOGIA WG WHO)	ODSETEK PRZYPADKÓW O FENOTYPIE POTRÓJNIE UJEMNYM (%)	LITERATURA
<i>invasive carcinoma of no special type (NST)</i>	10	[8, 17]
<i>carcinoma with medullary features</i>	większość	[17]
<i>medullary carcinoma</i>	50–80	[8, 17]
<i>metaplastic carcinoma</i>	77–95	[17]
<i>carcinoma with apocrine differentiation</i>	40–98	[8, 17, 19]
<i>adenoid cystic carcinoma</i>	91*	[8, 17]
<i>mucoepidermoid carcinoma</i>	ok. 100	[17]
<i>polymorphous carcinoma</i>	ok. 100	[17]
<i>secretory carcinoma</i>	ok. 100	[17]
<i>lipid-rich carcinoma</i>	30–98	[17]
<i>acinic cell carcinoma</i>	ok. 100	[17]

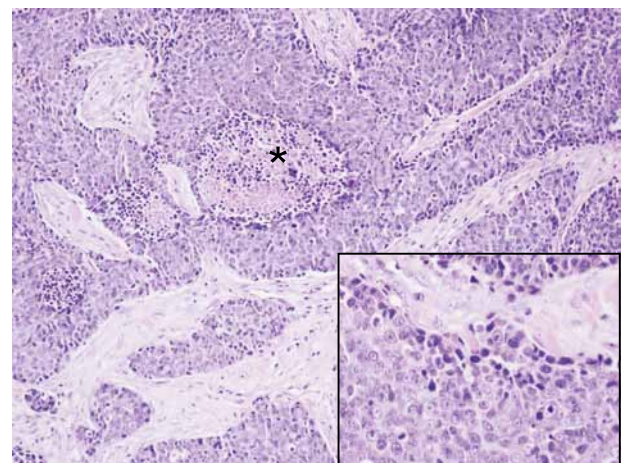
*Komórki oblaka z reguły nie wykazują ekspresji ER/PR/HER2. Tym niemniej ostatnio wykryto w nich nową izoformę receptora estrogenowego o ciężarze 36 kD

Rak rdzeniasty (*medullary carcinoma*) ma postać dobrze odgraniczzonego guza zbudowanego z nisko zróżnicowanych komórek nabłonka, które tworzą lite układy typu zespołni (muszą one stanowić ponad $\frac{3}{4}$ mikroskopowego utkania guza) oddzielone skąpym podścieliskiem. Komórki guza cechują się pęczeryzkowatym jądrem o znacznej atypii i wyraźnym jąderku. Nie wykazują zdolności do tworzenia układów cewkowych. W podścielisku guza jest widoczny obfity naciek z komórek limfatycznych (limfocytów i plazmocytów), ogniskowo z wytworzeniem grudek chłonnych [17, 19–21] (ryc. 1.). Do rozpoznania raka rdzeniastego niezbędne jest stwierdzenie wszystkich wymienionych wyżej cech histologicznych. Nowotwory, które w obrazie hi-



Rycina 1. Rak rdzeniasty sutka – syncytialne układy z komórek o znacznej atypii, oddzielone przegrodami z prawidłowego podścieliska gruczołu z obecnością obfitego nacieku z limfocytów i plazmocytów

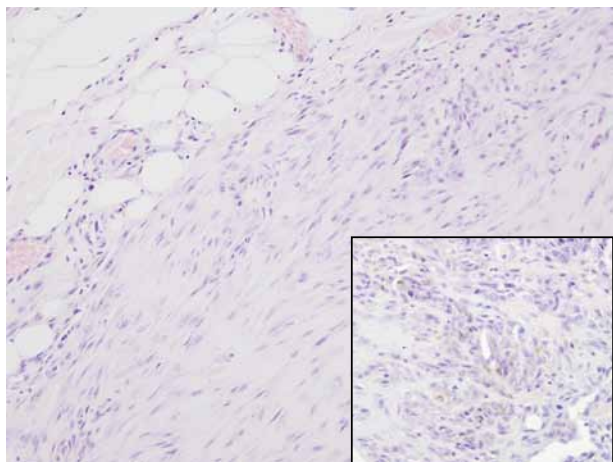
stologicznym prezentują jedynie niektóre spośród wymienionych cech histologicznych, są nazywane atypowymi rakami rdzeniastymi (*atypical medullary carcinoma*) albo rakami naciekającymi z cechami „rdzeniastymi” (*invasive carcinoma NST with medullary features*) [17, 19] (ryc. 2.). Wszystkie wymienione postaci raka sutka cechują się potrójnie ujemnym fenotypem: ER(-)/PR(-)/HER2(-), i zmienną ekspresją cytokeratyn ciężkich (CK5/6, CK14), aktyny gładkomięśniowej (*smooth muscle actin* – SMA), receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR), kadheryny P, białka P53 oraz kaweoliny 1 [17]. Wiele kobiet chorych na raka rdzeniastego sutka i raka NST z cechami „rdzeniastymi” jest nosicielkami mutacji w genie *BRCA*.



Rycina 2. Rak typu *invasive carcinoma NST with medullary features*. Syncytialne układy atypowych komórek oddzielone desmoplastycznym podścieliskiem. W centrum widoczne rozległe ognisko martwicy (*). Komórki raka cechują się znacznego stopnia atypią (wstawka)

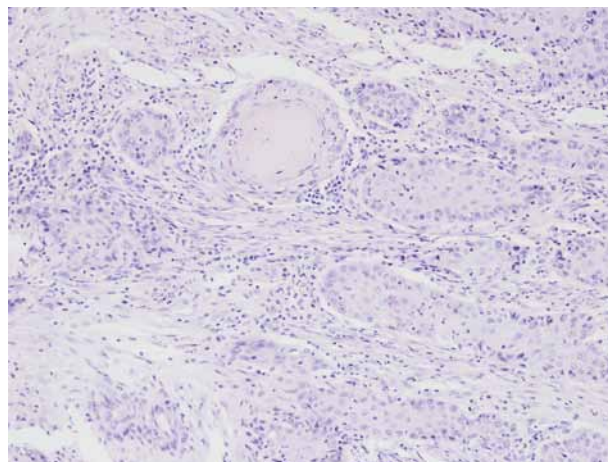
2.2. Rak metaplastyczny (*metaplastic carcinoma, carcinoma with metaplasia*)

W tej grupie raków sutka ujęte są takie jednostki morfologiczno-kliniczne, jak: *low-grade adenosquamous carcinoma* (ICD-O 8570/3), *fibromatosis-like metaplastic*

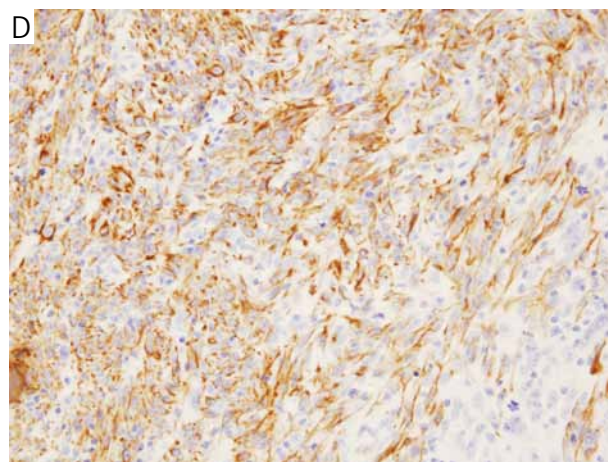
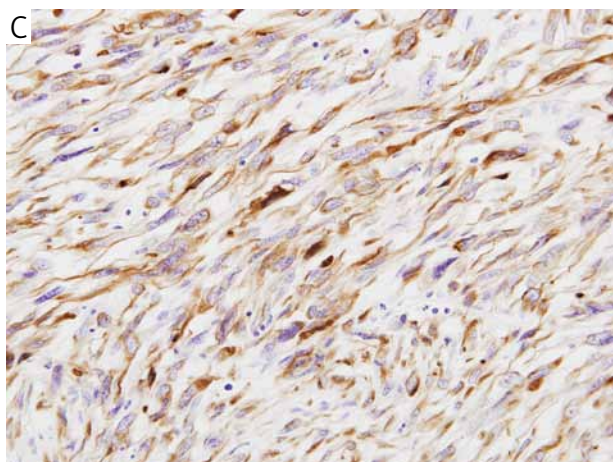
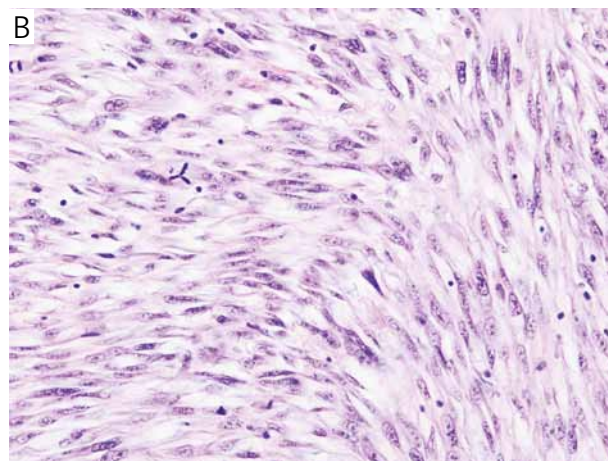
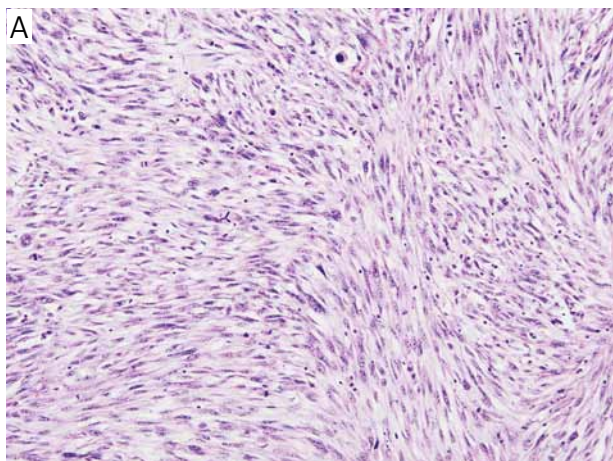


Rycina 3. Metaplastyczny rak typu *low-grade spindle cell carcinoma-fibromatosis-like* (MSCC-FL). Pęczki komórek wrzecionowatych o niewielkim polimorfizmie naciekające miejscowo i niszczące mięszs sutka i tkankę tłuszczową. Komórki nowotworu wykazują słabą ekspresję cytokeratyn CAM5.2 (wstawka)

carcinoma (ICD-O 8572/3; ryc. 3.), rak płaskonabłonkowy (*squamous cell carcinoma*, ICD-O 8070/3; ryc. 4.), rak wrzecionowatokomórkowy (*spindle cell carcinoma*, ICD-O 8032/3; ryc. 5A–D) oraz raki z różnicowaniem mezenchymalnym, w tym chrzęstnym lub



Rycina 4. Rak płaskonabłonkowy. Widoczne gniazda komórek rakowych z cechami rogowacenia (tzw. perły rakowe)

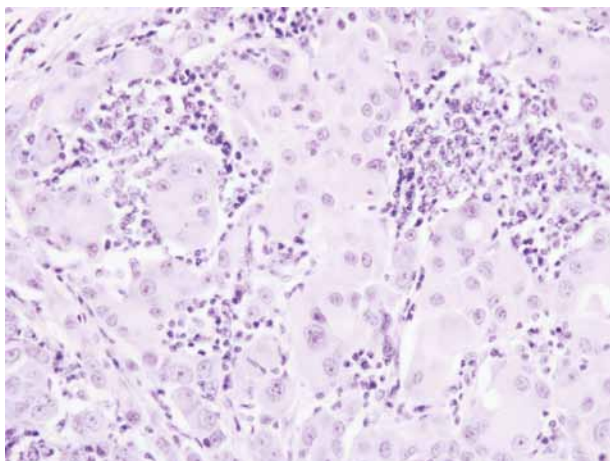


Rycina 5. Metaplastyczny rak wrzecionowatokomórkowy. Pęczki komórek wrzecionowatych imitujące utkanie mięsaka (A). Komórki nowotworu cechują się znacznego stopnia atypią i obecnością licznych, po części atypowych figur podziału (B), a w badaniach immunohistochemicznych wykazują ekspresję cytokeratyn: CK7 (C) oraz 34βE12 (D)

kostnym (ICD-O 8571/3). Ponad 90% raków metaplastycznych prezentuje immunofenotyp potrójnie ujemny: ER(-)/PR(-)/HER2(-) [17]. Według najnowszych doniesień większość raków metaplastycznych sutka wywodzi się z komórek mioepitelialnych, co potwierdzają dodatnie wyniki badań na obecność antygenu P63, a także (choć rzadziej) na obecność antygenu CD10 i SMA. Dodatnia reakcja na antygen P63 wykorzystywana jest w diagnostyce różnicowej raka metaplastycznego (odczyn dodatni) i guzów liściastych, włóknakowatości (*fibromatosis*) i mięsaków (odczyn ujemny) [19].

2.3. Rak o różnicowaniu apokrynowym (*carcinoma with apocrine differentiation*)

Ogniskowe cechy różnicowania apokrynowego stwierdza się w licznych rakach NST, a także w innych postaciach histologicznych raka sutka [17, 19]. Raki zbudowane prawie wyłącznie z komórek apokrynowych stanowią zaledwie 1% naciekających raków sutka. Komórki raka apokrynowego cechują się obfitą,



Rycina 6. Rak o różnicowaniu apokrynowym – przerzut do węzła chłonno-pachy

ziarnistą eozynofilną bądź (rzadziej) jasną cytoplazmą, dużym jądrem i wyraźnym jąderkiem [19] (ryc. 6.).

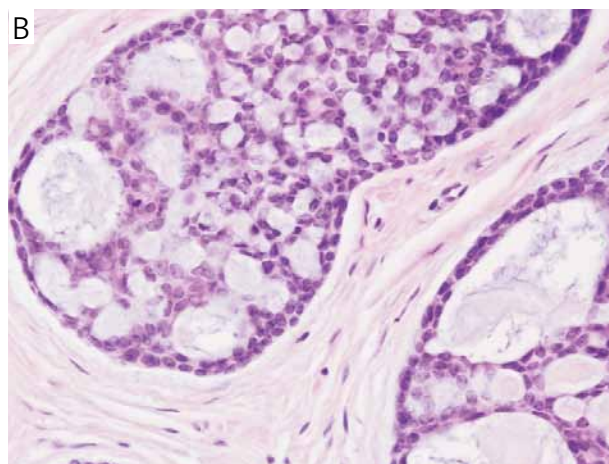
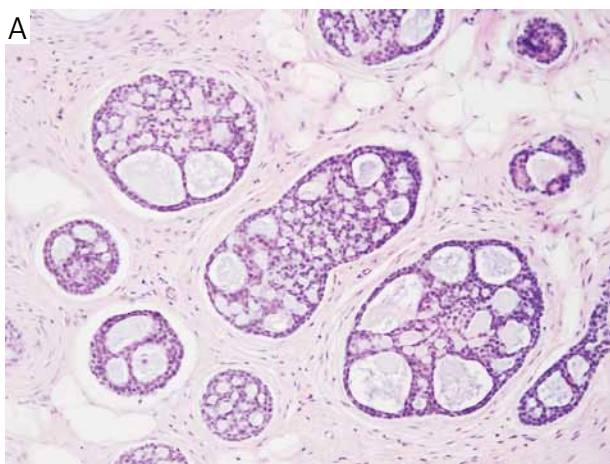
Do 98% raków apokrynowych nie wykazuje ekspresji PR oraz podjednostki α receptora dla estrogenu (ER α). Wykazują one natomiast odczyn na obecność podjednostki β receptora ER [19].

2.4. Rak gruczołowo-torbielowaty (oblak, *adenoid cystic carcinoma*)

Raki sutka o typie *adenoid cystic carcinoma* (ACC) to wyjątkowo rzadkie nowotwory. Ich częstość występowania ocenia się jedynie na 0,05% [22] do 0,09% [23]

W klasyfikacji WHO 2012 raki typu ACC (ICD-O 8200/3) znalazły się w grupie nowotworów o dwufazowym różnicowaniu: gruczołowo-mioepitelialnym (*epithelial-myoeptihelial tumours*). Zbudowane są one bowiem z dwóch rodzajów komórek: gruczołowych (*ductal epithelioid cells*) oraz bazaloidnych komórek mioepitelialnych. Tworzą one układy sitowate, cewkowe i beleczkowe (trabekularne) a także lite gniazda [19] (ryc. 7.). Ro i wsp. sugerują stosowanie trójstopniowego systemu oceny złośliwości ACC opartego na stosunku rozległości utkania utworzonego przez cewki i układy sitowate do rozległości litych gniazd komórek raka. Guzy w stopniu G1 zbudowane są wyłącznie z gruczołów i cewek. W guzach o różnicowaniu G2 układy lite nie przekraczają 30% powierzchni guza, w guzach G3 zajmują zaś ponad 30% powierzchni guza [24]. Luminalne komórki nabłonkowe cechują się ekspresją cytokeratyn lekkich (CK7/8/18) oraz antygenu CD117 [17]. W ok. 91% przypadków ACC prezentują potrójnie ujemny immunofenotyp: ER(-)/PR(-)/HER2(-) [8]. Charakterystyczną dla raków ACC zmianą molekularną jest translokacja t(6;9)(q22-23;p23-24), która prowadzi do powstania genu fuzyjnego *MYB-NFIB*. Stwierdzano ją w ponad 92% badanych guzów [25].

Raki sutka o typie ACC cechują się indolentnym przebiegiem klinicznym (w przeciwieństwie do ACC



Rycina 7. Rak gruczołowo-torbielowaty (oblak, *adenoid cystic carcinoma*). Nowotworowe cewki i układy sitowate (A) zbudowane z dwóch rodzajów komórek: gruczołowych (warstwa wewnętrzna) i mioepitelialnych (warstwa zewnętrzna) (B)

rozwijających się w innych narządach). W zestawieniu 182 chorych leczonych z powodu ACC, których dane zostały zaczerpnięte z zebranego do 2002 r. piśmiennictwa [22] przerzuty do węzłów chłonnych odnotowano u 10 chorych, a u 14 przerzuty odległe (w większości do płuc). Sześć spośród 14 chorych z odległymi przerzutami zmarło z powodu nowotworu. Bezobjawowe i całkowite przeżycia 5-letnie u chorych na raka gruczołowo-torbielowatego wynoszą odpowiednio: 100% i 85–95% [22, 26].

2.5. Rak zrazikowo-komórkowy (*acinic cell carcinoma*)

Do 2013 r. ten typ raka sutka opisano zaledwie u 15 chorych w wieku 20–80 lat (średnia 54,2 roku). Wszystkie wspomniane przypadki zostały zestawione w pracy Shingu i wsp. [27].

Raki zrazikowokomórkowe cechują się naciekającym typem wzrostu. Ich utkanie tworzą gronka i cewki oraz lite gniazda zbudowane z dwóch rodzajów komórek. Dominują okrągłe komórki gruczołowe o eozynofilnej i/lub jasnej cytoplazmie z obecnością bardzo licznych wakuol, co nadaje im drobnoziarniste wejrzeenie. Drugą składową utkania są tzw. ciemne komórki o gruboziarnistej, eozynofilnej cytoplazmie i mimośrodkowo położonym jądrze. W części jąder widoczne są inkluzje. Światło nowotworowych cewek wypełnia koloidopodobna wydzielina. Komórki guza tworzące zarówno cewki, jak i lite gniazda cechują się ekspresją antygenu EMA (*epithelial membrane antigen*), lizozymu i $\alpha 1$ -antychymotrypsyny ($\alpha 1$ -ACT). Ogniskowo widoczna jest cytoplazmatyczna reakcja na białko S100.

Rokowanie w większości przypadków jest dobre. Przerzuty do węzłów chłonnych stwierdzono u 4 chorych, u 3 przerzuty odległe do płuc i wątroby. Tylko jedna chora zmarła z powodu uogólnionego rozsiewu. Okres obserwacji wynosił maksymalnie 10 lat [27].

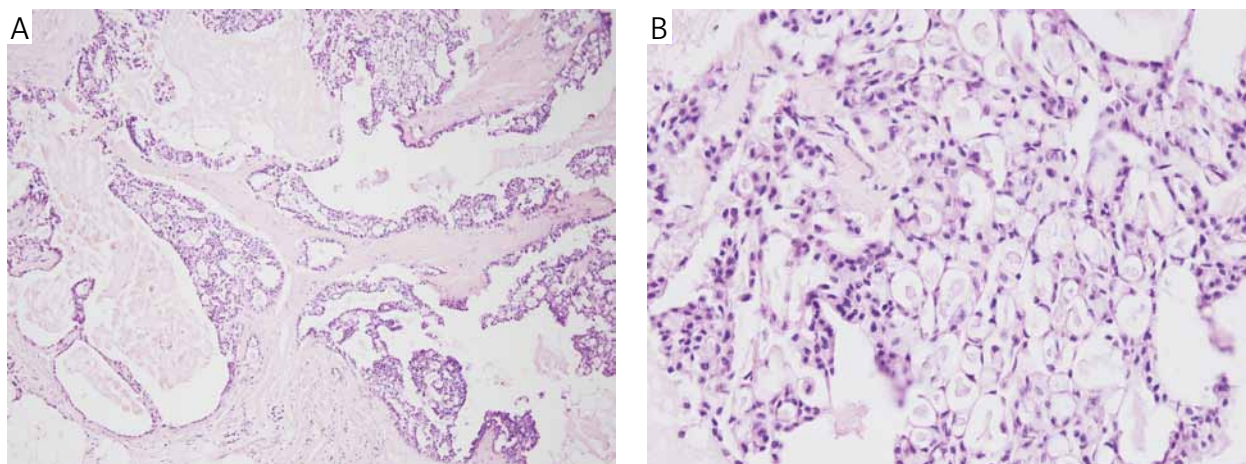
2.6. Rak z komórek obfitujących w tłuszczu (*lipid rich cell carcinoma*)

Shi i wsp. [28] z przebadanej puli 3206 raków piersi wyodrębnili 49 przypadków, w których komórki raka barwiły się czerwienią oleistą i jednocześnie nie wykazywały ziarnistości PAS-pozytywnych. Wiek tych chorych wahał się w granicach od 22 do 72 lat i wynosił średnio 45 lat. Przerzuty do węzłów chłonnych w chwili operacji stwierdzono u 79% pacjentek. W tym zestawieniu guzy o potrójnie ujemnym fenotypie stanowiły ok. 30% (w żadnym z guzów nie stwierdzono reakcji na ER, 90% z nich nie wykazywała ekspresji receptora PR, ale w 70% stwierdzono ekspresję białka HER2). Wszystkie chore były leczone operacyjnie z następczą chemioterapią, a w części przypadków – dodatkowo napromienianiem. Odsetek przeżyć 2- i 5-letnich wynosił odpowiednio 64% i 33%. Z danych tych wynika, że raki z komórek obfitujących w tłuszczu cechują się szczególnie złym rokowaniem [28].

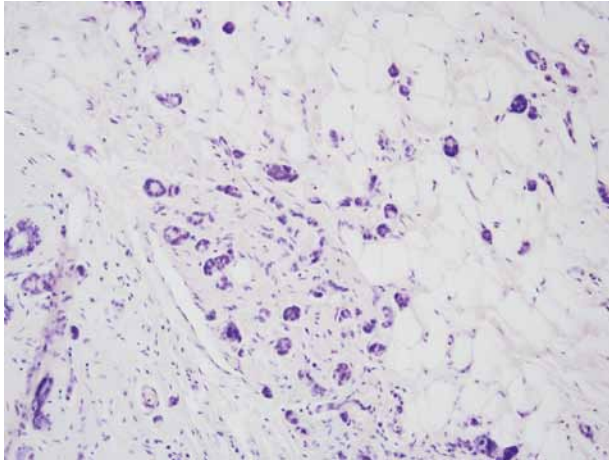
2.7. Rak wydzielniczy/rak młodzieńczy (*secretory carcinoma/juvenile carcinoma*)

To rzadka odmiana raka sutka opisana pierwotnie u dziewczynek w wieku 3–15 lat jako odrębna jednostka nazwana rakiem młodzieńczym (*juvenile carcinoma*) [29]. Z czasem guzy o tym samym utkaniu opisano również u dorosłych kobiet, a także u mężczyzn, dlatego nazwę guza zmieniono na raka wydzielniczego (*secretory carcinoma*) [30]. Częstość występowania raka wydzielniczego oceniana jest na 0,03% [31] do 0,06% [32] ogółu raków sutka.

Nowotwór cechuje się charakterystycznym obrazem mikroskopowym; guz jest dobrze odgraniczony, o rozprężającym typie wzrostu. Jego utkanie budują komórki nabłonka o niewielkim polimorfizmie i zwakuolizowanej cytoplazmie tworzące drobne cewki lub układy pęcherzykowo-torbielowe wypełnione eozynofilną treścią (przypominające pęcherzyki tarczycy), a czasem także brodawki (ryc. 8.). Eozynofilną wy-



Rycina 8. Rak wydzielniczy (młodzieńczy). Cewki, układy pęcherzykowe i brodawki (A) utworzone przez komórki raka o niewielkim polimorfizmie i zwakuolizowanej cytoplazmie, wypełnionej eozynofilną treścią (B)



Rycina 9. Rozrost o typie *microglandular adenosis*. Cewki zbudowane z jednej warstwy komórek nabłonka nie wykazujących cech atypii, rozproszone w tkance tłuszczowej i włóknistej sutka

dzielinę, barwiącą się metodą PAS i błękitem alcjanu, stwierdza się również pozakomórkowo. Immunohistochemicznie komórki raka wykazują ekspresję antygenu EMA oraz białka S100 [30, 33].

Pomimo niezwyklej rzadkości rak wydzielniczy budzi ogromne zainteresowanie co najmniej z dwóch powodów. Po pierwsze, komórki nowotworu wykazują translokację t(12;15) z wytworzeniem genu fuzyjnego *ETV6-NTRK3* [30, 33], który obserwuje się w dwóch innych nienabłonkowych nowotworach występujących u dzieci: włókniakomięsaku wrodzonym (*congenital fibrosarcoma*) [34] oraz wrodzonym nerczaku mezoblastycznym (*congenital cellular mesoblastic nephroma*) [35]. Biologiczną konsekwencją tej aberracji jest fuzja czynnika transkrypcyjnego *ETV6* z genem kodującym błonowy receptor o aktywności kinazy tyrozynowej (*NTRK3*), który aktywuje ścieżki sygnałowe Ras-Mek1 oraz Pi3K-Akt odpowiedzialne za proliferację komórek nabłonka sutka [30]. Po drugie, rak wydzielniczy należy do grupy raków sutka o wyjątkowo dobrym rokowaniu, chociaż jego immunofenotyp odpowiada rakowi potrójnie ujemnemu [30, 33].

3. Zmiany przedrakowe predysponujące do raka potrójnie ujemnego

Z powstawaniem potrójnie ujemnego raka sutka związane są również szczególne postaci zmian przedrakowych. Należą do nich rozrosty o typie *microglandular adenosis* (MGA) [36]. Rozrost typu MGA różni się zasadniczo od innych odmian rozrostu nabłonka sutka zwanych gruczolistością (*adenosis*), gdyż klinicznie i morfologicznie imituje naciekającego raka. Rozrost tworzą cewki zbudowane z pojedynczej warstwy komórek nabłonka, rozproszone w tkance tłuszczowej lub włóknistej gruczołu (ryc. 9.). Komórki nabłonka opisanych cewek nie wykazują cech atypii ani aktywności mitotycznej; cechują się pojedynczym, okrągłym

jądrem o regularnych kształtach i delikatnym lub wręcz niewidocznym jąderkiem. W badaniach immunohistochemicznych wykazują ekspresję cytokeratyn, białka S100, kadheryny E i katepsyny, nie wykazują natomiast reakcji na obecność receptorów steroidowych (ER, PR) i receptora HER2 oraz receptora CD117 (c-Kit), a także białek P53 i EMA. Brak reakcji na obecność antygenu EMA oraz receptorów steroidowych może być wykorzystany w diagnostyce różnicowej z rakiem cewkowym. W przeciwieństwie do innych odmian gruczolistości (np. *sclerosing adenosis*) cewki MGA nie są otoczone mankietem z komórek mioepitelialnych wykazujących ekspresję aktyny, kalponiny, antygenu CD10 i p63. Otoczone są natomiast błoną podstawną, którą można uwidocznić barwieniem na lamininę i kolagen IV lub barwieniem na obecność włókien retikuliny (srebrzenie, barwienie metodą PAS) [19].

4. Podsumowanie i wnioski

1. Raków sutka typu *basal-like carcinoma* nie należy utożsamiać z rakami potrójnie ujemnymi (*triple negative carcinoma*). Termin *basal-like carcinoma* należy stosować w odniesieniu do raków zdefiniowanych na podstawie badania mikromacierzy DNA, natomiast pojęcie TNBC należy odnosić do podtypu raka sutka zdefiniowanego na podstawie immunohistochemicznego badania statusu dwóch receptorów steroidowych (ER, PR) oraz receptora HER2.
2. Potrójnie ujemne raki sutka cechuje agresywny przebieg, szybki wzrost guza, wczesny nawrót choroby po leczeniu (w ciągu 1–3 lat), szybkie pojawienie się przerzutów odległych i większe ryzyko wczesnego zgonu.
3. Zjawisko to nie dotyczy wybranych (szczególnych) postaci histologicznych raka sutka o potrójnie ujemnym fenotypie, takich jak: *adenoid cystic carcinoma*, *acinic cell carcinoma*, *secretory carcinoma*, metaplastyczny rak z komórek wrzecionowatych typu *fibromatosis-like* (MSCC-FL). Są to raki o korzystnym rokowaniu.
4. Konieczne jest poszukiwanie immunohistochemicznych substytutów dla molekularnych markerów różnicujących różne odmiany raka typu *basal-like carcinoma*.

Piśmiennictwo

1. Cadoo KA, Fournier MN, Morris PG. Biological subtypes of breast cancer: current concepts and implications for recurrence patterns. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2013; 57: 312-321.
2. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 746-752.
3. Prat A, Adamo B, Cheang MC, et al. Molecular characterization of basal-like and non-basal-like triple-negative breast cancer. *Oncologist* 2013; 18: 123-133.
4. Howland NK, Driver TD, Sedrak MP, et al. Lymph node involvement in immunohistochemistry-based molecular classification of breast cancer. *J Surg Res* 2013; 185: 697-703.

5. Nowacka-Zawisza M, Krajewska WM. Potrójnie negatywny rak piersi: molekularna charakterystyka i potencjalne strategie terapeutyczne. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2013; 67: 1090-1097.
6. Somali I, Ustaoglu BY, Tarhan MO, et al. Clinicopathologic and demographic evaluation of triple-negative breast cancer patients among a Turkish patient population: a single center experience. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013;14: 6013-6017.
7. Krishnamurthy S, Poornima R, Challa VR, et al. Triple negative breast cancer – our experience and review. *Indian J Surg Oncol* 2012; 3: 12-16.
8. Montagna E, Maisonneuve P, Rotmensz N, et al. Heterogeneity of triple-negative breast cancer: histologic subtyping to inform the outcome. *Clin Breast Cancer* 2013; 13: 31-39.
9. Lin NU, Vanderplas A., Hughes ME, et al. Clinicopathologic features, patterns of recurrence, and survival among women with triple-negative breast cancer in the National Comprehensive Cancer Network. *Cancer* 2012; 118: 5463-5472.
10. Hartman AR, Kaldate RR, Sailer LM, et al. Prevalence of BRCA mutations in an unselected population of triple-negative breast cancer. *Cancer* 2012; 118: 2787-2795.
11. Stevens KN, Vachon CM, Couch FJ. Genetic susceptibility to triple-negative breast cancer. *Cancer Res* 2013; 73: 2025-2030.
12. Al Moustafa AE. Epithelial-mesenchymal transition and its regulators are major targets of triple-negative breast cancer. *Cell Adh Migr* 2013; 7: 424-425.
13. Bertucci F, Finetti P, Birnbaum D. Basal breast cancer: a complex and deadly molecular subtype. *Curr Mol Med* 2012; 12: 96-110.
14. Rastelli F, Biancanelli S, Falzetta A, et al. Triple-negative breast cancer: current state of the art. *Tumori* 2010; 96: 875-888.
15. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* 2011; 121: 2750-2767.
16. den Hollander P, Savage MI, Brown PH. Targeted therapy for breast cancer prevention. *Front Oncol* 2013; 3: 250.
17. WHO classification of tumours of the breast. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, et al. (eds). IARC, Lyon 2012.
18. Criscitiello C, Azim HA Jr, Schouten PC, et al. Understanding the biology of triple-negative breast cancer. *Ann Oncol* 2012; 23 Suppl 6: vi13-vi18.
19. Rosen PP, Hoda SA. *Breast Pathology. Diagnosis by needle core biopsy*. 3rd ed. Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2010.
20. Ridolfi RL, Rosen PP, Port A, et al. Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with 10 year follow-up. *Cancer* 1977; 40: 1365-1385.
21. Pedersen L, Holck S, Schiødt T, et al. Inter- and intraobserver variability in the histopathological diagnosis of medullary carcinoma of the breast, and its prognostic implications. *Breast Cancer Res Treat* 1989; 14: 91-99.
22. Arpino G, Clark GM, Mohsin S, et al. Adenoid cystic carcinoma of the breast: molecular markers, treatment, and clinical outcome. *Cancer* 2002; 94: 2119-2127.
23. Sumpio BE, Jennings TA, Merino MJ, et al. Adenoid cystic carcinoma of the breast. Data from the Connecticut Tumor Registry and a review of the literature. *Ann Surg* 1987; 205: 295-301.
24. Ro JY, Silve EG, Gallager HS. Adenoid cystic carcinoma of the breast. *Hum Pathol* 1987; 18: 1276-1281.
25. Wetterskog D, Lopez-Garcia MA, Lambros MB, et al. Adenoid cystic carcinomas constitute a genomically distinct subgroup of triple-negative and basal-like breast cancers. *J Pathol* 2012; 226: 84-96.
26. Ghabach B, Anderson WF, Curtis RE, et al. Adenoid cystic carcinoma of the breast in the United States (1977 to 2006): a population-based cohort study. *Breast Cancer Res* 2010; 12: R54.
27. Shingu K, Ito T, Kaneko G, et al. Primary acinic cell carcinoma of the breast: a clinicopathological and immunohistochemical study. *Case Rep Oncol Med* 2013; 2013: 372947.
28. Shi P, Wang M, Zhang Q, Sun J. Lipid-rich carcinoma of the breast. A clinicopathological study of 49 cases. *Tumori* 2008; 94: 342-346.
29. McDivitt RW, Stewart FW. Breast carcinoma in children. *JAMA* 1966; 195: 388-390.
30. Gabal S, Talaat S. Secretory carcinoma of male breast: case report and review of the literature. *Int J Breast Cancer* 2011; 2011: 704657.
31. de Bree E, Askoxylakis J, Giannikaki E, et al. Secretory carcinoma of the male breast. *Ann Surg Oncol* 2002; 9: 663-667.
32. Tavassoli FA, Norris HJ. Secretory carcinoma of the breast. *Cancer* 1980; 45: 2404-2413.
33. Vasudev P, Onuma K. Secretory breast carcinoma: unique, triple-negative carcinoma with a favorable prognosis and characteristic molecular expression. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 1606-1610.
34. Bourgeois JM, Knezevich SR, Mathers JA, et al. Molecular detection of the ETV6-NTRK3 gene fusion differentiates congenital fibrosarcoma from other childhood spindle cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 937-946.
35. Anderson J, Gibson S, Sebire NJ. Expression of ETV6-NTRK in classical, cellular and mixed subtypes of congenital mesoblastic nephroma. *Histopathology* 2006; 48: 748-753.
36. Wen YH, Weigelt B, Reis-Filho JS. Microglandular adenosis: a non-obligate precursor of triple-negative breast cancer? *Histol Histopathol* 2013; 28: 1099-1108.