

PODTYP PODSTAWNY RAKA PIERSI¹ – JEDNOSTKA O SPECYFICZNEJ CHARAKTERYSTYCE IMMUNOFENOTYPOWEJ?

JOANNA NIEMIEC, JANUSZ RYS

1. Wstęp

Rak piersi jest heterogenną grupą chorób, na którą składają się różnorodne jednostki kliniczno-morfologiczne, identyfikowane na podstawie badania mikroskopowego, zgodnie z kryteriami przyjętymi przez WHO [1].

Klasyfikacja raków piersi wg WHO, oparta wyłącznie na mikroskopowej ocenie tkanek guza barwionych rutynowo hematoksyliną i eozyną, nie uwzględnia wyników najnowszych badań z zastosowaniem mikromacierzy DNA. Badania te doprowadziły do wyróżnienia 5 podtypów raka piersi różniących się profilem molekularnym; są to podtypy: luminalny (A i B), podstawny, z nadekspresją *HER2* i podtyp z ekspresją genów typowych dla komórek prawidłowego gruczołu piersiowego.

Raki podtypu luminalnego (A i B) cechują się ekspresją genów charakterystycznych dla komórek gruczolowych, tworzących wewnętrzną warstwę prawidłowych przewodów i zrazików piersi (*inner luminal cells*). Większość z nich (podtyp luminalny A) wykazuje silną ekspresję genów receptora estrogenowego (ER) i genów związanych z regulacją jego funkcji (*LIV-1*, *HNF3A*, *XBPI*, *GATA3*). Raki podtypu luminalnego B charakteryzują się nieco słabszą ekspresją wyżej wymienionych genów, za to wykazują dodatkową ekspresję genów o nieznannej funkcji (*GGH*, *LAPTMB4*, *NSEPI*, *CCNE1*).

Dwie kolejne grupy raków piersi wykazują profil genowy odmienny od komórek gruczolowych warstwy „luminalnej”. W ich obrębie wyróżnia się raki typu podstawnego (*basal-like breast carcinoma* – BLBC), charakteryzujące się ekspresją genów typowych dla komórek warstwy podstawnej nabłonka przewodów (*KRT5*, *KRT17*, *CX3CLI*, *TRIM29* oraz gen aneksyny 8) oraz raki z nadekspresją genów *ERBB2*, *GRB7*, *TRAP100*, tworzących wspólny amplikon.

Ostatni z wymienionych podtypów raka piersi cechuje się ekspresją genów charakterystycznych dla komórek prawidłowego gruczołu, głównie komórek tłuszczowych i nienabłonkowych, ale także silną ekspresją genów charakterystycznych dla komórek warstwy podstawnej nabłonka przewodów i słabą ekspresją genów charakterystycznych dla

komórek gruczolowych warstwy luminalnej. Istnienie tej podgrupy jest kwestionowane przez część badaczy [2–4].

2. Immunofenotypowa charakterystyka podtypu podstawnego

2.1. Definicje podtypu podstawnego

Równoległe z pracami nad molekularną definicją podtypu podstawnego raka piersi (raka z komórek typu podstawnego – PPRP) była badana jego charakterystyka immunofenotypowa. Punktem wyjścia dla tego typu badań były prace, w których raki podstawne wyróżniano jednocześnie metodą mikromacierzy i techniką immunohistochemiczną (IHC) [5–7] (tab. I).

Raki z komórek typu podstawnego PPRP identyfikowane są na podstawie różnorodnych markerów immunohistochemicznych, w tym: cytokeratyn 5, 6, 14 lub 17 (CK5, CK6, CK14, CK17), receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR), aktyny gładkomięśniowej (SMA), kadheryny P, antygeny p63 lub c-kit, przy równoczesnym braku ekspresji receptora estradiolu α (ER α), progesteronu (PgR), *HER2* lub cytokeratyn „luminalnych” (CK8/18/19). Niestety, dotychczas nie wypracowano jednolitego i powszechnie zaakceptowanego zestawu markerów, które definiowałyby PPRP.

Większość autorów, definiując PPRP, opiera się na ekspresji CK5/CK6 i/lub receptora EGFR oraz braku ekspresji receptorów ER i *HER2* [5, 8–17] lub (dodatkowo) ekspresji innych markerów podstawnych, takich jak kadheryna P [18–20], cytokeratyna 14 [21], wimentyna [19] i antygen P63 [20] (tab. I, II).

Inni badacze stosują odmienne kryteria rozpoznania PPRP; ich zdaniem warunkiem rozpoznania PPRP jest stwierdzenie dodatniej reakcji na obecność tzw. markerów podstawnych (CK5/6, CK14, CK17, SMA) oraz brak ekspresji markerów komórek luminalnych (CK8, CK18, CK19) (tab. I, II).

Według części badaczy pojęcie PPRP utożsamiane jest z tzw. rakiem potrójnie ujemnym, tj. niewykazującym eks-

¹Podtyp podstawny raka piersi to grupa guzów wyodrębniona w toku badania ekspresji genów przy użyciu mikromacierzy, odpowiadająca tzw. klastrowi podstawnemu. Podtypu podstawnego raka piersi nie należy mylić z rakiem bazaloidnym piersi (*basaloid carcinoma*) ani też z rakiem podstawnokomórkowym skóry (*basal cell carcinoma*).

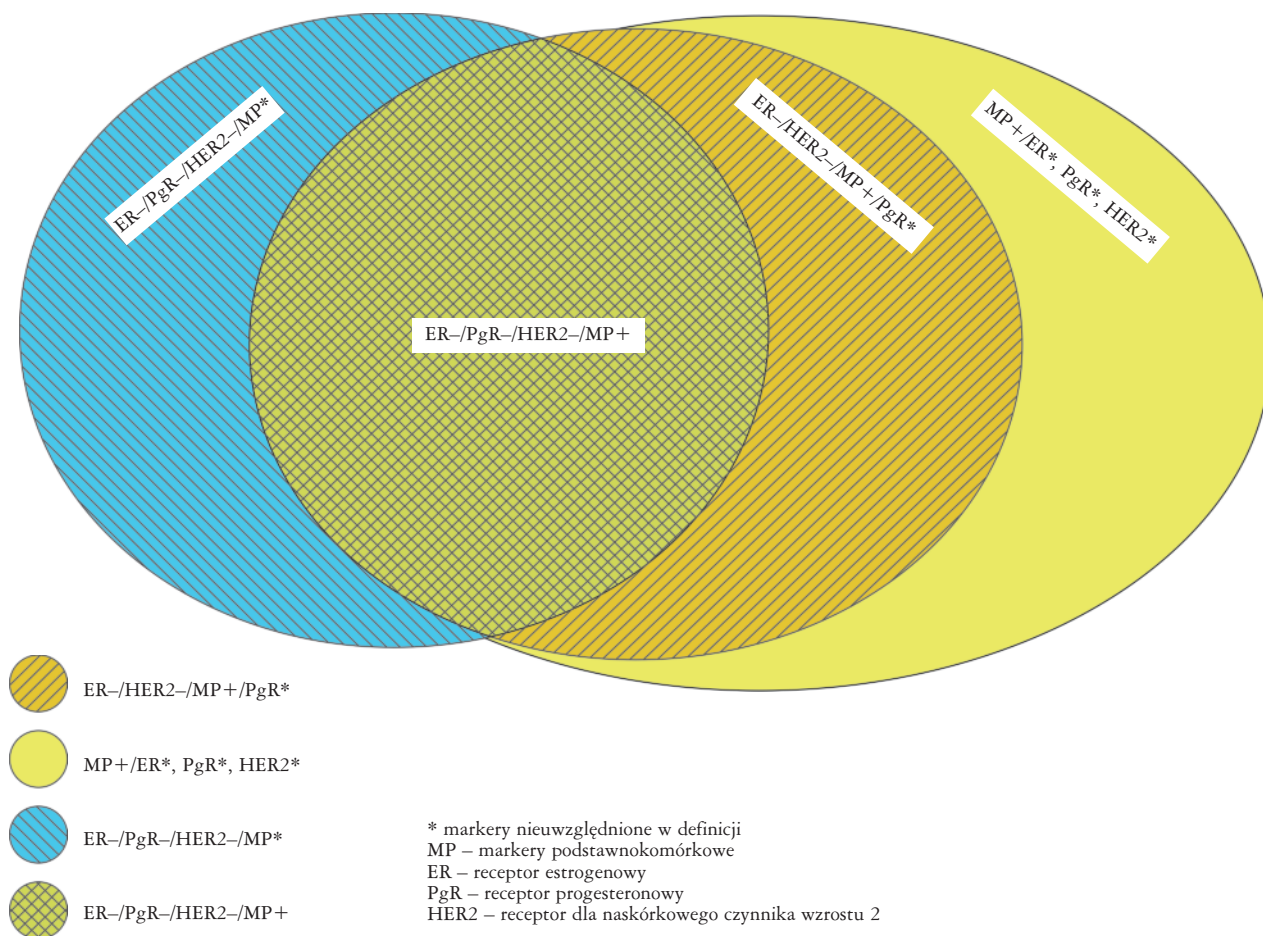
Tabela I. Immunofenotypowa definicja podtypu podstawnego raka piersi

IMMUNOFENOTYPOWA DEFINICJA PODTYPU RAKA (CHORE NIESELEKJONOWANE)		% PPRP [POZYCJA PIŚMIENICTWA]
EKSPRESJA RECEPTORÓW	EKSPRESJA MARKERÓW PODSTAWNYCH	
ER- ∧ PgR- ∧ HER2-	CK5/6+ ∨ EGFR+	7,8 [23]; 20,2 [40]
ER- ∧ HER2-	CK5/6+ ∨ EGFR+	2,4–18,9 [5**, 10–14, 22, 50]
	CK5/6+ ∨ EGFR+ ∨ kad-P+	14 [22]
	CK5/6+ ∨ EGFR+ ∨ CK14+	32,1 [21]
	CK5/6+ ∨ EGFR+ ∨ CK14+ ∨ c-kit+	14,7 [47]
	CK5/6+	6,6 [51]; 11 [44]
ER*, PgR*, HER2*	CK17+	2,8 [44]; 9,6 [51]
	CK14+	10,4–20,0 [41, 44, 51, 66]
	CK5/14+	9,0 [67], 13,0 [45]
	CK5/6 ∨ CK14+	22,5 [46]
	CK5/6+ ∨ CK14+ ∨ SMA+ ∧ CK8-/18-/19-	0,8 [34]
	CK5/6 ∨ CK17+	36,9 [29]
	EGFR+	21,3 [51]

* marker nieuwzględniony w definicji

** prace, w których porównano wyniki analizy mikromacierzy i immunohistochemii

∧ – i, ∨ – lub, Kad-P – kadberyna P, Wim – wimentyna



Rycina 1. Immunofenotypowe definicje PPRP wg różnych autorów

Tabela II. Immunofenotypowa definicja raka z komórek typu podstawnego (wyselekcjonowane grupy chorych)

IMMUNOFENOTYPOWA DEFINICJA RAKA		% PPRP [POZYCJA PIŚMIENICTWA]						
EKSPRESJA RECEPTORÓW	EKSPRESJA MARKERÓW PODSTAWNYCH	KRYTERIA SELEKCJI CHORYCH						
		<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	R	MC	MBC	DCIS	ILC
ER– ∧ HER2–	CK5/6+ ∨ EGFR+	55,6 [50]; 83,3 [14]	10,0 [50]; 16,7 [14]	36,2 [50]	62,9 [11]	90,8 [16]	8,0 [9]	
	CK5+ ∨ CK14+ ∨ kad-P+ ∨ P63+ ∨ wim+ ∨ EGFR+						10,1 [19]	
	CK5+ ∨ p63+ ∨ kad-P+			83,3 [20]				
	ER* PgR* HER2*	CK5/6+ CK17+ CK14+ CK5/14+ CK5/6 ∨ CK14+ EGFR+	57,6 [51]; 17,6 [44]	15,4 [51]; 7,7 [44]				17,0 [39]
		53,3 [51]; 2,3 [44]	0 [44]; 7,1 [51]					
		60,6 [51]; 39,4 [44]	26,9 [44]; 24,1 [51]					
		78,0 [67]	7,0 [67]					
					44,4 [46]		7,6 [46]	
		67,3 [51]						

* marker nieuwzględniony w definicji

∧ – i, ∨ – lub, DCIS – rak wewnątrzprzewodowy, ILC – rak zrazikowy naciekający, MC – rak rdzeniasty, MBC – rak metaplastyczny, R – rodzinny rak piersi, Kad-P – kadberyina P, Wim – wimentyna

presji receptorów steroidowych (ER/PgR) oraz receptora HER2 [7, 8, 23–28]. W porównaniu z techniką mikromacierzy cDNA specyficzność tej „immunohistochemicznej definicji” podtypu podstawnego wynosi 91% [7].

Różnice pomiędzy definicjami immunofenotypu PPRP zobrazowano na rycinie 1.

W zależności od przyjętych kryteriów rozpoznania, a także typu histologicznego i mutacji w genie *BRCA1* częstość występowania raków z komórek typu podstawnego waha się od 0 do 90,1%, średnio w nieselekcjonowanych grupach chorych wynosi ona ok. 15% (tab. I, II).

Do identyfikacji PPRP najczęściej stosowany jest zestaw przeciwna zaproponowany przez Nielsena i wsp. [5] (brak ekspresji ER i HER2 oraz ekspresja CK5/6 lub/i EGFR) (ryc. 1.), (tab. I, II). Tak „immunohistochemicznie zdefiniowane” raki piersi w 100% przypadków pokrywają się z podtypem podstawnym rozpoznaniem na podstawie badań przeprowadzonych techniką mikromacierzy cDNA (specyficzność 100%). Niestety, czułość tego zestawu markerów immunohistochemicznych w wykrywaniu wszystkich raków cechujących się ekspresją genów podstawnych jest niższa i waha się w granicach od 76% [5] do 77,8% [6].

2.2. Ekspresja markerów komórek mioepitelialnych

2.2.1. Ekspresja cytokeratyn o dużej masie cząsteczkowej

Podtyp podstawny raka piersi cechuje ekspresja cytokeratyn „podstawnych” (cytokeratyn o dużej masie cząsteczkowej)

(CK5/6, CK14, CK17) i obniżona ekspresja tzw. cytokeratyn luminalnych (cytokeratyn o małej masie cząsteczkowej) (CK8/18).

Opis reakcji na obecność CK5/6 w komórkach nowotworowych różni się w poszczególnych doniesieniach. Niektórzy autorzy opisują cytoplazmatyczną reakcję [5, 9], inni zaś reakcję błonową [29], która może być efektem podbłonowej akumulacji filamentów pośrednich zbudowanych z CK5/6. Ponadto zwrócono uwagę na fakt, że w komórkach raka przewodowego reakcja na obecność CK8 jest zlokalizowana w obwodowych częściach cytoplazmy, a w komórkach raka zrazikowego ma charakter okołojądrowy [30–32].

Różnice w ekspresji cytokeratyn pomiędzy różnymi typami/podtypami raków piersi mogą odzwierciedlać różny mechanizm karcinogenezy tych typów/podtypów nowotworu (patrz rozdział *Morfologia i immunocharakterystyka raka piersi w świetle nowych poglądów na temat karcinogenezy*).

2.2.2. Ekspresja innych markerów komórek mioepitelialnych

Wśród innych markerów komórek mioepitelialnych, których ekspresję częściej spotyka się w PPRP wymienić należy aktywną gładkomięśniową (SMA) [6, 33, 34], białko p63 [21, 36] i kadherynę P [19, 20, 22].

Białko p63 bierze udział w różnicowaniu i funkcjonowaniu nabłonków wielowarstwowych oraz pełni funkcję w utrzymaniu zdolności do proliferacji w komórkach

warstwy podstawnej dojrzałego nabłonka wielowarstwowego. Ponadto p63 jest związane z utrzymaniem prawidłowych interakcji pomiędzy komórkami nabłonkowymi a mezenchymalnymi [37, 38].

Kadheryna P, uznawana za jeden z markerów komórek mioepitelialnych gruczołu piersiowego, odgrywa jednocześnie rolę białka adhezyjnego.

2.3. Indeks proliferacyjny i ekspresja białek związanych z regulacją cyklu komórkowego, procesem naprawy DNA, apoptozą i przeżyciem komórek

W rakach z komórek typu podstawnego wykazano istotnie wyższy potencjał proliferacyjny niż w rakach z komórek nabłonka gruczołowego. W różnych badaniach oceniano go przy użyciu różnych markerów proliferacji: indeksu mitotycznego [6, 9, 35, 39–41], ekspresji białka Ki-67 [9, 14, 20, 22, 29, 42] ekspresji cykliny E [11, 18, 29, 43] i cykliny A [42], a także odsetka komórek w fazie S cyklu komórkowego [25].

W PPRP stwierdzono mutację genu *P53* lub ekspresję jego produktu białkowego [7, 9, 11, 13, 18, 21, 22, 25, 33, 40, 42–47]. Prawidłowe białko P53 odpowiedzialne jest za aktywację mechanizmów naprawy DNA lub indukcję apoptozy w odpowiedzi na uszkodzenia DNA. Doprowadza ono do zatrzymania komórek w cyklu komórkowym do momentu naprawienia uszkodzonego fragmentu DNA. Brak prawidłowo funkcjonującego białka p53 (mutacja w genie *TP53*) sprawia, że komórki o uszkodzonym, nienaprawionym DNA dzielą się i nie ulegają apoptozie.

Ponadto wykazano zależność pomiędzy ekspresją markera podstawnego – CK5/6 [43] – lub markera komórek mioepitelialnych – kadheryny P [18] – a brakiem ekspresji białka p27, a także zależność pomiędzy brakiem ekspresji CK5/6 a silną ekspresją p27 [42]. Białko p27 jest także inhibitorem cyklu komórkowego, a konkretnie cyklinozależnych kinaz białkowych [48]. Brak ekspresji tego białka w podtypie podstawnym raka może być kolejnym wyjaśnieniem dużego potencjału proliferacyjnego obserwowanego w tych rakach.

Doniesienia dotyczące ekspresji białka Bcl-2 w podtypie podstawnym raka piersi są niejednoznaczne, w niektórych pracach stwierdzono jego ekspresję [42], w innych nie [20, 25]. Bcl-2 wraz z Bcl-x_L, Bcl-w, Mcl-1 zaliczane jest do antyapoptotycznych białek zawierających domeny BH1-4 [49].

Innym genem związanym z naprawą DNA, którego mutację stwierdzono istotnie częściej w podtypie podstawnym raka piersi jest *BRCA1* [13, 14, 18, 21, 43, 44, 46, 50, 51]. Gen ten jest odpowiedzialny za proces rekombinacji homologicznej, a jego mutacja może się przyczynić do niestabilności genetycznej.

Brak funkcjonujących białek zatrzymujących komórki w cyklu i indukujących naprawę może tłumaczyć większy potencjał proliferacyjny komórek tego podtypu raka, a także inny charakter zmian genetycznych niż te obserwowane w podtypie luminalnym. Może on być również związany z większą opornością/wrażliwością na określone schematy leczenia.

2.4. Ekspresja receptorów dla hormonów steroidowych i receptorów o aktywności kinaz tyrozynowych

W podtypie podstawnym raka wykazano ekspresję receptorów EGFR oraz c-KIT [5]. Są to receptory, które w części wewnątrzkomórkowej mają domenę o aktywności kinazy tyrozynowej. Oba receptory, poprzez szlak ras/raf/MEK/ERK, mogą stymulować podziały komórkowe i chronić komórki przed apoptozą [52–54]. Nadekspresja lub mutacja receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej (EGFR, HER2) doprowadza do ciągłej aktywacji cykliny D1, a tym samym do dużej proliferacji [48].

Receptory EGFR [5, 6, 9–17, 19, 21–23, 33, 40, 47, 50, 51] i c-KIT [47] są traktowane jako markery podstawne lub białka, których ekspresja koreluje z ekspresją immunofenotypu podstawnego.

2.5. Ekspresja białek będących markerami i białek związanych z regulacją funkcji komórek macierzystych

Ekspresja białek będących markerami i związanych z regulacją funkcji komórek macierzystych to potwierdzenie hipotezy mówiącej o tym, że raki podtypu podstawnego wywodzą się z komórek macierzystych lub wczesnych stadiów różnicowania komórek progenitorowych (patrz rozdział *Morfologia i immunocharakterystyka raka piersi w świetle nowych poglądów na temat karcinogenezy*).

W podtypie podstawnym raka, w porównaniu z innymi podtypami, wykazano istotnie większy odsetek komórek CD44+/CD24– [55]. W doświadczeniach na zwierzętach wykazano, że komórki o takim immunofenotypie (CD44+/CD24–) miały zdolność do tworzenia guzów nawet w sytuacji, gdy przeszczepiano ich bardzo małą liczbę [56].

Ponadto stwierdzono, że ekspresja markera komórek macierzystych (ALDH1) w raku piersi była skorelowana z immunofenotypowymi i klinicznymi cechami podtypu podstawnego [57].

Wśród innych białek zaliczanych do regulatorów funkcji komórek macierzystych, których ekspresję wykazano w podtypie podstawnym, należy wymienić EZH2 [22] i SOX2 [12], nie wykazano natomiast ekspresji Bmi-1 [22].

2.6. Ekspresja białek szoku cieplnego

W podtypie podstawnym wykazano ekspresję białka αB-krystraliny [17]. Jest to białko należące do rodziny białek szoku cieplnego, które w prawidłowych komórkach pełni bardzo ważną funkcję białek chaperonowych, czyli ochronnych, dla innych białek produkowanych przez komórkę. Są one odpowiedzialne za prawidłowe fałdowanie się innych białek, ich oligomeryzację, translokację oraz degradację, zapobiegają agregacji zmienionych białek i tym samym promują przeżycie komórek [17, 58].

2.7. Ekspresja białek mogących świadczyć o procesie przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej w podtypie podstawnym raka piersi

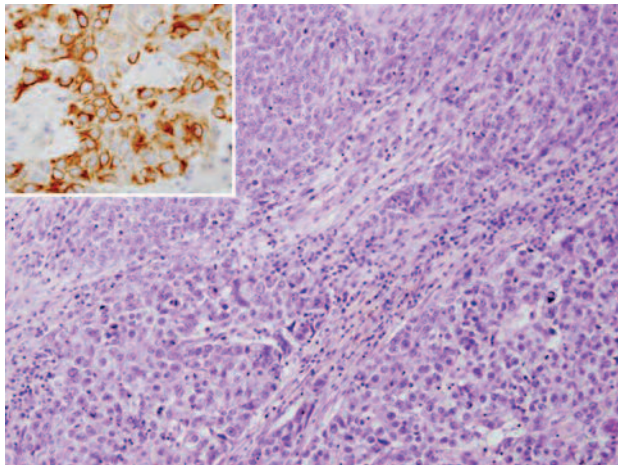
Proces przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej (*endothelial-mesenchymal transition* – EMT) jest biologicznym pro-

cesem charakteryzującym się utratą ekspresji markerów komórek nablónkowych i nabyciem cech charakterystycznych dla komórek mezenchymalnych [59]. Wyraża się to zanikiem połączeń pomiędzy komórkami nablónka, utratą kohezji i nabyciem przez komórki zdolności do ruchu, a także naciekania otaczających tkanek [60]. W warunkach fizjologicznych EMT występuje np. podczas tworzenia się mezodermy lub formowania cewy nerwowej.

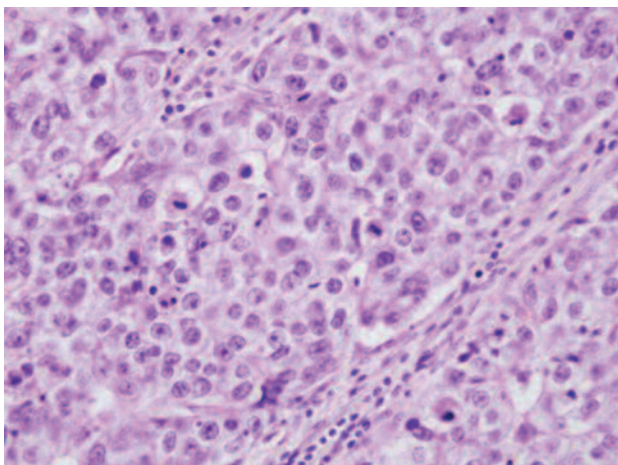
Wśród cech podtypu podstawnego raka, które mogą świadczyć o zjawisku EMT, można wymienić:

- ekspresję markerów komórek mezenchymalnych (wimentyna [6, 27, 61]),
- ekspresję białek zaangażowanych w przebudowę substancji pozakomórkowej i nabycie zdolności ruchu przez komórki (fascyna [14], laminina [13]),
- utratę markerów komórek gruczołowych (cytokeratyny o małej masie cząsteczkowej, CK8/18).

Jak już zasugerowano, w procesie EMT dochodzi do zmian w składzie i organizacji cytoszkieletu. Wimentyna to białko budujące sieć filamentów pośrednich w komórkach pochodzenia mezenchymalnego, zatem jej obecność w komórkach raka może świadczyć o jego różnicowaniu w tym



Rycina 2. Podtyp podstawny raka piersi – rak piersi z tworzeniem układów litych i brakiem zdolności do tworzenia cewek. Małe zdjęcie – dodatnia reakcja immunohistochemiczna na obecność cytokeratyny CK5 w większości komórek raka



Rycina 3. Podtyp podstawny raka piersi – rak piersi cechujący się znaczną atypią komórek i wysokim indeksem mitotycznym

kierunku. Wśród prac, które przyczyniły się do wyizolowania grupy raków podstawnych, uwagę zwracają prace Domagały i wsp., którzy w trzech kolejnych doniesieniach wykazali, że grupa raków piersi w stadium N0 z ekspresją wimentyny cechuje się znamiennej mniejszym odsetkiem przeżyć 5-letnich. Guzy opisane przez Domagałę i wsp. cechowały się obecnością rozległych (geograficznych) pól martwicy, wysokim indeksem proliferacyjnym, wysokim stopniem złośliwości histologicznej (*high grade*), brakiem ekspresji receptora estrogenowego i stosunkowo wysokim odsetkiem guzów o utkaniu raka rdzeniastego [62–64], czyli fenotypem odpowiadającym PPRP (patrz podrozdział 2.9). Z pracy Livasy i wsp. [6] wynika, że czułość wykrywania PPRP przy użyciu wimentyny może dochodzić nawet do 94%.

Z kolei fascyna [14] to globularne białko, które uczestniczy w sieciowaniu filamentów aktynowych podczas tworzenia przez poruszające się komórki wypustek o charakterze filopodiów [65]. Ma ono dwa miejsca wiązania dla aktyny.

Jak wykazano w wielu badaniach, EMT może być inicjowane poprzez szlaki sygnałowe aktywowane przez receptory o aktywności kinaz tyrozynowych lub serynowo-treoninowych [60] (np. EGFR i c-KIT aktywujące z kolei szlaki ras-raf-MEK-MAPK oraz PI3K).

2.8. Zmiany genetyczne i mutacje genów w rakach podstawnych

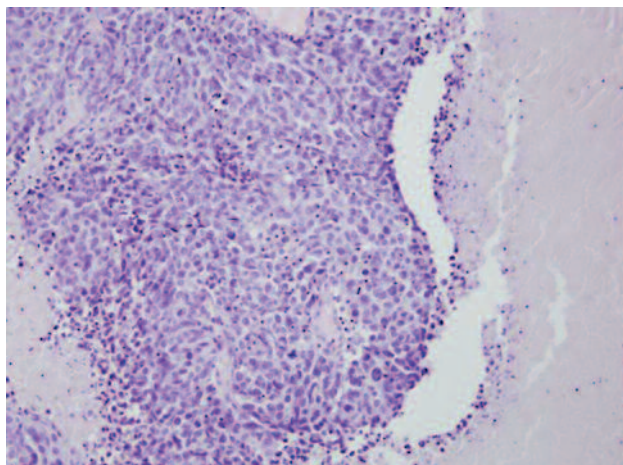
Badania genetyczne wykazały, że w komórkach raków o ekspresji CK5/6 rzadziej dochodzi do utraty chromosomu 16q, natomiast częściej stwierdza się w nich inne zmiany genetyczne (badano przyłączenie: 1q, 3q, 5p, 6q, 7p, 8q, 11q, 17q, 20q; utraty: 3p, 6p, 8p, 9p, 11q, 13q, 14q, 15q, 16q, 17p, 18q) [42]. Analiza skupień wykazała, że w grupie raków o ekspresji CK5/6 i nadekspresji p53, a także w grupie raków o amplifikacji HER2 częstość utraty 16q była mniejsza niż w innych grupach [42].

Odmienność genetyczną podtypu podstawnego raka piersi można wytłumaczyć mutacjami w genach odpowiedzialnych za naprawę DNA (*p53*) i stabilność genetyczną (*BRCA1*), a także brakiem ekspresji lub ekspresją białek związanych z promowaniem przeżycia komórek.

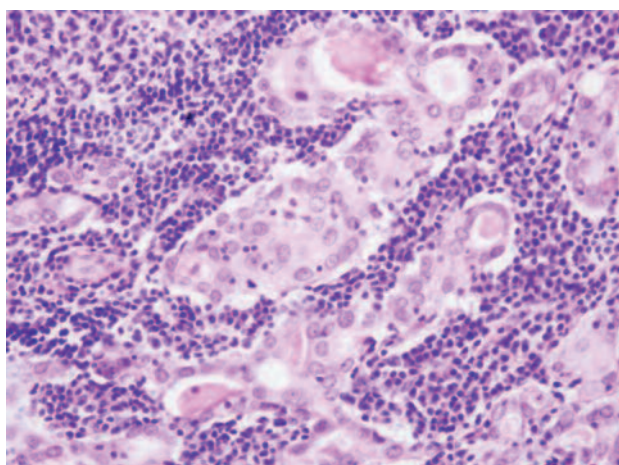
2.9. Cechy kliniczne i histopatologiczne raków podtypu podstawnego

Immunofenotyp podstawny jest najczęściej opisywany w rakach przewodowych naciekających o niskim stopniu zróżnicowania (NOS G3) [7, 40, 45–47]; stanowią one ok. 68% wszystkich PPRP [46]. Z kolei w grupie raków przewodowych naciekających G3 raki PPRP stanowią ok. 20% [11, 41, 66].

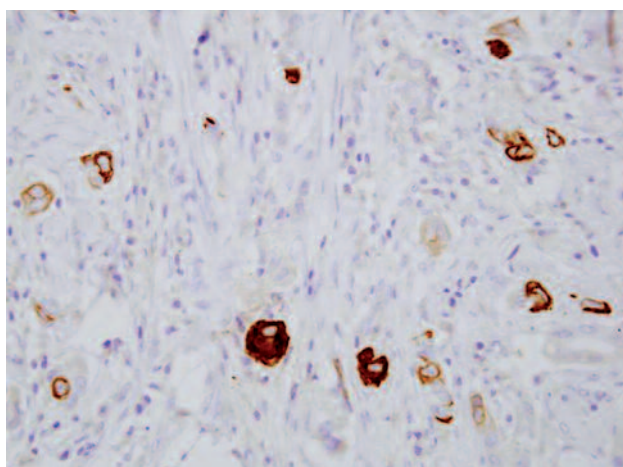
Drugą grupę raków podtypu podstawnego stanowią raki naciekające piersi, charakteryzujące się w badaniu mikroskopowym obecnością niektórych, wybranych cech morfologicznych opisanych przez Ridolfiego w odniesieniu do raka rdzeniastego. Raki tego typu nazywane są atypowymi rakami rdzeniastymi (*medullary like carcinomas, invasive breast carcinoma with medullary features* – IBCMF) i stanowią ok. 5,8% ogółu PPRP. Fenotyp podstawny stwierdza się w znaczącym odsetku przypadków atypowego raka rdzeniastego; wg Rakha i wsp. [46] w blisko 44%, wg Rodríguez-Pinilli aż w 63% przypadków [11].



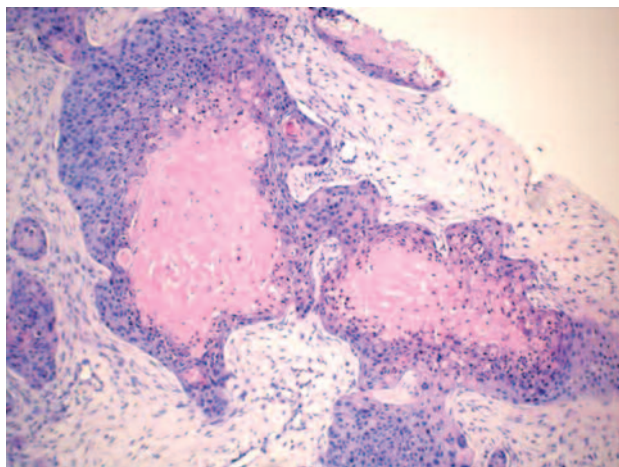
Rycina 4. Podtyp podstawny raka piersi – rak piersi z obecnością rozległych (geograficznych) pól martwicy



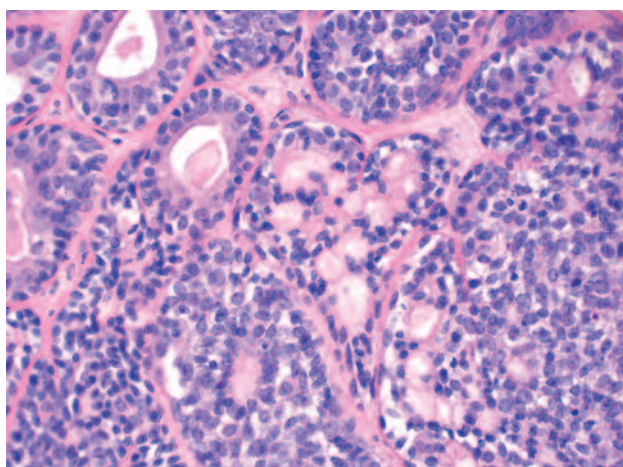
Rycina 5. Podtyp podstawny raka piersi – obfity naciek z komórek limfoidalnych w podścielisku guza



Rycina 6. Podtyp podstawny raka piersi – dodatni odczyn na obecność cytokeratyn CK5 w nielicznych komórkach raka



Rycina 7. Rak metaplastyczny piersi



Rycina 8. Rak piersi o typie *adenoid cystic carcinoma*

Wspomniane wyżej dwie grupy raków PPRP cechują się w obrazie histologicznym najczęściej:

- rozprężającym typem wzrostu (przy czym w przeciwieństwie do klasycznych raków rdzeniastych, w PPRP obwód guza jest jedynie częściowo ostro odgraniczony od tkanek otoczenia) [6, 35, 41],

- tworzeniem układów litych bądź syncytialnych i brakiem zdolności do formowania cewek [6, 41, 46] (ryc. 2.),
- wysokim stopniem złośliwości histologicznej [6–9, 11–14, 18–23, 25, 26, 28, 29, 34, 35, 39–43, 46, 47, 61, 67] (ryc. 3.),
- obecnością rozległych (geograficznych) pól martwicy [35, 41] (ryc. 4.),
- wysokim indeksem mitotycznym (wg Fulforda i wsp. dochodzącym nawet do 40 figur/10 HPF) [41],
- wysokim współczynnikiem jądro-cytoplazmatycznym,
- w części przypadków – naciekiem z komórek limfocytarnych w podścielisku [35, 41] (ryc. 5., 6.).

Zwraca uwagę fakt, że opisane wyżej histologiczne cechy PPRP pokrywają się w znacznej mierze z obrazem mikroskopowym tzw. raków potrójnie ujemnych [27] oraz raków piersi u chorych z mutacją genu *BRCA1* [13, 14, 18, 21, 43, 44, 46, 50, 51].

Guzy o immunofenotypie podstawnym stwierdza się ponadto w zdecydowanej większości (nawet do 90%) raków metaplastycznych (ryc. 7., tab. II) [16] oraz we wszystkich oblakach (*adenoid cystic carcinomas*) [46].

Większość autorów do raków podstawnych zalicza również nowotwory o różnicowaniu mioepitelialnym;

obok wymienionego wyżej oblaka (ryc. 8.) także guzy typu *adenomyoepithelioma*, *myoepithelial carcinoma*, *low-grade adenosquamous carcinoma*.

Najrzadziej immunofenotyp typu podstawnego prezentują raki cewkowe i mieszane raki zrazikowe; częstość PPRP wśród tych postaci histologicznych wynosi odpowiednio 4,3% [46] oraz od 4,8% do 17% [39, 46] (tab. II).

Wśród PPRP nie stwierdzono raków sitowatych, śluzowych i brodawkowych [40].

Według części doniesień immunofenotyp podstawny jest obserwowany częściej w guzach o dużych rozmiarach [7, 8, 14, 22, 25, 34, 43, 46, 47]. Obserwacji tych nie potwierdzili inni autorzy [21, 39, 66, 67].

Raki typu PPRP wydają się częściej przerzutować do płuc i mózgu, a rzadziej do kości i wątroby (wg pracy Diaz – także rzadziej do węzłów chłonnych) [68] oraz wykazywać odmienną wrażliwość na chemioterapeutyki. Należy przy tym pamiętać, iż wśród raków o immunofenotypie podstawnym stwierdza się guzy o różnym utkaniu histologicznym. Jak dotąd gorsze rokowanie w tej grupie nowotworów dotyczy wyłącznie raków przewodowych (NOS).

2.10. Zadania patologa w diagnostyce raków typu podstawnego piersi

Badanie histologiczne jest w dalszym ciągu jedyną obiektywną metodą pozwalającą na rozpoznanie rakowego charakteru badanego guza piersi i zakwalifikowanie go do dalszych badań dodatkowych.

Zadaniem patologa jest również pobranie i zabezpieczenie tkanki rakowej do badań molekularnych, zwłaszcza tych, które wymagają izolacji materiału genetycznego (np. RNA).

Wydaje się, że w najbliższej przyszłości zostaną opracowane standardowe testy molekularne (w szczególności w odniesieniu do raków podstawnych i „potrójnie ujemnych” raków piersi), które ułatwią kwalifikowanie chorych do wybranych schematów leczenia uzupełniającego, w tym tzw. leczenia celowanego. Zapowiedzią tego typu testów jest np. OncotypeDx. Do czasu opracowania ww. testów molekularnych, dzięki badaniom immunohistochemicznym możliwa jest wstępna „selekcja raków podstawnych” na podstawie identyfikacji guzów „potrójnie ujemnych” z dodatkowym badaniem na obecność cytokeratyn typu podstawnego i/lub EGFR.

3. Wnioski

1. Do immunohistochemicznej identyfikacji podtypu podstawnego raka piersi najczęściej stosowany jest zestaw przeciwciał zaproponowany przez Nielsena, cechujący się 100-procentową specyficznością i czułością wynoszącą ok. 76–78%. Kwestią otwartą pozostaje nadal rola, jaką w immunofenotypowej definicji tego podtypu raka piersi odgrywają inne markery, takie jak białka związane z regulacją funkcji komórek macierzystych, białka szoku cieplnego, markery przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej (wimentyna), a w szczególności białka wybranych szlaków sygnałowych.

2. Na podstawie badania mikroskopowego można wyróżnić odrębne grupy raków o immunofenotypie podstawnym: raki przewodowe o dużym stopniu złośliwości (NOS G3),

raki metaplastyczne i raki o różnicowaniu mioepitelialnym (*adenoid cystic carcinoma*, *myoepithelial carcinoma*, *low-grade adenosquamous carcinoma*) oraz raki rdzeniaste. Gorsze rokowanie w grupie raków o immunofenotypie podstawnym dotyczy wyłącznie raków przewodowych (NOS).

3. Utkanie histologiczne większości raków podstawnych cechuje się niskim stopniem zróżnicowania (brakiem zdolności do tworzenia cewek), znaczną atypią jąder, obecnością licznych figur podziału i rozległych (geograficznych) pól martwicy.

Piśmiennictwo

1. World Health Organization Classification of Tumours. Tavassoli FA, Devillee P (eds.). Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press Lyon 2003.
2. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98: 10869-10874.
3. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. Proc Natl Acad Sci U S A 2003; 100: 8418-8423.
4. Sorlie T. Molecular portraits of breast cancer: tumour subtypes as distinct disease entities. Eur J Cancer 2004; 40: 2667-2675.
5. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. Clin Cancer Res 2004; 10: 5367-5374.
6. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. Mod Pathol 2006; 19: 264-271.
7. Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, et al. Gene expression profiling and histopathological characterization of triplenegative/basal-like breast carcinomas. Breast Cancer Res 2007; 9: R65.
8. Tischkowitz M, Brunet JS, Bégin LR, et al. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. BMC Cancer 2007; 7: 134.
9. Livasy CA, Perou CM, Karaca G, et al. Identification of a basal-like subtype of breast ductal carcinoma in situ. Hum Pathol 2007; 38: 197-204.
10. Savage K, Lambros MB, Robertson D, et al. Caveolin 1 is overexpressed and amplified in a subset of basal-like and metaplastic breast carcinomas: a morphologic, ultrastructural, immunohistochemical, and in situ hybridization analysis. Clin Cancer Res 2007; 13: 90-101.
11. Rodríguez-Pinilla SM, Rodríguez-Gil Y, Moreno-Bueno G, et al. Sporadic invasive breast carcinomas with medullary features display a basal-like phenotype: an immunohistochemical and gene amplification study. Am J Surg Pathol 2007; 31: 501-508.
12. Rodríguez-Pinilla SM, Sarrió D, Moreno-Bueno G, et al. Sox2: a possible driver of the basal-like phenotype in sporadic breast cancer. Mod Pathol 2007; 20: 474-481.
13. Rodríguez-Pinilla SM, Sarrió D, Honrado E, et al. Vimentin and laminin expression is associated with basal-like phenotype in both sporadic and BRCA1-associated breast carcinomas. J Clin Pathol 2007; 60: 1006-1012.
14. Rodríguez-Pinilla SM, Sarrió D, Honrado E, et al. Prognostic significance of basal-like phenotype and fascin expression in node-negative invasive breast carcinomas. Clin Cancer Res 2006; 12: 1533-1539.
15. Hannemann J, Kristel P, van Tinteren H, et al. Molecular subtypes of breast cancer and amplification of topoisomerase II alpha: predictive role in dose intensive adjuvant chemotherapy. Br J Cancer 2006; 95: 1334-1341.

16. Reis-Filho JS, Milanezi F, Steele D, et al. Metaplastic breast carcinomas are basal-like tumours. *Histopathology* 2006; 49: 10-21.
17. Moyano JV, Evans JR, Chen F, et al. AlphaB-crystallin is a novel oncoprotein that predicts poor clinical outcome in breast cancer. *J Clin Invest* 2006; 116: 261-270.
18. Arnes JB, Brunet JS, Stefansson I, et al. Placental cadherin and the basal epithelial phenotype of BRCA1-related breast cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 4003-4011.
19. Paredes J, Lopes N, Milanezi F, et al. P-cadherin and cytokeratin 5: useful adjunct markers to distinguish basal-like ductal carcinomas in situ. *Virchows Arch* 2007; 450: 73-80.
20. Matos I, Duflath R, Alvarenga M, et al. P63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch* 2005; 447: 688-94.
21. Liu H, Fan Q, Zhang Z, et al. Basal-HER2 phenotype shows poorer survival than basal-like phenotype in hormone receptor-negative invasive breast cancers. *Hum Pathol* 2008; 39: 167-174.
22. Arnes JB, Collett K, Akslen LA. Independent prognostic value of the basal-like phenotype of breast cancer and associations with EGFR and candidate stem cell marker BMI-1. *Histopathology* 2008; 52: 370-380.
23. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1368-1376.
24. Bryan BB, Schnitt SJ, Collins LC. Ductal carcinoma in situ with basal-like phenotype: a possible precursor to invasive basal-like breast cancer. *Mod Pathol* 2006; 19: 617-621.
25. Ihemelandu CU, Leffall LD Jr, Dewitty RL, et al. Molecular breast cancer subtypes in premenopausal and postmenopausal African-American women: age-specific prevalence and survival. *J Surg Res* 2007; 143: 109-118.
26. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007; 109: 25-32.
27. Dabbs DJ, Chivukula M, Carter G, et al. Basal phenotype of ductal carcinoma in situ: recognition and immunohistologic profile. *Mod Pathol* 2006; 19: 1506-1511.
28. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. The triple negative paradox: Primary Tumor Chemosensitivity of Breast Cancer Subtypes. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2329-2334.
29. Potemski P, Kusinska R, Watala C, et al. Prognostic relevance of basal cytokeratin expression in operable breast cancer. *Oncology* 2005; 69: 478-485.
30. Lehr HA, Folpe A, Yaziji H, et al. Cytokeratin 8 immunostaining pattern and E-cadherin expression distinguish lobular from ductal breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2000; 114: 190-196.
31. Bratthauer GL, Miettinen M, Tavassoli FA. Cytokeratin immunoreactivity in lobular intraepithelial neoplasia. *J Histochem Cytochem* 2003; 51: 1527-1531.
32. Yeh IT, Mies C. Application of immunohistochemistry to breast lesions. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 349-358.
33. Korsching E, Packeisen J, Liedtke C, et al. The origin of vimentin expression in invasive breast cancer: epithelial-mesenchymal transition, myoepithelial histogenesis or histogenesis from progenitor cells with bilinear differentiation potential? *J Pathol* 2005; 206: 451-457.
34. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004; 203: 661-671.
35. Jones C, Nonni AV, Fulford L, et al. CGH analysis of ductal carcinoma of the breast with basaloid/myoepithelial cell differentiation. *Br J Cancer* 2001; 85: 422-427.
36. Ribeiro-Silva A, Ramalho LN, Garcia SB, et al. p63 correlates with both BRCA1 and cytokeratin 5 in invasive breast carcinomas: further evidence for the pathogenesis of the basal phenotype of breast cancer. *Histopathology* 2005; 47: 458-466.
37. Koster MI, Kim S, Roop DR. P63 deficiency: a failure of lineage commitment or stem cell maintenance? *J Invest Dermatol Symp Proc* 2005; 10: 118-123.
38. Barbieri CE, Pietenpol JA. p63 and epithelial biology. *Exp Cell Res* 2006; 312: 695-706.
39. Fadare O, Wang SA, Hileeto D. The expression of cytokeratin 5/6 in invasive lobular carcinoma of the breast: evidence of a basal-like subset? *Hum Pathol* 2008; 39: 331-336.
40. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492-2502.
41. Fulford LG, Easton DF, Reis-Filho JS, et al. Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast. *Histopathology* 2006; 49: 22-34.
42. Korsching E, Packeisen J, Agelopoulos K, et al. Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis. *Lab Invest* 2002; 82: 1525-1533.
43. Foulkes WD, Brunet JS, Stefansson IM, et al. The prognostic implication of the basal-like (cyclin E high/p27 low/p53+/glomeruloid-microvascular-proliferation+) phenotype of BRCA1-related breast cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 830-835.
44. Eerola H, Heinonen M, Heikkilä P, et al. Basal cytokeratins in breast tumours among BRCA1, BRCA2 and mutation-negative breast cancer families. *Breast Cancer Res* 2008; 10: R17.
45. Jumppanen M, Gruvberger-Saal S, Kauraniemi P, et al. Basal-like phenotype is not associated with patient survival in estrogen-receptor-negative breast cancers. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R16.
46. Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM, et al. Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol* 2006; 208: 495-506.
47. Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, et al. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol* 2006; 37: 1217-1226.
48. Lundberg AS, Weinberg RA. Control of the cell cycle and apoptosis. *Eur J Cancer* 1999; 35: 1886-1894.
49. Zeitlin BD, Zeitlin IJ, Nör JE. Expanding circle of inhibition: small-molecule inhibitors of Bcl-2 as anticancer cell and antiangiogenic agents. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4180-4188.
50. Rodríguez-Pinilla SM, Honrado E, Hardisson D, et al. Caveolin-1 expression is associated with a basal-like phenotype in sporadic and hereditary breast cancer. *J Breast Cancer Res Treat* 2006; 99: 85-90.
51. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, et al.; Breast Cancer Linkage Consortium. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5175-5180.
52. Mendelsohn J, Baselga J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy. *Oncogene* 2000; 19: 6550-6565.
53. McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1263-1284.
54. Edling CE, Hallberg B. c-Kit – a hematopoietic cell essential receptor tyrosine kinase. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 1995-1998.
55. Honeth G, Bendahl PO, Ringnér M, et al. The CD44+/CD24- phenotype is enriched in basal-like breast tumors. *Breast Cancer Res* 2008; 10: R53.
56. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 3983-3988.
57. Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 555-567.
58. Clark JI, Muchowski PJ. Small heat-shock proteins and their potential role in human disease. *Curr Opin Struct Biol* 2000; 10: 52-59.

59. Sarrió D, Rodríguez-Pinilla SM, Hardisson D, et al. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer relates to the basal-like phenotype. *Cancer Res* 2008; 68: 989-997.
60. Guarino M. Epithelial-mesenchymal transition and tumour invasion. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 2153-2160.
61. Malzahn K, Mitze M, Thoenes M, et al. Biological and prognostic significance of stratified epithelial cytokeratins in infiltrating ductal breast carcinomas. *Virchows Arch* 1998; 433: 119-129.
62. Domagała W, Lasota J, Bartkowiak J, et al. Vimentin is preferentially expressed in human breast carcinomas with low estrogen receptor and high Ki-67 growth fraction. *Am J Pathol* 1990; 136: 219-227.
63. Domagała W, Lasota J, Dukowicz A, et al. Vimentin expression appears to be associated with poor prognosis in node-negative ductal NOS breast carcinomas. *Am J Pathol* 1990; 137: 1299-1304.
64. Domagała W, Woźniak L, Lasota J, et al. Vimentin is preferentially expressed in high grade ductal and medullary, but not in lobular breast carcinomas. *Am J Pathol* 1990; 137: 1059-1064.
65. Adams JC. Roles of fascin in cell adhesion and motility. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16: 590-596.
66. Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K, et al. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R4.
67. Laakso M, Loman N, Borg A, et al. Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors. *Mod Pathol* 2005; 18: 1321-1328.
68. Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, et al. Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype: from expression profiling to clinical practice. *Adv Anat Pathol* 2007; 14: 419-430.