

VODIČI ZA PRIMENU TUMORSKIH MARKERA KOD KARCINOMA DOJKE

GUIDELINES FOR THE USE OF TUMOR MARKERS IN BREAST CANCER

Svetlana Ignjatović

*Institute of Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia and School of Pharmacy,
University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

Kratak sadržaj: Najbolje validovani markeri karcinoma dojke pripadaju tkivnim markerima i uključuju receptore za estrogen (ER), receptore za progesteron (PR), HER-2, urokinaza plazminogen aktivator (uPA) i plazminogen aktivator inhibitor 1 (PAI-1). Kod svih novodijagnostikovanih pacijenata sa karcinomom dojke određivanje ER, PR i HER-2 je danas obavezno. Mada je merenje uPA i PAI-1 tehnički validovano, do danas nije klinički rasprostranjeno i to uglavnom zbog zahteva za minimalnom količinom svežeg ili sveže zamrznutog tkiva. Određivanje ovih proteina može da se iskoristi kao pomoć pri selekciji »limfni čvor negativnih« pacijenata s karcinomom dojke kojima nije potrebna adjuvantna hemoterapija. Mada se dosta koristi u postoperativnom praćenju i praćenju terapije u poodmaklom oboljenju, klinička vrednost CA 15-3 i drugih serumskih markera nije još uvek validovana u studijama nivoa dokaza I. Nedavna poboljšanja u razumevanju biologije karcinoma dojke i paralelno povećanje mogućih opcija tretmana treba da vode ka poboljšanju ishoda ove veoma heterogene bolesti. Onkolozi još uvek imaju teškoće u odabiru specifičnih strategija tretmana prema molekularnim karakteristikama oboljenja svakog pacijenta ponaosob.

Glavne reči: karcinom dojke, tumorski markeri, vodiči, receptor za estrogen, HER-2, CA 15-3 i BR 27.29

Uvod

Karcinom dojke je daleko najčešći karcinom kod žena u celom svetu i otprilike jedan milion novih slučajeva se dijagnostikuje svake godine (1). U USA, 2004. godine je od 217 000 žena kod kojih je dijagnostikovano karcinom dojke, oko 40 000 umrlo i tre-

Summary: The best-validated markers in breast cancer are all tissue based and include estrogen receptors (ER), progesteron receptors (PR), HER-2, urokinase plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1). Assay of ER, PR and HER-2 is now mandatory on all newly diagnosed breast cancer patients. The measurement of uPA and PAI-1, although technically and clinically validated, is not yet in widespread clinical use, mainly due to the requirement of a minimum amount of fresh or freshly frozen tissue. Assay of these proteins however, may be used to aid the selection of lymph node-negative breast cancer patients that do not need adjuvant chemotherapy. Although widely used in post-operative surveillance and monitoring therapy in advanced disease, the clinical value of CA 15-3 and other serum markers has not yet been validated by a Level I evidence study. Recent improvements in our understanding of breast cancer biology and a parallel increase in possible treatment options have led to improvements in outcome this very heterogeneous disease. Oncologists still have significant difficulty in tailoring treatment strategies to the molecular characteristics of an individual's disease.

Keywords: Tumor markers, guidelines, estrogen receptor, HER-2, CA 15-3 and BR 27.29

nutno više od dva miliona žena živi s istorijom karcinoma dojke (2, 3). Nasuprot porastu incidencije oboljenja u svetu, stopa mortaliteta u zapadnoevropskim zemljama, kao i u USA uglavnom se snižava kao rezultat ranije detekcije i poboljšanja adjuvantne sistemske terapije (4).

Glavne karakteristike kod simptomatskih žena s karcinomom dojke uključuju tumor u dojci, promene ili nestanak bradavice i promene konture kože. Definitivna dijagnoza zahteva biopsiju i histopatologiju. Trenutno raspoloživi biomarkeri koji potiču iz krvi nisu korisni za postavljanje rane dijagnoze karcinoma dojke.

Adresa autora:

Svetlana Ignjatović
Institut za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije
i Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu
Višegradska 26, 11129 Beograd, Srbija
e-mail: tana@eunet.yu

Primarni tretmani kod lokalizovanog karcinoma dojke su poštedna hirurgija kojom se čuva dojka, zračenje ili mastektomija. Posle primene primarnog tretmana većina žena sa invazivnim karcinomom dojke prima adjuvantnu terapiju kao što je hemoterapija ili hormonska terapija. Pokazano je da obe vrste adjuvantne terapije smanjuju ponovno javljanje karcinoma dojke, kao i mortalitet. Sprovedena metaanaliza (5) kod 18 000 žena koje su učestvovala u randomizovanim trajalima koji su poredili primenu kombinovane adjuvantne terapije sa slučajevima bez terapije je pokazala da se polihemoterapijom postiže značajno godišnje smanjenje mortaliteta kako kod žena mlađih od 50 godina (27%), tako i kod žena od 50 do 69 godina (5%). Međutim, apsolutna korist kod pacijenata sa nezahvaćenim limfnim čvorovima koji su označeni kao »limfni čvor negativni« (*lymph node-negative, LN-*) je relativno mala (7%) kod žena mlađih od 50 godina i samo 3% kod žena od 50 do 69 godina. Druga metaanaliza (6) kod 37 000 žena koje su učestvovala u randomizovanim trajalima koji su poredili primenu adjuvantne terapije tamoksifonom sa placebom je pokazala da terapija tamoksifonom u toku od pet godina smanjuje rizik od ponovnog javljanja karcinoma za 47%, a rizik od smrti za 26% ukoliko je terapija primenjena kod pacijenata koji imaju »receptor za estrogen-pozitivno« (*estrogen receptor positive, ER+*) tumor. Međutim, pacijenti sa »receptor za estrogen-negativnim« (*estrogen receptor negative, ER-*) tumorima nemaju korist od adjuvantne terapije tamoksifonom. Pošto svi pacijenti sa karcinomom dojke ne zahtevaju primenu adjuvantne terapije jer otprilike 70% pacijenata koji su LN- se leči hirurški ili primenom radioterapije, racionalni menadžment zahteva pouzdane prognostičke i prediktivne markere.

Posle primarne terapije, pacijenti s dijagnozom karcinoma dojke obično se prate u regularnim intervalima. Istorijski, praćenje uključuje kliničku istoriju, fizički pregled, mamografiju, rendgen pluća, biohemijsko testiranje i određivanje tumorskih markera. Ova praksa se zasniva na pretpostavci da rana detekcija ponovnog vraćanja oboljenja vodi ka boljem ishodu. Međutim, klinička korist od temeljnog praćenja i danas je još nerazjašnjena (7).

Iako adjuvantna terapija poboljšava ishod pacijenta, kod 25–30% žena koje su LN- i bar 50–60% sa »limfni čvor pozitivnim« (*lymph node-positive, LN+*) tumorom doći će do ponovnog javljanja oboljenja. Terapijske opcije u slučaju metastatskog karcinoma dojke uključuju hemoterapiju (na primer: antraciklin i taksan zasnovanu), hormonsku terapiju ili »Trastuzumab« (Herceptin®, Genentech, South Francisco, CA) u kombinaciji sa hemoterapijom (8). Danas se smatra da je metastatski karcinom dojke neizlečivo oboljenje i leči se palijativno. U ovom kontekstu, serijsko određivanje tumorskih markera je potencijalno korisno u odlučivanju da se nastavi sa primenom date terapije ili njenog prestanka, odnosno prelaska na alternativnu terapiju.

Imajući u vidu sve gore navedeno, jasno je da optimalni menadžment pacijenta sa karcinomom dojke zahteva primenu velikog broja tumorskih markera. Cilj ovog rada je predstavljanje vodiča Nacionalne akademije za kliničku biohemiju (*National Academy of Clinical Biochemistry, NACB*) o primeni tkivnih i serumskih tumorskih markera kod karcinoma dojke, kao i preporuka ostalih ekspertskih grupa kao što su Američko društvo kliničke onkologije (*American Society of Clinical Oncology, ASCO*), Evropske grupe za tumorske markere (*European Group on Tumor Markers, EGTM*), Nacionalne kombinovane mreže za karcinom (*National Comprehensive Cancer Network, NCCN*), Evropskog udruženja medicinske onkologije (*European Society of Clinical Oncology, ESMO*) i Evropskog udruženja mastologije (*European Society of Mastology, EUSOMA*).

Upotreba i zloupotreba tumorskih markera u dijagnozi, praćenju i tretmanu karcinoma

Preporuke za rutinsku upotrebu tumorskih markera kod karcinoma dojke su konzervativne (9). Bez obzira na veliki broj publikovanih studija, samo nekoliko su visokog nivoa dokaza da omogućavaju pouzdane zaključke. Tri ključna problema u evaluaciji tumorskih markera se odnose na njihovu korisnost, značaj i pouzdanost. Loše zamišljen dizajn studije »zama-gluje« pitanja o njihovoj upotrebi. Oslanjanje na statističke *p* vrednosti pre nego na razmere u ishodu između pacijenata s pozitivnim i negativnim markerom čine razlike nerazumljivim. Tehnički problemi utiču na lošu reproducibilnost i interpretaciju određivanja tumorskih markera. Analitički problemi vode ka loše definisanim »cutoff« vrednostima nivoa markera. Loša selekcija pacijenata utiče na teškoće pri interpretaciji rezultata zato što dovodi do zabune u režimu tretmana. Osnovni zahtevi koji treba da se zadovolje pri evaluaciji tumorskih markera za primenu u kliničkoj praksi su navedeni u *Tabeli I*. Tumorski markeri mogu da budu korisni u više etapa pri postavljanju dijagnoze i tretmanu karcinoma (*Tabela II*). Kod osoba koje nemaju karcinom, marker može da bude koristan za određivanje rizika za napredovanje oboljenja i/ili može da bude koristan u »skriningu« oboljenja. Po ustanovljavanju postojanja abnormalnosti, tumorski marker može da se koristi za razlikovanje između benignog i malignog procesa. Posle potvrde dijagnoze karcinoma, tumorski markeri pomažu u praćenju statusa oboljenja u toku i posle primene terapije. Tumorski markeri mogu da posluže za predviđanje prognoze nezavisno od terapije, kao i u predviđanju odgovora na terapiju. Prognostički faktori reflektuju metastatski potencijal i/ili brzinu rasta tumora i koriste se za selekciju ishoda pacijenta bez uzimanja u razmatranje primenjenog tretmana. Prediktivni faktori s druge strane reflektuju osetljivost ili rezistenciju tumora na terapijski agens i koriste se za predviđanje koji će pacijent

Tabela I Osnovni zahtevi za prihvatanje tumorskog markera za primenu u kliničkoj praksi

Određivanje korisnosti
Evaluacija stepena efekta (bez efekta, slab, umeren, jak)
Analiza pouzdanosti
Tehnički problemi (određivanje)
Analitički problemi (»cut-off« vrednosti, validacija testova, multivarijalna analiza)
Problemi vezani za dizajn studije (odgovarajuća populacija pacijenata)

Tabela II Klinička primena tumorskih markera

Određivanje rizika za napredovanje oboljenja
»Skrining« oboljenja
Uspostavljanje dijagnoze
Razlikovanje benignog od malignog oboljenja
Određivanje tipa maligniteta
Određivanje prognoze
Predviđanje povratka (relapsa) kod primarnog oboljenja
Predviđanje progresije kod metastatskog oboljenja
Predviđanje preživljavanja
Predviđanje odgovora na terapiju
Primena hormonske terapije
Primena hemioterapije
Primena nove terapije (na primer: trastuzumab)
Praćenje oboljenja
Predviđanje povratka (relapsa) kod primarnog oboljenja
Praćenje detektibilnog oboljenja kod metastatskog oboljenja

verovatnije odgovoriti na specifičan tretman. Veoma mali broj markera su čisto prognostički ili čisto prediktivni. Uglavnom, većina tumorskih markera imaju kombinovane prognostičke i prediktivne osobine i korisnost zavisi od primenjenog terapijskog režima (10). Mnogo više nego što je to slučaj sa ostalim karcinomima, prognostički i prediktivni faktori imaju veliki značaj prilikom individualizacije terapije karcinoma dojke (11). U slučaju karcinoma dojke, na primer ER ekspresija predstavlja slab prognostički faktor, ali je jak prediktivni faktor u predviđanju odgovora na endokrinu terapiju. Prekomerna ekspresija HER-2 je s druge strane slab prognostički faktor, ali jak prediktivni faktor u predviđanju odgovora na terapiju trastuzumab-om. Bez izvođenja odgovarajućih studija kako *in vitro*, tako i *in vivo*, odgovarajuća primena tumorskih markera u kliničkim situacijama nije moguća. U slučaju karcinoma dojke, tumorski markeri mogu da se koriste samo u nekoliko kategorija.

Markeri karcinoma dojke koji su danas na raspolaganju

U Tabeli III prikazani su najispitivniji tkivni i serumski (cirkulišući) tumorski markeri karcinoma dojke uz navođenje nivoa dokaza (*level of evidence, LOE*) za

njihovu kliničku primenu prema preporučenom sistemu za gradiranje Hayes i sar. (10).

Tumorski markeri karcinoma dojke: NACB i ostale preporuke

U Tabeli IV su sumarno prikazane preporuke različitih ekspertske panela o primeni tumorskih markera kod karcinoma dojke.

Receptori za estrogen i progesteron

Rutinsko određivanje receptora za estrogen (ER) (to jest ER-alfa) i receptora za progesteron (PR) kod svih novodijagnostikovanih karcinoma dojke preporučeno je ekspertske panelom NACB; ASCO, EGTM, ESMO i EUSOMA (Tabela IV). Primarna svrha određivanja ER i PR je odabir pacijenata s ranim ili uznapredovalim karcinomom dojke koji su prikladni da odgovore na endokrinu terapiju. Takođe, u kombinaciji s drugim faktorima, ER i PR mogu takođe da se koriste u prognostičke svrhe. Međutim, hormonski receptori kao prediktori ishoda pacijenta su relativno slabi faktori i imaju malu kliničku vrednost kod LN- pacijenata. Iz ovih razloga hormonski receptori za određivanje ishoda karcinoma dojke ne mogu da se koriste samostalno. Međutim, u kombinaciji s ustanovljenim prognostičkim faktorima, hormonski receptori mogu da se koriste za predviđanje rizika povratka karcinoma. Određivanje ER-beta još uvek nema kliničku primenu (12).

Preporučeno određivanje ER i PR

Receptori za estrogen i receptori za progesteron mogu da se mere ligand-vezujućim tehnikama, ELISA ili tehnikama imunohistohemije. Prednosti i nedostaci ovih različitih određivanja su sumarno prikazani u Tabeli V. Važno je da se napomene da je najveći broj kliničkih podataka koje se odnose na ER i PR dobijeno na osnovu biohemijskih (ligand-vezujućih i ELISA) određivanja. Neka novija saopštenja su pokazala da imunohistochemijsko određivanje ER pruža isto tako dobru kliničku informaciju kao što se to dobija biohemijskim određivanjem, a u jednom saopštenju se tvrdi da je imunohistochemijsko određivanje ER superiornije u predviđanju odgovora na terapiju (15). Mnogo manji broj podataka je na raspolaganju o kliničkoj vrednosti PR određenih imunohistochemijski u poređenju sa istim podacima o ER. Kao i u slučaju ER, prediktivna sposobnost PR je veća ukoliko se određuju imunohistochemijski, a ne ligand-vezujućim tehnikama (16).

NACB panel preporučuje imunohistochemiju za određivanje ER i PR zbog lakše primene na širi opseg tumora, kako na male, tako i na velike tumore i korišćenje kako u parafin utisnutog, tako i zamrznutog tkiva. Važno je da se ima u vidu sledeće ukoliko se ER i PR određuju imunohistochemijski:

Tabela III Markeri koji se koriste u kliničkoj praksi i potencijalni markeri karcinoma dojke

Tumorski marker	Preporučena upotreba/upotreba	Faza ispitivanja	LOE
Tkivni markeri			
Receptori za estrogen (ER)	Za predviđanje odgovora na hormonsku terapiju u ranoj i poodmakloj fazi	U kliničkoj praksi	I
	U kombinaciji sa drugim faktorima u proceni prognoze (sam ER je slab prognostički faktor)	U kliničkoj praksi	III
Receptori za progesteron (PR)	Obično u kombinaciji sa ER za predviđanje odgovora na hormonsku terapiju	U kliničkoj praksi	I
HER-2	Određivanje prognoze, najkorisniji kod LN+ pacijenata. Konfliktni podaci za LN- pacijente	U nekim centrima u kliničkoj praksi	II-III
	Za selekciju pacijenata u ranoj fazi ili metastatskim karcinomom dojke za tretman sa Trastuzumbam-om (Herceptin)	U kliničkoj praksi	I
	Za predviđanje rezistencije na hormonsku terapiju	Podleže daljoj evaluaciji	III
	Za predviđanje na CMF terapiju u ranoj fazi	Podleže daljoj evaluaciji	III
	Za odabir na odgovor na visoke doze terapije bazirane na antraciklinu u ranoj fazi	Podleže daljoj evaluaciji	III
Urokinaza plazminogen aktivator (uPA)	Za određivanje prognoze, uključujući i subgroupu aksilarnih LN- pacijenata	U kliničkoj praksi u delovima Evrope	I
	Za predviđanje rezistencije na hormonsku terapiju u poodmaklom oboljenju	Podleže daljoj evaluaciji	III-IV
	Za predviđanje poboljšanog odgovora na hemoterapiju u ranom stadijumu	Podleže daljoj evaluaciji	III
PAI-1	Obično se određuje u kombinaciji sa uPA, tj. za određivanje prognoze uključujući i subgroupu LN- pacijenata. Daje dodatne prognostičke informacije u odnosu na uPA.	U kliničkoj praksi u delovima Evrope	I
	U kombinaciji sa uPA može da bude od koristi za predviđanje poboljšanog odgovora na adjuvantnu hemoterapiju i rezistenciju na hormonsku terapiju u poodmakloj bolesti	Podleže daljoj evaluaciji	III
Katepsin D	Za određivanje prognoze	Nije u kliničkoj praksi.	I (samo LN-)
p53	Za evaluaciju prognoze	Podleže daljoj evaluaciji	III (IHC) I (mutaciono testiranje)
	Za predviđanje odgovora na hemoterapiju i hormonsku terapiju	Podleže daljoj evaluaciji	III
DNK plodija	Za procenu prognoze	Podleže daljoj evaluaciji	III
S-faza	Za procenu prognoze	Podleže daljoj evaluaciji	III
Angigeneza	Za procenu prognoze	Slaba reproducibilnost	II-III
Ekspresija gena	Za procenu prognoze	Podleže daljoj evaluaciji	III-IV
Oncotype DX™	Za predviđanje odgovora na terapiju tamoxifen-om kod LN-	U kliničkoj praksi	I/II
Serumski markeri			
CA 15-3	Postoperativno preživljavanje kod pacijenata bez znakova oboljenja	U kliničkoj praksi, ali nije validovano u studijama visoke LOE	III
	Praćenje terapije u poodmaklom oboljenju	U kliničkoj praksi, ali nije validovano u studijama visoke LOE	III
	Procena prognoze. Preoperativne vrednosti više od 30 kU/L predviđaju nepovoljan ishod	Nije u kliničkoj praksi	III
BR 27.29	Daje slične informacije kao CA 15-3 ali nije tako široko ispitivan kao CA 15-3	U kliničkoj praksi, ali nije validovano u studijama visoke LOE	III

Tabela III (nastavak)

CEA	Postoprativno preživljavanje kod pacijenata bez znakova oboljenja. Manje osetljiv od CA 15-3/BR 27.29	U kliničkoj praksi, ali nije validovano u studijama visoke LOE	III
	Praćenje terapije u poodmaklom oboljenju, posebno ako CA 15-3/BR 27.29 nisu povišeni	U kliničkoj praksi, ali nije validovano u studijama visoke LOE	III
	Procena prognoze. Visoke preoperativne vrednosti predviđaju nepovoljan ishod	Nije u kliničkoj praksi	III
TPA (tkivni polipeptid antigen)	Postoprativno preživljavanje kod pacijenata bez znakova oboljenja	U kliničkoj praksi u nekim zemljama, ali nije validovano u studijama visoke LOE	III
	Praćenje terapije u poodmaklom oboljenju, posebno ako CA 15-3/BR 27.29 nisu povišeni	U kliničkoj praksi u nekim zemljama, ali nije validovano u studijama visoke LOE	III
TPS (tkivni polipeptid specifični antigen)	Kao TPA	Kao TPA	III
HER-2	Određivanje prognoze; predviđa odgovor na hormonsku terapiju, hemoterapiju i Trastuzmab; postoperativno preživljavanje i praćenje terapije u poodmaklom oboljenju. Manje osetljiv od CA 15-3 ili CEA ali može da bude od koristi ako CA 15-3, BR 27.29 ili CEA nisu povišeni. Preliminarni rezultati ukazuju da može da bude od koristi za praćenje terapije Trastuzumab-om kod pacijenata sa uznapredovalim karcinomom dojke.	Podleže evaluaciji	III-IV
Proteomika	Detekcija ranog oboljenja i praćenje	Podleže evaluaciji	IV/V
Tumorske ćelije			
U koštanoj srži	Za procenu prognoze	Nije u kliničkoj praksi	I
U aksilarnim čvorovima	Za procenu prognoze	Podleže daljoj evaluaciji	II-III
U sentinel limfnim čvorovima	Za procenu prognoze	Podleže daljoj evaluaciji	IV/V
U cirkulaciji	Za procenu prognoze i praćenje terapije u poodmaklom oboljenju	Podleže daljoj evaluaciji	III
Genetski markeri			
BRCA1	Za identifikaciju osoba koje imaju visok rizik razvoja karcinoma ovarijuma ili karcinoma dojke u familijama sa visokim rizikom	U kliničkoj praksi u specijalizovanim centrima	Mišljenje eksperata
BRCA2	Kao BRCA1	Kao BRCA1	Kao BRCA1

LOE (level of evidence); CMF (ciklofosamid, metotreksat, 5-fluorouracil)

- Imunohistohemijsko određivanje treba da daje vrednosti koje su u korelaciji sa biohemijskim određivanjem i treba da bude validovano i za prediktivnu i prognostičku svrhu. Za ER, na primer mogu da se primene: 6F11 MAb (Novocastra, Burlingame, CA i Newcastle UK) ili antitelo ID5 (Dako, Glostrup, Denmark) i za PR antitelo 1A6 (Novocastra), PR88 (Biogenex, Menarini Diagnostics, Finchampstead, Berkshire, UK) ili monoklonsko antitelo 1294 (Dako, Glostrup, Denmark) (13, 15–18).
- U svako određivanje treba da se uključe unutrašnje kontrole i to tkivna kontrola sa receptor pozitivnim ćelijama karcinoma i susednim benignim epitelijumom (18).
- Obavezno učešće u programu spoljašnje kontrolne kvaliteta (17, 18).
- Skorovanje obojenja može da se zasniva ili na procentu obojenih ćelija ili na kombinaciji procenta

obojenih ćelija sa intenzitetom obojenja. Bolje je da se izdaje semikvantitativan skor nego pozitivna ili negativna vrednost (17, 18). Važno je da se napomene da ima saopštenja da i pacijenti sa niskim nivoom ER (na primer: obojenje kod 1–10% ćelija) daju odgovor na endokrinu terapiju (15).

- U evaluaciju uključiti samo nuklearno obojenje.
- U izveštaju treba da se navede izvor primarnog antitela, kao i tip upotrebljenog tkiva (na primer: utisnuto u parafin ili zamrznuto) (18).

Gen za receptor za humani epidermalni faktora rasta 2 (HER-2)

Gen za receptor za humani epidermalni faktor rasta 2 (*human epidermal growth factor receptor 2 gene, ERBB2*) se najčešće skraćeno označava kao HER-2 i amplifikovan je kod otprilike 18% do 20% kar-

Tabela IV Preporuke različitih ekspertske grupe za primenu markera kod karcinoma dojke

Marker (i)	Primena	NACB	ASCO	EGTM	NCCN	ESMO	EUSOMA
ER + PR	za predviđanje odgovora na terapiju	da	da	da	da	da	da
	za prognozu	da, u kombinaciji sa postojećim faktorima	ne	da, u kombinaciji sa drugim faktorima	da	nije publikovano	nije publikovano
HER-2	za predviđanje odgovora na Trastuzumbam kod uznapredovale bolesti	za predviđanje odgovora na Trastuzumbam u ranoj fazi ili kod uznapredovalog karcinoma dojke	da	da	da	da	nije publikovano
	za prognozu	da, u kombinaciji sa drugim faktorima	nije publikovano	da, u kombinaciji sa drugim faktorima	da	nije publikovano	nije publikovano
	za predviđanje odgovora na hormonsku terapiju	ne	ne	ne	nije publikovano	nije publikovano	nije publikovano
	za predviđanje odgovora na adjuvantnu CMF	ne	ne	ne	nije publikovano	nije publikovano	nije publikovano
	za predviđanje odgovora na adjuvantnu terapiju antraciklinom	da, kao NCCN	da, ?	da	da, za predviđanje superiornosti terapije antraciklinom	nije publikovano	nije publikovano
CA 15-3 /BR27-29	praćenje posle hirurgije	daje »lead-time« u ranoj detekciji metastaza (nejasna klinička vrednost)	ne	da	ne	ne	nije publikovano
	praćenje uznapredovale bolesti	da, posebno kod bolesti koja ne može da se oceni	da	da	nije publikovano	da	da
CEA	praćenje posle hirurgije	ne	ne	da	nije publikovano	ne	nije publikovano
	praćenje uznapredovale bolesti	da, kao ASCO i EUSOMA	da, kod odabranih slučajeva, npr. u odsustvu bolesti koja može da se izmeri	da	nije publikovano	ne	
uPA/PAI-1	određivanje prognoze kod LN- pacijenata	da	nije publikovano	da	nije publikovano	nije publikovano	nije publikovano
BRCA1 BRCA2	identifikaciju žena sa visokim rizikom za razvoj karcinoma dojke	NACB podržava dokumente CGSC, ASCO, NCCN i USPSTF		nije publikovano	nije publikovano	nije publikovano	nije publikovano

NACB, National Academy of Clinical Biochemistry; ASCO, American Society of Clinical Oncology; EGTM, European Group on Tumor Markers; NCCN, National Comprehensive Cancer Network; ESMO, European Society of Clinical Oncology; EUSOMA, European Society of Mastology

cinoma dojke. ERBB2 predstavlja zvanični naziv dobijen od strane HUGO komiteta za nomenklaturu gena (HUGO Gene Nomenclature Committee) za gen v-erb-b2 eritroblastni leukemija virusni onkogen homolog 2 koji enkodira receptor za epidermalni faktor rasta koji pripada familiji receptora tirozin kinaza. U literaturi se sreće više naziva za ERBB2 (na primer:

NEU, NGL, HER2, TKR1, HER-2, c-erb B2, HER-2/neu). Amplifikacija predstavlja primarni mehanizam HER-2 prekomerne ekspresije i kod karcinoma dojke su nađeni visoki nivoi glikoproteina od 185 kd sa aktivnošću tirozin kinaze. Prekomerna ekspresija HER-2 je povezana sa kliničkim ishodom pacijenata sa karcinomom dojke (19).

Tabela V Prednosti i nedostaci različitih metoda određivanja receptora za hormone

Ligand vezujuća određivanja	ELISA	Imunohistohemija
Prednosti <ul style="list-style-type: none"> • kvantitativno • može da se odredi funkcionalnost receptora s obzirom na vezivanje hormona • može da se odredi Km receptora za ligand • mogu da se detektuju ukupni ER, tj. ER-α i ER-β, ali ne može da se napravi razlika između ove dve forme 	<ul style="list-style-type: none"> • kvantitativno • ne zahteva radioaktivnost • jednostavnije od ligand vezujućih metoda 	<ul style="list-style-type: none"> • jednostavno i relativno jevtino • može da se proceni tkivna arhitektura, razlikovanje invazivnog, <i>in situ</i> i normalnog tkiva dojke • može da koristi male količine tkiva kao što je ono dobijeno iglenom aspiracijom ili iglenom biopsijom • normalne epitelijalne ćelije i okolno tkivo predstavljaju pozitivnu kontrolu (bar za ER)
Nedostaci <ul style="list-style-type: none"> • dugotrajna • »glomazna« • skupo • zahteva veliku količinu tkiva • zahteva zamrznuto tkivo (mora da se odmah zamrzne tečnim azotom i čuva na niskoj temperaturi) • zahteva radioaktivnost • može da daje lažno negativne vrednosti^a 	<ul style="list-style-type: none"> • zahteva veliku količinu zamrznutog tkiva • relativno je dugotrajno 	<ul style="list-style-type: none"> • semikvantitativno • subjektivna interpretacija • teško za standardizaciju • različita antitela daju različite rezultate

^a Kod pacijenata kojima je uklonjen tumor i koji su na terapiji tamoxifen-om, kada su endogeni nivoi steroidnih liganada visoki ili kada je prisustvo karcinoma dojke u tkivnoj masi nedovoljno.

Tabela VI Prednosti i nedostaci različitih imunohistohemijskih metoda određivanja HER-2

Imunohistohemija	FISH (<i>fluorescence in situ hybridization</i>)
Prednosti <ul style="list-style-type: none"> • niska cena • jednostavno • široko raspoloživo 	<ul style="list-style-type: none"> • relativno objektivniji sistem skorovanja i lakše za standardizaciju • daje nešto »glomazniji« signal od imunohistohemije • tačnije u predviđanju odgovora na terapiju Trastuzumab-om kod pacijenata sa podmaklim oboljenjem
Nedostaci <ul style="list-style-type: none"> • subjektivna evaluacija • teško za standardizaciju • gubitak osetljivosti zbog antigenske promene zbog fiksacije • velika varijabilnost u osetljivosti različitih antitela i različiti rezultati od istog antitela u zavisnosti od postupka bojenja • granične vrednosti (2+) zahtevaju dodatno testiranje 	<ul style="list-style-type: none"> • relativno skupo: manje raspoloživo od imunohistohemije (zahteva fluorescentni mikroskop) • ponekad je teško za identifikaciju karcinoma u tkivima sa duktalnim karcinomom <i>in situ</i> • zahteva duže vreme za skorovanje od imunohistohemije • slajdovi ne mogu da se čuvaju i ponovo gledaju • nesigurna »cut-off« za uspostavljanje nivoa amplifikacije i kliničkog ishoda

ASCO (20), NCCN (21) i NACB (12) paneli preporučuju određivanje HER-2 kod svih novodijagnostikovanih karcinoma dojke (Tabela II). Danas se smatra da je primarna svrha određivanja HER-2 odabir pacijenata sa ranim ili uznapredovalim karcinomom dojke koji mogu da se tretiraju sa Trastuzumab-om (Herceptin®). U kombinaciji sa drugim faktorima, HER-2 takođe može da se koristi za određivanje prognoze. Danas nema dovoljno raspoloživih podataka na osnovu kojih bi moglo da se HER-2 preporuči za predviđanje odgovora na adjuvantnu endokrinu terapiju ili na adjuvantnu hemoterapiju ciklofosamidom, metotrekstatom i 5-fluorouracilom (CMF terapija) (20, 22–24). Međutim, HER-2 može da se koristi za predviđanje

superiornosti adjuvantne hemoterapije antraciklinom u odnosu na CMF terapiju (20). Do danas nema dovoljno podataka koji bi preporučili rutinsku primenu HER-2 testiranja u serumu. Preliminarni nalazi ukazuju da vrednost HER-2 u serumu može da bude od koristi za praćenje pacijenata sa uznapredovalim karcinomom dojke koji su podvrgnuti tretmanu sa Trastuzumab-om (25).

Za detekciju HER-2 kod karcinoma dojke koriste se dva glavna tipa određivanja: imunohistohemija i fluorescentna *in situ* hibridizacija (*fluorescent in situ hybridization, FISH*). Prednosti i nedostaci ovih metoda su sumarno prikazane u Tabeli VI (26–30). NACB

panel (12) preporučuje dva moguća prilaza za merenje HER-2: FISH ili imunohistohemiju sa validovanim antitelima i standardizovanom metodologijom. Dvo-smislene slučajeve (tj. one sa skorovima 2+), treba testirati primenom FISH tehnike.

Važno je da se pri merenju HER-2 ima u vidu sledeće:

- Mogu da se koriste samo validovani reagensi i standardizovana metodologija.
- U svako određivanje treba da se uključe unutrašnje kontrole, na primer uzorci sa »jako« pozitivnim karcinomom kao pozitivna kontrola sa susednim benignim epitelijumom kao negativna kontrola (18).
- Obavezno učešće u programu spoljašnje kontrolne kvaliteta.
- Samo invazivne komponente tumora treba da se skoruju (18).
- U slučaju imunohistohemije treba da se izdaju samo obojenja membrane (18).
- Testiranje HER-2 treba da se izvodi samo u laboratorijama koje izvode veliki broj tih testiranja.
- U izveštaju treba da se navede tip i izvor upotrebljenog određivanja, uključujući izvor primarnog antitela i bilo kog drugog kritičnog reagensa (18).

Američka administracija za hranu i lekove (*US Food and Drug Administration, FDA*) je do danas odobrila četiri testa za detekciju HER-2 kod karcinoma dojke. Dva se zasnivaju na imunohistohemiji (Dako Corporation, Carpinteria, CA i Ventana Medical Systems, Inc, Tucson, AZ), a dva na FISH tehnici (Ventana Medical Systems, Inc i Vysis Inc, Downers Grove, IL). Oba imunohistohemijska testa su odobrena za identifikaciju žena sa uznapredovalim karcinomom dojke za terapiju Trastuzumab-om. FISH-zasnovani testovi su originalno odobreni za selekciju žena sa LN- oboljenjem koje imaju visok rizik progresije i visok odgovor na terapiju doksorubicinom. Od skora su ovi testovi dobili odobrenje za selekciju žena sa metastatskim karcinomom dojke koje treba da se tretiraju Trastuzumab-om.

ASCO i CAP (*College of American Pathologists*) su početkom 2007. godine formulisali novi vodič (19) i preporuke za testiranje HER-2 u kome se preporučuje određivanje statusa HER-2 kod svih invazivnih karcinoma dojke. Međutim, testiranje HER-2 mora da bude tačno i reproducibilno. U vodiču su specifikovani sledeći faktori: preanalitički (vreme do fiksacije, metoda procesiranja tkiva, vreme fiksacije i vreme od fiksacije), analitički (validacija određivanja, kalibracija opreme, primena standardizovanih laboratorijskih postupaka, trening i procena kompetentnosti osoblja, tip »recovery«-ja antigena, test reagensi, korišćenje standardizovanih kontrolnih materijala, korišćenje automatizovanih laboratorijskih metoda) i postanalitičkih (kriterijumi za interpretaciju, korišćenje analize slika, elementi izveštaja, postupci kontrole

kvaliteta kao što su akreditacija, učešće u spoljašnjoj kontroli i procena kompetentnosti patologa). Vodič takođe preporučuje algoritam za pozitivne, sumnjive i negativne vrednosti za HER-2 ekspresiju proteina i amplifikaciju gena. Ukoliko imunohistohemijskim bojenjem (IHC) postoji uniformno, intenzivno obojenje membrane 30% invazivnih ćelija tumora, a FISH rezultat iznosi više od šest kopija HER-2 gena po jezgru, odnosno FISH odnos (odnos signala HER-2 gena prema signalima hromozoma 17) iznosi više od 2,2, u tom slučaju rezultat je pozitivan 3+. Negativan rezultat je: IHC bojenje 0 ili 1, FISH rezultat je manji od 4 HER-2 kopija gena po jezgru ili FISH odnos je manji od 1,8. Sumnjivi rezultati zahtevaju dodatne akcije do krajnjeg određivanja. Takođe se preporučuje da laboratorije koje određuju HER-2 imaju slaganje od 95% sa drugim validovanim testovima u pogledu pozitivnih i negativnih vrednosti. Vodič preporučuje da se HER-2 testiranje isključivo sprovodi u CAP-akreditovanim laboratorijama ili u laboratorijama koje ispunjavaju zahteve akreditacije i učešća u spoljašnjoj kontroli po zahtevima vodiča (19).

IHC i FISH predstavljaju pouzdane tehnike za identifikaciju prekomerne ekspresije ili amplifikacije HER-2 gena ali zahtevaju uzorke tkiva visokog kvaliteta. Iz ovih razloga razvijene su metode koje određuju koncentraciju HER-2 ekstraćelijskog domena (HER-2 ECD) u serumu kao alternativa direktnom određivanju HER-2 statusa u tkivu. Testom firme Bayer Diagnostica (ADVIA Centaur System) određuje se koncentracija HER-2 ECD primenom dvostepenog hemiluminiscentnog servič imunoođređivanja. Međutim, primena HER-2 ECD kao prognostičkog i prediktivnog faktora kod karcinoma dojke zahteva dodatna ispitivanja (9).

Urokinaza plazminogen aktivator i plazminogen aktivator inhibitor 1

Rezultati analize koja je sprovedena na više od 8 000 pacijenata su pokazali da su urokinaza plazminogen aktivator (uPA) i plazminogen aktivator inhibitor 1 (PAI-1) jaki (relativan rizik >2) i nezavisni (tj. nezavisni od metastaza u limfnim čvorovima, veličine tumora i statusa hormonskih receptora) prognostički faktori karcinoma dojke (31). Prognostički značaj ova dva proteina je ispitivan kod LN- pacijenata u aksilama primenom randomizovanog prospektivnog trajala (Chemo N₀ studija) i »pool« analiza malih retrospektivnih studija i prospektivnih studija (31, 32). uPA i PAI-1 predstavljaju prve biološke faktore karcinoma dojke čija je prognostička vrednost validovana primenom studija nivoa dokaza I (12).

NACB panel je ustanovio da se testiranjem uPA i PAI-1 mogu identifikovati LN- pacijenti koji ne zahtevaju ili za koje je verovatno da nemaju korist od adjuvantne hemoterapije. Merenje oba proteina treba sprovesti istovremeno s obzirom da je informacija ko-

ja se dobija njihovom kombinacijom superiornija od one koja se dobija njihovim pojedinačnim merenjem (31, 33). LN- pacijenti kod kojih su niski novoi i PA i PAI-1, imaju nizak rizik vraćanja oboljenja i iz ovih razloga oni mogu da budu pošteđeni od sporednih toksičnih efekata i koštanja adjuvantne hemoterapije. Nasuprot, LN- pacijenti kod kojih su visoki novoi ili PA ili PAI-1 treba da se tretiraju adjuvantnom hemoterapijom. Takođe, rezultati Chemo No trajala (32), kao i podaci dobijeni iz skorašnjih retrospektivnih studija (33, 34) ukazuju da pacijenti sa visokim nivoom uPA/PAI-1 dobijaju dodatnu korist od adjuvantne hemoterapije.

Preporučeno određivanje uPA i PAI-1

Merenje i uPA i PAI-1 treba da se izvede primenom validovane ELISA metode. Veliki broj ELISA metoda je podvrgnut tehničkoj validaciji, dok je drugi deo prošao i validaciju u programima spoljašnje kontrole kvaliteta (35). Za određivanje prognoze karcinoma dojke, NACB panel preporučuje primenu ELISA metoda koje su i tehnički i klinički validovane (na primer: American Diagnostic Inc, CT). Za ekstrakciju tkiva preporučuje se korišćenje Triton X-100. Važno je da se napomene da je za određivanje uPA i PAI-1 ELISA metodom neophodno da se odmah posle histološke dijagnoze, mali deo tumora dojke sačuva u tečnom azotu, a ne fiksiran u formalinu. Skorije je opisano mikroodređivanje uPA i PAI-1 kod koga može da se koristiti svega 100 mg tumorskog tkiva (36, 37). Ova određivanja mogu da koriste materijal dobijen iz dve do tri biopsije tkiva ili pet do deset 90 µm dubokih kripreseka. Mada podaci o nivouima uPA i PAI-1 dobijeni na osnovu biopsije tkiva nisu još klinički validovani, preliminarno je pokazano da su u korelaciji sa odgovarajućim nivouima dobijenim iz hirurški odstranjenog tkiva. S ozirrom da histohemijsko određivanje uPA i PAI-1 do sada nije još klinički validovano, ova metodologija se ne preporučuje za rutinsko određivanje ovih proteina kod karcinoma dojke.

CA 15-3/BR 27.29

Određivanje CA 15-3 i BR 27.29 (takođe poznat kao CA 27.29) u serumu detektuje isti antigen, tj. MUC1 protein pri čemu se dobija slična klinička informacija. Međutim, CA 15-3 je mnogo više istraživan od BR 27.29. Postoje konfliktni pogledi o vrednosti CA 15-3 i BR 27.29 prilikom postoperativnog praćenja pacijenata bez znakova bolesti (20, 38-41). Mada povećani nivoi CA 15-3 ili BR 27.29 mogu preklinički da detektuju udaljeno metastatsko oboljenje kod oko 70% asimptomatskih pacijenata, nema studija visokog nivoa dokaza koje pokazuju da rana dijagnoza progresivnog oboljenja koje je praćeno započinjanjem terapije ima pozitivan efekat ili na preživljavanje pacijenta ili na njegov kvalitet života. Osim toga, ne postoji univerzalno prihvaćena ili klinički vali-

dovana definicija povećanja koncentracije tumorskog markera. Potvrđeno povećanje od bar 25% se široko interpretira da označava klinički značajno povećanje.

Na osnovu tekućih dokaza, NACB ne preporučuje rutinsko testiranje CA 15-3 (ili BR 27.29) kod asimptomatskih pacijenata posle postavljene dijagnoze operabilnog karcinoma dojke. Međutim, napominje se da ima više malih studija koje ukazuju da rano započinjanje terapije koja se zasniva na povećanim nivouima tumorskih markera u serumu može da vodi ka poboljšanju ishoda (12). Mada ova pručavanja nemaju visok nivo dokaza da rani tretman koji se zasniva na povećanju nivoa tumorskih markera pozitivno utiče na ishod pacijenta, neki lekari, kao i neki pacijenti žele da se izvede serijsko određivanje nivoa CA 15-3 (ili BR 27.29) posle sprovedene primarne hirurģije. Krajnja odluka o tome da li treba ili ne treba da se koristi CA 15-3 (BR 27.29) u ovoj situaciji treba da leži na lekaru u konsultaciji sa pacijentom.

ASCO i NCCN ne preporučuju da se sam CA 15-3 (ili BR 27.29) koristi za praćenje terapije u uznapredovalom oboljenju (20, 21). Međutim, kod pacijenata sa »neprocenjenim« oboljenjem, oba panela iznose da potvrđeno povećanje koncentracije markera ukazuje na progresivno oboljenje. Nasuprot ASCO i NCCN panelima, EGTM panel preporučuje da se kod pacijenata sa metastatskim oboljenjem markeri određuju pre svakog ciklusa hemoterapije i bar na svaka tri meseca kod pacijenata na hormonskoj terapiji (38).

NACB panel iznosi da se CA 15-3 ili BR 27.29 mogu da koriste za praćenje hemoterapije kod pacijenata sa uznapredovalim karcinomom dojke, posebno kod pacijenata sa »neprocenjenim« oboljenjem. Dva sukcesivna povećanja verovatno ukazuju na progresivno oboljenje i mogu da budu rezultat prestanka terapije, promene terapije ili ulaska pacijenta u kliničko ispitivanje koje vrši evaluaciju novog antikancer tretmana. Međutim, u postoperativnom praćenju markera ne postoji univerzalno prihvaćena ili klinički validovana definicija povećanja koncentracije tumorskog markera u toku terapije uznapredovalog oboljenja.

Veoma je važno da se zna da po započinjanju hemoterapije može da dođe do prolaznog povećanja nivoa markera u serumu. Ovo prolazno povećanje obično opada u toku 6 do 12 nedelja po otpočinjanju hemoterapije. Do povećanja nivoa markera može da dođe zbog izvesnih benignih oboljenja. Ova povećanja mogu da budu prolazna ili progresivna u zavisnosti da li je benigno oboljenje kratkog veka ili nastavlja da se pogoršava (12).

Preporučeno određivanje CA 15-3/BR 27.29

FDA je odobrio više komercijalno raspoloživih testova za određivanje CA 15-3 i BR 27.29 koji su u upotrebi u zdravstvenim laboratorijama u Srbiji.

Karcinoembriogeni antigen

Kao i slučaju CA 15-3 i BR 27.29, NACB panel ne preporučuje rutinsko korišćenje karcinoembriogenog antigena (CEA) u praćenju pacijenata sa dijagnostikovanim karcinomom dojke. Za praćenje pacijenata sa uznapredovalim oboljenjem, sam CEA ne može da se koristi. Za praćenje pacijenata sa »neprocenjenim« karcinomom, s vremena na vreme CEA može da se koristi kada CA 15-3/BR 27.29 ne mogu. Kao marker karcinoma dojke, CEA je generalno manje osetljiv od CA 15-3/BR 27.29 ali ponekad može da bude od koristi kada su nivoi MUC-1-markera ispod »cut-off« vrednosti (12).

Preporučeno određivanje CEA

FDA je odobrio više komercijalno raspoloživih testova za određivanje CEA koji su u upotrebi u zdravstvenim laboratorijama u Srbiji.

BRCA1 i BRCA2

Prema privremenoj grupi Konzorcijuma za genetska ispitivanja karcinoma (*Cancer Genetics Studies Consortium, CGSC*), »rani »skrining« za karcinom dojke i karcinom ovarijuma se preporučuje kod osoba sa BRCA1 mutacijama i rani »skrining« za karcinom dojke kod onih sa BRCA2 mutacijama« (42). Međutim, nema preporuka za ili protiv profilaktičke hirurgije (na primer: mastektomije ili ooforektomije). U vodiču se dalje formuliše da su »ove hirurške intervencije opcione za nosioce mutacija s obzirom da nema dokaza o koristi i izveštaji na pojedinim slučajevima dokumentuju pojavu karcinoma posle profilaktičke hirurgije. Preporučuje se da osobe koje razmatraju da se podvrgnu genetskom testiranju budu konsultovane u pogledu nepoznate efikasnosti mera kojima se smanjuje rizik i da će ta briga o individuama sa karcinom-predisponirajućim mutacijama biti obezbeđena bilo kada je to moguće u kontekstu istraživačkih protokola koji su dizajnirani da evaluiraju klinički ishod« (42). Treba da se napomene da se ovi vodiči zasnivaju samo na mišljenju eksperata. Prema konsenzus panelu osme St Gallen konferencije, odluke vezane za tretman žena s mutacijama BRCA1 ili BRCA2 gena »zahtevaju da se uključi u razmatranje bilateralna mastektomija sa plastičnom hirurškom rekonstrukcijom, profilaktička ooforektomija, hemprenacija i intezivno praćenje« (24).

Nove molekularne prognostičke tehnike

Prema Nacionalnom institutu za kancer Nacionalnog instituta za zdravlje i američkog društva za kancer od 216 000 novih slučajeva godišnje sa karcinomom dojke, 56% (121 000) su LN-, a od ovog broja kod 20% (24 200) će nastati udaljene metastaze što zahteva praćenje tretmana. Međutim, 45% LN- žena mlađih od 51. godine života su na hemote-

rapiji, a što predstavlja dvostruko više pacijenata od broja kojima je ova terapija zaista neophodna. Takođe, u kategoriji pacijenata koji imaju korist od terapije, veliki broj nikada i ne otpočnu sa njom ili primaju subterapeutske doze (43). Postojeće metode ne mogu da razlikuju pacijente s visokim rizikom povratka bolesti od onih sa niskim rizikom sa komparabilnom tačnošću. Trenutno, najvažniji prognostički indikator za povratak karcinoma predstavlja veličina tumora. Međutim, značajan broj tumora čiji je dijametar manji od 1 cm su aktuelno sa visokim rizikom.

MammaPrint® (Agendia BV, Amsterdam, The Netherlands) je prvi komercijalno dostupan *microarray* dijagnostički test kojim se analizira individualni DNK ekspresioni profil tumora dojke. Primenom ovog testa se mnogo tačnije razlikuju LN- pacijenti sa karcinomom dojke koji će imati korist od primene dodatne terapije od onih kojima terapija neće koristiti što onkolozima olakšava u primeni mnogo efektivnije terapije svojim pacijentima. Ovakav pristup u tretmanu pacijenata s karcinomom dojke predstavlja personalizovanu medicinu (44, 45).

Analiziranjem 70 gena u tumoru kod žena primenom MammaPrint®-a predviđa se preživljavanje pacijenta u toku od 10 godina sa nivoom značajnosti koji je tri puta veći od postojećih metoda i sa nivoom tačnosti od 96,7%. MammaPrint® takođe identifikuje osobe koje imaju loš tumorski »potpis«, a koje imaju visok rizik za metastaze ukoliko se ne tretiraju (45). Ovaj novi test omogućava onkologu i hirurgu da tačnije odrede ko treba da se tretira uz maksimalno preživljavanje i smanjenje morbiditeta. *Microarray* tehnika je visoko kompleksna »amalgam« tehnologija koja uključuje bioinformatiku, biostatistiku i onkologiju i danas još uvek nije izvodljivo da se postignu reproduciibilni rezultati uz korišćenje opreme koja je razvijena od same laboratorije.

Klinička validacija gore navedenog molekularnog prognostičkog »alata« se sprovodi preko MIN-DACT (**M**icroarray **I**n **N**ode negative **D**isease may **A**void **C**hemo**T**herapy) prospektivne randomizovane studije koja poredi »potpis« ekspresije 70 gena s najčešćim kliničko-patološkim kriterijumima za selekciju LN- pacijenata za adjuvantnu hemoterapiju (46).

Oncotype DX™ (Genomic Health, USA) je klinički validovano, multigen određivanje kojim se omogućava kvantitativna procena verovatnoće povratka karcinoma dojke, kao i korist od izvesnih tipova hemoterapije. Oncotype DX™ test se zasniva na principu evaluacije ekspresije multiplih kandidat gena uz korišćenje kvantitativne RT-PCR. Inicijalno je izvršen »skrining« više od 200 kandidat gena sa namerom da se razvije test koji može da predviđi povratak karcinoma kod LN- pacijenata koji su ER+. Tkivo karcinoma dojke dobijeno od 447 LN- pacijenata koji su ER+ je upotrebljeno retrospektivno da bi se dobio algoritam uz primenu 16 gena koji treba da omogućuje razdvajanje pacijenata u subgrupe sa niskim, srednjim ili vrlo

visokim rizikom povratka karcinoma (9, 47). Onco-type DX™ test je pouzdan zato što ispunjava sve kriterijume navedene u *Tabeli 1* vezane za tehničke i analitičke probleme, kao i za dizajn studija.

Zaključak

Najbolje validovani markeri karcinoma dojke pripadaju tkivnim markerima i uključuju ER, PR, HER-2, uPA i PAI-1. Kod svih novodijagnostikovanih pacijenata s karcinomom dojke određivanje ER, PR i HER-2 je danas obavezno. Mada je merenje uPA i PAI-1 tehnički validovano, do danas nije klinički rasprostranjeno i to uglavnom zbog zahteva za minimalnom količinom svežeg ili sveže zamrznutog tkiva. Određivanje ovih proteina može da se iskoristi kao pomoć pri selekciji LN- pacijenata sa karcinomom dojke

ke kojima nije potrebna adjuvantna hemoterapija. Mada se dosta koristi u postoperativnom praćenju i praćenju terapije u podmaklom oboljenju, klinička vrednost CA 15-3 i drugih serumskih (cirkulišućih) markera nije još uvek validovana u studijama nivoa dokaza I.

Nedavna poboljšanja u razumevanju biologije karcinoma dojke i paralelno povećanje mogućih opcija tretmana treba da vode ka poboljšanju ishoda. Međutim, neophodno je da se ovo povećano razumevanje prenese u poboljšanje ishoda ovog veoma heterogenog oboljenja. Onkolozi još uvek imaju teškoće u odabiru specifičnih strategija tretmana prema molekularnim karakteristikama oboljenja svakog pacijenta ponaosob.

Zahvalnost. Rad je finansiran na osnovu Ugovora br. 145010B sa MNTR Srbije.

Literatura

- Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1999. *Int J Cancer* 1999; 80: 827–41.
- Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2003; 53: 4–25.
- Hewitt M, Breen N, Devesa S. Cancer prevalence and survivorship issues: analysis of the 1992 National Health Interview Survey. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1480–6.
- Peto R, Boreham J, Clarke M, Davies C, Beral V. UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20–69 years. *Lancet* 2000; 355:1822.
- Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised clinical trials. *Lancet* 1998; 352: 930–42.
- Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of randomized trials. *Lancet* 1998; 351: 1451–67.
- Emens LA, Davidson NE. The follow-up of breast cancer. *Semin Oncol* 2003; 30: 338–48.
- Bernard-Marty C, Cardoso F, Piccart MJ. Facts and controversies in systemic treatment of metastatic breast cancer. *Oncologist* 2004; 9: 617–32.
- Henry NL, Hayes DF. Uses and abuses of tumor markers in the diagnosis, monitoring, and treatment of primary and metastatic breast cancer. *Oncologist* 2006; 11: 541–52.
- Hayes DF, Bast R, Desch CE, Fritsche H, Kemeny NE, Jessup JM, et al. A tumor marker utility grading system (TMUGS): a framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1456–66.
- Hayes DF. Prognostic and predictive factors for breast cancer: translating technology to oncology. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1596–7.
- NACB Practice Guidelines And Recommendations For Use Of Tumor Markers In The Clinic, Breast Cancer (Section 3F) <http://www.aacc.org/AACC/members/nacb/LMPG/Accessed 1 March 2007>.
- Elledge RM, Green S, Pugh R, Allred DC, Clark GM, Hill J, et al. Estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PgR) by ligand-binding assay compared with ER, PgR and pS2 by immunohistochemistry in predicting response to tamoxifen in metastatic breast cancer: a southwest oncology group study. *Int J Cancer* 2000; 89: 111–7.
- Fisher ER, Anderson S, Dean S, Dabbs D, Fisher B, Siderits R, et al. Solving the dilemma of the immunohistochemical and other methods used for scoring estrogen receptor and progesterone receptor in patients with invasive breast cancer. *Cancer* 2005; 103: 164–173.
- Harvey JM, Clark GM, Allred C. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1474–81.
- Mohsin SK, Weiss H, Havighurst T, Clark GM, Barardo M, Roanh LD, et al. Progesterone receptors by immunohistochemistry and clinical outcome in breast cancer: a validation study. *Mod Pathol* 2004; 17: 1545–54.
- Leake R, Barnes D, Pinder S, Ellis I, Anderson L, Anderson T, et al. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *J Pathol* 2000; 53: 634–5.
- Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor A, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer: College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 966–78.
- Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R,

- Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118–45.
20. Bast RC, Ravdin P, Hayes DF, Bates S, Fritsche H, Jessup JM, et al. 2000 Update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1865–78.
21. NCCN Practice Guidelines in Oncology http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp_button=1+Agree. Accessed 14 June 2005.
22. Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2334–56.
23. Duffy MJ. Predictive markers in breast and other cancers. *Clin Chem* 2005; 51: 494–503.
24. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann, Senn H-J. Meeting highlights: updated international expert consensus panel on the primary therapy of early breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1–9.
25. Esteva FJ, Cheli CD, Fritsche H, Fornier M, Slamon D, Thiel RP, et al. Clinical utility of serum HER-2/neu in monitoring and prediction of progression-free survival in metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab-based therapies. *Breast Cancer Res* 2005; 7: R436–43.
26. Pauletti G, Dandekar S, Rong HM, Ramos L, Peng HJ, Seshadri R, et al. Assessment of methods for tissue-based detection of the HER-2/neu alteration in human breast cancer: A direct comparison of fluorescence in situ hybridisation and immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3651–64.
27. Press MF, Slamon DJ, Flom KJ, Park J, Zhou JY, Bernstein L. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3095–105.
28. Bartlett JMS, Going JJ, Mallon EA, Watters AD, Reeves JR, Stanton P, et al. Evaluating HER-2 amplification and overexpression in breast cancer. *J Pathol* 2001; 195: 422–8.
29. Birner P, Oberhuber G, Stani J, Reithofer C, Samonigg H, Hausmaninger H, et al. Evaluation of the United States Food and Drug Administration-approved scoring and test system of HER-2 expression in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1669–75.
30. Yaziji H, Goldstein LC, Barry TS, Werling R, Hwang H, Ellis GK, et al. HER-2 testing in breast cancer using parallel tissue-based methods. *JAMA* 2004; 291: 1972–77.
31. Look M P, van Putten WLJ, Duffy MJ, Harbeck N, Christensen U, Thomssen C, et al. Pooled analysis of prognostic impact of tumor biological factors uPA and PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 116–28.
32. Janicke F, Prechtel A, Thomssen C, Harbeck N, Meisner C, Sweep F, et al. For the German Chemo No Study Group. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 913–20.
33. Harbeck N, Kates RE, Schmitt M. Clinical relevance of invasion factors urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 for individualised therapy in primary breast cancer is greatest when used in combination. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1000–7.
34. Harbeck N, Kates RE, Look MP, Meijer-van Gelder M, Klijn JGM, Kruger A, et al. Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (N=3424). *Cancer Res* 2002; 62: 4617–22.
35. Sweep CGJ, Geurts-Moespot J, Grebenschikov N, De Witt JH, Heuvel J, Schmitt M, et al. External quality assessment of trans-European multicenter antigen determination (enzyme-linked immunosorbent assay) of urokinase plasminogen activator (uPA) and its type-1 inhibitor (PAI-1) in human breast cancer extracts. *Br J Cancer* 1998; 78: 1434–41.
36. Abraha RS, Thomssen C, Harbeck N, Mueller V, Baack K, Schmitt M, et al. Micromethod for determination of uPA and PAI-1 from preoperative core-needle biopsies in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 82 (Suppl 1): S144.
37. Schmitt M, Lienert S, Prechtel D, Sedlacek E, Welk A, Reuning U, et al. The urokinase protease system as a target for breast cancer prognosis and therapy: technical considerations. Schmitt M, Eickler A, Welk A, Schnellendorfer C, Harbeck N. Procedure for the quantitative determination of urokinase (uPA) and its inhibitor PAI-1 in human breast cancer tissue extracts by ELISA. In Brookes S, Harris A, eds, *Breast Cancer Protocols*, 2005.
38. Molina R, Barak V, van Dalen A, Duffy MJ, Einarsson R, Gion M, et al. Tumor markers in breast cancer: European Group of Tumor Markers (EGTM) recommendations. *Tumor Biol* 2005; 26: 281–93.
39. Pestalozzi BC, Luporsi-Gely E, Jost LM, Bergh J. ESMO minimum clinical recommendations for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up of primary breast cancer. *Ann Oncol* 2005; 16 (Suppl 1): i7–i9.
40. Kataja VV, Colleoni M, Bergh J. ESMO minimum clinical recommendations for diagnosis, and follow-up of locally recurrent or metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2005; 16: (Suppl 1): i10–i12.
41. Blamey RW. Guidelines on endocrine therapy of breast cancer, EUSOMA. *Eur J Cancer* 2002; 38: 615–34.
42. Burke W, Daly M, Garber J, Botkin J, Kahn MJ, Lynch P, et al. Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. II. BRCA1 and BRCA2 Cancer Genetics Studies Consortium. *JAMA* 1997; 277: 997–1003.
43. Lyman GH, Dale DC, Crawford J. Incidence and predictors of low dose-intensity in adjuvant breast cancer chemotherapy: a nationwide study of community practices. *J Clin Onc* 2003; 21: 4524–31.

44. Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530–6.
45. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskouil DW et al. A gene expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999–2009.
46. EORTC MINDACT Trial. www.eortc.be/services/unit/mindact. Accessed 1 March 2007.
47. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M et al. A multi-gene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 351: 2817–26.

Rad primljen: 15. 01. 2007.

Prihvaćen za štampu: 16. 03. 2007.