

Jeļena Maksimenko

PĀRMANTOTU *BRCA1* CILTSTĒVA
UN SOMATISKU *TP53* MUTĀCIJU
PROGNOSTISKĀ NOZĪME
TRĪSKĀRŠI NEGATĪVA KRŪTS VĒŽA
GADĪJUMĀ

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – ķirurģija

Rīga, 2014

Promocijas darbs izstrādāts: Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā,
Rīgas Stradiņa universitātes Ķirurģijas katedrā un Onkoloģijas institūtā

Darba zinātniskais vadītājs:

Dr. med., asociētais profesors **Genādijs Trofimovičs**,

Rīgas Stradiņa universitāte

Dr. biol., profesors **Edvīns Miklaševičs**,

Rīgas Stradiņa universitāte

Oficiālie recenzenti:

Dr. med., asociētā profesore **Gunta Purkalne**,

Rīgas Stradiņa universitāte

Dr. biol., **Jānis Kloviņš**, Latvijas Universitāte

Dr. med., docents **Jānis Eglītis**, Latvijas Universitāte

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2014. gada 8. aprīlī plkst. 15.00 Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājaslapā:
www.rsu.lv

Promocijas darbs veikts ar Eiropas Sociālā fonda projekta “Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” finansiālu atbalstu



Promocijas padomes sekretārs:

Dr. habil. med., profesors **Jānis Gardovskis**

SATURS

LIETOTIE SAISINĀJUMI	5
1. IEVADS	6
1.1. Darba mērķis	8
1.2. Darba uzdevumi	8
1.3. Darba hipotēze	8
1.4. Zinātniskā un praktiskā novitāte	9
1.5. Personīgais ieguldījums	9
1.6. Ētikas komitejas paziņojums	9
2. MATERIĀLS UN METODES	10
2.1. Pētījuma uzbūve	10
2.2. Audzēju patohistoloģiskā izmeklēšana	12
2.3. Imūnhistoķīmiskā izmeklēšana	13
2.4. Molekulārā diagnostika	14
2.4.1. Pārmantotas <i>BRCA1</i> gēna ciltstēva mutācijas	14
2.4.2. <i>TP53</i> gēna sporādisku mutāciju noteikšana	14
2.5. Datu iegūšana	15
2.6. Novērošanas periods	16
2.7. Iznākumi	16
2.8. Statistiskās metodes	16
3. REZULTĀTI	17
3.1. Sporādiska trīskārši negatīva, lumināla A, lumināla B HER2 negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais raksturojums un dzīvildzes rādītāji	17
3.1.1. Sporādiska trīskārši negatīva, lumināla A, lumināla B HER2 negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais raksturojums	17
3.1.2. Dzīvildzes rādītāji sporādiska trīskārši negatīva, lumināla A, lumināla B HER2 negatīva krūts vēža grupās	19
3.2. Trīskārši negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais raksturojums un dzīvildzes rezultātu aprēķini pacientēm ar un bez <i>BRCA1</i> mutācijām	21
3.2.1. Trīskārši negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais raksturojums pacientēm ar un bez <i>BRCA1</i> mutācijām	21
3.2.2. Dzīvildzes rezultātu aprēķini	23

3.3. <i>TP53</i> gēna sporādiskas mutācijas trīskārši negatīva krūts vēža gadījumā	26
3.3.1. <i>TP53</i> gēna sporādisku mutāciju spektrs trīskārši negatīva krūts vēža gadījumā pacientēm ar un bez pārmantotām gēna <i>BRCA1</i> mutācijām.....	26
3.3.2. Saistība starp <i>TP53</i> gēna sporādiskām mutācijām un klīniski patoloģiskām trīskārši negatīva krūts vēža īpašībām	28
3.3.3. <i>TP53</i> gēna sporādisku mutāciju ietekme uz trīskārši negatīva krūts vēža pacienšu dzīvildzes rādītājiem	31
4. DISKUSIJA.....	34
4.1. Sporādiska trīskārši negatīva lumināla A, lumināla B HER2 negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais un dzīvildzes raksturojums	34
4.2. Trīskārši negatīvs pārmantotu <i>BRCA1</i> ciltstēva mutāciju pozitīvs un negatīvs krūts vēzis.....	39
4.3. Sporādisku <i>TP53</i> mutāciju biežums un prognostiskā nozīme trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm ar un bez pārmantotām <i>BRCA1</i> mutācijām.....	44
5. SECINĀJUMI	48
6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS	49
7. PUBLIKĀCIJAS UN PREZENTĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU	50
8. IZMANTOTĀ LITERATŪRA	53

LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

DNS	– Dezoksiribonukleīnskābe
ER	– Estrogēna receptori
FFPE	– Formalīnā fiksēti parafīnā ieguldīti audi
CMF	– Ciklofosfamīds, metotreksāts, 5-fluoruracils
DRFS	– Dzīvildze bez distāla recidīva
HER2/neu	– Cilvēka epidermas augšanas faktora receptori
AIK	– Augstas izšķirtspējas kušanas analīzes metode
LRFS	– Dzīvildze bez lokāliem recidīviem
LRR	– Lokāli reģionālie recidīvi
RL-PĶR	– Reālā laika polimerāzes ķēdes reakcija
pPR	– Pilnīga patoloģiska remisija
PR	– Progesterona receptori

1. IEVADS

Trīskārši negatīvs krūts vēzis ir nevienmērīga klīniska patoloģija, kas definēta kā estrogēna (ER), progesterona (PR) un *HER2/neu* negatīva krūts vēža apakšgrupa [Bauer et al., 2007]. Trīskārši negatīvs krūts vēzis ir uzskatāms par bazāla krūts vēža imūnohistoķīmisku surogātu, tomēr jāatzīmē, ka abas grupas pilnībā nepārklājas [Rakha et al., 2009]. Trīskārši negatīvs krūts vēzi sastopams aptuveni 10–20% no visiem krūts vēža apakštipu gadījumiem [Bauer et al., 2007]. Tā kā trīskārši negatīvs krūts vēzis ir hormonu receptoru un *HER2/neu* negatīvs, patreiz nav pieejams tieši šī vēža apakštipa ārstēšanai piemērots līdzeklis, un standarta ķīmijterapija joprojām ir galvenais sistēmiskās terapijas līdzeklis. Lai gan šis vēža apakštips ir relatīvi jutīgs pret ķīmijterapiju, tam ir raksturīga klīniska agresivitāte, kā arī bieža recidīvu un nāves gadījumu sastopamība, īpaši pirmajos piecos gados pēc diagnozes noteikšanas [Carey et al., 2007]. Tādēļ trīskārši negatīvs krūts vēzis ir jāklasificē sīkāk, lai izstrādātu jaunus medikamentus ar mērķtiecīgu darbību, kas uzlabotu ar šo vēža apakštipu saistīto nelabvēlīgo prognozi. Agrāk veiktajos pētījumos ir novērota izteikta sakarība starp audzējiem, kas saistīti ar *BRCA1* mutāciju, un trīskārši negatīvu krūts vēzi, jo aptuveni 57–88% no visiem ar *BRCA1* saistītiem audzējiem ir trīskārši negatīvi un/vai bazālie krūts vēži [Foulkes et al., 2003; Reis-Filho et al., 2008]. Trīskārši negatīva krūts vēža apakštipa gadījumos pārmantotu *BRCA1/2* mutāciju izplatība/sastopamība ir relatīvi liela, un uz tām attiecas 10,6–19,5% gadījumu īpaši neatlasītu pacientu grupā [Gonzalez-Angulo et al., 2010; Evans et al., 2011]. Ar *BRCA1* mutāciju saistīti audzēji raksturojas ar DNS dubultspirāles pārrāvumu atjaunošanas mehānisma darbības traucējumiem, tādēļ tiek uzskatīts, ka tie ir jutīgi pret ķīmijterapijas shēmām uz platīna bāzes un poli-(ADF-ribozil)-polimerāzes inhibitoriem [Kennedy et al., 2004; Farmer et al., 2005]. Teorētiski šie preparāti var būt jaunas terapeitiskas izvēles iespēja arī trīskārši negatīva krūts vēža apakštipa ārstēšanai, un pašlaik

notiek vairāki klīniski pētījumi, lai saprastu DNS bojājumus izraisošo preparātu un *PARP* inhibitoru sniegto terapeitisko ieguvumu šī krūts vēža apakštipa gadījumā [Silver et al., 2010]. *BRCA1* mutāciju nozīme var būt kritiski svarīga, izvēloties ārstēšanas stratēģiju un veidojot nākamās klīniskos pētījumus.

Agrāk veiktajos pētījumos ir iegūti pretrunīgi un nepilnīgi rezultāti ar līdzīgiem vai sliktākiem slimības skarto *BRCA* mutācijas nesēju iznākumiem [Stoppa-Lyonnet et al., 2000; Robson et al., 2004; Brekelmans et al., 2006; Rennert et al., 2007; Lee et al., 2011; Bayraktar et al., 2011; Gonzalez-Angulo et al., 2011].

Vēl viens mērķtiecīgai terapijai piemērots preparāts varētu būt p53 vai p53 signālsistēmas sastāvdaļas [Turner et al., 2013]. Aptuveni 60–88% trīskārši negatīva/ bazāla vai ar *BRCA1* saistīta krūts vēža gadījumos ir konstatētas *TP53* mutācijas [Shah et al., 2012; Dumay et al., 2013]. Izmantojot krūts vēža peļu modeļus ir atklāts, ka audzējiem, kas nes *TP53* mutācijas, ir raksturīga agresīvāka klīniskā gaita [Lang et al., 2004]. Klīniskajos pētījumos ir iegūti pretrunīgi rezultāti par p53 proteīna pārmērīgas ekspresijas/ *TP53* somatisku mutāciju prognostisko nozīmi [Pharoah et al., 1999; Overgaard et al., 2000; Goffin et al., 2003; Olivier et al., 2006]. Lielākajā daļā šo pētījumu tika izmantota imunohistoķīmiska (IHC) p53 proteīna noteikšana, lai atklātu *TP53* gēna pārmaiņas, tomēr ar šīs metodes palīdzību nebija iespējams iegūt pietiekami precīzus rezultātus, un tai bija mazāka prognostiskā vērtība salīdzinājumā ar DNS sekvenēšanas metodi [Sjorgen et al., 1996, Norberg et al., 1998]. Saskaņā ar jaunākajiem papildinātajiem Amerikas Klīniskās onkoloģijas biedrības (American Society of Clinical Oncology) ieteikumiem par audzēju marķieru izmantošanu p53 noteikšana izmantošanai klīniskajā praksē pašlaik nav ieteicama [Harris et al., 2007]. Tādēļ ir nepieciešami papildu pētījumi par dažādu *BRCA1* un *TP53* mutāciju tipu specifisko prognostisko un predikatīvo potenciālu krūts vēža apakštipu gadījumos.

1.1. Darba mērķis

Izpētīt divu pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju (4153delA un 5382insC) un somatisku *TP53* mutāciju prognostisko nozīmi pacientēm ar trīskārši negatīvu krūts vēzi.

1.2. Darba uzdevumi

1. Izpētīt trīskārši negatīva *BRCA1* negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskās īpašības.
2. Izvērtēt lokāli reģionāla recidīva biežumu un operācijas veida ietekmi uz distālo bezrecidīva periodu un krūts vēža specifisku dzīvildzi sporādiska trīskārši negatīva krūts vēža grupā.
3. Izvērtēt pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju prognostisko nozīmi trīskārši negatīva krūts vēža grupā.
4. Identificēt distālā bezrecidīva perioda un krūts vēža specifiskas dzīvildzes prognostiskos faktoros.
5. Izpētīt *TP53* somatisku mutāciju spektru un to ietekmi uz prognozi trīskārši negatīva krūts vēža grupā.

1.3. Darba hipotēze

Pozitīvas pārmantotās *BRCA1* ciltstēva un *TP53* somatiskas mutācijas ļauj identificēt specifiskas trīskārši negatīva krūts vēža apakšgrupas ar atšķirīgām bioloģiskām un prognostiskām īpašībām.

1.4. Zinātniskā un praktiskā novitāte

Šis darbs parādīja, ka pozitīvs pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju statuss statistiski nozīmīgi uzlabo prognozi trīskārši negatīva krūts vēža gadījumā un var tikt pielietots kā neatkārtīgs prognostiskais faktors. Somatiskas *TP53* mutācijas var tikt pielietotas kā sliktākas bez distāla recidīva perioda prognostiskais faktors trīskārši negatīva krūts vēža grupā.

1.5. Personīgais ieguldījums

Autore personīgi piedalījies visās pētījuma stadijās, ieskaitot pētījuma dizaina izstrādāšanu, krūts vēža diagnostiku un ķirurģiju, pēcooperācijas pacienšu aprūpi, kā arī multidisciplinārās apspriedēs. Autore personīgi apkopojusi klīniskus un patoloģiskus datus, izmantojot arhīva materiālus un slimības vēstures, veikusi datu ikgadējo atjaunināšanu, ievadījusi datus elektroniskajās datubāzēs, veikusi somatisku *TP53* mutāciju noteikšanu, kā arī veikusi literatūras izpēti un datu statistisko apstrādi.

1.6. Ētikas komitejas paziņojums

Visas pētījumā iekļautas pacientes ir devušas rakstisku informētu piekrišanu ģenētiskai testēšanai. Pētījuma protokolu ir apstiprinājusi Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komiteja.

2. MATERIĀLS UN METODEDES

2.1. Pētījuma uzbūve

2934 krūts vēža pacientes (aptuveni 50% no Latvijā 2005.–2011. gadā diagnosticētiem krūts vēža gadījumiem) tika testētas uz *BRCA1/2* mutācijām no 2005. līdz 2011. gadam Rīgas Stradiņa universitātes Onkoloģijas institūtā. Pētījumā tika iekļautas tikai tās pacientes, kas atbilda visiem iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem.

Iekļaušanas kritēriji:

- 1) invazīvs krūts vēzis I–IV stadijā;
- 2) ER un PR, definēts kā ER/PR 0%; HER2 – 0; 1+; lumināls A tipa krūts vēzis, kas definēts kā ER/PR pozitīvs, *HER2* – 0;1+, Ki-67 < 14; lumināls B tipa *HER2* negatīvs krūts vēzis, definēts kā ER/PR pozitīvs, *HER2* – 0;1+, Ki-67 ≥ 14 [1,2];
- 3) 2005.–2011. gadā veikta operācija;
- 4) veikta pārbaude attiecībā uz *BRCA1/2* mutācijām;
- 5) ja ir iegūti pozitīvi rezultāti attiecībā uz pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju, tiek iekļautas tikai pacientes ar divām ciltstēva mutācijām (5382insC un 4153delA) (2.1. tabula).

2.1. tabula

Pētījumā iekļauto *BRCA1* ciltstēva mutāciju spektrs

<i>BRCA1</i> ciltstēva mutācijas	N = 39	(%)
5382ins C	29	74.4
4153delA	10	25.6

6) parakstīta informētas piekrišanas veidlapa par piedalīšanos pētījumā;

7) ir pieejami klīniskie dati.

Izslēgšanas kritēriji:

- 1) iekaisīgas krūts vēža formas;
- 2) anamnēzē olnīcu vēzis vai cita vēža forma vēlīnā stadijā;
- 3) pozitīvas *BRCA2* mutācijas.

Rezultātā pētījumā tika iekļautas 258 pacientes.

Pētījuma prospektīvā fāze.

Visas pacientes tika iedalītas četrās grupās atkarībā no *BRCA1* mutāciju statusa un krūts vēža imūnhistoķīmiskā apakštipa [*Goldhirsch et al., 2011*]:

- 78 pacientes ar trīskārši negatīvu sporādisku krūts vēzi, kuras tika operētas 2005.–2011. gadā Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā (2005.–2007. gadā) un Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā;

- 86 pacientes ar A tipa luminālu sporādisku krūts vēzi, kuras tika operētas 2005.–2011. gadā Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā;

- 56 pacientes ar B tipa luminālu *HER2* negatīvu (2.2. tabula) sporādisku krūts vēzi, kuras tika operētas 2005.–2011. gadā Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā;

- 38 pacientes ar trīskārši negatīvu itīvu krūts vēzi, kuras tika operētas 2005.–2011. gadā Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā, Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā un Daugavpils rajona slimnīcā.

ER, PR, HER2/neu un Ki-67 ekspresija 78 sporādiska trīskārši negatīva krūts vēža gadījumos, 86 sporādiska lumināla A krūts vēža gadījumos, 56 sporādiska lumināla B krūts vēža gadījumos un 38 trīskārši negatīva *BRCA1* mutāciju pozitīva krūts vēža gadījumos

Raksturojums	Sporādisks TNKV*	Sporādisks lumināls A	Sporādisks lumināls B HER2 negatīvs	<i>BRCA1</i> pozitīvs TNKV
ER				
Vidēji	0%	85,3%	83,1%	0%
PR				
Vidēji	0%	63,5%	53,9%	0%
HER2/neu				
0;1+	78 (100%)	86 (100%)	56 (100%)	39 (100%)
2+	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
3+	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (%)
Ki-67				
Vidēji	52,2%	6,9%	28,9%	58,4%

TNKV – trīskārši negatīvs krūts vēzis, ER – estrogēna receptori; PR – progesterona receptori, HER2/neu – cilvēka epidermas augšanas faktora receptori

Pētījuma retrospektīvā fāze.

Tika iekļautas 66 trīskārši negatīvas *BRCA1* mutāciju pozitīvas vai negatīvas krūts vēža pacientes, kuras tika operētas 2005.–2011. gadā Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā un Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā un kurām bija pieejami audu parafīna bloki.

2.2. Audzēju patohistoloģiskā izmeklēšana

Pētījuma prospektīvā fāze.

Tika iegūti 285 krūts vēža audu paraugi no sievietēm, kurām 2005.–2011. gadā Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā un Daugavpils rajona slimnīcā un 2005.–2007. gadā Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā tika operēts invazīvs krūts vēzis. Audu paraugi tika fiksēti 10% neitrālā buferētā formalīnā un ieguldīti parafīna blokos. Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā un Daugavpils rajona slimnīcā iegūtie patoloģiskie audu paraugi tika prospektīvi analizēti. Patologs, kurš specializējies krūts slimību diagnostikā, analizēja audzēju histoloģiskos parametrus. Audzēji tika klasificēti atbilstoši Pasaules Veselības organizācijas (PVO) krūts audzēju klasifikācijai. Duktālu audzēju diferenciacijas pakāpe tika noteikta, pamatojoties uz Blūma-Ričardsona klasifikācijas sistēmu.

Pētījuma retrospektīvā fāze.

Parafīnā ieslēgtie paraugi tika retrospektīvi iegūti no Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas un Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Patoloģijas institūta.

2.2. Imūnhistoķīmiskā izmeklēšana

ER un PR statuss, kā arī Ki-67 indekss tika noteikts ar imūnhistoķīmisko (IHC) metodi. ER, PR un proliferācijas marķieris Ki-67 tika analizēts audzēja šūnu kodolos. ER un PR analīzes tika veiktas saskaņā ar Amerikas Klīniskās onkoloģijas biedrības (*American Society of Clinical Oncology*)/Amerikas Patologu kolēģijas (*College of American Pathologists*) jeb (ASCO/CAP) norādījumiem par imūnhistoķīmiskajām ER/PR analīzēm. ER un PR statuss tika uzskatīts par negatīvu, ja audzēja šūnu kodolos imūnperoksidāzes krāsojuma intensitāte bija 0% [Hammond et al., 2010]. Ki-67

indekss zem 14%, tika uzskatīts par zemu, bet Ki-67 indekss, kas bija vismaz 14%, tika uzskatīts par augstu [Goldhirsch et al., 2011].

HER2/neu tika noteikts, izmantojot *IHC* (peļu monoklonālo cilvēka *HER2-pY-1248* antigēna klonu PN2A, koda Nr. M 7269). *HER2/neu* ekspresija tika vērtēta, saskaņā ar ražotāja norādījumiem izmantojot komplektu *HercepTest*. *IHC* vērtējumpunkti (no 0 līdz 3+ pēc kvalitatīvās skalas) tika piešķirti, pamatojoties uz krāsojuma intensitātes interpretācijas rezultātiem (0 punktu tika piešķirti, ja krāsojuma nebija vai ja audzēja šūnu krāsojuma intensitāte bija mazāka par 10%, un 1+ punkti tika piešķirti, ja vairāk nekā 10% audzēja šūnu membrānu bija daļēji iekrāsoti), un 3+ vērtējumpunkti tika uzskatīti par pozitīvu rezultātu (3+ vērtējumpunkti bija definēti kā vienādi intensīvs membrānu krāsojums > 30% invazīvo audzēja šūnu).

HER2/neu *IHC* (2+) rezultāti (vidēji pilnīgs membrānu krāsojums, kas novērots vairāk nekā 10% audzēja šūnu), tika apstiprināti ar fluorescences in situ hibridizācijas (*FISH*) metodi. Visas *IHC* un *FISH* analīzes tika veiktas Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā un / vai Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā.

2.4. Molekulārā diagnostika

2.4.1. Pārmantotas *BRCA1* gēna ciltstēva mutācijas

BRCA1/2 testēšanas rezultāti tika iegūti no Paula Stradiņa universitātes datubāzes.

230 pacientēm (89,1%) pārmantotās *BRCA1* ciltstēva mutācijas tika noteiktas ar operāciju saistītas stacionēšanas laikā, 23 pacientēm (8,9%) – pirms operācijas, bet 5 pacientēm (2%) – viena gada laikā pēc operācijas.

2.4.2. *TP53* gēna sporādisku mutāciju noteikšana

Genoma DNS tika izdalīta no audu parafīna blokiem, saskaņā ar ražotāja norādījumiem izmantojot QIAamp DNA FFPE Tissue Kit un deparafinējošu šķīdumu.

TP53 somatiskas mutācijas tika noteiktas *TP53* gēna 5.–8. eksonā, izmantojot reālā laika polimerāzes ķēdes reakcijas (RL-PKĀR) metodi, ar sekojošu augstas izšķirtspējas kušanas analīzes (AKI) metodi. Reakcijai tika izmantots *Rotor Gene 6000™* (Qiagen, Vācija) amplifikators. Pētījumā tika izmantota *Krypuy et al.* aprakstītā metode [*Krypuy et al.*, 2007]. AKI līknes analīzei tika izmantota programmatūra *Rotor Gene Q Series 1.7*. Ar RL-PKĀR/AKI palīdzību atklātās mutācijas tika apstiprinātas, izmantojot DNA sekvenēšanas metodi. Sekvenēšanas reakcijas tika veiktas, izmantojot *Genetic Analyzer 3130* (*Applied Biosystems*) un ievērojot ražotāja instrukcijas.

Dati tika analizēti, izmantojot *Applied Biosystems* programmatūru DNS secības noteikšanai, *SeqScape* un *NCBI BLAST*. Rezultātu interpretēšanai tika izmantotas vairākas datubāzes – SNP – NCBI (Nacionālais Biotehnoloģijas informāciju centrs jeb *National Center for Biotechnology Information*), IARC *TP53* (starptautiskā vēža pētījumu aģentūra jeb *International Agency of Research on Cancer*) un *COSMIC* (vēža somatisku mutāciju katalogs jeb *Catalogue of Somatic Mutations in Cancer*).

2.5. Datu iegūšana

Klīniskie dati tika iegūti no pacienšu stacionārām un ambulatorām kartēm un ievadīti elektroniskā datubāzē. Dati tika fiksēti diagnozes noteikšanas laikā un katru gadu atjaunināti. Dati par dzīvildzi tika papildināti ar datiem no Latvijas Vēža reģistra – prospektīvas Slimību profilakses un kontroles centra datubāzes.

2.6. Novērošanas periods

Vidējais novērošanas laiks trīskārši negatīva *BRCA1* mutāciju negatīva krūts vēža grupā sastādīja 36 (8–85 mēneši) mēnešus, trīskārši negatīva *BRCA1* mutāciju pozitīva krūts vēža grupā vidējais novērošanas laiks sastādīja 41 (8–86 mēneši) mēnešus, lumināla A *BRCA1* mutāciju negatīva krūts vēža grupā vidējais novērošanas laiks sastādīja. 45 (24–96 mēneši) mēnešus un lumināla B *BRCA1* mutāciju negatīva krūts vēža grupā sastādīja 43 (29–73 mēneši) mēnešus.

2.7. Iznākumi

Klīniskie dati tika analizēti 258 pacientēm. Lokāli reģionālie recidīvi (LRR) tika definēti kā klīniski un histoloģiski dokumentēti recidīvi tajā pašā krūts pusē, krūškurvja sienā vai reģionālajos limfmezglos. Dzīvildze bez lokāliem recidīviem tika definēta kā laiks kopš diagnozes noteikšanas līdz brīdim, kad iegūti klīniski un histoloģiski dokumentēti pierādījumi par lokālu recidīvu. Distāls recidīvs tika definēts kā klīniski un radioloģiski pierādīts distāls recidīvs. Dzīvildze bez distāla recidīva tika definēta kā laiks kopš diagnozes noteikšanas līdz brīdim, kad iegūti pirmie distāla recidīva pierādījumi. Krūts vēža specifiska dzīvildze tika aprēķināta kā laiks kopš diagnozes noteikšanas līdz nāvei krūts vēža dēļ.

2.8. Statistiskās metodes

Statistiskā analīze tika veikta ar statistikas programmatūras *SPSS 16.0* versijas palīdzību. Izmantotās statistiskās metodes: Hī kvadrātu metode, Fišera eksaktais tests, Spīrmena rangu korelācijas koeficients un vienfaktora dispersiju analīze (*ANOVA*), Koksas (*Cox*) proporcionālo risku modeļi. Krūts vēža specifiska un bez distālu recidīvu dzīvildze tika aprēķināta, izmantojot Kaplāna-Meijera analīzi. P vērtība $\leq 0,05$ tika uzskatīta par statistiski nozīmīgu.

3. REZULTĀTI

3.1. Sporādiska trīskārši negatīva, lumināla A, lumināla B HER2 negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais raksturojums un dzīvildzes rādītāji

3.1.1. Sporādiska trīskārši negatīva, lumināla A, lumināla B HER2 negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais raksturojums

Vidējais pacienšu vecums trīskārši negatīva krūts vēža grupā bija 54,3 gadi, lumināla A krūts vēža grupā bija 60,1 gadi un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža grupā bija 57,2 gadi. Pacientes trīskārši negatīva krūts vēža grupā bija statistiski nozīmīgi jaunākas nekā lumināla A grupā ($P < 0,004$).

Lielākā daļa no trīskārši negatīviem, lumināla A un lumināla B HER2 negatīviem krūts vēžiem tika klasificēti kā duktālas karcinomas. Trīskārši negatīvā krūts vēža grupā biežāk bija sastopams medulārs krūts vēzis. Trīskārši negatīva krūts vēža grupai biežāk bija sastopams III pakāpes audzējs, salīdzinot ar lumināla A un B HER2 negatīva krūts vēža grupām. Trīskārši negatīvā krūts vēža grupā bija statistiski nozīmīgi augstāka Ki-67 ekspresija (52,2%), salīdzinot ar lumināla A (6,9%) un lumināla B HER2 negatīva (28,9%) krūts vēža grupām ($P < 0,0001$).

Trīskārši negatīvā krūts vēža grupā vidējais audzēja lielums bija statistiski nozīmīgi lielāks nekā lumināla A krūts vēža grupā (attiecīgi 32,9 mm un 23,8 mm; $P < 0,002$). Statistiski nozīmīgi lielākai pacienšu daļai ar lumināla A krūts vēzi bija T1 un T2 stadija, salīdzinot ar trīskārši negatīviem un lumināla B HER2 negatīviem krūts vēža gadījumiem. Pacientēm ar luminālu A krūts vēzi negatīvi limfmezgli tika diagnosticēti statistiski ticami biežāk nekā pacientēm ar trīskārši negatīvu un luminālu B HER2 negatīvu krūts vēzi. Lumināls A krūts vēzis biežāk tika diagnosticēts I stadijā, salīdzinot ar trīskārši

negatīvu un luminālu B HER2 negatīvu krūts vēzi. Lielāka pacienšu proporcija ar trīskārši negatīvu un luminālu B HER2 negatīvu krūts vēzi tika diagnosticēta III stadijā, salīdzinot ar luminālu A krūts vēzi.

Nozīmīgi pozitīva attiecība tika konstatēta starp audzēja izmēru un pozitīvu limfmezglu statusu pie lumināla A un B HER2 negatīva krūts vēža. Kontrastā tam, trīskārši negatīva krūts vēža grupā nebija saistības starp audzēja izmēru un pozitīvu limfmezglu statusu ($P = 0,17$) starp pacientēm ar audzēja izmēru < 5 cm, salīdzinot ar lumināla A un B HER2 negatīvajiem gadījumiem (attiecīgi $P < 0,002$ un $P < 0,026$).

Netika novērota statistiski nozīmīga atšķirība veikto operāciju veidā starp krūts vēža apakštipiem ($P = 0,15$).

Statistiski nozīmīgi lielākai pacienšu daļai lumināla A krūts vēža grupā tika veikta sargmezgla biopsija, salīdzinot ar pacientēm lumināla B HER2 negatīva un trīskārši negatīva krūts vēža grupās ($P < 0,02$).

Statistiski nozīmīgi lielāka pacienšu daļa trīskārši negatīva krūts vēža grupā saņēma ķīmijterapiju, salīdzinot ar lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža gadījumiem. Krūts vēža apakštipu visos gadījumos visbiežāk lietotie ķīmijterapijas režīmi bija antraciklīna bāzes, antraciklīna+taksāna- bāzes un CMF. Nozīmīgi lielāka pacienšu daļa trīskārši negatīvajā grupā saņēma neoadjuvanto ķīmijterapiju, salīdzinot ar luminālu A un luminālu B HER2 negatīvo grupu.

63 (80,8%) pacientes trīskārši negatīva krūts vēža grupā, 51 (59,3%) paciente lumināla A grupā un 39 (69,6%) pacientes lumināla B HER2 negatīva krūts vēža grupā saņēma adjuvantu radioterapiju ($P < 0,03$).

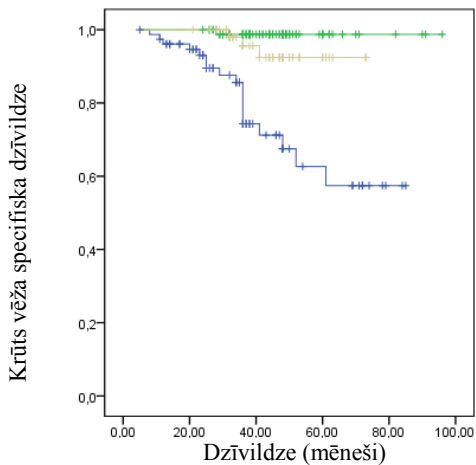
3.1.2. Dzīvildzes rādītāji sporādiska trīskārši negatīva, lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža grupās

Nebija statistiski nozīmīgas atšķirības lokāli- reģionāla recidīva (LRR) rādītājos starp trīskārši negatīvo, lumināla A un lumināla B HER2 negatīvajām grupām (3 (3,9%) pret 2 (2,3%), pret 0 (0%); $P = 0,34$). Dzīvildze bez lokāla recidīva bija 5,7 mēneši (4–8 mēneši) trīskārši negatīva krūts vēža grupā un 27,5 mēneši (29 un 26 mēneši) lumināla A vēža grupā.

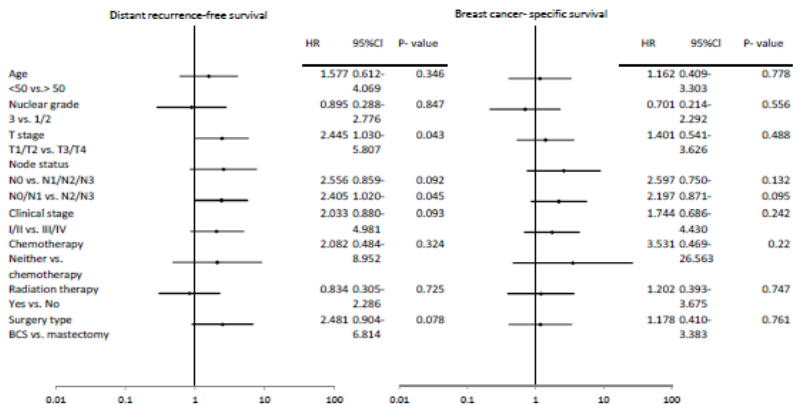
Trīskārši negatīva krūts vēža pacientu grupa biežās piedzīvoja distālu recidīvu, salīdzinot ar lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža pacientēm ($P < 0,0001$). Dzīvildze bez distāla recidīva bija 32,2 mēneši (6–85 mēneši) trīskārši negatīvā vēža grupā, 45 mēneši (11–96 mēneši) lumināla A grupā un 42 mēneši (7–73 mēneši) lumināla B HER2 negatīvajā grupā. Nebija statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām distālā recidīva lokalizācijas sastopamības rādītājos.

Trīskārši negatīva krūts vēža pacientu mirstība no krūts vēža bija sastopama biežāk, salīdzinot ar lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža pacientēm (18 (23,1%) pret 1 (1,2%) un 3 (5,4%); $P < 0,02$). Lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža pacientēm bija statistiski nozīmīgi labvēlīgāka krūts vēža specifiska dzīvildze nekā pacientēm trīskārši negatīva krūts vēža grupā (98,8% lumināla A grupā, 94,6% lumināla B HER2 negatīva grupā un 76,9% trīskārši negatīva grupā; $P < 0,0001$) (3.1.2.1. attēls).

Vienfaktoru analīzes Koksas proporcionālā riska modelī T3 un T4stadija (HR = 2,445; 95% CI: 1,030–5,807; $P < 0,043$) un pozitīvs limfmezglu statuss (HR = 2,405; 95% CI: 1,020–5,670; $P < 0,045$) tika asociēts ar augstāku distālā recidīva risku (3.1.2.2. attēls).

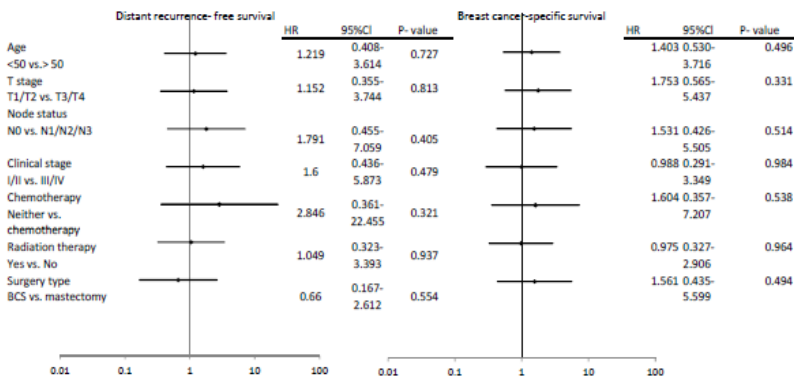


3.1.2.1. attēls. Dzīvildzes līknes sporādiska trīskārši negatīva krūts vēža (zilā līnija), lumināla A krūts vēža (zaļā līnija) un lumināla B HER2 negatīva (dzeltenā līnija) krūts vēža gadījumos ($P < 0,0001$)



**3.1.2.2. attēls. Vienfaktoru Koksas proporcionālā riska modelis
HR – riska attiecība, CI – ticamības intervāls, BCT – krūti saudzējoša operācija**

Daudzfaktoru analīzes Koksja proporcionālā riska modelī netika atrasta statistiski nozīmīga riska faktoru ietekme uz dzīvildzi bez distāla recidīva un uz krūts vēža specifisku dzīvildzi, kas saistīta ar krūts vēzi (3.1.2.3. attēls).



3

3.1.2.3. attēls. Daudzfaktoru Koksja proporcionālā riska modelis
HR – riska attiecība, CI – ticamības intervāls, BCT – krūti saudzējoša operācija

3.2. Trīskārši negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais raksturojums un dzīvildzes rezultātu aprēķini pacientēm ar un bez *BRCA1* mutācijām

3.2.1. Trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm ar un bez *BRCA1* mutācijas klīniski patoloģiskais raksturojums

Vidējais pacienšu vecums trīskārši negatīva krūts vēža *BRCA1* mutāciju nesātāju grupā bija 48,8 gadi, salīdzinot ar 54,3 gadiem trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm bez *BRCA1* mutācijas ($P < 0,034$).

Visbiežākais histoloģiskais tips abās grupās bija invazīva duktdāla karcinoma, taču pacientēm bez *BRCA1* mutācijas biežāk tika diagnosticēta invazīva lobulāra karcinoma. Lielākajai daļai trīskārši negatīvu krūts vēžu

pacienšu ar vai bez *BRCA1* mutācijas bija zemu diferencēti audzēji. Starp pacientēm ar un bez *BRCA1* mutācijas trīskārši negatīva krūts vēža grupā nebija statistiski nozīmīgas atšķirības Ki-67 ekspresijā (59,8% pret 52,2%; $P = 0,271$).

Audzēja izmērs trīskārši negatīvā *BRCA1* pozitīvas mutācijas grupā bija 36,2 mm un 32,9 mm *BRCA1* negatīvas mutācijas grupā ($P = 0,467$). Starp abām grupām nebija nozīmīgas atšķirības attiecībā uz T stadiju un slimības stadiju. Augstāka pacienšu proporcija ar negatīviem limfmezgliem bija trīskārši negatīva *BRCA1* mutācijas nēsātāju grupā, salīdzinot ar grupu bez mutācijas ($P < 0,004$).

Pacientēm ar audzējiem < 5 cm lielumā nebija statistiski nozīmīgas korelācijas starp audzēja izmēru un pozitīviem limfmezgliem ne trīskārši negatīvā *BRCA1* pozitīvajā ($P = 0,079$), ne *BRCA1* negatīvajā grupā ($P = 0,17$).

32 (84,2%) trīskārši negatīvām *BRCA1* mutāciju nēsātājām tika veiktas mastektomijas salīdzinot ar 42 (53,9%) pacientēm bez *BRCA1* mutācijas ($P < 0,001$).

Starp trīskārši negatīvām pacientēm ar un bez *BRCA1* mutācijā nebija atšķirības veiktajā limfadenektomijā ($P = 0,80$) un sargmezgla biopsijā ($P = 0,94$).

Starp abām grupām nebija statistiski nozīmīgas atšķirības to pacienšu daļā, kuras saņēma ķīmijterapiju, ka arī saņemtās ķīmijterapijas režīma tipā. Trīskārši negatīva krūts vēža pacientes ar un bez *BRCA1* mutācijas saņēma antracilīnu- saturošu, antracilīnu+ taksānu- saturošu, CMF, platīnu- saturošu ķīmijterapijas režīmus. 9 (23,7%) pacientes trīskārši negatīvā *BRCA1*- pozitīvā grupā saņēma neoadjuvantu ķīmijterapiju, salīdzinot ar 22 (28,2%) pacientēm trīskārši negatīvā *BRCA1*- negatīvā grupā ($P = 0,62$). Trīskārši negatīvas *BRCA1* mutāciju negatīvas pacientes biežāk saņēma staru terapiju, salīdzinājumā ar *BRCA1* mutāciju nēsātājām (61 (78,2%) pret 22 (57,9%); $P < 0,027$). 3 (3,9%) pacientes trīskārši negatīva *BRCA1* nēsātāju grupā un 2 (5,3%) pacientes *BRCA1* negatīvā grupā tika pakļautas abpusējai salpingoovar-

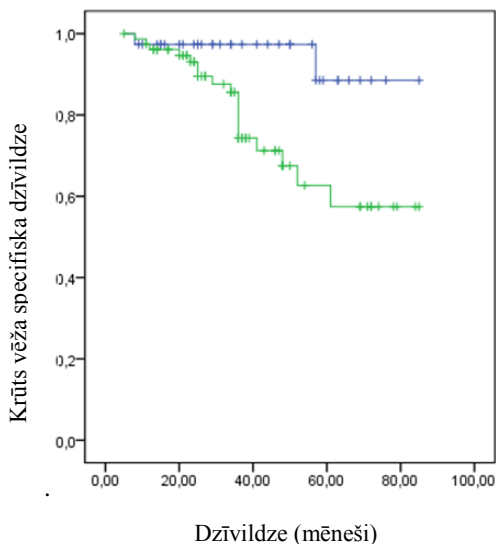
ektomijai līdz 50 gadu vecumam. Profilaktiska mastektomija tika veikta 3 (7,7%) *BRCA1* mutāciju nēsātājam. Pacientēm ar pozitīvām *BRCA1* mutācijām biežāk tika novērots abpusējs krūts vēzis nekā pacientēm bez *BRCA1* mutācijām (6 (15,8% pret 2 (2,62%); $P < 0,016$).

3.2.2. Dzīvildzes rezultātu aprēķini

Nozīmīgas LRR skaita atšķirības starp pacientēm ar un bez *BRCA1* mutācijas netika novērotas (3 pacientes (3,9%) salīdzinājumā ar 1 pacienti (2,6%), $P=0,80$).

Pacientēm bez *BRCA1* mutācijas salīdzinājumā ar pacientēm ar *BRCA1* mutāciju biežāk tika novēroti attālie recidīvi (22 pacientes (28,2%) salīdzinājumā ar 4 pacientēm (10,5%); $P < 0,03$). Starp abām grupām netika novērota statistiski nozīmīga atšķirība attālo recidīvu sastopamības biežuma ziņā.

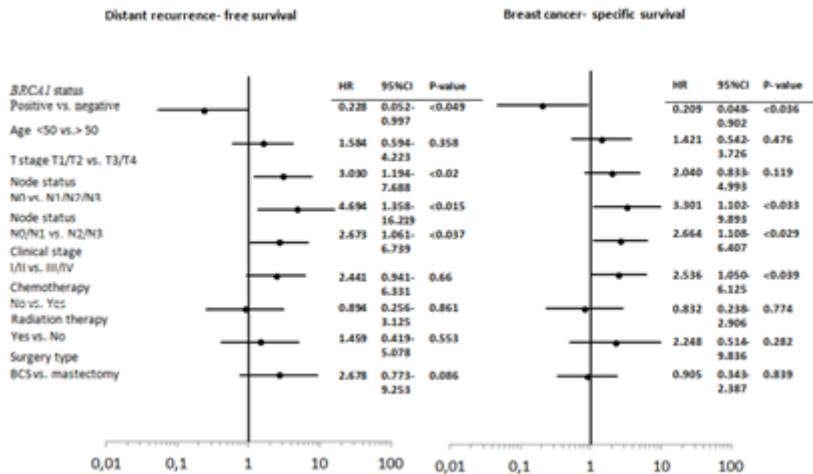
18 (23,1%) pacientes bez *BRCA1* mutācijas nomira no krūts vēža salīdzinot ar 2 (5,3%) pacientēm ar *BRCA1* mutāciju ($P < 0,014$). Pacientēm ar *BRCA1* mutāciju tika novērota statistiski nozīmīgi labvēlīgāka krūts vēža specifiska dzīvildze nekā pacientēm bez *BRCA1* mutācijas (pacientēm ar *BRCA1* mutāciju 94,9% un pacientēm bez *BRCA1* mutācijas 76,9%; $P < 0,02$) (3.2.2.1. attēls). Bilaterāla krūts vēža attīstība būtiski neietekmēja dzīvildzes rādītājus ($HR = 0,040$; 95% CI: 0,001–4,804; $P = 0,59$).



3.2.2.1.attēls. Krūts vēža specifiskas dzīvildzes līknes pacientēm ar (zilā līkne) un bez (zaļā līkne) *BRCA1* mutācijas. $P < 0,02$

Vienfaktora analīzē T3 un T4 stadija (HR = 3,030; 95% CI: 1,194–7,688; $P < 0,02$), kā arī pozitīvs limfmezglu statuss (HR = 4 ,694; 95% CI: 1,358–16,219; $P < 0,015$) tika saistīti ar paaugstinātu distālu recidīvu risku, bet *BRCA1* mutācijas (HR = 0,228; 95% CI: 0,052–0,997; $P < 0,049$) tika saistītas ar zemāku attāla recidīva risku (3.2.2.2. attēls).

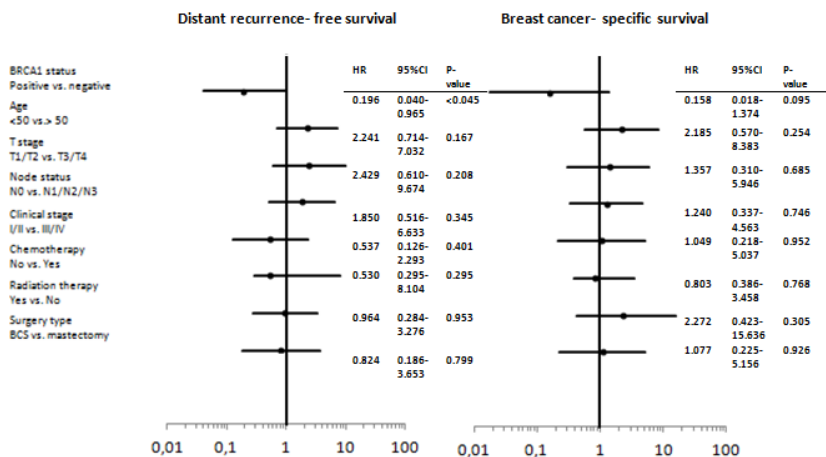
Vairāku faktoru analīzē pēc Koksas proporcionālā riska modeļa *BRCA1* mutācijas bija neatkarīgs labvēlīgs faktors attiecībā uz dzīvildzi bez distāla recidīva pazīmēm (HR=3,301; 95% CI: 1,102–9,893; $P < 0,033$).



HR – riska attiecība, **CI** – ticamības intervāls, **BCT** – krūts saglabāšanas operācija

Vienfaktoru analīzē III un IV slimības stadija (HR = 2,536; 95% CI: 1,050–6,125; P < 0,039), kā arī pozitīvs limfmezglu statuss (HR = 3,301; 95% CI: 1,102–9,893; P<0,033) tika saistīts ar paaugstinātu nāves risku no krūts vēža, bet *BRCA1* mutācijas (HR = 0,209; 95% CI: 0,048–0,902; P < 0,036) tika saistītas ar zemāku krūts vēža izraisītas nāves risku (3.2.2.3. attēls).

Daudzfaktoru analīzē pēc Koksas proporcionālā riska modeļa netika konstatēta statistiski nozīmīga riska faktoru ietekme uz krūts vēža specifisku dzīvildzi.



3.2.2.3. attēls. Daudzfaktoru Koksas proporcionālā riska modelis

HR – riska attiecība, CI – ticamības intervāls, BCT – krūts saglabāšanas operācija

3.3. *TP53* gēna sporādiskas mutācijas trīskārši negatīva krūts vēža gadījumā

3.3.1. *TP53* gēna sporādisku mutāciju spektrs trīskārši negatīva krūts vēža gadījumā pacientēm ar un bez pārmantotām *BRCA1* mutācijām

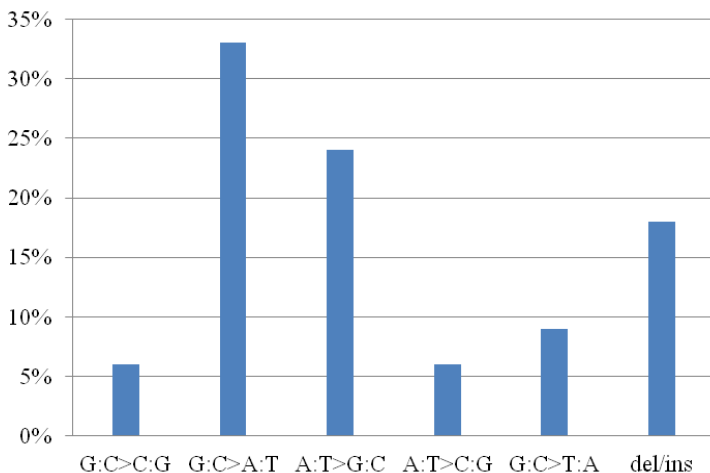
66 trīskārši negatīva krūts vēža gadījumi tika izmeklēti uz sporādiskām mutācijām *TP53* gēna 5.–8. eksonā izmantojot RL-PKĶR/AIK metodi ar sekojošu DNS sekvenēšanu RL-PKĶR/AIK pozitīvos paraugos. *TP53* sporādiskas mutācijas tika konstatētas 26 (39,4%) audzējos. Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība *TP53* mutāciju biežumā starp trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm ar un bez *BRCA1* mutāciju (22 pacientes (40%) salīdzinājumā ar 4 (36,4%) pacientēm; $P = 0,84$).

Kopumā 26 audzēju gadījumos tika konstatētas 33 *TP53* mutācijas (27 (81,8%) punktveida mutācijas, 5 (15,2%) delēcijas un 1 (3%) insercijas

gadījums). Trīskārši negatīvos krūts audzējos tika konstatēts liels G:C > A:T (33,3%) un A:T > C:G (24,2%) mutāciju skaits. *TP53* mutāciju veidi ir redzami 3.3.1.1. attēlā. Netika novērotas *TP53* mutāciju veida statistiski nozīmīgas atšķirības starp trīskārši-negatīvām *BRCA1* pozitīvām un negatīvām grupām ($P = 0,29$).

Trīskārši negatīvu *BRCA1* nēsātāju grupā tika konstatētas 4 (66,7%) tranzīcijas, salīdzinot ar 15 (55,6%) tranzīcijām sporādiska grupā ($P = 0,66$). 1 (16,7%) transversija tika konstatēta trīskārši negatīva *BRCA1* nēsātāju grupā, salīdzinot ar 6 (22,2%) transversijām sporādiska grupā ($P = 0,83$). Trīskārši negatīva *BRCA1* nēsātāju grupā netika konstatētas insercijas / delēcijas gadījumi, salīdzinot ar 6 (22,2%) gadījumiem *BRCA1* negatīvā grupā ($P = 0,27$).

Vienai pacientei bez pārmantotas trīskārši negatīvas *BRCA1* mutācijas tika konstatētas 3 dažādas *TP53* sporādiskas mutācijas 5., 6. un 7. eksonā (1 delēcija, 1 tranzīcija, 1 transversija). Trīskārši negatīvā *BRCA1* mutāciju nēsātāju grupā tika konstatētas 5 (83,3%) *TP53* proteīna funkciju ietekmējošās missense mutācijas, salīdzinot ar 11 (68,8%) proteīna funkciju ietekmējošām missense mutācijām *BRCA1* mutāciju negatīvā grupā ($P = 0,08$). 15 (45%) *TP53* mutācijas tika konstatētas 8. eksonā, salīdzinot ar 7 (21,2%) mutācijām 7. eksonā, 5 (15%) mutācijām 6. eksonā un 6 (18,2%) mutācijām 5. eksonā ($P < 0,0017$). Trīskārši negatīva *BRCA1* nēsātāju grupā 6 (100%) *TP53* mutācijas tika konstatētas 7. un 8. eksonā salīdzinot ar 16 (48,5%) *TP53* mutācijām *BRCA1* negatīvā grupā ($P = 0,067$). Tika konstatētas trīs jaunas *TP53* sporādiskas mutācijas (c.510insTAG un c.446delC 5. eksonā un c.864delT 8. eksonā), kuras nav minētas Cosmic un IARC *TP53* datubāzēs.



3.3.1.1. attēls. *TP53* sporādiskas mutācijas trīskārši negatīva *BRCA1* mutāciju pozitīva un negatīva grupā
 Ins / del – insercija / delēcija

3.3.2. Saistība starp *TP53* sporādiskām mutācijām un klīniski patoloģiskām trīskārši negatīva krūts vēža īpašībām

Vidējais pacienšu vecums trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā bija 53,3 gadi salīdzinot ar vidējo vecumu 52,8 gadi pacientēm trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā ($P = 0,88$). Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība attiecībā uz audzēja izmēru starp pacientēm trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un negatīva vēža grupā (30,9 mm salīdzinot ar 33,6 mm; $P = 0,28$). Netika konstatēta statistiski nozīmīgas ductālas karcinomas (18 (6%) gadījumi, salīdzinot ar 32 (80%) gadījumiem; $P = 0,08$) un lobulāras karcinomas (3 (11,5%) gadījumi, salīdzinot ar 6 (5%) gadījumiem; $P = 0,72$) skaita atšķirības trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un negatīva vēža grupā. Statistiski nenozīmīgi lielākam pacienšu skaitam trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā tika

konstatēta medulāra karcinoma, salīdzinot ar pacienšu skaitu, *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā (3 (11,5%) gadījumi, salīdzinot ar 1 (2,5%) gadījumu; $P = 0,19$). 5 pacientēm (12,5%) trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā tika konstatēts vidēji diferencēts audzējs un 27 pacientēm (67,5%) tika konstatēts zemu diferencēts audzējs, salīdzinot ar 2 (7,7%) pacientēm ar vidēji diferencētiem audzējiem un 17 (64,4%) pacientēm ar zemu diferencētiem audzējiem trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā ($P = 0,60$). Augstāka Ki-67 ekspresija tika novērota trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā, salīdzinot ar trīskārši negatīvu *TP53* mutāciju negatīvu vēža grupu, bet šī atšķirība nebija statistiski nozīmīga (62,4% salīdzinot ar 54,7%; $P = 0,32$). Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība attiecībā uz T stadiju, limfmezglu statusu un slimības stadiju pacientēm starp trīskārši negatīvu *TP53* mutāciju pozitīvu un negatīvu grupu (Tabula 3.3.2.1.).

3.3.2.1. tabula

Trīskārši negatīva krūts vēža histopatoloģiskais raksturojums trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un negatīva vēža grupā

Raksturojums	Trīskārši negatīvs <i>TP53</i> mutāciju pozitīvs vēzis n = 26 Pacienšu skaits (%)	Trīskārši negatīvs <i>TP53</i> mutāciju negatīvs vēzis n = 40 Pacienšu skaits (%)	P-vērtība*
3			
T1	6 (23,1%)	9 (22,5%)	0,95
T2	13 (50,0%)	23 (57,5%)	0,56
T3	6 (23,1%)	6 (15,0%)	0,43
T4	1 (3,8%)	2 (5,0%)	0,88
Lifmezglu statuss			
N0	13 (50,0%)	18 (45,0%)	0,73

3.3.2.1. tabulas nobeigums

Raksturojums	Trīskārši negatīvs <i>TP53</i> mutāciju pozitīvs vēzis n = 26 Pacienšu skaits (%)	Trīskārši- negatīvs <i>TP53</i> mutāciju negatīvs vēzis n = 40 Pacienšu skaits (%)	P-vērtība*
N1	6 (23,1%)	9 (22,5%)	0,95
N2	2 (7,7%)	11 (27,5%)	0,052
N3	5 (19,2%)	2 (5,0%)	0,09
Slimības stadija			
I	6 (23,1%)	5 (12,5%)	0,29
II	12 (46,1%)	21 (52,5%)	0,63
III	8 (13,8%)	13 (32,5%)	0,89
IV	0 (0,0%)	1 (2,5%)	0,87

* Hī-kvadrāta analīzes metode

Krūts saudzējoša operācija tika veikta 14 pacientēm (53,8%) trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā un 16 pacientēm (40%) trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā (P = 0,29). Mastektomija tika veikta 12 pacientēm (46,2%) trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā un 24 pacientēm (60%) trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā (P = 0,29). Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība veikto limfadenektomiju (19 (73,1%) gadījumi, salīdzinot ar 32 (80%) gadījumiem) un sargmezglu biopsiju (7 (26,9%) gadījumi, salīdzinot ar 8 (20%) gadījumiem) skaita ziņā trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā un trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā (P = 0,53). Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība saņemtās ķīmijterapijas shēmas ziņā trīskārši

negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā .

Lielāka daļa pacientu trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā saņēma antraciklīnu saturošu ķīmijterapiju.

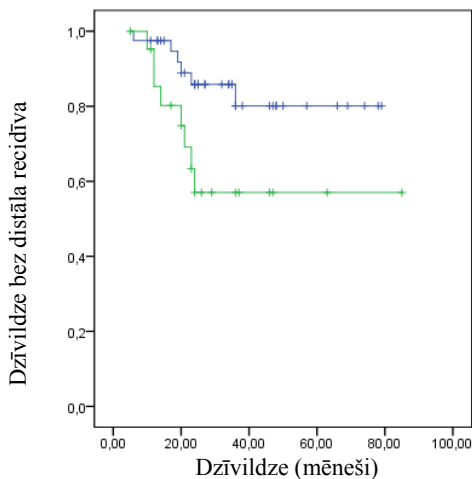
Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība saņemtās staru terapijas ziņā trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā (22 (84,6%) gadījumi salīdzinot ar 32 (80%) gadījumiem; $P = 0,66$).

3.3.3. *TP53* gēna sporādisku mutāciju ietekme uz trīskārši negatīvu krūts vēža pacientu dzīvildzes rādītājiem

Netika konstatēta nozīmīga atšķirība LRR skaita ziņā trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā (1 (3,9%) gadījums salīdzinot ar 2 (5%) gadījumiem; $P = 0,87$). 7 pacientēm (26,9%) trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā un 7 pacientēm (17,5%) trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā tika atklāti attālie recidīvi ($P = 0,38$). Trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un negatīva vēža grupā netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība attiecībā uz attālo recidīvu lokalizācijām ($P = 0,76$). Periods bez distālā recidīva trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva vēža grupā sastādīja 28.1 mēnešus (no 8 līdz 63 mēnešiem), salīdzinot ar 33,5 mēnešiem (no 8 līdz 79 mēnešiem) trīskārši negatīva *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā.

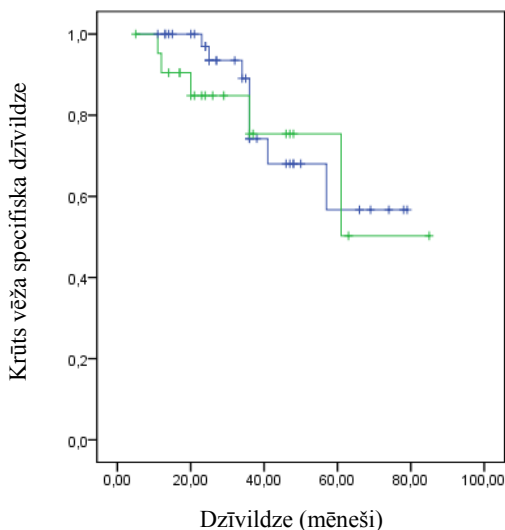
Trīskārši negatīva *TP53* mutāciju pozitīva un negatīva vēža grupā netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība nāves gadījumu skaita ziņā (7 nāves gadījumi (26,9%) salīdzinājumā ar 9 nāves gadījumiem (22,5%); $P = 0,68$).

Pacientēm *TP53* mutāciju (proteīna funkciju ietekmējoša) pozitīva vēža grupā tika novērota statistiski nozīmīgi nelabvēlīgāka dzīvildze bez distāla recidīva, salīdzinot ar pacientēm *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā (63,6% pret 85,0%; $P < 0,036$) (Attēls 3.3.3.1.).



3.3.3.1. attēls. Periods bez distāla recidīva trīskārši negatīva *TP53* sporādisku mutāciju pozitīva (zaļā līnija) un negatīva (zilā līnija) vēža grupā. $P < 0,036$

Pacientēm *TP53* mutāciju (proteīna funkciju ietekmējoša) pozitīva vēža grupā tika novērota nelabvēlīgāka krūts vēža specifiska dzīvildze, salīdzinot ar pacientēm *TP53* mutāciju negatīva vēža grupā, bet atšķirība nebija statistiski nozīmīga (80,0% pret 77,3%; $P = 0,65$) (Attēls 3.3.3.2.).



3.3.3.2. attēls. Krūts vēža specifiska dzīvildze trīskārši negatīva *TP53* sporādisku mutāciju pozitīva (zaļā līnija) un negatīva (zilā līnija) vēža grupā. P = 0,65

TP53 mutāciju (proteīna funkciju ietekmējoša) pozitīvām pacientēm, kuras saņēma antraciklīna- saturošu ķīmijterapiju tika novērota nelabvēlīgāka dzīvildze bez distāla recidīva, salīdzinot ar *TP53* mutāciju negatīvām pacientēm, kuras saņēma antraciklīna- saturošu ķīmijterapiju, bet atšķirība nebija statistiski ticama (61,5% pret 85,7%; P = 0,13).

TP53 mutāciju (proteīna funkciju ietekmējošas) pozitīvām pacientēm, kuras saņēma antraciklīna- saturošu ķīmijterapiju netika novērota statistiski nenozīmīgi nelabvēlīgāka krūts vēža specifiska dzīvildze, salīdzinot ar *TP53* mutāciju negatīvām pacientēm (69,2% pret 82,1%; P = 0,74).

4. DISKUSIJA

4.1. Sporādiska trīskārši negatīva, lumināla A, lumināla B HER2 negatīva krūts vēža klīniski patoloģiskais un dzīvildzes raksturojums

Atbilstoši mūsu rezultātiem, trīskārši negatīva krūts vēža apakštips ir saistīts ar ievērojami jaunāku vecumu diagnozes noteikšanas brīdī, salīdzinot ar lumināla A krūts vēža apakštipu, un ir novērojama tendence uz jaunāku vecumu diagnozes noteikšanas brīdī, salīdzinot ar lumināla B krūts vēža apakštipu. Mūsu rezultātiem līdzīgus rezultātus publicēja *Dent et al.*, kur vidējais vecums diagnozes uzstādīšanas brīdī ir 54,4 gadi trīskārši negatīva krūts vēža grupā, salīdzinot ar 57,7 gadiem citā grupā ($P < 0,0001$) [*Dent et al.*, 2007]. *Liedtke et al.*, izpētīja 1732 trīskārši negatīva krūts vēža pacientes un demonstrēja, ka jaunāks vecums (≤ 40 gadiem) diagnozes noteikšanas brīdī ir saistīts ar zemu audzēju diferenciaciju un, neskatoties uz intensīvāku sistēmisko ārstēšanu, ir sliktākas dzīvildzes bez distālā recidīva un kopējās dzīvildzes neatkarīgais prognozes faktors [*Liedtke et al.*, 2013]. Gluži otrādi, mūsu pētījumā gan vienmainīgā analīzē, gan daudzmainīgo analīzē netika demonstrēta pacienšu diagnozes noteikšanas vecuma ietekme uz dzīvildzi bez slimības pazīmēm un dzīvildzi atkarībā no krūts vēža tipa.

Visbiežāk sastopamais histoloģiskais apakštips trīskārši negatīva krūts vēža grupā bija duktāla karcinoma. Šie rezultāti saskan ar *Carey et al.*, pētījuma rezultātiem, kur lielākajai daļai trīskārši negatīva krūts vēža pacienšu bija nespecifiska duktāla karcinoma [*Carey et al.*, 2006]. *Vincent-Salmon et al.*, demonstrēja, ka krūts medulāra karcinoma raksturojas ar augstāku CK5/6 imūnhistoķīmisku ekspresiju un īpatnējām ģenētiskām izmaiņām, salīdzinot ar bazāliem krūts vēžiem [*Vincent-Salmon et al.*, 2007].

Mūsu pētījumā krūts medulāra karcinoma bija ievērojami izplatītāka trīskārši negatīva krūts vēža grupā ($P < 0,02$) nekā luminālā A un luminālā B krūts vēža grupās. Vairākos pētījumos tika parādīta labvēlīgāka prognoze krūts

medulārai karcinomai [Marginean et al., 2010]. Mūsu pētījumā histoloģiskajam tipam vienmainīgā un daudzmainīgo analīzē nebija statistiski nozīmīgas ietekmes uz attālu dzīvildzi bez recidīviem, krūts vēža specifisku dzīvildzi. Tomēr nevienai no krūts medulāras karcinomas pacientēm trīskārši negatīva krūts vēža grupā vidēji 26 mēnešu novērošanas periodā nebija novēroti lokāli, attāli recidīvi vai nāve krūts vēža dēļ. Trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm visbiežāk bija zemu diferencētie audzēji ($P < 0,0001$) ar augstāku Ki-67 ekspresiju nekā lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža apakštipam ($P < 0,0001$). 83,6% trīskārši negatīva krūts vēža pacientu bija zemu diferencēti audzēji (III pakāpe), salīdzinot ar 17,8% lumināla A vēža grupā un 47,9% lumināla B HER2 negatīva vēža grupā. Līdzīgi rezultāti tika publicēti vairākos iepriekšējos pētījumos [Dent et al., 2007; Bauer et al., 2007 Onitilo et al., 2010]. Bauer et al., ziņoja, ka 76% trīskārši negatīva krūts vēža pacientu bija III pakāpes audzēji, salīdzinot tikai ar 28% citā krūts vēža grupā [Bauer et al., 2007]. Mūsu pētījumā vienmainīgā analīzē III pakāpe nekļuva par nelabvēlīgas bez distāla recidīva un krūts vēža specifiskas dzīvildzes prognostisku faktoru.

Mūsu pētījumā vidējais audzēja izmērs ir statistiski nozīmīgi lielāks trīskārši negatīva krūts vēža grupā nekā lumināla A krūts vēža grupā. Šie rezultāti atbilst iepriekšējo pētījumu rezultātiem [Dent et al., 2007; Bauer et al., 2007]. Statistiski nozīmīgi mazākai daļai pacientu bija T1 un T2 krūts vēzis trīskārši negatīva krūts vēža grupā (26,9% un 48,7%), salīdzinot ar lumināla A krūts vēža grupu (60,5% un 26,7%). Dent et al., publicēja līdzīgus rezultātus, kur 36,5% trīskārši negatīva krūts vēža pacientu bija T1 audzēji, salīdzinot tikai ar 62,7% citā krūts vēža grupā [Dent et al., 2007]. Paziņotie dati par paduses limfmezglu metastāzēm diagnozes noteikšanas brīdī trīskārši negatīva krūts vēža grupā ir pretrunīgi [Reis- Filho et al., 2008]. Vairākos pētījumos netika atklāta statistiski nozīmīga atšķirība attiecībā uz limfmezglu pozitivitāti starp trīskārši negatīva krūts vēža grupu un cita krūts vēža grupām [Rakha et al.,

2006]. Gluži otrādi, citos publicētajos pētījumos pozitīvo limfmezglu īpatsvars diagnozes noteikšanas brīdī trīskārši negatīva krūts vēža grupā bija lielāks, salīdzinot ar cita krūts vēža grupu [Dent et al., 2007]. Mūsu pētījumā, līdzīgi Tischkowitz et al., bija mazāks pozitīvo limfmezglu skaits trīskārši negatīva krūts vēža pacientu grupā, salīdzinot ar lumināla A krūts vēža grupu [Tischkowitz et al., 2007]. Turklāt, netika konstatēta nozīmīga korelācija starp audzēja izmēru un pozitīvo limfmezglu statusu trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm ar audzējiem, kuru diametrs ir mazāks par 5 cm. Par līdzīgiem rezultātiem tika ziņots arī iepriekšējos pētījumos [Dent et al., 2007; Foulkes et al., 2012]. Mūsu pētījuma vienmainīgā analizē T3/T4 stadija, salīdzinot ar T1/T2, un N2/N3, salīdzinot ar N0/N1 statusu, parādīja vāju sliktākas attālas dzīvildzes bez recidīviem pozitīvu prognostisku vērtību. Tomēr T stadija un limfmezglu statuss neparādīja prediktīvu vērtību attiecībā uz krūts vēža specifisku dzīvildzi vienmainīgā analizē un bez distāla recidīva dzīvildzi un krūts vēža specifisku dzīvildzi daudzmainīgā analizē.

Interesanti, ka Dent et al., neziņoja par audzēja izmēra saistību ar dzīvildzi bez distāla recidīva un krūts vēža specifisku dzīvildzi bazāla krūts vēža grupā. Tomēr tika novērots audzēja izmēra pārejošais negatīvais efekts uz attālu recidīvu bazāla krūts vēža grupā īsu laiku pēc diagnozes noteikšanas. Pēc 10 gadiem pacientēm ar maziem un lieliem bazāliem audzējiem dzīvildzes rādītāji bija līdzīgi [Dent et al., 2009]. Tādēļ vāju korelāciju starp audzēja lielāku izmēru un sliktāku attālu dzīvildzi bez recidīviem mūsu pētījumā var izskaidrot ar relatīvi īsu 36 mēnešu vidējo novērošanas periodu *BRCA1* negatīva trīskārši negatīva krūts vēža grupā. Atbilstoši mūsu datiem, trīskārši negatīva un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža pacientēm diagnozi retāk noteica I stadijā, nekā lumināla A krūts vēža pacientēm (38,5%, 41,9% un 70,9%; $P < 0,0001$). Statistiski nozīmīgi lielākai trīskārši negatīva un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža pacientu daļai diagnozi noteica III stadijā, salīdzinot ar lumināla A krūts vēža pacientēm (38,5%, 32,1% un 15,1%; $P <$

0,0001). Līdzīgus rezultātus publicēja *Bauer et al.*, kur trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm diagnozi visbiežāk noteica vēlākās stadijās.

Atbilstoši mūsu pētījuma rezultātiem, bija novērots palielināts lokālo recidīvu risks trīskārši negatīva krūts vēža grupā, salīdzinot ar lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža grupām, taču šī atšķirība nebija statistiski nozīmīga. Mūsu pētījumā lokālu recidīvu biežums trīskārši negatīva krūts vēža grupā ir zemāks par norādīto iepriekšējos ziņojumos (3,9% un 8,8%–21% citos pētījumos) [*Dent et al.*, 2007; *Voduc et al.*, 2010; *Ho et al.*, 2012]. Vidējais laiks līdz lokālam recidīvam trīskārši negatīva krūts vēža grupā bija īsāks, salīdzinot ar lumināla A krūts vēža grupu (5,7 un 27,5 mēneši).

Dent et al., ziņoja par līdzīgiem rezultātiem, kuros nebija statistiski nozīmīgas atšķirības lokāla recidīva biežumā starp trīskārši negatīva un citu krūts vēža grupu ar ievērojami īsāku vidējo laiku līdz lokālam recidīvam trīskārši negatīva krūts vēža grupā, salīdzinot ar cita krūts vēža grupu. Pretēji mūsu rezultātiem, lokāls recidīvs kļuva par riska faktoru turpmākai attāla recidīva attīstībai tikai cita krūts vēža grupā, un nebija riska faktors trīskārši negatīva krūts vēža grupā [*Dent et al.*, 2007]. *Lowery et al.*, veica 15 pētījumu metanalīzi. Pētījumos kopumā piedalījās 12 592 pacientes, kurām tika veikta krūts saglabājoša operācija (N = 7174) vai mastektomija (N = 5418). Viņi secināja, ka trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm ir palielināts lokāla recidīva risks neatkarīgi no operācijas veida (krūts saglabājoša operācija (HR = 0,49; 95% CI 0,33–0,73), salīdzinot ar mastektomiju (HR = 0,66; 95% CI 0,53–0,83)), salīdzinot ar luminālā tipa krūts vēža pacientēm. Mūsu pētījumā 36 (46%) trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm tika veikta krūts saglabājoša operācija un 42 (54%) pacientēm tika veikta mastektomija. 2 (66,7%) trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm mastektomijas grupā un 1 (33,3%) pacientei krūts saglabājošā grupā bija lokāls recidīvs. Vairākos pētījumos tika ziņots par lokālās kontroles ievērojamu uzlabošanos ER negatīva un HER2 pozitīva krūts vēža pacientēm pēc agresīvākas sistēmiskas ārstēšanas [*Fisher et al.*, 1996;

Romond et al., 2005]. Tādēļ mūsu pētījumā relatīvi zemu lokālu recidīvu biežumu trīskārši negatīva krūts vēža grupā, kas nav statistiski nozīmīgi atšķirīgs no lumināla A krūts vēža grupas, var daļēji izskaidrot ar augstu pacienšu īpatsvaru, kas saņēma sistēmisku terapiju (69 (88,5%)). Lielākam trīskārši negatīva krūts vēža pacienšu īpatsvaram, salīdzinot ar lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža pacientēm, bija attāls recidīvs (attiecīgi 28,2%, 1,2% un 5,4%; $P < 0,0001$). Trīskārši negatīva krūts vēža grupā attāla dzīvildze bez recidīviem bija īsāka, salīdzinot ar lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža grupām (attiecīgi 32,3 mēneši, 45 mēneši un 42 mēneši). Trīskārši negatīva krūts vēža grupā bija tendence uz metastāzēm iekšējos orgānos, salīdzinot ar luminālā tipa A un luminālā tipa B HER2 negatīva krūts vēža grupām. Līdzīgi rezultāti tika publicēti vairākos iepriekšējos pētījumos, kur trīskārši negatīva krūts vēža grupā bija palielināta attāla recidīva varbūtība un bija saistīta ar palielinātu iekšējo orgānu metastāžu risku [Dent et al., 2007; Liedtke et al., 2008]. Mūsu pētījumā trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm bija ievērojami zemāka krūts vēža specifiska dzīvildze, salīdzinot ar lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža pacientēm (76,9%, 98,8% un 94,6%; $P < 0,0001$). Šie rezultāti atbilst iepriekš publicētajiem datiem, kur trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm bija ievērojami zemāka kopējā dzīvildze un krūts vēža specifiska dzīvildze, salīdzinot ar lumināla A un lumināla B HER2 negatīva krūts vēža pacientēm [Dent et al., 2007; Liedtke et al., 2008].

Lai gan mūsu vidējais 3 gadu novērošanas periods ir relatīvi īss, iepriekšējos pētījumos tika ziņots, ka recidīvu risks trīskārši negatīva krūts vēža grupā ir augstāks pirmajos 3 gados pēc diagnozes noteikšanas, bet lielākā daļa ar krūts vēzi saistīto notikumu rodas pirmo 5 gadu laikā [Dent et al., 2007; Liedtke et al., 2008]. Tādējādi mūsu novērošanas periods ir visai adekvāts lielākās daļas ārstēšanas rezultātu noteikšanai.

4.2. Trīskārši negatīvs pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju pozitīvs un negatīvs krūts vēzis

Mūsu pētījuma rezultāti parāda, ka trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm ar pārmantotām *BRCA1* ciltstēva mutācijām (4153delA un 5382insC) ir statistiski nozīmīgi labāka prognoze, salīdzinot ar pacientēm, kuras nav mutāciju nēsātājas. Mēs parādījām, ka pozitīvs *BRCA1* mutāciju statuss statistiski nozīmīgi samazina attāla recidīva risku un nāvi no krūts vēža. Veicot korekciju pēc vecuma, T stadijas, mezgla statusa, stadijas, operācijas, staru terapijas un ķīmijterapijas, pozitīvs *BRCA1* mutāciju statuss bija zemāka attāla recidīva riska neatkarīgs prognostisks faktors.

Šobrīd ir publicēti tikai daži pētījumi par pozitīva *BRCA1* mutācijas statusa prognostisko lomu trīskārši negatīva krūts vēža apakštipā. Pretēji mūsu darba rezultātiem, šie pētījumi neparādīja ievērojamas atšķirības starp dzīvildzes rezultātiem trīskārši negatīvas *BRCA1* mutācijas nesējām un pacientēm, kurām nav mutāciju [Lee et al., 2010; Bayraktar et al., 2011; Gonzalez-Angulo et al., 2011].

Lee et al., paziņoja par līdzīgiem 5 gadu krūts vēža specifiskās dzīvildzes un kopējās dzīvildzes rādītājiem gan trīskārši negatīvām *BRCA1* mutācijas nēsātājām, gan pacientēm bez mutācijas (HR = 0,64; P = 0,25) [Lee et al., 2010]. Gonzalez-Angulo et al., ziņoja par labāku dzīvildzi bez recidīviem trīskārši negatīvām *BRCA1* mutācijas pozitīvām pacientēm, salīdzinot ar *BRCA1* mutācijas negatīvām trīskārši negatīvām krūts vēža pacientēm, kuras tika ārstētas, izmantojot operāciju un antraciklīna un taksāna ķīmijterapiju (P = 0,031), taču ievērojamas atšķirības kopējā dzīvildzē netika demonstrētas (P = 0,225) [Gonzalez-Angulo et al., 2011]. Arī Bayraktar et al., nekonstatēja statistiski nozīmīgu atšķirību 5 gadu kopējās dzīvildzes rādītājos starp *BRCA1/2* mutācijas nēsātājām un pacientēm bez mutācijas [Bayraktar et al., 2011].

Tomēr šajos pētījumos bija daži ierobežojumi: nebija norādītas ER un PR negativitātes robežvērtības [Lee et al., 2010] vai tās bija definētas kā kodolu krāsojums $\leq 10\%$ [Bayraktar et al., 2011], abas grupas nebija vienādas pēc saņemtām ķīmijterapijas shēmām [Gonzalez-Angulo et al., 2011], trūkst informācijas par citiem vēža tipiem [Gonzalez-Angulo et al., 2011] vai pētījumā tika iekļautas pacientes, kurām iepriekš bija olnīcu vēzis [Bayraktar et al., 2011], netika novērtēta krūts vēža specifiska dzīvildze [Gonzalez-Angulo et al., 2011] un netika novērtēts atsevišķu *BRCA1* mutāciju prognostisks nozīmīgums [Lee et al., 2010; Bayraktar et al., 2011; Gonzalez-Angulo et al., 2011].

Mūsu pētījumā ASCO / CAP vadlīniju ieteikumu striktu kritēriju piemērošana ER un PR imūnhistoķīmiskajai testēšanai (ER vai PR uzskata par negatīvu, ja $< 1\%$ audzēja šūnu kodolu ir imūnreaktīvi) ar mērķi identificēt trīskārši negatīva krūts vēža fenotipu būtiski samazināja pētījumā ietvertu trīskārši negatīva krūts vēža gadījumu skaitu [Hammond et al., 2010].

Lai gan mūsu pētījuma dati bija balstīti uz relatīvi mazu pacienšu skaitu, abas grupas bija homogēnas pēc audzēja diferenciacijas pakāpes, vidējā audzēja izmēra, T stadijas, slimības stadijas, saņemtās ķīmijterapijas un pētījumā tika iekļautas tikai pacientes ar vienu no pārmantotām *BRCA1* ciltstēva mutācijām (4153delA un 5382insC).

Iepriekšējos pētījumos, tika ziņots par atšķirīgiem dzīvildzes rādītājiem atkarībā no *BRCA1* pārmantoto mutāciju varianta [Thompson et al., 2002; Plakhins et al., 2011]. Plakhins et al. ziņoja par sliktāku kopējo dzīvildzi krūts vēža pacientēm ar pozitīvu *BRCA1* 4153delA mutāciju, salīdzinot ar 5382insC [Plakhins et al., 2011].

Vēl viena mūsu pētījuma galvenā priekšrocība bija tā, ka vēlīnās stadijas olnīcu vēža un citu vēžu pacientes netika iekļautas pētījumā. Neskatoties uz Bolton et al. ziņotu ievērojami labāku prognozi *BRCA1* mutāciju nēsātājiem ar olnīcu vēzi, šo pacienšu 5 gadu kopējā dzīvildze bija tikai 46% [Bolton et al., 2012]. Visām pacientēm, kuras tika izslēgtas no pētījuma, olnīcu vēzis bija

diagnosticēts vēlīnās stadijās (IIIC vai IV) un visas pacientes nomira no metastātiska olnīcu vēža vidējā 28,5 (diapazons 6–45 mēneši) mēnešu periodā, skaitot no diagnozes noteikšanas brīža. Sasniedzot 40 gadu vecumu, olnīcu vēža risks ir aptuveni 3%, bet sasniedzot 60 gadu vecumu – 54% [Easton et al., 1995; Finch et al., 2012]. Profilaktiskā salpingoovarektomija pacientēm ar *BRCA1* mutāciju samazina olnīcu / olvadu vēža risku par 75–96% un krūts vēža risku par 53–56% [Finch et al., 2012]. Turklāt Bayraktar et al., parādīja, ka bilaterāla profilaktiskā salpingoovarektomija ļauj statistiski nozīmīgi samazināt nāves risku trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm (HR= 0,01; 95% CI, 0,01–0,69; P < 0,02) [Bayraktar et al., 2011].

Labvēlīgāku krūts vēža specifisku dzīvildzi trīskārši negatīva krūts vēža *BRCA1* mutācijas nēsātājām, salīdzinot ar pacientēm bez mutācijas, var izskaidrot ar bioloģiskām atšķirībām un / vai augstāku jutību pret ķīmijterapiju. Mūsu pētījumā *BRCA1* mutācijas nēsātājas bija ievērojami jaunākas nekā pacientes bez mutācijas (48,8 gadi un 54,4 gadi; P < 0,034). Mūsu rezultātiem līdzīgie rezultāti tika publicēti vairākos pētījumos [Lee et al., 2011; Gonzalez-Angulo et al., 2011]. Lee et al., ziņoja par vidējo vecumu diagnozes noteikšanas brīdī – 39,9 (diapazons 28,1–73,4) gadi trīskārši negatīvas *BRCA1* mutācijas nēsātāju grupā, salīdzinot ar 51,3 (diapazons 28,1–75,6) gadiem *BRCA1* mutāciju nenēsātāju grupu (P < 0,001) [Lee et al., 2011]. Gonzalez-Angulo et al., ziņoja par vidējo vecumu diagnozes noteikšanas brīdī – 45 (diapazons 27–61) gadi trīskārši negatīvām *BRCA1* mutācijas nēsātājām, salīdzinot ar 53 (diapazons 28–83) gadiem pacientēm bez *BRCA1* mutācijas (P < 0,0051) [Gonzalez-Angulo et al., 2011]. Mūsu pētījumā nebija statistiski nozīmīgu atšķirību vidējā vecumā diagnozes noteikšanas brīdī starp par 50 gadiem jaunākām trīskārši negatīvu *BRCA1* mutāciju nēsātājām un pacientēm bez *BRCA1* mutācijas (40,1 gadi un 40,2 gadi; P = 0,95). Līdzīgi mūsu pētījuma datiem, arī Bayraktar et al., neparādīja statistiski nozīmīgu atšķirību vidējā vecumā diagnozes noteikšanas brīdī starp par 50 gadiem jaunākām trīskārši

negatīvas *BRCA1* mutācijas nēsātājām un *BRCA1* mutāciju nenēsātājām (41 gads (diapazons 22–71 gads) un 40 gadi (diapazons, 21–74 gadi); $P = 0,74$) [Bayraktar et al., 2011].

BRCA1 mutāciju nēsātāju grupā, salīdzinot ar pacientēm bez mutācijas, tika novērota augstāka limfmezglu negatīva krūts vēža proporcija (65,8% un 37,2%; $P < 0,004$) bez statistiski nozīmīgām atšķirībām T stadijā starp abām grupām. Vairākos pētījumos tika ziņoti līdzīgi dati par prevalējošu limfmezglu negativitāti *BRCA1* mutācijas nēsātājiem, pat pacientēm ar lielu audzēja izmēru. To var raksturot kā vienu no galvenām *BRCA1* nēsātāju bioloģiskām īpašībām [Eisinger et al., 1998; Chappuis et al., 2000; Foulkes et al., 2003; Brekelmans et al., 2005]. Audzēja izmērs un limfmezglu statuss ir dzīvildzes rezultātu neatkarīgie prognostiskie faktori. Vienfaktoru analīzē T stadija un mezglu statuss, kā arī slimības stadija bija dzīvildzes prognostiski faktori.

Daudzfaktoru analīzē šie faktori neparedzēja iznākumus ne trīskārši negatīva krūts vēža *BRCA1* mutāciju nēsātājiem, kā arī pacientēm bez *BRCA1* mutācijām, iespējams, relatīvi mazas pētījuma populācijas dēļ. Līdzīgi mūsu pētījuma rezultātiem, Brekelmans et al., parādīja, ka gan audzēja izmēram, gan mezglu statusam ir būtiska prognostiska ietekme uz dzīvildzes rezultātiem *BRCA1* mutācijas nēsātājiem. Tomēr pozitīvs limfmezglu statuss bija vājš prognostisks faktors un tam bija būtiska ietekme uz dzīvildzes rezultātiem tikai tad, ja bija pozitīvi vairāk nekā četri limfmezgli [Brekelmans et al., 2006]. Mūsu pētījumā netika atklāta korelācija starp lielāku audzēja izmēru un limfmezglu statusu pacientēm ar audzējiem, kuru izmērs ir < 5 cm, gan trīskārši negatīva krūts vēža *BRCA1* mutācijas nēsātājiem, gan pacientēm bez mutācijas. Gluži otrādi, Brekelmans et al., parādīja stipru korelāciju starp audzēja izmēru un limfmezglu statusu [Brekelmans et al., 2006]. Tomēr Foulkes et al., *BRCA1* mutāciju pozitīvā krūts vēža grupā nekonstatēja saistību starp audzēja izmēru un limfmezglu pozitivitāti. Turklāt audzēja izmērs un mezglu statuss arī bija

vājš iznākuma prediktors *BRCA1* mutācijas nēsātājām. Autors ierosināja, ka šo parādību var saistīt ar audzēju hematogēno izplatību [Foulkes et al., 2003].

Hedenfalk et al., izmantojot gēnu ekspresijas īpatnības diferencēja ar *BRCA1* saistītus audzējus un sporādiskus krūts audzējus. Visi 7 ar *BRCA1* saistītie audzēji un 14 no 15 sporādiskiem krūts audzējiem tika precīzi identificēti. Interesanti, ka vienam sporādiskam krūts vēzim, kas tika nepareizi klasificēts kā *BRCA1* pozitīvs, bija zems *BRCA1* ekspresijas līmenis *BRCA1* gēna hipermetilēšanas dēļ [Hedenfalk et al., 2001]. *Van't Veer et al.* identificēja 100 gēnu kopas, kas ļāva iedalīt ER negatīvus krūts audzējus *BRCA1* pozitīvos un sporādiskos krūts vēžos [van't Veer et al., 2001]. Gluži pretēji, *Sorlie et al.* veiktā gēnu ekspresijas profila analīze parādīja, ka *BRCA1* pozitīvi audzēji tika sagrupēti kopā ar bazāliem līdzīgiem krūts vēžiem [Sorlie et al., 2003].

Iepriekšējos pētījumos tika ierosināts, kā *BRCA1* mutāciju pozitīvi krūts vēži ir jutīgāki uz ķīmijterapiju, salīdzinot ar sporādiskiem krūts vēžiem [Robson et al., 2004; Rennert et al., 2007]. *Rennert et al.*, ziņoja par ievērojami labākiem 10 gadu dzīvildzes rādītājiem *BRCA1* mutāciju nēsātāju grupā, nekā pacientes *BRCA1*-negatīva grupā, abas grupas tika ārstētas ar ķīmijterapiju, taču dzīvildzes rādītājos starp pacientēm, kuras nesaņēma ķīmijterapiju, atšķirības netika atklātas [Rennert et al., 2007]. *Robson et al.*, parādīja labākus dzīvildzes rādītājus *BRCA1* mutācijas nēsātājām, kuras saņēma adjuvantu ķīmijterapiju, salīdzinot ar *BRCA1* mutācijas nenēsātājām, kas nesaņēma adjuvantu ķīmijterapiju [Robson et al., 2004]. Mūsu pētījumā 94,7% pacienšu *BRCA1* mutācijas nēsātāju grupā un 85,9% *BRCA1* mutāciju nenēsātāju grupā, saņēma ķīmijterapiju ($P = 0,30$). Ķīmijterapijas lietošana, salīdzinot ar ķīmijterapijas nelietošanu gan trīskārši negatīvām *BRCA1* mutāciju nēsātājām un nenēsātājām, viemainīgā un daudzmainīgo analīzē nedemonstrēja statistiski nozīmīgu ietekmi uz attālu dzīvildzi bez recidīviem un krūts vēža specifisku dzīvildzi. Šos rezultātus var izskaidrot ar mazu pacienšu skaitu trīskārši negatīva *BRCA1* nēsātāju grupā, kuras nesaņēma ķīmijterapiju.

Nesen mūsu pētījumam līdzīgos rezultātus publicēja *Narod et al.*, kur bija iekļautas 379 I stadijas krūts vēža patientes ar *BRCA1* mutācijas nesātājiem vai patientes, kuru tuviem asinsradiniekiem ir atklāta *BRCA1* mutācija. 267 no 379 saņēma ķīmijterapiju. Bija novērota statistiski nenozīmīga tendence uz labāku 15 gadu dzīvildzi sievietēm, kas saņēma ķīmijterapiju, salīdzinot ar pacientēm, kuras nesaņēma ķīmijterapiju (attiecīgi 89,4% un 73,1%; $P < 0,008$). Atšķirība 15 gadu dzīvildzē bija statistiski nozīmīga tikai sievietēm ar ER negatīviem krūts audzējiem ($P = 0,02$) [*Narod et al.*, 2013].

Pareiz trūkst prospektīvu pētījumu, kuros tiek salīdzināti dažādas ķīmijterapijas shēmas *BRCA1* mutāciju nēsātājām. Atbilstoši jaunākajām ESMO klīniskas prakses vadlīnijām krūts vēža *BRCA* mutāciju nēsātājām ir ieteicamas standarta ķīmijterapijas shēmas [*Balmana et al.*, 2010].

4.3. Sporādisku *TP53* mutāciju biežums un prognostiskā nozīme trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm ar un bez pārmantotām *BRCA1* mutācijām

TP53 sporādisko mutāciju biežums dažādos pētījumos atšķiras un galvenokārt ir atkarīgs no metodēm, kas tiek lietotas mutācijas noteikšanai, no skrīnēta *TP53* gēna kodējošā rajona, no definīcijām un metodēm, kas lietotas, lai noteiktu bazālam līdzīgus/trīskārši negatīvus krūts vēžus, no analizēto audzēja paraugu skaita un no tā, kāda ir no formalinā fiksētiem, parafinā iekļautiem (FFPE) vai no svaigi sasaldētiem audiem iegūta DNS kvalitāte.

Vairākumā pētījumu, lai noteiktu izmainīta p53 proteīna uzkrāšanos vēža šūnu kodolos, izmantoja IHC, jo šī metode nav dārga un to ir viegli izmantot ikdienas praksē. Tomēr ir ziņots par šīs metodes zemāku precizitāti un specifitāti salīdzinājumā ar DNS sekvenēšanas metodi ar relatīvi augstiem šķietami pozitīviem un šķietami negatīviem rezultātiem un zemāku šīs metodes prognostisko vērtību [*Sjorgen et al.*, 1996, *Norberg et al.*, 1998; *Manie et al.*, 2009]. *Chaeng et al.*, ziņoja par 40,2% (13 gadījumos no 32) attiecībā uz p53

ekspresiju trīskārši negatīvā krūts vēža (definēts izmantojot ER/PR un HER2 IHC) grupā. Tomēr nebija atšķirību p53 ekspresijā starp trīskārši negatīvu krūts vēža grupu un ne-trīskārši negatīvu krūts vēža grupu (40,2% un 42,7%) [Chaeng et al., 2009]. Ryu et al., parādīja līdzīgus rezultātus ar 37,1% trīskārši negatīviem krūts vēžiem, kas ekspresēja p53. Šajā pētījumā trīskārši negatīvi krūts vēži tika definēti, pamatojoties uz IHC metodi ar ER un PR negativitātes sliekšņiem < 10% no pozitīva kodola iekrāsojuma [Ryu et al., 2011].

Turpretī Ryu et al., demonstrēja augstāku p53 ekspresijas proporciju (58,5%) trīskārši negatīvā krūts vēža grupā, kurā 33 pacientēm no 94 (35,1%) bija bazāls krūts vēzis (noteikts ar IHC metodi ER, PR, HER, CK 5/6, EGFR) un 61 (64,9%) pacientei bija krūts vēzis, kas nebija trīskārši negatīvs. Tomēr p53 pārekspresijā nebija statistiski nozīmīgu atšķirību starp pacientēm ar bazālu trīskārši negatīvu krūts vēzi un pacientēm, kurām nebija bazāls trīskārši negatīvs krūts vēzis (57,6% pret 59,0, attiecīgi; P = 0,532) [Ryu et al., 2012].

Par līdzīgiem rezultātiem ziņoja Manie et al., kad 89% (34 gadījumi no 38) BRCA1 pārmānotu mutāciju negatīviem bazāliem krūts vēžiem un 83% (29 gadījumi no 35) BRCA1 pārmānotu mutāciju pozitīviem bazāliem krūts vēžiem tika noteiktas TP53 sporādiskas mutācijas 2.–11. eksonu kodēšanas reģionā izmantojot tiešu sekvenēšanu [Manie et al., 2009]. Turpretī mūsu pētījumā 40% (22 gadījumos no 55) no trīskārši negatīvu BRCA1 pārmānotu mutāciju negatīviem krūts vēža gadījumu tika konstatēta vismaz viena TP53 mutācija. Mūsu rezultātus varētu izskaidrot ar zemāku īstu bazālo krūts vēža proporciju trīskārši negatīva krūts vēža grupā. Iepriekšējos pētījumos redzams, ka apmēram 40–80% no visiem trīskārši negatīviem krūts vēžiem ir bazālie krūts vēži [Carey et al., 2006; Rakha et al., 2007; Cheang et al., 2008].

Interesanti, ka mūsu pētījumā arī nebija statistiski nozīmīgu atšķirību attiecībā uz TP53 sporādisko mutāciju biežumu starp trīskārši negatīvu BRCA1 pārmānotu mutāciju pozitīvo un negatīvo grupu (4 gadījumos no 11 (36,4%) un 22 gadījumos no 55 (40%); P = 0,84).

Turklāt mūsu pētījumā tikai *TP53* 5.–8. eksoni tika skrīnēti uz sporadiskām mutācijām. Ir zināms, ka šajā reģionā tiek konstatēti aptuveni 90% *TP53* sporādisku mutāciju [*Pharoah et al.*, 1999].

Turpretī mūsu pētījumā mēs izmantojām RL-PĶR ar sekojošu DNS sekvenēšanu RL-PĶR/AIK pozitīviem paraugiem. RL-PĶR/AIK kā skrīningmetode atļāva samazināt sekvenēšanas apjomu, tādējādi optimizējot *TP53* mutāciju atklāšanas procesu un ļaujot ietaupīt laiku un samazināt izmaksas [*Krypuy et al.*, 2007]. *Krypuy et al.* ziņoja par RL-PĶR/AIK metodes 100% precizitāti un 100% pozitīvu prognostisko vērtību [*Krypuy et al.*, 2007].

Līdz šim nav publicēti pētījumi, kuros tiktu novērtēta sporadisku *TP53* mutāciju prognostiskā nozīme trīskārši negatīva/bazāla krūts vēža gadījumos. Tomēr ir daži pētījumi, kas novērtējuši p53 proteīna ekspresijas prognostisko lomu trīskārši negatīvos krūts vēža gadījumos [*Chae et al.*, 2009; *Jung et al.*, 2011; *Biganzoli et al.*, 2011; *Ryu et al.*, 2012]. *Ryu et al.* ziņoja, ka p53 proteīnu ekspresijai trīskārši negatīva krūts vēža grupā nav prognostiskas vērtības. Tomēr autori šajā pētījumā uzskatīja ER / PR par negatīviem, ja novēroja < 10% iekrāsotu audzēju šūnu kodolus [*Ryu et al.*, 2012].

Turpretī *Jung et al.*, parādīja statistiski nozīmīgu negatīvu ietekmi uz dzīvildzi bez recidīva limfmezglu negatīva trīskārši negatīva krūts vēža grupā [*Jung et al.*, 2011]. Citi pētījumi parādīja līdzīgus rezultātus ar statistiski nozīmīgu atšķirību izdzīvošanas rezultātos atkārtībā no p53 proteīna ekspresijas trīskārši negatīva krūts vēža grupā, bet ne citu vēžu grupā [*Chae et al.*, 2009]. Turklāt tika ziņots, ka trīskārši negatīva krūts vēža grupā p53 proteīna ekspresija saistīta ar iepriekš definēto “bazālo” subtipu un tika saistīta ar nelabvēlīgu vispārēju un dzīvildzi bez recidīva [*Biganzoli et al.*, 2011]. DNS sekvenēšanas metode sniedz precīzāku prognostisko informāciju nekā IHC [*Sjorgen et al.*, 1996, *Norberg et al.*, 1998]. Mūsu pētījums parāda, ka pozitīvas *TP53* (proteīnu funkciju ietekmējošu) mutāciju statuss ir saistīts ar nozīmīgi nelabvēlīgāku dzīvildzi bez attāla recidīva ($P < 0,036$) trīskārši negatīva krūts

vēža grupā. Tomēr krūts vēža specifiskas dzīvildzes atšķirība nebija statistiski ticama *TP53* mutāciju pozitīva un negatīva trīskārši negatīva krūts vēža grupās. *Fernandez-Cuesta et al.*, publicēta pētījumā secināja, ka pozitīvs *TP53* mutāciju statuss nav saistīts ar zemākiem krūts vēža pacientu izdzīvošanas rādītājiem. Tikai proteīna funkciju ietekmējošas mutācijas bija nozīmīgs prognostisks faktors lielākām recidīva riskam to pacientu grupā, kuras ārstēja ar atraciklīnu / taksānu saturošu ķīmijterapiju (HR = 3,21; 95% CI:1,740–5,935; P < 0,0002) [*Fernandez-Cuesta et al.*, 2012]. Vairāki pētījumi parādīja, ka pacientēm ar *TP53* mutāciju pozitīviem/p53 ekspresējošiem krūts audzējiem, kuras saņēma antraciklīna- saturošu ķīmijterapiju, ir sliktāki izdzīvošanas rezultāti nekā pacientēm ar *TP53* mutāciju negatīviem/p53 neekspresējošiem krūts audzējiem [*Aas et al.*, 1996; *Chae et al.*, 2009]. Mūsu pētījumā 81,1% no trīskārši negatīva krūts vēža pacientēm saņēma antraciklīnu- saturošu ķīmijterapiju. Tomēr šajā pacientu grupā pozitīvs *TP53* mutāciju statuss neuzrādīja nozīmīgu ietekmi uz attālu bezrecidīva vai krūts vēzim specifisku dzīvildzi. Interesanti, ka *Betheau et al.* ziņoja, ka pozitīvais *TP53* statuss un bazāla krūts vēža subtips ir neatkarīgi pPR prognozētāji. Pacientēm, kuras sasniedza pPR, bija labvēlīga prognoze, bet pacientēm, kurām bija reziduāla slimība pozitīvs *TP53* statuss prognozēja sliktāku dzīvildzi [*Bertheau et al.*, 2007].

5. SECINĀJUMI

1. Sporādisks trīskārši negatīvs krūts vēzis raksturojas ar jaunāku vecumu diagnozes noteikšanās brīdi, augstāku Ki-67 ekspresiju, lielāku audzēju izmēru, lielāku zemu diferencētu audzēju, medulāru krūts audzēju un audzēju vēlīnās stadijās proporciju, augstāku distāla recidīva skaitu un nelabvēlīgu krūts vēža specifisku dzīvildzi salīdzinot ar sporādisku luminālu A krūts vēzi.
2. Sporādiska trīskārši negatīva krūts vēža grupa nav saistīta ar statistiski nozīmīgi augstāku LRR salīdzinot ar sporādisku luminālu A krūts vēža grupu. Operāciju veids statistiski ticami neietekmē dzīvildzi bez distāla recidīva un krūts vēža specifisku dzīvildzi sporādiska trīskārši negatīva krūts vēža grupā.
3. Trīskārši negatīva pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju pozitīva vēža grupa raksturojas ar augstu negatīvu paduses limfmezglu proporciju un statistiski nozīmīgi labvēlīgāku dzīvildzi bez distāla recidīva un krūts vēža specifisku dzīvildzi salīdzinot ar trīskārši negatīvu sporādisku grupu.
4. Pozitīvs pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju statuss ir neatkārtīgs augstākas bez distāla recidīva dzīvildzes prognostisks faktors.
5. Somatiskas *TP53* gēna mutācijas ir saistītas ar nelabvēlīgu dzīvildzi bez distāla recidīva trīskārši negatīva krūts vēža grupā

6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Pozitīvs pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju statuss var tikt izmantots kā neatkārtīgs labvēlīgas prognozes faktors trīskārši negatīva krūts vēža grupā.

2. Pārmantotu *BRCA1* ciltstēva mutāciju testēšana jāapsver visos trīskārši negatīva krūts vēža gadījumos

3. Somatisku *TP53* mutāciju noteikšana varētu būt rekomendēta, lai identificētu pacientes ar nelabvēlīgu dzīvildzi bez distāla recidīva trīskārši negatīva krūts vēža grupā

7. PUBLIKĀCIJAS UN PREZENTĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

ZINĀTNISKIE RAKSTI-(4)

1. **Maksimenko J.**, Irmejs A., Nakazawa-Miklasevica M., Melbarde-Gorkusa I., Trofimovics G., Miklasevics E., Gardovslis J. The prognostic role of *BRCA1* mutation in patients with triple-negative breast cancer. *Oncology letters*, 2014; 7(1):278–284.

2. **Maksimenko J.**, Irmejs A., Trofimovics G., Miklasevics E. Breast-conserving surgery in early-stage triple-negative breast cancer: is there a higher risk of locoregional recurrence? *Acta Chirurgica Latviensis*, 2013; (1):11–14.

3. **Maksimenko J.**, Liepniece- Karele I., Irmejs A., Trofimovics G. The clinicopathologic characteristics and prognostic significance of triple-negative breast cancer phenotype. *Acta Chirurgica Latviensis*, 2011; 11(1):16–20.

4. Liepniece-Karele I., **Maksimenko J.**, Trofimovics G. Basal CK19 expression in triple-negative breast cancer. *Collection of Scientific papers of Riga Stradins University*, 2011; P. 88–93.

STARPTAUTISKĀS TĒZES UN PREZENTĀCIJAS-(10)

1. Tēzes. **Maksimenko J.**, Irmejs A., Miklasevics E., Trofimovics G. *BRCA1* mutation in the Triple-Negative Breast Cancer Group. *Hereditary Cancer in Clinical Practice*, 2012; 10(Suppl 4): A15.

2. Tēzes un postera prezentācija. **Maksimenko J.**, Irmejs A., Trofimovics G., Miklasevics E. *BRCA1* mutation and its prognostic role in the triple-negative breast cancer(TNBC) subtype. 13th St.Gallen International Breast Conference. 13.–16. Marts, 2013; St.Gallen, Šveice. Abstract book.

3. Tēzes un postera prezentācija. **Maksimenco J.**, Irmejs A., Trofimovics G., Miklasevics E. Breast-conserving surgery in early-stage triple-negative breast cancer: is there a higher risk of locoregional recurrence? 32nd Congress of the European Society of Surgical Oncology. 19.–21. septembris, 2012, Valensija, Spānija. Abstract book, P. 262.

4. Tēzes un postera prezentācija. **Maksimenco J.**, Irmejs A., Trofimovičs G., Miklaševics E. Lobular Histology Shows Tendency of Higher Risk of Involved Margins After First Breast- Conserving Surgery. 8th European Breast Cancer Conference, Vīne, Austrija. Abstract book. P. 609.

5. Tēzes un postera prezentācija. **Maksimenco J.**, Reteris M., Irmejs A., Trofimovičs G. Operable breast cancer in very young women, is there a difference? Breast cancer in young women conference. 8.–10. novembris, Dublina, Īrija. The Breast, 2012; 21(Suppl 1). P. 030.

6. Tēzes un postera prezentācija. **Maksimenco J.**, Irmejs A., Trofimovičs G., Miklaševičs E. Prophylactic mastectomy in patients with hereditary breast and ovarian cancer syndrome. 7th Congress of Baltic Association of Surgeons. 27.–29.septembris, 2012. Rīga, Latvija. Abstract book.

7. Tēzes un postera prezentācija. Reteris M., **Maksimenco J.**, Irmejs A., Trofimovičs G. Breast cancer in young women under 35 years of age. 7th Congress of Baltic Association of Surgeons. 27.–29.septembris, 2012. Rīga, Latvija. Abstract book.

8. Tēzes un postera prezentācija. **Maksimenco J.**, Liepniece-Karele I., Kudaba I. The analysis of triple-negative breast cancer in th Riga Eastern Clinical University Hospital. 5th Baltic Congress of Oncology. 13.–15.maijs, 2010. Rīga, Latvija. Abstract book, – 44 lpp.

9. Tēzes un mutiskais ziņojums. **Maksimenco J.**, Irmejs A., Trofimovičs G., Miklaševičs E. Is a triple-negative breast cancer a contraindication for breast-conserving surgery? 7th Congress of Baltic

Association of Surgeons. 27.–29.septembris, 2012. Rīga, Latvija. Abstract book.

10. Mutiskais ziņojums. **Maksimenko J.**, Trofimovičs G., Irmejs A., Miklaševičs E., Melbārde-Gorkuša I. The prevalence of *BRCA1* mutation in triple-negative breast cancer. Eurasian Forum on Breast Cancer. 3.–4. septembris, 2011; Maskava, Krievija.

VIETĒJĀS TĒZES UN PREZENTĀCIJAS-(4)

1. Tēzes + mutiskais ziņojums. **Maksimenko J.**, Irmejs A., Trofimovičs G., Miklaševičs E. The prognostic role of *BRCA1* mutation in patients with triple-negative breast cancer. Zinātniskā konference, Rīgas Stradiņa universitāte. 21.–22.marts, 2013. Rīga, Latvija. Tēžu grāmata. – 244 lpp.

2. Tēzes + mutiskais ziņojums. **Maksimenko J.**, Irmejs A., Trofimovičs G., Miklaševičs E. Better prognosis for *BRCA1* mutation carriers among triple-negative breast cancers. Zinātniskā konference, Rīgas Stradiņa universitāte. 29.–30.marts, 2012. Rīga, Latvija. Tēžu grāmata. – 250 lpp.

3. Tēzes + postera prezentācija. **Maksimenko J.**, Reteris M., Irmejs A., Trofimovics G. Operable breast cancer in very young women (< 35 years), is there a difference? 9. Zinātniskā konference, Rīgas Stradiņa Universitāte. 29.-30.marts, 2012. Rīga, Latvija. Tēžu grāmata. 251 lpp.

4. Tēzes + postera prezentācija. Liepniece-Karale I., **Maksimenko J.** CK 19 imūnhistoķīmija trīskārši negatīva krūts vēža gadījumā. Zinātniskā konference, Rīgas Stradiņa universitāte. 18.–19.marts, 2010. Rīga, Latvija. Tēžu grāmata. – 265 lpp.

8. IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Aas T, Borresen AL, Geisler S, et al. Specific P53 mutations are associated with de novo resistance to doxorubicin in breast cancer patients. *Nat Med*, 1996; 2(7):811–814.
2. Balmana J, Diez O, Rubio IT, et al. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*, 2011; 22(6):31–34.
3. Bauer KR, Brown M, Cress RD, et al: Descriptive analysis of estrogen receptor(ER)-negative, progesterone receptor(PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple negative phenotype: A population-based study from the california cancer registry. *Cancer*, 2007; 109(9): 1721–1728.
4. Bayraktar S, Gutierrez-Barrera AM, Liu D, et al: Outcome of triple-negative breast cancer in patients with and without deleterious BRCA mutations. *Breast Cancer Res Treat*, 2011; 130:145–153.
5. Bertheau P, Turpin E, Rickman DS, et al. Exquisite sensitivity of TP53 mutant and basal cancers to a dose-dense epirubicin-cyclophosphamide regimen. *PLoS Med*, 2004; 4(3):e90.
6. Biganzoli E, Coradini D, Ambrogi F, et al. p53 status identifies two subgroups of triple-negative breast cancers with distinct biological features. *Jpn J Clin Oncol*, 2011; 41(2):172–179.
7. Bolton KL, Chenevix-Trench G, Goh C, et al. Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer. *JAMA*, 2012; 307(4):382–390.
8. Brekelmans CT, Tilanus-Linthorst MM, Seynaeve C, et al: Tumour characteristics, survival and prognostic factors of hereditary breast cancer from BRCA2-, BRCA1-and non-BRCA1/2 families as compared to sporadic breast cancer cases. *B Eur J Cancer*, 2007; 43:867–876.

9. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al: The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res*, 2007; 13(8): 2329–2334.
10. Chae BJ, Bae JS, Lee A, et al. p53 as a specific prognostic factor in triple-negative breast cancer. *Jpn J Clin Oncol*, 2009; 89(4):217–224.
11. Chappuis PO, Nethercot V, Foulkes WD, et al: Clinico-pathological characteristics of BRCA1-and BRCA2-related breast cancer. *Semin Surg Oncol*, 2000; 18:287–295.
12. Cheang M, Chia SK, Tu D, et al. Anthracyclines in basal breast cancer: The NCIC-CTG trial MA5 comparing adjuvant CMF to CEF. *J Clin Oncol*, 2009; 27:519.
13. Dent R, Trudeau M, Pritchard KL, et al: Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res*, 2007; 13(15): 4429–4434.
14. Dent R, Wedad MH, Trudewau M, et al. Time to disease recurrence in the basal-like breast cancers. *Cancer*, 2009; 115(21):4917–4923.
15. Dumay A, Feugeas JP, Wittmer E, et al. Distinct tumor protein p53 mutants in breast cancer subgroups. *Int J Cancer*, 2013; 132(5):1227–1231.
16. Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, et al: Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2011; 17(5):1082–1089.
17. Easton DF, Ford D, Bishop DT, et al: Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*, 1995; 56(1):265–271.
18. Eisinger F, Nogues C, Birnbaum D, et al. Low frequency of lymph-node metastasis in BRCA1-associated breast cancer. *Lancet*, 1998; 351(9116):6113–6114.

19. Evans DG, Howell A, Ward D, et al: Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in triple-negative breast cancer. *J Med Genet*, 2011; 48:520–522.
20. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, et al: Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*, 2005; 434:917–921.
21. Fernandez-Cuesta L, Pakman C, Falagan-Lotsch P, et al. Prognostic and predictive value of TP53 mutations in node-positive breast cancer patients treated with anthracycline-or anthracycline/taxane-based adjuvant therapy: results from the BIG 02-98 phase III trial. *Breast Cancer Res*, 2012; 14:R70.
22. Finch A, Evans G, Narod SA, et al: BRCA carriers, prophylactic salpingo-oophorectomy and menopause: clinical management considerations and recommendations. *Future Medicine*, 2012; 8(5):543–555.
23. Fisher B, Dignam J, Mamounas EP, et al. Sequential metotrexate and fluorouracil for the treatment of node-negative breast cancer patients with estrogen receptor-negative tumors: eight-year results form National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project(NSABP) B-13 and first report of findings from NSABP-19 comparing methotrexate and fluorouracil with conventional cyclophosphamide, metotrexate, and fluouracil. *J Clin Oncol*, 1996; 14(7):1982–1992.
24. Foulkes WD, Metcalfe K, Hanna W, et al: Disruption of the expected positive correlation between breast tumor size and lymphnode status in BRCA1-related breas carcinoma. *Cancer*, 2003; 98:1569–1577.
25. Foulkes WD, Grainge MJ, Rakha EA et al. Tumor size is an unreliable predictor of prognosis in basal-like breast cancers and does not correlate closely with lymph node status. *Breast Cancer Res Treat*, 2008; 117(1):199–204.
26. Foulkes WD. Size surprize? Tumour size, nodal status, and outcome after breast cancer. *Curr Oncol*, 2012; 19(5):241–243.

27. Goffin JR, Chappuis PO, Begin LR, et al. Impact of germline BRCA1 mutations and overexpression of p53 on prognosis and response to treatment following breast carcinoma: 10-year follow-up data. *Cancer*, 2003; 97:527–536.
28. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al: Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer, 2011; *Ann Oncol*, 2011; 28(8):1736–1747.
29. Hammond ME, Hayes DF, Dawsett W, et al: American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*, 2010; 28:2784–2795.
30. Harris L, Herbert F, Mennel R, et al. American Society of clinical Oncology 2007 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Breast Cancer. *J Clin Oncol*, 2007; 25:5287–5312.
31. Hedenfalk I, Duggan D, Chen Y, et al. Gene-expression profiles in hereditary breast cancer. *N Engl J Med*, 2001; 344(8):539–548.
32. Ho AY, Gupta G, King TA, et al. Favorable prognosis in patients with T1a/T1bN0 triple-negative breast cancers treated with multimodality therapy. *Cancer*, 2012; 118(20):4944–4952.
33. Jung SY, Jeong J, Shin SH, et al. Accumulation of p53 determined by immunohistochemistry as a prognostic marker in node negative breast cancer; analysis according to St Gallen consensus and intrinsic subtypes. *J Surg Oncol*, 2011; 103(3):207–211.
34. Kennedy RD, Quinn JE, Mullan PB, et al: The role of BRCA1 in the cellular response to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst*, 2004; 96:1659–1668.
35. Krypuy M, Ahmed AA, Etema D, et al. High Resolution melting for mutation scanning of TP53 exons 5-8. *BMC Cancer*, 2007; 7:168.

36. Lang GA, Iwakuma T, Suh YA, et al. Gain of function of a p53 requires hot spot mutation in a mouse model of Li-Fraumeni syndrome. *Cell*, 2004; 119:861–872.
37. Lee LJ, Alexander B, Stuart JS, et al. Clinical Outcome of Triple-negative Breast Cancer in BRCA1 Mutations Carriers and Noncarriers. *Cancer*, 2011; 117(14): 3093–3100.
38. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*, 2008; 26(8):1275–1281.
39. Liedtke C, Hess KR, Karn T, et al. The prognostic impact of age in patients with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2013; 138(2):591–599.
40. Manie E, Vincent-Salomon A, Lehmann-Che J, et al. High frequency of TP53 mutation in BRCA1 and sporadic basal-like carcinomas but not in BRCA1 luminal breast tumors. *Cancer Res*, 2009; 69:663–671.
41. Marginean F, Rakha EA, Ho BC, et al. Histological features of medullary carcinoma and prognosis in triple-negative basal-like carcinomas of the breast. *Mod Pathol*, 2010; 23(10):1357–1363.
42. Narod SA, Metcalfe K, Lynch HT, et al. Should all BRCA1 mutation carriers with stage I breast cancer receive chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*, 2013; 138(1):273–279.
43. Norberg T, Lennerstrand J, Inganas M, et al. Comparison between p53 protein measurements using the luminometric immunoassay and immunohistochemistry with detection of p53 gene mutations using cDNA sequencing in human breast cancer. *Int J Cancer*, 1998; 79:376–383.
44. Olivier M, Langerod A, Carrieri P, et al. The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,794 patients with breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2006; 12:1157–1167.

45. Onitilo AA, Engel JM, Greenlee RT, et al. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison on clinicopathological features and survival. *Clin Med Res*, 2009; 7(1–2):4–13.
46. Overgaard J, Yilmaz M, Guldborg P, et al. TP53 mutation is an independent prognostic marker for poor outcome in both node-negative and node-positive breast cancer. *Acta Oncol*, 2000; 39:327–333.
47. Pharoach PD, Day NE, Caldas C. Somatic mutations in the p53 gene and prognosis in breast cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*, 1999; 80:1968–1973.
48. Plakhins G, Iremjs A, Gardovskis A, et al. Genotype-phenotype correlations among BRCA1 4153delA and 5382insC mutation carriers from Latvia. *BMC Medical Genetics*, 2011; 12:147.
49. Rakha EA, Aleskandarany M, El-Sayed ME, et al. The prognostic significance of inflammation and medullary histological type in invasive carcinoma of the breast. *Eur J Cancer*, 2009; 45:1780–1787.
50. Reis-Filho JS, Tutt ANJ. Triple-negative tumours: a critical review. *Histopathology*, 2008; 52:108–118.
51. Rennert G, Bisland-Naggan S, Barnett-Griness O, et al: Clinical outcomes of breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations. *N Engl J Med*, 2007; 357:115–123.
52. Robson ME, Chappuis PO, Satagopan J, et al. A combined analysis of outcome following breast cancer: differences in survival based on BRCA1/BRCA2 mutation status and administration of adjuvant treatment. *Breast Cancer Res*, 2004; 6:R8–R17.
53. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*, 2005; 353(16):1673–1684.

54. Ryu Dw, Lee CH. Outcome of triple-negative breast cancer in patients with or without markers regulating cell cycle and cell death. *J Korean Surg*, 2012; 83(4):187–195.
55. Shah SP, Roth A, Goya R, et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers. *Nature*, 2012; 486(7403):395–399.
56. Silver DP, Richardson AL, Eklund AC, et al: Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*, 2010; 28(7):1145–1153.
57. Sjorgen S, Inghanas M, Norberg T, et al. The p53 gene in breast cancer: prognostic value of complementary DNA sequencing versus immunohistochemistry. *J Natl Cancer Inst*, 1996; 88(3–4):173–182.
58. Solassol J, Ramos J, Crapez E, et al. KRAS mutation detection in pared frozen and formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) colorectal cancer tissues. *Int J Mol Sci*, 2011; 12:1391–3204.
59. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003; 100(14):8418–8423.
60. Stoppa-Lyonnet D, Ansquer Y, Dreyfus H, et al: Familial invasive breast cancer: worse outcome related to BRCA1 mutations. *J Clin Oncol*, 2000; 18:4053–4059.
61. Sirohi B, Arnedos M, Popat S, et al: Platinum-based chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*, 2008; 19:1847–1852.
62. Silver DP, Richardson AL, Eklund AC, et al. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*, 2010; 28:1145–1153.
63. Tischkowitz M, Brunet JS, Begin LR, et al. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer*, 2007; 109:25–32.

64. Turner N, Moretti E, Siclari O, et al. Targeting triple negative breast cancer: Is p53 the answer? *Cancer Treat Reviews*, 2013; 39:541–550.
65. van't Veer LJ, Hongyue D, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*, 2002; 415(6871):530–536.
66. Vincent-Salomon A, Gruel N, Lucchesi R, et al: Identification of typical medullary breast carcinoma as a genomic sub-group of basal-like carcinomas, a heterogeneous new molecular entity. *Breast Cancer Res*, 2007; 9(2):R24.
67. Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, et al. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol*, 2010; 28(10)1684–1691.