

Lek. Igor Symonowicz

Ocena częstości występowania zespołu metabolicznego, podwyższonego stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego, otyłości lub nadwagi u pacjentek chorych na raka piersi z nadekspresją/amplifikacją HER-2 w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi HER-2 ujemnego.

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Klinika Onkologii Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Kalinka

Profesor Instytutu

Promotor pracy:

dr hab. n. med. Ewa Kalinka

Profesor Instytutu

Łódź 2023

Podziękowania

Na powstanie tej pracy doktorskiej i jej ostateczny kształt miało wpływ wiele osób, którym chciałbym w tym miejscu podziękować. Pierwszej osobie, której bardzo chciałbym podziękować za nieocenioną pomoc w realizacji i pisaniu tej pracy to mój Promotor Pani Profesor Ewa Kalinka. Dziękuję za inspirację do stworzenia tej dysertacji jak i umożliwienie mi pracy naukowej i klinicznej w kierowanym przez Panią Profesor Zespole. Dziękuję również Profesorowi Markowi Zadroźnemu za umożliwienie prowadzenia badań w Klinice Chirurgii Onkologicznej i Chorób Piersi jak i współpracę, bez której ta praca nie mogłaby powstać. Osobne, równie ważne podziękowania składam mojej Żonie Marzenie za nieustanne motywowanie mnie oraz częste wyręczanie w licznych obowiązkach domowych i rodzicielskich, by praca ta mogła powstać. Słowa podziękowania należą się także moim Rodzicom i Bratu, jak i całemu Zespołowi Kliniki Onkologii, których wsparcie duchowe dało mi siłę do pracy naukowej.

1 Spis treści

| | | |
|-----|--|----|
| 1 | Spis treści | 3 |
| 1 | Wstęp | 8 |
| 1.1 | Historia zespołu metabolicznego. | 13 |
| 1.2 | Definicja zespołu metabolicznego..... | 14 |
| 1.3 | Otyłość a rak piersi | 17 |
| 1.4 | Cukrzyca a rak piersi | 19 |
| 1.5 | Nadciśnienie tętnicze a rak piersi..... | 21 |
| 1.6 | Zaburzenia lipidowe a rak piersi..... | 22 |
| 2 | Cele Pracy | 27 |
| 2.1 | Ocena częstości występowania zespołu metabolicznego u pacjentek chorych na raka piersi z nadekspresją receptora/amplifikacją genu <i>HER-2</i> w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi <i>HER-2</i> ujemnego. | 27 |
| 2.2 | Ocena częstości podwyższonego stężenia osocznego cholesterolu całkowitego lub leczenia hipercholesterolemii u pacjentek chorych na raka piersi z nadekspresją receptora/amplifikacją genu <i>HER-2</i> w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi <i>HER-2</i> ujemnego. | 27 |
| 2.3 | Ocena częstości występowania otyłości i/lub nadwagi wg BMI u pacjentek chorych na raka piersi z nadekspresją receptora/amplifikacją genu <i>HER-2</i> w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi <i>HER-2</i> ujemnego. | 27 |
| 3 | Grupa badana i metody badawcze..... | 28 |
| 3.1 | Grupa pacjentów. | 28 |
| 3.2 | Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego..... | 29 |
| 3.3 | Pomiar obwodu talii | 30 |
| 3.4 | Pomiar osoczowych stężeń triglicerydów, cholesterolu całkowitego i lipoproteiny o wysokiej gęstości HDL. | 30 |
| 3.5 | Pomiar ciśnienia tętniczego..... | 30 |
| 3.6 | Pomiar stężenia glukozy | 30 |
| 3.7 | Obliczanie wskaźnika BMI. | 30 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.8 | Określanie stanu receptora HER-2. | 32 |
| 3.9 | Analiza statystyczna..... | 35 |
| 4 | Wyniki..... | 36 |
| 4.1 | Charakterystyka pacjentek z rakiem piersi z grupy badanej. | 36 |
| | Mediana wieku pacjentek w badanej grupie wynosiła 60 lat (tabela 9)..... | 36 |
| | Wynik HER-2 dodatni stwierdzony był u 21,9% pacjentek (Tabela 10). | 36 |
| | Tabela 10. Procentowy rozkład podtypów RP w badanej populacji..... | 36 |
| 4.2 | Częstości występowania zespołu metabolicznego u pacjentek chorych na raka piersi HER-2 dodatniego w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi HER-2 ujemnego... | 43 |
| 4.3 | Częstości podwyższonego stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego (granica $\geq 200\text{mg/dl}$) lub leczenie hipercholesterolemii u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym..... | 45 |
| 4.3.1 | Test dla dwóch wskaźników struktury – częstości..... | 45 |
| 4.3.2 | W celu porównania czy średnie stężenie cholesterolu całkowitego różni się w badanych grupach pacjentek HER-2 dodatnich i HER-2 ujemnych, zastosowano test T-Studenta dla grup niepowiązanych. | 47 |
| 4.4 | Częstość występowania otyłości i/lub nadwagi wg klasyfikacji BMI ($\geq\text{BMI } 25,0$) u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym. | 49 |
| 4.4.1 | Test niezależności chi-kwadrat | 49 |
| | Tabela 23. dwudzielcza, podsumowująca, częstości obserwowane. Liczność oznaczona > 10 komórek. | 50 |
| 4.4.2 | Test dla dwóch wskaźników struktury – częstości dla nadwagi i otyłości w raku piersi HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym..... | 51 |
| 4.4.3 | Test t-Studenta lub test U Manna-Whitneya..... | 52 |
| 5 | Dyskusja..... | 55 |
| 5.1 | Ocena grupy badanej w stosunku do ogólnej populacji polskiej pacjentek z rozpoznany rakiem piersi. | 55 |
| 5.2 | Częstości występowania zespołu metabolicznego u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym..... | 56 |

| | | |
|-----|--|----|
| 5.3 | Częstość podwyższonego stężenia cholesterolu całkowitego u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym. | 57 |
| 5.4 | Częstość występowania otyłości i/lub nadwagi wg klasyfikacji BMI u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym. | 58 |
| 6 | Wnioski..... | 60 |
| 7 | Streszczenie..... | 61 |
| 8 | Spis Tabel:..... | 63 |
| 9 | Spis Wykresów: | 65 |
| 10 | Spis równań..... | 66 |
| 11 | Spis Wzorów..... | 66 |
| 12 | Piśmiennictwo:..... | 67 |

Skróty używane w tekście:

| | |
|---------|--|
| AACE | Amerykańskie Stowarzyszenie Endokrynologii Klinicznej (ang. <i>American Association of Clinical Endocrinologist</i>) |
| AH | Antykoncepcja hormonalna (ang. <i>hormonal contraception</i>) |
| AMPK | Kinaza aktywowana 5'AMP (ang. <i>5'AMP-activated protein kinase</i>) |
| ASCO | Amerykańskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej (ang. <i>American Society of Clinical Oncology</i>) |
| ATP III | Panel leczenia dorosłych – III (ang. <i>Adult Treatment Panel III</i>) |
| BMI | Wskaźnik masy ciała (ang. <i>body mass index</i>) |
| BRCA | Gen raka piersi (ang. <i>breast cancer gene</i>) |
| CAP | Kolegium Patologów Amerykańskich (ang. <i>College of American Pathologists</i>) |
| DM2 | Cukrzyca typ 2 (ang. <i>diabetes type II</i>) |
| EGIR | Europejska Grupa ds. Badań nad Insulinoopornością (ang. <i>European Group for the Study of Insulin Resistance</i>) |
| ER | Receptor estrogenowy (ang. <i>estrogen receptor</i>) |
| FSH | Folikulotropina (ang. <i>folitropin</i>) |
| HDL | lipoproteina o dużej gęstości (ang. <i>high – density lipoproteins</i>) |
| HER-2 | Receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2 (ang. <i>human epidermal factor receptor 2</i>) |
| HTZ | Hormonalna terapia zastępcza (ang. <i>hormone replacement therapy</i>) |
| IDF | Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna (ang. <i>International Diabetes Federation</i>) |
| IFG | Nieprawidłowe stężenie glukozy na czczo (ang. <i>impaired fasting glucose</i>) |
| IGF-1 | Insulinopodobny czynnik wzrostu typu 1 (ang. <i>insulin-like growth factor type 1</i>) |
| IGT | Nieprawidłowa tolerancja glukozy (ang. <i>impaired glucose tolerance</i>) |
| IL | Interleukina (ang. <i>interleukin</i>) |

| | |
|---------------|--|
| IS | Ocena intensywności (ang. <i>intensity score</i>) |
| LH | Hormon luteinizujący (ang. <i>lutropin</i>) |
| mTOR | Ssaczy cel rapamycyny (ang. <i>mammalian target of rapamycin kinase</i>) |
| N | Liczebność (ang. <i>number of the population</i>) |
| NCEP | Panel ekspertów ds. wykrywania, oceny i leczenia wysokiego poziomu cholesterolu we krwi u dorosłych (ang. <i>Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults</i>) |
| PCOS | Zespół policystycznych jajników (ang. <i>polycystic ovary syndrome</i>) |
| PR | Receptor progesteronowy (ang. <i>progesterone receptor</i>) |
| PS | Wynik proporcji (ang. <i>proportion score</i>) |
| RP | Rak piersi |
| SFRP5 | Wydzielnicze białko typu 5 związane z frizzled (ang. <i>secreted frizzled-related protein 5</i>) |
| SHBG | Białko wiążące hormony płciowe (ang. <i>sex hormone binding globulin</i>) |
| TG | Triglicerydy |
| TNF- α | Czynnik martwicy nowotworów typu α (ang. <i>tumor necrosis faktor alpha</i>) |
| TS | Całkowity wynik (ang. <i>total score</i>) |
| USA | Stany Zjednoczone Ameryki (ang. <i>United States of America</i>) |
| WHO | Światowa Organizacja Zdrowia (ang. <i>World Health Organization</i>) |
| WHR | Stosunek talia – biodro (ang. <i>waist to hip ratio</i>) |
| ZM | Zespół metaboliczny |

1 Wstęp

Postęp cywilizacyjny skutkował poprawą standardów życia ludzi, ale również stał się przyczyną pojawienia wielu wcześniej nieznanymi zagrożeniami. Jednym z nich jest zespół zaburzeń metabolicznych. Do jego powstania przyczyniają się przede wszystkim brak aktywności fizycznej, niewłaściwe odżywianie, zanieczyszczenie środowiska, rosnące tempo życia oraz stres. Zespół metaboliczny (ZM), otyłość, podwyższony poziom cholesterolu stanowią coraz większy problem kliniczny i epidemiologiczny populacji krajów uprzemysłowionych. Częstość występowania zespołu metabolicznego w populacji w średnim wieku w USA i Europie szacuje się na poziomie 20 – 25% (1-3). ZM, otyłość oraz podwyższony poziom cholesterolu powodują zwiększenie ryzyka wystąpienia chorób z grupy sercowo-naczyniowych, wczesnych zgonów tym spowodowanych oraz zwiększone ryzyko wystąpienia chorób nowotworowych. Rak piersi (RP) jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych i jest drugą przyczyną zgonu z powodu chorób nowotworowych u kobiet w Polsce. Ryzyko życiowe wystąpienia raka piersi wynosi u kobiet w Europie ok 9,1 %. RP jest jednostką chorobową o dużym powiązaniu epidemiologicznym ze składowymi ZM. Rak piersi najczęściej rozpoznawany jest pomiędzy 45 a 69 rokiem życia, czyli w średnim wieku, w którym stwierdzamy również wysoką częstość rozpoznawania ZM (4-7). Przedstawione powyżej aspekty oraz obserwacje kliniczne w codziennej pracy, skłoniły mnie do zbadania powiązania tych jednostek z HER-2 dodatnim RP.

Rak piersi to bardzo niejednolita choroba, która dzielona jest na kilka podtypów. Do ich oznaczenia używamy surogatów immunohistochemicznych takich jak ekspresja receptora estrogenowego (ER, *estrogen receptor*), progesteronowego (PR, *progesterone receptor*), nadekspresja receptora lub amplifikacja genu HER-2 czy indeks proliferacyjny Ki67 (tabl. 3). Dodatnia ekspresja ER stwierdzana jest u 80%, a PR w 40%-70% przypadków chorych na raka piersi. Nadekspresja receptora HER-2 jest rzadziej stwierdzana niż ekspresja receptorów steroidowych, bo w około 20% - 35% przypadków (8-10). Receptor HER-2 jest receptorem o typie transbłonowej kinazy tyrozynowej należący do grupy receptorów ERBB, a biologicznie związany jest z bardziej agresywnym przebiegiem klinicznym. Do leczenia chorych na HER-2 dodatniego raka piersi wprowadzono szereg leków ukierunkowanych molekularnie, łączących się z nadbłonową częścią receptora takich jak trastuzumab, pertuzumab, trastuzumab połączony z emtansyną czy derukstekanem lub inhibitory kinazy tyrozynowej receptora takie jak lapatynib czy neratynib (10-14).

Znamy kilka czynników ryzyka wystąpienia raka piersi. Rodzinne występowanie raka piersi związane z mutacją *BRCA1* lub *BRCA2* jest najlepiej poznany czynnikiem genetycznym (15). *CHEK2*, *PALB2*, *PTEN* i *TP53* to kolejne geny, których mutacje znacznie zwiększają ryzyko wystąpienia raka piersi. Często nie udaje się stwierdzić nosicielstwa danego, znanego genu, który jest odpowiedzialny za zwiększone ryzyko wystąpienia raka piersi czy raka jajnika. W rodzinach, w których licznie występują zachorowania na raka piersi i raka jajnika, szczególnie u osób poniżej 45 roku życia, mówimy o tak zwanym rodzinnym występowaniu raka piersi i raka jajnika (16).

Stosowanie hormonalnej terapii zastępczej (HTZ, hormonalna terapia zastępcza) jak i stosowanie antykoncepcji hormonalnej (AH, antykoncepcja hormonalna) wiążą się

ze zwiększeniem ryzyka wystąpienia raka piersi, odpowiednio 1,4 – 2,0 - krotnie w przypadku HTZ i 1,1 – 1,5-krotnie dla AH przy 10 letnim stosowaniu (16). Długi okres miesiączkowania jest również czynnikiem ryzyka wystąpienia raka piersi. Pierwsza miesiączka przed 12 rokiem życia, zwiększa o 30 % ryzyko wystąpienia raka piersi, a menopauza po 50 roku życia opóźniona o każde 5 lat wiąże się o 15% wzrostem ryzyka zachorowania na ten nowotwór (16) Urodzenie pierwszego dziecka po 30 roku życia związane jest o 2 krotnym zwiększeniem ryzyka wystąpienia raka piersi w porównaniu do pierwszego porodu przed 20 rokiem życia. Zauważono spadek ryzyka wystąpienia raka piersi o 7% przy każdym kolejnym urodzonym dziecku. Karmienie piersią, jak jego długość ma również znaczenie zmniejszające ryzyko wystąpienia raka piersi (16).

Występowanie niektórych zmian łagodnych w piersi (atypowe rozrosty nabłonka) zwiększa 5 krotnie ryzyko wystąpienia raka piersi, podobnie klinicznie wyczuwalne zmiany łagodne w piersiach, które zwiększają je 3 krotnie (16).

Promieniowanie jonizujące stosowane w ramach leczenia (radioterapia) czy podczas badań diagnostycznych, szczególnie stosowane w młodym wieku zwiększa ryzyko wystąpienia raka piersi (16).

Najczęściej rak piersi rozpoznawany jest w przedziale wiekowym od 50 do 70 lat. Zachorowania przed 45 rokiem życia są rzadkie (16). Częstość występowania raka piersi różni się w zależności od pochodzenia etnicznego. Na przykład, rak piersi występuje 5-krotnie rzadziej w krajach środkowo- wschodniej Azji i Środkowej Afryce w porównaniu z krajami rozwiniętymi. Różnice w częstości występowania w krajach Europy są również znaczne. I tak, m.in. zachorowania w Polsce, Litwie, Estonii czy Rumunii są 2 krotnie rzadsze niż w Belgii (17).

Ekspresja receptorów hormonalnych stanowi ważny czynnik prognostyczny i predykcyjny. Stosuje się kilka metod oceny wyników reakcji barwienia. Skala Allreda opiera się o proporcję wybarwionych jąder komórkowych (PS, *proportion score*) do siły ich wybarwienia (IS, *intensity score*). Suma PS i IS stanowi wynik (TS, *total score*). Inna klasyfikacja, ustanowiona w St. Gallen w 2013 roku, opiera się o ocenę odsetka wybarwionych jąder (tabl.1). Ocena ekspresji receptora HER-2 metodą immunohistochemiczną jest możliwa jedynie w materiale tkankowym. Wynik ekspresji receptora HER-2 jest przedstawiany w 4 stopniowej skali opracowanej przez ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) i CAP (*College of American Pathologists*), w których wynik 0 i 1+ oznacza wynik ujemny, 2+ niejednoznaczny, a 3+ jako dodatni (tabl. 2, tabl.3).

Do ceny procentowego wybarwienia komórek oceniającego stopień proliferacji stosuje się przeciwciała Ki67. Nie ustalono wartości punktu odcięcia wysokiej proliferacji i waha się ono od 20% do 29% (8, 18)

Tabela 1. Skala oceny barwienia immunopatologicznego receptorów steroidowych wg Allreda. (16)

| PS | Odsetek wybarwionych jąder | IS | Siła wybarwienia jąder komórkowych |
|------|----------------------------|---|------------------------------------|
| PS 0 | 0% | IS 0 | Brak |
| PS 1 | >0% - 1% | IS 1 | Słaba |
| PS 2 | 1% - 10% | IS 2 | Średnia |
| PS 3 | 11% - 33% | IS 3 | Silna |
| PS 4 | 34% - 66% | Interpretacja wyniku: - TS TS = IS + PS Ujemny TS = 0, 2, 3 Dodatni TS = 4,5,6,7,8,9 | |
| PS 5 | 67% - 100% | | |

PS- Odsetek wybarwionych jąder; IS- Siła wybarwienia jąder komórkowych, TS -Ostateczny wynik

Tabela 2. Skala oceny HER-2 i interpretacja ASCO. (19)

| Wynik | Wybarwienie błonowe | Interpretacja (stan receptora HER-2) |
|-------|---|--|
| 0 | Wybarwienie < 10% | Wynik ujemny |
| 1+ | | |
| 2+ | Słabe lub średnie wybarwienie $\geq 10\%$ | Wynik niejednoznaczny (graniczny), wymaga dalszego postępowania diagnostycznego – ocena metodą ISH z tego samego materiału lub ponownej oceny IHC, lub ISH z innego materiału badanego nowotworu |
| 3+ | Silne lub całkowite wybarwienie $\geq 10\%$ | Wynik dodatni |

Tabela 3 Ocena amplifikacji genu *HER-2* metodami hybrydyzacji *in situ*. (16)

| Wynik | Kryteria | |
|------------------------------|--|--|
| | Dla pojedynczej sondy | Dla podwójnej sondy |
| Ujemny (bez amplifikacji) | Średnia liczba kopi genu <i>HER-2</i> < 4,0 sygnałów na komórkę | Wskaźnik <i>HER-2/CEP17</i> < 2,0 i średnia liczba kopi genu <i>HER-2</i> < 4,0 sygnałów na komórkę |
| Niejednoznaczny | Średnia liczba kopii genu <i>HER-2</i> $\geq 4,0$ i < 6,0, sygnałów na komórkę | Wskaźnik <i>HER-2/CEP17</i> < 2,0 i średnia liczba kopi genu <i>HER-2</i> $\geq 4,0$ do < 6,0 sygnałów na komórkę ¹ |
| Dodatni (z amplifikacją) | Średnia liczba kopii genu <i>HER-2</i> $\geq 6,0$ sygnałów na komórkę ² | Wskaźnik <i>HER-2/CEP17</i> $\geq 2,0$, bez względu na średnią liczbę kopii genu <i>HER-2</i> lub średnia liczba kopii genu <i>HER-2</i> $\geq 6,0$ sygnałów na komórkę, bez względu na wskaźnik <i>HER-2/CEP17</i> |

1. Należy przeprowadzić ponowną ocenę metodą ISH w tym samym materiale lub wykonać nowe badanie IHC lub ISH w innym materiale z badanego nowotworu.
2. Ocenione w homogennej i ciągłej populacji w 10% lub więcej komórek raka naciekającego.

Tabela 4. Definicja podtypów naciekającego raka piersi na podstawie immunohistochemicznych surogatów. (16)

| Cecha | Luminalny rak piersi | | | | | Nie-luminalny rak piersi |
|-------|----------------------|-------------|-------|---------------------------|---------------------|--------------------------|
| | Luminalny A | Luminalny B | | HER-2- dodatni rak piersi | | |
| | | | | Luminalny HER-2+ | Nieluminalny HER-2+ | |
| ER | + | + | + | + | + | - |
| PgR | + | Każdy | <20% | Każdy | - | - |
| HER-2 | - | - | - | + | + | - |
| Ki67 | <20% | ≥20% | Każdy | Każdy | Każdy | każdy |

1.1 Historia zespołu metabolicznego.

Już starożytni Egipcjanie poszukiwali związku pomiędzy nadmiernym spożywaniem pokarmów a nagłym zgonem związanym z zatrzymaniem akcji serca. Uznaje się, że pierwszy przypadek ZM składający się hipertriglicydemii spowodowanej przez otyłość i nadmierne spożywanie mleka, powodujący nagłą śmierć sercową opisał żyjący w latach 1593-1674 holenderski lekarz Nicolaas Tulp. Po raz pierwszy, współwystępowanie hiperglikemii i nadciśnienia tętniczego jako zespołu zwiększające ryzyko zgonu opisał Kylin w 1923r, co stało się początkiem badań w tym kierunku. Otyłość brzuszna została powiązana z występowaniem cukrzycy, nadciśnienia tętniczego przez Vague, jak i polskiego badacza Jakuba Węgiełka. Reaven, jako pierwszy, w latach osiemdziesiątych XX wieku powiązał składowe zespołu metabolicznego takie jak:

zaburzenia gospodarki lipidowej, nietolerancji glukozy, nadciśnienia tętniczego i hiperinsulinemii z wysokim ryzykiem choroby niedokrwiennej serca. (20)

Historia nomenklatury powiązanych jednostek chorobowych również często się zmieniała i była określana m.in. kwartetem śmierci, zespołem dostatniego życia, zespołem X, zespołem oporności na insulinę, hipertriglicerydowego pasa bądź talii, *chaos syndrom* i ostatecznie nazywamy ją zespołem metabolicznym. Nazwa ZM została w 1998r. stanowiona przez Światową Organizację Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) (16, 20-22).

1.2 Definicja zespołu metabolicznego

Wszystkie składowe ZM są ze sobą powiązane i wzajemnie na siebie wpływają. Przewlekły brak aktywności fizycznej, nieprawidłowa dieta, prowadzą do otyłości, nadciśnienia tętniczego, insulinooporności, hiperinsulinemii, nieprawidłowej tolerancji glukozy, cukrzycy typu 2, zaburzeń lipidowych (zmniejszenia frakcji HDL [*high density lipoprotein*] cholesterolu, zwiększenie frakcji LDL cholesterolu [*low-density lipoprotein*], cholesterolu całkowitego jak i trójglicerydów). Wszystkie wcześniej opisane jednostki prowadzą do rozwoju miażdżycy, zwiększonej krzepliwości krwi czy stłuszczenia wątroby, co może skutkować chorobą niedokrwinną serca, udarami niedokrwinnymi ośrodkowego układu nerwowego, a także rozwojem nowotworów. (23)

Tak jak nazwa ZM, tak i definicja zmieniała się na przestrzeni czasu. WHO w 1998 jako pierwsza użyła nazwy ZM i podkreśliła główne składowe: zaburzenia gospodarki węglowodanowej i hiperinsulinemię, jako kryteria konieczne do postawienia tej diagnozy (20). Mikroalbuminuria, nadciśnienie tętnicze, otyłość centralna, dyslipidemia to kolejne

składowe ZM wyszczególnione przez WHO i rozpoznanie co najmniej dwóch powyższych plus nieprawidłowej gospodarki węglowodanowej i/lub hiperinsulinemii spełniało kryteria rozpoznania. Kolejną organizacją podkreślającą główne znaczenie hiperinsulinizmu i insulinooporności była EGIR (*European Group for the Study of Insulin Resistance*). Według tej klasyfikacji stwierdzenie powyższego zaburzenia jak i co najmniej 2 z następujących nieprawidłowości: nieprawidłowej tolerancji glukozy lub cukrzycy, otyłości centralnej, dyslipidemii i nadciśnienia tętniczego umożliwiało rozpoznanie ZM. Warto zauważyć, że EGIR rozdzieliła hiperinsulinemię/oporność komórek na insulinę z nieprawidłową gospodarką cukrową co pokazuje, że uznała ona nieprawidłowości insulinowe za jedną z głównych przyczyn zespołu (22). Kolejna definicja NCEP-ATP III (*Third Report of the National Cholesterol Education Program – NCEP, Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, Adult Treatment Panel III – ATP III*) wydana w 2001r. nie wymaga rozpoznania ani hiperinsulinemii, ani oporności komórek na insulinę oraz cukrzycy jako warunku koniecznego do rozpoznania ZM – zgodnie z jej kryteriami wystarczy stwierdzenie 3 z 5 czynników (otyłość centralna, hipertriglicydemia, obniżony poziom cholesterolu HDL, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca typ II lub glikemia na czczo większa niż 100mg/dl) (17, 20). Kolejno w historii, AACE (*American Association of Clinical Endocrinologist*) podkreśliła główne znaczenie zarówno nieprawidłowej tolerancji glukozy jak i nieprawidłowej glikemii na czczo jako wymogu koniecznego do rozpoznania zespołu i podkreśliła tym samym najważniejsze znaczenie tego czynnika w roli skutków ZM. AACE dołączyła również dodatkowe jednostki chorobowe, których obecność umożliwiła rozpoznanie zespołu takie jak: siedzący tryb życia, zespół policystycznych jajników, wywiad rodzinny w kierunku występowania cukrzycy typu II (20). W 2005 r dwie

organizacje wydały swoje definicje ZM: IDF (*International Diabetes Federation*) oraz NCEP-ATP III wg ANA/NHBLI (*American Heart Association, National Heart, Lung and Blood Institute*). IDF wyróżniła otyłość brzuszną jako najważniejszy czynnik, bez którego nie możemy rozpoznać ZM. IDF wymagała ponadto obecności 2 z 4 takich czynników jak hipertriglicerydemia, zmniejszone stężenie cholesterolu HDL, leczone nadciśnienie tętnicze lub podwyższone wartości ciśnienia tętniczego, rozpoznanie cukrzycy lub glikemia na czczo większa niż 100 mg/dl. NCEP-ATP III wg ANA/NHBLI nie wyróżniła (podobnie jak wcześniejsza klasyfikacja NCEP-ATP III z 2001r) konkretnego czynnika, bez którego nie można rozpoznać ZM. Opisywana klasyfikacja wymaga rozpoznania co najmniej 3 z 5 nieprawidłowości, które nie odbiegają od wcześniejszych (otyłość centralna, ciśnienie tętnicze, hipertriglicerydemia, niskie stężenie HDL, glikemia na czczo > 100 mg/dl). Klasyfikacja NCEP-ATP III wg ANA/NHBLI jest powszechnie uznawana i będzie dalej brana pod uwagę w niniejszej dysertacji (20). W 2022r główne znane polskie towarzystwa naukowe leczenia nadciśnienia tętniczego, dyslipidemii, otyłości i diabetologiczne opublikowały najnowszą definicję ZM. W definicji tej główną jednostką patogenną, bez której nie można rozpoznać ZM jest otyłość definiowana jako zwiększenie obwodu talii lub stwierdzenie otyłości wg BMI (*Body Mass Index*). Po rozpoznaniu pierwszego głównego kryterium, rozpoznanie 2 z 3 pozostałych nieprawidłowości takich jak: nadciśnienie tętnicze lub jego leczenia, podwyższony poziom nie-HDL cholesterolu lub leczenie dyslipidemii czy stany przedcukrzycowe lub stwierdzona cukrzyca, pozwala na postawienie rozpoznania ZM według tej najnowszej definicji (wykres nr 1) (17).

1.3 Otyłość a rak piersi

Otyłość zwiększa ryzyko wystąpienia raka piersi szczególnie ER dodatniego. Nadmierna ilość tkanki tłuszczowej zaburza funkcjonowanie układu immunologicznego poprzez wydzielanie adipocytokin takich jak leptyny, rezystyny, czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF- α), interleukiny 6 (IL-6), IL-8, IL-1, a także powoduje deregulację cytokin przeciwzapalnych, adinoponektyny, IL-10, SFRP5 (*secreted frizzled-related protein 5*) (23-26). Obserwowana w otyłości nadmierna ekspresja insulinopodobnego czynnika wzrostu (*IGF-1, insulin-like growth factor 1*) i białka wiążącego IGF-1 prowadzi do insulinooporności, jak i zwiększenia poziomu estrogenów, czyli hormonu przewlekłe pobudzającego komórki gruczołu piersiowego (27). Otyłość u kobiet skutkuje zmniejszeniem produkcji glikoproteiny wiążącej hormony płciowe (SHBG), co zwiększa frakcję wolnego estradiolu (28). Po menopauzie, im większa jest ilość tkanki tłuszczowej, tym większe są stężenia estradiolu i estronu; związane jest to między innymi z konwersją testosteronu w adipocytach do estronu (29). Zaburzona równowaga pomiędzy cytokinami prozapalnymi a przeciwzapalnymi w połączeniu z nadmiernym uwalnianiem estrogenów, powoduje uruchomienie licznych szlaków molekularnych mogących powodować nowotworzenie (30).

Rozmieszczenie tkanki tłuszczowej w przebiegu otyłości ma również duże znaczenie. Otyłość centralna, brzuszno - trzewna rozpoznawana jest, gdy obwód talii wynosi co najmniej 80 cm u kobiet i co najmniej 94 cm u mężczyzn. Wiąże się z mniejszym ryzykiem wystąpienia raka piersi niż w otyłości o budowie gynoidalnej gdzie tkanka tłuszczowa zlokalizowana jest w okolicy pośladkowo – udowej (31,32).

Aktywacja układu renina – angiotensyna (RAS, *renin-angiotensin system*) u otyłych kobiet może powodować aktywację odczynu zapalnego uogólnionego, jak i lokalnego w

tkance tłuszczowej piersi. W związku z możliwością hamowania układu RAS stosowanymi w leczeniu nadciśnienia tętniczego inhibitorów konwertazy angiotensyny ACE-I (*angiotensin converting enzyme inhibitors*) jak i blokerów receptora angiotensyny ARB (*angiotensin receptor blockers*) ich stosowanie jest obecnie przedmiotem badań jako komponent do leczenia przeciwnowotworowego w przebiegu raka piersi (33).

Zaburzenia w układzie immunologicznym przy nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej mają odzwierciedlenie w immuno-onkologii. W retrospektywnych obserwacjach zauważono, że pacjenci otyli leczeni przeciwciałami anty-PD-1 (*programmed death receptor 1*) lub anty-PD-L1 (*programmed death-ligand 1*) z rozpoznaniem czerniakiem mają lepsze wyniki przeżycia wolnego od progresji (PFS, *progression-free survival*) i przeżycia całkowitego (OS, *overall survival*) niż osoby z prawidłowym BMI (34). Niemniej jednak otyłość jak wcześniej opisano może być czynnikiem inicjującym proces kancerogenezy jak i progresję choroby (35). Oczywiście, wyników tych nie możemy bezpośrednio przenieść na postępowanie terapeutyczne u chorych na raka piersi, ale pokazują wpływ tkanki tłuszczowej na zaburzenia układu immunologicznego u osób z chorobą nowotworową.

Rozróżniamy trzy rodzaje adipocytów: komórki prekursorowe adipocytów, macierzyste komórki tłuszczowe (ADSC, *adipose-derived stem cells*) i dojrzałe adipocyty. Badania pokazują, że komórki tłuszczowe występujące w mikrośrodowisku nowotworu (TME, *tumor microenvironment*) mają inny charakter niż komórki adipocytów. Komórki z tkanki tłuszczowej środowiska guza są zazwyczaj mniejsze, mają małe i bardziej rozproszone zawartość kropli tłuszczu w komórce, wykazują zwiększoną ekspresję mRNA (*messenger RNA*) dla kolagenu VI i zmniejszoną ilość receptorów dla adiponektyny (ADN). Komórki w tej lokalizacji nazywane są komórkami zależnymi od nowotworu (23).

1.4 Cukrzyca a rak piersi

W Europie, cukrzyca występuje u około 9,1 % kobiet (35). Najczęściej rozpoznawana jest cukrzyca typu 2 (około 90% przypadków), związana z insulinoopornością tkanek i hiperinsulinizmem. Natomiast, w cukrzycy typu 1 występuje niedobór insuliny związany z autoimmunologicznym zniszczeniem komórek B wysp trzustkowych (36). W wielu przeprowadzonych badaniach oceniających częstość występowania raka piersi u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą typu 2 dane są sprzeczne i w części z nich stwierdza się o 15 – 20% większe ryzyko zachorowania, a w innych nie stwierdzono takiej zależności (37 – 42). W metaanalizach szacuje się, że pacjentki z rozpoznaną cukrzycą mają o 23% większe ryzyko życiowe wystąpienia raka piersi w porównaniu z pacjentkami bez rozpoznania tej choroby przewlekłej (41). W licznie przeprowadzonych badaniach związku występowania raka piersi z cukrzycą stwierdzono, że choroba nowotworowa u pacjentów z rozpoznaną cukrzycą jest częściej diagnozowana jest w wyższym stopniu zaawansowania i wiąże się z około 30-60 % większą śmiertelnością. Zwiększenie śmiertelności szczególnie często obserwowane jest u pacjentek z nieprawidłowymi poziomami glukozy we krwi (42). Częstsze występowanie raka piersi u pacjentów z cukrzycą związane jest najczęściej ze zbyt wysokim wskaźnikiem BMI, siedzącym trybem życia oraz nieprawidłową dietą (41).

In vitro stwierdzono, że insulina, oprócz opisywanego efektu metabolicznego, ma również działanie mitogenne. Insulina poprzez pobudzenie IGF-1 może powodować nadmierną proliferację i tworzenie się komórek nowotworowych w nabłonku wyściełającym przewody mlekowe. IR-A (*Insulin receptor- A*) i IR-B (*Insulin receptor- B*) to dwie izoformy receptora insulinowego. Dziesięć razy częściej stwierdzaną izoformą receptora insulinowego w komórkach nowotworowych raka piersi jest izoforma IR-A. Izofoma ta częściej

niż receptor IR-B może mieć negatywny, proproliferacyjny wpływ na komórki (32, 43, 44). Insulinooporność jak i hiperinsulinemia powoduje obniżenie stężenia białka wiążącego hormony płciowe (*SHBG, sex hormone binding globulin*) i powoduje zwiększenie w surowicy hormonów steroidowych (estradiolu), przez co zwiększa ryzyko rozwoju nowotworów hormonozależnych, takich jak rak piersi czy rak endometrium (45).

Metformina jako jeden z głównych leków stosowanych w cukrzycy typu 2, może zmniejszać ryzyko wystąpienia raka piersi szczególnie hormonozależnego, a także może mieć pozytywny wpływ na wyniki leczenia onkologicznego. Uważa się, że antyproliferacyjne działanie metforminy wiąże się z aktywowaniem AMPK (*activated protein kinase*), co powoduje zmiany metabolizmu tlenowego komórki i hamowanie proliferacyjnego szlaku mTOR (65-67). Nie stwierdzono, aby stosowanie insuliny zwiększało ryzyko wystąpienia nowotworów, czy pogarszało rokowanie oraz nie stwierdzono częstszego występowania któregoś z podtypu RP u pacjentek z cukrzycą po menopauzie (46-51).

1.5 Nadciśnienie tętnicze a rak piersi

Wiele badań pokazuje, że wzrost ciśnienia tętniczego zwiększa ryzyko wystąpienia wielu nowotworów, w tym raka piersi w okresie pomenopauzalnym (42). W metaanalizach stwierdzono, że kobiety z nadciśnieniem tętniczym w fazie pomenopauzalnej w odróżnieniu od kobiet w okresie premenopauzalnym z nadciśnieniem tętniczym mają o 15% większe ryzyko wystąpienia raka piersi. Rozpatrywanych jest kilka hipotez wyjaśnieniem tego zjawiska. Jedna z nich twierdzi, że związane jest ono z możliwymi innymi szlakami metabolizmu estrogenów w trakcie występowania zbyt wysokiego ciśnienia krwi (52, 53). Kolejna z hipotez wskazuje na częste współistnienie otyłości u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i tworzeniem przez adipocyty cytokin prozapalnych, co powoduje przewlekły stan zapalny mogący indukować proces kancerogenezy (54-56). Inna teoria z publikowanych badań związana jest z możliwym efektem blokowania apoptozy komórek przez długotrwałe nadciśnienie tętnicze zaburzając ich prawidłowy rytm życia komórkowego (57,58). Przeprowadzono wiele badań oceniających skuteczność stosowania leczenia obniżającego ciśnienie tętnicze. Badania te prowadziły do sprzecznych wniosków; od zmniejszenia ryzyka raka piersi, poprzez np. stosowanie blokerów kanału wapniowego aż po całkowity brak wpływu takiego leczenia na redukcję ryzyka wystąpienia raka piersi. Ostatecznie, w metaanalizach po długim okresie obserwacji nie stwierdzono związku pomiędzy stosowaniem leków hipotensyjnych a zmniejszeniem ryzyka wystąpienia raka piersi (59-64).

1.6 Zaburzenia lipidowe a rak piersi.

W niektórych przeprowadzonych badaniach, hipercholesterolemia jak i otyłość zwiększają ryzyko zachorowania na ER dodatniego raka piersi, jak i zmniejszoną odpowiedź na leczenie onkologiczne. Inne badania zależności ryzyka raka piersi od hipercholesterolemii nie potwierdzają tej zależności. Stwierdzono nawet, że wzrost stężenia osoczowego cholesterolu zmniejsza ryzyko raka piersi (65-72). Podobnie jak uzyskano różne wyniki co do zwiększenia ryzyka wystąpienia raka piersi ze wzrostem osoczowego stężenia cholesterolu, wykazano również rozbieżne wyniki co do ryzyka raka piersi u kobiet z podwyższonym poziomem LDL-C (69,73-76).

Zależność pomiędzy dietą o wysoką zawartością cholesterolu a szybszym wzrostem guza i szybszym powstawaniu przerzutów raka piersi zauważono już w badaniach na myszach MMTV-PyMT (77). Jeden z głównych metabolitów cholesterolu 27-hydroksycholesterol (27HC) łączyć się może z receptorem ER jak i z receptorem X wątroby powodując niezależny wzrost komórek nowotworowych, jak i zależnych od receptora X przerzutów raka w wątrobie w badanej populacji myszy laboratoryjnych z rakiem piersi (65). 27HC jak i inny metabolit oksysterol są produkowane z cholesterolu za pomocą cytochromu P450 27A1 (CYP27A1)(78). Zauważono, że podwyższenie poziomu cholesterolu, zgodnie z kryteriami zwiększonego ryzyka choroby sercowo-naczyniowej jak i osoczowego poziomu cholesterolu LDL, związane jest ze zwiększeniem 27HC we krwi. W przypadku wysokiego poziomu cholesterolu HDL nie zauważono takiej relacji (79).

W hipercholesterolemii dochodzi ponadto do tworzenia się reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*) które mogą powodować progresję raka piersi. W tworzeniu ROS uczestniczy oksygenaza ksantynowa (XO). W ostatnich badaniach *in vitro*

i *in vivo* na myszach stwierdzono, że zastosowanie febuksostatu jako inhibitora XO zmniejsza tworzenie ROS w warunkach hipercholesterolemii i zmniejsza migrację komórek nowotworowych, jak i częstość przerzutów do płuc (80).

Zarówno glikozowanie cząsteczek HDL jak i reakcje utleniania lipoprotein mogą być prowadzone przez różne szlaki prozapalne. Mogą prowadzić one do powstania i proliferacji komórek nowotworowych (81). Zastosowanie w badaniach leków z grupy statyn w celu próby zmniejszenia proliferacji komórek nowotworowych przyniosło zmniejszenie poziomu osocznego cholesterolu całkowitego, LDL cholesterolu jak i 27HC, ale nie przełożyło się na lepsze wyniki leczenia mierzone zmniejszeniem wskaźnika proliferacji Ki67(79). Wstępnie, badane były *in vitro* inhibitory cytochromu CYP27A1 takie jak posakonazol, anastrozol jako cząsteczki o działaniu przeciwnowotworowym. Cytochrom ten kodowany jest przez gen CYP27A1 i, w tak zwanym szlaku kwasowym, uczestniczy w produkcji 27-hydroksycholesterolu z cholesterolu. Uważa się, że inhibicja szlaku powstawania 27HC ma znaczenie przeciwnowotworowe (82). Zauważono, że zwiększona ekspresja CYP27A1 na komórkach mikrośrodowiska guza szczególnie u pacjentek po 50 roku życia, chorujących na ER dodatniego raka piersi wiąże się z dłuższymi odpowiedziami na leczenie i dłuższym OS (79).

W światowym piśmiennictwie znajdujemy dużo powiązań między składowymi zespołu metabolicznego, hipercholesterolemii i otyłości pomiędzy ryzykiem zachorowania, rokowania i przebiegu leczenia onkologicznego RP ER-dodatniego. Dane dotyczące powiązania pomiędzy tymi zaburzeniami a zachorowaniem na RP HER-2 dodatniego są nieliczne, dlatego skłoniło mnie do podjęcia badań w tym kierunku.

Wykres nr 1. Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego wg zaleceń polskich towarzystw naukowych z 2022r. (17)

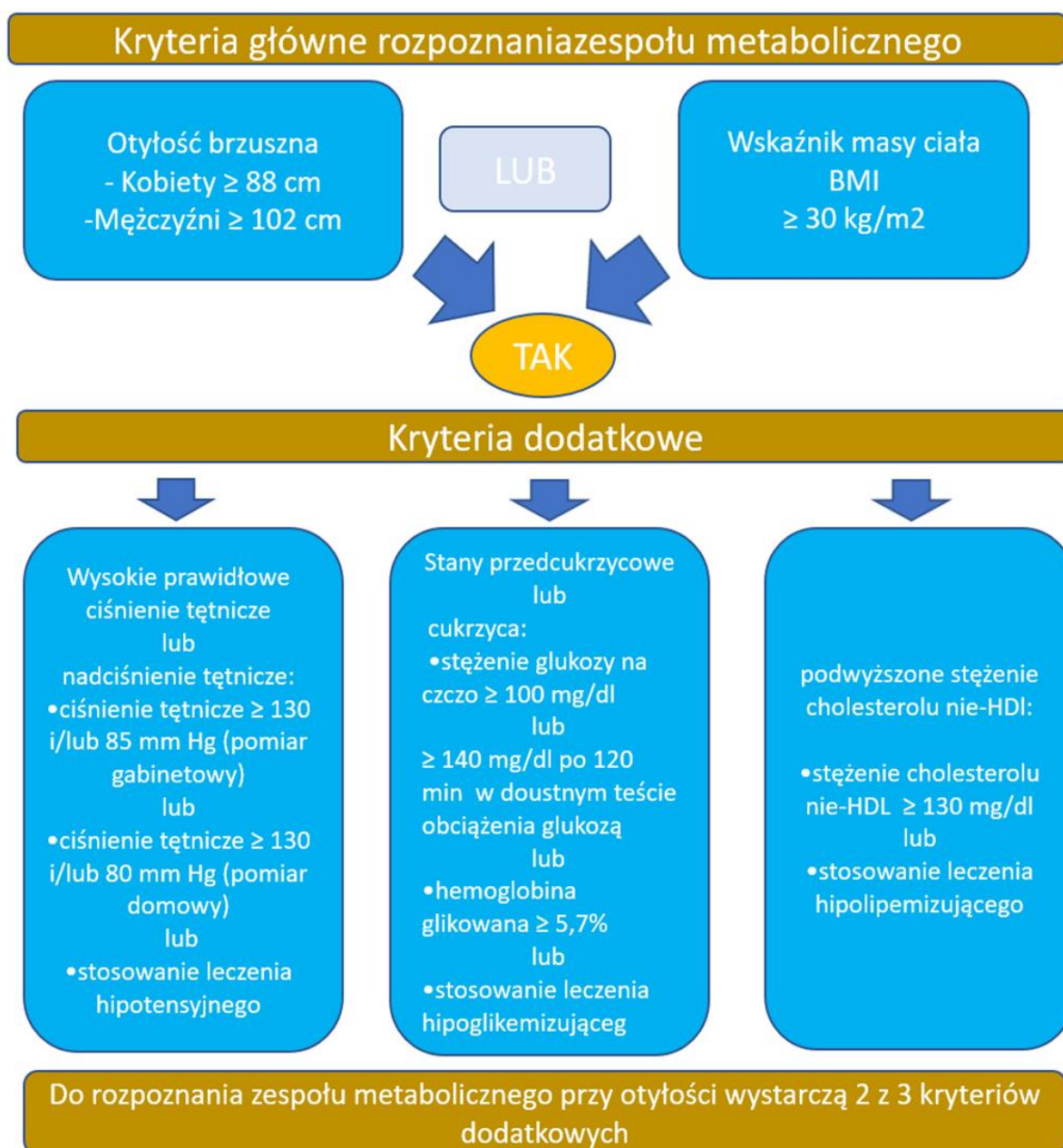


Tabela 5. Kryteria diagnostyczne zespołu metabolicznego wg różnych organizacji (20).

| WHO (1998r) | EGIR (1999r) | NCEP-ATP III (2001r) | AACE (2003r) | IDF (2005r) | NCEP-ATP III wg ANA/NHBLI (2005r) |
|--|--|--|--|---|---|
| Warunek konieczny do rozpoznania: | | | | | |
| IGF: glikemia na czczo ≥ 110 mg/dl i < 126 mg/dl lub glikemia 2 godziny po obciążeniu glukozą <140 mg/dl, IGT: glikemia na czczo ≤ 126 mg/dl lub glikemia 2 godziny po obciążeniu glukozą <140 mg/dl i < 200 mg/dl; DM2: glikemia na czczo > 126 mg/dl lub glikemia 2 godziny po obciążeniu glukozą > 200 mg/dl insulinooporność. | Insulinooporność: stężenie insuliny w osoczu krwi > 75 percentyla | | IGT lub IFG (ale nie DM2) | Otyłość centralna: obwód talii > 94 cm (M), >80 cm (K) w populacji europejskiej lub BMI > 30 kg/m ² | |
| Plus co najmniej 2 z poniższych: | Plus co najmniej 2 z poniższych: | Rozpoznanie 3 z 5 poniższych: | Plus 1 z poniższych czynników: | Plus co najmniej 2 z 4 czynników: | Rozpoznanie 3 z 5 poniższych: |
| Otyłość centralna: WHR $> 0,9$ (M), $> 0,85$ (K) i/lub BMI > 30 kg/m ² | Otyłość centralna obwód talii ≥ 94 cm(M), ≥ 80 cm (K) | Otyłość centralna obwód > 102 cm (M) >88 cm (K) | Nadwaga lub otyłość BMI ≥ 25 kg/m ² | Glikemia na czczo ≥ 100 mg/dl Rozpoznana cukrzyca | Otyłość centralna obwód talii >102 cm (M), >88 cm (K) |
| Dyslipidemia: TG ≥ 150 mg/dl i/lub HDL <39 mg/dl (M i K) | Dyslipidemia: TG ≥ 150 mg/dl HDL < 39 mg/dl (M i K) | TG > 150 mg/dl HDL < 40 mg/dl (M) | Dyslipidemia: TG ≥ 150 mg/dl HDL < 40 mg/dl(M) | TG > 150 mg/dl lub leczenie triglicydemii HDL < 40 mg/dl (M) < 50 mg/dl (K) | TG > 150 mg/dl Lub leczenie nieprawidłowości HDL < 40 mg/dl (M) < 50 mg/dl (K) |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | < 50 mg/dl (K) | <50 mg/dl (K) | Lub leczenie niskiego HDL | Lub prowadzone leczenie nieprawidłowości |
| Ciśnienie tętnicze \geq 140/90 mmHg | Ciśnienie tętnicze \geq 140/90 mmHg lub nadciśnienie tętnicze | Ciśnienie tętnicze \geq 130/85 mmHg | Ciśnienie tętnicze \geq 130/85 mmHg | Ciśnienie tętnicze \geq 130/85 mmHg lub leczenie nadciśnienia tętniczego | Ciśnienie tętnicze \geq 130/85 mmHg lub leczenie nadciśnienia tętniczego |
| Mikroalbuminuria: \geq 20 μ /min lub stosunek stężenia albuminy do kreatyniny \geq 30 mg/g | Glikemia na czczo \geq 110 mg/dl, IGF lub IGT, nieobecność cukrzycy | Glikemia na czczo \geq 110 mg/dl Rozpoznana cukrzyca | Inne czynniki ryzyka: DM2 w rodzinie, PCOS, Siedzący tryb życia Podeszły wiek | | Glikemia na czczo \geq 100 mg/dl Rozpoznana cukrzyca |

WHO (World Health Organization) – Światowa Organizacja Zdrowia; EGIR (European Group for the Study of Insulin Resistance) – Europejska Grupa Badań Insulinooporności; NCEP-ATP III (Third Report of the National Cholesterol Education Program – NCEP, Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, Adult Treatment Panel III – ATP III) – III Raport Narodowego Programu Edukacji Cholesterolowej na temat Wykrywania, Oceny i Leczenia Hipercholesterolemii u Osób Dorosłych”; ACCE (American Association of Clinical Endocrinologists) – Amerykańskie Towarzystwo Endokrynologów Klinicznych; IDF (International Diabetes Federation) – Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna; Zmodyfikowane kryteria NCEP-ATP III wg AHA/NHLBI (American Heart Association, National Heart, Lung and Blood Institute) – Amerykańskiego Towarzystwa Kardiologicznego i Narodowego Instytutu Kardiologii, Pulmonologii i Hematologii.; IFG (impaired fasting glucose) – nieprawidłowa glikemia na czczo; IGT (Impaired glucose tolerance) – nieprawidłowa tolerancja glukozy; DM2 (Diabetes mellitus type 2) – cukrzyca typu 2; WHR (waist to hip ratio) wskaźnik talia – biodro; TG -triglicerydemia; HDL (high – density lipoproteins) – lipoproteiny o wysokiej gęstości; M – mężczyźni; K- Kobiety; BMI (body mass index) wskaźnik masy ciała; PCOS (polycystic ovary syndrome) – zespół policystycznych jajników.

2 Cele Pracy

- 2.1 Ocena częstości występowania zespołu metabolicznego u pacjentek chorych na raka piersi z nadekspresją receptora/amplifikacją genu *HER-2* w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi *HER-2* ujemnego.
- 2.2 Ocena częstości podwyższonego stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego lub leczenia hipercholesterolemii u pacjentek chorych na raka piersi z nadekspresją receptora/amplifikacją genu *HER-2* w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi *HER-2* ujemnego.
- 2.3 Ocena częstości występowania otyłości i/lub nadwagi wg BMI u pacjentek chorych na raka piersi z nadekspresją receptora/amplifikacją genu *HER-2* w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi *HER-2* ujemnego.

3 Grupa badana i metody badawcze.

3.1 Grupa pacjentów.

W związku z uzyskaniem zgody Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badania do prospektywnej obserwacji, zostało włączonych 196 pacjentek ze noworozpoznanym rakiem piersi niezależnie od podtypu, w stopniu zaawansowania od I do III według TNM. Grupę badaną stanowiły wyłącznie kobiety, leczone w Pododdziale Onkologii Kliniki Chirurgii Piersi Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi w latach 2018 -2019 r. Przy włączeniu do badania, po podpisaniu świadomej zgody, pacjentki uzupełniały ankietę dotyczącą między innymi towarzyszących chorób oraz przyjmowanych leków. Badanie przedmiotowe obejmowało pomiary obwodu talii, ciśnienia tętniczego, wykonywano także badania laboratoryjne na czczo oceniające profil lipidowy oraz glukozę. U pacjentek oceniano status menopauzalny. Kryterium menopauzy przyjęto zgodne z definicją WHO. Za pacjentki pomenopauzalne uznawane były kobiety u których nie występowało krwawienie miesięczne od ponad 12 miesięcy. Chore w wieku od 44 do 56 roku życia u których czas od ostatniej miesiączki był krótszy niż 12 miesięcy, miały wykonywane badania hormonalne FSH (*folitropina*), LH (*lutropina*) i estradiol w celu określenia statusu menopauzalnego. (tabela 13)(86)

3.2 Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego.

W niniejszej dysertacji, do oceny rozpoznawania ZM przyjęto klasyfikację NCEP-ATP III wg ANA/NHLBI jako jedną z najnowszych i powszechnie uznaną.

Tabela 6. Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego u kobiet.

| Klasyfikacja NCEP-ATP III wg ANA/NHLBI | |
|--|--|
| Obwód talii | >88cm |
| Stężenie osoczowe triglicerydów | >150 mg/dl lub leczenie hipertriglicydemii |
| Stężenie osoczowe HDL | <50 mg/dl lub leczenie zbyt niskiego stężenia osoczowego HDL |
| Ciśnienie tętnicze | ≥130/85 mmHg lub leczenie nadciśnienia tętniczego. |
| Stężenie glukozy we krwi żyłnej na czczo | ≥ 100 mg/dl lub leczenie cukrzycy. |

NCEP-ATP III wg AHA/NHLBI (American Heart Association, National Heart, Lung and Blood Institute) – Amerykańskiego Towarzystwa Kardiologicznego i Narodowego Instytutu Kardiologii, HDL (*high – density lipoproteins*) – lipoproteiny o wysokiej gęstości; mg/dl – miligramy/decylitr; mmHg -milimetry słupa rtęci

3.3 Pomiar obwodu talii

Obwód talii mierzony był w połowie odległości między dolnym ostatnim zębem a górnym brzegiem grzebienia kości biodrowej.

3.4 Pomiar osoczowych stężeń triglicerydów, cholesterolu całkowitego i lipoproteiny o wysokiej gęstości HDL.

Krew na oznaczenie stężenia HDL w osoczu była pobierana na czczo - minimum 12 godzin bez spożywania posiłku. Grupa badana nie spożywała alkoholu w ciągu 72h przed pobraniem oraz nie zmieniała nawyków żywieniowych przed badaniem laboratoryjnym. Materiałem badawczym była krew żylna. Oznaczenia wykonywane metodą spektrofotometryczną.

3.5 Pomiar ciśnienia tętniczego

Ciśnienie tętnicze mierzone na lewej kończynie górnej, mankietem na wysokości serca. Pacjentki z grupy badanej nie spożywały wyrobów z kofeiną w dniu badania i nie paliły wyrobów tytoniowych co najmniej 30 minut przed badaniem. Pomiar wykonywany był w pozycji siedzącej po 5 minutowym odpoczynku.

3.6 Pomiar stężenia glukozy

Oznaczenie stężenia glukozy we krwi żyłnej oceniane było metodą spektrofotometryczną z tej samej próbki krwi co oznaczenia profilu lipidowego.

3.7 Obliczanie wskaźnika BMI.

Wskaźnik BMI obliczano poprzez podzielenie masy ciała w kilogramach przez kwadrat wysokości ciała w metrach (Tabela 7).

Tabela 7. Klasyfikacja masy ciała osób dorosłych na podstawie BMI. (21).

| Kategoria | BMI kg/m ² | Waga ciała |
|-----------------------|-----------------------|------------|
| Wyglodzenie | <16,0 | Niedowaga |
| Wychudzenie | 16,00 – 16,99 | |
| Niedowaga | 17,00-18,49 | |
| Prawidłowa masa ciała | 18,5- 24,99 | Optymalna |
| Nadwaga | 25,0 – 29,99 | Otyłość |
| Otyłość I st | 30,0 -34,99 | |
| Otyłość II st | 35,0- 35,99 | |
| Otyłość III st | >40,0 | |

BMI (*body mass index*)- wskaźnik masy ciała; kg/m²- kilogramy/metr²

3.8 Określanie stanu receptora HER-2.

Ocena ekspresji receptora HER-2 jest obok ekspresji receptorów steroidowych jednym z głównych czynników predykcyjnych i prognostycznych. Materiał do badania patomorfologicznego pochodził z guza pierwotnego. W grupie badanej były pacjentki kwalifikowane do leczenia neoadjuwantowego i adjuwantowego, dlatego materiał tkankowy pochodził bądź z biopsji gruboigłowej guza piersi, bądź z materiału pooperacyjnego raka piersi. W celu określenia podtypu molekularnego używano metody immunohistochemicznej barwienia receptora HER-2 oraz w przypadku granicznego wyniku oceniano metodą CISH amplifikację genu *HER-2* (*chromogenic in situ hybridization*). Wyniki określone były w skali oceny *American Society of Clinical Oncology* (2013) przedstawionej w Tabeli 2 i 3.

Dla potrzeb niniejszego opracowania przyjęto, że sformułowanie „HER-2 dodatni” odnosi się do nadekspresji receptora HER-2 lub amplifikacji genu *HER-2*, a sformułowanie „HER-2 ujemny” odpowiada ekspresji receptora HER-2 z wynikiem 0, 1 lub 2 bez amplifikacji genu *HER-2*.

Tabela nr 8 . Test HER-2 walidowana sondą ISH (dual probe)(18)

| HER-2/CEP17 wskaźnik $\geq 2,0$ | | | | HER-2/CEP17 wskaźnik < 2 | | | | | | | | |
|--|--|----|-------------------------------|--------------------------------------|--|----|-----------------------------|---------|---|----|-------------------------------|---------|
| Grupa 1 HER-2 \geq 4,0 syg./kom | Grupa 2 HER-2 $< 4,0$ syg./kom | | | Grupa 3 HER-2 $\geq 6,0$ syg./kom | | | | | Grupa 4 HER-2 $\geq 4,0 < 6,0$ syg./kom | | | |
| | IHC:HER2 | | | | | | | | | | | |
| | 0 | 1+ | 2+ | 3+ | 0 | 1+ | 2+ | 3+ | 0 | 1+ | 2+ | 3+ |
| | Ujemny Z komentarzem | | Drugi pomiar 20 kom | Dodatni | Ujemny z komentarzem: Nie ma wystarczających danych skuteczności terapii celowanej HER-2 w przypadkach, gdy współczynnik HER-2 wynosiła $< 2,0$ w przypadku nadmiernej ekspresji białka, ponieważ tacy pacjenci nie byli uprawnieni do pierwszej generacji badań klinicznych z trastuzumabem w leczeniu pooperacyjnym. Przy równoczesnej ocenie IHC wynikiem ujemnym (0-1+), materiał zaleca się uznać za HER-2-ujemny. | | Drugi pomiar 20 kom. | Dodatni | Ujemny: Z komentarzem: | | Drugi pomiar 20 kom. | Dodatni |
| | | | Inny: \uparrow Inna grupa | | | | Inny: \uparrow Inna grupa | | | | Inny: \uparrow Inna grupa | |
| | | | To samo: Ujemny z komentarzem | | | | To samo: Dodatni | | | | To samo: Ujemny z komentarzem | |
| | Dowody są ograniczone na skuteczność terapii celowanej HER-2 w małej podgrupie przypadków ze wskaźnikiem HER-2/CEP17 $\geq 2,0$ i średnią liczbą kopii HER-2 $< 4,0$ na komórkę. W pierwszej generacji badań klinicznych z trastuzumabem w leczeniu pooperacyjnym, chore z tej podgrupy, które przydzielono do grupy otrzymującej trastuzumab, nie wykazywały poprawy w zakresie | | | | | | | | Nie jest pewne czy pacjenci, u których średni stosunek sygnałów HER-2 na komórkę znajduje się pomiędzy $\geq 4,0$ i $< 6,0$ i stosunek HER-2/CEP17 $< 2,0$, odnoszą korzyści z terapii celowanej HER-2 przy braku nadmiernej ekspresji białka (IHC3+). Jeśli wynik badania materiału jest zbliżony do progu współczynnika ISH dla wyniku dodatniego, istnieje większe prawdopodobieństwo, że | | | |

| | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|---|--|--|
| | <p>DFS lub OS, ale było zbyt mało takich przypadków, aby wyciągnąć ostateczne wnioski. Należy wykonać oznaczenie ekspresji HER-2 metodą immunohistochemiczną w uzupełnieniu do ISH i określić stan HER-2. Jeżeli wynik HER-2 nie jest na 3+, zaleca się, aby próbkę uznać za HER-2 ujemną z uwagi na małą liczbę kopii <i>HER-2</i> przez ISH i brak nadekspresji białka</p> | | | | | <p>powtórzenie badania spowoduje inny wynik przez zwykły przypadek. Dlatego gdy wyniki IHC nie są na 3+, zaleca się, aby materiał uznać za HER-2 ujemny bez dodatkowych badań na tym samym materiale.</p> | | |
|--|--|--|--|--|--|---|--|--|

IHC- immunohistochemistry; CEP17 -sonda dla centromeru chromosomu 17; HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; syg./kom – sygnał na komórkę;

3.9 Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, w której dla cech mierzalnych (osoczowe stężenie cholesterolu w mg/dl i BMI w kg/m²) wyznaczono: średnią arytmetyczną, medianę, dominantę (moda), minimum, maksimum, kwartył pierwszy, kwartył trzeci, odchylenie standardowe, współczynnik zmienności oraz skośność, zaś dla cech jakościowych (nadekspresja receptora HER-2 i występowanie ZM) ich rozkład ilościowo-procentowy (wskaźniki struktury). Do weryfikacji hipotez statystycznych zastosowano: test niezależności, test dla porównań wskaźników struktury oraz test do porównania średnich wartości badanej cechy dla grup zmiennych nie powiązanych (test t-Studenta lub test Manna-Whitneya). Przy pomocy testu Shapiro-Wilka dokonano oceny normalności rozkładu badanych cech, zaś na podstawie testu oceniono równość (jednorodność) wariancji. W obliczeniach przyjęto poziom istotności $p < 0,05$ jako istotny statystycznie. Wszystkie obliczenia zostały wykonane w programach MS Excel oraz Statistica 13.3. (86,87).

4 Wyniki

4.1 Charakterystyka pacjentek z rakiem piersi z grupy badanej.

Mediana wieku pacjentek w badanej grupie wynosiła 60 lat (tabela 9).

Tabela 9. Mediana wieku grupy badanej

| Wiek pacjentek | N | Mediana wieku |
|----------------|-----|---------------|
| 24 – 86 lat | 196 | 60,1 |

N – liczebność

Wynik HER-2 dodatni stwierdzony był u 21,9% pacjentek (Tabela 10).

Tabela 10. Procentowy rozkład podtypów RP w badanej populacji.

| Podtyp RP | N | % |
|--------------|-----|------|
| HER-2 + | 43 | 21,9 |
| ER+ | 133 | 67,8 |
| ER+, HER-2 – | 113 | 57,6 |
| ER+, HER-2 + | 20 | 10,2 |
| ER-, HER-2 + | 23 | 11,7 |
| ER-, HER-2 – | 40 | 20,4 |

RP – Rak piersi; HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; ER- receptor estrogenowy ; PR: receptor progesteronowy; N – liczebność

Tabela 11. Procentowy rozkład stopni zaawansowania raka piersi w badanej populacji

| Stopień zaawansowania | N | % |
|-----------------------|----|------|
| IA | 50 | 25,5 |
| IB | 7 | 3,5 |
| IIA | 56 | 28,5 |
| IIB | 34 | 17,3 |
| IIIA | 28 | 14,2 |
| IIIB | 11 | 5,6 |
| IIIC | 8 | 4 |

N – liczebność

Tabela 12. Procentowy rozkład zastosowanych metod leczenia neoadjuwantowego i adjuwantowego raka piersi w badanej populacji

| Metoda lecznicza | N | % |
|------------------|-----|------|
| Chemioterapia | 105 | 53,5 |
| Hormonoterapia | 127 | 64,7 |
| Radioterapia | 105 | 58,6 |

N – liczebność

Tabela 13. Procentowy rozkład statusu menopauzalnego w grupie badanej

| Status menopauzalny | N | % | Średnia wieku menopauzy w populacji badanej |
|---------------------|-----|------|---|
| Przedmenopauzalne | 62 | 31,6 | 50,9 r.ż. |
| Pomenopauzalne | 134 | 68,3 | |

N – liczebność

Tabela 14. Rozkład liczbowy i procentowy częstości zwiększonego obwodu talii w u chorych na RP HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego.

| Typ RP | < 88 cm | | ≥ 88 cm | |
|---------------|---------|------|---------|------|
| | N | % | N | % |
| HER-2 dodatni | 8 | 20 | 32 | 80 |
| HER-2 ujemny | 13 | 9,5 | 125 | 90,5 |
| Suma | 21 | 11,7 | 157 | 88,2 |

RP- Rak piersi; HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; N – liczebność

Tabela 15. Rozkład liczbowy i procentowy częstości podwyższonego poziomu triglicerydów lub leczenia hipertriglicydemii i obniżonego poziomu cholesterolu HDL lub jego leczenie u chorych na RP HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego.

| Typ RP | Stężenie osoczowe triglicerydów ≥ 150 mg/dl | | Stężenie osoczowe triglicerydów < 150 mg/dl | | Stężenie osoczowe HDL < 40 mg/dl | | Stężenie osoczowe HDL ≥ 40 mg/dl | |
|------------------|---|------|---|------|----------------------------------|------|----------------------------------|------|
| | N | % | N | % | N | % | N | % |
| RP HER-2 dodatni | 11 | 27,5 | 29 | 72,5 | 7 | 17,5 | 33 | 82,5 |
| RP HER-2 ujemny | 32 | 23,1 | 106 | 76,8 | 21 | 15,2 | 117 | 84,7 |
| Suma | 43 | 24,5 | 135 | 75,8 | 28 | 15,7 | 150 | 84,2 |

mg/dl – miligramy/decylitr; HDL lipoproteina o dużej gęstości (*high – density lipoproteins*); HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; RP – rak piersi; N – liczebność

Tabela 16. Rozkład liczbowy i procentowy podwyższonego poziomu ciśnienia tętniczego krwi lub leczenia nadciśnienia tętniczego u chorych na RP HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego.

| Typ RP | Ciśnienie tętnicze < 130/85 mmHg | | Ciśnienie tętnicze \geq 130/85 mmHg lub leczenie nadciśnienia tętniczego | |
|------------------|----------------------------------|------|--|------|
| | N | % | N | % |
| RP HER-2 dodatni | 22 | 55 | 18 | 45 |
| RP HER-2 ujemny | 68 | 49,2 | 70 | 50,7 |
| Suma | 90 | 50,5 | 88 | 49,4 |

mmHg -milimetry słupa rtęci; HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; RP – rak piersi; N – liczebność

Tabela 17. Rozkład liczbowy i procentowy podniesionego stężenia glukozy we krwi lub rozpoznania cukrzycy u pacjentek z RP HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym.

| Typ RP | Stężenie glukozy < 100 mg/dl | | Stężenie glukozy \geq 100 mg/dl lub rozpoznanie cukrzycy | |
|------------------|------------------------------|------|--|------|
| | N | % | N | % |
| RP HER-2 dodatni | 34 | 85 | 6 | 15 |
| RP HER-2 ujemny | 108 | 78,2 | 30 | 21,7 |
| Suma: | 142 | 72,4 | 36 | 18,3 |

HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; RP – rak piersi; mg/dl – miligramy/decylitr; N – liczebność

Tabela 18. Rozkład liczbowy i procentowy nadwagi wg klasyfikacji BMI u chorych na RP HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego.

| Typ RP | BMI < 25 | | BMI ≥ 25 | |
|------------------|----------|------|----------|------|
| | N | % | N | % |
| RP HER-2 dodatni | 14 | 35 | 26 | 65 |
| RP HER-2 ujemny | 62 | 44,9 | 76 | 55 |
| Suma | 76 | 42,6 | 102 | 57,3 |

RP – rak piersi; BMI - body mass index; N – liczebność, HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2

4.2 Częstości występowania zespołu metabolicznego u pacjentek chorych na raka piersi HER-2 dodatniego w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi HER-2 ujemnego.

Do oceny częstości ZM u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami HER-2 ujemnymi użyto testu niezależności χ^2 (chi-kwadrat).

ZM oceniono u 162 pacjentek z badanej grupy. Powodem braku możliwości stwierdzenia ZM u 34 pacjentek z grupy badanej był brak jednej lub kilku danych kryteriów koniecznych do rozpoznania ZM. Zespół metaboliczny stwierdzono u 101 pacjentek. Zespołu metabolicznego nie stwierdzono u 61 pacjentek.

HER-2 dodatniego raka piersi stwierdzono u 43 pacjentek a HER-2 ujemnego raka piersi u 153 uczestniczek badania.

Tabela 19. Rozkład częstość liczbowej i procentowej występowania ZM i HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego raka piersi

| Typ RP | Obecność ZM | | Brak ZM | |
|---------------|-------------|------|---------|------|
| | N | % | N | % |
| HER-2 ujemny | 50 | 30,8 | 78 | 48,1 |
| HER-2 dodatni | 11 | 6,7 | 23 | 14,1 |
| Suma | 61 | 37,6 | 101 | 62,3 |

HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; RP – rak piersi; ZM – zespół metaboliczny; N – liczebność

Dla istotności statystycznej, przyjęto poziom $p=0,05$. W wyniku analizy statystycznej stwierdzono, że badane cechy (HER-2 i występowanie zespołu metabolicznego) są niezależne $p=0,473$.

Wskaźnik struktury grupy pacjentek HER-2 dodatnich i HER-2 ujemnych są podobne pod względem częstości występowania ZM.

4.3 Częstości podwyższonego stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego (granica $\geq 200\text{mg/dl}$) lub leczenie hipercholesterolemii u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym.

4.3.1 Test dla dwóch wskaźników struktury – częstości

Przeprowadzono analizę statystyczną testem dla wskaźników struktury, stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego $> 200\text{ mg/dl}$ i $\leq 200\text{ mg/dl}$ w grupach badanych pacjentek z HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym RP.

Równanie nr 1. Test dla wskaźnika nr 1. – Pacjentki HER-2 ujemne z hipercholesterolemią

$$W1 = \frac{20 \text{ (liczba pacjentek z HER-2 dodatnich z hipercholesterolemią)}}{(39 \text{ (wszystkie pacjentki HER-2 dodatnie)})} = 0.5128$$

W1 – wskaźnik struktury 1 populacji; HER-2 – ludzki naskórkowy czynnik wzrostu typu 2

Równanie nr 2. Test dla wskaźnika nr 2. - Pacjentki HER-2 ujemne z hipercholesterolemią

$$W2 = \frac{(48 \text{ (liczba pacjentek z HER-2 ujemnym)}}{(135 \text{ (wszystkie pacjentki HER-2 ujemne)})} = 0,35556$$

W2 – wskaźnik struktury 2 populacji; HER-2 – ludzki naskórkowy czynnik wzrostu typu 2

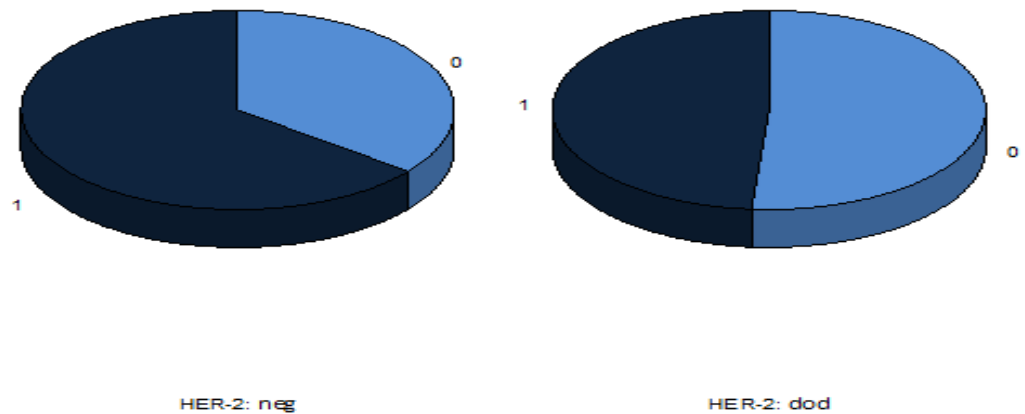
Tabela nr 20. Test dla dwóch wskaźników struktury (poziom podwyższony cholesterolu całkowitego do HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego raka piersi).

| Jednostronna różnica między dwoma wskaźnikami struktury | | | |
|---|----------|---------|------------|
| W1=p1 | 0,512800 | N1 : 39 | P = 0,0381 |
| W2=p2 | 0,355560 | N2: 135 | |

N – liczebność; P - wartość prawdopodobieństwa W – wskaźnik struktury

Na poziomie $p=0,0381$ wnioskuję, że procent osób ze stężeniem cholesterolu całkowitego >200 mg/dl w grupie pacjentów z HER-2-dodatnim RP jest istotnie statystycznie większy niż w grupie osób HER-2 ujemnych.

Wykres.2 Częstości podwyższonego poziomu cholesterolu całkowitego u pacjentek z HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym rakiem piersi

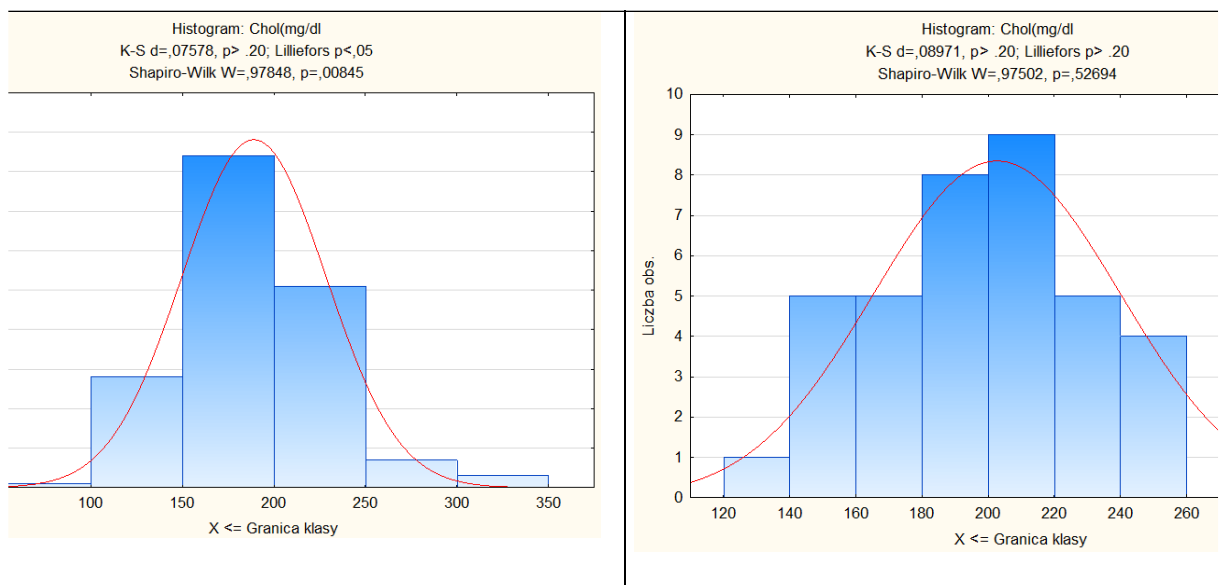


Cholesterol ≤ 200 mg/dl; 2 – Cholesterol > 200 mg/dl

4.3.2 W celu porównania czy średnie stężenie cholesterolu całkowitego różni się w badanych grupach pacjentek HER-2 dodatnich i HER-2 ujemnych, zastosowano test T-Studenta dla grup niepowiązanych.

W celu porównania czy średnie stężenie cholesterolu całkowitego różni się w badanych grupach pacjentek HER-2 dodatnich a HER-2 ujemnych zastosowano test do porównania średnich w grupach zmiennych niepowiązanych (dla testu t –Studenta) lub median (dla testu Manna-Whitneya).

Wykres 3. Ocena rozkładów normalnych i równość wariancji wg testu T- Studenta stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego.



W związku z brakiem normalnego rozkładu dla zmiennej „stężenie osoczowe cholesterolu całkowitego” w grupie pacjentek HER-2 ujemnych ($p=0,00845$), nie można zastosować testu T-Studenta. W wyniku różnicowości grup zastosowano test statystyczny U Manna-Whitneya.

Tabela 21. Test U Manna – Whitneya rozkładu stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego u pacjentek chorych na HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego RP

| Zmienne | Zmienna HER-2 | | | | |
|--|------------------------|-----------------------|-----------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| | Suma rang negatywna | Suma rang dodatnia | p | N Wyniki HER-2 negatywne | N Wyniki HER-2 pozytywne |
| Stężenie osoczowe cholesterolu całkowitego (mg/dl) | 11269,50 | 3955,500 | 0,050003 | 135 | 39 |

HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; p- wartość prawdopodobieństwa N – liczebność;
mg/dl – miligram/decylitr

W analizie statystycznej stwierdzono częstsze podwyższenie ponad normę stężenia osoczowego cholesterolu w grupie pacjentek HER-2 dodatnich w porównaniu z grupą HER-2 ujemną. Różnica pomiędzy stężeniem osoczowym cholesterolu całkowitego w obu grupach jest istotna statystycznie ($p=0,05$). Pacjentki z rakiem piersi HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym różnią się pod względem stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego.

Hipercholesterolemię i/lub leczenie hipercholesterolemii potwierdzono u 45,16 % pacjentek biorących udział w badaniu. Badana cecha częściej występowała o pacjentek z nadwagą i otyłością. Hipertriglicydemia, rozpoznanie cukrzycy i/lub stwierdzenie glikemii na czczo ≥ 100 mg/dl nie współwystępowały z hipercholesterolemią w badanej grupie.

Tabela 22. Częstość zmiennych (BMI ≥ 25 kg/m², hipertriglicydemii i DM i/lub stężenia glukozy powyżej normy) u pacjentek z hipercholesterolemią.

| Zmienne | BMI ≥ 25 kg/m ² | Triglicerydy ≥ 150 mg/dl | DM i/lub glukoza na czczo \geq 100 mg/dl |
|---|------------------------------------|----------------------------------|---|
| Stężenie osoczone cholesterolu całkowitego ≥ 200 mg/dl | 75% | 37,14% | 24,28% |

DM – cukrzyca, BMI – wskaźnik masy ciała, mg/dl – miligram/decylitr

4.4 Częstość występowania otyłości i/lub nadwagi wg klasyfikacji BMI (\geq BMI 25,0) u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym.

4.4.1 Test niezależności chi-kwadrat

Dane zostały obliczane w tablicy wielodziennej. W celu weryfikacji hipotezy o korelacji pomiędzy HER-2 a otyłością (wskaźnikiem BMI) utworzona została zmienna 3, która przyjmuje wartość „0” dla pacjentek mających BMI ≥ 25 oraz wartość „1” dla pacjentek, które mają BMI < 25 .

Tabela 23. dwudzielcza, podsumowująca, częstości obserwowane. Liczność oznaczona > 10 komórek.

| HER-2 | (BMI ≥25) | (BMI <25) | Suma |
|-----------------------------|-----------|-----------|---------|
| ujemny | 79 | 53 | 132 |
| % ogółu | 45,93% | 30,81% | 76,74% |
| dodatni | 26 | 13 | 39 |
| % ogółu | 15,12% | 7,56% | 22,67% |
| brak możliwości oceny HER-2 | 0 | 1 | 1 |
| % ogółu | 0,00% | 0,58% | 0,58% |
| Ogół | 105 | 67 | 172 |
| % ogółu | 61,05% | 38,95% | 100,00% |

HER-2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2; BMI – Body mass index

Tabela 24. Statystyka HER-2 x BMI

| Statystyka | Chi-kwadrat | Df | p |
|---------------------------|-------------|------|-----------|
| Chi ² Pearsona | 2,164869 | df=2 | p=0,33877 |
| Chi ² NW | 2,493506 | df=2 | p=0,28744 |

Chi²- Test zgodności chi-kwadrat; Pearsona – korelacja personalna; df (*degrees of freedom*) liczba stopni swobody;

P - wartość prawdopodobieństwa

Badane cechy (HER-2 i BMI) są niezależne (p=0,33877).

4.4.2 Test dla dwóch wskaźników struktury – częstości dla nadwagi i otyłości w raku piersi HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym.

W celu sprawdzenia czy w grupie badanej jest taka sama częstość występowania nadwagi lub otyłości u osób mających raka piersi HER-2 dodatniego wobec osób z rakiem HER-2 ujemnym, zastosowano test dla 2 wskaźników struktury.

Równanie nr 3. Test dla wskaźnika nr 1. – Pacjentki HER-2 ujemne z BMI ≥ 25 kg/m²

$$W1 = \frac{79 \text{ (liczba pacjentek z HER-2 ujemnych z BMI } \geq 25 \frac{\text{kg}}{\text{m}^2}\text{)}}{132 \text{ (wszystkie pacjentki HER-2 ujemnych)}} = 0.5985$$

W1 – wskaźnik struktury 1 populacji; BMI – body mass index; HER-2 – ludzki czynnik wzrostu typu 2

Równanie nr 4. Test dla wskaźnika nr 2. - Pacjentki HER-2 dodatnie z BMI ≥ 25 kg/m²

$$W2 = \frac{26 \text{ (liczba pacjentek z HER-2 dodatnich z BMI } \geq 25 \frac{\text{kg}}{\text{m}^2}\text{)}}{39 \text{ (wszystkie pacjentki HER-2 dodatnich)}} = 0,6667$$

W2 – wskaźnik struktury 2 populacji; BMI – body mass index; HER-2 – ludzki naskórkowy czynnik wzrostu typu 2

Tabela 25. Test istotności dwustronny.

| Różnica między dwoma wskaźnikami struktury | | | | |
|--|---------|-----|-----|----------|
| W1 | .538500 | N1: | 132 | P=0,1556 |
| W2 | .666700 | N2: | 39 | |

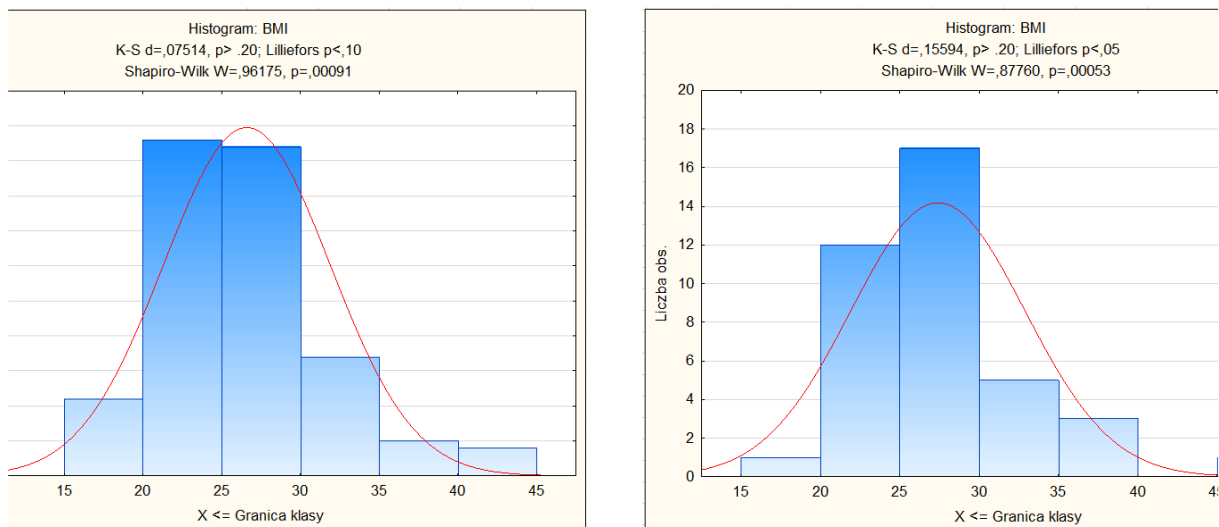
W1 – wskaźnik struktury 1 populacji; W2 – wskaźnik struktury 2 populacji, N - liczebność

Wskaźniki struktury grupy pacjentek HER-2 dodatnich i HER-2 ujemnych są podobne względem podniesionego BMI.

4.4.3 Test t-Studenta lub test U Manna-Whitneya

W celu porównania czy średni poziom BMI różni się w badanych grupach zastosowano test do porównania średnich w grupach zmiennych niepowiązanych. Normalność rozkładu, oceniono Testem Shapiro-Wilka, który został sprawdzony rozkładem w badanych grupach.

Wykres 4. Test Shapiro-Wilka rozkładu BMI w badanych grupach



Nie stwierdzono rozkładu normalnego badanych cech ($p < 0,05$).

Ze względu na brak spełnienia założenia, nie możemy zastosować testu t-Studenta zatem został zastosowany odpowiednik nieparametryczny test U Manna-Whitneya który wyraża się wzorem (wzór nr 1).

1. Wzór nr 1 – test U Manna-Whitneya (82, 83)

Test U Manna-Whitneya wyraża się wzorem:

$$Z = \frac{U - \frac{n_1 n_2}{2}}{\sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}}}$$

Gdzie:

$$U = R_1 - \frac{n_1 (n_1 + 1)}{2}$$

R_1 - suma rang elementów z pierwszej próby

n_1 i n_2 - liczności odpowiednio pierwszej i drugiej próby

Tabela 26. Test U Manna-Whitneya (z poprawką na ciągłość), względem zmiennej HER-2

| Zmienna | Sum.rang neg | Sum.rang dod | U | Z | p | Z popraw. | P | N : HER-2 neg | N : HER-2 dod |
|---------|-----------------|-----------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|------------------|------------------|
| BMI | 11165,50 | 3540,500 | 2387,500 | -0,684731 | 0,493514 | -0,684805 | 0,493468 | 132 | 39 |

BMI- wskaźnik masy ciała; Sum. rang neg – suma rozkładu HER-2 ujemnego raka piersi; Sum. rang dod – suma rozkładu HER-2 dodatniego raka piersi

Stwierdzono, że średnie wartości BMI nie różnią się istotnie w badanych grupach HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym.

5 Dyskusja

5.1 Ocena grupy badanej w stosunku do ogólnej populacji polskiej pacjentek z rozpoznaniem raka piersi.

W polskiej populacji rak piersi występuje najczęściej pomiędzy 50 - 69 rokiem życia (16). Mediana wieku badanej grupy wynosiła 60,1 lat. HER-2 dodatni rak piersi w ogólnej populacji stanowi 18-20% wszystkich rozpoznań (16). W badanej populacji nadekspresję tego receptora lub amplifikację genu stwierdzono u 21,9% chorych.

Badana populacja oceniana była również pod kątem statusu menopauzalnego. Średni czas rozpoznania menopauzy w grupie badanej wynosił 50,9 lat. Menopauza w populacji polskiej występuje średnio w wieku 51 lat (87).

Mediana wieku rozpoznania raka piersi, częstość podtypu HER-2 dodatniego i średni wiek menopauzy grupy badanej nie różni się od doniesień w piśmiennictwie.

5.2 Częstości występowania zespołu metabolicznego u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym.

Częstość ZM w populacji polskiej oszacowano w badaniu NATPOL PLUS (Nadciśnienie Tętnicze w Polsce Plus Zaburzenia Lipidowe i Cukrzyca) i wynosiła ona 22,6% (86). Zespół metaboliczny w grupie badanej stwierdzony był częściej niż w populacji ogólnej i wynosił on 37,6%, co związane jest najpewniej z faktem, że składowe ZM takie jak rozpoznana cukrzyca, wzrost glukozy na czczo ≥ 100 mg/dl, otyłość, hipertriglicerydemia, obniżony poziom HDL cholesterolu czy rozpoznane nadciśnienie tętnicze mają udowodniony w licznych badaniach naukowych związek ze stymulacją procesu kancerogenezy. Otyłość jest jednym z potwierdzonych czynników ryzyka raka piersi, szczególnie z dodatnią ekspresją ER (4). Część badań wskazuje, że cukrzyca typu 2 zwiększa ryzyko wystąpienia RP (37 – 40). W metaanalizach szacuje się, że pacjentki z rozpoznaną cukrzycą mają o 23% większe ryzyko życiowe wystąpienia RP w porównaniu z pacjentkami bez tej choroby przewlekłej (41). Jak pokazują metaanalizy, nadciśnienie tętnicze zwiększa ryzyko wystąpienia RP o 15% w okresie pomenopauzalnym (21). Podwyższone stężenie osoczowe cholesterolu HDL czy hipertriglicerydemia mogą także zwiększać ryzyko wystąpienia procesu nowotworowego (79,81,82). Wyniki tych badań częściowo tłumaczą występowanie ZM w populacji badanej w porównaniu z ogólną populacją kobiet w Polsce.

W piśmiennictwie nie ma danych dotyczących zwiększenia ryzyka wystąpienia nadekspresji receptora lub amplifikacji genu HER-2 w RP jak i w innych chorobach

nowotworowych u pacjentów z ZM. W badanej populacji pacjentek z RP nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie w częstości występowania ZM pomiędzy pacjentkami z typem nowotworu HER-2 dodatnim a HER-2 ujemnym.

Biorąc pod uwagę obecną analizę, w której stwierdzono częstsze występowanie ZM u pacjentek chorych na RP względem danych z piśmiennictwa, nie stwierdzono, aby ZM wiązał się ze statusem HER-2.

5.3 Częstość podwyższonego stężenia cholesterolu całkowitego u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym.

Choć wyniki badań w literaturze są sprzeczne, hipercholesterolemia jest uznawana za czynnik, który zwiększa ryzyko wystąpienia raka piersi ER dodatniego (65-72). Za zwiększenie ryzyka zachorowania na RP, jak i gorsze rokowanie u pacjentek z RP i hipercholesterolemią, prawdopodobnie odpowiadają metabolity cholesterolu takie jak: 27HC, oksysterol czy tworzenie się ROS (79,80). W badanej populacji, mediana stężenia osoczowego cholesterolu wyniosła 193 mg/dl. W analizie za granicę podwyższonego stężenia osoczowego cholesterolu przyjęto standardowy poziom ≥ 200 mg/dl. W analizie statystycznej, stwierdzono częstsze występowanie podwyższonego osoczowego stężenia cholesterolu w grupie pacjentek HER-2 dodatnich w porównaniu z grupą HER-2 ujemną. W badanej grupie stwierdzono częstsze występowanie hipercholesterolemii u chorych z nadekspresją receptora lub amplifikacją genu *HER-2*. Przyczyna zwiększonej częstości podtypu HER-2 dodatniego RP nie jest poznana i będzie przedmiotem dalszych naszych badań. Znalezienie tej zależności, biorąc pod uwagę

kardiotoksyczność stosowanych leków anty-HER-2, jak i częstsze występowanie chorób sercowo-naczyniowych w przebiegu hipercholesterolemii może mieć znaczenie dla terapii chorych z tym podtypem RP.

5.4 Częstość występowania otyłości i/lub nadwagi wg klasyfikacji BMI u pacjentek z rakiem piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami z rakiem piersi HER-2 ujemnym.

Częstość nadwagi i otyłości ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$) oceniana była w dużym badaniu populacji polskiej WOBASZ i dla kobiet w wieku 20 – 74 lata wyniosła 49,7%. (87)

W grupie badanej częściej stwierdzono nadwagę i otyłość (57,3% badanych) niż w opisanej powyżej populacji ogólnej. Oceniałem również obwód talii pacjentek, który stanowi kryterium rozpoznania ZM według klasyfikacji NCEP-ATP III wg ANA/NHBLI. Wynik $\geq 88\text{cm}$ był stwierdzony u 88,2% pacjentek w grupie badanej. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących obwodu talii $\geq 88\text{cm}$ u polskich kobiet, dlatego nie możemy dokładnie porównać uzyskanych wyników z piśmiennictwem. Nadmierna ilość tkanki tłuszczowej wiąże się ze zwiększonym wydzielaniem czynnika martwicy nowotworów alfa ($TNF-\alpha$), interleukiny 6 (IL-6), IL-8, IL-1, jak i innych swoistych dla tkanki tłuszczowej adipocytokin takich jak leptyny czy rezystyny. Zwiększenie poziomu estrogenów towarzyszące nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej przewlekłe stymuluje komórki gruczołu piersiowego, mogąc powodować powstawanie procesu nowotworowego w tym narządzie. Rozmieszczenie tkanki tłuszczowej ma również duże znaczenie (27-29). Otyłość centralna wiąże się z mniejszym ryzykiem wystąpienia raka piersi niż w otyłości gynoidalnej, gdzie tkanka tłuszczowa

zlokalizowana jest w okolicy pośladkowo – udowej (31,32).

Biorąc pod uwagę dane z piśmiennictwa, dotyczące korelacji nadwagi lub otyłości u kobiet z rozpoznaniem RP, istnieje hipoteza, że otyłość lub nadwaga istotnie zwiększa ryzyko wystąpienia RP (30-33). W badanej grupie nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy występowaniem BMI ≥ 25 kg/m² u pacjentek z RP HER-2 dodatnim względem RP HER-2 ujemnego. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, nie możemy otyłości uznać za czynnik powiązany z wystąpieniem nadmiernej ekspresji HER-2 RP.

6 Wnioski

6.1 Częstość występowania zespołu metabolicznego u pacjentek chorych na raka piersi jest częstsza niż w populacji ogólnej. Występowanie zespołu metabolicznego nie jest związane ze statusem HER-2 u chorych na raka piersi.

6.2 Częstość podwyższonego stężenia cholesterolu całkowitego lub leczenia hipercholesterolemii u pacjentek chorych na raka piersi HER-2 dodatnim w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi HER-2 ujemnego jest większa.

6.3 Częstość występowania otyłości i/lub nadwagi u pacjentek chorych na raka piersi HER-2 dodatniego w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi HER-2 ujemnego nie różni się istotnie.

7 Streszczenie

Dotychczas przeprowadzone badania wykazały, że składowe zespołu metabolicznego, otyłość jak i hipercholesterolemia uważane są za czynniki ryzyka wystąpienia raka piersi. Występowanie tych zaburzeń wiąże się często z niekorzystnym przebiegiem klinicznym i gorszym rokowaniem. Rola zespołu metabolicznego, otyłości wg klasyfikacji BMI czy hipercholesterolemii jako czynnika ryzyka dodatniego statusu HER-2 pozostawała nieznana.

Celem pracy było zbadanie częstości występowania zespołu metabolicznego wg klasyfikacji NCEP-ATP III wg ANA/NHBLI, otyłości wg klasyfikacji BMI oraz hipercholesterolemii, u pacjentek z rakiem piersi, porównując pod tym względem podtypy HER-2 dodatni i HER-2 ujemny.

Po otrzymaniu zgody komisji bioetycznej, do badania prospektywnego zakwalifikowano 196 chorych z rozpoznanym rakiem piersi, wszystkich podtypów w stopniu zaawansowania od I do III wg klasyfikacji TNM. Grupa badana była leczona w Pododdziale Onkologii Kliniki Chirurgii Piersi Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi w latach 2018-2019r. Status receptora lub genu HER-2 oznaczono metodą immunohistochemiczną oraz metodą CISH. Na podstawie ankiety wypełnianej przez pacjentki, badania przedmiotowego i badań laboratoryjnych oceniano obecność zespołu metabolicznego, BMI jak poziom cholesterolu całkowitego.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że częstość występowania zespołu metabolicznego jak i otyłości nie różni się istotnie pomiędzy grupą pacjentek chorych na raka piersi HER-2 dodatniego względem raka HER-2 ujemnego. W badaniu stwierdzono istotnie statystycznie zwiększoną częstość występowania hipercholesterolemii w typie

HER-2 dodatnim wobec typu HER-2 ujemnego raka piersi.

Biorąc pod uwagę kardiotoxyczność stosowanych leków anti-HER-2 jak i częstsze występowanie chorób sercowo-naczyniowych związanych z miażdżycą znalezienie tej zależności ma znaczenie kliniczne.

8 Spis Tabel:

Tabela 1. Skala oceny barwienia immunopatologicznego receptorów steroidowych wg Allreda.

Tabela 2. Skala oceny HER-2 i interpretacja ASCO

Tabela 3 Ocena stanu receptora HER-2 metodami hybrydyzacji in situ

Tabela 4 Definicja podtypów naciekającego raka piersi na podstawie immunohistochemicznych surogatów

Tabela 5. Kryteria diagnostyczne zespołu metabolicznego wg różnych organizacji

Tabela 6. Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego u kobiet.

Tabela 7. Klasyfikacja masy ciała osób dorosłych na podstawie BMI.

Tabela 8 . Test HER-2 walidowana sondą ISH (dual probe)

Tabela 9. Mediana wieku grupy badanej

Tabela 10. Procentowy rozkład podtypów RP w badanej populacji.

Tabela 11. Procentowy rozkład stopni zaawansowania raka piersi w badanej populacji

Tabela 12. Procentowy rozkład metod leczenia neoadjuwantowego i adjuwantowego raka piersi w badanej populacji

Tabela 13. Procentowy rozkład statusu menopauzalnego w grupie badanej

Tabela 14. Rozkład liczbowy i procentowy częstości zwiększonego obwodu talii w RP HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym.

Tabela 15. Rozkład liczbowy i procentowy częstości podwyższonego poziomu triglicerydów lub leczenia hipertriglicydemii i obniżonego poziomu cholesterolu HDL lub jego leczenie w RP HER-2 dodatnim i RP HER-2 ujemnym.

Tabela 16. Rozkład liczbowy i procentowy podwyższonego poziomu ciśnienia tętniczego krwi lub leczenia nadciśnienia tętniczego w RP HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym.

Tabela 17. Rozkład liczbowy i procentowy podniesionego stężenia glukozy we krwi lub rozpoznania cukrzycy u pacjentek z RP HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym

Tabela 18. Rozkład liczbowy i procentowy nadwagi wg klasyfikacji BMI w RP Her-2 dodatnim i RP HER-2 ujemnym.

Tabela 19. Rozkład częstość liczbowej i procentowej występowania ZM i HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego raka piersi

Tabela 20. Test dla dwóch wskaźników struktury (poziom podwyższony cholesterolu całkowitego do HER-2 dodatniego i HER-2 ujemnego raka piersi).

Tabela 21. Test U Manna – Whitneya rozkładu stężenia osoczowego cholesterolu całkowitego u pacjentek HER-2 dodatnich i HER-2 ujemnych

Tabela 22. Częstość zmiennych ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$, hipertriglicydemii i DM i/lub stężenia glukozy powyżej normy) u pacjentek z hipercholesterolemią.

Tabela 23. dwudzielca, podsumowująca, częstości obserwowane. Liczność oznaczona > 10 komórek.

Tabela 24. Statystyka HER-2 (3) x zm3 (2)

Tabela 25. Test istotności dwustronny.

Tabela 26. Test U Manna-Whitneya (z poprawką na ciągłość), względem zmiennej HER-2

9 Spis Wykresów:

Wykres.1 Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego wg zaleceń polskich towarzystw naukowych z 2022r. (17)

Wykres 2. Częstości podwyższonego poziomu cholesterolu całkowitego u pacjentek z HER-2 dodatnim i HER-2 ujemnym rakiem piersi

Wykres 3. Normalność rozkładów i równość wariacji wg testu T- Studenta

Wykres 4. Test Shapiro-Wilka rozkładu BMI w badanych grupach

10 Spis równań

Równanie nr 1. Test dla wskaźnika nr 1. – Pacjentki HER-2 ujemne z hipercholesterolemią.

Równanie nr 2. Test dla wskaźnika nr 2. - Pacjentki HER-2 ujemne z hipercholesterolemią

Równanie nr 3. Test dla wskaźnika nr 1. – Pacjentki HER-2 ujemne z $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$.

Równanie nr 4. Test dla wskaźnika nr 2. - Pacjentki HER-2 dodatnie z $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$.

11 Spis Wzorów

Wzór nr 1. Test U Manna-Whitneya

12 Piśmiennictwo:

- 1) Balkau B. , Charles M.A. , Drivsholm T. , Borch-Johnsen K. et al. : The European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR): Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab.*, 2002; 28: 364–376
- 2) Balkau B. , Vernay M. , Mhamdi L. , Novak M. . et al: The D.E.S.I.R. Study Group: The incidence and persistence of the NCEP (National Cholesterol Education Program) metabolic syndrome. The French D.E.S.I.R. study. *Diabetes Metab.*, 2003; 29: 526–532
- 3) Sattar N. , Gaw A. , Scherbakova O. , Ford I. , et al : Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation*, 2003; 108: 414–419
- 4) Forouzanfar M. , Foreman K. , Delossantos A. , Lozano R. , et al. : Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet* 2011; 378: 1461±
- 5) Didkowska J. , Wojciechowska U. , Liczba chorych na nowotwory złośliwe w Polsce w 2011 roku. Centrum Onkologii – Instytut Warszawa 2013.
- 6) Didkowska J. , Wojciechowska U. , Zatoński W., Nowotwory złośliwe w Polsce w 2011r. Centrum Onkologii – Instytut Warszawa 2013.

- 7) Boyle P. , Levin B.: The World Cancer Report 2008. International Agency for Research on Cancer 2008.
- 8) Lakhani S. , Ellis I. , Schnitt S. : WHO Classification of tumors of the breast. IARC Press, Lyon France 2013.
- 9) Slamon D. , Eiermann W. , Robert N. et al: (2011) Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. N Engl J Med 365(14):1273–1283
- 10) Wojtukiewicz M. , Sierko P. , Szambora P., Patofizjologiczne podstawy terapii ukierunkowanej na zahamowanie funkcji receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR). Onkologia w Praktyce Klinicznej2010, tom 6, nr 5, 217–227
- 11) https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/herceptin-epar-product-information_pl.pdf
- 12) https://www.roche.pl/content/dam/rochexx/roche-pl/roche_poland_rwd/pl_PL/documents/SmPC/perjeta.pdf
- 13) https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20160629135381/anx_135381_pl.pdf
- 14) https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nerlynx-epar-product-information_pl.pdf
- 15) Goldhirsch A. , Winer E. , Coates A. , panel members : Personalizing the treatment of women with early breast cancer; highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. Ann Oncol. 2013; 24 2206-2223.

- 16) Jassem J. , Krzakowski M. : Rak piersi Praktyczny przewodnik dla lekarzy. Via medica, Gdańsk 2019. Wyd 3.
- 17) Dobrowolski P. , Prejbisz A. , Kuryłowicz A. ; Zespół metaboliczny — nowa definicja i postępowanie w praktyce; Nadciśnienie Tętnicze w Praktyce Rok 2022, tom 8, nr 2 Strony: 1–26
- 18) Jassem J. , Krzakowski M. , Bobek – Billewicz B. : Rak Piersi. Onkologia w Praktyce Klincznej 2018 tom 4, numer4
- 19) Singh K. , Tantravahi U. , Lomme M. , et al. : Updated 2013 College of American Pathologists/American Society of Clinical Oncology (CAP/ASCO) guideline recommendation for human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) fluorescent in situ hybridization (FISH) testing increase HER2 positive and HER2 equivocal breast cancer cases. Breast Cancer Res Treat 2016; 157(3); 405-411.
- 20) Krokowska M. , Czyżewska M. : Zespół Metaboliczny – historia, definicja, kontrowersje. 2014; Via Medica ISSN 2081 - 2450
- 21) WHO | Mean Body Mass Index (BMI), WHO [dostęp 2019-10-20].
- 22) Kruczała M. , Jasiówka M. , Marczyk J. : Ocena efektów leczenia chorych na raka piersi ze zdiagnozowaną mutacją w genie BRCA 1. Oncology and Radiotherapy. (43) 2018: 062-066
- 23) Dirat B. , Bochet L. , Dabek M. , Daviaud D. , et al : Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion. Cancer Res. 2011;71(7):2455–65.

- 24) D'Esposito V. , Liguoro D. , Ambrosio M. et al : Adipose microenvironment promotes triple negative breast cancer cell invasiveness and dissemination by producing CCL5. *Oncotarget*. 2016;7(17):24495–509.
- 25) De Palma M. , Biziato D. , Petrova T. : Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(8):457–74.
- 26) Shachar S. , Williams R. ; The obesity paradox in cancer – moving beyond BMI. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017 January ; 26(1): 13–16.
- 27) Krokowska M. , Czyżewska K. : Zespół Metaboliczny – historia, definicja, kontrowersje. 2014; *Via Medica* ISSN 2081 - 2450
- 28) Kwon H. , Pessin J. : Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol*. (2013) 4:71. doi: 10.3389/fendo.2013.00071
- 29) Bjorntorp P. : The regulation of adipose tissue distribution in humans. *Int. J. Obes*. 1996; 20: 291–302.
- 30) Demissie M. , Milewicz A. : Zaburzenia hormonalne w otyłości, *Diabetologia Praktyczna* 2003, tom 4, nr 3, 207–209
- 31) Renehan A. , Zwahlen M. , Egger M. : Adiposity and cancer risk: new mechanistic insights from epidemiology. *Nat Rev Cancer*. (2015) 15:484–98.
- 32) Renehan G. , Roberts D. , Dive C. : Obesity and cancer: pathophysiological and biological mechanisms. *Arch Physiol Biochem* 2008;114: 71-83.
- 33) Mazur-Rozsak M. , Litwiniuk M. , Grodecka-Gazdeck S. ; Otyłość a rak piersi. *Współczesna Onkologia* (2010) vol. 14; 4 (270–275).

- 34) Rasha F. , Ramalingam L. , Gollahon L. : Mechanisms linking the renin-angiotensin system, obesity, and breast cancer.; Endocrine-Related Cancer; 2019 Sep 1
- 35) McQuade J. , Daniel C. , Hess K. , Mak C. , Wang D. , Rai R. , et al. The association of BMI and outcomes in metastatic melanoma: a retrospective, multicohort analysis of patients treated with targeted therapy, immunotherapy, or chemotherapy. Lancet Oncol. (2018) 19:310–22.
- 36) Adviti N. , Arta Monir M. et al, The Obesity Paradox in Cancer, Tumor Immunology, and Immunotherapy: Potential Therapeutic Implications in Triple Negative Breast Cancer. Cancer Research Center, Qatar Biomedical Research Institute (QBRI), Hamad Bin Khalifa University (HBKU), Doha, Qatar, 2 Department of Radiation Oncology, UC Davis Comprehensive Cancer Center, University of California, Sacramento, Sacramento, CA, United States, 14 August 2019
- 37) Starup-Linde J. , Karlstad O. , Eriksen A. , Vestergaard P. , et al. CARING(Cancer Risk and Insulin analogues): the association of diabetes mellitus and cancer risk with focus on possible determinants—a systematic review and a meta-analysis. CurrDrugSaf 2013
- 38) Larsson C. , Mantzoros C. , Wolk A. : Diabetes mellitus and risk of breast cancer: meta-analysis.IntJCancer2007;121:856–862

- 39) Liao S. , Li J. , Wei W. , Wang L. , Zhang Y. , et al. Association between diabetes mellitus and breast cancer risk :a meta-analysis of the literature. AsianPacJ CancerPrev2011
- 40) Maskarinec G. , Haraldsdóttir A. , Einarsdóttir K. : Type 2 diabetes and obesity in midlife and breast cancer risk in the Reykjavik cohort, Cancer Causes & Control, October 2019, Volume 30
- 41) De Bruijn M. , Arends L. , Hansen B. , et al. Systematic review and meta-analysis of the association between diabetes mellitus and incidence and mortality in breast and colorectal cancer. Br J Surg 2013;100:1421–9.
- 42) Harding J. , Andes L. , Gregg E. : Trends in cancer mortality among people with vs without diabetes in the USA, 1988-2015. Diabetologia. 2019 Sep 12
- 43) Bruning P. , Bonfr J. , van Noord P. , Hart A. , de Jong-Bakker M. , et al : Insulin resistance and breast-cancer risk. Int J Cancer1992; 52: 511-6
- 44) Frasca F. , Pandini G. , Sciacca L. , Pezzino V. et al : The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases. Arch Physiol Biochem 2008; 114: 23-37
- 45) Grzeszczak W. , Stepanow B. , Szweda N. ; What is the risk of neoplasma development in patients with type 2 diabetes: what's new they published to this subject at 2015?; Choroby Serca i Naczyń 2016, 13 (3), 203–208
- 46) Nanni O. , Amadori D. , De Censi A. : Metformin plus chemotherapy versus chemotherapy alone in the first-line treatment of HER2-negative metastatic

breast cancer. The MYME randomized, phase 2 clinical trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2019 Apr;174(2):433-442.

47) Tang H. , Satkunam M. , Pond G. : Association of Metformin with Breast Cancer Incidence and Mortality in Patients with Type II Diabetes: A GRADE-Assessed Systematic Review and Meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2018 Jun;27(6):627-635.

48) Mortimer J. , Seevald V. ; Who Will Benefit From Metformin? *JAMA Oncol.* Published online May 24, 2022

49) Bronsveld H. , Braak B. , Karlstad O. , Vestergaard P. et al : Treatment with insulin(analogues)and breast cancer risk in diabetics; a systematic review and meta-analysis of in vitro, animal and human evidence. *BreastCancerRes*2015;17:100.

50) Xue F. , Michels K. : Diabetes, metabolic syndrome, and breast cancer: a review of the current evidence. *AmJ Clin Nutr*2007;86:s823–835

51) Karlstad O. , Starup-Linde J. , Vestergaard P. , Hjellvik V. , Bazelier M. , Schmidt M et al : Use of insulin and insulin analogs and risk of cancer—systematic review and meta-analysis of observational studies. *Curr Drug Saf* 2013

52) Brown S. , Hankinson S. : Endogenous estrogens and the risk of breast, endometrial, and ovarian cancers. *Steroids*99, 8–10 (2015)

53) Folkerd E. , Dowsett, M. : Sex hormones and breast cancer risk and prognosis. *Breast (Edinburgh, Scotland)* 22 Suppl 2, S38–43 (2013).

- 54) Largent J. , et al. Hypertension, diuretics and breast cancer risk. *Journal of human hypertension*20, 727–732 (2006).
- 55) Balkwill F. , Charles K. , Mantovani M. : Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer cell*7, 211–217 (2005).
- 56) Li J. , Fang C. , Hui R. : Is hypertension an inflammatory disease? *Medical hypotheses*64, 236–240 (2005)
- 57) Hamet P. : Cancer and hypertension. An unresolved issue. *Hypertension* 28, 321–324 (1996).
- 58) Hamet P. : Cancer and hypertension: a potential for crosstalk? *Journal of hypertension*15, 1573–1577 (1997)
- 59) Li C. , et al : Use of antihypertensive medications and breast cancer risk among women aged 55 to 74 years. *JAMA Intern Med*173,1629–1637 (2013).
- 60) Chang C. , et al : Antihypertensive agents and the risk of breast cancer in women aged 55 years and older: a nested case-control study. *Journal of hypertension*34, 558–566; discussion 566 (2016)
- 61) Chen Q. , et al. : Association between calcium channel blockers and breast cancer: a meta-analysis of observational studies. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*23, 711–718 (2014).

- 62) Azoulay L. , Soldera S. , Yin H. , Bouganim, N. : Use of Calcium Channel Blockers and Risk of Breast Cancer: A Population-based Cohort Study. *Epidemiology* 27, 594–601 (2016).
- 63) Wilson L. , D’Aloisio A. , Sandler D. , Taylor J. : Long-term use of calcium channel blocking drugs and breast cancer risk in a prospective cohort of US and Puerto Rican women. *Breast cancer research: BCR18*, 61 (2016).
- 64) Han H. , Guo W. , Shi W. , Yu Y. , et al : Hypertension and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. 2017 Mar 20;7:44877
- 65) Nelson R. , Suzanne E. , Wardell J. , et al : 27-Hydroxycholesterol Links Hypercholesterolemia and Breast Cancer Pathophysiology. *Science*. 2013 November 29; 342(6162): 1094–1098. doi:10.1126/science.1241908.
- 66) Kitahara C. , Berrington de González A. , Freedman N. Huxely et al : Total cholesterol and cancer risk in a large prospective study in Korea. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*2011, 29, 1592–1598
- 67) Martin, L. , Melnichouk O. , Huszti E. , Connelly P. , et al : Serum Lipids Lipoproteins, and Risk of Breast Cancer: A Nested Case-Control Study Using Multiple Time Points. *J. Natl .Cancer Inst.*2015,107, djv032
- 68) Ha M. , Sung J. , Song Y.-M. : Serum total cholesterol and the risk of breast cancer in postmenopausal Korean women. *Cancer Causes Control*2009,20, 1055–1060
- 69) Ni H. , Liu H. , Gao R. : Serum Lipids and Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLoS ONE* 2015,10, e0142669

- 70) Bosco J. , Palmer J. , Boggs D. , Hatch E. : Rosenberg, L. Cardiometabolic factors and breast cancer risk in U.S. black women. *Breast Cancer Res. Treat.* 2012,134, 1247–1256
- 71) Eliassen A. , Colditz G. , Rosner, B. , Willett W. , Hankinson E. : Serum lipids, lipid-lowering drugs and the risk of breast cancer. *Arch. Intern. Med.*2005,165, 2264–227
- 72) Nowak C. , Ärnlöv J. : A Mendelian randomization study of the effects of blood lipids on breast cancer risk. *Nat. Commun.*2018,9, 3957
- 73) Touvier M. , Fassier P. , His M, et al : Cholesterol and breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Br. J. Nutr.*2015,114, 347–357.
- 74) Chandler P. , Song Y. Lin J. , Zhang S. , Sesso H. , Mora S. et al : Lipid biomarkers and long-term risk of cancer in the Women’s Health Study. *Am. J. Clin. Nutr.*2016,103, 1397–1407
- 75) Borgquist S. , Butt T. , Almgren P. , Shiffman D. , et al : Apolipoproteins, lipids and risk of cancer. *Int. J. Cancer J. Int. Cancer*2016,138, 2648–2656
- 76) Llaverias G. , et al : Role of cholesterol in the development and progression of breast cancer. *Am J Pathol.* 2011; 178:402. [PubMed: 21224077].
- 77) DuSell C. , Umetani M. , Shaul P. , Mangelsdorf D. : 27-hydroxycholesterol is an endogenous selective estrogen receptor modulator. *Molecular Endocrinology* 22 65–77. (doi:10.1210/ me.2007-0383)

- 78) Siker K. , Ching-yi Ch. , Pär-Ola B. , Laura D. , et al : Impact of 27-hydroxylase (CYP27A1) and 27-hydroxycholesterol in breast cancer. *Signe Borgquist Endocr Relat Cancer*. 2017 Jul;24(7):339-349.
- 79) Oh H. , Choi S. , Choi J. *FASEB J.* : The emerging role of xanthine oxidase inhibition for suppression of breast cancer cell migration and metastasis associated with hypercholesterolemia. 2019 Jun;33(6):7301-7314.
- 80) Cedó L. , Reddy S. , Mato E. , Blanco-Vaca F. , et al : Potential New Players in Breast Cancer Development, *Clin Med*. 2019 Jun 14;8(6)
- 81) Natalia M. , Joseph B. , Lin and Irina A. et al : Marketed Drugs Can Inhibit Cytochrome P450 27A1, a Potential New Target for Breast Cancer Adjuvant Therapy. *Molecular Pharmacology* September 2015, 88 (3) 428-436;
- 82) Greń J. (1982). *Statystyka matematyczna: modele i zadania*. Państwowe Wydawnictwo Naukowe
- 83) Stanisław A. (2007). *Przystępny kurs statystyki: z zastosowaniem STATISTICAPL na przykładach z medycyny*. StatSoft.
- 84) Blanc B. , Boubli L. : *Ginekologia. Podręcznik dla lekarza praktyka*, Wrocław-Warszawa-Kraków 1995
- 85) Rumianowski B. , Brodowska A. , Karakiewicz B. , Grochans E. , et al. : Czynniki środowiskowe wpływające na wiek wystąpienia naturalnej menopauzy kobiet, <https://pdfs.semanticscholar.org/c6fe/178772c3f22882391de778e7e425f73cdf18.pdf>

- 86) Zdrojewski T. , Bandosz P. , Szpakowski P. , et al. : Rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego w Polsce. Wyniki badania NATPOL PLUS. *Kardiologia Polska*. 2004; 61 (supl.4): 5–26
- 87) Biela U. , Pająk A. , Kaczmarczyk-Chałas K. : Częstość występowania nadwagi i otyłości u kobiet i mężczyzn w wieku 20—74 lat. Wyniki programu WOBASZ. *Kardiologia Polska* 2005; 63: 6 (supl. 4)