

დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

არმაზ მარიამიძე

**ძუძუს სამმაგნეგატიური ტიპის კიბოს
ბიოლოგიური თავისებურებების კვლევა
ქართულ პოპულაციაში**

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაციის

ავტორეფერატი

თბილისი 2019

ნაშრომი შესრულებულია დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტისა და ონკოლოგიის ნაციონალურ ცენტრის ბაზაზე.

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

ლიანა გოგიაშვილი, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი, დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი

ომარ ხარბიშვილი, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

ოფიციალური ექსპერტები/ოპონენტები:

დინარა კასრამე, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი, დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი

ირაკლი სიხარულიძე, მედიცინის დოქტორი, პროფესორი, დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტი

ალექსანდრე თავართქილაძე, მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

დისერტაციის დაცვა შედგება 2019 წლის 5 ივლისს 16.00 საათზე

დავით ტვილდიანის სახელობის სამედიცინო უნივერსიტეტში შექმნილი ერთჯერადი სადისერტაციო საბჭოს სხდომაზე, თბილისი, ლუბლიანას ქ.13/მიხეილ ჭიაურელის ქ.6

დისერტაციის გაცნობა შეიძლება დავით ტვილდიანის სახელობის სამედიცინო უნივერსიტეტის ბიბლიოთეკაში

ავტორეფერატი დაიგზავნა _____

სწავლული მდივანი მედიცინის დოქტორი მარიამ ვაჩნაძე

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

პრობლემის აქტუალობა

ავთვისებიან სიმსივნეთა შორის ქალებში ძუძუს კიბო ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებულია. ონკოლოგიური დაავადებების სტრუქტურაში მას პირველი ადგილი უჭირავს, ხოლო სიხშირე მსოფლიოში სტაბილურად მატულობს [Lobo – Cardoso et al., 2017].

ერთ-ერთ სერიოზულ პრობლემას, რომელსაც კლინიცისტები აწყდებიან ძუძუს კიბოს მკურნალობის დროს, არის სიმსივნის ჰორმონების მიმართ მგრძობელობის ფრიად ცვალებადი სპექტრი, და სამკურნალო ზემოქმედებებზე არაერთგვაროვანი რეაქცია, რაც თერაპიის რაციონალური მეთოდის არჩევისათვის პარამეტრების რიცხვის შეზღუდვასა და მრავალ უკუჩვენებასაც განაპირობებს.

შესაძლებელი გახდა ქვეჯგუფების გამოყოფა და ქვეჯგუფების იდენტიფიკაცია იმ სიმსივნეთა ჯგუფში, რომლებშიც ესტროგენის და პროგესტერონის რეცეპტორები და Her2/neu გენის ამპლიფიკაცია არ ვლინდება, ე.წ. „სამმაგნეგატიური“ ძუძუს კიბო, როგორც ჰისტოლოგიური ტიპი, რასაც ძუძუს კიბოს კლინიკურ პათოლოგიაში ახალი კვლევები მოჰყვა ფენოტიპირებისა და „ტარგეტული“ ოპტიმალური თერაპიის თვალსაზრისით [Alba E., Chacon JI et al., 2012; Shah SP, Roth A et al., 2012].

„სამმაგი ნეგატიური“ (Triple negative) TNBC - არის სიმსივნე, რომლის უჯრედები ესტროგენის და პროგესტერონის რეცეპტორებს არ ექსპრესირებენ და აგრეთვე არ გააჩნიათ Her2 ცილის ზეექსპრესია

ანგენის ამპლიფიკაცია, ე.წ. The “Triple negative paradoxes” [Carey et al., 2007]. სხვადასხვა ავტორების მონაცემებით, ამ ტიპის სიმსივნეები ყველა ინვაზიურ ძუძუს კიბოს ვარიანტების დაახლოებით 10-20% შეადგენენ (O’Toole SA, Beith JM, Millar EK, West R, McLean A, et al. Therapeutic targets in triple negative breast cancer. J Clin Pathol. 2013), აღწევენ დიდ ზომებსა და მოლიანობაში ხასიათდებიან არაკეთილ-საიმედო პროგნოზით და მიმდინარეობით. აგრეთვე დადგენილია საინტერესო კანონზომიერება, რომ TNBC მკაფიოდაა ასოცირებული BRCA1 გენის მუტაციასთან [Robson M., Im S-A, Sencus et al., 2017]. არსებობს მონაცემები, რომ პაციენტი სამმაგი ნეგატიური კიბოთი ნაკლებად მგრძნობიარეა ქიმიოთერაპიის მიმართ, გარდა პლატინის პრეპარატებისა [Ferreira et al., 2018].

კლინიკურ პრაქტიკაში „სამმაგი ნეგატიური“ კიბოს ცნების პრაქტიკული დანერგვა უფრო რთულია, რადგან ამ ჯგუფში მოხ-და კიბოს ჰისტომორფოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური მაჩ-ვენებლებით განსხვავებული ვარიანტები, რომელთა შორის მნიშვნე-ლოვან ჯგუფს შეადგენს ე.წ. „ბაზალიდურის მსგავსი“ კიბო. სამი უარყოფითი პარამეტრის და ძუძუს კიბოს ჰისტომორფოლოგიის ურთიერთშეთავსება TNBC ჯგუფში რთულ სურათს იძლევა და დაზუსტებას მოითხოვს [Carey et Dees., 2007, Clinical Practice Guidelines in Oncology, Breast Cancer. Version 2. 2017. (vol. 2017, p.1-201)].

ბოლო წლების გამოკვლევებით სამმაგი ნეგატიური იმუნო-ფენომენის გამოკვლევა შეიძლება გამოყენებული იყოს საიმედო პროგნოზულ კრიტერიუმად ლიმფური კვანძების დაზიანების ნიშნების არარსებობის დროს.

საკითხის შესწავლის მოცემულ ეტაპზე TNBC, სახელდობრ, „ბაზალიდურის მსგავსი“ კიბოს შესახებ არსებული მონაცემების შეჯამება შეიძლება შემდეგნაირად. ტრადიციული წარმოდგენით, TNBC არის ჰეტეროგენულ სიმსივნეთა ჯგუფი, სიხშირით დომინირებს ბაზალიდურის მსგავსი კიბო განსაზღვრული გენომური მუტაციებით.

ინვაზიური დუქტური კარცინომა წარმოადგენს ძუძუს კიბოს დომინირებულ ჰისტოლოგიურ ტიპს (ყველა შემთხვევის 40-75%) [Kumar, Agarucel, 2016], ჰისტოლოგიური და ბიოლოგიური მახასიათებლები მოიცავს ისეთ პარამეტრებს, როგორცაა გენური ექსპრესიის გამოვლენის შედეგად ინვაზიური კარცინომის იდენტიფიცირებული ქვესახეობები: (ER+), (ER-), ლუმინალური A და B ტიპი, ასევე HER2+ და ე.წ. “normal - like” ძუძუს მსგავსი სიმსივნის ქვეტიპი.

სპეციალური ინტერესის საგანია სამმაგი ნეგატიური (TNBC) და მისი ყველაზე ხშირი ”Basal like” კარცინომა ბაზალური ტიპის მარკერული ციტოკერატინების ექსპრესიის თვისებებით [Toft, Cryns, 2013]. აქტუალობას მატებს ასევე ოპტიმალური მიზანმიმართული თერაპიის საშუალებათა ნაკლებობა და უშედეგობა, რაც ამ ტიპის კარცინომების საკითხებში ინფორმაციისა და ფაქტობრივი მონაცემების ნაკლებობით შეიძლება აიხსნას.

ზემოთქმულთან დაკავშირებით, დასაბუთებულია ჩვენი კვლევის ინტერესი ფოკუსირებულ იქნას უჯრედის ციკლის სარეგულაციო მინიჰიბირებული და მასტიმულაციური ფაქტორების ურთიერთქმედების საკითხებზე, სახელდობრ, Cyclin-E ის მოლეკულური ბიოლოგიის თავისებურებების, Cyclin-E დამოკიდებული თიროზინკინაზების მოდულაციებზე, რაც

პროტონკოგენების აქტივობაზე რეალურ ზემოქმედებას ახდენს [Bertucci et al., 2012; Mariamidze et al., 2017].

შესწავლილია ასევე "Basal like" კარცინომის ძირითადი იმუნომარკერები: ამიგედომი, CK 5/6, CK 14, CK/17, Vimentin-ი და Her-1, მაგრამ კორელაცია ნეკროზული კერების განვითარებასა და CD 17 და Caspase-3-ს აქტივობის შორის საჭიროებს ახალ კლინიკურ ფაქტებს და მათ კომპლექსურ, ინტეგრაციულ ახსნას, განსაკუთრებით, ჰისტოლოგიური სურათის პათომორფოზის პირობებში, რაც 2 – 18% შემთხვევაში არის დადგენილი [Kristen S.N., Celine et al., 2013; Fedewa et al., 2015].

Nottingham პროგნოზული ინდექსის მიხედვით, ერთი და იგივე ასაკის პაციენტებში TNBC მოითხოვს უფრო "აგრესიულ" ხანგრძლივ ქიმიოთერაპიას, ვიდრე სხვა ტიპის ძუძუს კიბოს შემთხვევებში [Jiang et al., 2013].

დადგენილია ErbB ამფლიფიკაციასთან დაკავშირებული ანტი-EGFR აგენტების როლი სიმსივნური უჯრედების ანტირეცეპტორულ აქტივობაში ბაზალურის მსგავსი ძუძუს კიბოს "ბიოლოგიური ქცევის" შეფასების თვალსაზრისით [Demidova et al., 2015].

კვლევის მიზნები და ამოცანები

სამმაგნეგატიური ძუძუს კიბოს ბიოლოგიური (კლინიკო-მორფოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური) თავისებურებების იდენტიფიკაცია და აღწერა ქართული პოპულაციის მასალაზე.

1. დაზუსტდეს და განისაზღვროს შესწავლილი კონტიგენტის ძუძუს ნეოპლაზიაში სამმაგნეგატიური კიბოს ჰისტოქიმიური თავისებურება, მათ შორის, „ბაზალოიდურის მსგავსი“ კიბოს საინდეფიკაციო მარკერები.

2. გამოვლინდეს ძუძუს კიბოს სიმსივნურ ქსოვილში სამმაგნეგატიური კიბოს უჯრედთა იმუნოჰისტოქიმიური პროფილი, იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის შედეგების საფუძველზე გამოიკვეთოს „ბაზალიდურის მსგავსი“ კიბოს ქვეტიპი.

3. დადგინდეს ძუძუს კიბოს უჯრედულ პოპულაციაში ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორის (EGFR) კვლევის აქტუალობა და შესაძლო კორელაცია ანაპლაზიის ხარისხთან .

4. გამოვლინდეს კორელაცია Cyclin E და ბაზალურ ციტოკერატინთა აქტივობასა და ძუძუს კიბოს ავთვისიანობის ხარისხს (Grade)-ს შორის.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე

1. პირველად ქართულ პოპულაციაში სამმაგნეგატიური ძუძუს კიბოს დეტალური ჰისტომორფოლოგიური და მოლეკულურ-ბიოლოგიური დახასიათება.

2. ნაჩვენებია, რომ სამმაგნეგატიური ძუძუს კიბოს ფენოტიპი არ არის ერთგვაროვანი და შეიცავს ე.წ. „ბაზალიდურის მსგავს“ ქვეტიპს.

3. სამმაგნეგატიური ძუძუს კიბოს ბაზალიდური ტიპის მაგვარი სიმსივნეები, დამოუკიდებლად დაავადების სტადიურობისა და სიმსივნის დიფერენცირების ხარისხისა, სტაბილურად ექსპრესირებენ ციტოკერატინ 5/6 და 17.

4. ნაჩვენებია ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის (EGFR) აქტივობის მნიშვნელობა და კავშირი სამმაგნეგატიური ძუძუს კიბოს უჯრედულ პოპულაციასთან.

5. Cyclin E ექსპრესიის ხარისხი კორელაციაშია „ბაზალიდურის მსგავსი“ ძუძუს კიბოს ავთვისიანობის ხარისხთან.

ნაშრომის აპრობაცია

სადისერტაციო ნაშრომის აპრობაცია შედგა დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტში 2019 წლის 5 თებერვალს

სადისერტაციო მასალები და შედეგები მოხსენიებული იქნება

8th International Medical Postgraduate Conference, (ჰრადეც კრალოვე, ჩეხეთი, 2012 წ. The 25th European Congress of Pathology (ლისაბონი, პორტუგალ) 2013 წ.

დისერტაციის მოცულობა სტრუქტურა და მოცულობა

სადისერტაციო ნაშრომი შედგება შემდეგი ნაწილებისგან: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, მასალები და მეთოდები, შედეგები, განხილვა, დასკვნები, პრაქტიკული რეკომენდაციები და გამოყენებული ლიტერატურის ნუსხა, რომელიც შეიცავს 123 წყაროს; ნაშრომის მოცულობა - 93 გვერდი; შეიცავს 6 ცხრილს და 46 მიკროფოტო სურათს.

კვლევის მასალა და მეთოდები

გამოკვლევა მოიცავს 362 პაციენტის მონაცემებს 2007-2011 წლებში, რომელმაც მკურნალობის კურსი გაიარეს ონკოლოგიის ნაციონალურ ცენტრში (ქ.თბილისი).

როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ, ძუძუს სამმაგი ნეგატიური კიბო (TNBC) არის ინვაზიური დუქტური სიმსივნის ჰისტოლოგიური ქვეტიპი, რომლის სიხშირე 15-20%-ით მეტია ამ ლოკალიზაციის სხვა პათოლოგიურ ვარიანტებთან შედარებით, [Staely A. Fedever et al., 2017; Simon et al., 2009; O'Brien et al., 2010; Robson et al., 2017].

აღნიშნული ქვეტიპი გამოირჩევა რიგი თავისებურებებით, მათ შორის, უარყოფითი ER-PR რეცეპტორებით, ასევე უარყოფითი HER2 ექსპრესიის ამპლიფიკაციით [Ferreira, O. Hetzger- Fiblo et al., 2018; A.Mariamidze et al., 2018].

სხვადასხვა წყაროდან მოძიებული ინფორმაციით, საქართველოში ყველა აღნიშნული სიმსივნის რაოდენობიდან TNBC მიეკუთვნება 10-30% , აქედან 25% - არის III სტადიის, ხოლო 47% - II სტადიის სიმსივნე [A.Mariamidze et al., 2017], რის გამოც პრაქტიკულ ღირებულებას იძენს ისეთი პარამეტრი, როგორცაა პათოლოგიაზე კომპლექსური პასუხი სავარაუდოდ – PCR (pathological complete response) რეაქცია სისტემურ პრეოპერაციულ თერაპიაზე.

პოსტოპერაციული მასალა დამუშავებული იყო ძუძუს კიბოს აღიარებული პროტოკოლის მიხედვით, შესაბამისად, მაკროსკოპულად გაიზომა ძუძუს ან ძუძუს სექტორის ზომები, შეფასდა ძუძუს სიმსივნური წარმონაქმნების მაქსიმალური ზომა კიბოს ძირითადი კვანძიდან აღებულ იქნა 3- 7 ქსოვილოვანი ნიმუში მიმდებარე ქსოვილთან ერთად, დამატებით აგრეთვე აღებულ იქნა დვრილის ქსოვილი და ნორმული პარენქიმის ქსოვილოვანი ნიმუშები; რეგიონალური ლიმფური კოლექტორიდან გამოყოფილი იყო ყველა ლიმფური კვანძი.

მაკროსკოპულად დამუშავებული ქსოვილოვანი ნიმუშები 24 საათის განმავლობაში ფიქსირდებოდა 10% ფორმალინის ნეიტრალურ ბუფერულ ხსნარში, ქსოვილების შემდგომი დამუშავებით სტანდარტული პროტოკოლით და ჩაყალიბებით პარაფინის ბლოკებში.

გამოკვლევისთვის რანდომიზებულად შერჩეული იქნა ძუძუს დუქტური ინვაზიური კარცინომით 362 პაციენტი, ასაკობრივი დიაპაზონით 30-89წწ. სიმსივნის ავთვისიანობის ხარისხი (Grade)

ფასდებოდა ნოტინჰემის, ბლუმ-რიჩარდსონის მოდიფიცირებული კრიტერიუმებით: ER, PR, HER-2, CK5/17 ექსპრესიაზე - ბრმა მეთოდით.

გამოიყო ძუძუს კიბოს 5 ქვეტიპი: Luminal A, Luminal B, Her2(+), Triple negative და Triple ნეგატიურობით + CK5-ის დადებითი რეაქციით. პაციენტთა ასაკის დიაპაზონი დაყოფილი იქნა 10 წლიანი ინტერვალით, შესაბამისად, პირველ ქვეტიპს შეადგენდა 30-39წწ. II – 40-49წწ, III – 50-59, IV – 60-69, V – 70-79, VI – 80-89 ასაკის ქვეჯგუფები.

რეტროსპექტრულ შემთხვევათა იმუნოჰისტოქიმიური კვლევისათვის პარაფინის ბლოკებიდან აღებულ იქნა 3 მკმ სისქის ნიმუშები. იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა ჩატარდა ციტოკერატინი 5 (CK5) (clone XME 2; dilution 1:100; “Novocastra” Laboratories), ციტოკერატინ 17 (CK17) (clone E2; dilution 1:40; “Novocastra” Laboratories), ციკლინ - Cyclin E (clone 13A; dilution 1:100; “Novocastra” Laboratories) გამოსაკვლევად. ანტიგენის აღდგენა მოხდა 0,01 M ციტრატულ ბუფერში pH 6,0 + Tween (Decloacking Chamber, Biocare Medical) ანტიგენ-ანტისხეულის კომპლექსისა კი პოლიმერული დეტექციის სისტემით (NovoLike Polymer Detection System; “Novocastra” Laboratories). ანათლებზე შედეგების შეფასება მოხდა ვიზუალურად 2 პათოლოგის მიერ, ასევე გამოყენებულ იქნა ციფრული პროგრამა Immuno Ratio [Rodu et al.,2012; Helin et al., 2016], შემდგომი დამუშავებით SPSS-14 სისტემით, ასევე არაპარამეტრიული კრიტერიუმების გამოთვლით: ვითვლიდით 500 – 1000 უჯრედს ყოველი შესწავლილი შემთხვევიდან.

53 შემთხვევაში იმუნოჰისტოქიმიური კვლევით დადგინდა სიმსივნის სამმაგ-ნეგატიური (ER/PR/HER2ნეგატიური) ფენომენი, მათ შორის 4 – II სტადია, 30 – IIA სტადია, სტადია IIB - 0 შემთხვევა;

16 – IIIA სტადიის, IIIB და C – 0, და 2 შემთხვევა კი IV სტადიის მასალა.

სიმსივნე ითვლებოდა რეცეპტორ დადებითად, თუ იმუნოჰისტოქიმიური გამოკვლევისას იღებებოდა ბირთვების 10% და მეტი, სიმსივნე ითვლებოდა HER2/neu უარყოფითად, თუ HER2 კრიტერიუმების შეფასებით ისინი ღებულობდნენ 0 ან 1+ ქულას.

დანარჩენი იმუნოჰისტოქიმიური რეაქციების შედეგები შეფასებული იყო შემდეგი შკალით:[^]

0 – რეაქცია უარყოფითია ან იშვიათი – დადებითად მორეაგირე ერთეული

უჯრედები (<1%)

დადებითად ითვლებოდა რეაქცია, როდესაც უჯრედთა >1% იყო პოზიტიური.

ჩვენი ნაშრომის ძირითადი ამოცანებიდან გამომდინარე, ყველა შემთხვევაში განსაზღვრული იყო სასქესო ჰორმონების რეცეპტორები და გენ HER2/neu რეაქციის პროდუქტი. სხვა ანტიგენების იმუნოჰისტოქიმიური გამოკვლევისთვის შერჩეული იყო 48 დაკვირვება 53-დან, სადაც H&E შესწავლისას სიმსივნურ ქსოვილში აღინიშნებოდა ბაზალოიდური მსგავსი უჯრედების ფენოტიპი.

ყველა სინჯის მომზადება და რეაქციის მსვლელობა განხორციელდა ფირმა მწარმოებელის პროტოკოლის მიხედვით.

კლინიკური-პათოლოჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება ძირითადად ჩატარდა აღწერობითი მეთოდით, შემდგომი ტესტირება განხორციელდა პირველი მონაცემების (ვიზუალური, ნახევრადრაოდენობრივი) პროგრამული დამუშავებით SPSS-14 სისტემაში, გამოყენებული იყო ასევე არაპარამეტრიული

კრიტერიუმები. სარწმუნო სხვაობის ათვლის კოეფიციენტი შეფასდა $P \leq 0,05$, შედეგები გამოიხატა ცხრილებსა და დიაგრამებში (იხ. თავი III-IV).

კვლევის შედეგები

სამმაგნეგატიური კიბოს კლინიკურ თავისებურებათა შეფასება
დაკვირვების ქვეშ მყოფი ყველა პაციენტის ასაკი მერყეობდა 30-დან 89-წლამდე, პაციენტთა დემოგრაფიული მახასიათებლები და სიმსივნის კლინიკო-პათოლოგიური შეფასება გამოიხატა ცხრილებში.

მონაცემების განხილვამ გვიჩვენა, რომ სიმსივნის ქვეტიპის მიხედვით ყველაზე ხშირად 30-89 წლის ასაკობრივ დიაპაზონში აღინიშნება Luminal A ქვეტიპი (62,15%), სიხშირით მეორე ადგილზეა Her2(+)/ER- ნეგატიური ქვეტიპი (17,4%), თუმცა იგი 3, 4-ჯერ უფრო ნაკლებად გვხვდება, ვიდრე Luminal A ტიპი. სიხშირით მესამე ადგილზეა Basal-like ძუძუს კიბო (9,8%), რომელიც 5,8-ჯერ ნაკლებია ვიდრე Luminal A ქვეტიპი, ხოლო Luminal B და სამმაგნეგატიური „არაბაზალურის“ მსგავსი ქვეტიპის სიმსივნეები გვხვდება 9,8-ჯერ ნაკლები, ვიდრე Luminal A ქვეტიპის სიხშირეა.

I ასაკობრივ ჯგუფში (30-39წწ) ძუძუს კიბოს ნახევარზე მეტი (51,9%) წარმოდგენილია Luminal A ქვეტიპით, ხოლო მესამედზე მეტი (40,7%) Her2(+)/ER – ჯგუფით. მცირე ჯგუფს წარმოადგენს Luminal B ქვეტიპი (7,4%). Triple ნეგატიური და Basal-like არ აღენიშნება.

ამ ასაკობრივ ჯგუფში Luminal A 13-ჯერ მეტია, ვიდრე Her2(+)/ER – ქვეტიპი და 7-ჯერ მეტია, ვიდრე Luminal B ქვეტიპი.

II ასაკობრივ ჯგუფში (40-49წწ) დომინანტური ქვეტიპია Luminal A (60,92%), შემდეგ მოდის Her2(+)/ER (20,7%), ასევე Basal-like (10,3%). Luminal B (5,8%) და Triple ნეგატიური (2,3%) ქვეტიპები. ამ ასაკობრივ ჯგუფში Luminal A ქვეტიპი თითქმის 3-ჯერ მეტია, Her2(+)/ER -ქვეტიპი 6-ჯერ მეტია, ვიდრე Basal-like ქვეტიპი, 10,5-ჯერ მეტია, ვიდრე Luminal B ტიპი და თითქმის 27-ჯერ მეტი, ვიდრე Triple ნეგატიური ქვეტიპი.

III ასაკობრივ ჯგუფში (50-59წწ) დომინანტური ქვეტიპია Luminal A და შეადგენს შემთხვევათა 2/3 (70,1%), სიხშირით მეორეა Her2(+)/ER- ქვეტიპი (16,5%), 4,5-ჯერ ნაკლებია ვიდრე Luminal A ქვეტიპი.

გავრცელების მიხედვით მესამე ადგილზეა Basal-like ქვეტიპი (6,2%), რომელიც თითქმის 12-ჯერ ნაკლებია, ვიდრე Luminal A ქვეტიპი.

Triple ნეგატიური და Luminal B ქვეტიპები თითქმის თანაბარი რაოდენობითაა წარმოდგენილი და საშუალოდ 20-ჯერ ნაკლები სიხშირით გვხვდება, ვიდრე Luminal A ქვეტიპი.

IV ასაკობრივ ჯგუფში (60-69წწ) დომინანტი ქვეტიპია ისევ Luminal A (66,02%).

სიხშირით მეორე და მესამე ადგილზე აღინიშნება Basal-like და Triple ნეგატიური (შესაბამისად 12,6% და 7,8%), რომლებიც 5-ჯერ და 7,5-ჯერ ნაკლები სიხშირითაა ვიდრე Luminal A ქვეტიპი. Her2(+)/ER- და Luminal B ტიპი ერთნაირი სიხშირითაა (6,8%), Luminal A ქვეტიპზე 8-ჯერ ნაკლებია.

V ასაკობრივ ჯგუფში (70-79წწ) ყველაზე ხშირად ისევ Luminal A ტიპი გვხვდება (42%), თუმცა მკვეთრად შემცირებული რაოდენობით. Her2(+)/ER- მეორეა სიხშირის მიხედვით და თითქმის 2-ჯერ ნაკლებია Luminal A –სთან შედარებით.

Basal-like ქვეტიპი მე-3 ადგილზეა და შეადგენს 16,3%, იგი 2,4-ჯერ ნაკლებია, ვიდრე Luminal A ქვეტიპი, ხოლო Triple ნეგატიური სიმსივნე და Luminal B თითქმის ერთნაირი სიხშირით ვლინდება (9,3%) და 4-ჯერ ნაკლებია, ვიდრე Luminal A ქვეტიპი.

VI ასაკობრივ ჯგუფში (80-89წწ) დომინანტურ სიმსივნეს წარმოადგენს Luminal A (80%), სიხშირით მეორეზე ვლინდება ქვეტიპი Her2(+)/ER (25%), რომელიც 5-ჯერ უფრო იშვიათია, ვიდრე Luminal A ქვეტიპი.

Basal-like ქვეტიპი, Triple ნეგატიური და Luminal B ქვეტიპი არ აღინიშნება.

ამრიგად, მუქუს დუქტური ინვაზიური კარცინომის თითოეული ქვეტიპის გამოვლენის სიხშირის ანალიზმა ასაკობრივი ჯგუფების მიხედვით გვიჩვენა შემდეგი: Luminal A ქვეტიპი ვლინდება ყველა ასაკობრივ ჯგუფში როგორც დომინანტური ქვეტიპი, თუმცა სხვადასხვა ინტენსიობით: ორი პიკი III ჯგუფსა და IV ჯგუფში და, გარკვეული ზრდა შედარებით V-ჯგუფშიც.

საყურადღებოა, რომ Her2(+)/ER - ქვეტიპი გამოვლენის სიხშირით მე-2 ადგილზეა თითქმის ყველა ასაკობრივ ჯგუფში, ასევე აღსანიშნავია, რომ პრე- და პოსტმენოპაუზასა და HER-2+ სტატუსს შორის პირდაპირი კორელაცია არ დაფიქსირდა გარდა IV ჯგუფისა (60-69წწ), სადაც იგი თითქმის 2-ჯერ ნაკლები სიხშირით ვლინდებოდა, ვიდრე ბაზალოიდურის მსგავსი ქვეტიპი.

Her2(+)/ER - ქვეტიპის გამოვლენის სიხშირე იდენტურია Luminal A ქვეტიპის გამოვლენის სიხშირის. I ასაკობრივ ჯგუფიდან (30-39წწ) ყველა შემდგომში, მისი გამოვლენის სიხშირე მკვეთრად მცირდება Luminal A ქვეტიპის გამოვლენის სიხშირის პარალელურად. თუ I ასაკობრივ ჯგუფში მათი გამოვლენის სიხშირე შეადგენდა 1,2; IV ასაკობრივ ჯგუფში შეადგენს 9,4, ანუ Her2(+)/ER - ქვეტიპის

გამოვლენა ასაკის მატებასთან ერთად კლებულობს V ასაკობრივ ჯგუფამდე (70 წლამდე), ხოლო შემდეგ ისევ მატულობს. V და VI ასაკობრივ ჯგუფში ქვეტიპის გამოვლენის სიხშირე შეფასებულია 2.0 და 5.0, შესაბამისად.

Basal-like სიმსივნე არ ვლინდება I და VI ასაკობრივ ჯგუფში, ხოლო მისი გამოვლენის სიხშირე თანდათან (მცირედ) იზრდება, გარდა II ასაკობრივი ჯგუფისა, სადაც სიხშირე დაახლოებით 1,5-ჯერ ნაკლებია, ვიდრე სხვა დანარჩენ ასაკობრივ ჯგუფში.

Triple ნეგატიური ქვეტიპი არ ვლინდება I და VI ასაკობრივ ჯგუფებში, სხვა ასაკობრივ ჯგუფებში მისი გამოვლენის სიხშირე ასაკის ზრდასთან ერთად მატულობს, V ასაკობრივ ჯგუფში სამმაგი ნეგატიური სიმსივნის სიხშირე 4,5-ჯერ უფრო მეტია, ვიდრე II ასაკობრივ ჯგუფში.

Luminal B ქვეტიპის სიმსივნის გამოვლენის სიხშირე თითქმის 2-ჯერ მცირდება III ასაკობრივ ჯგუფში, თითქმის 3-ჯერ იმატებს V ასაკობრივ ჯგუფში, არ ვლინდება VI ასაკობრივ ჯგუფში.

დუქტური ინვაზიური კარცინომის ქვეტიპის (ფენოტიპური ქვეჯგუფების), გამოვლენათა სიხშირის ანალიზმა გვიჩვენა, რომ დომინანტ ქვეტიპს წარმოადგენს Luminal A ქვეტიპი, რომლის სიხშირე იცვლება სხვადასხვა ასაკში, მაგრამ სტაბილურად ყველაზე ხშირ ქვეტიპს წარმოადგენს. Her2(+)/ER - ქვეტიპის გამოვლენის სიხშირე, მნიშვნელოვნად მცირდება რა ასაკის მატებასთან ერთად (70წელი), იზრდება განმეორებით 80 წლის ზევით.

Triple ნეგატიური და Basal-like ქვეტიპები არ დადგინდა 30-39წწ და 80-89წწ ასაკობრივ ჯგუფებში.

გამოკვლევულ პოპულაციაში სიმძიმის მიხედვით ყველა ასაკობრივ ჯგუფში დადგინდა III A და B სტადიები.

დუქტური ინვაზიური კარცინომის ქვეტიპის (ფენოტიპური ქვეჯგუფების) ასაკობრივი თავისებურებების გათვალისწინება მნიშვნელოვანია როგორც დიაგნოსტიკის და სამკურნალო ტაქტიკის შერჩევის, ასევე ძუძუს სკრინინგული პროგრამების ადექვატური დაგეგმარებისათვის.

უნდა ითქვას, რომ ჩვენს მასალაზე პირდაპირი კორელაციის არსებობა ძუძუს და საკვერცხის ან საშვილოსნოს კარცინომების ოჯახურ ისტორიასთან არ დაფიქსირდა, თუმცა ეს ფენომენი თავისთავად საინტერესოდ გვეჩვენება და იგი უნდა გახდეს სპეციალური კვლევის საგანი ინდივიდუალური მონაცემებისა და ანამნეზის უფრო მიზნობრივი შეფასებით.

ძუძუს სამმაგნეგატიური კიბოს „ბაზალიდური“ ქვეტიპის ჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური პროფილი

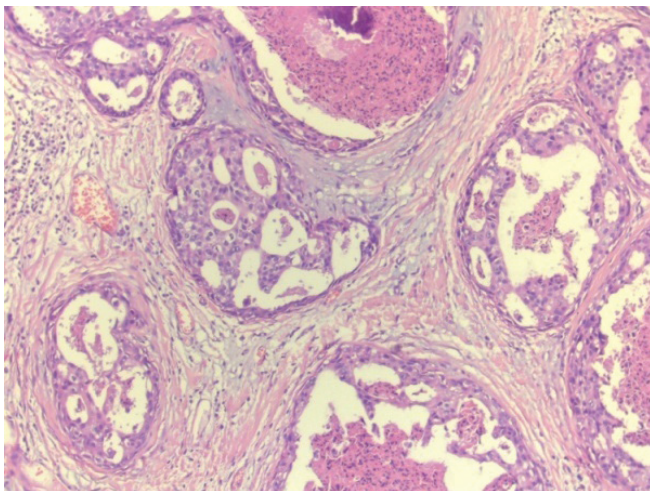
ოპერაციული მასალის მიკროსკოპული გამოკვლევა იყო მიზნობრივი, შესაბამისად, პირველადი დიაგნოზის ვერიფიკაციის და ქიმიოთერაპიის დაგეგმვის კეთდებოდა ე.წ. “core” - ბიოფსია. ამავე პაციენტებს უმრავლეს შემთხვევაში შემდგომ ჩაუტარდათ რადიკალური ქირურგიული ჩარევა, რაც მასალის დეტალური შესწავლის შესაძლებლობას გვაძლევდა.

ჯანდაცვის საერთაშორისო ორგანიზაციის (WHO) ჰისტოლოგიური კლასიფიკაციით, ჩვენს მასალაზე სიმსივნეთა მიკროსკოპული სტრუქტურა შეიძლება მივაკუთვნოთ დიფერენციულ ინვაზიურ (ინფილტრაციულ) სადინროვან კიბოს, აქედან 70% დაფიქსირდა ავთვისიანობის III (Grade III) ხარისხის სიმსივნე, 29,4% - ავთვისიანობის II ხარისხი (Grade II).

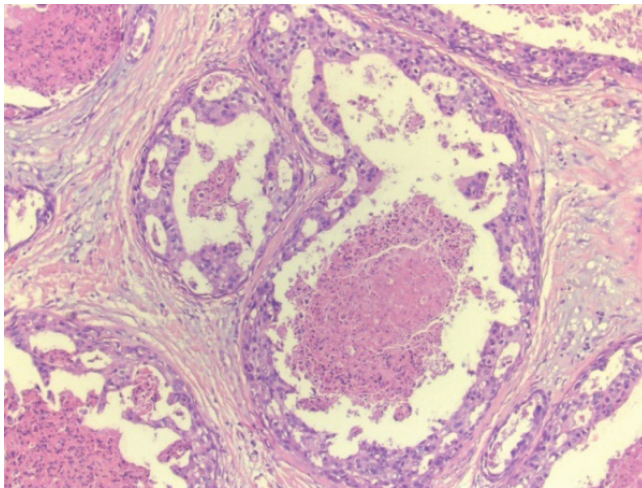
მაღალი ავთვისებიანობის წილაკოვანი კიბოს დიაგნოზი სოლიდური სტრუქტურების უპირატესობით დაისვა ორ შემთხვევაში, ხოლო ერთ პაციენტს ჰქონდა შერეული სადინროვან-წილაკოვანი კარცინომა.

სიმსივნის გარშემო მოსაზღვრე ქსოვილში შედარებით იშვიათად ვლინდებოდა კიბოსწინა ცვლილებები. სადინროვან ინფილტრაციულ კიბოს დროს გამოვლინდა სადინროვანი in situ კიბოს 12 შემთხვევა და ლობულური ნეოპლაზიის ერთი შემთხვევა ძირითადი კერის ირგვლივ.

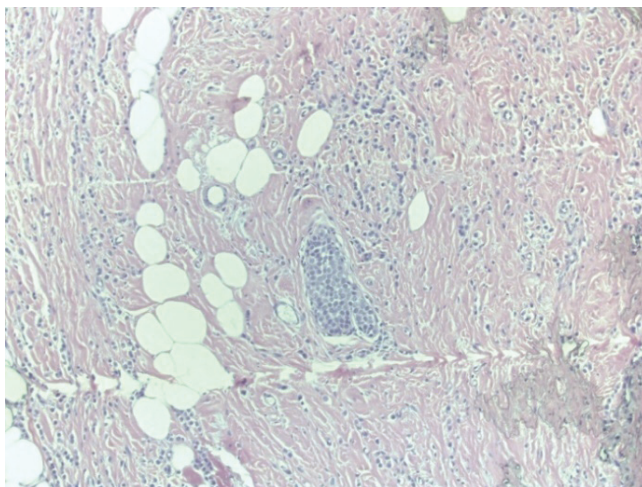
უფრო ხშირად, თითქმის შემთხვევათა 70%, სადინროვანი კიბო იყო გარშემორტყმული ფიბროზულ-ცისტური დაავადების პროლიფერაციული ვარიანტის მსგავსი სტრუქტურებით, მოიცავდა სადინარში დისპლაზიურ ცვლილებებს, კრიბროზული ტრანსფორმაციით. (სურათები 1, 2, 3, 4).



სურ. 1. დუქტური კარცინომა in situ კრიბრიფორმული სტრუქტურები, H&E, X200



სურ. 2. დუქტური კარცინომა in situ, კომედო ნეკროზით H&E, X200



სურ. 3. ლობულური ნეოპლაზია, H&E, X100

48 შემთხვევაში გამოყოფილ იქნა – “basal-like” –კარცინომა, რომელიც ხასიათდება ბაზალური ციტოკერატინების მაღა-

ლი ექსპრესიით, კომედო ნეკროზის კერებით და Cyclin E იმუნოექსპრესიით [A. Mariamidze et al., 2018a].

ამ მიმართულებით ჩატარებული კვლევის შედეგად ჩვენს მასალაზე გამოვლინდა შემდეგი სახის ჰისტოპათოლოგიური (H&E) და იმუნოჰისტო-ქიმიური სპექტრი (სურათები 5-8):

ბაზალოიდური კიბო და მისი იმუნოპროფილი:

5. (H&E) სიმსივნეში ლობულური ნეოპლაზია.

6. მარტივი სადინროვანი ჰიპერპლაზია.

7. მარტივი სადინროვანი ჰიპერპლაზია.

8. მარტივი სადინროვანი ჰიპერპლაზია ცისტური ტრანსპორმაციითა და სტრომის რეაქციით.

არაიშვიათად აღინიშნა სიმსივნის ცენტრალურ უბნებში ფიბროზულ-ცისტური დაზიანება სხვადასხვა ზომის და შიგთავსის ცისტების ჩამოყალიბებით

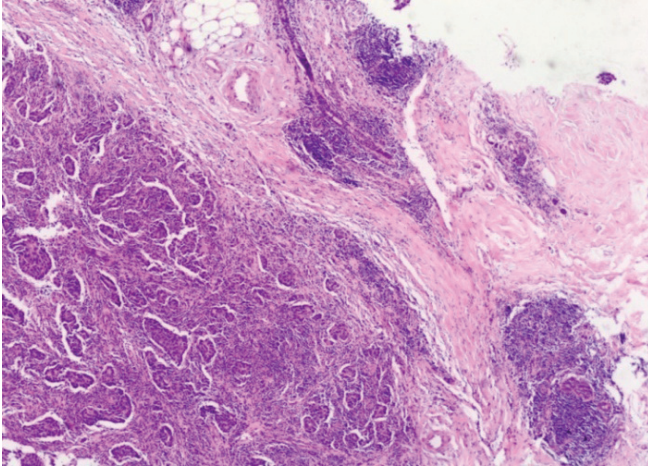
სამმაგნეგატიური კიბოს პრაქტიკულად ყველა ჰისტოლოგიურ ვარიანტში, მაგრამ სადინროვანი კიბოს დომინირებით, არის ახალწარმონაქმნების არადიფერენცირებული ფორმები, რომლებიც თავის მიკროსკოპული სტრუქტურით შეესაბამებიან ე.წ. „ბაზალოიდურ“ კიბოს, სადაც ჩვენი შემდგომი იმუნოჰისტოქიმიური კვლით დადგინდა სპეციფიკური ფენოტიპი. ჩვენ მასალაზე (n=48) ბაზალოიდური კიბო წარმოდგენილი იყო სოლიდური სტრუქტურებით, ნეკროზის ვრცელი კერებით, რომლებიც ხშირად „გეოგრაფიული“ რუკის სახეს იძენდნენ. უმრავლეს შემთხვევაში სიმსივნის ცენტრალურ უბნებში წარმოდგენილი იყო ნაწიბუროვანი შემაერთებელი ქსოვილი, რომელიც გრძელდებოდა ერთ თხელ ფიბროზულ შუა შრეში და ჩაიზრდებოდა სიმსივნის პარენქიმაში სხვადასხვა მიმართულებით. ასეთი ვარიანტის დროს სიმსივნის უჯრედები შედარებით წვრილია, აქვთ მკვეთრად გამოხატული

დიდი ბირთვები, კონტურირებული ნათელი ციტოპლაზმა და მსხვილი ბირთვაკები. ბევრია მიტოზის ფიგურები, მხოლოდ ალაგ-ალაგ შეიძლება ვნახოთ დუქტური სტრუქტურების ფორმირება. ვრცელია ლიმფო-პლაზმაციტური ინფილტრატები, თუმცა სიმსივნის პარენქიმაში ისინი უფრო მეტია, ვიდრე თვით ძუძუს ქსოვილში.

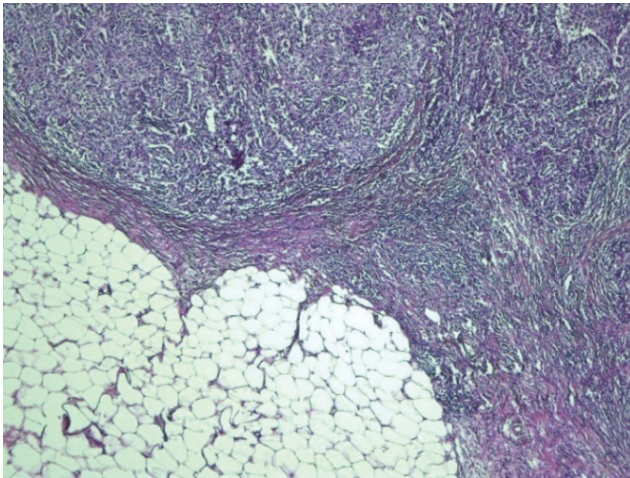
ჩვენს მასალაზე ტიპური ბაზალოიდური ფორმები გამოვლინდა სწორედ ბაზალოიდური კერატინების შეღებვის შედეგებით: გამოიკვეთა სიმსივნეები, რომლებიც თითქოს შუალედურ ადგილს იჭერენ ბაზალოიდური და მედულური კიბოს ქვეტიპებს შორის თავისი ლიმფოიდური სტრომით, აგრეთვე ძუძუს ე.წ. „ლიმფოეპითელიომები“.

დასახელებულ ვარიანტში უჯრედული ელემენტები ალაგ-ალაგ უფრო მსხვილია, ვიდრე ტიპურ ბაზალოიდურ კიბოში. ცალკეულ უჯრედებს აქვთ მკვეთრად გამოხატული უჯრედული მემბრანა, მაგრამ თავმოყრის ადგილებში იღებენ სინციტიუმის სახეს. მიტოზური აქტივობა მაღალია - 10 მხედველობის ველში, 10-ზე მეტი მიტოზის ფიგურა ობიექტივის 40X გადიდების დროს. ასეთ ფორმებში ნეკროზის კერებიც ხშირია. სიმსივნური უჯრედები შერეულია ლიმფოიდურ- და პლაზმურ უჯრედოვან ელემენტებთან, ხშირად აღინიშნება (მეორდება) თავისებური სივრცითი თანაფარდობა სიმსივნურ უჯრედებს და ლიმფოპლაზმურ ელემენტებს შორის. ჯირკვლოვანი სტრუქტურების მსგავსი სტრუქტურა შედარებით ან ძალიან ცოტაა.

TNBC სტრუქტურაში სხვადასხვა ჰისტოლოგიური ვარიანტის ერთდროული არსებობის გამოსავლენად (რომელიც TNBC დიდ ჯგუფს წარმოადგენს) მივმართეთ მასალის ჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური თავისებურებების ერთობლივი კვლევის შედეგებს. მთლიანობაში, ისინი მოწმობენ ბაზალური დიფერენციაციის მარკერების უფრო ფართე გავრცელებაზე, მათ დომინირებაზე ძუძუს კიბოს სხვადასხვა ქვეტიპის ჯგუფებში.



სურ. 4. ალვეოლური და მილაკოვანი პროლიფერატები.
ინვაზიის გამწევი მოდელი, H&E, X400

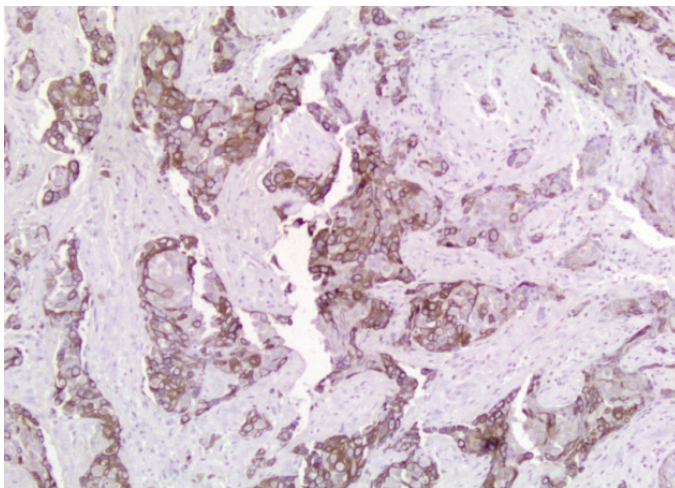


სურ. 5 სოლიდური უბნები, „ინვაზიის გამწევი მოდელი“, H&E, X40.

ჩვენს მასალაზე ყურადღებას ვამახვილებდით სწორედ სხვადა-
სხვა მიკროსკოპული სტრუქტურების შერწყმაზე ფენოტიპურად

ბაზალოიდურ კიბოში, სადაც აღინიშნებოდა სოლიდური უბნები უჯრედების მკვეთრად გამოკვეთილი კონტურებით, ასევე უბნები სიმსივნური ქსოვილის დეზინტეგრაციით, სინტიციური სტრუქტურების ფორმირების დაწყებით და დიფუზური ლიმფოიდური ინფილტრაციით.

ბაზალოიდური ტიპის ციტოკერატინებიდან, რაც მისი სახესპეციფიკურობის ბაზისს ქმნის, უფრო ხშირად ვლინდება ციტოკერატინი 5/17. აქვე უნდა ითქვას, რომ ამ სახეობის კერატინები ვიზუალიზდება ექსპრესიის ხარისხისა და რაოდენობის ვრცელ დიაპაზონში. მთლიანობაში კი დადებითი რეაქცია CK5/17 აღინიშნა 44 პაციენტის სიმსივნურ უჯრედებში (სურათი 6).



სურ. 6. CK5/17. იმუნოპეროქსიდაზული რეაქცია, X200

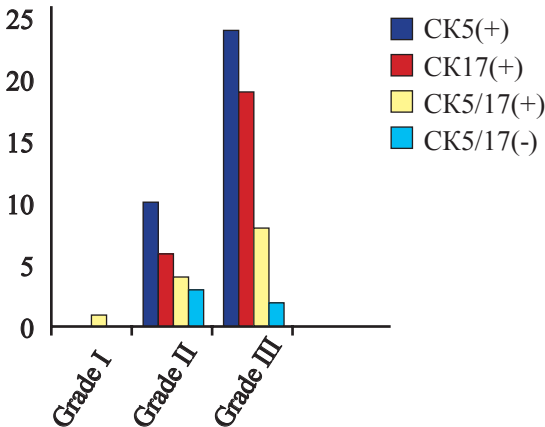
CK17 და CK5/17 -ზე შეღებვის ინტენსიობა, როგორც წესი, მაღალია. საინტერესოა აღინიშნოს, რომ CK17 უარყოფითი სიმსივნეები ჩვეულებრივად მაღალი მალიგნური თვისებით გამოირჩევიან. ხშირად გვხვდებოდა სიმსივნეები, რომლის

უჯრედები ექსპრესირებდნენ ბაზალური დიფერენციაციისათვის დამახასიათებელ სხვა კერატინების - CK 5/6 ტიპს. ჩვენ მასალაზე CK5/6 ექსპრესიის სტატისტიკური შედეგები წარმოდგენილია დიაგრამაზე (სურათი 7). ზოგადად, CK5/6 ექსპრესიას აქვს ინტენსიური ხასიათი და ბუდობრივი განაწილება.

კვლევის შედეგები აჩვენებენ დადებით იმუნოჰისტოქიმიურ პასუხს CK5/6-ზე და ასევე შეიძლება შეფასდეს დიფერენციაციის დაბალი ხარისხის (Grade 3) სიმსივნეებად; მხოლოდ ორ შემთხვევაში ვნახეთ არამკვეთრი დადებითი რეაქცია სიმსივნეებში ზომიერი ავთვისიანობით (Grade 2), ეს იყო სადინროვანი კიბოს ჰისტოლოგიური ვარიანტი.

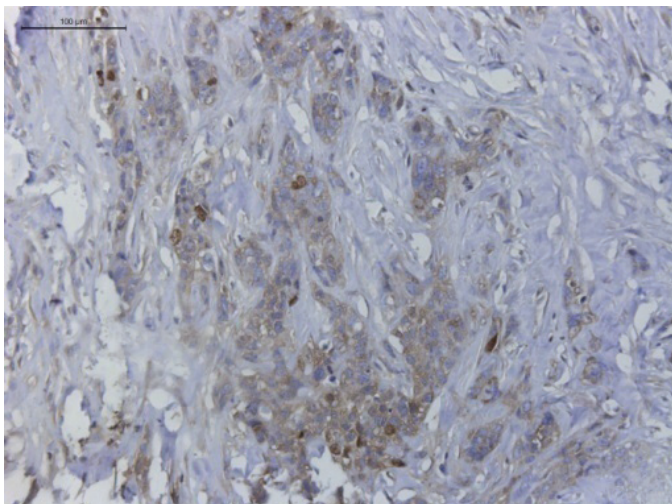
CK17 ჯგუფის ციტოკერატინებმა გამოავლინეს პრაქტიკულად CK5 იდენტური განაწილება. მხოლოდ ერთეულ დაკვირვებებში ჩვენ ავლნიშნეთ ამ კერატინების განსხვავებული გავრცელება.

ბაზალიდური ტიპის კარცინომის შემთხვევათა შეფასებამ სხვადასხვა ფენოტიპის მიხედვით მოგვცა შემდეგი შედეგები:



სურ. 7. კორელაცია ბაზალური ციტოკერატინების ექსპრესიასა და ავთვისიანობის ხარისხის შორის "ბაზალიდური" კიბოს დროს

ფენოტიპი CK5/6+ და CK17 აღმოაჩნდა ყველა პაციენტის სიმსივნის ნიმუშებში, ფენოტიპი CK5/6 და CK5/17 ექსპრესია და სიმსივნეების მიკროსკოპული სტრუქტურა ყველაზე მეტად შეესაბამებოდა TNBC ტიპის ძუძუს კიბოს ბაზალოიდური ფენოტიპს. ამასთან, საჭიროა ავლნიშნოთ, რომ თვით რეაქციის ინტენსიობა და მისი გავრცელება ხშირად შერწყმული იყო Cyclin E- ფოკალურად დადებით რეაქციასთან (სურათები 8, 9).

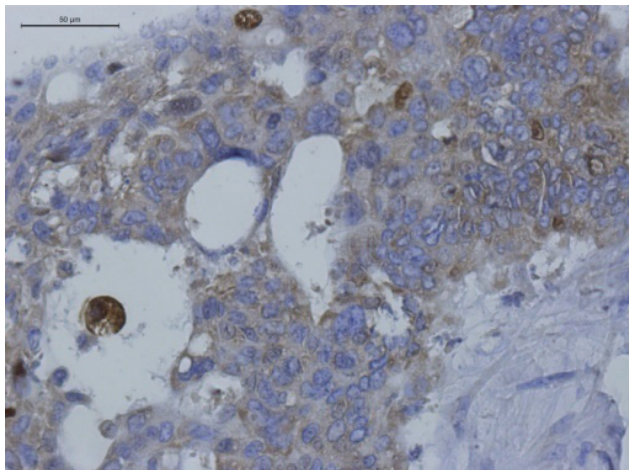


სურ. 8. Cyclin E ექსპრესია, ბაზალოიდური კიბო, X400

ამ ჯგუფის სიმსივნეების მიკროსკოპული შენება შეესაბამებოდა სადინროვან კიბოს ავთვისიანობის II–III ხარისხით. მხოლოდ ერთ ავადმყოფს ასეთი პროფილი გამოუვლინდა კომბინირებული შენების სადინროვან-წილაკოვან კიბოს უჯრედებში.

როგორც ცნობილია, უჯრედული ციკლი რეგულირდება სხვადასხვა ციკლინების თანმიმდევრული ფორმირებით და დეგრადაციით. ციკლინები ადამიანის ორგანიზმში გააქტივდებიან

რამდენიმე ციკლინდამოკიდებულ კინაზას საშუალებით, რომლებიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ უჯრედული ციკლის საკვანძო ფაზებზე.



სურ. 9. Cyclin E, ბაზალიდური კიბო, X400

შეუთავსებელი ციკლინების ექსპრესიის აღმოჩენის შემდგომ ვარაუდობენ, რომ ზოგიერთი ციკლინი ჩართულია ონკოგენეზში და მოქმედებს როგორც პროტონკოგენი. ამ მხრივ საინტერესოა Cyclin E შესწავლა ბაზალიდურის მსგავსი ტიპის კარცინომებში, მისი იმუნოჰისტოქიმიური ექსპრესიის დონე და პროგნოზული მნიშვნელობა, რამდენადაც, ზოგადად, ცნობილია Cyclin E გადაწყობის მნიშვნელობა კარცინოგენეზში [Livasy et al., 2006]. ვთვლით, რომ Cyclin E ექსპრესია კორელაციაშია სიმსივნის სტადიის და ავთვისიანობის ზრდასთან (ცხრილი 1).

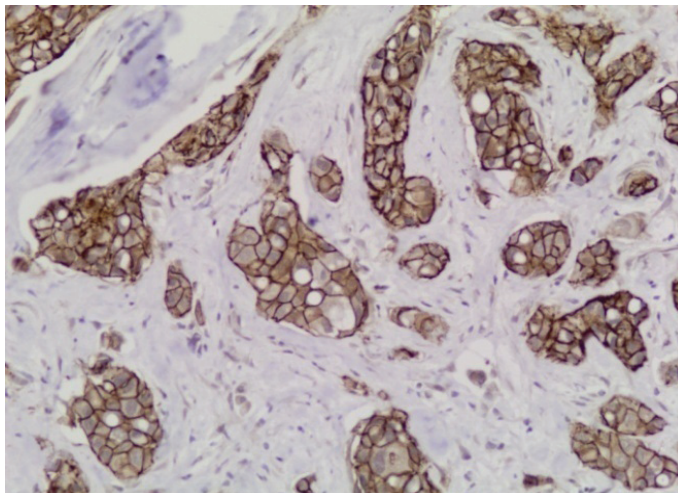
დადგენილია, რომ ძუძუს კიბოს „ბაზალიდურის მსგავსი“ ტიპის ვარიანტი ხასიათდება ტიპიური იმუნოპროფილით: სახელდობრ, ციტოკერატინ CK5/6, CR14, CK/17, ვიმენტინის და Her-

ცხრილი 1. Cyclin E ექსპრესია ძუძუს "ზაზალოიდური" კიბოს სხვადასხვა სტადიის დროს ასაკთან მიმართებაში

	n	Cyclin E - Positive	Cyclin E - Negative	PValue
Tumor size	362	75	287	0.047
T1	147	20	127	
T2	193	50	143	
T3	15	3	12	
T4	7	2	5	
Histological Grade	362	75	287	0.000
Grade I	42	2	40	
Grade II	159	17	142	
GradeIII	161	56	105	
CK5	362	75	287	0.000
Positive	40	19	21	
Negative	322	56	266	
LN	362	75	287	0,025
Positive	81	24	57	
Negative	281	51	230	
EGFR	362	75	287	0,483
Positive	58	14	44	
Negative	304	61	243	
Age	362	75	287	0,049
30-39	27	5	22	
40-49	87	17	70	
50-59	97	12	85	
60-69	103	27	76	
70-79	43	14	29	
80-89	5		5	

1 ექსპრესიით. მაგრამ, ნეკროზის ფენომენი უფრო ინტენსიურად არის გამოხატული, ხოლო CD117 და კასპაზა -3 ექსპრესია ერთმნიშვნელოვნად მაღალია კიბოს ამ ჰისტოლოგიური ვარიანტის დროს [Alba, Chacon et al., 2012].

ჩვენს მასალაზე გამოვლინდა ER, PR და HER 2/neu დაბალი ან ფოკალური დადებითი ექსპრესია და უარყოფითი რეაქცია, რაც ბაზალიდური კიბოს განსაზღვრის არსს წარმოადგენს, ასევე ნაჩვენებია HER 2/neu⁺ აქტივობის ვარიანტები (სურათი 10).



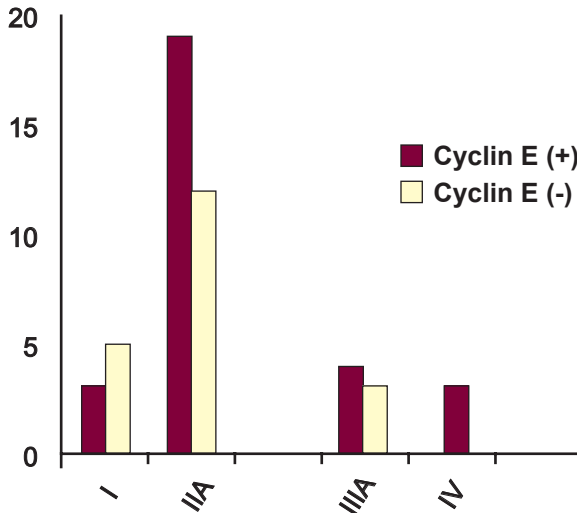
სურ. 10.. „ბაზალიდურის მსგავსი“ ძუძუს კიბოს ქსოვილის ნიმუში. HER2 დადებითი კლასტერები, X400

დაბალმოლეკულური Cyclin E იზოფორმები შეფასებულია, როგორც მნიშვნელოვანი პათოგენეზური და პროგნოზული ფაქტორი უკვე ადრეულ სტადიებზე “early-stage-node” ნეგატიური კიბოს დროს, როგორც პროგნოზული ღირებულების მქონე მარკერები.

სხვა მარკერების შეფასებისას დადგინდა, რომ ჩვენს მასალაზე ძუძუს კიბოს სამმაგნეგატიური სიმსივნეების უმეტესობა დაბალ დიფერენცირებულია: Grade 1 სიხშირემ შეადგინა 1,8% (1/53), Grade 2 სიხშირემ შეადგინა 28,3% (15/53), ხოლო Grade 3 სიხშირემ შეადგინა 69,8% (37/53).

მასალის შემდგომმა კვლევამ ციტოკერატინების ექსპრესიაზე აჩვენა, რომ CK5 ექსპრესიას ადგილი ჰქონდა შემთხვევათა 66% (35/53), CK17 გამოვლინდა 49% (26/53). CK5/ CK17 პოზიტიური იყო 24,5% (19/53); CK5/ CK17 აღმოჩნდა ნეგატიური 9,4% (5/53). დასახელებული მარკერების განაწილება ძუძუს კიბოს ავთვისიანობის ხარისხის მიხედვით წარმოდგენილია ცხრილში 2.

სულ სამმაგნეგატიური კიბოს 53 შემთხვევიდან 48 შემთხვევაში დადგინდა ბაზალოიდურის მსგავსი ტიპის სიმსივნე ციტოკერატინების სტაბილურად მაღალი ექსპრესიით, რის შემდგომ ჩვენ გავაგრძელებთ იმ 48 სიმსივნის შემთხვევათა კვლევა Cyclin E ექსპრესიის თვალსაზრისით, რომელიც თუნდაც ერთი ბაზალოიდურის მსგავსი ტიპის ციტოკერატინის (90,5%) მიმართ იყო დადებითი ($p = 0,0001$).



სურ. 11. Cyclin E ექსპრესია ბაზალოიდური კიბოს მალიგნიზაციის ხარისხის მიხედვით

ცხრილი 2. Cyclin E ექსპრესიისა და EGFR აქტივობის შეფასება ძუძუს TNBC ტიპის სიმსივნეში.

	n	EGFR (+)	EGFR (-)	P Value
Tumor size	362	58	304	0.180
T1	147	17	130	
T2	193	35	158	
T3	15	4	11	
T4	7	2	5	
Histological Grade	362	58	304	0.000
Grade I	42	3	39	
Grade II	159	13	146	
Grade III	161	42	119	
CK5	362	58	304	0.000
Positive	40	17	23	
Negative	322	41	281	
LN	362	58	304	0,002
Positive	81	22	59	
Negative	281	36	245	
Cyclin E	362	58	304	0,483
Positive	75	14	61	
Negative	287	44	243	
	362	58	304	0,014
30-39	27		27	
40-49	87	19	68	
50-59	97	8	89	
60-69	103	20	83	
70-79	43	10	33	
80-89	5	1	4	

სწორედ ასეთმა მიდგომამ გვიჩვენა, რომ ბაზალური შრის უჯრედებში იმუნომარკერებზე დადებითი 48 სიმსივნეიდან Cyclin E დადებითი იყო 58,3% (28/48). აღნიშნული მარკერების კორელაცია ბაზალოიდურის მსგავსი ტიპის ძუძუს კიბოს სტადიურობასთან წარმოდგენილია ცხრილში 2 ($r=0,029$).

ჩვენი მონაცემებით, ჩანს, რომ Cyclin E ექსპრესია დაავადების უფრო მძიმე კლინიკურ სტადიას უკავშირდება და კორელაციაში ანაპლაზიის ხარისხთან.

ჩატარებული ჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის შედეგებით სამმაგნეგატიურ სიმსივნეებში ჩვენს მასალაზე, ძირითადად, დადგინდა დაბალი დიფერენციაციის კიბო (70,5%) Grade 3, $p < 0,001$).

ჩვენი მონაცემებიდან ასევე ირკვევა, რომ სამმაგნეგატიური სიმსივნის იმუნოპროფილი ძირითადად ავლენს ბაზალიდურის მსგავსი ტიპის ციტოკერატინის CK5/17 ექსპრესიას (91,1%) $p < 0,001$.

შესაბამისად ერთი ან ორი ციტოკერატინის ერთობლივი მაღალი ექსპრესია უკავშირდება ავთვისიანობის მაღალ ხარისხს. შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ტრანსკრიფციული ფაქტორების ინტენსიური ექსპრესია და G_1 - S უჯრედული ციკლის ფაზების სწრაფი ცვლა, სავარაუდოდ, გენების ამპლიფიკაციის მიზეზი უნდა იყოს, რომელშიც Cyclin E – რეგულაციური როლი ერთ-ერთი წამყვანია. სწორედ „ბაზალიდურის მსგავსი“ ტიპის სიმსივნეები ავლენენ Cyclin E ექსპრესიას (54,8%) ან მის მიმართ უარყოფითი არიან, რაც უჯრედული ციკლის ღრმა მოშლაზე მიუთითებს.

Cyclin E კვლევის შედეგებიდან მნიშვნელოვანია, რომ ძუძუს კიბოს „ბაზალიდურის მსგავსი“ ტიპის სიმსივნეებში Cyclin E ექსპრესია პირდაპირ კავშირშია III–IV კლინიკურ სტადიასთან (ანაპლაზიის ხარისხთან), შესაბამისად, არაკეთილსაიმედო გამოსავალთან (სურ. 8, 9).

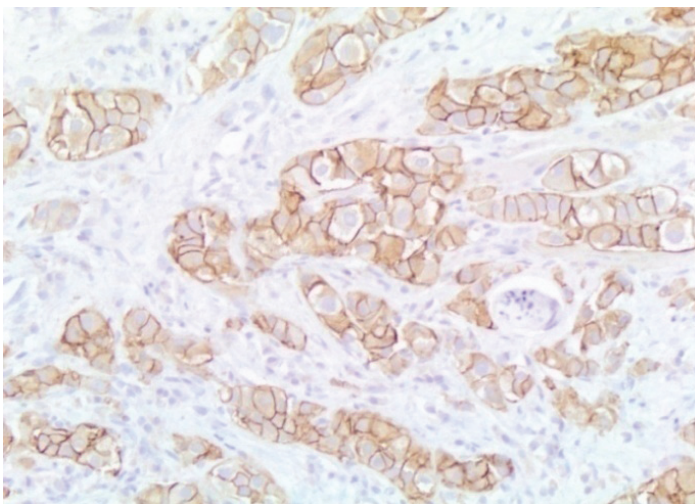
როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, იმუნოჰისტოქიმიური და ჰისტოლოგიური კვლევის შედეგებით დადგინდა, რომ უმეტესობა სამმაგ-ნეგატიური სივსივნეებისა იყო დაბალდიფერენცირებული: Grade 2 შეადგენს 29,4% (10/34) და Grade 3 შეადგენს შემთხვევათა

ცხრილი 3. სიმსივნის ზოგადი მახასიათებლებისა და Grade-ის პაციენტის ასაკის დამოკიდებულება HER2+/ER- აქტივობის დონესთან და სიმსივნის ჰისტოლოგიურ ტიპთან.

	n	Bazal like	Tripl Neg none Bazal like	Luminal A	Luminal B	HER2+/ER-	P Value
Tumour size	362	35	18	225	21	63	
T1	147	9	5	98	15	20	
T2	193	24	13	112	5	39	
T3	15	1		14			
T4	7	1		1	1	4	<0.001
ლ/კ	362	35	18	225	21	63	
Positive	81	14	6	27	13	21	
Negative	281	21	12	198	8	42	<0.001
Grade	362	35	18	225	21	63	
Grade I	42	1		38	1	2	
Grade II	159	10	5	123	4	17	
Grade III	161	24	13	64	16	44	<0.001
CK 5	362	35	18	225	21	63	
Positive	40	35			2	3	
Negative	322		18	225	19	60	<0.001
EGFR	362	35	18	225	21	63	
Positive	58	17	6	23	6	6	
Negative	304	18	12	202	15	57	<0.001
Cyclin E	362	35	18	225	21	63	
Positive	75	19	11	18	6	21	
Negative	287	16	7	207	15	42	0,01
Age	362	35	18	225	21	63	
30-39	27			14	2	11	
40-49	87	9	2	53	5	18	
50-59	97	6	4	68	3	16	
60-69	103	13	8	68	7	7	
70-79	43	7	4	18	4	10	
80-89	5			4		1	

70,6% (24/34), აქედან CK5 ექსპრესია ვლინდებოდა 64,7% (22/34), CK17 55,8% (19/34), ხოლო CK5 და CK17 თანაექსპრესია - 29,4% (10/34). შემთხვევათა 8,8% (3/34) არც ერთ ბაზალური ტიპის კერატინზე ექსპრესია არ გამოვლინდა (CK5/CK17 ნეგატიური შემთხვევები). შესაბამისად, 34 შემთხვევიდან 31 შეესაბამებოდა ბაზალურის-მაგვარი სიმსივნის ფენოტიპს.

ფენოტიპი CK5/6+ ახასიათებდა შემთხვევებს სადინროვანი კიბოს შენებით მაღალი ხარისხის ჰისტოლოგიური ავთვისიანობით, სადაც წარმოდგენილია სოლიდური სტრუქტურები.



სურ. 12. EGFR ექსპრესია „ბაზალოიდური“ კიბოს უჯრედებში იმუნოპეროქსიდაზული რეაქცია (Grade 3). X200

ცხრილი 3 წარმოადგენს HER2+/ER რეცეპტორთა აქტივობის განაწილებას მალიგნიზაციის სხვადასხვა ხარისხის ძუძუს „ბაზალოიდური“ კიბოს უჯრედებში. ირკვევა, რომ Grade 3 შემთხვევათა მატების პარალელურად იცვლება თანაფარდობა

Luminal A და Luminal B ტიპებს შორის “B” ქვეტიპის სასარგებლოდ, ხოლო CK5, EGFR და Cyclin E ექსპრესია პრაქტიკულად თანაბარ მნიშვნელოვან და თანაბრად განაწილებულ ფორმას იღებს.

ცხრილის მონაცემებიდან აღსანიშნავია HER2+/ER ექსპრესიის ასაკდამოკიდებული ზრდა, რაც 40 – 50 წლის პაციენტებში უფრო მნიშვნელოვანია და ადასტურებს ძუძუს “basal-like” და მთლიანობაში, TNBC ტიპის სიმსივნის დომინირებას ახალგაზრდა ასაკის პაციენტებში (სურ. 12).

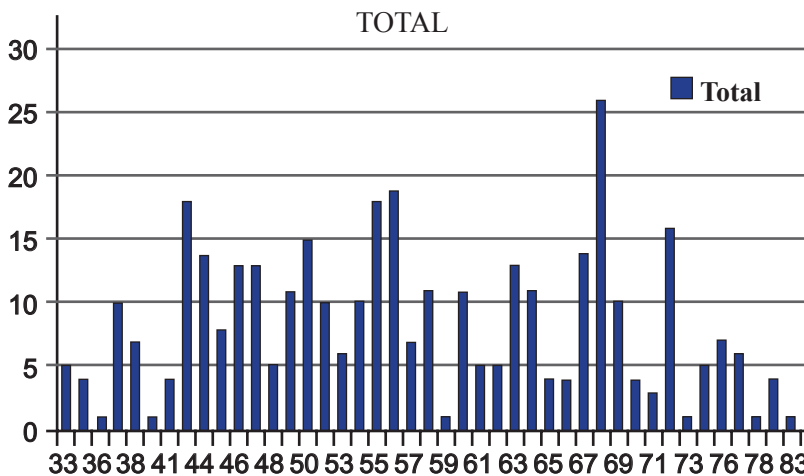
გამოკვლევის შედეგების განხილვა

ჰისტოლოგიური, იმუნომორფოლოგიური და სტატისტიკური კვლევების კომპლექსური მონაცემთა შეფასება გვიჩვენებს, რომ გამოიხატა ბაზალიდური ტიპის ძუძუს კიბოს რიგი მკაფიო ნიშანთვისება, რომელთა ნაწილი ემთხვევა საერთაშორისო სამეცნიერო და კლინიკური პრაქტიკის მონაცემებს, ზოგიერთი ან განსხვავდება, ან ჩვენს მიერ პირველად არის შეფასებული.

როგორც საკუთარი კვლევის მონაცემებიდან ჩანს, TNBC აღინიშნება ახალგაზრდა და ხანშიშესული ასაკის პირებში. ჩვენ შემთხვევაში დაკვირვების მესამედში პაციენტთა ასაკი შეესაბამებოდა პოსტმენოპაუზის პერიოდს, მაგრამ მიუხედავად ამისა, ასაკის მიხედვით განაწილება არ ატარებდა თანაბარზომიერ ხაზოვან ხასიათს (ცხრილი 4).

ზოგადად, ონკოლოგიური დაავადებებში მემკვიდრეობით-ოჯახური ისტორია შემთხვევების დიდი სიხშირით გამოირჩევა, მათ შორის TNBC და ბაზალიდური კიბოს, მაგრამ შემთხვევათა რეტროსპექტრული ანალიზის დროს ინფორმაციის სიმცირე და არარეგულარობა ჩვენ არ გვაძლევს რეალური დასკვნების გაკეთების

საფუძველს [Mariamidze A. et al., 2017, 2018a,b]. ეს გვაფიქრებინებს, რომ ერთ-ერთი მიმართულება, TNBC შესწავლის თვალსაზრისით, უნდა იყოს სწორედ პაციენტების ნათესავებში მედიკო-გენეტიკური კვლევებისა და კონსულტაციების დანერგვა.



ცხრილი 4. ბაზალური ტიპის კიბოს სიხშირე პაციენტების ასაკობრივი ჯგუფების მიხედვით

სამმაგნევატიურობა და მისი ბაზალიდური ქვეფენოტიპი არ არის გერმინაციური გენომური დაზიანებების შედეგი, არამედ აღმოცენდება ორგანიზმის განვითარების უფრო გვიან სტადიაზე [Prasanna, Newman, 2015; Kumar, Aggarwal, 2016]. აღნიშნულ გარემოებას, მიყვავართ იმ მოსაზრებამდე, რომ Her2(+)-neu-ს ამპლიფიკაცია შეიძლება გაჩნდეს ძუძუს კიბოს განვითარების ნებისმიერ სტადიაზე [Carey, Dee et al., 2007; Domagala, Yakubamaka-Bienick et al., 2015]. პრაქტიკული მოთხოვნებიდან გამომდინარე, შეიძლება აუცილებელიც გახდეს ამ გენის მდგომარეობის შემოწმება ძუძუს კიბოს დროს ყველა ასაკის პაციენტზე.

თეორიული პოზიციებიდან კი ეს მონაცემები ითხოვენ კონცეპტუალურ გააზრებას იმისთვის, რომ ვუპასუხოთ კითხვაზე „სამმაგნეგატიური“ არის სარძევე ჯირკვლის კიბოს ამ წაირსახეობის ფიქსირებული დახასიათება თუნიშანთვისებების ტრანზიტორული კომპლექსი.

პრობლემის შემდგომი განსჯისთვის ჩვენ ჯერ უნდა განვიხილოთ TNBCსხვაპარამეტრები,სახელდობრ,ესტროგენისდაპროგესტერონის რეცეპტორების აქტივობიც. ლიტერატურაში არის მონაცემები, რომლის ავტორები სამართლიანად ითხოვენ როგორც Her2neu, ისე ესტროგენის და პროგესტერონის რეცეპტორების მაჩვენებლების სტანდარტიზაციას [Cianfrocca, Sradighar, 2009]. იმ პარამეტრების ერთმნიშვნელოვან ფონზე, რომლებიც გამოიყენება რეცეპტორ-დადებითობის და უარყოფითობის გამოსავლენად იკვეთება საკმაოდ არაერთგვაროვანი მეთოდური და მეთოდოლოგიური პრობლემა.

ER/PR რეცეპტორების განსაზღვრის იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდიკა ეყრდნობა დადებითი რეაქციის მაჩვენებელს - ბირთვების შეღებვას, ამისთანავე, ინტერპრეტაციის დროს ER რეცეპტორების ციტოპლაზმური კომპონენტის დახასიათება არ ხდება, რადგან ითვლება, რომ ამ თვალსაზრისით ბირთვი არის უფრო აქტიური, კომპეტენტური და ამიტომაც უფრო მნიშვნელოვანი. მაგრამ საკითხმა რეცეპტორდადებითობის შესახებ ბოლო წლებში გამოკვეთა კიდევ უფრო საკამათო შეხედულებები და მეთოდები.

აქტიური კვლევის საგანს წარმოადგენს პათოლოგიური პროცესის რეციდივის მიზეზთა შორის კიბოს ღეროვანი უჯრედების არსებობის შესაძლებლობა [Visvader, Lindeman, 2012; Plat, Parker et al., 2010].

თანამედროვე კლასიფიკაციით გამოყოფილია ძუძუს კიბოს 20 მორფოლოგიური ქვეტიპი [Rosen, 2001]. დასახელებული

კლასიფიკაცია ეყრდნობა სიმსივნის ჰისტოლოგიურ ტიპებს, მის Grade-ს, ლიმფური კვანძების სტატუსს და პრედიქტული მარკერების არსებობას – ER და HER-2 რეცეპტორების აქტივობას.

ძუძუს კიბოს მოლეკულური პროფილის და მისი იმუნოჰისტოქიმიური მარკერების შედეგების მიხედვით არსებობს

ცხრილი 5. ძუძუს კიბოს მოლეკულური კლასიფიკაცია (Cianfrocca, Gradishar, 2009)

ძუძუს კიბო	მარკერი	დახასიათება
ლუმინალური	ER(+) და, ან PR(+); HER-2(-); Ki-67	დაბალ მგრძობიარე ენდოკრინული თერაპიისადმი, ტამოქსიფისადმისადმი
ლუმინალური	ER(+) და, ან PR(+); HER-2(+); Ki-67	მაღალმგრძობიარე ენდოკრინული თერაპიისადმი, ვარიანტული ქიმიოთერაპიისადმი, მგრძობიარე ტრანსტეზუმებისა, და ტამოქსიფენისადმი HER-2(+)
ბაზალიდური	PR(-); HER-2(-); CK5/6(+); EGFR; Ki-67	მაღალარამგრძობიარე ენდოკრინული თერაპიისადმი, ხშირად მგრძობიარე ქიმიოთერაპიისადმი
HER-2	HER-2(+); ER(-); PR(-); Ki-67;	მგრძობიარე ენდოკრინული და ქიმიოთერაპიის მიმართ
ფსევდონორმული ქსოვილი	ყველა მარკერი (-)	
Claudin-low	HER-2(-); ER(-), PR(-), Ki-67; E-cadherin, claudin-3, claudin-4 და claudin-7	ვარიანტული მგრძობიარე ენდოკრინული თერაპიის მიმართ

კლასიფიკაცია, რომელიც პირობითად გამოყოფს 5 ფორმას, როგორც შედარებით დამოუკიდებელს (იხ. ცხრილი 6).

კლასიფიკაციიდან ჩანს, რომ 5 ფორმა გამოყოფილია ER, PR, HER-1 და HER-2, ასევე ციტოკერატინ 5/6 (CK5/6) ექსპრესიის მონაცემების მიხედვით. Plat, Parker, Kargnora და თანაავტ. (2010) წარდგენით დამატებულია კიდევ ერთი ფორმა - Claudin-low, რომელსაც ავტორები განიხილავენ როგორც ბაზალოიდური კიბოს ქვეტიპს.

ER, PR და HER-2 მგრძნობელობის დაკარგვის გარდა, ამ ქვეტიპის სიმსივნეს ახასიათებს Claudin-3, Claudin-4 და Ki-67 დაბალი აქტივობა, მერე მხრივ, ისეთი მარკერების გამოვლენა, რომლებიც ეპითელურ-მეზენქიმურ ტრანსფორმაციას უახლოვდებიან, სახელდობრ, CD 44⁺ CD24^{-/low}. ძუძუს კიბოს ჰეტეროგენობა, როგორც ჩვენ არაერთხელ ავღნიშნეთ, აიხსნება ორი ჰიპოთეზით: სიმსივნური ღეროვანი უჯრედების კონცეფციით, ანუ იერარქიული თეორიით, და კლონური ევოლუციის თეორიით.

სიმსივნური ღეროვანი უჯრედების კონცეფცია, რომელიც J.Cohnein-ს ეკუთვნის (1975), ამტკიცებს, რომ შინაგანი და გარეგანი ზემოქმედება იწვევს ღეროვანი უჯრედების გენეტიკურ „დამონებას“, რაც ქმნის ძუძუს კიბოს მორფოლოგიურ ჰეტეროგენობას. როგორც შედეგი, ყველა ეპითელური უჯრედი ორგანოს ერთი წილაკიდან მორფოლოგიურად და იმუნოჰისტოქიმიურად იდენტურია, მაშინ, როდესაც მეზობელ წილაკში შეიძლება განვითარდეს ნეოპლაზია განსხვავებული ეპითელურ უჯრედოვანი მარკერებით [Sorlie et al., 2001].

კლონური ევოლუციის თეორია [P.Nowell, 1976; Perou, Sorlie, Eisen et al., 2000] უკავშირებს ნორმული ღეროვანი უჯრედების დაზიანებას სიმსივნური უჯრედების არაერთგვაროვნებას. სიმსივნის ევოლუციის პროცესში კიბოს უჯრედთა სუბკლონები

შემთხვევითი ზემოქმედებით, განიცდიან სომატურ მუტაციებს ან ეპიგენეზურ ცვლილებებს, რაც იწვევს სწორედ უჯრედთა მოლეკულურ და ბიოლოგიურ თვისებათა ცვლილებებს. P.Nowell (1976) აღნიშნავს, რომ ყველაზე უფრო აგრესიული უჯრედოვანი ნორმები წარმოქმნიან სიმსივნურ უჯრედებს.

ორივე ფორმას აქვს საერთო პოზიციებიც: სიმსივნე ვითარდება ღეროვანი უჯრედებიდან; გენეტიკური და ბიოლოგიური ცვლილებები კანცეროგენეზის სასარგებლოდ მიმდინარეობს, სიმსივნის მიკროგარემო მნიშვნელოვნად მოქმედებს კანცეროგენეზსა და სიმსივნის პროგრესიაზე. თუ განვიხილავთ წარმოდგენილ კონცეფციებს ჩვენი მასალის თვალთახედვით და მიღებული შედეგების ჭრილში შევაფასებთ, ვნახავთ, რომ ღეროვანი უჯრედების თეორია მართლდება უპირატესად სიმსივნის ჰეტეროგენობის სურათით, ხოლო კლონური ევოლუციის თეორია კი – სამართლიანია სადინროვანი სიმსივნის სტრუქტურების შეფასებისას. ძუძუს მულტიპოტენტური ღეროვანი უჯრედებიდან ვითარდებიან “ბაზალოიდურის” მსგავსი და ლუმინალური მწიფე უჯრედები [Visvader et al., 2009, 2011; Ferreira et al., 2018].

ამდენად, ბაზალოიდურის მსგავსი ძუძუს კიბოს ვარიანტები სხვადასხვა ტიპის უჯრედებიდან ვითარდება, თუმცა სიმსივნური მასის გენთა პროფილი ვერ ასახავს ერთიან უჯრედულ ტიპს, რაც ამ მიმართულებით კვლევის გაგრძელებას საჭიროებს [Mylona et al., 2008; Molyneux, Geyer et al., 2010; Guiu et al., 2012].

CD 44⁺, CD24^{-/low} უჯრედების აღმოჩენა დადასტურებული ღეროვანი უჯრედების მარკერებით ცუდი პროგნოზული ნიშანია [Mylona, Giannopoulou et al., 2008], იგი არის სიმსივნის ინიციაციისა და მეტასტაზირების მარკერი. ისინი იდენტიფიცირებულია in situ კარცინომის ლუმინალური ფორმის დროს (DCIS).

ჩვენს მიერ შესწავლილი სამმაგნეგატიური სიმსივნეები, მათ შორის ბაზალიდური კიბო, რომელშიც არ არის ER, PR და HER2 ექსტრემალურად მაღალი ექსპრესია, მიეკუთვნებიან აგრესიულ ფორმებს (Guiu, Duichels, Andre et al., 2012) ცუდი პროგნოზით. ასეთივე ახასიათებს ბაზალიდურ კიბოს Claudin-low ქვეტიპში.

ამჟამად აქტიურად განიხილება ძუძუს კიბოს სხვადასხვა ქვეტიპების შორის ურთიერთობა ღეროვანი უჯრედების არსებულ მარკერებთან მიმართებაში. Triple ნეგატიური სიმსივნეები, რომლებშიც არ არის ER და PR და HER-2 ზეექსპრესია არის განსაკუთრებით აგრესიული, აქვთ ცუდი პროგნოზი [Thiery, Acloque et al., 2009; Prat, Parker et al., 2010; Palaflox et al., 2012]. ცალკეული კვლევებიდან ირკვევა CD44⁺CD24^{-/low} და ალდეჰიდდეჰიდროგენაზა 1 (ალდჰ 1) დადებითი უჯრედების მაღალი პროცენტის არსებობა ბაზალიდური და Claudin-low (ბაზალიდური ქვეტიპი) სიმსივნეებში. იმავდროულად CD44^{low}/CD24⁺ სჭარბობს ლუმინარული ქვეტიპებში [Ricardo, Viera et al., 2011].

TNBC სიმსივნეები მიდრეკილია გავრცელდნენ სწრაფად, ავადმყოფობის ადრეულ ვადებზე, დისტანციური ჰემატოგენური მეტასტაზებით, მათ რიცხვში, თავის ტვინშიც. მსოფლიო ლიტერატურის მონაცემები ადასტურებენ, რომ როგორც ზოგადად, ისე ურეციდივოდ სიცოცხლის ხანგრძლივობა TNBC დროს ბევრად უფრო დაბალია, ვიდრე ავადმყოფებში TNBC -თი სტეროიდული სასქესო ჰორმონების ექსპრესიის და გენ Her-2neu ექსპრესიის სხვადასხვა შერწყმით [N. Mantel, W. Haensel et al., 1959; Yin W.J., Lu J.S. et al., 2009; Z.Y. Yang, S.S. Wang et al., 2008].

შედეგებიდან ირკვევა, რომ TNBC გარშემო ქსოვილში კიბოს in situ გამოვლინების დაბალი სიხშირე შეესაბამება ლიტერატურის მონაცემებს და ლოგიკურად მივყავართ მოსაზრებამდე, რომ

სამმაგნეგატიური კიბო შესაძლოა ვითარდება იმდენად სწრაფად და აგრესიულად, რომ ანადგურებს თავისივე მორფოგენეზის წინამორბედ სტრუქტურებს.

ამრიგად, საკუთარი მასალის ანალიზის შედეგად მივდივართ დასკვნამდე, რომ TNBC ტიპის ძუძუს კიბოს არა აქვს, როგორც ჰისტოტიპირების, ასევე იმუნოჰისტოქიმიური პროფილის მხრივ ერთმნიშვნელოვნად შეფასებული მახასიათებლები. აღინიშნება სხვადასხვა, უფრო ხშირი, და ზოგიერთი ნაკლებად ცნობილი ჰისტოლოგიური ვარიანტის, ან მათი ერთობლიობის ავთვისებიანი ტიპის ზრდა.

ერთმნიშვნელოვნად გამოვლინდა ასაკობრივ ჯგუფებში უპირატესი „დაზიანება“ და „მიზნობრივი“ აფინობა ცალკეული ტიპის ბაზალოიდური კიბოს ვარიანტების მიმართ, რასაც თან ახლავს მაღალსპეციფიკური იმუნომარკერების მგრძნობელობა, დადებითი CK 5/ CK 17, Cyclin E და ER/PR HER2 ნეგატიური ფონი.

განსაკუთრებული ყურადღების საგანს წარმოადგენს EGFR და HER2/new (ანტისხეული) კოორდინირებული შეფასება, რაც HER2/neu მაღალი აქტივობის დროს ქმნის ეპითელიუმის მალიგნიზაციის ტენდენციის დათრგუნვისა და თვით პროცესის ლიკვიდაციის პერსპექტივას.

დასკვნები

1. ძუძუს სამმაგნეგატიური კიბო (TNBC), როგორც ჰეტეროგენული დაავადება, შეიცავს ბაზალურის მსგავს ქვეტიპებს და ასევე არაბაზალურის მსგავს ჰისტოლოგიურ ელემენტებს. ჩვენს მასალაზე გვხვდება ყველა ასაკობრივ პერიოდში და შეადგენს 14,6%.

2. ძუძუს სამმაგნეგატიური კიბო, ჰისტოლოგიური კლასიფიკაციური სქემების პოზიციიდან, წარმოდგენილია ჰეტეროგენული მიკროსკოპული სტრუქტურებით სადინროვანი კიბოდან მედულარულ კიბომდე ლიმფოიდური სტრომით; არის კომედო,,ლიმფოეპითელური“დაეგ.წ. “ინვაზიისგამწვევიმოდელის” ტიპი, ხასიათდებიან ჰისტოლოგიურად ავთვისებიანობის მაღალი ხარისხით და არაკეთილსაიმედო გამოსავალით.

3. Cyclin E ძუძუს სამმაგნეგატიური კიბოს “ბაზალოიდის მსგავს” უჯრედებში შემთხვევათა 56,6% ავლენს მკვეთრად დადებით რეაქციას, რომელიც კორელაციაშია ავთვისებიანობის ხარისხთან, მაგრამ არ აქვს პარალელიზმი სიმსივნის კონკრეტულ ჰისტოლოგიურ ტიპთან.

- Cyclin E აქტივობა ახასიათებს დაბალდიფერენციულ ფორმებს, როგორც წესი, ასოცირდება აგრესიულ კლინიკურ მიმდინარეობასთან; შესაძლოა, ეს ფენომენი დაკავშირებულია ბაზალოიდურიკიბოსკაროტიპისრთულდაზიანებასთან,რაცდღის წესრიგში აყენებს ახალი კრიტერიუმებისა და რეკომენდაციების დანერგვას გენეტიკური პროფილის მონაცემებით.

4. ძუძუს სამმაგნეგატიური კიბოს ერთ-ერთი ფენოტიპი - ბაზალოიდური კიბო - დაბალდიფერენცირებული სიმსივნეების უჯრედული და იმუნოფენო-ტიპური სახეობა წარმოდგენილია ჩვენს მასალაზე TNBC-ის შემთხვევათა 92% და მათთვის

სპეციფიკურია CK 5,6,17 მაღალი ექსპრესიის დონე. ნეკროზის ფენომენი უფრო მკვეთრია და მასიურია.

5. ძუძუს სამმაგნეგატიური კიბოს „ბაზალოიდის მსგავს“ უჯრედებში ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორი წარმოადგენს სპეციფიკურ იმუნოჰისტოქიმიურ მარკერს, რომელიც, ასრულებს რა სიმსივნური უჯრედების თვითრეგულაციისა და განახლების მექანიზმის როლს, ასოცირდება რეციდივის, მეტასტაზირების ფენომენტან.

6. სიმსივნის ბიოლოგიური მახასიათებლებით ძუძუს სამმაგნეგატიური კიბო შეიძლება განვიხილოთ, როგორც არაერთგვაროვანი სიმსივნე (მათ შორის “ბაზალოიდური მსგავსი” ფენოტიპი) იმუნოჰისტოქიმიური დამახასიათებელი ჰისტოლოგიური პროფილით, რომელიც უნდა განიხილებოდეს პრო- და ანტიონკოგენური ცილების ფართო სპექტრში მიზნობრივი “ტარგეტული” თერაპიის ოპტიმიზაციის თვალსაზრისით.

პრაქტიკული რეკომენდაციები

- კვლევის შედეგები წარმოადგენს მნიშვნელოვან პროგრესს ძუძუს კიბოს სწორი დიაგნოზის ვერიფიკაციის და იდენტიფიცირებული ფენოტიპის კლასიფიკაციის თვალსაზრისით, რომელიც განსაზღვრავს დამიზნებითი თერაპიის სწორი ტაქტიკის შერჩევას, გამოყენებას და პროგნოზირებას. ოჯახურ-მემკვიდრეობითი ტიპის სიმსენეების აღმოცენების ტენდენცია თუმცა არ არის ბოლომდე დადასტურებული, მაგრამ შეიძლება გამოყენებულ იქნას სამედიცინო-გენეტიკური კონსულტაციების პრაქტიკაში უფრო ღრმა კვლევის მიზნით, ამ პოპულაციაში სხვადასვა დაავადებების ადრეული დიაგნოსტიკისთვის.

- რეკომენდებულია CK5/17 გამოყენება სამმაგნეგატიური სიმსენეების შემთხვევაში ფენოტიპის დაზუსტების მიზნით, რათა შეირჩეს დამიზნებითი თერაპიის ოპტიმალური ტაქტიკა.

- რეკომენდებულია EGFR ექსპრესიის განსაზღვრა სამმაგნეგატიური სიმსენის ფენოტიპის დაზუსტების მიზნით.

დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული ნაშრომთა სია

1. “სარძევე ჯირკვლის კიბოს იმუნოლოგიური თავისებურებანი ასაკობრივ ასპექტში” სამხრეთ კავკასიის ონკოლოგთა IV კონგრესი, თბილისი, საქართველო. კონგრესის მასალები გვ.135-136. მ.ი. მჭედლიშვილი, ყ.ა. გაბუნია, ე.რ. მახარობლიძე, ა.გ. მარიამიძე, ნ.პ. ტყეშელაშვილი.

2. Breast cancer subtypes in young adult women in Georgia. I. Kiladze, **A. Mariamidze**, S. Mchedlishvili, K. Tsomaia. The Breast, supplement. 10-12 November, 2016, Lugano.

3. Expression of Cyclin E in Basal-like breast carcinoma. **Mariamidze A.**, Gogiashvili L., Khardzeishvili O. Georgian Medical News. 12 (273) 2017

4. Molecular basis of epidermal growth factor receptor and cyclin E expression interdependence in basal-like subtype of invasive breast cancer. **Mariamidze A.**, Gogiashvili L., Khardzeishvili O. Javakhishvili T. Makaridze D. Georgian Medical News. No 3 (276) 2018

5. Distribution and Demographic Characteristics of Ductal Invasive Breast Carcinoma Subtypes in Georgian Population. **Mariamidze A.**, Gogiashvili L., Khardzeishvili O. Javakhishvili T. Makaridze D. Jandieri K. Georgian Medical News. 2018 Oct. (283): 129-133.

DAVID TVILDIANI MEDICAL UNIVERSITY

Copyright reserved

Armaz Mariamidze

**Triple Negative Breast Carcinoma's Biological
Features Survey According to Georgian Population**

THESIS

Of Dissertation for the Academic Degree of
PhD in Medicine

Tbilisi 2019

The PhD research was performed at the David Tvildiani Medical University and at the Georgian National Cancer Center (Tbilisi)

Research Supervisors:

Liana Gogiasvili, MD, PhD, Professor, David Tvildiani Medical University

Omar Khardzeishvili, MD, PhD, Professor, Tbilisi State Medical University

Official Experts/Opponents:

Diana Kasradze, MD, PhD, Professor, David Tvildiani Medical University

Irakli Sikharulidze, MD, PhD, Professor, David Tvildiani Medical University

Alexandre Tavartkiladze, MD, PhD, Professor (Tbilisi State Medical University)

The dissertstion defense will held on 16.00 5 July 2019,
at the David Tvildiani Medical University (13 Lubliana /6 Michael Chiaureli str. Tbilisi, Georgia)

The PhD manuscript can be obtained from the David Tvildiani Medical University Library.

The Thesis will be distributed on _____2019

Scientific secretary of University MD, PhD

Mariam Vachnadze

General Description of the study

Relevance of the problem

Breast cancer is one of the most common among malignant tumors in women. It holds the first place in the structure of oncological diseases, and the frequency increases steadily over the world [Lobo – Cardoso et al., 2017].

One of the serious problems that the clinicians may encounter during treatment of breast cancer is the rapidly changing spectrum of tumor sensitivity to hormones, and the nonuniform response to the treatment impacts that leads to the restriction of the number of parameters for choosing a rational method of therapy and many contraindications.

It was possible to determine subgroups and identify the subgroups in the group of tumors in which the estrogen and progesterone receptors and Her2/neu gene amplification is not revealed, the so called “triple negative” breast cancer as a histological type, which lead to new studies in the breast cancer clinical pathology in terms of phenotyping and targeted optimum therapy [Alba E., Chacon JI et al., 2012; Shah SP, Roth A et al., 2012].

Triple negative is a tumor the cells of which do not express the estrogen and progesterone receptors and do not have either Her2 protein overexpression or gene amplification, the so called Triple negative paradoxes [Carey et al., 2007]. According to different authors, these types of tumors constitute about 10-20% of all the types of invasive breast cancers (O’Toole SA, Beith JM, Millar EK, West R, McLean A, et al. Therapeutic targets in triple negative breast cancer. J Clin Pathol. 2013)

reach large sizes and overall are characterized by unpredictable prognosis and progress. In addition, interesting trend is determined that TNBC is clearly associated with mutation of BRCA1 gene [Robson M., Im S-A, Sencus et al., 2017]. There is evidence that a patient with triple negative cancer is less sensitive to chemotherapy, except for platinum preparations [Ferreira et al., 2018].

Practical establishment of the notion of “triple negative” cancer in the clinical practice is more difficult, since this group has variants of cancer differing by histomorphological and immunohistochemical indicators, among which a significant group is the so called “basaloidlike” cancer. Combination of three negative parameters and breast cancer histomorphology in the TNBC group gives a complicated picture and requires specification [Carey et. Dees. 2007, Clinical Practice Guidelines in Oncology, Breast Cancer. Version 2. 2017. (vol. 2017, p.1-201)].

According to the recent studies, the triple negative immune phenomenon study can be used as a reliable predictive criterion during at the absence of signs of lymph nodes damage.

At the given stage of studying the existing data on the the TNBC, namely, “basaloid-like” cancer can be summarized as follows. According to the traditional perception, TNBC is a group of heterogeneous tumors, with most frequent basaloid-like cancer with definite genomic mutations.

Invasive duct carcinoma is a dominant histologic type of breast cancer (40-75% of all cases) [Kumar, Agarucel, 2016], histological and biological characteristics include such parameters as subtypes of invasive carcinoma identified as a result of gene expression: (ER+), (ER-), luminal A and B type, as well as HER2 + and so-called “normal - like” tumor subtype

The subject of special interest is the triple negative (TNBC) and its most frequent “basal like” carcinoma with basal type marker cytokeratins expression properties [Toft, Cryns, 2013]. Timeliness is increased by the insufficiency and the lack of efficacy of optimal targeted therapy means, which can be explained by the lack of information and factual data on this type of carcinomas.

In connection with the abovementioned, it is substantiated to focus the interest of our research on the issues of interaction of the cell cycle regulatory inhibiting and stimulating factors, namely on the features of Cyclin-E molecular biology, Cyclin-E dependent tyrosine kinases modulations that actually affect proto-oncogenes activity [Bertucci et al., 2012; Mariamidze et al., 2017].

Main immunomarkers of the Basal like carcinoma are also studied: CK5/6, CK14, CK17, Vimentin and Her-1, but correlation between development of necrosis foci and CD17 and Caspase-3 activity needs new clinical facts and their complex, integrative explanation, especially under the conditions of a histological picture pathomorphosis that is established in 2 - 18% of cases [Kristen S.N., Celine et al., 2013; Fedewa et al., 2015].

According to the Nottingham Forecasting Index, in patients of the same age TNBC requires more “aggressive” long-term chemotherapy than in other type breast cancer cases [Jiang et al., 2013].

The role of anti-EGFR agents associated with ErbB amficiency has been established in the anti-receptor activity of tumor cells in terms of assessing the “biological behavior” of the basal-like breast cancer [Demidova et al., 2015].

Objectives and Goals of the study

1. Identification of the biological (clinical-morphological and immunohistochemical) features of the triple negative breast cancer and description on the materials of Georgian population.
2. To specify and define the histochemical features of the triple negative cancer in the breast neoplasia of the studied contingent, including identification markers of the “basaloid like” cancer.
3. To reveal the immunohistochemical profile of the triple negative cancer cells in the tumor tissue of the breast cancer, determine the “basaloid like” cancer subtype based on the results of the immunohistochemical study.
4. To determine the relevance of study of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in the cellular population of the breast cancer and possible correlation with the degree of anaplasia.
5. To reveal correlation between Cyclin E and basal cytokeratins activity and the grade of malignance of the breast cancer.

Scientific Novelty of the study

1. Detailed histomorphological and molecular biological characteristics of the triple negative breast cancer for the first time in the Georgian population.
2. It is shown that the phenotype of the triple negative breast cancer is not uniform and contains so-called “basaloid like” subtype.
3. Triple negative breast cancer basaloid like type tumors sustainably express cytokeratin 5/6 and 17, independent of disease staging and grade of differentiation of the tumor.

4. Relevance of the epidermal growth factor (EGFR) activity and connection with the triple negative breast cancer cell population is shown.

5. Cyclin E expression is correlated with the grade of malignance of the “basaloid like” breast cancer.

Approbation of the study

The approbation took place at the David Tvildiani Medical Iniversity on February 5,2019.

The basic thesis of the study wrer reported at:

- 8th International Medical Postgraduate Conference, Charles University, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Czech Republic, 2012
- the 25th European Congerss of Pathology, Lisabon, Portugal, 2013.

Structure and volume of dissertation

The dissertaion consists of following parts: Introduction, Literature Review, Materials and

Methods, Stiudy Results, Discussions, Conclusions, Practical Recommendations

and References. The latter contains 123 sources; main text is presented on

93 pages; including 6 tables and 46 images.

Matherials and Methods of the Study

Methods

The study includes data of 362 patients in 2007-2011, which has undergone treatment course at the Georgian National Oncological Center (Tbilisi).

As mentioned above, triple negative breast cancer (TNBC) is a histological subtype of invasive duct tumor the frequency of which is by 15-20% more than of other pathological variants of this localization [Staely A. Fedever et al., 2017; Simon et al., 2009; O'Brien et al., 2010; Robson et al., 2017].

This subdivision is distinguished by a number of features, including negative ER-PR receptors, as well as negative HER2 expression amplification [Ferreira, O. Hetzger- Fiblo et al., 2018; A.Mariamidze et al., 2018].

According to the information obtained from different sources, 10-30% of all the tumors in Georgia are attributed to TNBC, out of these 25% are the III stage, and 47% - are the II stage tumors [A.Mariamidze et al., 2017], due to which the parameter of complet response to the pathology presumably – PCR (pathological complet response) response to systemic preoperation therapy gains practical value.

Postoperatiion material was handled according to the recognized breast cancer protocol, accordingly breast or breast sectors were macroscopically sized, the maximum sizes of breast tumor formations were evaluated, from 3 to 7 tissue samples along with the adjacent tissue were taken, in addition of nipple tissue and normal parenchyme tissue samples were taken; all the lymph nodes were separated from the regional lymphatic collector.

Macroscopically processed tissue samples were fixedin 10% neutral buffer solution of formaline during 24 hours, with tissuesfurther processing according to the standard protocols and forming in paraffin blocks.

362 (267+130) patients of the age range 30-89 with the invasive duct breast carcinoma were randomly selected for the study. The grade of malignance of tumor was rated by Nottingham, Bloom-Richardson modified criteria: ER, PR, HER-2, CK5/17 for expression – by – blind method.

5 subtypes of the breast cancer were selected: Luminal A, Luminal B, Her2(+), Triple negative and with Triple negative+ CK5 positive reaction. Patients' age range was divided into 10-year intervals, accordingly, the first subtype were 30-39 years old, II - 40-49 years old, III - 50-59 years old, IV - 60-69 years old, V - 70-79 years old, VI - 80-89 years old subgroups.

3µm thick samples were obtained from paraffin blocks for immunohistochemical study of retrospective cases. Immunohistochemical study was conducted for Cytokeratin 5 (CK5) (clone XME 2; dilution 1:100; “Novocastra” Laboratories), Cytokeratin 17 (CK17) (clone E2; dilution 1:40; “Novocastra” Laboratories), Cyclin E (clone 13A; dilution 1:100; “Novocastra” Laboratories). The antigen was reduced in the 0,01 M citric buffer pH 6,0 + Tween (Decloacking Chamber, Biocare Medical) and the antigen-antibody complex – by the polymer detective system (NovoLike Polimer Detection System; “Novocastra” Laboratories). The results on the slices were visually evaluated by 2 pathologists, and the digital program Immuno Ratio [Rodu et al., 2012; Helin et al., 2016] was used as well with further processing by SPSS-14 system, as well as calculation of the non parameter criteria: we counted 500 - 1000 cells of each studied case.

In 53 cases immunohistochemical research has established the triple negative (ER/PR/HER2 negative) phenomenon, out of these 4 – II stage, 30 – IIA stage, stage IIB - 0 cases; 16 – IIIA stage, IIIB and C – 0, and 2 cases of IV stage material.

Tumors were considered receptor positive if 10% or more of the nuclei were stained during the immunohistochemical examination, tumors were

considered HER2/neu negative if they had 0 or 1+ points by evaluation of HER2 criteria.

Results of the rest of the immunohistochemical reactions were evaluated by the following scale:[^]

0 – Reaction is negative or rare –individual positively responding cells (<1%)

Reaction was considered positive when >1% of the cells were positive.

Based on the main objectives of our work, in all the cases the sex hormones receptors and gen HER2/neu reaction product were defined. 48 observations out of 53 were selected for the immunohistochemical study of other antigens, where the basaloid-like cells phenotype was found in tumor tissue during H&E study.

All the preparation of samples and reaction process were made in accordance with the manufacturer's protocol.

Statistical processing of the clinical-pathohistological and immunohistochemical research data was mainly carried out by the descriptive method, further testing was carried out by software processing of the first data (visual, semi-quantitative) in the SPSS-14 system, and non-parameter criteria were used as well. The starting point coefficient of statistically significant difference was assessed $P \leq 0,05$, results were shown in the tables and diagrams (see chapters III-IV).

Study results

Evaluation of Clinical Features of Triple Negative Cancer

The age of all the patients under observation ranged from 30 to 89 years, the demographic characteristics of the patients and the clinical pathological assessment of tumors was shown in the tables.

Review of the data demonstrated that the Luminal A subtype (62,15%) is the most commonly occurring in the age range of 30-89, Her2(+)/ER-negative subtype holds the second place (17,4%), although it is 3, 4 times less than Luminal A type. Basal-like breast cancer holds the third place (9,8%), which is 5,8 times less than Luminal A subtype, and Luminal B and triple negative “non basal like” subtype tumors are 9,8 times less than Luminal A frequency.

More than half (51.9%) of breast cancer in the age group I(30-39) is represented by Luminal A subtype, and more than a third (40.7%) by Her2(+)/ER -group. A small group is Luminal B subtype (7,4%). Triple negative and Basal-like are not found.

In this age group the Luminal A is 13 times more than Her2(+)/ER -subtypes and 7 times more than the Luminal B subtype.

The dominant subtype in the age group II (40-49) is Luminal A (60,92%), followed by Her2(+)/ER (20.7%), and Basal-like (10,3%). Luminal B (5,8%) and Triple negative (2,3%) subtypes. In this age group the Luminal A subtype is almost 3 times more than the Her2(+)/ER-6 times more than the Basal-like subtype, 10,5 times more than the Luminal B type and almost 27 times more than the Triple negative subtype.

The dominant subtype in the age group III (50-59) is the Luminal A and the incidence is 2/3 (70.1%), the second by frequency is Her2(+)/ER-subtype (16,5%), 4,5 times less than the Luminal A subtype.

Basal-like subtype (6.2%) holds the third place, which is almost 12 times less than the Luminal A subtype.

Triple negative and Luminal B subtypes are represented in almost equal amounts and are of about 20 times less frequency than the Luminal A subtype.

In the age IV group (60-69) the dominant subtype is still Luminal A (66,02%).

Basal-like and Triple negative (12,6% and 7,8% respectively) hold the second and third places by frequency of 5 and 7.5 times less than the Luminal A subtype. Her2(+)/ER- and Luminal B are the same frequency (6,8%), 8 times less than the Luminal A subtype.

In the age group V (70-79) again the Luminal A is most commonly found (42%), but in sharply reduced quantities. Her2(+)/ER- is the second by frequency and is almost 2 times less compared to the Luminal A.

Basal-like subtype holds the 3rd place and is 16,3%, it is 2,4 times less than the Luminal A subtype, while the Triple negative tumor and the Luminal B are of almost identical frequency (9,3%) and 4 times less than the Luminal A subtype.

The dominant tumor in the age group VI (80-89) is Luminal A (80%), Her2(+)/ER (25%) is the second by frequency, which is 5 times more rare than the Luminal A subtype.

Basal-like subtype, Triple negative and Luminal B subtype are not observed.

Thus, the frequency analysis of each subtype of the breast duct invasive carcinoma by age groups has demonstrated the following: Luminal A subtype is detected in all the age groups as a dominant subtype, but with different intensities: two peaks in the group III and the group IV, and some increase in the group V as well.

It is noteworthy that Her2(+)/ER -subtype is the second most frequently found in all the age groups, and it is also noteworthy that direct correlation between pre- and postmenopause and HER-2 + status is not included in the group IV (60-69), where it was almost 2 times less frequency than the basaloid like subtype.

The frequency of detection of Her2(+)/ER - subtype is identical to the frequency of detection of the Luminal A subtype. Starting from the age group I (30-39) in all the following, the frequency of its detection sharply decreases along with the frequency of the Luminal A subtype. If its frequency was 1,2 in the age group I; in the age group IV it is 9,4, i.e. Her2(+)/ER - subtype decreases with increase of age to the age group V (up to 70 years) and then increases again. Frequency of detection of this subtype in the age groups V and VI is rated at 2.0 and 5.0 respectively.

Basal-like tumors are not present in the age groups I and VI, and the frequency of their detection is gradually (slightly) rising except for the age group II where the frequency is approximately 1.5 times less than in other age groups.

Triple negative subtype is not detected in the age groups I and VI, its frequency increases with the age in the other age groups, the frequency of triple negative tumors in the age group V is 4,5 times higher than in the age group II.

The frequency of Luminal B subtype tumor is almost 2 times reduced in the age group III, almost 3 times increases in the age group V, not detected in the age group VI.

The frequency analysis of duct invasive carcinoma subtypes (phenotypic subgroups) demonstrated that the dominant subtype is the Luminal A subtype, the frequency of which varies at different ages, but it is the most common subtype. The frequency of Her2(+)/ER - subtype significantly decreasing with the increase in age (70 years), again rises above 80 years.

Triple negative and basal-like subtypes have not been determined in the 30-39 and 80-89 age groups.

According to the gravity, III A and B stages were determined in all the age groups in the studied population.

Consideration of the age specificities of duct invasive carcinoma subtype (phenotypic subgroups) is important for selection of diagnostic and treatment tactics as well as for adequate planning of breast screening programs.

It should be noted that based on our material there is no direct correlation between breast and ovarian or uterine carcinomas with family history, but this phenomenon itself seems to be interesting and it should become a subject of special research with a more targeted assessment of individual data and history.

Histological and Immunohistochemical Profile of Triple Negative Breast Cancer“Basaloid“ Subtype

The microscopic examination of the operating material was targeted, and therefore, core biopsy was made at the initial diagnosis verification and chemotherapy planning. In the majority of cases, the same patients were given radical surgical intervention, which allowed us to study the material in detail.

According to the histological classification of the World Health Organization (WHO), the microscopic structure of tumors on our material can be attributed to differential invasive (infiltrative) duct cancer, out of these 70% were identified as the grade III malignancy, 29.4% - as the grade II malignancy.

The diagnosis of high malignancy lobular cancer with predominance of solid structures was made in two cases, while one patient had mixed duct-lobular carcinoma.

The pre-cancer changes were relatively rarely seen in the neighbouring tissues around the tumor. For duct infiltrative cancer, there were found 12 cases of duct in situ cancer and one case of lobular neoplasia around the main focus.

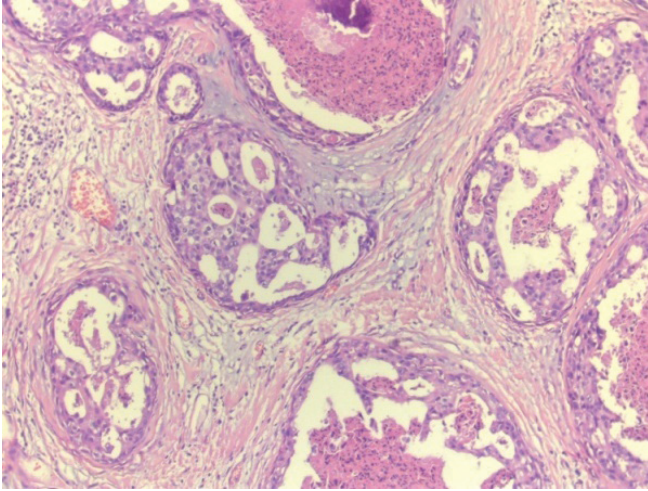


Fig. 1. Duct carcinoma in situ cribriform structures, H&E, X200

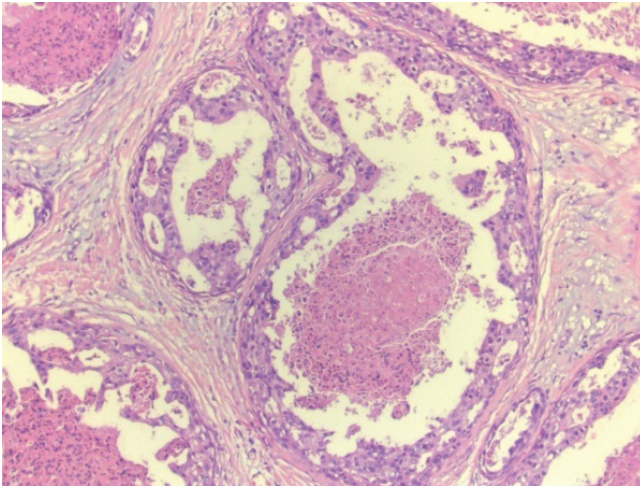


Fig. 2. Duct carcinoma in situ, with comedo necrosis H&E, X200

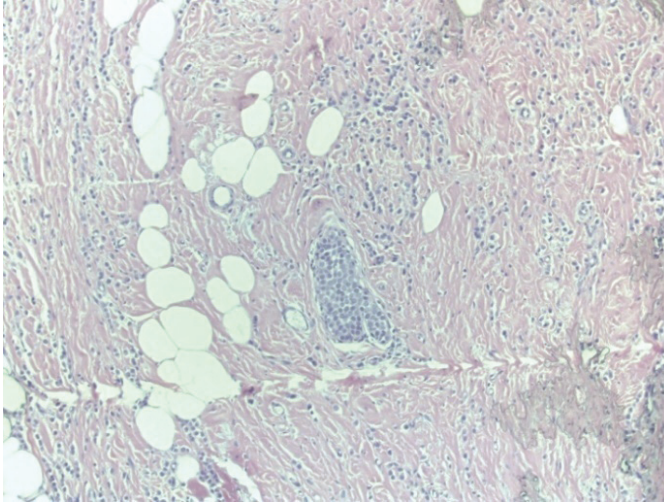


Fig. 3. Lobular neoplasm, H&E, X100

More often, almost in 70% of cases, duct cancer was surrounded by structures similar to proliferation variant of fibrotic-cystic disease, included dysplastic changes in the duct with cribriform transformation. (Figures 1, 2, 3, 4).

In 48 cases, basal-like carcinoma was determined, characterized by basal cytokeratin high expression, comedo necrosis foci and Cyclin E immunoexpression [A. Mariamidze et al., 2018a].

As a result of study in this direction we found the following types of histopathological (H&E) and immunohistochemical spectrum on our material (Figures 5-8):

Basaloid cancer and its immune profile:

5. Lobular neoplasm (H&E) tumor.
6. Simple duct hyperplasia.
7. Simple duct hyperplasia.

8. Simple duct hyperplasia with cystic transformation and stroma reaction.

Fibrous-cystic lesions with formation of cysts of different sizes and contents were found not rarely in central areas of tumor.

In virtually all the histological variants of triple negative cancer, but with dominant duct cancer, there are non-differentiated forms of new formations that correspond to basaloid cancer with their microscopic structure where specific phenotype was determined by our subsequent immunohistochemical study. On our material (n=48), basaloid cancer was represented by solid structures with extensive necrosis foci, which often looked like a geographical map. In most cases, in the central areas of the tumor the scar connective tissue was represented, which stretched over a thin fibrous middle layer and was grown in tumor parenchyma in different directions. At such a variant the tumor cells are relatively thin, have clearly expressed large nuclei, circumscribed clear cytoplasm and large nucleoli. There are many mitotic figures, formation of the duct structures can be seen just in some places. Lympho-plasmocytic infiltrates are extensive, although they are more in tumor parenchyma than in the breast tissue itself.

Typical basaloid forms were revealed in our material by the results of basaloid keratins staining: tumors were found that seem to be intermediate between the basaloid and medular cancer subtypes with its lymphoid stroma and breast lymphoepitheliomas.

Cell elements in the named variant in some places are larger than those of typical basaloid cancer. Separate cells have a strongly expressed cell membrane, but have syncytium form in the areas of concentration. Mitotic activity is high – 10 in the field of vision, more than 10 mitotic figures at the 40X magnitude of the lens. In such forms, the necrosis foci are frequent. Tumor cells are mixed with lymphoid and plasma cell

elements, often is seen (repeated), peculiar spatial ratio between tumor cells and lymphoplasmic elements. A structure similar to gland structures is comparatively or very few.

In order to identify the simultaneous presence of different histological variants in the the TNBC structure (which is a large group of TNBC) we addressed the findings of a joint research of histological and immunohistochemical features of the material. Overall, they confirm more extensive spread of basal differentiation markers, their dominance in different subtypes groups of breast cancer.

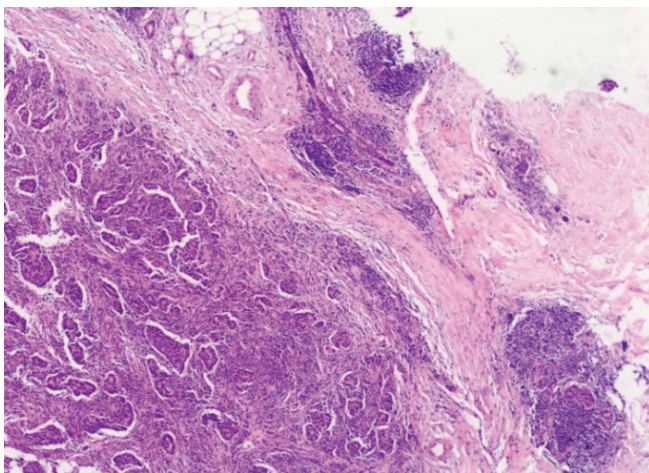


Fig. 4. Alveolar and tubular proliferation.
“Pushing invasion model”, H&E, X400

In our material we focused on the mixing of various microscopic structures in a phenotypic basaloid cancer where there were solid areas with sharp clear contours of the cells, as well as the areas with disintegration of tumor tissue, initiation of formation of syncytium structures and diffuse lymphoid infiltration.

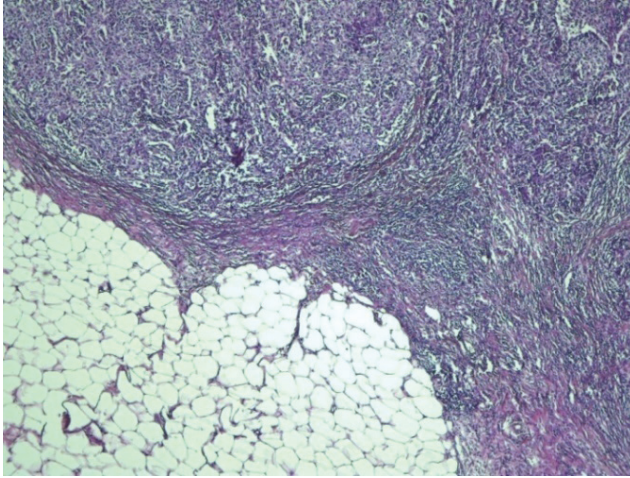


Fig. 5 solid areas, “pushing invasion model”, H&E, X40.

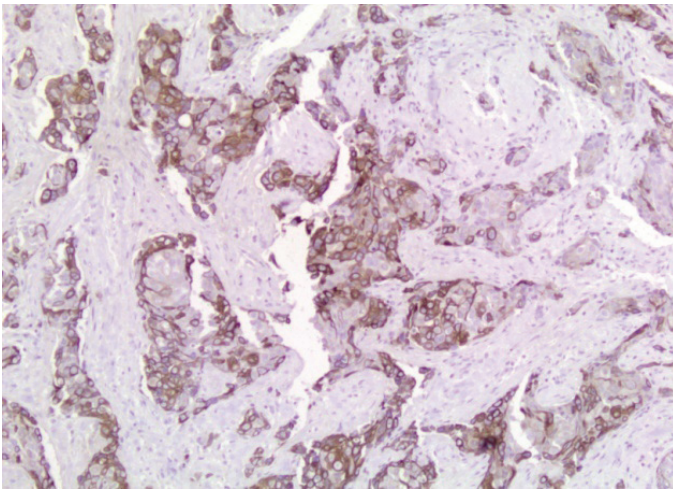


Fig. 6. CK5/17. Immunoperoxidase reaction, X200

From the basaloid type cytokeratins, which creates the base of its specificity, the cytokeratin5/17is more frequently revealed. It should be

mentioned that this kind of keratin is be visualized in the wide range of grade and quantity of the expression. Overall, positive response to CK5/17 was observed in tumor cells of 44 patients (Figure 6).

The intensity of staining on CK17 and CK5/17 is usually high. It is interesting to note that CK17 negative tumors are usually of high malignancy features. Often there were tumors, the cells of which expressed other keratins type–CK 5/6 characteristic of basal differentiation. Statistical results of CK5/6 expression on our material are presented in the diagram (Figure 7). In general, the CK5/6 expression has intense character and focal distribution.

The results of the study show a positive immunohistochemical response to CK5/6and can also be evaluated as a low grade of differentiation (Grade 3) tumors; only in two cases we found unclear positive reaction in tumors of moderate malignancy (Grade 2), which was a duct cancer histological variant.

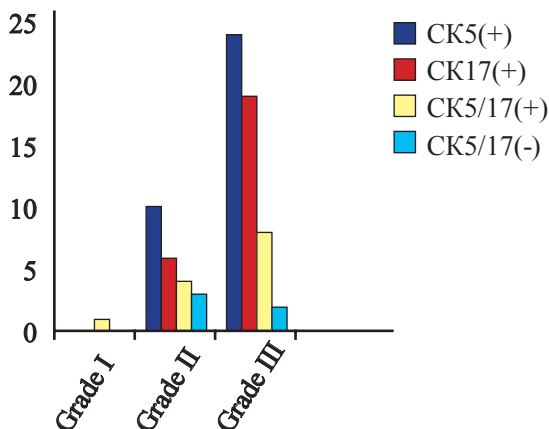


Fig. 7. Correlation between basal cytokeratin expression and grade of malignancy for basaloid cancer

The CK17 group cytokeratins have shown virtually the CK5 identical distribution. Only in single observations we noted the different distribution of these keratins.

Evaluation of the basaloid type carcinoma cases by different phenotypes gave the following results:

Phenotype CK5/6+and CK17 were found in all the patients' tumor samples, phenotype CK5/6 and CK5/17 expression and microscopic structure of tumors were most consistent with basaloid phenotypes of TNBC type of breast cancer. In addition, it is to be noted that the reaction intensity and its dissemination were often combined with Cyclin E-focal positive reaction (Figures 8, 9).

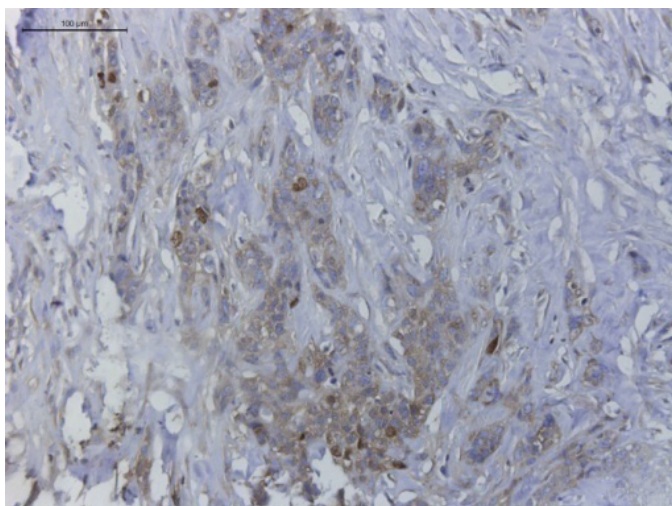


Fig. 8. Cyclin E expression, basaloid cancer, X400

The microscopic structure of tumors of this group corresponded to duct cancer II-III grade of malignancy. Only one patient has experienced such a profile in the combined structure duct-lobular cancer cells.

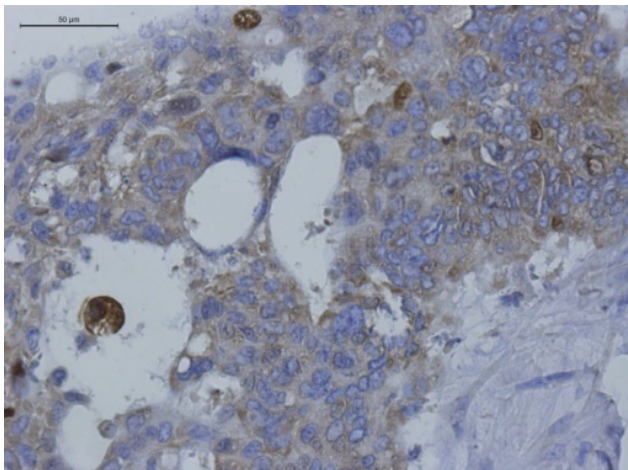


Fig. 9. Cyclin E, basaloid cancer, X400

As it is known, the cell cycle is regulated by the successive formation and degradation of various cyclines. Cyclines will be activated in the human body through a number of cyclinedependent kinases that play an important role in the cell cycle key phases.

Following the discovery of the incompatible cyclines expression, it is assumed that some cyclines are involved in oncogenesis and act as a protooncogen. In this regard, it is interesting to study Cyclin E in the basaloid like type carcinomas, the level of its immunohistochemical expression and the prognostic significance, as in general, the importance of Cyclin E restructuring is known in carcinogenesis [Livasy et al., 2006]. We believe that Cyclin E expression is correlated with the increase of tumor stage and malignancy (Table1).

It is established that the basaloid like type variant of breast cancer is characterized by a typical immune profile: namely, cytokeratin CK5/6,

Table 1. Cyclin E expression in different stages of basaloid breast cancer in relation with age

	n	Cyclin E - Positive	Cyclin E - Negative	PValue
Tumor size	362	75	287	0.047
T1	147	20	127	
T2	193	50	143	
T3	15	3	12	
T4	7	2	5	
Histological Grade	362	75	287	0.000
Grade I	42	2	40	
Grade II	159	17	142	
Grade III	161	56	105	
CK5	362	75	287	0.000
Positive	40	19	21	
Negative	322	56	266	
LN	362	75	287	0,025
Positive	81	24	57	
Negative	281	51	230	
EGFR	362	75	287	0,483
Positive	58	14	44	
Negative	304	61	243	
Age	362	75	287	0,049
30-39	27	5	22	
40-49	87	17	70	
50-59	97	12	85	
60-69	103	27	76	
70-79	43	14	29	
80-89	5		5	

CR14, CK/17, Vimentin and Her-1 expression. However, the necrosis phenomenon is more intensely expressed, and CD117 and Caspasa-3 expressions are certainly high in this histological variant cancer [Alba, Chacon et al., 2012].

Our material has been identified as ER, PR and HER 2/neu low or focally positive expression and negative reaction, which is the essence of determining of basaloid cancer, HER 2/neu⁺ activity variants are shown as well (Figure 10).

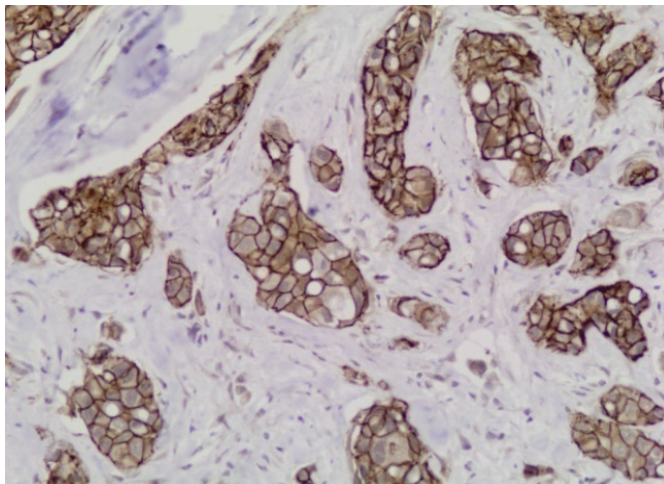


Fig. 10. Sample of basaloid like breast cancer tissue. HER2 positive clusters, X400

Low-molecular Cyclin E isoforms are evaluated as important pathogenetic and predictive factor in early stages of “early-stage-node” for negative cancer, as markers with prognostic value.

When evaluation of other markers it was established that the most of the triple negative breast cancer tumors in our material are low differentiated: Grade 1 frequency was 1,8% (1/53), Grade 2 frequency was 28.3% (15/53), and Grade 3 frequency was 69,8% (37/53).

The further research of the material for the cytokeratins expression demonstrated that CK5 expression occurred in 66% (35/53) of the cases, CK17 was 49% (26/53). CK5 / CK17 was positive in 24.5% (19/53); CK5 / CK17 was negative in 9,4% (5/53). Distribution of the named markers by the grade of malignancy of the breast cancer is presented in the Table 2.

In total 48 cases out of the 53 cases of triple negative cancer basaloid like type tumor was determined with a sustainably high expression of cytokeratins, we continued study of those 48 tumor cases in terms of the Cyclin E expression which was positive to even one basaloid like type cytokine (90.5%).

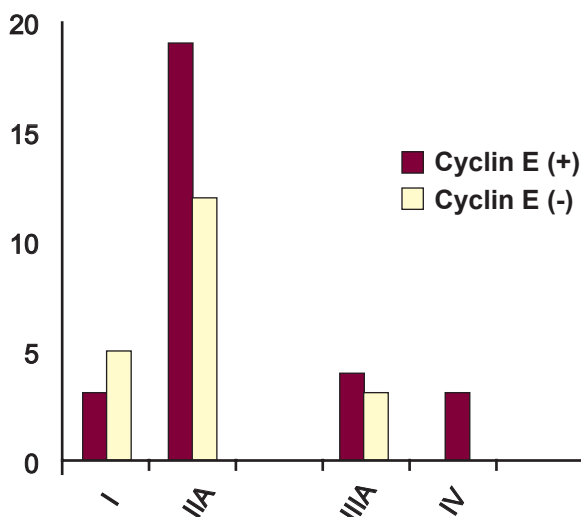


Fig. 11. Cyclin E expression by the grade of malignancy of basaloid cancer

This approach has demonstrated that out of 48 tumors positive to immune markers in the basal layer cells 58.3% (28/48) were Cyclin E positive. Correlation of these markers with the staging of basaloid like type of the breast cancer is shown in the Table 2 ($r=0,029$).

According to our data, Cyclin E expression is associated with a more severe clinical stage of disease and is correlated with the grade of anaplasia.

Based on the results of histological and immunohistochemical research, in triple negative tumors in our material, mainly, low-differentiation cancer (70.5%) (Grade 3) was determined.

Table 2. Evaluation of Cyclin E expression and EGFR activity in the breast TNBC type tumor.

	n	EGFR (+)	EGFR (-)	P Value
Tumor size	362	58	304	0.180
T1	147	17	130	
T2	193	35	158	
T3	15	4	11	
T4	7	2	5	
Histological Grade	362	58	304	0.000
Grade I	42	3	39	
Grade II	159	13	146	
Grade III	161	42	119	
CK5	362	58	304	0.000
Positive	40	17	23	
Negative	322	41	281	
LN	362	58	304	0,002
Positive	81	22	59	
Negative	281	36	245	
Cyclin E	362	58	304	0,483
Positive	75	14	61	
Negative	287	44	243	
	362	58	304	0,014
30-39	27		27	
40-49	87	19	68	
50-59	97	8	89	
60-69	103	20	83	
70-79	43	10	33	
80-89	5	1	4	

From our data it is also clear that the immune profile of the triple negative tumor mainly reveals expression of the basaloid like type cytokeratineCK5/17 (91,1%).

Accordingly, the joint high expression of one or two cytokeratines is associated with high grade of malignancy. It can be assumed that intensive

expression of transcription factors and rapid shift of G₁_S cell cycle phases is likely to cause genes amplification in which the Cyclin E regulatory role is a leading one. The basaloid-like type tumors show Cyclin E expression (54,8%) or are negative to it, which indicates deep disorder of the cell cycle.

From the results of the Cyclin E study it is important that Cyclin E expression in breast cancer basaloid-like type tumors is directly related to the III-IV clinical stage (the grade of anaplasia), therefore, to the adverse outcome (Figure 8, 9).

As it was mentioned above, according to the results of immunohistochemical and histological studies it was determined that the most of the triple-negative tumors were low-differentiated: Grade 2 makes 29,4% (10/34) and Grade 3 makes 70.6% (24/34) of the cases, out of which CK5 expression was revealed in 64,7% (22/34), CK17 in 55.8% (19/34), and CK5 and CK17 coexpression in 29,4% (10/34). In 8,8% (3/34) of cases there have not been revealed expression to any basal type keratin (CK5/CK17 negative cases). Accordingly, 31 out of the 34 cases correspond to the basal-like tumor phenotype.

Phenotype CK5/6+ characterized cases with duct cancer structure with high grade of histological malignancy, where solid structures are represented.

The Table 3 represents the distribution of HER2+/ER receptors activity in the cells of the breast basaloid cancer of different grades of malignization. It is found out that parallel to increase of the Grade 3 cases, the correlation between the Luminal A and Luminal B types is changed in favor of the B subtype, while the CK5, EGFR and Cyclin E expression becomes of practically equal important and equally distributed form.

Out of the Table data the age dependent growth of HER2+/ER expression is to be noted, which is more significant in 40-50 years

Table 3. Dependence of the general characteristics of tumor and grade patient's age on HER2+/ER-activity level and histological type of tumor.

	n	Bazal like	Tripl Neg none Bazal like	Luminal A	Luminal B	HER2+/ER-	P Value
Tumour size	362	35	18	225	21	63	
T1	147	9	5	98	15	20	
T2	193	24	13	112	5	39	
T3	15	1		14			
T4	7	1		1	1	4	<0.001
ჰ/ჰ	362	35	18	225	21	63	
Positive	81	14	6	27	13	21	
Negative	281	21	12	198	8	42	<0.001
Grade	362	35	18	225	21	63	
Grade I	42	1		38	1	2	
Grade II	159	10	5	123	4	17	
Grade III	161	24	13	64	16	44	<0.001
CK 5	362	35	18	225	21	63	
Positive	40	35			2	3	
Negative	322		18	225	19	60	<0.001
EGFR	362	35	18	225	21	63	
Positive	58	17	6	23	6	6	
Negative	304	18	12	202	15	57	<0.001
Cyclin E	362	35	18	225	21	63	
Positive	75	19	11	18	6	21	
Negative	287	16	7	207	15	42	0,01
Age	362	35	18	225	21	63	
30-39	27			14	2	11	
40-49	87	9	2	53	5	18	
50-59	97	6	4	68	3	16	
60-69	103	13	8	68	7	7	
70-79	43	7	4	18	4	10	
80-89	5			4		1	

old patients and confirms the dominance of the breast basal-like and, in general, of TNBC type tumors in younger patients (Figure 12).

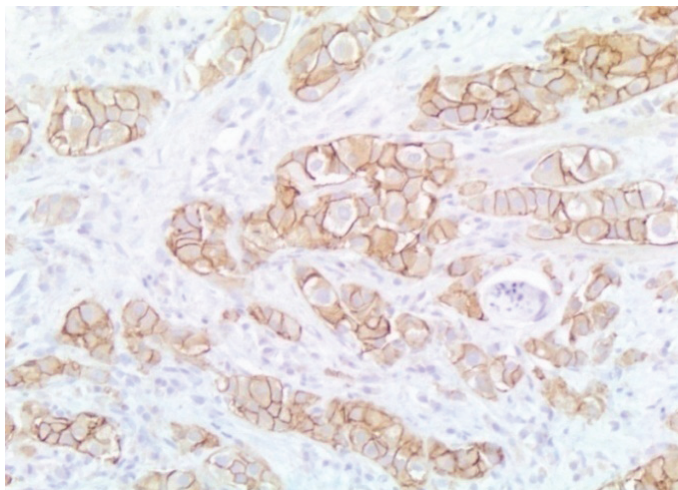


Fig. 12. EGFR expression in basaloid cancer cells immunoperoxidase reaction (Grade 3). X200

Discussion

Complex evaluation of histological, immunomorphological and statistical studies data demonstrated a number of clear signs of basaloid type breast cancer, some of which coincide with the data of international scientific and clinical practice, and some are different, or are evaluated by us for the first time.

As can be seen from the own research data, TNBC is found in young and elderly persons. In our case in the one-third part of the observations, patients' age corresponded to the postmenopausal period, but nevertheless, the distribution by age was not of uniform linear character (Table 4).

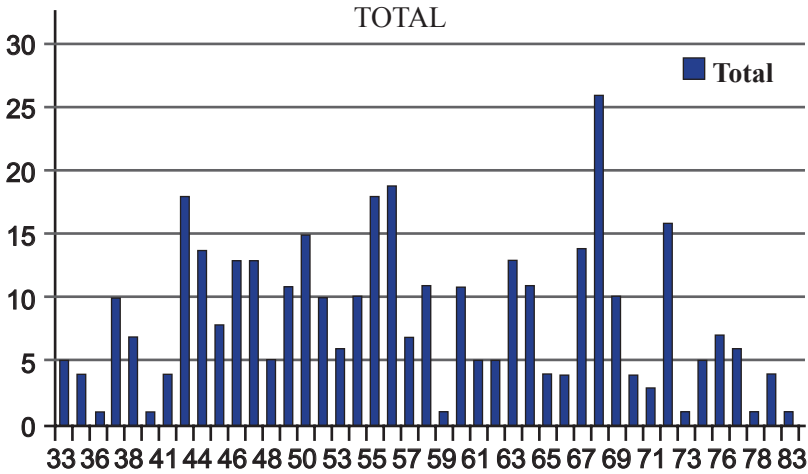


Table 4. Basal type cancer incidence by the patients age groups

In general, inherited-family history in oncological diseases is characterized by a large incidence, including TNBC and basaloid cancer, but in case of retrospective analysis, the insufficiency and irregularity of information does not give us the basis for making real conclusions [Mariamidze A. et al., 2017, 2018a,b]. This suggests that one of the directions in terms of TNBC study should be the introduction of medical-genetic surveys and consultations in patients' relatives.

Triple negativity and its basaloid subphenotype are not the result of germination genome damages, but it develops at a later stage of the development of the organism [Prasanna, Newman, 2015; Kumar, Aggarwal, 2016]. This fact leads to the idea that Her2(+)/neu amplification may occur at any stage of breast cancer development [Carey, Dee et al., 2007; Domagala, Yakubamaka-Bienick et al., 2015]. Depending on the practical requirements, it may be necessary to check the status of this gene for breast cancer in patients of any age.

From the theoretical positions, these data require a conceptual understanding in order to answer the question whether “triple-negative” is the fixed characterization of this type of breast cancer or the transient complex of signs.

For further discussion of the problem, we first need to consider other TNBC parameters, namely, activity of estrogen and progesterone receptors. The references contains the data whose authors are fairly demanding to standardize both Her2neu and estrogen and progesterone receptors indices [Cianfrocca, Sradighar, 2009]. Upon the unequivocal background of the parameters that are used to detect receptor-positivity and negativity, quite a non-uniform methodic and methodological problem is identified.

Immunohistochemical techniques for determining ER/PR receptors are based on the positive reaction rate – nuclei staining, at the same time, while interpreting there is no characterization of the cytoplasmic component of ER receptors, since it is considered that in these terms nucleus is more active, competent and therefore more important. But the issue of receptors positivity demonstrated even more controversial and methods in recent years.

Possibility of existence of cancerous stem cells among the causes of recurrence of pathological processes is the subject of active research [Visvader, Lindeman, 2012; Plat, Parker et al., 2010].

20 morphological subtypes of breast cancer [Rosen, 2001] are separated according to the modern classification. This classification is based on the histological types of tumors, its grade, the lymph nodes status, and the presence of predictive markers – ER and HER-2 receptors activity.

According to the results of molecular profile of breast cancer and its immunohistochemical markers, there is a classification that conditionally separates 5 forms as relatively independent (see Table 6).

The classification shows that the 5 forms are separated ER, PR, HER-1 and HER-2, as well as Cytokeratin 5/6 (CK5/6) expression data. By presentation of Plat, Parker, Kargnora et al. (2010) another form is added of presentation - Claudin-low, which the authors consider as a basaloid cancer subtype.

Table 5. Molecular classification of the breast cancer (Cianfrocca, Gradishar, 2009)

ძუძუს კიბო	მარკერი	დახასიათება
ლუმინალური	ER(+) და, ან PR(+); HER-2(-); Ki-67	დაბალ მგრძობიარე ენდოკრინული თერაპიისადმი, ტამოქსიფისადმისადმი
ლუმინალური	ER(+) და, ან PR(+); HER-2(+); Ki-67	მაღალმგრძობიარე ენდოკრინული თერაპიისადმი, ვარიანტული ქიმიოთერაპიისადმი, მგრძობიარე ტრანსტრეზუმბისა, და ტამოქსიფენისადმი HER-2(+)
ბაზალოიდური	PR(-); HER-2(-); CK5/6(+); EGFR; Ki-67	მაღალარამგრძობიარე ენდოკრინული თერაპიისადმი, ხშირად მგრძობიარე ქიმიოთერაპიისადმი
HER-2	HER-2(+); ER(-); PR(-); Ki-67;	მგრძობიარე ენდოკრინული და ქიმიოთერაპიის მიმართ
ფსევდონორმული ქსოვილი	ყველა მარკერი (-)	
Claudin-low	HER-2(-); ER(-), PR(-), Ki-67; E-cadherin, claudin-3, claudin-4 და claudin-7	ვარიანტული მგრძობიარე ენდოკრინული თერაპიის მიმართ

In addition to loss of ER, PR and HER-2 sensitivity, this subtype tumor is characterized by Claudin-3, Claudin-4 and Ki-67 low activity, and on the other hand, markers that are close to epithelial-mesenchymic transformation, namely CD 44⁺ CD24^{-/low}. Heterogeneity of breast cancer, as we have repeatedly noted, is explained by two hypotheses: the concept of cancerous stem cells, i.e. hierarchical theory, and the clone evolution theory.

The concept of cancerous stem cells, which belongs to J.Cohnein (1975), claims that internal and external influences cause genetic “enslavement” of stem cells that creates morphological heterogeneousness of the breast cancer. As a result, all the epithelial cells from one lobules of the organ are morphologically and immunohistochemically identical, while neoplasia can develop in the neighbouring lobules with different epithelial cell markers [Sorlie et al., 2001].

Clone evolution theory [P.Nowell, 1976; Perou, Sorlie, Eisen et al., 2000] connects the normal stem cells damage to the tumor cells non-uniformity. In the process of tumor evolution, the subclones of cancer cells due to occasional impacts undergo somatic mutations or epigenetic changes that causes changes in molecular and biological features of cells. P.Nowell (1976) notes that the most aggressive cellular norms form tumor cells.

Both forms have common positions: tumor develops from stem cells; genetic and biological changes progress in favor of carcinogenesis, the tumor microenvironment significantly affects the development of carcinogenesis and tumor. If we consider the concepts presented in the perspective of our material and evaluate in the context of the results, we will see that the theory of stem cells is substantiated mainly by the

heterogeneity of the tumor, and the theory of clone evolution is justified when evaluating the duct tumor structure. Basaloid like and luminal mature cells are formed from the breast multipotent stem cells [Visvader et al., 2009, 2011; Ferreira et al., 2018].

Thus, the variants of basaloid like breast cancer develop from different types of cells, although the gene profile of the cancerous mass does not reflect a single cell type that requires continuation of research in this direction [Mylona et al., 2008; Molyneux, Geyer et al., 2010; Guiu et al., 2012].

Discovery of CD44⁺, CD24^{-/low} cells by the proven stem cell markers is a bad prognostic sign [Mylona, Giannopoulou et al., 2008], it is the marker of tumor initiation and metastasis. They are identified *in situ* for the luminal form of carcinoma (DCIS).

The triple negative tumors that we have studied, including basaloid cancer, which has no ER, PR and HER2 extremely high expression, belong to aggressive forms (Guiu, Duichels, Andre et al., 2012) with poor forecasts. The similar is characteristic for the basaloid cancer in the Claudin-low subtype.

Currently, the relationship between the different subtypes of the breast cancer in relation to the existing markers of the stem cells is actively discussed. Triple negative tumors in which there are no ER and PR and HER-2 superexpression are particularly aggressive, have a bad prognosis [Thiery, Acloque et al., 2009; Prat, Parker et al., 2010; Palaflox et al., 2012]. Individual studies demonstrate CD44⁺CD24^{-/low} and aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) positive cell high percentage in the basaloid and Claudin-low (basaloid subtype) tumors. At the same time CD44^{low}/CD24⁺ are more in the luminal subtypes [Ricardo, Viera et al., 2011].

TNBC tumors are prone to rapid spread, at the early stages of illness onset, with remote hematogenic metastases, including in the brains. World reference data confirm that in general as well as without recurrence, life expectancy in TNBC is much lower than in patients with TNBC with different combinations of steroidal sex hormone expression and gene Her-2/neu expression [N. Mantel, W. Haensel et al., 1959; Yin W.J., Lu J.S. et al., 2009; Z.Y. Yang, S.S. Wang et al., 2008].

The results show that low in situ incidence of cancer in the tissue around TNBC corresponds to the reference data and logically leads to the idea that triple negative cancer can develop so rapidly and aggressively that it destroys its morphogenesis predecessor structures.

Thus, as a result of analysis of the own material, we conclude that the TNBC type breast cancer does not have any univocally evaluated characteristics in terms of histological typing and immunohistochemical profile. Malignant type growth of different – more common, and some lesser-known histological variants, or their combination is observed.

Predominant “damage” and “targeted” affinity to the individual types of basaloid cancer variants accompanied by sensitivity to high specific immunomarkers, positive CK 5/CK 17, Cyclin E and ER/PR HER2 negative background have been univocally demonstrated in the age groups.

Particular attention is to be paid to coordinated evaluation of the EGFR and HER2/neu (antibody), which under the high activity of HER2/neu creates the perspective of suppression of the epithelium malignization tendency and of liquidation of the process itself.

Conclusions

1. Triple negative breast cancer (TNBC), as a heterogeneous disease, contains basal like subtypes and non-basal like histological elements. Based on our material it is found in all the age groups.

2. Triple negative breast cancer from the position of histological classification schemes is represented by heterogeneous microscopic structures from ductal cancer to medular cancer with lymphoid stroma; there are comedo, lymphoepithelial and so called “pushing invasion model” type, histologically are characterized by a high grade of malignancy and an adverse outcome.

3. Cyclin E shows a clearly positive reaction in the basaloid like triple negative breast cancer cells in the 56.6% of cases that correlates with the grade malignancy but has no parallelism with a particular histological type of tumor.

- Cyclin E activity characterizes the low-differentiated forms, as a rule, is associated with the aggressive clinical progress; this phenomenon may be associated with the complicated damage of basaloid cancer karyotype, which introduces on the agenda implementation of new criteria and recommendations by genetic profile data.

4. One of the phenotypes of the triple negative breast cancer – basaloid cancer – cellular and immune-type type of low-differentiated tumors is represented in our material by 92% of the TNBC cases. The CK 5,6,17 high expression level is typical and specific for TNBC. Necrosis phenomenon is more sharp and massive.

5. The receptor of epidermal growth factor in the “basaloid like” cells of the triple negative breast cancer is a specific immunohistochemical

marker, which, performing the role of mechanism of self-regulation and renewal of tumor cells, is associated with recurrence and metastatic phenomenon.

6. By the biological characteristics of tumor the triple negative breast cancer can be considered as non-uniform tumor (including the “basaloid-like” phenotype) with immunohistochemical characteristic profile, which should be considered in terms of optimizing targeted therapy in a wide range of pro-and anti-oncogenic proteins.

Recommendations

- The results of the study show significant progress in terms of verification of the correct diagnosis of breast cancer and classification of the identified phenotypes that determine selection, use and prediction of proper tactics of the targeted therapy. The tendency of emergence of the family-hereditary type tumors, though not fully confirmed, but can be used for the deeper research in the practice of medical-genetic counseling for the early diagnosis of different diseases in this population.

- It is recommended to use the Ck5/17 in order to specify the phenotype of tumors in order to select the optimal target therapy.

- It is recommended to estimate the EGFR expression in order to specify the phenotype of the tumor in case of triple negative breast cancers.

Publications:

1. „სარძევე ჯირკვლის კიბოს იმუნოლოგიური თავისებურებანი ასაკობრივ ასპექტში” სამხრეთ კავკასიის ონკოლოგთა IV კონგრესი, თბილისი, საქართველო. კონგრესის მასალები გვ.135-136. მ.ი. მჭედლიშვილი, ყ.ა. გაბუნია, ე.რ. მახარობლიძე, **ა.გ. მარიამიძე**, ნ.პ. ტყეშელაშვილი.

2. Breast cancer subtypes in young adult women in Georgia. I. Kiladze, **A. Mariamidze**, S. Mchedlishvili, K. Tsomaia. The Breast, supplement. 10-12 November, 2016, Lugano.

3. Expression of Cyclin E in Basal-like breast carcinoma. **Mariamidze A.**, Gogiashvili L., Khardzeishvili O. Georgian Medical News. 12 (273) 2017

4. Molecular basis of epidermal growth factor receptor and cyclin E expression interdependence in basal-like subtype of invasive breast cancer. **Mariamidze A.**, Gogiashvili L., Khardzeishvili O. Javakhishvili T. Makaridze D. Georgian Medical News. No 3 (276) 2018

5. Distribution and Demographic Characteristics of Ductal Invasive Breast Carcinoma Subtypes in Georgian Population. **Mariamidze A.**, Gogiashvili L., Khardzeishvili O. Javakhishvili T. Makaridze D. Jandieri K. Georgian Medical News. 2018 Oct. (283): 129-133.