

The role of IHC (ER , PR , Her2/neu) and (Ki-67) in the molecular classification of the breast cancer and its relation to prognosis

Dr. Issa Ahmad*

Dr. Ali Daoud**

Bothina Farhan Hassan***

(Received 8 / 8 / 2019. Accepted 21 / 10 / 2019)

□ ABSTRACT □

Background: Breast cancer is very frequent and has social and psychological implications from the beginning of diagnosis to palliative treatment. Malignant breast tumors are heterogeneous group of diseases that show wide variation in biological behavior, treatment and prognosis relating therapeutic predictive approach to tumors.

Methods: Molecular classification of breast malignancies were classified into five groups based on histological immunohistochemistry (IHC) ER, PR, Her2 / neu, Ki-67. 100 samples from Tishreen University Hospital patients with cancer of unilateral and invasive ductal or lobular carcinomas were selected to study the molecular classification method (IHC) during the period 2017-2018, we analyzed the relationship of molecular classification with different warning factors age, tumor size, patterns and histological status and lymph nodes status Axillary, using cross-sectional analytical and statistical study using SPSS.

Results: 77 ductal carcinomas, Luminal A (24.7%), Luminal B (24.7%), HER2-enriched (16.9%), Triple- negative (26%) and Normal like (7.8%). we found 23 lobular carcinomas, Luminal A (17.4%), Luminal B (47.8%), HER2-enriched (4.3%), Triple- negative (8.7%) and Normal like (21.7%). We observe the order of molecular patterns starting from the worst warning: Luminal B Triple-Negative or basal like, luminal A, HER2-enriched, normal like.

Conclusion: Molecular classification of breast cancers is useful in developing treatment strategies and identifying prognosis

Key words: breast invasive carcinoma, molecular classification, hormonal receptors, mitotic index.

* Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine Tishreen University, Lattakia, Syria.

**Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine Tishreen University, Lattakia, Syria.

*** Postgraduate Student, Department of Pathology, Faculty of Medicine Tishreen University, Lattakia, Syria.

دور التلويينات المناعية النسيجية الهرمونية (Her2/neu, PR, ER) و (Ki-67) في التصنيف الجزيئي لسرطان الثدي وعلاقتها بالإندار

الدكتور عيسى أحمد*

الدكتور علي داود**

بثينه فرحان حسن***

(تاريخ الإيداع 8 / 8 / 2019. قُبِلَ للنشر في 21 / 10 / 2019)

□ ملخّص □

الخلفية: يعد سرطان الثدي كثير التواتر وله انعكاسات اجتماعية ونفسية من بداية التشخيص وحتى العلاج الملطف. ورم الثدي الخبيث مجموعة أمراض غير متجانسة تظهر تبايناً واسعاً بالسلوك البيولوجي والعلاج والإندار. **الطريقة:** من أجل المقاربة العلاجية والتنبؤية لهذه الأورام، قد تم تصنيف جزيئي لخباثات الثدي إلى تحت خمس مجموعات اعتماداً على التلويينات المناعية النسيجية (IHC) ER، PR، Her2/neu، Ki-67. تم اختيار 100 عينة من مرضى مستشفى تشرين الجامعي لديهم سرطانه قنوية أو فصيصية غازية وحيدة الجانب لدراسة التصنيف الجزيئي بطريقة (IHC) خلال الفترة 2017-2018، وقمنا بإيضاح علاقة التصنيف الجزيئي مع عوامل الإندار المختلفة: العمر، حجم الورم، الأنماط والدرجة النسيجية وحالة العقد اللمفية الإبطية، باستعمال دراسة احصائية تحليلية - مقطعية عرضية باستخدام برنامج (SPSS).

النتائج: كانت النتائج 77 سرطانه قنوية، Luminal A (%24.7)، Luminal B (%24.7)، HER2-enriched (%16.9)، Triple- negative (%26) و Normal like (%7.8). وجد 23 سرطانة فصيصية، Luminal A (%17.4)، Luminal B (%47.8)، HER2-enriched (%4.3)، Triple- negative (%7.8) و Normal like (%21.7). نلاحظ ترتيب الأنماط الجزيئية بدءاً من الأسوأ إنذاراً: Triple-Negative or basal Luminal B، normal like، HER2-enriched، luminal A، like.

الخلاصة: أن التصنيف الجزيئي لسرطانات الثدي مفيد في وضع استراتيجيات العلاج وتحديد الإندار.

الكلمات المفتاحية: سرطانه الثدي الغازية، تصنيف جزيئي، مشعر الانقسام، المستقبلات الهرمونية.

* أستاذ في قسم علم الأمراض - كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية
** مدرس في قسم علم الأمراض - كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية
*** طالبة دراسات عليا - قسم علم الأمراض - كلية الطب البشري - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

مقدمة:

يعد سرطان الثدي كثير الوقوع وله انعكاسات اجتماعية ونفسية من مرحلة الكشف المبكر وحتى العلاج الملطف [1]. إن سرطان الثدي الغازي مجموعة غير متجانسة من الأورام التي تظهر تبايناً واسعاً فيما يتعلق بالسلوك السريري والمورفولوجي. بناءً على الدراسات الجزيئية هناك نظام تصنيف جديد لسرطان الثدي معتمد على تقسيمه إلى تحت خمس مجموعات، بذل جهد ضخم لاستخدام التلويينات المناعية النسيجية الكيماوية من أجل التصنيف الجزيئي بدل الدراسة الجزيئية بتحري إيجابية أو سلبية Ki-67, Her2/neu, ER, PR [2, 3] ، من أجل ذلك يتم اعتماد معايير النسبة المئوية Percentage للخلايا الإيجابية وشدة التلون intensity لهذه التلويينات المناعية النسيجية الكيماوية [4,5]. قام بعد ذلك خبراء مؤتمر سانت غالن 2013 St Gallen بتحديث هذا التصنيف وظهر ملحق اعتمد التصنيف على إيجابية أو سلبية Ki-67, Her2/neu, ER, PR [6, 7] - ملحق 1. يتم قياس المستقبلات الهرمونية الستيروئيدية ER,PR داخل خلوية بطريقة التلويينات المناعية النسيجية IHC [8] يشفر الجين c-erbB-2 المتوضع على ذراع الصبغي 17 الطويل لمستقبل عامل النمو الظهاري Her2/neu، حيث توجد في الحالة الطبيعية نسختان من هذا الجين على كل ذراع [9,10]. تدل إيجابية المستضد النووي Ki-67 على أن الخلايا في دورة الانقسام ويعطي فكرة عن معدل تكاثر الخلايا [11] واعتبر عامل تنبؤي إنذاري مستقل من ناحية سرطان الثدي ومعدل البقاء [12]. أوضحت الدراسات الحديثة التي أجريت عام 2017 أهمية التعبير العالي له كعامل إنذار سيء [13]. تعتبر هذه الواسمات تنبؤية مهمة لما لها من قيمة إنذارية مستقلة في حالات سرطان الثدي المختلفة. سرطان الثدي هو أشيع سرطان عند الإناث وثاني أشيع سبب للوفيات السرطانية عندهن بعد سرطان الرئة في البلدان المتطورة ولكنه في البلدان النامية هو السبب الأول للوفيات السرطانية عند النساء [14]. وفقاً لتقرير منظمة الصحة العالمية عام 2012 فإن سرطان الثدي هو السرطان الأكثر انتشاراً في سورية ومعدل الحدوث السنوي هو 4100 حالة. [15].

أهمية البحث وأهدافه:

تتبع أهمية البحث من النقاط التالية:

- 1- عدم وجود دراسة تحليلية سابقة لـ Ki-67 في محافظة اللاذقية وعلاقتها مع حالة المستقبلات الهرمونية.
 - 2- لم يتم محلياً أي تصنيف من هذا النوع لحالات سرطانات الثدي.
 - 3- ضرورة فهم الخصائص السريرية والتشريحية المرضية بشكل دقيق لسرطان الثدي ربطاً مع التلويينات المناعية النسيجية التي هي أحد أهم طرق التصنيف ذات الفائدة العلاجية والإنذارية التي تؤثر على حياة المريض وكلفة العلاج. تلخص أهداف الدراسة بما يلي:
 - 1- تعيين حالة Ki-67 ، ER ، PR ، Her2/neu باستخدام تقنية التلويينات المناعية النسيجية IHC كعوامل إنذارية هامة في سرطان الثدي و اتباع تصنيف St Gallen المعتمد .
 - 2- دراسة علاقة خصائص الورم المتمثلة بإيجابية أو سلبية التلويينات المناعية النسيجية للواسمات Ki-67 ، ER ، PR مع العوامل الإنذارية الأخرى المتمثلة بحجم الورم، العمر، النمط النسيجي، درجة الورم، إصابة العقد اللمفاوية، والمرحلة السريرية.
- تم إجراء هذا البحث في كلية الطب البشري ومستشفى تشرين الجامعي في الفترة بين 1/1/2017 م و 30/12/2018 م.

طرائق البحث ومواده:

تمّ تجميع واختيار عينات سرطانات الثدي أحادي الجانب في مخبر التشريح المرضي في مستشفى تشرين الجامعي، بحيث يحقق الشروط التالية: ورم غازي قنوي أو فصيصي صرف تقليدي (NOS)، دون وجود نقائل بعيدة، ورم وحيد الجانب، كان عدد العينات الكلي 100، تمت الدراسة العيانية و النسيجية للعينات، بعد أخذ مقاطع عديدة و صبّها في الشمع و من ثمّ تلويها روتينياً بالهيماتوكسيلين و الايوزين (H&E) في نفس المخبر، ودراستها بالمجهر الضوئي، إجراء التلوينات المناعية (ER، PR، Her2/neu، Ki-67) للحالات و تصنيفها حسب St Gallen [6]. تم استعمال طريقة Allred score system في تقييم حالة مستقبلات الهرمون ER، PR، Her2/neu [16]، تم تقييم إيجابية Ki-67 من خلال عدّ مئة خلية في عشر ساحات مختلفة ومعرفة عدد الخلايا في دورة الانقسام، ثم حساب المتوسط الحسابي، تجمع معظم المراجع [18, 17, 6] على أن السرطان الذي تبدي عدد خلايا إيجابية Ki-67 ≤ 20 هي عالية الدرجة (High grade)، بينما السرطانات الأقل من 20 منخفضة الدرجة (Low grade). تم دراسة ملفات المريضات بسرطانات الثدي القنوية والفصيصية الواردة إلى قسم التشريح المرضي في المستشفى وإعادة تقييمها النسيجي والمناعي إذا تطلب الأمر، و تصنيفها حسب مشعر St Gallen. الدراسات الاحصائية تحليلية - مقطعية عرضية تم استعمال برنامج احصائي (SPSS)، الطرق الاحصائية: النسب المئوية، المتوسط الحسابي، اختبار ت-ستودنت (Student's t-test) كما استخدم اختبار كاي مربع (chi square test) لمقارنة وجود تعبير ER، PR، و Her2/neu و Ki-67 في مختلف الأنماط المبدية خصائص سريرية و تشريحية مرضية متباينة.

النتائج والمناقشة:

تضمنت عيّنة الدراسة 100 مريضة. نرى توزع المرضى بحسب معايير مختلفة مثل العمر، حجم الورم، النمط النسيجي، الدرجة النسيجية، ووجود أو عدم وجود نقائل في العقد اللمفية الإبطية في الجدول رقم (1).

الجدول رقم (1) توزع المرضى بحسب العمر وحجم الورم والنمط النسيجي والدرجة النسيجية وحالة العقد اللمفية الإبطية:

العدد الكلي	النسبة	العدد	تفاصيل الصفة	المعيار الموصوف
100	38%	38	أقل من 50	العمر
	51%	51	أكبر من 50	
	11%	11	غير معروف	
100	14%	14	أقل من 2سم	حجم الورم
	49%	49	2-5سم	
	32%	32	أكبر من 5سم	
	5%	5	غير معروف	
100	77%	77	قنوي	النمط النسيجي
	23%	23	فصيصي	
100	18%	18	G1	الدرجة النسيجية

	%47	47	G2	
	%35	35	G3	
100	%48	48	يوجد على الأقل عقدة واحدة	وجود عقد لمفية نقائلية أو لا
	%9	9	لا يوجد	
	%43	43	غير معروف	

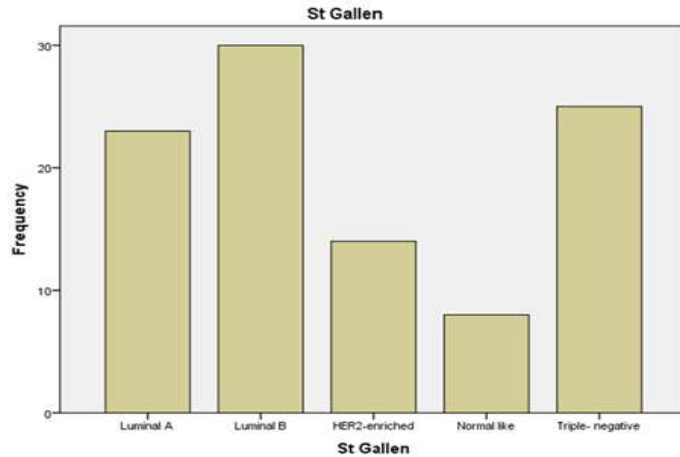
بلغ عدد الحالات مع حجم ورم أقل من 2 سم 14 (14.4%)، بينما بلغ عدد حالات حجم الورم بين 2 و 5 سم 49 (49.0%)، وعدد حالات حجم الورم أكبر من 5 سم 32 (32%)، و 5 لم تتمكن من تحديد حجم الورم فيها. بلغ عدد الحالات من النمط النسيجي القنوي ductal carcinoma 77 مريضة (77.0%)، بينما بلغ عدد حالات النمط النسيجي الفصيبي lobular carcinoma 23 (23.0%). النسبة الأكبر من سرطانات الثدي هي سرطانات قنوية غازية.

من حيث العلاقة مع النقائل، تم تقسيم المرضى الى مجموعتين بغض النظر عن عدد العقد المصابة، مجموعة لديها نقائل عقد لمفية إبطية مصابة 48 (48.0%)، ومجموعة ليس لديها عقد مصابة 9 (9.0%)، و 43 عينة لم تتمكن من تحديد فيما إذا كان لديها عقد مصابة أم لا.

توزع المرضى بحسب St Gallen، بلغ عدد Luminal A 23 (23.0%)، بينما بلغ عدد Luminal B 30 (30.0%)، وبلغ عدد HER2-enriched 14 (14.0%)، وبلغ عدد Normal like 8 (8.0%) وأخيراً Triple-negative 25 (25%). وأحياناً يدمج مع الأخير Basal-like [7].

الجدول (2) توزع المرضى بحسب St Gallen:

	Frequency	Percent	Valid Percent
Luminal A	23	23.0	23.0
Luminal B	30	30.0	30.0
HER2-enriched	14	14.0	14.0
Normal like	8	8.0	8.0
Triple- negative	25	25.0	25.0
Total	100	100.0	100.0



الشكل (1) توزيع الحالات بحسب التصنيف الجزئي

يشكل النمط luminal B المجموعة الأكبر من مرضى الدراسة. و النمط normal like المجموعة الأصغر. تمت دراسة الدرجة النسيجية وفقاً لمعايير نوتنغهام (Nottingham grading system)، بلغ عدد الحالات التي كانت من الدرجة النسيجية الأولى G1 18 (18.0%)، بينما عدد حالات الدرجة النسيجية الثانية G2 47 (47.0%)، بينما بلغ عدد الحالات من الدرجة النسيجية الثالثة G3 35 (35.0%). شكلت سرطانات الدرجة الثانية أكبر مجموعة من مرضى الدراسة بينما المجموعة الأصغر هي سرطانات الدرجة الأولى.

مقارنة مشعر St Gallen بحسب النمط النسيجي:

لوحظ أنه من أصل 77 سرطانه قنوية، وجد 19 Luminal A (24.7%)، و 19 Luminal B (24.7%)، و 13 HER2-enriched (16.9%)، و 20 Triple-negative (26%) و 6 عينات Normal like (7.8%). ومن أصل 23 سرطانة فصيصية وجد 4 Luminal A (17.4%)، و 11 Luminal B (47.8%)، و واحدة HER2-enriched (4.3%)، و 5 حالات Triple-negative (21.7%) وعينتان Normal like (8.7%).

الجدول (3) توزيع الأنماط النسيجية بحسب مشعر St Gallen

Crosstab

		النمط النسيجي		Total
		ductal	lobular	
Luminal A	Count	19	4	23
	% within النمط النسيجي	24.7%	17.4%	23.0%
Luminal B	Count	19	11	30
	% within النمط النسيجي	24.7%	47.8%	30.0%
St Gallen HER2-enriched	Count	13	1	14
	% within النمط النسيجي	16.9%	4.3%	14.0%
Normal like	Count	6	2	8
	% within النمط النسيجي	7.8%	8.7%	8.0%
Triple-negative	Count	20	5	25
	% within النمط النسيجي	26.0%	21.7%	25.0%
Total	Count	77	23	100
	% within النمط النسيجي	100.0%	100.0%	100.0%

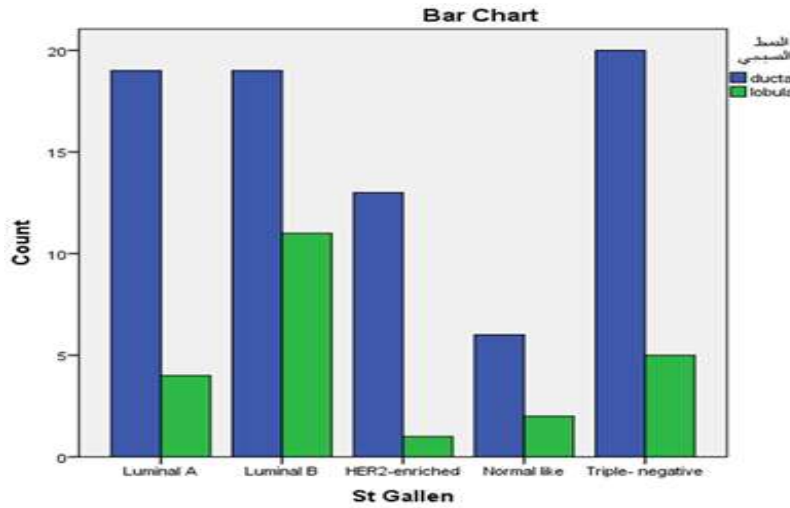
ولبيان فيما إذا كانت الفروق في نسب النمط النسيجي بالنسبة لـ St Gallen دالة إحصائياً قمنا باختبار كاي مربع وبلغت قيمة P-VALUE (0.22) وهي أكبر من مستوى الدلالة البالغ 0.05، وبالتالي الفروق بين النمطين النسيجين ليست ذات دلالة إحصائية. كما هو مبين في الجدول (4). أي لا يوجد علاقة بين التصنيف الجزيئي لسانت غالن والنمط النسيجي للورم.

الجدول (4) اختبار Chi-Square وقيم مستوى الدلالة P-VALUE

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5.705 ^a	4	.222
Likelihood Ratio	5.950	4	.203
Linear-by-Linear Association	.202	1	.653
N of Valid Cases	100		

a. 2 cells (20.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.84.



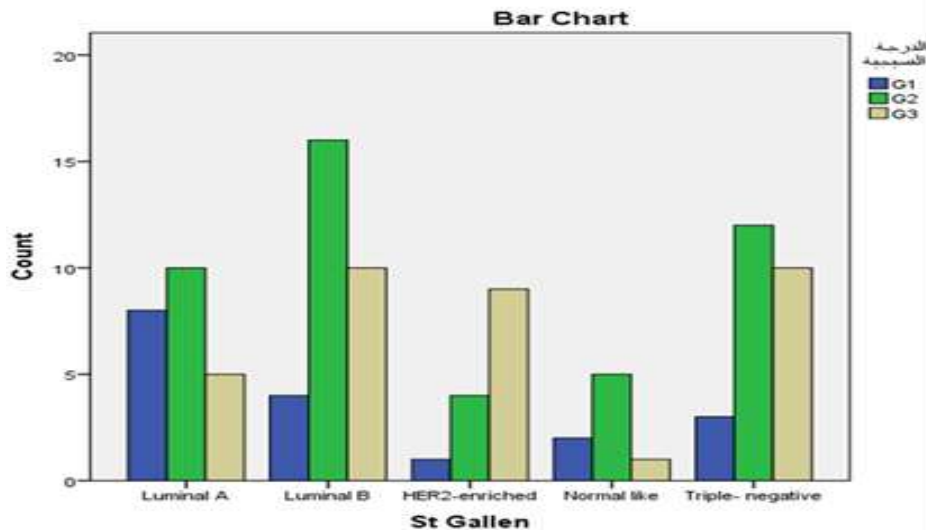
الشكل (2) تواتر السرطان الغازية القنوية والفصيصية ضمن الأنماط المختلفة لتصنيف St Gallen مقارنة مشعر St Gallen بحسب الدرجة النسيجية:

لوحظ أنه من أصل 18 عينة درجتها النسيجية G1، وجد 8 عينات Luminal A (44.4%)، و 4 Luminal B (22.2%)، وواحدة HER2-enriched (5.6%) و حالتين Normal like (11.8%) و 3 عينات Triple-negative (16.7%). كما لوحظ وجود من أصل 47 عينة درجتها النسيجية G2 10 عينات Luminal A (21.3%)، و 16 Luminal B (34.0%)، و 4 HER2-enriched (8.5%)، و 5 Normal like (10.6%) و 12 عينة Triple-negative (25.5%). وجد من أصل 35 عينة درجتها النسيجية G3 5 عينات Luminal A (14.3%)، و 10 Luminal B (28.6%)، و 9 HER2-enriched (25.7%)، و حالة واحدة Normal like (2.9%) و 10 Triple-negative (28.6%). كما هو مبين في الجدول (5) والشكل (3).

الجدول (5) تواتر الدرجات النسيجية المختلفة بحسب مشعر St Gallen :

Crosstab

		الدرجة النسيجية			Total	
		G1	G2	G3		
St Gallen	Luminal A	Count	8	10	5	23
		% within النسيجية الدرجة	44.4%	21.3%	14.3%	23.0%
	Luminal B	Count	4	16	10	30
		% within النسيجية الدرجة	22.2%	34.0%	28.6%	30.0%
	HER2-enriched	Count	1	4	9	14
		% within النسيجية الدرجة	5.6%	8.5%	25.7%	14.0%
	Normal like	Count	2	5	1	8
		% within النسيجية الدرجة	11.1%	10.6%	2.9%	8.0%
	Triple- negative	Count	3	12	10	25
		% within النسيجية الدرجة	16.7%	25.5%	28.6%	25.0%
Total	Count	18	47	35	100	
	% within النسيجية الدرجة	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	



الشكل (3) تواتر الدرجات النسيجية في أنماط التصنيف الجزيئي لسرطانة الثدي

ولبيان فيما إذا كانت الفروق في نسب الدرجات النسيجية بالنسبة ل St Gallen دالة إحصائياً قمنا باختبار كاي مربع وبلغت قيمة P-VALUE (0.102) وهي أكبر من مستوى الدلالة البالغ 0.05، وبالتالي الفروق بين الدرجات النسيجية ليست ذات دلالة إحصائية. كما هو مبين في الجدول (6).

الجدول (6) اختبار Chi-Square لنسب الدرجات النسيجية بالنسبة لتصنيف St Gallen:

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	13.285 ^a	8	.102
Likelihood Ratio	12.850	8	.117
Linear-by-Linear Association	2.247	1	.134
N of Valid Cases	100		

a. 7 cells (46.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.44.

مقارنة مشعر St Gallen بحسب حجم الورم:

من أصل 14 عينة حجم الورم أقل من 2 سم، وجد 4 Luminal A (28.6%)، و 3 Luminal B (21.4%)، وعينة واحدة HER2-enriched (7.1%)، و 3 Normal like (21.4%)، و 3 Triple-negative (21.4%). كما لوحظ من أصل 49 عينة حجم الورم بين 2-5 سم، وجد 14 عينة Luminal A (28.6%)، و 18 Luminal B (36.7%)، و 4 HER2-enriched (8.2%)، و 13 Triple-negative (26.5%). لوحظ من أصل 32 عينة حجم الورم أكبر من 5 سم، وجد 4 Luminal A (12.5%)، و 9 Luminal B (28.1%)، و 7 HER2-enriched (21.9%)، و 5 Normal like (15.6%)، و 7 عينات Triple-negative (21.9%).

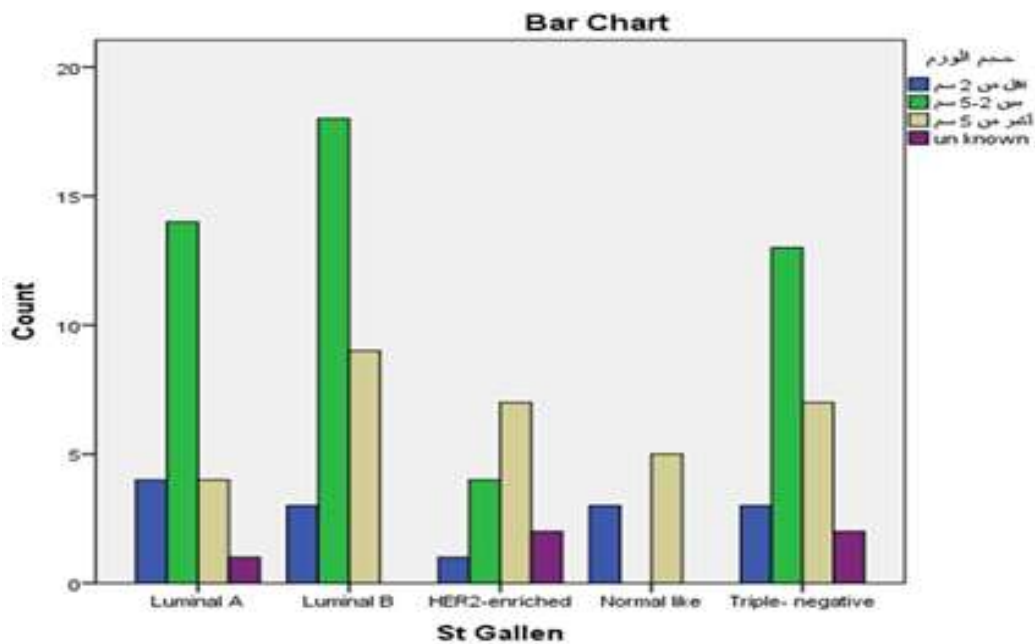
ولبيان فيما إذا كانت الفروق في نسب حجم الورم بالنسبة ل St Gallen دالة إحصائياً قمنا باختبار كاي مربع وبلغت قيمة P-VALUE (0.049) وهي أقل من مستوى الدلالة البالغ 0.05، وبالتالي الفروق بين نسب توزع حجم الورم ذات دلالة إحصائية. كما هو مبين في الجدول التالي. أي هناك علاقة بين التصنيف الجزيئي لسانت غالن وحجم الورم. حيث ترافق النمط luminal A مع الأحجام الأصغر وبالتالي إنذاره أفضل بينما ترافق النمط luminal B مع الأحجام الأكبر مما يؤثر سلباً في الإنذار.

الجدول (7) توزع أحجام الورم على أنماط التصنيف الجزيئي لسرطانات الثدي الغازية القنوية والفصيصية:

Crosstab

		حجم الورم				Total	
		أقل من 2 سم	بين 2-5 سم	أكبر من 5 سم	un known		
St Gallen	Luminal A	Count	4	14	4	1	23
		% within الورم	28.6%	28.6%	12.5%	20.0%	23.0%
	Luminal B	Count	3	18	9	0	30
		% within الورم	21.4%	36.7%	28.1%	0.0%	30.0%
	HER2-enriched	Count	1	4	7	2	14
	% within الورم	7.1%	8.2%	21.9%	40.0%	14.0%	
	Normal like	Count	3	0	5	0	8

Triple-negative	الورم % within حجم	21.4%	0.0%	15.6%	0.0%	8.0%
	Count	3	13	7	2	25
Total	الورم % within حجم	21.4%	26.5%	21.9%	40.0%	25.0%
	Count	14	49	32	5	100
	الورم % within حجم	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%



الشكل (4) توزيع أحجام سرطانية الثدي على الأنماط المختلفة من التصنيف الجزيئي

الجدول (8) اختبار Chi-Square وقيم مستوى الدلالة في الأحجام المختلفة للورم الخبيث المدروس:

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	21.013 ^a	12	.049
Likelihood Ratio	24.784	12	.016
Linear-by-Linear Association	1.276	1	.259
N of Valid Cases	100		

a. 13 cells (65.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .40

مقارنة مشعر St Gallen بحسب العمر:

بلغ عدد أعمار المرضى الأقل من 50 سنة 38 (38.0%)، بينما بلغ عدد الذين أعمارهم أكثر من 50 سنة 51 (51.0%)، و11 مريضة لم تتمكن من تحديد أعمارهم. المتوسط الحسابي لعمر المرضى 49.71 سنة، وتراوحت الأعمار (29-75).

من أصل 38 عينة عمر المريضة أقل من 50 عام، وجد 9 مريضات Luminal A (23.7%)، و13 Luminal B (34.2%)، و3 HER2-enriched (7.9%)، و4 Normal like (10.5%)، و9 مريضات Triple-negative (23.7%). لوحظ من أصل 51 مريضة لديها عمر أكبر من 50، وجد 12 Luminal A (23.5%)، و17 Luminal B (33.3%)، و6 HER2-enriched (11.8%)، و4 Normal like (7.8%)، و12 Triple-negative (23.5%).

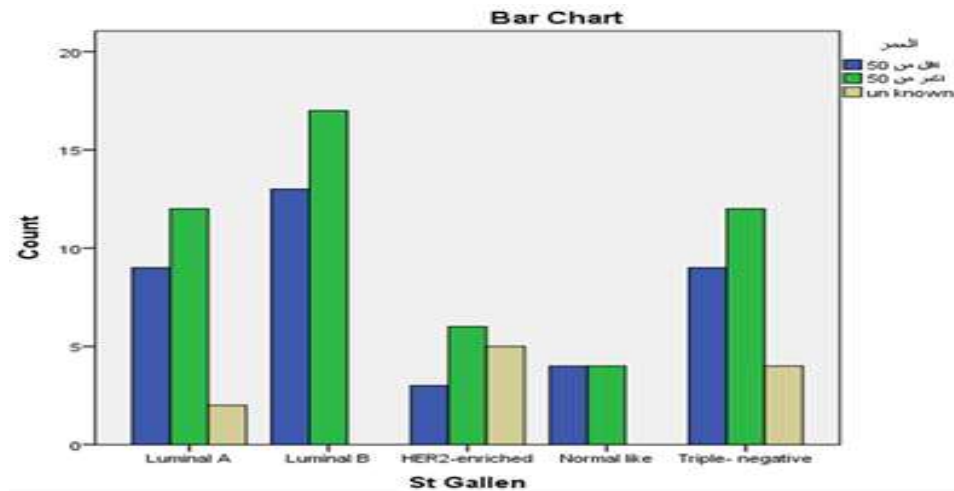
الجدول (9) علاقة العمر مع مشعر St Gallen:

Crosstab

		العمر			Total
		أقل من 50	أكبر من 50	un known	
Luminal A	Count	9	12	2	23
	% within العمر	23.7%	23.5%	18.2%	23.0%
Luminal B	Count	13	17	0	30
	% within العمر	34.2%	33.3%	0.0%	30.0%
St Gallen HER2-enriched	Count	3	6	5	14
	% within العمر	7.9%	11.8%	45.5%	14.0%
Normal like	Count	4	4	0	8
	% within العمر	10.5%	7.8%	0.0%	8.0%
Triple- negative	Count	9	12	4	25
	% within العمر	23.7%	23.5%	36.4%	25.0%
Total	Count	38	51	11	100
	% within العمر	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

ولبيان فيما إذا كانت الفروق في نسب العمر بالنسبة لـ St Gallen دالة إحصائياً قمنا باختبار كاي مربع وبلغت قيمة P-VALUE (0.043) وهي أقل من مستوى الدلالة البالغ 0.05، وبالتالي الفروق بين نسب توزع عمر المرضى ذات دلالة إحصائية. كما هو مبين في الجدول (10).

هناك علاقة إحصائية واضحة بين عمر المرضى والنمط الجزيئي للورم، حيث يندرج أكثر المرضى بعمر أكثر من 50 سنة في النمط Luminal B ومن ثم في النمطين Luminal A and Triple-negative وبعد ذلك في النمط HER2-enriched وأخيراً Normal like



الشكل (5) توزيع المجموعات العمرية على أنماط التصنيف الجزيئي لسرطان الثدي

الجدول (10) اختبار Chi-Square لنسب مجموعات المرضى العمرية:

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	14.629 ^a	8	.043
Likelihood Ratio	15.989	8	.043
Linear-by-Linear Association	.694	1	.405
N of Valid Cases	100		

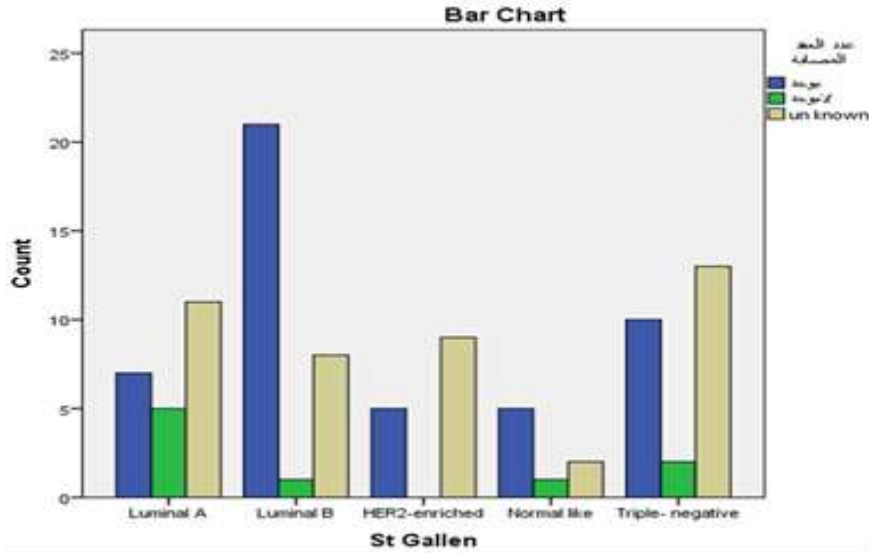
a. 7 cells (46.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .88.

مقارنة مشعر St Gallen بحسب العقد المصابة:

لوحظ أنه من أصل 48 عينة فيها عقد مصابة، وجد 7 Luminal A (14.6%)، و 21 Luminal B (43.8%)، و 5 HER2-enriched (10.4%)، و 5 Normal like (10.4%) و 10 Triple-negative (20.8%) من أصل 9 عينات لا يوجد فيها عقد مصابة، وجد 5 Luminal A (55.65%)، و عينة واحدة Luminal B (11.1%)، وواحدة Normal like (11.1%)، وعينتان Triple-negative (22.2%).

الجدول (11) علاقة وجود نقائل عقد لمفية مع أنماط مشعر St Gallen:

		عدد العقد المصابة			Total	
		يوجد	لا يوجد	un known		
St Gallen	Luminal A	Count	7	5	11	23
		% within عدد العقد المصابة	14.6%	55.6%	25.6%	23.0%
	Luminal B	Count	21	1	8	30
		% within عدد العقد المصابة	43.8%	11.1%	18.6%	30.0%
	HER2-enriched	Count	5	0	9	14
		% within عدد العقد المصابة	10.4%	0.0%	20.9%	14.0%
	Normal like	Count	5	1	2	8
		% within عدد العقد المصابة	10.4%	11.1%	4.7%	8.0%
	Triple- negative	Count	10	2	13	25
		% within عدد العقد المصابة	20.8%	22.2%	30.2%	25.0%
Total	Count	48	9	43	100	
	% within عدد العقد المصابة	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	



الشكل (6) توزع حالات وجود نقائل أو عدم وجودها على أنماط التصنيف الجزيئي لسرطان الثدي

ولبيان فيما إذا كانت الفروق في نسب العقد المصابة بالنسبة ل St Gallen دالة إحصائياً قمنا باختبار كاي مربع وبلغت قيمة P-VALUE (0.033) وهي أقل من مستوى الدلالة البالغ 0.05، وبالتالي الفروق بين نسب توزع العينات بحسب العقد المصابة ذات دلالة إحصائية. أي يوجد علاقة بين النمط الجزيئي وبين إمكانية وجود عقد مصابة كما هو مبين في الجدول التالي.

الجدول (12) اختبار Chi-Square لنسب حالة العقد اللمفية بالنسبة لمشعر St Gallen:

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	16.776 ^a	8	.033
Likelihood Ratio	17.229	8	.028
Linear-by-Linear Association	.243	1	.622
N of Valid Cases	100		

a. 7 cells (46.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .72.

الدراسة المقارنة:

نلاحظ من خلال دراستنا أن الحالات المترافقة مع عوامل إنذار سيء من العمر المتقدم والحجم الأكبر من 5 سم ووجود نقائل في عقد لمفية ابطية توزعت على أنماط التصنيف الجزيئي لسرطانات الثدي كما في الجدول (13)، نلاحظ ترتيب الأنماط بدءاً من الأسوأ بحسب عدد المرضى المظهريين عوامل إنذار سيئة أكبر عدد من المرضى 47 هو في النمط (Luminal B) هو الأسوأ إنذاراً، يليه النمط (Triple-Negative) 29 مريضة سيء الإنذار، ثم 21 luminal A، 18 HER2-enriched، وأخيراً 14 normal like صاحب الإنذار الجيد، هذا لا يتوافق مع دراسة منشورة عام 2018 على الشبكة العنكبوتية [7] التي تعطي الإنذار الأسوأ للنمط HER2-enriched، لكنه يعالج معالجة هدفية ناجحة، إنذار (Triple-Negative) سيء، ثم بعد ذلك الإنذار الجيد للنمطين normal like، luminal A و إنذار (Luminal B) أقل جودة من الأخير .

الجدول (13) تواتر مرضى سرطانه الثدي المظهريين عامل الإنذار الأسوأ في الأنماط الجزيئية المتباينة:

النمط الجزيئي الإنذار	Triple-Negative	Normal Like	HER2-enriched	Luminal B	Luminal A	عمر أكبر من 50
عمر أكبر من 50	12	4	6	17	12	50
الحجم الورم	7	5	7	9	4	
وجود نقائل لمفية	10	5	5	21	7	
المجموع	29	14	18	47	21	

تجمع أغلب المراجع على تزايد عوامل الإنذار سوءاً مع العمر المتقدم، الأحجام الأكبر، وجود نقائل عقد لمفية، الدرجة النسيجية الأقل تميزاً [19, 20, 21]، لكن وجد من خلال هذه الدراسة أن هناك علاقة واضحة بين العمر، وحجم الورم ووجود نقائل مع النمط الجزيئي للسرطان من خلال التلوينات المناعية النسيجية الكيماوية الجدول (14)، بينما الدرجة النسيجية والنمط النسيجي لا يبديان أي علاقة إحصائية هامة مع التصنيف الجزيئي لخباثات الثدي، وحالياً يتم الاعتماد على التصنيف الجزيئي لاختيار العلاج المناسب والتكهن بالإنذار، لذا لا بد من التركيز على تصنيف سرطانات الثدي الجزيئي قبل البداية بالتدبير واختيار العلاج المناسب. [22, 23]. مهما اختلفت طريقة التصنيف الجزيئي لسرطانات الثدي ومنها التلوينات المناعية النسيجية المساعدة، لكل تلوين مناعي نسيجي كيماوي بالارتباط مع التصنيف الجزيئي قيمة انذارية مختلفة، مثل إيجابية مشعر التكاثر أكثر أو يساوي 20 خلية ($Ki-67 \geq 20\%$)،

والإيجابية الشديدة لمستقبل عامل النمو (+++ Her2/neu) تضع سرطانة الثدي في مجموعة الإنذار السيئ بغض النظر عن النمط النسيجي أو الدرجة النسيجية [24, 25]، بينما إيجابية ER لا تعطي قيمة إنذارية إحصائية لخباثة الثدي [26].

الجدول (14) قيمة مستوى الدلالة الإحصائية في العوامل المختلفة للأورام وعدد الحالات الداخلة في الدراسة الإحصائية:

الصفة	العدد n	قيمة P-value
العمر	89	0.043
حجم الورم	95	0.049
النقائل	57	0.033
النمط النسيجي	100	0.22
الدرجة النسيجية	100	0.102

تمت دراسة 671 مريض في السويد 2016 لمرضى مقبولين ومعالجين في عدة مراكز صحية 1983-2004، تبين أن الدرجة النسيجية (G) تؤثر على الإنذار بصرف النظر عن النمط النسيجي، بحيث G1 في النمط الجزيئي Luminal A إنذارها جيد، إنذار المرضى G3 الواقعين في النمط الجزيئي Luminal B سيء، بينما الدرجة G2 غير مرتبط بالإنذار بالنمط الجزيئي والقرار العلاجي مرتبط بحالة Ki-67 [27]، بينما لم تشر دراستنا إلى وجود علاقة إحصائية هامة بين الدرجة النسيجية أو النمط النسيجي والتصنيف الجزيئي الجداول (5 و6).

الاستنتاجات والتوصيات:

1- يوجد علاقة إحصائية وثيقة بين النمط الجزيئي ووجود نقائل في العقد اللمفية الإبطية، حيث تتجهز أغلب حالات الأورام المظهرة انتقالات العقد اللمفية في النمط الجزيئي Luminal B ويتلوها في النمط Triple- negative وبعد ذلك Luminal A وفي النمطين الباقيين بالتساوي تقريباً.

2- هناك علاقة إحصائية واضحة بين عمر المرضى والنمط الجزيئي للورم، حيث يندرج أكثر المرضى بعمر أكثر من 50 سنة في النمط Luminal B ومن ثم في النمطين Luminal A and Triple- negative وبعد ذلك في النمط Normal like وHER2-enriched وأخيراً.

3- تدل العلاقة بين النمط الجزيئي لسرطانة وحجم الورم على وجود الأعداد الأكبر من الورم الأكبر حجماً في المجموعة Luminal B والأعداد الأكبر من الورم الأصغر حجماً في النمط الجزيئي Luminal A.

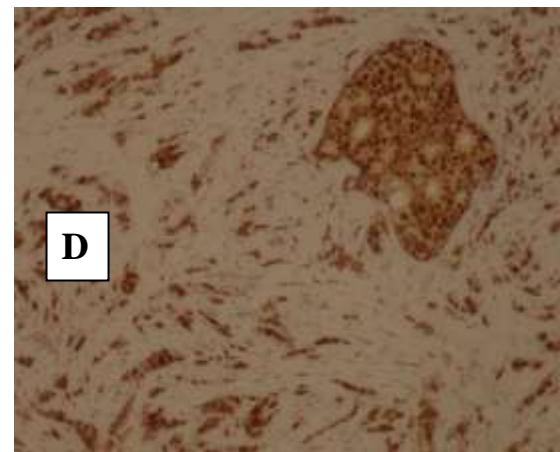
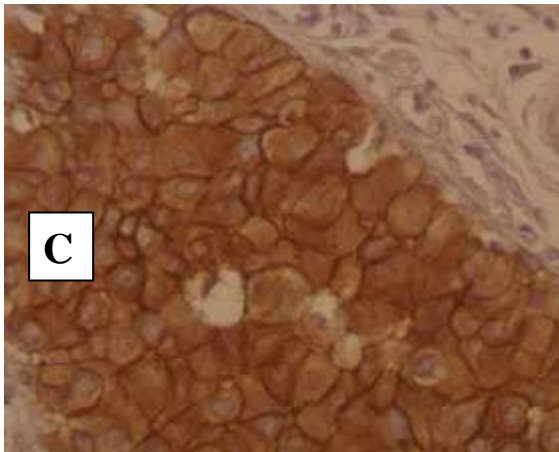
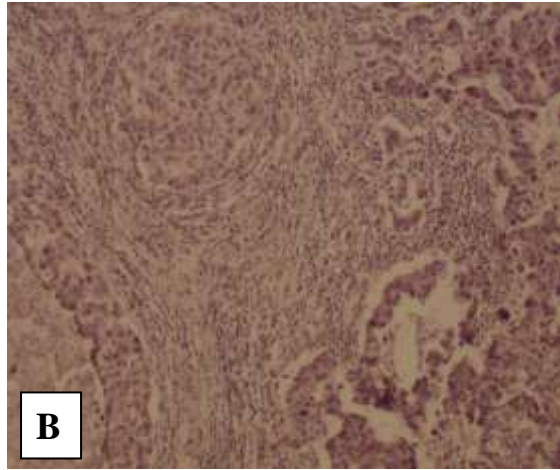
4- ليس هناك علاقة بين الدرجة النسيجية والنمط النسيجي من جهة والنمط الجزيئي لسرطانة الثدي من جهة أخرى. وبالتالي بغض النظر عن الدرجة النسيجية والنمط النسيجي هناك تباين واضح في التصنيف الجزيئي لسرطانة الثدي، مما يدعم فكرة عدم تجانس الأنماط النسيجية حتى المبدئية نفس الدرجات النسيجية لسرطانة الثدي القنوية والفصيصية الغازية، فهذه الأورام هي أمراض مختلفة بيولوجياً وعلاجياً وإنذارياً.

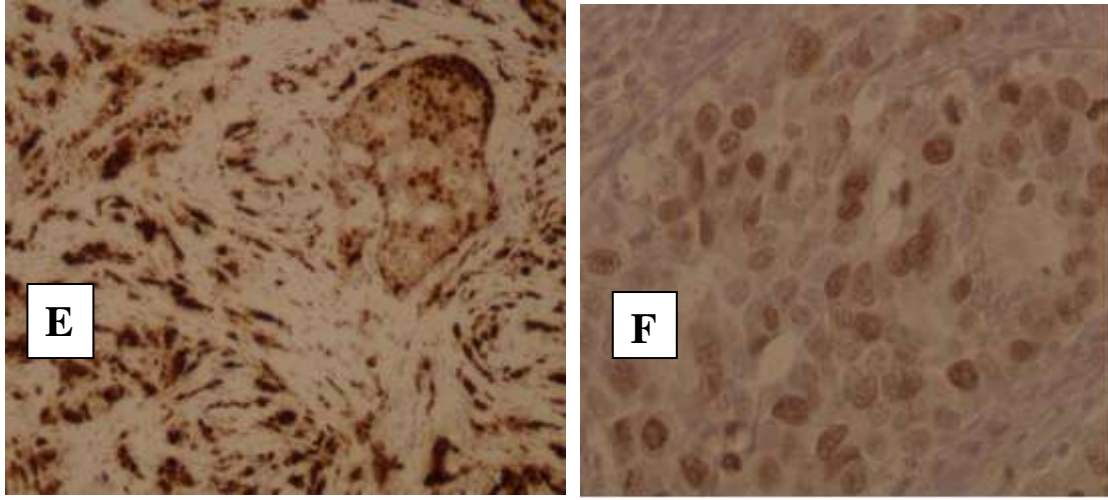
في ظل هذه النتائج نوصي بما يلي:

1- تحدد الأنماط المختلفة للتصنيف الجزيئي الاستراتيجي العلاجية والإنذار، لذلك نوصي بضرورة تضمين تقرير التشريح المرضي لسرطانة الثدي التصنيف الجزيئي مهما اختلفت طريقة تحقيقه سواء بالدراسة الجزيئية أو المناعية النسيجية الكيماوية.

2-تحتّم الأهمية الإحصائية بين عوامل الإنذار العمر والحجم والنقائل نشر ثقافة الكشف المبكر عن سرطان الثدي من أجل تحسين الإنذار وفرص الشفاء من المرض.

3-العمل على أرشفة دقيقة لحالات خباثات الثدي، وإجراء دراسات وابحاث مشتركة بين مركز معالجة أورام الثدي وقسم علم الأمراض لسبر العوامل الإنذارية المختلفة وعلاقتها مع البروتوكولات العلاجية المتبعة في مركز معالجة الأورام. من أجل تحسين وتطوير استراتيجيات العلاج بناءً على استجابة المرضى على العلاج.





الشكل (7)، A: المظهر العياني لسرطانة قنوية غازية حجمها (6 سم).

B: سرطانة قنوية غازية، G3، (H&E)، تكبير 10X10.

تلويينات مناعية نسيجية كيميائية (IHC) لسرطانة قنوية غازية في الثدي:

C: HER2-enriched، تكبير 10X 40، Her2/neu(+++).

D: ER+، تكبير 10X10 أكثر من 70% من نوى الخلايا إيجابية، شدة التلون كبيرة

E: PR+، تكبير 10X10 أكثر من 50% من الخلايا الورمية إيجابية، وشدة التلون كبيرة

F: Ki-67 ≤ 20 ، تكبير 10X40 نسبة الخلايا الورمية في دورة الانقسام الخلوي 21%.

المراجع :

- 1-SALIM, E.I.; MOORE, M.A.; BENER, A. Cancer epidemiology in South- West Asia-past, present and future. *Asian Pac J Cancer Prev.*, Vol. 11 №2, 2010, 33-48.
- 2 -CHEANG, M.C.; VODUC, D.; BAJDIK, C.; LEUNG, S.; MCKINNEY, S.; CHIA, S.K.; PEROU, C.M.; NIELSEN, T.O. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res*, Vol.14, 2008. 1368-1376.
- 3- SCHNITTM S.J. Will molecular classification replace traditional breast pathology? *Int J Surg Pathol.*, Vol.18, 2010, 162S-166S.
- 4 -TANG, P.; SKINNER, K.A.; HICKS, D.G. Molecular classification of breast carcinomas by immunohistochemical analysis: are we ready? *Diagn Mol Pathol*, Vol.18, 2009, 125-132.
- 5 -TAVASSOLI, F.A. Correlation between gene expression profiling-based molecular and morphologic classification of breast cancer. *Int J Surg Pathol*, Vol.18, 2010, 167S-169S.
- 6- GOLDHIRSCH, A.; WINER, E.P.; COATES, A. S. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. *Ann Oncol.*, Vol.24, 2013, 2206-23

- 7- *Molecular Subtypes of Breast Cancer*, 2018 Breastcancer.org, Last modified on November 9, 2016 at 5:10 AM. [PMC free article] [PubMed]. <file:///D:/%D9%85%D8%AD%D8%A7%20%D8%A7%D8%B9%D8%A7%20%D8%B1%D8%A9%201819/high%20edu/breast%20c%20Dr%20B>.
- 8- MAMOUNAS, E. P. NSABP breast cancer clinical trials: recent results and future directions. *Clin Med Res.*, Vol. 4, 2003, 309–326.
- 9- GOLDBLUM, J. R.; LAMPS, L. W.; MCKENNEYM, J. K.; MYERS, J. M. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 11th. Ed., International Edition, Elsevier Inc., Philadelphia, 2018, 2147.
- 10- ROSAI, J. *Rosai and Ackerman's, surgical pathology*. MOSBY AN Affiliate of Elsevier- 2 Vol., 9th. Ed., 2004, 2150.
- 11- BERESFORD, M.J.; WILSON, G.D.; MAKRIS, A. Measuring proliferation in breast cancer: practicalities and applications. *Breast Cancer Res*. Vol. 8 № 6 2006, 216.
- 12- PETRELLI, F.; VIALE, G.; CABIDDU, M.; BARNI, S.; Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat*. Vol.153, 2015, 477-491.
- 13- CHEN, X.; HE, C.; HAN, D.; ZHOU, M.; Q. WANG, Q.; J. TIAN, J. The predictive value of Ki-67 before neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Future Oncol*. Vol.13, 2017, 843-857.
- 14- SIEGEL, R.L.; MILLER, K.D.; JEMAL, A. *Cancer statistics, 2016*. *CA Cancer J Clin.*, Vol.66 №1, Jan-Feb., 2016, 7-30
- 15- <https://rrp.cancer.gov/programsResources/lowIncome/syria> 2012, sep. 2018.
- 16- REGITNIG, P.; REINER, A.; DINGES, H.P.; HOFER, G.; MULLER-HOLZNER, E.; LAX, S.; OBRIST, P., RUDAS, M.; QUEHENBERGER, F. Quality assurance for detection of estrogen and progesterone receptors by immunohistochemistry in Austrian pathology laboratories. *Virchows, Arch* 2002, 441 (328–334).
- 17- CLAHSSEN, P.C.; VAN DE VELDE, C.J.; DUVAL, C. The utility of mitotic index, oestrogen receptor and Ki-67 measurements in the creation of novel prognostic indices for node-negative breast cancer, *Eur J Surg Oncol.*, Vol. 25 № 4, 1999, 356-363.
- 18- JOENSUU, H.; ISOLA, J.; LUNDIN, M. Amplification of erbB2 and erbB2 expression are superior to estrogen receptor status as risk factors for distant recurrence in pT1N0M0 breast cancer: a nationwide population-based study, *Clin Cancer Res.*, vol. 93, 2003, 923 - 930.
- 19- WOLD, L.E.; INGLE, J.N, PISANSKY, T.M.; JOHNSON, R.E.; DONOHUE, J.H. Prognostic factors for patients with carcinoma of the breast. *Mayo Clin Proc.*, Vol.70, 1995, 678–679.
- 20- MORI, I.; YANG, Q.; KUKUDO, K. Predictive and prognostic markers for invasive breast cancer. *Pathol Int.*, Vol.52,2002, 186–194.
- 21- MANSOUR, E.G.; RAVDIN, P.M.; DRESSLER, L. Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer*, Vol.74, 1994, 381–400.
- 22- SORLIE, T.; PEROU, C.M.; TIBSHIRANI, R.; AAS, T.; GEISLER, S.; JOHNSEN, H.; HASTIE, T.; EISEN, M.B.; VAN DE RIJN, M.; JEFFREY, S.S.; THORSEN, T.; QUIST, H.; MATESE, J.C.; BROWN, P.O.; BOTSTEIN, D.; EYSTEIN, L.P.; BORRESEN-DALE, A.L. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*, Vol.98, 2001, 1869-74.

- 23-CORREA, G.F.; REIS-FILHO, J.S. *Microarraybased gene expression profiling as a clinical tool for breast cancer management: are we there yet?* . *Int J Surg Pathol*, Vol.17, 2009, 285–302.
- 24 –PRESS, M.F.; BERNSTEIN, L.; THOMAS, P.A.; MEISNER, L.F.; ZHOU, J.Y.; MA, Y.; HUNG, G.; ROBINSON, R.A.; HARRIS, C.; EL-NAGGAR, A.; SLAMON, D.J.; PHILLIPS, R.N.; ROSS, J.S.; WOLMAN, S.R.; FLOM, K.J. *HER-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridisation: poor prognosis in node-negative breast carcinomas*. *J Clin Oncol*, Vol.15, 1997, 2894–04
- 25 –FRIERSON, H.F.JR. *Ploidy analysis and S-phase fraction determination by flow cytometry of invasive adenocarcinomas of the breast*. *Am J Surg Pathol*, Vol.15, 1991, 358–367.
- 26 –BUTLER, J.A.; BRETSKY, S.; MENENDEZ-BOTET, C.; KINNE, D.W. *Estrogen receptor protein of breast cancer as a predictor of recurrence*. *Cancer*, Vol.55, 1985, 1178–1181.
- 27- EHINGERA, A.; MALMSTRÖM, P.; PEAR-OLA BENDAHLA, P.O.; CHRISTOPHER, W.E.; FALCKE, K.F.; FORSAREA, C.; GRABAU, D.; RYD_ENG, L.H.; STÅLI, O. *Histological grade provides significant prognostic information in addition to breast cancer subtypes defined according to St Gallen 2013*. *ACTA ONCOLOGICA*, 2016.