

mgr Ewa Laskowska

**Wykorzystanie materiału archiwalnego
Zakładu Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum
Onkologii – aspekty epidemiologiczne wybranych nowotworów oraz
użyteczność materiału do badań dodatkowych**

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

Promotor: prof. dr hab. n. med. Andrzej Marszałek



Kolegium Nauk Medycznych
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2021

*Pragnę serdecznie podziękować
prof. dr. hab. n. med. Andrzejowi Marszałkowi
za zaangażowanie i cenne wskazówki, które zdecydowały
o ostatecznym kształcie niniejszej rozprawy doktorskiej.*

*Koleżankom i Kolegom z Zakładu Patologii Nowotworów
za życzliwą pomoc bardzo dziękuję.*

Spis treści

1. Wstęp	8
1.1 Nowotwory na świecie - rys historyczny.	10
1.1.1 Osiągnięcia medycyny na świecie, od antyku po czasy współczesne na przykładzie nowotworów piersi.	10
1.1.2 Rozwój anatomopatologii na ziemiach polskich.	16
1.2 Epidemiologia, aspekt historyczny, działalność i znaczenie.	26
1.2.1 Epidemiologia na świecie w zarysie.	27
1.2.2 Epidemiologia w Polsce.	32
1.2.3 Rejestry Nowotworów, rola i znaczenie.	34
1.2.4 Przegląd danych epidemiologicznych dotyczących nowotworów złośliwych piersi w ujęciu globalnym i w Polsce.	36
1.3 Nowotwory gruczołu piersiowego	43
1.3.1 Budowa anatomiczna piersi	43
1.3.2 Klasyfikacja nowotworów piersi.	45
1.3.3 Nowotwory łagodne piersi.	46
1.3.4 Rak piersi.	47
2. Cele pracy.....	55
2.1. Analiza archiwalnej dokumentacji medycznej pacjentów z lat 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 zachowanej w Zakładzie Patologii Nowotworów, WCO i ocena jej wartości w kontekście zebranych danych epidemiologicznych z uwzględnieniem najistotniejszych informacji (liczba zarejestrowanych przypadków, raporty patomorfologiczne dodatnie, struktura wieku i płci, umiejscowienia, najczęstsze nowotwory złośliwe).	55
2.2. Ocena zachowanych właściwości biologicznych i możliwości dalszego wykorzystania archiwalnego materiału tkankowego do badań dodatkowych na przykładzie wybranych przypadków raka piersi z lat 1954, 1964, 1971, 1984 i 1994. Materiał archiwalny Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.	56
3. Materiał	57
3.1 Archiwalna dokumentacja medyczna pacjentów w wersji papierowej z lat 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 ze zbiorów Zakładu Patologii Nowotworów, WCO	57
3.2 Archiwalny materiał tkankowy w postaci preparatów parafinowych, wybranych przypadków raka piersi z lat 1954, 1964, 1971, 1984, 1994 (archiwum Zakładu Patologii Nowotworów, WCO)	58
4. Metody	59
4.1 Analiza dokumentacji medycznej pacjentów na podstawie istotnych parametrów statystycznych (liczby bezwzględne, wskaźnik struktury, współczynnik surowy zachorowalności):.....	59

4.2 Ocena jakości archiwalnego materiału tkankowego na przykładzie wybranych przypadków nowotworów piersi z wykorzystaniem standardowych procedur histochemicznych, immunohistochemicznych i molekularnych.....	59
5. Wyniki	71
5.1 Analiza danych zawartych w archiwalnej dokumentacji medycznej ze zbiorów Zakładu Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii (lata 1954, 1964, 1974, 1984, 1994).....	71
5.2 Analiza jakości i użyteczności archiwalnego materiału tkankowego z lat 1954, 1964, 1971, 1984, 1994 zdeponowanego w Zakładzie Patologii Nowotworów, WCO.....	91
5.3 Dokumentacja fotograficzna wybranych przypadków raka piersi.	99
6. Dyskusja	115
7. Wnioski.....	135
7. 1 Analiza dokumentacji medycznej pacjentów z lat 1954, 1964, 1974, 1984 i 1994	135
7.2 Analiza archiwalnych próbek tkankowych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie wybranych przypadków raka piersi	136
8. Streszczenie	138
9. Summary	142
10. Piśmiennictwo i źródła internetowe.....	147
11. Spis rycin.....	158
12. Spis tabel	161
13. Załączniki.....	163

Wykaz skrótów

ACS	Amerykańskie Towarzystwo Onkologiczne (ang. <i>American Cancer Society</i>)
AJCC	Amerykański Komitet ds. Raka (ang. <i>American Joint Committee Cancer</i>)
BRAF	ludzki protoonkogen kodujący białko B-Raf (ang. <i>gen BRAF</i>)
BRCA	ludzki gen supresorowy (ang. <i>breast cancer</i>)
DCIS	rak przedinwazyjny przewodowy sutka (łac. <i>carcinoma ductale in situ</i>)
eKRN+	platforma informatyczna Krajowego Rejestru Nowotworów
EORTC	Europejska Organizacja na Rzecz Badań i Leczenia Raka (ang. <i>European Organisation of Research and Treatment of Cancer</i>)
ER	receptory estrogenowe (ang. <i>estrogen receptor</i>)
EURECCA	międzynarodowa platforma kliniczno-epidemiologiczna zajmująca się gromadzeniem i analizą danych dotyczących zagadnień leczenia onkologicznego (ang. <i>European Registration of Cancer Care</i>)
EUROCARE	projekty finansowane ze środków Komisji Europejskiej, analizujące obciążenie chorobami nowotworowymi oraz skuteczność ich zwalczania (ang. <i>European study on cancer patients survival and care</i>)
FISH	fluorescencyjna hybrydyzacja in situ (ang. <i>fluorescence in situ hybrydyzation</i>)
GLOBOCAN	publikacje IARC, prezentujące dane epidemiologiczne dotyczące nowotworów (ang. <i>Cancer Incidence and Mortality Worldwide</i>)
HE	barwienie metodą hematoksylina i eozyna
HER2	białko receptorowe (ang. <i>epidermal growth factor receptor</i>)
HSP	białka szoku termicznego (ang. <i>heat shock proteins</i>)
IARC	Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (ang. <i>International Agency for Research on Cancer</i>)
ICD	Międzynarodowa Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych (ang. <i>International Classification of Diseases and Health Related Problem</i>)
IHC	immunohistochemia (ang. <i>immunochemistry</i>)
Ki67	indeks komórkowej proliferacji (ang. <i>proliferative index Ki67</i>)
KRN	Krajowy Rejestr Nowotworów
LCIS	rak przedinwazyjny zrazikowy in situ (łac. <i>carcinoma lobulare in situ</i>)

NGS	sekwencjonowanie nowej generacji (ang. <i>next-generation sequencing</i>)
NCI	Narodowy Instytut Raka (ang. <i>National Cancer Institute</i>)
PD-1	receptor programowanej śmierci komórki (ang. <i>programmed death receptor –1</i>)
PgR	receptory progesteronowe (ang. <i>progesterone receptor</i>)
pTNM	klasyfikacja stopnia zaawansowania nowotworów (ang. <i>TNM classification Tumor-Nodus-Metastasis</i>).
SEER	Program Nadzoru Epidemiologii i Wyników Końcowych (ang. <i>Surveillance Epidemiology and End Results</i>)
SNP	analiza polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (ang. <i>single nucleotide polymorphism</i>)
SPIN	system rejestrowania i udostępniania materiału histopatologicznego między instytucjami medycznymi (ang. <i>Shared Pathology Informatics Network</i>)
UICC	Międzynarodowa Unia Walki z Rakiem (ang. <i>Union for International Cancer Control</i>)
VEGF	czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego(ang. <i>vascular endothelial growth factor</i>)
WCO	Wielkopolskie Centrum Onkologii
WHO	Międzynarodowa Organizacja Zdrowia (ang. <i>World Health Organization</i>)
WRN	Wielkopolski Rejestr Nowotworów

1. Wstęp

Zdrowie wg. definicji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) „*jest stanem pełnego, dobrego samopoczucia/dobrostanu fizycznego, psychicznego i społecznego, a jednostki lub grupy muszą mieć możliwość określania i realizowania swoich dążeń, zaspokajania potrzeb, a także zmiany środowiska bądź radzenia sobie z nim*” [1]. Zdrowie od zarania ludzkości było przedmiotem troski i zainteresowania człowieka. Już na przełomie V i VI w. Hipokrates (460 - 375 p.n.e) zwracał uwagę na wpływ czynników środowiska na zdrowie ludzi, a działania służące zachowaniu zdrowia znane były w starożytności. Wśród nich nakazy religijne i obyczajowe, budowa akweduktów i zapewnienie czystej wody w miastach czy organizowanie łaźni publicznych. W okresie średniowiecza, w czasach wielkich epidemii stosowano segregację i izolację chorych, organizowano przytułki i szpitale. Dzięki ogromnej pasji, wiedzy i doświadczeniu wielu wybitnych lekarzy, przyrodników, badaczy na przestrzeni setek, a nawet tysięcy lat wiemy coraz więcej o naszym zdrowiu. Uczymy się jak je zachować, jak zapobiegać chorobom i jak je skutecznie leczyć. Troska o zdrowie nie jest oczywiście sprawą tylko pojedynczego człowieka, dbałość o zdrowie publiczne jest zadaniem polityki zdrowotnej realizowanej poprzez działania promujące zdrowie tak ze strony ekonomii, przemysłu, rolnictwa, jak i edukacji czy polityki zatrudnienia, a skuteczność działań w tym zakresie postrzegana jest jako wyraz postępu cywilizacyjnego. Ogromnym wyzwaniem dla starzejących się społeczeństw Ameryki Północnej i Europy Zachodniej, a także coraz częściej w Europie Wschodniej i krajach rozwijających się stają się choroby nowotworowe, będące obok chorób układu sercowo-naczyniowego najczęstszą przyczyną zgonów. Do niedawna nowotwory uważane były za chorobę współczesną, będącą konsekwencją postępu cywilizacyjnego i uprzemysłowienia, jednym słowem skutkiem działalności człowieka. Jednak istnieje wiele dowodów świadczących o tym, że choroby nowotworowe towarzyszyły ludziom od tysięcy lat. Mimo wysiłków i podejmowanych działań prognozy nie są optymistyczne. W 2018 roku Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zarejestrowała blisko 18 mln zachorowań na nowotwory złośliwe i odpowiednio około 9 mln zgonów z tego powodu [2]. Zgodnie z przewidywaniami Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) liczba zachorowań może wzrosnąć w 2035 roku do 24 mln, a zgonów do 12 mln [3]. W Polsce w 2018 roku odnotowano niemal 170 000 zachorowań i 100 000 zgonów w wyniku choroby nowotworowej [4]. Wśród najczęściej rejestrowanych przypadków wymienia

się nowotwory złośliwe piersi, płuca, jelita grubego i okrężnicy oraz prostaty, stanowiące niemal 60% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe [5]. Obok oczywistej roli chirurgii i dynamicznie rozwijających się badań z zakresu ekspresji genów, ważną rolę w złożonym procesie zapobiegania i leczenia chorób nowotworowych odgrywa epidemiologia i działalność rejestrów nowotworów. Pozyskiwanie i gromadzenie kompletnych danych dla ściśle określonych populacji o zagrożeniu chorobami nowotworowymi pozwala na wyodrębnienie typów nowotworów czy grupy objętej badaniem populacyjnym, umożliwia także śledzenie zmian w narażeniu na czynniki ryzyka, monitorowanie badań i ocenę skuteczności postępowań medycznych. Na podstawie zgromadzonych danych, w kolejnym etapie można wdrożyć planowanie strategii terapeutycznych, przyszłych kosztów społecznych czy dystrybucji środków na ochronę zdrowia [6]. W tym kontekście niezwykle ważne stają się badania retrospektywne dające możliwość analizy danych historycznych będących cennym uzupełnieniem wiedzy na temat samych nowotworów, zmieniających się kryteriów diagnostycznych jak i zebranych danych epidemiologicznych. Zakład Patologii Nowotworów działa w strukturach Wielkopolskiego Centrum Onkologii od 1953 r. W ciągu niemal siedemdziesięciu lat swego istnienia zgromadził obszerne archiwum materiału tkankowego i cytologicznego utrwalonego w formalinie i zamkniętego w blokach parafinowych oraz bogaty zbiór dokumentacji medycznej pacjentów. Szczegółowa analiza zasobów archiwalnych Zakładu z lat 1954, 1964, 1974 (1971), 1984, 1994 zarówno pod kątem wartości epidemiologicznej (liczba przypadków ogółem, algorytmy najczęściej występujących nowotworów z uwzględnieniem płci pacjentów), jak i oceny jakości materiału tkankowego oraz możliwości dalszego wykorzystania do szczegółowych badań w świetle współczesnych standardów diagnostycznych, stała się tematem niniejszej rozprawy. Ze względu na znaczący udział kobiet wśród pacjentów i wysoki odsetek nowotworów złośliwych piersi problem tychże nowotworów stał się tematem przewodnim i przedmiotem pogłębionych analiz. Cytując za rzymskim historykiem Tytusem Liwiuszem (59 p. n. e - 17 n. e) „*dogłębne studiowanie spraw przeszłych zwiększa zdolność przewidywania spraw współczesnych*” [7].

1.1 Nowotwory na świecie - rys historyczny

1.1.1 Osiągnięcia medycyny na świecie, od antyku po czasy współczesne na przykładzie nowotworów piersi

Historia wielu doniosłych odkryć związanych z kształtowaniem się wiedzy o nowotworach, a w szczególności o nowotworach złośliwych piersi liczy sobie blisko 4 tysiące lat, nie sposób pominąć tutaj ogromnego wkładu medycyny Starożytnego Wschodu. Wzmianki na temat chorób nowotworowych pojawiają się już w najstarszych zabytkach piśmiennictwa sumeryjskiego, w sanskryckim eposie „Ramajana” z II w. p.n.e czy w kodeksie Hammurabiego (950 r. p.n.e), w którym to podnosi się również kwestie pierwszych regulacji prawnych dotyczących praktyki lekarskiej [8]. W papirusach odnalezionych przez Edwina Smitha i Georga Ebersa w 1862 r. w Tebach, datowanych na 1500 r. przed Chrystusem, odnaleziono zapisy świadczące o tym, że nowotwory piersi znano już 3000 lat p.n.e [8]. Herodot (484-425 p.n.e), grecki historyk, opisał przypadek leczenia guza piersi u Atossy, córki Króla Cyrusa operowanej przez perskiego lekarza Democedesa [8]. Także historia terminu „rak” sięga czasów antycznych. Autorstwo przypisuje się greckiemu lekarzowi Hipokratesowi z Kos, prekursorowi nowożytnej medycyny, który pisał: *„rak pojawia się w każdej części ciała, szczególnie często w piersiach kobiet i przytwierdza się tak uporczywie do ciała jak krab”* [9]. Obraz ten przywołał skojarzenia ze spotykanym w basenie Morza Śródziemnego krabem z rodziny Cancridae. Wizerunek tego kraba jeszcze w XVI w. był symbolem ówczesnej onkologii [9]. Aulus Cornelius Celsus (26 p.n.e - 50 n.e), rzymski uczony, autor jednego z najstarszych dokumentów medycznych „De medicina”, rekomendował operację guza rozpoznanego we wczesnej fazie oraz pozostawienie mięśnia piersiowego, opisał szczegółowo kliniczne etapy raka piersi i jego historię [8]. Na uwagę zasługują także dokonania wybitnego rzymskiego lekarza i anatoma ze szkoły aleksandryjskiej, Claudiusa Galena (129 - 203), który zalecał amputację chorej piersi, gdy możliwe jest całkowite usunięcie guza. Uczony uważał też, że nie należy tamować odpływu krwi co zapobiegnie ryzyku wznowy i rozsiewowi choroby. Zaobserwował również częstsze pojawianie się nowotworów piersi u kobiet w wieku postmenopauzalnym. Średniowiecze przynosi regres w rozwoju wiedzy medycznej, głównie za sprawą doktryny

Kościoła. Leczenie chirurgiczne uznano za barbarzyńskie praktyki, a leczeniem zajęli się cyrulicy, balwierze i łaźiebnicy [8, 10].

Z nadejściem XVI wieku, kiedy to „doświadczenie i rozum” zaczyna wygrywać z dogmatami, rodzą się nowe poglądy i nowe spojrzenie na naukę. Powraca się do wiedzy i doświadczeń antyku. Andreas van Vesale (1514 - 1564), flamandzki uczoney, twórca nowożytnej anatomii, autor dzieła „De humani corporis fabrica” zastosował autopsję jako metodę badawczą (dotąd sekcję przeprowadzano jedynie na zwierzętach) [10]. Wybitnym twórcą współczesnej chirurgii był także francuski lekarz wojskowy, Ambroise Paré (1510 - 1590), zalecał usuwanie nawet małych guzków piersi, a zaawansowane zmiany leczył zachowawczo [8, 10]. Henri Francois le Dran (1685 - 1770), wybitny francuski chirurg opowiadał się za wczesnym wycięciem guza, zanim dojdzie do przerzutów drogą naczyń limfatycznych. Uważał, że powiększone węzły chłonne są niepokojącym czynnikiem prognostycznym świadczącym o rozprzestrzenianiu się nowotworu [8, 10].

Wiek XVI i XVII to także czas postępu technicznego. Wynalezienie mikroskopu optycznego i możliwość obserwacji małych obiektów niewidocznych dotąd gołym okiem stała się krokiem milowym w rozwoju nowych dziedzin anatomii i nauk przyrodniczych. Nowe możliwości przyczyniły się tym samym do lepszego zrozumienia istoty wielu chorób, również nowotworowych. Około 1590 r. Galileo Galilei (1564 - 1642), włoski uczoney zbudował prototyp mikroskopu, dzięki czemu możliwa stała się obserwacja obiektów pod dziesięciokrotnym powiększeniem [10]. Przełomu dokonał Antonie Leeuwenhoek (1632 - 1703), holenderski przyrodnik, udoskonalał i rozpowszechniając użycie mikroskopów [11]. W tym samym czasie angielski biolog i fizyk Robert Hook (1635 - 1703), zastosował w mikroskopie system soczewek dzięki czemu można było ogniskować wiązkę światła i uzyskać lepszą jakość obrazu [11].

W Padwie, Giovanni Battista Morgagni (1682 - 1771), uważany za jednego z twórców anatomii patologicznej, wykorzystał obraz mikroskopowy w powiązaniu z danymi klinicznymi do interpretacji procesu chorobowego. Wykonał niezliczoną liczbę badań autopsyjnych i drobiazgowych opisów badanych narządów [8, 10]. Za współtwórcę anatomii patologicznej uważany jest także Xavier Bichat (1771 - 1802), chirurg, anatom i fizjolog. Na podstawie swoich licznych doświadczeń z preparowaniem fragmentów ludzkiego ciała, ustalił, że tkanka jest podstawową jednostką budującą organizm ludzki. Dokonał też podziału anatomii patologicznej

na ogólną i szczegółową odnoszącą się do zmian chorobowych w obrębie danego narządu [8, 10]. Wielkim znawcą badań autopsyjnych był także wiedeński lekarz Carl Rokitansky (1804 - 1878), wykonał blisko 30 000 autopsji, był autorem niezwykle dokładnych opisów makroskopowych badanych narządów [8, 10]. Za sprawą coraz doskonalszego mikroskopu zaczęły powstawać nowe dziedziny anatomii jak cytologia, histologia i embriologia. W latach 1838 - 39 botanik Matthias Jacob Schleiden (1804 - 1881) i zoolog Theodor Schwann (1810 - 1882) formułują teorię komórkową, mówiącą, że komórka jest podstawową jednostką strukturalną i funkcjonalną każdego żywego organizmu [12]. W 1855 r. Rudolf Virchow (1821 - 1902), niemiecki antropolog i wybitny patolog, twórca współczesnej patologii uzupełnił teorię o stwierdzenie, że nowe komórki powstają z już istniejących „*omnis cellula e cellula eiusdem generis*” [8,12]. Ponad sto lat później, w 1962 r. Andre Michel Lwoff (1902 - 1994), francuski mikrobiolog opisał podstawowe cechy każdej komórki: stałość składu chemicznego i budowy, stałość funkcji życiowych oraz stałość zapisu i formy przekazywania informacji genetycznej [13].

Wraz z rozwojem medycyny wzrastało zainteresowanie nowymi technikami badawczymi, powstały nowe narzędzia i nowoczesna aparatura. W 1843 r. Andreas Oschatz skonstruował pierwszy mikrotom, służący do cięcia materiału tkankowego na bardzo cienkie skrawki do obserwacji mikroskopowej, kilkanaście lat później, wielokrotnie modyfikowane i udoskonalone urządzenie trafia do powszechnego użycia [12, 13]. Aby materiał tkankowy można było skroić, należało zaimpregnować odpowiednim medium, początkowo stosowano żelatynę, w 1869 r. niemiecki patolog, Edwin Klebs (1834 - 1913) zastosował do utwardzania tkanek parafinę, używaną w tym celu do dziś. Nie utrwalano wówczas materiału tkankowego, obserwację prowadzono przyżyciowo. Dopiero w 1885 r. Ferdinand Blum (1865 - 1959), niemiecki lekarz i biolog użył do utrwalania tkanek formalinę [12]. Równoległe z doskonaleniem technik badawczych zaczęto stosować metody barwienia materiału przeznaczonego do oceny mikroskopowej w celu wyróżnienia poszczególnych struktur komórkowych (barwienie HE wg. Harrisa wprowadzono do użycia w 1900 r.) [14, 15]. W późniejszym czasie rozwinięto także techniki odpowiedniego barwienia białek, lipidów, wielocukrów, itd., choć nie znano teorii barwienia i opierano się jedynie na empirii. Niemiecki uczoney Joseph von Gerlach (1820 - 1896), dzięki swoim pracom nad tkanką nerwową docenił rolę barwników w histologii i zachęcał do ich stosowania wielu innych badaczy [15]. Korzystano z barwników naturalnych takich jak eozyna, hematoksylina, safranina, fuksyna, impregnowano tkanki solami srebra. Niewątpliwie wpływ na

zainteresowanie histologią wywarły badania hiszpańskiego patologa, pioniera badań nad anatomią układu nerwowego, Santiago Ramona y Cajala (1852 - 1934). Stworzył całą serię niezwykle dokładnych rysunków komórek nerwowych i innych związanych z nimi struktur [14].

W 1865 r. dwaj niemieccy uczeni, chirurg Karl Thiersch (1822 - 1895) i patolog Heinrich Wilhelm von Waldeyer-Hartz (1836 - 1921), opracowali teorię raka jako złośliwej choroby nowotworowej wywodzącej się z tkanki nabłonkowej, ustalono, że rak składa się z komponenty nabłonkowej (złośliwej) i niezłośliwego podścieliska [8, 16]. Twierdzenie to pozostawało w sprzeczności z poglądem prezentowanym przez Rudolfa Virchowa, niekwestionowanego dotychczas autorytetu w dziedzinie patologii, który uważał, że rak jest konsekwencją rozrostu tkanek zarodkowych [16]. Z kolei prace nad anaplazją komórek nowotworowych dwóch niemieckich badaczy, patologa Dawida Paula von Hansemanna (1858 - 1920) i biologa Theodora Boveri (1862 - 1915) przyczyniły się do sformułowania hipotezy o rozwoju nowotworów, stwierdzono, że zmiany w zestawie chromosomów (aneuploidia) są warunkiem niezbędnym przejścia od normalnego wzrostu do złośliwej proliferacji [16].

Gwałtowny rozwój nauk medycznych sprzyjał powstawaniu prasy i towarzystw medycznych. Pomysłodawcą jednego z ważniejszych czasopism medycznych był Rudolf Virchow, w 1847 r. założył *Archive fur Pathologische Anatomie und Physiologie Und fur Klinische Medizin* (obecnie *Virchows Archives*), czasopismo wydawane przez *European Society of Pathology*. W 1893 r. powstaje czasopismo medyczne *Journal of Pathology and Bacteriology* (od 1969 r. *Journal of Pathology*) będące oficjalnym pismem w 1906 r. towarzystwa naukowego, *Pathological Society of Great Britain and Ireland*. W 1897 r. powołano do życia najstarsze stowarzyszenie patologów w Niemczech [12].

Wiek XIX przyniósł także wiele przełomowych odkryć w dziedzinie chirurgii, w roku 1846 po raz pierwszy zastosowano anestezję eterową do znieczulenia ogólnego, co umożliwiło przeprowadzenie wielu pionierskich operacji, a dzięki wprowadzeniu w 1867 r. przez Józefa Listera (1827 - 1912) zasad antyseptyki (kwas karbolowy do dezynfekcji ran i sterylizacji narzędzi chirurgicznych) poprawiły się wyraźnie statystyki powikłań i zgonów okołoperacyjnych [12, 16]. Pomimo niezadawalających wyników leczenia chirurgicznego raka piersi wielu chirurgów rekomendowało szerokie wycięcie guza i węzłów chłonnych wraz z powięzią mięśnia piersiowego [17, 18]. Wśród nich amerykański profesor chirurgii Joseph Pancoast (1805 - 1882) i słynny, wiedeński chirurg Teodor Billroth (1824 - 1887) oraz William

Stewart Halsted (1852 - 1922), wybitny amerykański chirurg, przyczyn złych wyników leczenia nowotworów piersi upatrywał w niedoszczętnie usuniętym guzie. W 1882 r. wykonał totalną mastektomię z węzłami chłonnymi i mięśniami piersiowymi w jednym bloku, uważał bowiem, że nowotwór rozprzestrzenia się odśrodkowo, od guza w kierunku otaczających go struktur, a rozdzielając tkanki podczas operacji można pominąć nacieczony fragment i doprowadzić do wznowy nowotworu [17, 18]. Radykalna mastektomia znalazła uznanie, wykonywało ją wielu chirurgów, ratowała życie wielu pacjentek, ale także w znacznym stopniu je okaleczała. W kolejnych latach dokonano pewnych modyfikacji tej operacji w celu zapewnienia pacjentkom jak najlepszej jakości życia przy jednoczesnej doszczętności zabiegu. W 1932 r. D. H. Patey (1889 - 1977) zaproponował usunięcie mięśnia piersiowego mniejszego i układu chłonnego z szerokim wycięciem skóry [18]. Z czasem zaczęto rezygnować z radykalnej mastektomii na rzecz zmodyfikowanych operacji oszczędzających uzupełnionych radioterapią. Propagatorem leczenia oszczędzającego pierś u kobiet chorych na raka był włoski lekarz, onkolog Umberto Veronesi (1925 - 2016). Zabieg polegał na usunięciu fragmentu piersi wraz z zawartością dołu pachowego u pacjentek we wczesnym stadium zaawansowania choroby oraz na zastosowaniu napromieniania uzupełniającego [10]. W 1974 r. wprowadzono także metody rekonstrukcyjne piersi z użyciem implantów i tkanek własnych, jednak dopiero trzy dekady później ten typ operacji zyskał powszechne zainteresowanie [10].

Równolegle z doskonaleniem się technik operacyjnych prowadzono prace nad możliwością leczenia uzupełniającego. Już w 1896 r. George T. Beatson (1848 - 1933) brytyjski chirurg, rozwinął nową metodę leczenia raka piersi stosując obustronne usunięcie jajników. Jako pierwszy opisał remisję raka piersi z przerzutami po obustronnym usunięciu jajników [17].

Wiek XIX to także czas wielkich odkryć w dziedzinie fizyki i chemii, wywarły one ogromny wpływ na wiele obszarów współczesnej medycyny. Niespełna rok po odkryciu promieni rentgenowskich w 1895 r. przez Wilhelma C. Roentgena (1845 - 1923), niemiecki fizyk, Emile Grubbe (1875 - 1960) zastosował promieniowanie rentgenowskie w leczeniu zaawansowanego raka piersi [8]. W kolejnych latach metoda ta znajdowała coraz większe uznanie, szczególnie w leczeniu wznów lokalnych i jako leczenie uzupełniające. Po raz pierwszy pojawiła się alternatywa w leczeniu raka piersi [19].

Ogromny wkład w leczenie nowotworów miała również nasza rodaczka, Maria Skłodowska-Curie (1867 - 1934), z jej inicjatywy podjęto pierwsze próby leczenia nowotworów za pomocą izotopów promieniotwórczych. W 1922 r. brytyjski chirurg, Geoffrey Keynes (1887 - 1982), zastosował igły radowe w miejscowym leczeniu raka piersi, a następnie w połączeniu z leczeniem chirurgicznym, dwie dekady później, w Edynburgu McWriter (1904 - 1994), wykorzystał radioterapię jako leczenie uzupełniające po amputacji piersi, uzyskując porównywalne wyniki do radykalnej amputacji sposobem Halsteda [12].

W 1953 r. dwaj biochemicy, Francis H. Crick (1916 - 2004) wraz z Jamesem D. Watsonem (ur. 1928 r.), odkryli uporządkowaną strukturę molekularną DNA, nośnika informacji genetycznej i opisali zjawisko przepływu informacji determinującej białka [20]. Odkrycie to utorowało drogę do rozwoju wielu dziedzin medycyny, takim jak genetyka i biologia molekularna.

Począwszy od lat 40. XX w. rozwija się także nowoczesna mikroskopia, dzięki czemu medycyna zyskuje potężny oręż w walce z nowotworami. Obok mikroskopów świetlnych do badań zastosowano mikroskopy elektronowe o wielokrotnie wyższym powiększeniu, powstały nowe mikroskopy kontrastowo-fazowe (umożliwiające obserwację przyżyciową nieutralizowanych obiektów), a także mikroskopy fluorescencyjne i transmisyjne (dzięki jego zastosowaniu można uzyskać powiększenie do 1 000 000 x), a w skaningowym mikroskopie tunelowym, bardzo wysoka rozdzielczość pozwala na obserwację atomów [13].

W latach 60. XX w. podejmowano są także pierwsze próby leczenia nowotworów chemioterapeutykami. Zainicjował je w początkach XX w. niemiecki badacz Paul Ehrlich (1854 - 1915), w 1909 r. użył z powodzeniem arsphenaminy w leczeniu kiły. Sukces ten zainspirował wielu naukowców do badań nad chemioterapią adiuwantową w leczeniu nowotworów [16]. Badania kliniczne nad zastosowaniem chemioterapeutyków prowadził Bernard Fisher (1918 - 2019), profesor Uniwersytetu w Pittsburghu, USA, dowiódł, że wczesne postacie raka piersi można skutecznie leczyć stosując zabiegi oszczędzające, uzupełniając je radioterapią i chemioterapią [10]. W 1994 r. amerykański chirurg, onkolog Armando E. Giuliano zrewolucjonizował leczenie raka piersi, stosując metodę identyfikacji węzła wartowniczego, co istotnie ułatwiło ocenę stopnia zaawansowania raka, a dzięki połączeniu metody barwnikowej

z izotopową zminimalizowano ryzyko wyników fałszywie negatywnych do 0 - 3% [10]. Umożliwiło to skuteczniejsze leczenie przy minimalnych skutkach ubocznych leczenia chirurgicznego [10].

Rozwój immunohistochemii, genetyki i biologii molekularnej, koncentrujących się na zmianach genetycznych wzbogacają wiedzę o nowotworach na poziomie molekularnym. Wieloletnie badania amerykańskich badaczy, biologów, Douglasa Hanahana (ur. 1951 r.) i Roberta Weinberga (ur. 1942 r.), zaowocowały w 2000 r. określeniem cech wspólnych dla większości nowotworów. W latach 1990 - 2003 miało miejsce inne, przełomowe przedsięwzięcie naukowe, projekt poznania ludzkiego genomu, Human Genome Project. Międzynarodowy zespół naukowców pod kierunkiem prof. Mik'a Strattona, Dyrektora Instytutu Sangera w Wielkiej Brytanii, zsekwencjonował i zmapował ludzki genom. Opisano trzy miliardy par zasad [20]. Poznanie subtelnych różnic pomiędzy komórkami prawidłowymi i nowotworowymi dostarczyło wiedzy niezbędnej do tworzenia specyficznych, efektywniejszych i bezpieczniejszych leków przeciwnowotworowych. Rzec można, że dzięki tym osiągnięciom droga do medycyny spersonalizowanej została otwarta. W 2018 r. prof. James P. Allison, immunolog z M. D. Anderson Cancer Center i Tasuku Honjo z Uniwersytetu w Kioto, zostali uhonorowani Nagrodą Nobla w dziedzinie medycyny za wkład w rozwój immunoterapii nowotworów. Badania dotyczyły min. receptorów CTLA-4 znajdujących się na powierzchni limfocytów T, stymulujących układ odpornościowy pacjenta i wpływających na aktywność układu immunologicznego [21].

Mimo ogromnego postępu w zakresie wiedzy o nowotworach i rozwoju nowoczesnych rozwiązań technologicznych rozpoznanie patomorfologiczne nadal pozostaje „złotym standardem”, uzupełnione o badania z zakresu immunohistochemii, genetyki i biologii molekularnej, procedur niezwykle pomocnych w określeniu czynników prognostycznych i predykcyjnych, jest podstawą optymalnych decyzji terapeutycznych.

1.1.2 Rozwój anatomopatologii na ziemiach polskich

Pierwsze wzmianki na temat nowotworów w Polsce pojawiły się w 1584 r., Piotr Skarga (1536 - 1612), polski teolog, rektor Kolegium Jezuitów w Wilnie powołał do życia Bractwo

Miłosierdzia Bogurodzicy, które sprawowało opiekę nad chorymi na raka i wspierało ich materialnie. W 1591 r. z inicjatywy Piotra Skargi powstał w Warszawie przy ulicy Mostowej, pierwszy w Europie i na świecie szpital dla chorych na nowotwory, opiekowali się nimi członkowie Bractwa Św. Łazarza [13]. W 1612 r. w Gdańsku powstała Szkoła Medyczna (Collegium Medicum) będąca pierwszą Izbą Lekarską w Polsce. Celem powołanej instytucji było reprezentowanie interesów lekarzy, rozstrzyganie kwestii prawnych, kontrola leków i kształcenie medyków [22]. To w tej placówce wykonano w 1613 r. pierwszą w tej części Europy publiczną sekcję zwłok. Wiek XVII i XVIII, gdy Polska utraciła autonomię, rozwój nauk medycznych podupadł, jednak mimo trudności i niechęci zaborców udział polskich badaczy w rozwoju wielu dziedzin medycyny był znaczący. Uczonym polskiego pochodzenia, działającym w Berlinie był Robert Remak (1815 - 1850), embriolog, histolog, neurolog i fizjolog, współautor twierdzenia, że komórki powstają przez podział już istniejących. Jako pierwszy wykazał w rozwoju embrionalnym trzy listki zarodkowe, nie cztery jak postulowali inni uczeni. Z kolei Julian Steinhaus (1865 - 1922), polski lekarz i przyrodnik, mieszkający w Belgii, wiele uwagi poświęcał nowotworom, a w szczególności zmianom obserwowanym w jądrach i cytoplazmie podczas podziałów mitotycznych komórek raka. Wydana w 1918 r. książka „Nowotwory złośliwe. Ich morfologia i biologia ze stanowiska patologii doświadczalnej i anatomii patologicznej” stała się syntezą pasji badawczej autora i cennym źródłem informacji o stanie wiedzy o nowotworach w początkach XX wieku. Autor zauważa: *„komórki rakowe mają wzmożone odżywianie i zwiększone mnożenie”* [23]. W innym miejscu swojej pracy stwierdza że *„cechę rozrostu komórek nowotworowych stanowi ich wyodrębnienie się od tkanek i narządów normalnych”* lub *„każdym rokiem śmiertelność wskutek nowotworów złośliwych się zwiększała regularnie i progresywnie”*. Uważał też, że śmiertelność zwiększa się dzięki *„udoskonalonej diagnostyce”*, a *„guzy złośliwe są przede wszystkim chorobą wieku podeszłego, który coraz więcej osób obecnie osiąga”* [23].

W 1851 r. utworzono w Krakowie Katedrę Anatomii Patologicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego, gdzie wykonywano sekcje dla celów klinicznych i dydaktycznych dla studentów Wydziału Lekarskiego. Najstarsze protokoły autopsyjne pochodzą z 1823 r. [13, 24]. Z krakowskim środowiskiem naukowym związany był prof. Alfred Biesiadecki (1839 - 1889), wybitny chirurg, patomorfolog i organizator zdrowia publicznego. Do światowej medycyny wszedł jako pionier histopatologii skóry, jego praca „Anatomija patologiczna

gruczołów skórnych”, przez wiele lat była podstawą nauczania tego przedmiotu [13, 24]. Jednym z najznakomitszych patomorfologów polskich był także prof. Tadeusz Browicz (1847 - 1928), lekarz anatom i patolog, odkrywca komórek gwiaździstych układu siateczkowo-śródbłonkowego w naczyniach wątroby. Utrzymywał, że przyczyn wszelkich schorzeń nowotworowych należy szukać na poziomie komórkowym, w zaburzeniach procesów podziału i namnażania się komórek [13, 24]. W Krakowie działał również Jan Antoni Mikulicz-Radecki (1855 - 1905), polski chirurg, ceniony wykładowca, profesor Uniwersytetów w Krakowie, Królewcu i Wrocławiu. W 1897 r. zorganizował we Wrocławiu jeden z najnowocześniejszych aseptycznych bloków operacyjnych w Europie. Pionierem badań mechanizmów i klasyfikacji chorób nowotworowych był prof. Stanisław Witalis Ciechanowski (1869 - 1945), także związany z krakowską szkołą anatomopatologiczną, autor pierwszych badań statystycznych nad genezą, rozwojem i występowaniem raka. Wykonał blisko 80 000 autopsji. Na podstawie swoich obserwacji zaproponował oryginalną klasyfikację nowotworów, za kryterium przyjmując liczbę listków zarodkowych. Zwrócił uwagę na zaburzenia hormonalne jako możliwą przyczynę powstawania raka. Prowadził doświadczenia laboratoryjne ze smołą pogazową i węglowodorami pierścieniowymi jako czynnikami mogącymi promować rozwój pewnych nowotworów [13, 24].

Dzięki zaangażowaniu polskich uczonych i lekarzy w 1817 r. utworzono Akademię Lekarską jako jeden z wydziałów Królewskiego Uniwersytetu Warszawskiego, pomimo niewystarczających funduszy, braku tradycji naukowych, niedoboru kadr, zdołała wywrzeć ogromny wpływ na rozwój wiedzy medycznej w Polsce [25]. W okresie międzywojennym, w 1917 r. powstaje polska placówka naukowa i dydaktyczna, Uniwersytet Warszawski z Wydziałem Lekarskim i Oddziałem Farmaceutycznym. Zaledwie dwa lata później, w styczniu 1919 r. rozpoczął działalność Zakład Anatomii Patologicznej jako samodzielna katedra uniwersytecka [25]. Wybitną postacią związaną z ośrodkiem warszawskim od początków jego istnienia był niewątpliwie prof. Włodzimierz Brodowski (1823 - 1903), anatomopatolog, uczeń i przyjaciel Rudolfa Virchova, w sposób nowatorski wykładał anatomię patologiczną z histopatologią i technikami sekcijnymi. W 1888 r. wydał pierwszy tom „Anatomii patologicznej”. Również prof. Józef Hornowski (1874 - 1923), warszawski anatomopatolog, pracował nad genezą i rozwojem nowotworów [25]. W cyklu prac wydanych w latach 1920 - 1924 przedstawił cenioną na świecie klasyfikację embriogenetyczną nowotworów. Znany

był także z prac z zakresu patomorfologii gruczołów dokrewnych i technik sekcyjnych. Uczniem i następcą Józefa Hornowskiego był prof. Ludwik Antoni Paszkiewicz (1878 - 1967), wybitny anatomopatolog i prosektor, twórca warszawskiej szkoły patomorfologicznej, jako jeden z nielicznych zajmował się problematyką nowotworów wieku dziecięcego. Opracował podręcznik „Anatomia patologiczna ogólna i szczegółowa”, monumentalne dzieło łączące doświadczenia z zakresu interny i patomorfologii [25].

W Wielkopolsce początki działalności naukowej i jej wpływu na rozwój nauk medycznych sięgają XVI w. i są związane z Akademią Lubrańskiego (1519 - 1780). Była ona drugą jednostką akademicką w randze uniwersytetu po uczeni krakowskiej [26]. W XVIII w. względy polityczne uniemożliwiły dalszy rozwój nauki na poziomie uniwersyteckim, mimo aktywnie działającego Poznańskiego Towarzystwa Przyjaciół Nauk (1870 r.) [27]. Dopiero w 1919 r. otwarto Uniwersytet Poznański zwany Wszechnicą Piastowską. Rok później rozpoczął działalność Wydział Lekarski, a w ramach jego działalności w latach 20. i 30. XX w. leczono chorych na nowotwory [28]. Pierwsze napromieniania przeprowadzono w Klinice Radiologii pod kierunkiem prof. Karola Mayera (1882 - 1946), radiologa klinicznego, twórcy i założyciela pierwszej w Polsce Katedry Radiologii (1921 r.). Wraz z chirurgiem, prof. Antonim Juraszem (1882 - 1961) zorganizował oddział radowy [28]. Czas wojny i okupacji przyniósł ogromne straty materialne i intelektualne. Dla środowiska medycznego ogromną szansą na kontynuowanie działalności było utworzenie w Warszawie, w warunkach konspiracyjnych Tajnego Uniwersytetu Ziemi Zachodnich. Powojenna odbudowa Uniwersytetu Poznańskiego ze względu na ogromne zniszczenia i brak wykwalifikowanego personelu medycznego była niezwykle trudna [29]. W 1950 r. z istniejącego na Uniwersytecie Poznańskim Wydziału Lekarskiego, Studium Stomatologicznego oraz Wydziału Farmaceutycznego utworzono Akademię Medyczną. Od 2007 r. uczelnia funkcjonuje jako Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego. Wśród wielu wybitnych postaci związanych z poznańskim ośrodkiem medycznym, szczególnie w dziedzinie patomorfologii był niewątpliwie prof. Ludwik Skubiszewski (1886-1957), prof. Janusz Groniowski (1907-1989) pionier mikroskopii elektronowej w Polsce. Warto pamiętać także o czynnych zawodowo prof. Wiesławie Salwie-Żurawskiej i prof. Janie Bręborowiczu. Nie sposób wymienić wszystkich znamienitych postaci środowiska akademickiego w tak krótkiej prezentacji. Jest to temat do odrębnego opracowania. Uniwersytet jest obecnie organem założycielskim dla pięciu szpitali klinicznych realizujących działalność leczniczą i dydaktyczną

[28, 29].

W myśl ustaleń Rządowego Programu Walki z Rakiem, w 1953 r. utworzono w Poznaniu Wojewódzki Ośrodek Onkologiczny [28]. Organizację placówki powierzono nestorowi chirurgii onkologicznej w Poznaniu, prof. Czesławowi Wojnerowiczowi (1921 - 2010), późniejszemu ordynatorowi Oddziału Chirurgicznego. Pierwszym dyrektorem szpitala został dr n.med. Stefan Skowroński (1915 - 1993), pełniący równocześnie obowiązki ordynatora Oddziału Ginekologicznego. Ordynatorem Oddziału Ogólnego została dr n. med. Irena Skowrońska, kierownikiem działu Patologii doc. Lucjan Przybora (1921 - 1991), a kierownikiem Ambulatorium - dr n. med. Janina Gumowska-Przybora [28]. W początkowym okresie istnienia ośrodek dysponował zaledwie 30 łózkami szpitalnymi, w kolejnych latach przekształcił się w nowoczesną placówkę z trzykrotnie większą liczbą miejsc i gabinetem do radioterapii. Równocześnie z działalnością leczniczą realizowano także działalność dydaktyczną. Organizowano szkolenia dla personelu lekarskiego i technicznego a także rozwijano oświatę zdrowotną w regionie. Dzięki zaangażowaniu dr Janiny Gumowskiej-Przybory rozwijało się prężnie lecnictwo otwarte. Powstały trzy Miejskie Poradnie Onkologiczne przy ul. Chudoby, przy ul. Kórnickiej i przy ul. Słowackiego [28]. Już wówczas Wojewódzki Szpital Onkologiczny dysponował „łózkami onkologicznymi” dla pacjentów paliatywnych w szpitalach powiatowych, w Opalenicy, Pniewach i Śmiglu. Specjalistyczną opiekę nad chorymi sprawowali lekarze z poznańskiego ośrodka. W 1958 r. w Wojewódzkim Szpitalu Onkologicznym przystąpiono do rozbudowy działu Radioterapii, a także wzbogacono o cztery aparaty rentgenowskie do terapii głębokich i aparat do terapii powierzchniowej. Wybudowano także jeden z najnowocześniejszych na ówczesne czasy bloków operacyjnych z klimatyzacją, z dwiema salami zabiegowymi, pomieszczeniem przeznaczonym do sterylizacji i pokojem dla personelu [28]. Ważnym aspektem działalności leczniczej szpitala była współpraca interdyscyplinarna, oparta na i doświadczeniu chirurgów, radioterapeutów, fizyków, patomorfologów. Rozpoczęto współpracę z Akademią Medyczną w zakresie działalności naukowej i kształcenia studentów medycyny i pielęgniarstwa. Prowadzono także zajęcia dla słuchaczy pomaturalnych szkół medycznych wielu specjalności. W 1975 r. szpital zmienia nazwę na Specjalistyczny Onkologiczny Zespół Opieki Zdrowotnej, a od 1990 r. działa jako Wielkopolskie Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie. Wraz z nowym podziałem administracyjnym placówka obejmuje opieką pacjentów z województw: poznańskiego, kaliskiego, konińskiego, koszalińskiego, leszczyńskiego i pilskiego, a także część

województwa bydgoskiego, gorzowskiego i zielonogórskiego. W ciągu pierwszych 25 lat działalności szpitala leczono 53 tysiące chorych i wykonano 26 tysięcy zabiegów operacyjnych. W 1978 r. z inicjatywy środowiska lekarskiego i władz Poznania powołano Społeczny Komitet do Walki z Rakiem, pierwszy tego typu w Polsce. Celem komitetu było pozyskanie funduszy na działalność oświatową i rozbudowę szpitala. W 1988 r. zakończono kolejny etap modernizacji placówki, pozwoliło to na zwiększenie liczby łóżek do 250, powstały pracownie mikrobiologii i cytostatyków oraz Oddział Chemioterapii i Oddział Anestezjologii i Intensywnej Opieki Medycznej. W latach 90. rozwija się współpraca międzynarodowa, zdobyta wiedza w zagranicznych ośrodkach zaowocowała cenną wymianą doświadczeń i przyspieszeniem zmian w kierunku poprawy poziomu świadczeń medycznych w kraju. W 2002 r. szpital objęto siecią informatyczną. Do ambitnych planów w najbliższej przyszłości należy budowa Ośrodka Radioterapii Protonowej przy współudziale Uniwersytetu Medycznego, Uniwersytetu Adama Mickiewicza i Politechniki Poznańskiej. W Centrum mieszczą się redakcje dwóch czasopism naukowych: Współczesnej Onkologii i Reports of Practical Oncology and Radiotherapy [28]. Wielokrotnie rozbudowywane i modernizowane należy obecnie do największych ośrodków onkologicznych w Polsce.

Zakład Patologii Nowotworów rozpoczął działalność w 1953 r. jako jeden z trzech działów Wojewódzkiego Ośrodka Onkologicznego. Organizatorem pracowni był doc. Lucjan Przybora, ceniony patomorfolog kliniczny, uważany za pioniera onkologicznej histopatologii klinicznej i cytologii ginekologicznej w Wielkopolsce [28]. Wprowadził metodę intra operatione z preparatów mrożonych, jako metodę rozpoznania patomorfologicznego podczas zabiegu operacyjnego. W kolejnych latach funkcję kierownika Zakładu Patologii Nowotworów pełnili dr Eugeniusz Simon, dr Danuta Bręborowicz i prof. Jan Bręborowicz. W tym czasie placówka zyskała nowoczesny sprzęt i aparaturę, wdrożono udoskonalone standardy oceny patomorfologicznej. Obecnie w strukturach Zakładu działają pracownie: histopatologii, immunohistochemii, cytopatologii, cytologii szyjki macicy, biologii molekularnej i cytometrii przepływowej. Zespół tworzą lekarze specjaliści patomorfologii z tytułem profesora i doktora, lekarze rezydenci, diagności laboratoryjni, magistrzy pielęgniarstwa, technicy analityki medycznej, zespół sekretarek i średni personel pomocniczy. Zadaniem zakładu jest ustalenie precyzyjnego rozpoznania patomorfologicznego (typ histologiczny, stopień złośliwości, czynniki predykcyjne etc.). Opracowanie materiału operacyjnego, wycinków tkankowych, biopsji

i materiału cytologicznego poparte bogatym panelem immunohistochemicznym, analizami z zakresu biologii molekularnej i cytometrii przepływowej umożliwia precyzyjne określenie nowotworu, dając możliwość oceny czynników prognostycznych i predykcyjnych, dzięki czemu możliwy jest odpowiedni dobór skutecznego leczenia. Stale rozwijający się Zakład z nowoczesnym zapleczem diagnostycznym współpracuje z oddziałami klinicznymi szpitala, a także z wieloma ośrodkami krajowymi i zagranicznymi w zakresie badań naukowych i klinicznych. Na terenie Zakładu prowadzone są zajęcia dydaktyczne dla studentów Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu oraz studentów innych uczelni.

We Lwowie z kolei działał prof. Witold Walerian Nowicki (1878 - 1941), kierownik lwowskiej Katedry i Zakładu Anatomii Patologicznej, podkreślał konieczność nowoczesnego łączenia problematyki onkologicznej z badaniami nad zapaleniami swoistymi i zaburzeniami hormonalnymi. Podobnie jak Hornowski i Ciechanowski stosował metody statystyczne do wykrycia prawidłowości i zmienności w występowaniu schorzeń nowotworowych [30].

Etiopatogenezą nowotworów zajmowano się także w wileńskim ośrodku uniwersyteckim, którym kierował Kazimierz Opoczyński (1877 - 1963). W swojej wieloletniej praktyce opartej na nowoczesnym warsztacie badawczym łączącym klasyczną anatomię patologiczną z morfologią i anatomią porównawczą oraz świetnym opanowaniem technik histologicznych odnosił się do mającej swe źródło jeszcze w koncepcjach Virchova, teorii związku między stanami zapalnymi, a powstawaniem i rozwojem nowotworów [30].

Na uwagę zasługuje także działalność prof. Józefa Jaworskiego (1859 - 1920), ginekologa, cenionego organizatora służby zdrowia, prowadził statystyki zachorowań na raka piersi w Królestwie Kongresowym. Z jego inicjatywy, Warszawskie Towarzystwo Lekarskie w 1906 r. powołało Komitet do Walki z Rakiem. Do głównych zadań Komitetu należała działalność edukacyjna, gromadzenie danych epidemiologicznych i organizacja placówek leczenia nowotworów. Pierwsze takie przychodnie powstały w Łodzi (1917 r.) i w Warszawie (1923 r.) [31].

W 1921 r. powołano do życia Polski Komitet do Zwalczania Raka, w kolejnych latach powstają Komitety w Krakowie, Łodzi, Poznaniu, Lwowie i Wilnie. W grudniu 1924 r., w Warszawie Polski Komitet do Zwalczania Raka zorganizował Pierwszy Zjazd Przeciwrakowy, został na nim ogłoszony Pierwszy Program Walki z Rakiem w Polsce podejmujący takie kwestie

jak: konieczność prowadzenia badań klinicznych i epidemiologicznych, oświata zdrowotna i popularyzacja wiedzy na temat nowotworów, a także budowa szpitali onkologicznych [31, 32]. W 1925 r. odbył się w Warszawie Zjazd Lekarzy i Przyrodników Polskich, wówczas miało miejsce pierwsze walne zebranie Towarzystwa Patologów Polskich, niestety wybuch II Wojny Światowej udaremnił dalszą działalność Towarzystwa, a ustalenia powojennej polityki międzynarodowej pozbawiły Polskę dwóch ośrodków akademickich o bogatych tradycjach i z dużym dorobkiem naukowym, we Lwowie i w Wilnie [31]. W 1923 r. podczas wystąpienia z okazji 25 - lecia odkrycia radu Maria Skłodowska-Curie wyraża publicznie życzenie powołania Instytutu Radowego w Warszawie wzorem paryskiego Institut du Radium, w kolejnym roku rozpoczęto budowę, a uroczyste otwarcie Instytutu Radowego miało miejsce w maju, 1932 r., kiedy to Maria Skłodowska-Curie przekazała instytutowi pierwszy gram radu, dar polonii amerykańskiej i kanadyjskiej. Wskutek działań wojennych został całkowicie zniszczony. Zostaje odbudowany i już w grudniu 1946 r. Instytut wznowił działalność. Sześć lat później zyskał status placówki naukowo-badawczej, a w kolejnym roku zmienił nazwę na Instytut Onkologii [31, 32, 33].

W 1946 r. podjęto działalność reaktywowane Polskie Towarzystwo Przeciwrakowe, zorganizowano po raz pierwszy w powojennej Polsce Ogólnopolski Zjazd Przeciwrakowy na którym nakreślono II Rządowy Program Walki z Rakiem na lata 1952 - 1975. Zwrócono uwagę na konieczność stworzenia tzw. sieci onkologicznej, jako bazy leczniczej dla chorych na nowotwory. Powstają regionalne centra onkologiczne, specjalistyczne zespoły opieki zdrowotnej i przychodnie wojewódzkie. Ważnym elementem walki z rakiem stała się działalność oświatowa w zakresie profilaktyki nowotworów, rehabilitacji psychofizycznej, opieki paliatywnej i terminalnej [31]. W 1949 r. z inicjatywy prof. Janiny Kowalczykowej (1907 - 1970), cenionego anatomopatologa, kierownika Katedry Patomorfologii UJ, założycielki i pierwszego prezesa Polskiego Towarzystwa Anatomopatologów (1958 r.) powstaje czasopismo medyczne „Patologia Polska”, obecnie „Polish Journal of Pathology” poświęcone zagadnieniom współczesnej patologii, anatomii patologicznej i onkologii [10, 31].

W powojennej Polsce odradza się także chirurgia onkologiczna, pomimo ogromnych trudności organizacyjnych, braku funduszy i niedostatku kadr wprowadzano z sukcesem nowe techniki operacyjne. Było to możliwe dzięki zaangażowaniu wielu wybitnych lekarzy, wśród nich był chirurg onkolog, konsultant krajowy ds. onkologii, prof. Tadeusz Koszarowski (1915 - 2002).

W utworzonej przez niego Klinice wykonano pierwsze doszczętne zabiegi operacyjne, w tym totalną mastektomię w raku piersi z modyfikacją cięcia skórniego i pozostawieniem mięśnia piersiowego mniejszego [34]. Prof. T. Koszarowski podkreślał potrzebę stworzenia onkologii interdyscyplinarnej obejmującej wiele specjalności jako najskuteczniejszego modelu leczenia onkologicznego [34]. Zainicjował także powstanie pierwszego w powojennej Polsce Centralnego Rejestru Nowotworów (1953 r.). W Łodzi działał prof. Jan Berner (1932 - 2020), który jako pierwszy w Polsce, przeprowadził operację oszczędzającą w leczeniu raka piersi u chorych we wczesnym stadium choroby, uzupełnioną radioterapią (1981 r.). Pozytywne wyniki odległe przekonały wielu chirurgów do stosowania tej metody w innych placówkach onkologicznych, a wprowadzenie badań mammograficznych i populacyjnych programów przesiewowych wpłynęło na zwiększenie liczby chorych zakwalifikowanych do tego rodzaju leczenia [10]. Z kolei prof. Andrzej Kułakowski (ur.1929 r.) stworzył w Instytucie Onkologii w Warszawie pierwszą placówkę rehabilitacyjną dla kobiet po mastektomii, był też pomysłodawcą i założycielem Klubu Kobiet po Mastektomii „Amazonki”, w 1987 r. w Warszawie powołał do życia pierwszy klub. Obecnie Stowarzyszenie działające pod patronatem Polskiego Komitetu Zwalczenia Raka skupia blisko 15 000 członkiń. Wzajemne wsparcie, rehabilitacja i opieka psychologiczna to główne cele stowarzyszenia. Organizuje ono także programy edukacyjne i kampanie społeczne na rzecz walki z nowotworami piersi [31, 35, 36]. W 2002 r. powstaje w Polsce Narodowy Program Zwalczenia Chorób Nowotworowych. Nakreślono wieloletni plan którego głównym celem stało się ograniczenie wzrostu zachorowań, osiągnięcie wartości średnich europejskich w zakresie wczesnego wykrywania nowotworów i skuteczności leczenia, wdrażanie populacyjnych programów wczesnego wykrywania nowotworów, dostępności do nowoczesnych metod diagnostycznych i najskuteczniejszych terapii, standaryzacja procedur leczenia napromienianiem, upowszechnienie metod leczenia skojarzonego, rozwój i spopularyzowanie nowoczesnych metod rehabilitacji i opieki paliatywnej, przemyślana alokacja środków zarówno na modernizację istniejącej infrastruktury jak i na rozwój nowoczesnej diagnostyki i metod leczenia, działalność oświatowa w zakresie szeroko pojętej profilaktyki pierwotnej i wtórnej [37, 38]. Zwraca się uwagę na konieczność stworzenia kompleksowej i dobrze skoordynowanej w czasie opieki nad pacjentkami chorymi na raka piersi, w referencyjnych ośrodkach z zespołem doświadczonych specjalistów wielu dziedzin współczesnej onkologii [31, 37, 38, 39]. W październiku, 2019 r. Minister Zdrowia podpisał

projekt rozporządzenia w sprawie utworzenia sieci nowoczesnych, wysokospecjalistycznych centrów leczenia nowotworów. We Wrocławiu, Krakowie i w Poznaniu, w dużych ośrodkach onkologicznych powstają pierwsze wielodyscyplinarne, specjalistyczne, certyfikowane jednostki zapewniające profesjonalną opiekę medyczną na wszystkich etapach choroby [40]. W tym samym roku działający przy ministrze zdrowia, Zespół do Spraw Narodowej Strategii Onkologii, opracował kierunki najważniejszych działań w zakresie walki z rakiem na lata 2020 – 2030 wskazał pięć obszarów strategicznych (inwestycje w kadry medyczne, edukację prozdrowotną, poprawę dostępności do badań diagnostycznych i świadczonych usług przez POZ, zwiększenie środków na naukę, innowacje i systemy zdrowotne) istotnych dla poprawy skuteczności leczenia onkologicznego we wszystkich jego aspektach. Najważniejszym celem o kluczowym znaczeniu jest zwiększenie wykrywalności nowotworów we wczesnych stadiach choroby, poprawa jakości życia pacjentów onkologicznych i wzrost wskaźników pięcioletnich przeżyć osób z chorobą nowotworową [40].

1.2 Epidemiologia, aspekt historyczny, działalność i znaczenie

Epidemiologia „*jest nauką zajmującą się badaniem występowania i rozmieszczenia stanów lub zdarzeń związanych ze zdrowiem w określonych populacjach oraz znaczeniem czynników wpływających na stan zdrowia, a także zastosowanie tej wiedzy do kontrolowania problemów zdrowotnych. Epidemiologia bada wpływ czynników środowiskowych oraz warunków występowania epidemii spowodowanych chorobami w określonej populacji, wpływających na stan jej zdrowia. Może odnosić się do chorób zarówno ludzi, zwierząt jak i roślin*” [41]. Przedmiotem zainteresowania epidemiologów jest nie tylko historia naturalna choroby, jej rozpowszechnienie, ale również inne przejawy ludzkiej egzystencji, częstość zgonów, śmiertelność, inwalidztwo, obniżona sprawność organizmu, a także zdrowie i możliwość jego poprawy. Obiekt badań stanowi populacja ludzka, którą można określić w wielu wymiarach, geograficznym, etnicznym, społecznym, może determinować ją płeć, wiek, narażenie środowiskowe i wiele innych czynników w określonej jednostce czasu. Wraz z rozwojem medycyny możliwe stało się określenie przyczyn chorób zakaźnych, niektórych chorób uwarunkowanych genetycznie czy będących skutkiem działania innych czynników, najczęściej jednak choroba jest wynikiem interakcji między czynnikami genetycznymi i środowiskiem (czynniki biologiczne, chemiczne, fizyczne, psychologiczne, itd.) [41, 42]. Obecnie epidemiologia jest rozległą dziedziną działającą na wielu płaszczyznach: *epidemiologia ogólna* opracowuje metodologię badań szczegółowych, *epidemiologia chorób zakaźnych* zajmuje się identyfikacją zakażeń i ognisk szerzenia się chorób zakaźnych oraz ich zwalczaniem, *epidemiologia kliniczna* wykorzystuje dane epidemiologiczne w praktyce klinicznej, *epidemiologia środowiskowa* bada wpływ środowiska na częstość i rozpowszechnianie się chorób w badanej populacji i wreszcie *epidemiologia społeczna*, tworzy strategie działań profilaktycznych i w zakresie zwalczania chorób z wykorzystaniem wiedzy i doświadczeń badań na określonych populacjach ludzkich (sondaże, badania reprezentatywne, długofalowe badania monitorowe, etc.) [41, 42]. Dane epidemiologiczne uzyskuje się przez pomiar pozytywnych mierników stanu zdrowia (rozwój fizyczny, ocena sprawności fizycznej, określenie wskaźnika wydolności, inne.) oraz tzw. negatywnych mierników stanu zdrowia: ustalenie chorobowości (liczbę osób chorujących wcześniej i tych, którzy zachorowali w określonym czasie, najczęściej w okresie ostatniego roku) i ustalenie zapadalności i zgonów (umieralność i śmiertelność).

W tym celu prowadzi się ukierunkowane badania przeglądowe stanu zdrowia i wpływu warunków zewnętrznych na powstawanie i szerzenie się choroby dla określonej populacji, badania obserwacyjne, kliniczno - kontrolne (retrospektywne), dotyczące obserwacji w których wybiera się odpowiednią grupę przypadków, dzieli się na osoby, które chorują oraz grupę kontrolną, w której choroba nie występuje i ustala się możliwe czynniki ekspozycyjne, które mogły wystąpić w przeszłości danej populacji. W badaniach eksperymentalnych z kolei w sposób celowy i kontrolowany steruje się przyczyną wywołującą zjawiska zdrowotne. Prognozowanie liczby zachorowań ma decydujące znaczenie dla tworzenia strategii zdrowotnych i przewidywania przyszłych kosztów społecznych, zarówno bezpośrednich związanych z leczeniem i pośrednich będących skutkiem utraty ról społecznych przez osoby dotknięte chorobą nowotworową (inwalidztwo, utrata pracy, etc.) [41, 42].

1.2.1 Epidemiologia na świecie w zarysie

Genezy epidemiologii należy upatrywać już w starożytności. W dziele „Peri areon, hydaton, topon” pochodzącym z V w., Hipokrates wyraził pogląd, że czynniki środowiskowe jak woda, powietrze, wiatr, słońce mogą wpływać na występowanie chorób, podkreślano znaczenie kondycji fizycznej i odpowiedniej diety. Jednak stan ówczesnej wiedzy nie pozwalał na celowe i skoordynowane działania profilaktyczne [43]. Pierwsze próby samodzielnych analiz epidemiologicznych były podejmowane w XVII w. John Graunt (1620 - 1674) angielski statystyk, w 1662 r. opublikował pracę „Natural and Political Observations Made upon the Bills of Mortality” która stała się przyczynkiem do rozwoju nowoczesnej epidemiologii [44]. Twórcą pojęcia „medycyna pracy” i pionierem badań zależności zachorowań na nowotwory a środowiskiem pracy był Bernadino Ramazzini (1633 - 1714), włoski lekarz związany z Uniwersytetem w Padwie, autor traktatu poświęconego chorobom zawodowym „De Morbis Artifi cum Diatriba” [45]. W 1775 r. angielski chirurg Percivall Pott (1714 - 1788) z Saint Bartholome’s Hospital w Londynie w artykule „Chirurgical Observations Relative of the Cancer of the Scrotum” jako pierwszy powiązał występowanie raka moszny z narażeniem kominiarzy na działanie sadzy [17]. W 1802 r. powstało w Londynie Towarzystwo Badań nad Naturą i Leczeniem Raka, blisko sto lat później obserwacje niemieckiego chirurga, Ludwiga Rehna (1849 - 1930) przyczyniły się do wyjaśnienia przyczyn rozwoju raka pęcherza w związku

wykonywaną pracą. Opisał przypadki brodawczaka i nowotworu złośliwego pęcherza, które wystąpiły u mężczyzn zatrudnionych przy produkcji syntetycznej fuksyny [5]. Dopiero w początkach XIX w., zaczęto badać zjawiska sprzyjające rozpowszechnianiu się choroby w określonych populacjach ludzkich w szerszym zakresie. Gwałtowne pogorszenie sytuacji zdrowotnej spowodowane rozwojem miast i przeludnieniem spowodowanym niekontrolowanym napływem ludności w poszukiwaniu pracy, brakiem dostępu do czystej wody i odpowiednich warunków sanitarnych stanowiły poważne zagrożenie epidemiczne. W tej sytuacji kluczowym dla zdrowia publicznego było uchwalenie w 1848 r. przez parlament brytyjski ustawy Public Health Act. Powołano instytucję nadzoru sanitarnego, która kontrolowała zaopatrzenie w wodę, stan kanałów ściekowych, czyszczenie ulic, pochówek zmarłych, etc. [46]. Wielkim osiągnięciem było ustalenie przez brytyjskiego lekarza Johna Snowa (1813 - 1858), że epidemia cholery w Londynie z 1854 r. była związana z dostarczaniem ludności wody pitnej przez firmę, która pozyskiwała wodę z odcinka Tamizy zanieczyszczonego ściekami [47]. Epidemiologiczne obserwacje Snowa stanowiły cenny materiał badawczy, w których uwzględniono rolę biologicznych, chemicznych, fizycznych i socjologicznych czynników mających wpływ na rozwój i rozprzestrzenianie się choroby i stały się podstawą rozwoju współczesnej epidemiologii. Już wówczas podkreślano istnienie niepokojących zjawisk związanych regularnym i progresywnym wzrostem zachorowań i zgonów z powodu nowotworów [47].

Tabela 1. Śmiertelność z powodu nowotworów na świecie w świetle statystyk z lat 1880 i 1900, w podziale na 100 000 mieszkańców [23].* Dla porównania, współczynnik standaryzowany w podziale na 100 000 mieszkańców w wybranych krajach, dane z 2000 r. [48].

Kraj	1880 rok	1900 rok	2000 rok*	
			kobiety	mężczyźni
Anglia: Londyn prowincja	58,7 51,1	94,0 82,0	242,2	271,1
Austria	37,6	73,9	222,1	243,2
Szkocja	46,5	88,0	284,2	307,7
Holandia	50,1	95,9	211,9	262,8
Irlandia	34,3	58,0	188,5	216,9
Włochy	21,1	51,9	222,7	321,8
Francja	98,2	121,0	187,3	303,3
Norwegia	43,0	85,0	216,5	248,3
Prusy	26,1	57,3	242,2	276,7
Stany Zjednoczone Washington	60,0	70,3	186,9	206,8

Tabela 2. Zgony z powodu nowotworów wśród mieszkańców Paryża z początków XX w. z uwzględnieniem struktury płci i wieku, w podziale na 100 000 mieszkańców [23].* Dla porównania, Francja, zgony ogółem z uwzględnieniem struktury płci i wieku, współczynnik standaryzowany na 100 000 mieszkańców, dane z 2000 r. [48].

Przedział wiekowy	początek XX w.		2000 r.*	
	Płeć męska	Płeć żeńska	Płeć męska	Płeć żeńska
25-29 lat	5	10	7,21	5,14
30-34 lata	10	31	10,7	9,9
35-39 lat	28	73	27,1	31,3
40-44 lata	61	126	77,8	59,6
45-49 lat	118	208	170,8	99,8
50-54 lata	221	299	291,2	142,4
55-59 lat	335	395	440,6	210,6
60-64 lata	538	523	663,9	277,7
65-69 lat	687	685	975,1	391,1
70-74 lata	757	739	1317,0	542,8
75-79 lat	696	756	1738,9	732,4
80 i powyżej	680	766	2785,4	1301,5

Warto wspomnieć także postać Florence Nightingale (1820 - 1910), angielskiej twórczyni nowoczesnego pielęgniarstwa, była pionierką analizy danych statystycznych. Do historii przeszły sporządzone przez nią mapy, wykresy i tabele dotyczące stanu zdrowia tysięcy żołnierzy walczących w wojnie krymskiej, które posłużyły do „*analiz sezonowości zachorowań i identyfikacji krytycznego loci rozprzestrzeniania się choroby*” [47]. Kolejnym punktem zwrotnym był postęp techniczny w medycynie, rozwój mikroskopii przyczynił się do poznania roli bakterii w rozwoju chorób zakaźnych. Zastosowanie aseptyki i wprowadzenie po II wojnie światowej masowych szczepień ochronnych sprawiły że choroby zakaźne przestały być jedną z najczęstszych przyczyn zgonów, choć wiele z nich nadal pozostaje problemem, szczególnie w krajach rozwijających się gdzie malaria, czy choroba Heinego-Medina, występują powszechnie. Pojawiły się także nowe jednostki chorobowe, takie jak zespół nabytego upośledzenia odporności (AIDS) [41, 42]. Wzrost poziomu życia i coraz lepiej zorganizowana,

powszechna ochrona zdrowia spowodowała spadek umieralności niemowląt i coraz więcej ludzi zaczynało dożywać siódmej i ósmej dekady życia [42]. Wraz z postępującymi zmianami demograficznymi i wzrostem poziomu życia, pojawiają się niekorzystne zmiany zachowań (niewłaściwa dieta prowadząca do otyłości, wzrost konsumpcji alkoholu i wyrobów tytoniowych, brak aktywności fizycznej, etc.), które przyczyniły się do rozwoju chorób degeneracyjnych układu krążenia czy nowotworów [50, 51]. Wieloletnie badania wybitnych, brytyjskich epidemiologów Richarda Dolla (1912 - 2005) i Bradforda A. Hilla (1897 - 1991) doprowadziły w latach 50. XX w. do ustalenia związku przyczynowego między paleniem tytoniu a częstością występowania raka płuca. Od tego czasu rozpoczęto badania epidemiologiczne nowotworów na dużą skalę, opracowano podstawy teoretyczne i metodologię badań, a późniejszy rozwój technik obliczeniowych umożliwił wykorzystanie zaawansowanych metod statystycznych w prewencji i profilaktyce chorób nowotworowych [17, 52]. W 1986 r. WHO uchwaliła tzw. Kartę Ottawską, dokument definiujący promocję zdrowia jako *„działania umożliwiające zarówno osobom jak i społecznościom kontrolę nad czynnikami wpływającymi na stan zdrowia i przez to jego poprawę, promowanie prozdrowotnych zachowań oraz środowiskowych i innych czynników sprzyjających zdrowiu”* [53]. Zakres działań obejmował takie kwestie jak: nadzór nad zdrowiem populacji, monitorowanie zagrożeń, bezpieczeństwo środowiskowe, zapobieganie i wczesne wykrywanie chorób, kompetentne zarządzanie zdrowiem i kształcenie kadr, organizacja systemów ochrony zdrowia, rozwój badań naukowych [38, 53].

Wykładnikiem skali epidemii nowotworów czy innych zjawisk chorobowych jest ocena *liczby zachorowań/zgonów, współczynnik surowy chorobowości wskaźnik struktury oraz standaryzowany według wieku współczynnik zachorowalności i umieralności* [42]. Zaczęto wprowadzać standardy diagnostyczne i klasyfikacje chorób. Pierwsze próby sklasyfikowania chorób miały miejsce w początkach XIX w. wówczas, w 1837 r. utworzono w Anglii Generalne Biuro Statystyczne Anglii i Walii, William Farr (1807 - 1883), angielski epidemiolog i statystyk stworzył podstawy ujednoliconej klasyfikacji chorób [54]. W 1893 r. powstała Międzynarodowa Lista Przyczyn Zgonów, znana jako Klasyfikacja Bertillona, od nazwiska Jacqua Bertillona (1851 - 1922), francuskiego demografa i statystyka, który wniósł ogromny wkład w klasyfikację chorób i rozwój metod statystycznych, sześć lat później została przyjęta jako standard w USA i w Europie [55]. W latach 30. XX w. Organizacja Zdrowia Ligi Narodów klasyfikację chorób, przyczyn zgonów i innych kwestii związanych ze statystyką medyczną, dziś nadzór nad

sposobem kodowania chorób i przyczyn zgonów pełni Światowa Organizacja Zdrowia. Obowiązującą jest klasyfikacja opracowana podczas międzynarodowego forum i opublikowana Międzynarodowa Klasyfikacja Chorób, Urazów i Przyczyn Zgonów, kolejne uaktualnienia i rewizje klasyfikacji prezentowane w cyklicznie wydawanych załącznikach [56].

W 1965 r. powstała agenda WHO, Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) z siedzibą w Lyonie, zajmująca się koordynowaniem międzynarodowych badań nad nowotworami złośliwymi [57]. Dzięki rozwojowi immunohistochemii i biologii molekularnej możliwe jest coraz dokładniejsze rozpoznanie nowotworu oraz właściwa klasyfikacja choroby nowotworowej. Z tego też powodu niezwykle ważna jest współpraca epidemiologów, patomorfologów i lekarzy wielu innych specjalności. Nowotwory złośliwe stanowią ponad sto kategorii chorobowych zawartych w X rewizji ICD obowiązującej od 1994 r. (w Polsce od 1997 r.) [58]. Stale zmieniające się wzorce chorobowości i umieralności w poszczególnych krajach są dowodem na to, że większości chorób można skutecznie zapobiegać, świadczy o tym również zróżnicowanie geograficzne występowania chorób, a także wpływ migracji na to zjawisko [6, 41, 42]. W latach 80. w Mediolanie z inicjatywy państw członkowskich UE przyjęto program Europa Przeciw Nowotworom, zakładał on redukcję liczby zgonów z powodu nowotworów złośliwych o 15% do 2000 r., udało się osiągnąć wynik 10% [59]. Rok później, międzynarodowa grupa ekspertów z krajów UE opracowała „Europejski Kodeks Walki z Rakiem” zawierający najważniejsze kwestie związane z walką z nowotworami, min. dotyczące profilaktyki pierwotnej [13, 60]. Profilaktyka pierwotna to cały wachlarz działań na rzecz edukacji, szerzenia wiedzy na temat czynników ryzyka nowotworów i promowania zdrowego stylu życia w mass mediach, szkole czy instytucjach społecznych (ulotki, broszury, plakaty, programy edukacyjne, etc.). W 2005 r. rezolucja Światowego Zgromadzenia Zdrowia nałożyła na wszystkie kraje członkowskie obowiązek przygotowania programów zwalczania nowotworów złośliwych, szczególnie w odniesieniu do profilaktyki pierwotnej, której celem jest zmniejszenie zachorowań na nowotwory [31, 61].

1.2.2 Epidemiologia w Polsce

W Polsce także dostrzeżono problem medyczny i społeczny jakim były nowotwory, z inicjatywy Piotra Skargi utworzono w Warszawie wspomniany wcześniej pierwszy w kraju i prawdopodobnie na świecie szpital dla chorych na raka [13]. W 1906 r. dzięki zaangażowaniu

dr Józefa Jaworskiego powstaje Komitet do Walki z Rakiem [31]. Jednak skalę zjawiska można było ocenić, gdy zaborcy wprowadzili obowiązek rejestrowania zgonów i podawania jego przyczyny. Pojawiły się pierwsze opracowania danych statystycznych, w kolejnych latach podejmowano próby badań epidemiologicznych za pomocą ankiet rozsyłanych do lekarzy. Dane te posłużyły do opracowania w 1924 r. przez Polski Komitet Zwalczenia Raka, Pierwszego Programu Walki z Rakiem w Polsce. Nowoczesne i ambitne założenia programu koncentrowały się na konieczności budowy Instytutu Radowego, organizacji profilowanych szpitali onkologicznych w największych miastach w Polsce, na badaniach klinicznych i epidemiologicznych, a także na oświacie zdrowotnej [31]. Jednocześnie wydawano Biuletyn Komitetu, czasopismo istniejące do dziś jako kwartalnik „Nowotwory: Journal of Oncology” [61]. Zajmowano się tworzeniem podstaw teoretycznych i praktycznych do badań naukowych. Ujednolicono dokumentację medyczną, system archiwizacji danych i kontroli chorych poddanych leczeniu onkologicznemu [31]. Po zakończeniu II Wojny Światowej przystąpiono do odbudowy infrastruktury szpitalnej w Polsce. Dzięki staraniom prof. Tadeusza Koszarowskiego i prof. Hanny Kołodziejkiej (1914 - 2004) w 1952 r. opracowano tzw. Drugi Program Walki z Rakiem na lata 1952 - 1974, kładąc szczególny nacisk na kwestie profilaktyki i edukacji zdrowotnej, epidemiologii i organizacji walki z rakiem. Wprowadzono uregulowania prawne nakładające na placówki zdrowia obowiązek rejestracji nowotworów złośliwych na terenie całego kraju. W tym samym roku powstał populacyjny rejestr nowotworów dla regionu warszawskiego, gliwickiego i krakowskiego, obejmującego swym zasięgiem blisko 5 milionową populację mieszkańców dużych miast, miasteczek i obszarów wiejskich [31]. Zebrane dane posłużyły do opracowania trendów zachorowań, zgonów, przeżyć pięcioletnich i prognoz aż do 2000 r., stały się też podstawą Programu Rządowego PR-6 „Zwalczanie nowotworów złośliwych” i Centralnego Programu Badawczo-Rozwojowego na lata 1974 - 1990 [31]. Ogromny wkład pracy i zaangażowanie prof. Witolda Zatońskiego (ur. 1942 r.) lekarza, epidemiologa i eksperta zdrowia publicznego przyspieszyły intensyfikację działań w zakresie profilaktyki pierwotnej, szczególnie w zwalczaniu palenia tytoniu i zmiany nawyków żywieniowych Polaków. Do udziału w kampanii włączono wówczas środowiska medyczne, szkoły i uczelnie, media, organizacje pozarządowe, wydrukowano ulotki, broszury, ukazały się artykuły w prasie, opracowano podręcznik o nowotworach dla nauczycieli szkół średnich [31]. W dalszych latach wdrażano nowe projekty, Program Rozwoju Narodów Zjednoczonych

„Cancer Control” na lata 1983 - 1993, Program Zwalczania Nowotworów Złośliwych u Kobiet w Polsce (1994 - 1998), Narodowy Program Zdrowia (1996 - 2005), Program Banku Światowego „Program modelowego skryningu raka piersi i raka szyjki macicy”. We wszystkich programach podkreślano znaczenie szeroko pojętej profilaktyki, szczególnie profilaktyki wtórnej, która nadal pozostaje słabą stroną polskiej onkologii, rozwoju badań epidemiologicznych, budowy wysokospecjalistycznych ośrodków onkologicznych. Coraz większe możliwości wczesnego wykrywania, diagnostyki i leczenia nowotworów sprawiają, że rak staje się chorobą przewlekłą, obserwuje się rosnącą liczbę pacjentów żyjących wiele lat z chorobą nowotworową, chorzy ci wymagają i wymagać będą specjalistycznej opieki lekarskiej i pielęgniarstwa, a często także hospicyjnej co stwarza potrzebę tworzenia nowych strategii i zwiększenia nakładów na ochronę zdrowia. W 2015 r. na mocy ustawy z dnia 3 listopada 2015 (Dz.U. z 2015 r. poz. 1165) ustanowiono wieloletni program Narodowy Program Zwalczania Chorób Nowotworowych. Międzynarodowa współpraca w zakresie badań naukowych i szkoleń lekarzy wielu specjalności w placówkach zagranicznych, jest postrzegana jako ważny element narodowych programów zdrowia [31, 62, 64].

1.2.3 Rejestry Nowotworów, rola i znaczenie

Rejestr nowotworów gromadzi dane dotyczące struktury zachorowań na nowotwory złośliwe w ściśle określonej populacji, opierając się na informacjach przekazywanych przez lekarza (zwykle w postaci standaryzowanego formularza zgłoszeniowego nowotworu złośliwego). Rejestr odgrywa bardzo ważną rolę w ocenie zagrożenia nowotworami i monitorowaniu skuteczności zwalczania nowotworów w danej populacji, uzyskane dane są także podstawą kontraktowania świadczeń medycznych i dystrybucji środków przeznaczonych na ochronę zdrowia. W 1900 r. z inicjatywy prof. Ernesta von Leydena (1832 - 1910) utworzono w Berlinie Komitet Badań nad Rakiem, podjęto pierwsze próby rejestracji pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą nowotworową (dotąd statystyki epidemiologiczne opierały się na danych o zgonach). W kolejnych latach podobne komitety rozpoczęły działalność w Hiszpanii, Holandii, Portugalii, na Węgrzech, także w Szwecji, Danii i Islandii [65]. Od lat 40. ubiegłego wieku dane epidemiologiczne gromadzone są w USA i wielu innych krajach. Obecnie rejestry funkcjonują w większości krajów europejskich, różnią się jednak zakresem działań.

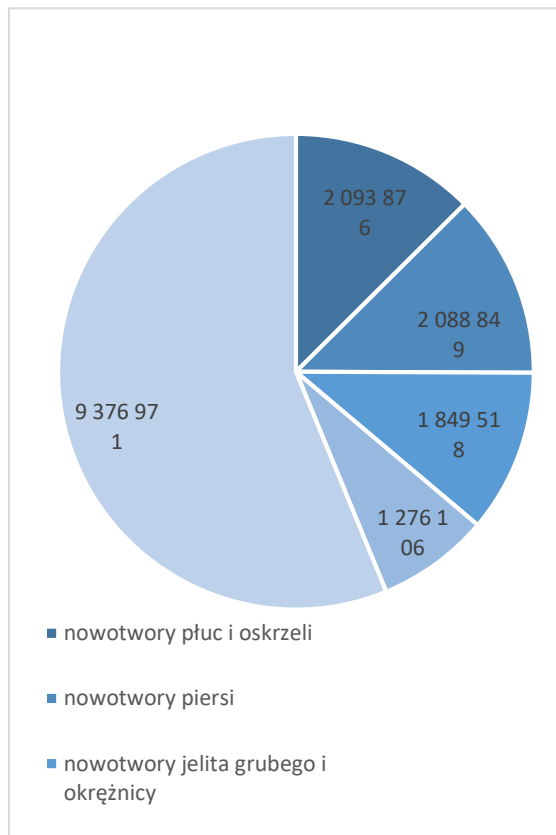
We Francji i Hiszpanii badania prowadzi się w wybranych jednostkach administracyjnych. Natomiast w Polsce, Słowenii i w krajach skandynawskich badania prowadzone są na terenie całego kraju. Europejskie rejestry nowotworowe zrzeszone są w międzynarodowej organizacji European Network of Cancer Registries i prowadzą wspólne badania naukowe [66]. Parlament Europejski wydał rezolucje (nr 2009/2103/INI) podkreślającą znaczenie rejestrów nowotworów i zasadność ich tworzenia [66]. Już w latach 50. w Polsce rozpoczął działalność rejestr nowotworów, w styczniu 1951 r. Ministerstwo Zdrowia wydało okólnik zobowiązujący wszystkie zakłady społecznej służby zdrowia do zgłaszania każdego stwierdzonego przypadku nowotworu złośliwego [67]. W latach 1952 - 1955 zbierano dane w ośmiu województwach: warszawskim, białostockim, bydgoskim, gdańskim, lubelskim, łódzkim, olsztyńskim, poznańskim a także Warszawie, Łodzi i Poznaniu. W 1952 r. powstał Krajowy Rejestr Nowotworów, którego zadaniem było gromadzenie informacji o zachorowaniach i zgonach na nowotwory złośliwe, nie udało się jednak uzyskać w pełni wiarygodnych danych. Prof. Tadeusz Koszarowski oceniał niedorejestrowanie przypadków na poziomie 30% [68]. Od lat 80. XX w. wskaźnik ten wyraźnie spada, w 1996 r. uzyskano 5% wskaźnik niedorejestrowań. Dopiero wprowadzenie systemu informatycznego umożliwiło osiągnięcie wysokiej kompletności i jakości danych [69]. Źródłem danych mogą być badania epidemiologiczne (pierwotne źródło informacji) oraz dokumentacja medyczna pacjentów, statystyki szpitalne i ambulatoryjne, dokumentacja ZUS, rejestry chorób czy dane publikowane przez GUS (wtórne źródła informacji) [41, 70]. Obecnie działa w Polsce 16 wojewódzkich rejestrów nowotworów, gromadzą dane z regionu przesyłają je raz w roku do Krajowego Rejestru Nowotworów w Warszawie, gdzie tworzą wspólną bazę danych służącą do opracowywania przekrojowych analiz epidemiologicznych dla całego kraju [71]. Zebrane informacje pozwalają na określenie typu nowotworów o największej częstości występowania, wyłonienie populacji objętej badaniem populacyjnym przesiewowym, koordynowanie badań i ocenę ich skuteczności w regionie i w skali całego kraju. Rejestracja nowotworów prowadzona jest na mocy Ustawy o statystyce publicznej (Dz.U. nr 88 z 1995 r. poz. 439 art. 31) oraz wydawanych co roku rozporządzeń Prezesa Rady Ministrów w sprawie programu badań statystycznych statystyki publicznej [71]. Drugim aktem prawnym regulującym zasady funkcjonowania rejestracji zachorowań na nowotwory złośliwe jest Ustawa o systemie informacji w ochronie zdrowia (Dz.U. nr 113 z 2011 r. poz. 657), określająca sposób przechowywania danych oraz zasady ich udostępniania [72, 73]. Odpowiedzią na wymogi ustawy

było opracowanie w latach 2010 - 2013 w pod patronatem Krajowego Rejestru Nowotworów projektu „Utworzenie pierwszej w Polsce informatycznej platformy naukowej do wymiany wiedzy o zagrożeniu nowotworami złośliwymi w Polsce”. Powstał projekt zintegrowanego systemu rejestracji nowotworów złośliwych, utworzenia informatycznej platformy naukowej i centralnej bazy danych zachorowań na nowotwory w Polsce [74]. Zapotrzebowanie na coraz większy zakres danych klinicznych, a takich brak w rejestrach populacyjnych, zapoczątkowało powstanie kolejnego projektu tzw. e-KRN+, platformy gromadzącej i analizującej dane płynące nie tylko z rejestrów nowotworów, również danych z onkologicznych rejestrów narządowych, jakościowych i rejestrów nowotworów pochodzących z baz świadczeniodawców leczących nowotwory. Jednym z najważniejszych założeń projektu jest stworzenie zintegrowanego systemu informatycznego generującego dane w jednym miejscu i zapewnienie bezpieczeństwa ochrony danych [75].

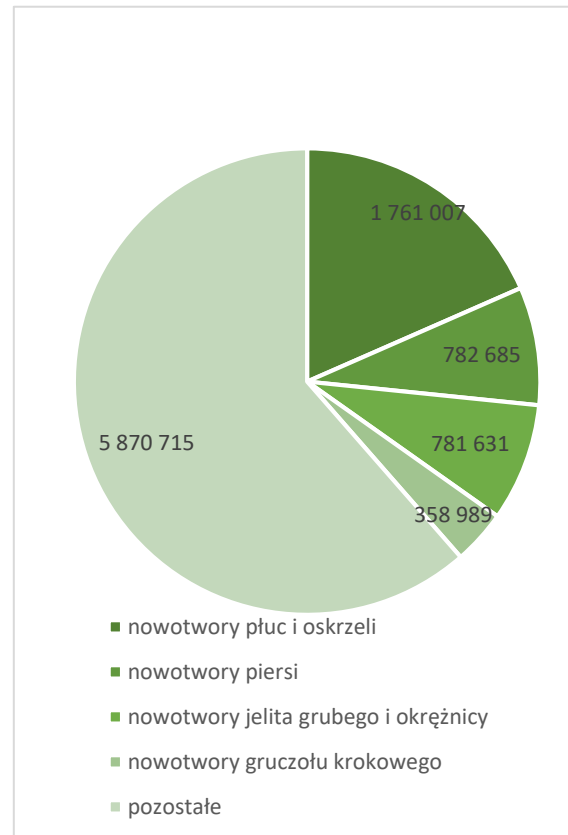
Wielkopolskie Biuro Rejestracji Nowotworów powstało w 1975 r. przy Wielkopolskim Centrum Onkologii, finansowane jest ze środków własnych Centrum i Narodowego Programu Zwalczania Chorób Nowotworowych w ramach programu „Poprawa działania systemu zbierania i rejestrowania danych o nowotworach złośliwych”. Na przestrzeni wielu lat swej działalności obejmował zasięgiem różne rejony. Do 1998 r. były to województwa: kaliskie, konińskie, leszczyńskie, pilskie, poznańskie i zielonogórskie. W następstwie reformy administracyjnej z 1999 r., kiedy to z dotychczasowych 49 województw, utworzono 16, zmieniła się liczba rejestrów i zasięg ich działalności. Obecnie Wielkopolskie Biuro Rejestracji Nowotworów zbiera dane z 31 powiatów ziemskich i 4 miast na prawach powiatu (Kalisz, Konin, Leszno i Poznań). Dane przechowywane są w postaci dokumentacji papierowej, od 1980 r. dla miasta Poznania, a od 1985 r. dla województwa poznańskiego w wersji elektronicznej [76, 77]. Wielkopolski rejestr odznacza się wysoką kompletnością i jakością danych, na poziomie blisko 100%. W ramach swojej działalności Wielkopolskie Biuro Rejestracji Nowotworów wydaje biuletyn o zachorowalności i umieralności na nowotwory w województwie wielkopolskim „Nowotwory złośliwe w Wielkopolsce”, aktywnie współpracuje z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi, bierze udział w wielu międzynarodowych projektach (Concord, Eurocare, EURECCA i inne) [76, 77].

1.2.4 Przegląd danych epidemiologicznych dotyczących nowotworów złośliwych piersi w ujęciu globalnym i w Polsce

Choroby nowotworowe stanowią problem nie tylko zdrowotny, także społeczny i ekonomiczny o zasięgu globalnym, występującym we wszystkich populacjach ludzkich, są jedną z najczęstszych przyczyn zgonów na świecie. I choć badania nad nimi są nieustannie prowadzone, to zarówno badaczom, jak i lekarzom nie udaje się ograniczyć liczby zachorowań. Według danych IARC w 2018 populację świata stanowiło 7 632 819 272 osób, nowe przypadki ogółem 18 078 957, a zgony 9 555 027, pięcioletnie przeżycia 43 841 302 [78]. Najwięcej zachorowań dotyczy raka piersi, raka płuca i oskrzeli, gruczołu krokowego, jelita grubego i okrężnicy (*rycina 1, 2*) [3].



Rycina 1. Trendy zachorowań na nowotwory złośliwe na świecie w 2018r. wg. umiejscowień [3].

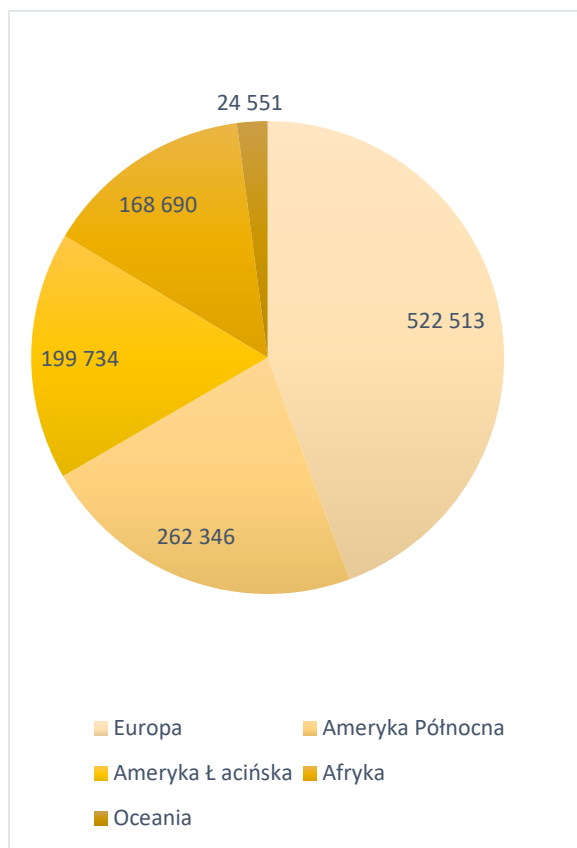


Rycina 2. Zgony z powodu nowotworów złośliwych na świecie w 2018 r. wg. umiejscowień [3].

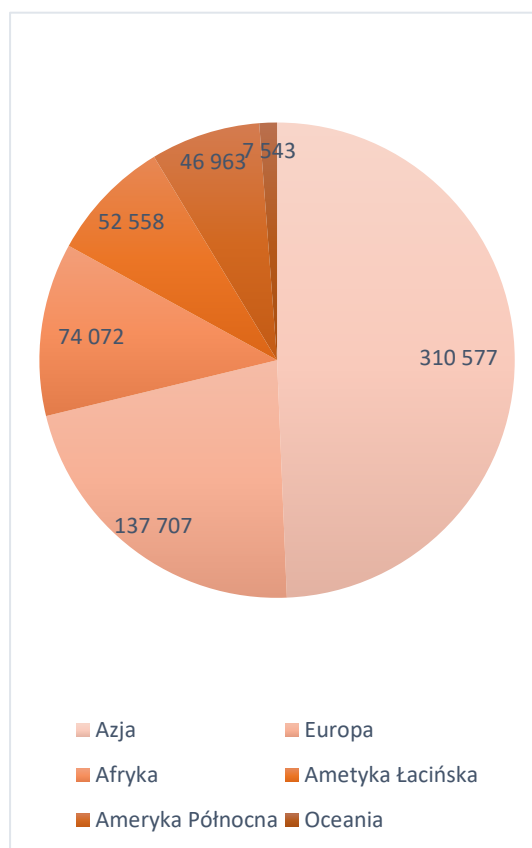
Dynamika wzrostu zachorowań i zgonów z powodu raka wynika z wielu przyczyn, od czynników demograficznych związanych ze starzeniem się począwszy poprzez niewłaściwe postawy prozdrowotne, nierówną dostępność do wysokiej jakości badań diagnostycznych, nowoczesnych metod leczenia i rehabilitacji, a także od wysokości nakładów finansowych na ochronę zdrowia [79, 80]. Większość zachorowań na nowotwory złośliwe przypada na szóstą dekadę życia, osiągając szczyt po osiemdziesiątym roku życia. W Stanach Zjednoczonych oraz w krajach Europy Zachodniej, gdzie istnieje najwyższe ryzyko zachorowania na raka zarówno wśród kobiet jak i mężczyzn, nakłady na leczenie są zdecydowanie większe niż w krajach Europy Wschodniej, a skuteczność działań prewencyjnych i leczenia jest dużo wyższa [81]. Według najnowszych danych szacuje się, że rok 2018 przyniósł w Stanach Zjednoczonych ponad 1,7 miliona nowych przypadków zachorowań na nowotwory złośliwe i ponad 600 tysięcy zgonów. Najwięcej zachorowań dotyczy raka piersi (268 tysięcy), raka płuc i oskrzeli (228 tysięcy), prostaty (174 tysiące) i jelita grubego (145 tysięcy) [82]. Także w krajach Unii Europejskiej, nowotwory piersi, jelita grubego i okrężnicy, płuca i prostaty stanowią blisko 50 % zachorowań na nowotwory i 45% zgonów [81, 82]. Do niedawna najwięcej nowotworów złośliwych notowano w Ameryce Środkowej i w Europie Zachodniej, obecnie w krajach azjatyckich [82].

Statystyki epidemiologiczne nowotworów prowadzone są w Polsce od lat 80. XX w. W ciągu ostatnich trzech dekad liczba zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce wzrosła ponad dwukrotnie, stanowiąc przyczynę 40% zgonów u kobiet w wieku 45-65 lat i 30% zgonów u mężczyzn w średnim wieku. W 1963 r. zarejestrowano 34 500 zgonów, trzy dekady później już 76 860 zgonów [83, 84]. Ten pesymistyczny obraz dopełniają bieżące statystyki mówiące, że nowotwory złośliwe są drugą przyczyną zgonów w Polsce, powodując w 2016 r. 24,1% zgonów wśród kobiet i 27,3% zgonów wśród mężczyzn [83]. Najczęściej rejestrowanymi nowotworami złośliwymi mężczyzn w 2016 roku były nowotwory złośliwe gruczołu krokowego (19,3%), płuca (17,6%), okrężnicy (7,2%), w dalszej kolejności zgłaszane były nowotwory złośliwe odbytnicy (4,3%) i żołądka (4,2%). Wśród mężczyzn najwięcej zgonów odnotowano z powodu raka płuc (29,3%), prostaty (9,4%), okrężnicy (7,7%) i żołądka (6,6%). U kobiet w 2016 r. najczęściej rejestrowany był nowotwór złośliwy piersi (22,8%), płuca (9,5%), trzonu macicy 95,3%), najwięcej zgonów spowodował nowotwór płuc (17,7%), piersi (14,5%) i okrężnicy (8%) [83].

Rak piersi (C50), nowotwory piersi są przyczyną największej zachorowalności na nowotwory złośliwe u kobiet. Każdego roku na świecie rozpoznaje się blisko 1,4 mln nowych przypadków raka piersi (23% zachorowań ogółem na nowotwory złośliwe) i 450 000 zgonów (14%) [84, 85]. Szacuje się, że około 10% przypadków stwierdzanych w krajach rozwiniętych ma związek z czynnikami genetycznymi, takimi jak obecność specyficznych genów (*BRCA1* i *BRCA2*, w przypadku genu *BRCA1* ryzyko wynosi 70 - 80%, a *BRCA2* około 60%. Współczynniki zapadalności notowane w ostatnim dziesięcioleciu mieszczą się w granicach między 27 /100 000 dla Środkowej Afryki i Azji Wschodniej a 96/100 000 w krajach Europy Zachodniej [82]. (rycina 3 i 4)



Rycina 3. Zachorowania na nowotwory złośliwe piersi w 2018 r. w podziale na kontynenty [3].



Rycina 4. Śmiertelność z powodu nowotworów złośliwych piersi na świecie w 2018 r. w podziale na kontynenty [3].

W USA współczynnik standaryzowany zachorowalności i umieralności wynosi 127,8/100 000 nowych przypadków i odpowiednio 25,5/100 000 zgonów, przeżycia pięcioletnie ogółem 88,6% we wszystkich grupach wiekowych i po uwzględnieniu wszystkich ras [86]. (tabela 3)

Tabela 3. Zachorowania i zgony z powodu nowotworu złośliwego piersi w populacji USA w latach 1994 - 2014 na 100 000 mieszkańców [87].

Rak piersi (C50)		
Rok	Zachorowania	Zgony
1994	128,8	30,9
2004	125,1	24,5
2014	126,5	20,6

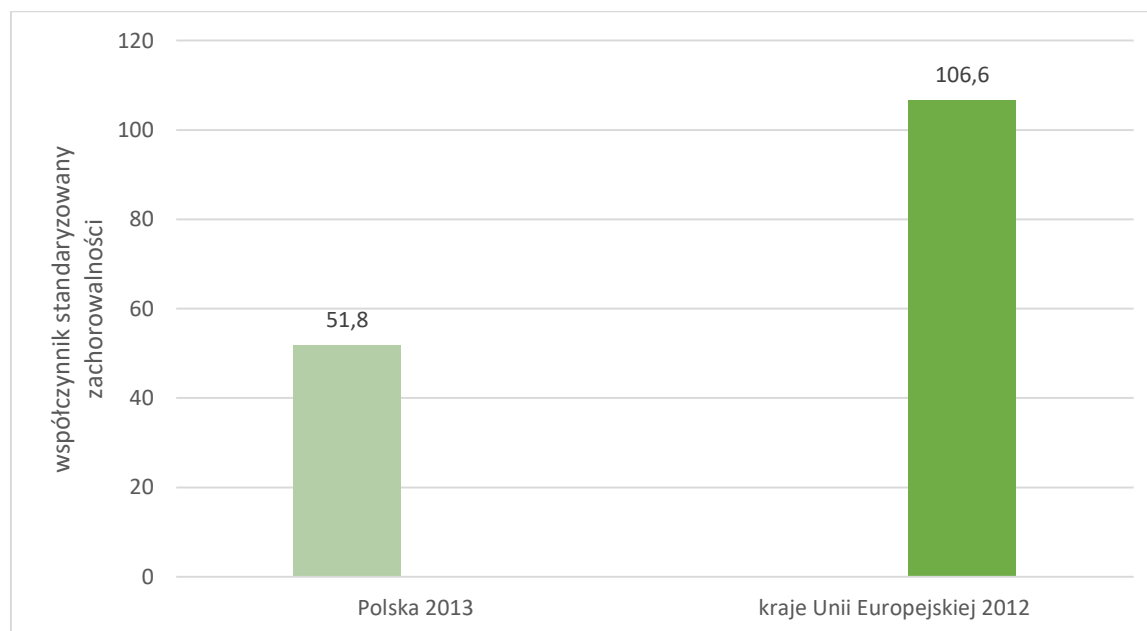
W krajach Unii Europejskiej od dwóch dekad jest drugim co do częstości występowania nowotworem złośliwym. Co roku rozpoznaje się blisko 300 000 nowych zachorowań (25% wszystkich nowotworów rozpoznanych u kobiet). Największy odsetek zachorowań i zgonów notuje się w Danii i w Holandii, najniższy na Litwie i Łotwie. Statystyki pięcioletnich przeżyć wśród krajów europejskich najpomyślniej wypadają w Szwecji, we Włoszech i we Francji (średnia wartość wskaźnika przeżyć pięcioletnich dla Europy Północnej i Zachodniej wynosi 74%, najgorsze rokowania notuje się w Estonii, Polsce i na Słowacji, gdzie pięcioletnie przeżycia dotyczą 58% chorych, w Ameryce Południowej 67%, najniższe wskaźniki przeżyć obserwuje się w krajach Afryki Subsaharyjskiej 32% [82]

Począwszy od lat 60. XX w. w Polsce liczba rejestrowanych zachorowań i zgonów wciąż rośnie, choć w przypadku umieralności trend ten uległ pewnej poprawie. Od lat 90. kiedy to zaobserwowano krótki okres plateau, śmiertelność wykazuje niewielką lecz stopniową tendencję spadkową [76, 77]. (tabela 4)

Tabela 4. Dynamika zachorowań i zgonów z powodu nowotworów złośliwych piersi w Polsce w latach 1985-2016 [88].

Rak piersi (C50)		
Rok	Zachorowania	Zgony
1985	6 138	3 795
1995	9 173	4 665
2005	13 385	5 112
2016	18 615	5 816

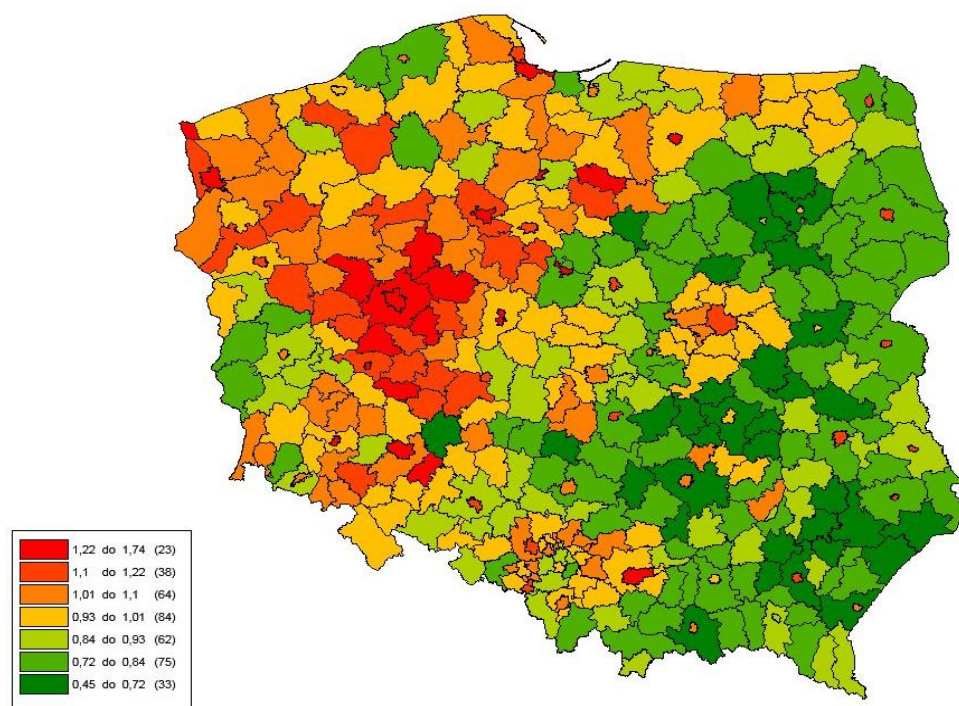
Czynnikiem wyróżniającym Polskę spośród krajów europejskich jest niski współczynnik zachorowalności (*rycina 5*) . Niestety ryzyko zachorowania wykazuje stałą tendencję wzrostową [88].



Rycina 5. Nowotwory złośliwe piersi, zachorowania w Polsce i w krajach Unii Europejskiej, współczynnik standaryzowany zachorowalności [88].

Pomimo wprowadzenia masowych programów profilaktycznych, coraz lepszej diagnostyki i nowoczesnych terapii liczba zgonów jest wysoka. Problem ten pogłębia starzenie się polskiej

populacji, choć nie dotyczy tylko starszych grup wiekowych, nowotwory złośliwe piersi są także przyczyną przedwczesnej umieralności kobiet przed 65 rokiem życia. Prognozy na kolejne lata przewidują dalszy wzrost zachorowań, do około 21 000 nowych przypadków (60/100 000) w 2025 r. przy pewnej stabilizacji zgonów [89, 90]. W Polsce, w latach 1999 - 2013 najwyższe wskaźniki zachorowań na nowotwory złośliwe piersi u kobiet odnotowano w Wielkopolsce, w regionie kujawsko-pomorskim, na Dolnym Śląsku oraz w Zachodniopomorskiem, wysoka zachorowalność dotyczy dużych miast. Niższa liczba zachorowań jest charakterystyczna dla wschodniej części kraju, szczególnie dla regionu: lubelskiego, podkarpackiego, podlaskiego i świętokrzyskiego (rycina 6) [91].



Rycina 6. Nowotwory piersi u kobiet, zachorowalność w Polsce wg. powiatów, 1999 - 2003 [91].

W Wielkopolsce rak piersi jest przyczyną największej zachorowalności wśród wszystkich nowotworów złośliwych u kobiet z odsetkiem na poziomie 24%, w 2018 roku, został rozpoznany u 1 909 kobiet, co w porównaniu z rokiem 1999 (9 757 przypadków) stanowi wzrost o 66% [92]. Według danych GUS, w 2018 r. w województwie wielkopolskim odnotowano 517 zgonów spowodowanych rakiem piersi, w zestawieniu z 1999 r. (474 zgony) przyniósł wzrost o 8.3% [76, 77]. Według przewidywań na najbliższe lata dla Wielkopolski utrzyma się dalszy wzrost zachorowań na nowotwory złośliwe piersi, blisko 2 302 nowych przypadków i 537 zgonów

z powodu choroby nowotworowej [84, 85, 91]. W tej sytuacji niezwykle ważnym elementem skutecznej walki z rakiem staje się dobrze zorganizowana profilaktyka wtórna, skierowana do populacji kobiet w wieku 50-69 lat, u których nie stwierdzono wcześniej choroby nowotworowej piersi. Skuteczność programu w wymiarze populacyjnym wiąże się w wysokim uczestnictwem. Niestety utrzymuje się ono na niskim poziomie. W 2010 r. zaledwie 40 % kobiet wzięło udział w programie profilaktycznym [92, 93, 94]. Lepsze zrozumienie mechanizmów powstawania raka piersi, rozwój biologii molekularnej i wczesna diagnoza nowotworu daje dużo większe szanse na efektywne leczenie, umożliwia zastępowanie okaleczających zabiegów chirurgicznych na rzecz procedur oszczędzających i rekonstrukcyjnych, skraca proces rehabilitacji i umożliwia szybszy powrót do zdrowia. Polskie Towarzystwo Ginekologiczne rekomenduje wykonywanie badania mammograficznego w ramach profilaktyki i wczesnego wykrywania zmian w gruczole piersiowym od 45.-50. roku życia co dwa lata, powyżej 50. roku życia, co rok [94, 95, 96].

1.3 Nowotwory gruczołu piersiowego

Zmiany patologiczne piersi przybierają najczęściej formę wyczuwalnych, czasem bolesnych guzków lub bliżej nieokreślonych struktur, większość z nich to zmiany niezłośliwe [97, 98]. Nowotwory złośliwe piersi są przyczyną największej liczby zachorowań i zgonów wśród kobiet. Do niedawna rak piersi spotykany był głównie wśród białych, zamożnych kobiet w uprzemysłowionych krajach Europy Zachodniej i w Stanach Zjednoczonych, gdzie choruje 1 na 8 kobiet, czyli blisko 6% populacji kobiet do 75 roku życia [96, 98]. Obecnie obserwuje się znaczny wzrost rejestrowanych przypadków w Afryce, Ameryce Łacińskiej i w krajach Azji, gdzie przewiduje się w najbliższych latach skokowy wzrost zachorowań na raka piersi (70% wszystkich rozpoznań na świecie) [96, 97, 98].

1.3.1 Budowa anatomiczna piersi

Piers jest zmodyfikowanym gruczołem potowym pokrytym skórą i tkanką podskórną. Morfologia piersi i wzajemne proporcje elementów gruczołowych do zrębu łącznotkankowego są zależne od stopnia jego rozwoju oraz wpływu czynników hormonalnych. Gruczoł piersiowy nieczynny (nie wytwarza mleka) tworzą zraziki w liczbie od 15 do 25, oddzielone od siebie przegrodami łącznotkankowymi i tkanką tłuszczową. Od każdego zrazika uchodzi przewód

mleczny (wyprowadzający) do brodawki. Przewód mleczny dzieli się na coraz mniejsze przewody segmentalne, te z kolei na małe przewody wewnątrz i zewnątrz zrazikowe, końcowe przewodniki wraz z zawiązkami pęcherzyków wydzielniczych tworzą tzw. końcową jednostkę przewodowo-zrazikową, będącą podstawową jednostką morfologiczną i czynnościową piersi [96]. Wnętrze zrazików wyściela tkanka łączna pozbawiona włókien elastycznych, odznaczająca się wrażliwością na działanie hormonów. W początkowej fazie menarche, na skutek proliferacji końcowych odcinków rozgałęziających się przewodów powstają zraziki. Zarówno przewody jak i zraziki pokryte są nabłonkiem dwuwarstwowym, jego warstwę wewnętrzną tworzą komórki nabłonka o cechach wydzielania i wchłaniania, natomiast warstwę zewnętrzną stanowią komórki mioepitelialne. Podścielisko sutka tworzy gęsta tkanka łączna włóknista i tkanka tłuszczowa. Brodawka piersi i otoczka brodawki pokryte są nabłonkiem wielowarstwowym płaskim, który wnika do ujścia przewodów mlecznych. Gruczoł piersiowy podlega okresowym wpływom hormonalnym w czasie cyklu miesięczkowego. Po fazie owulacji, wskutek wpływu estrogenów i progesteronu rośnie stopień proliferacji komórek zrazików, wzrasta liczba cewek w zraziku i dochodzi do obrzęku podścieliska. Podczas menstruacji spada poziom estrogenów i progesteronu, zostaje uruchomiony mechanizm apoptozy komórek nabłonkowych, zraziki wracają do pierwotnej wielkości, ustępują zmiany obrzękowe. W czasie ciąży dochodzi do pełnego morfologicznego i czynnościowego dojrzewania sutka, odgałęzienia przewodów i przewody końcowe ulegają zwiększeniu, rozwijają się liczne pęcherzyki wydzielnicze otoczone jednowarstwowym nabłonkiem walcowatym lub sześciennym, w trzecim trymestrze ciąży widoczne są w komórkach tego nabłonka pęcherzyki sekrecyjne zawierające lipidy. Po zakończeniu laktacji następuje involucja części zrazików, sutek zmniejsza swoją objętość. Wraz z wiekiem przewody, zraziki i podścielisko ulegają postępującej atrofii, ostatecznie pozostają nieliczne zraziki i przewody, gęstą tkankę łączną zastępuje tkanka tłuszczowa [96].

1.3.2 Klasyfikacja nowotworów piersi

Tabela 5. Klasyfikacja histologiczna nowotworów piersi. Wersja uproszczona wg. WHO [98].

	Kategoria zmiany	Jednostka chorobowa
1	łagodne zmiany rozrostowe	gruczolistość stwardniająca (ang. <i>sclerosing adenosis</i>) gruczolistość apokrynowa (ang. <i>apocrine adenosis</i>) blizna promienista/ złożona zmiana stwardniająca (ang. <i>radial scar/complex sclerosing lesion</i>) gruczolak cewkowy (ang. <i>tubular adenoma</i>) gruczolak przewodowy (ang. <i>lobular adenoma</i>)
2	wewnątrzprzewodowe zmiany rozrostowe	zwykła hiperplazja przewodowa (ang. <i>usual ductal hyperplasia</i>) zmiany walcowatokomórkowe wraz z płaską atypią nabłonkową (ang. <i>columnar cell changes including flat epithelial atypia</i>) atypowa hiperplazja przewodowa (ang. <i>atypical ductal hyperplasia</i>)
3	zmiany prekursorowe	rak przewodowy in situ (ang. <i>ductal carcinoma in situ, DCIS</i>) neoplazja zrazikowa (ang. <i>lobular neoplasia</i>) atypowa hiperplazja zrazikowa (ang. <i>atypical hyperplasia</i>) rak zrazikowy in situ (ang. <i>lobular carcinoma insitu, LCIS</i>)
4	zmiany brodawkowe	brodawczak wewnątrzprzewodowy (ang. <i>intraductal papilloma</i>) z atypową hiperplazją (ang. <i>with atypical hyperplasia</i>) z rakiem przewodowym in situ (ang. <i>with DCIS</i>) z rakiem zrazikowym in situ (ang. <i>with LCIS</i>) wewnątrzprzewodowy rak brodawkowaty (ang. <i>intraductal papillary carcinoma</i>) lity rak brodawkowy in situ (ang. <i>solid papillary carcinoma</i>)
5	naciekające nowotwory piersi	rak mikroinwazyjny (ang. <i>microinvasive carcinoma</i>) rak naciekający bez specjalnego typu (ang. <i>invasive carcinoma of no special type, NST</i>) przewodowy rak inwazyjny (ang. <i>invasive ductal carcinoma not otherwise specified, NOS</i>) zrazikowy rak inwazyjny (ang. <i>invasive lobular carcinoma</i>) rak cewkowy, tubularny (ang. <i>tubular carcinoma an cribriform carcinoma</i>) rak koloidalny, śluzowy (ang. <i>mucinous carcinoma</i>) rak brodawkowaty (ang. <i>invasive solid papillary carcinoma</i>) rak rdzeniasty (ang. <i>medullary carcinoma</i>) rak metaplastyczny (ang. <i>metaplastic carcinoma</i>) rak Pageta (ang. <i>Paget carcinoma</i>) rak sutka męskiego (ang. <i>male breast cancer</i>)
6	nowotwory nienabłonkowe	mięsak (ang. <i>sarcoma</i>) chłoniak nieziarniczny (ang. <i>Non-Hodgkin lymphoma</i>) guzkowe zapalenie powięzi (ang. <i>Nodular fascitis</i>) naczyniak (ang. <i>angioma</i>)
7	nowotwory włóknistonabłonkowe	gruczolakowłókniak (ang. <i>fibroadenoma</i>) guz liściasty (ang. <i>phyllodes tumor</i>) łagodny (ang. <i>benign</i>) graniczny (ang. <i>borderline</i>) złośliwy (ang. <i>malignant</i>)

1.3.3 Nowotwory łagodne piersi

Nowotwory łagodne piersi to zmiany patologiczne przybierające najczęściej formę wyczuwalnych, czasem bolesnych guzków lub bliżej nieokreślonych struktur, większość z nich to zmiany niezłośliwe. Zapalenia i zmiany wsteczne związane są najczęściej z okresem karmienia czy involucją struktur wydzielniczo-przewodowych w podeszłym wieku. Przyczyną mogą być infekcje spowodowane przez bakterie *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus aureus*. Zwykle towarzyszy im ból i tkliwość zajętego obszaru. Zmiany włóknisto-torbielowate (40% wykrytych zmian w kobiecej piersi) związane jest z okresem reprodukcyjnym i cykliczną stymulacją hormonalną. Wśród nich możemy wyróżnić zmiany nieproliferacyjne, charakteryzujące się zwiększoną ilością włóknistego podścieliska i tworzeniem się torbieli. Zmiany te są często wieloogniskowe, obustronne i zazwyczaj nie są związane ze zwiększonym ryzykiem raka piersi. Zmiany proliferacyjne (hiperplazja nabłonkowa) bywają związane ze współistniejącymi zmianami włóknisto-torbielowatymi, mówimy o nich wówczas, gdy w badaniu mikroskopowym w przewodach i zrazikach występują więcej niż dwie warstwy komórek. Hiperplazja może przybierać różne formy, od umiarkowanych i uporządkowanych do atypowych, przypominających raka in situ. Nowotwory łagodne piersi mogą rozwijać się z tkanki łącznej lub struktur nabłonkowych. W gruczolakowłókniakach zrąb nabłonkowy ma charakter nowotworowy, jest typowy dla młodych kobiet. Przyjmują najczęściej postać pojedynczych guzków, dobrze odgraniczonych, ruchomych względem otoczenia. Mogą zwiększać swoje rozmiary w czasie cyklu miesięczkowego i podczas ciąży, później mogą zanikać lub ulec zwapnieniu. Brodawczaki śródprzewodowe rozwijają się w nabłonku przewodów gruczołu piersiowego tworząc delikatne rozrosty o poszerzonych przewodach. Mogą występować jako zmiany pojedyncze lub mnogie. Czasem towarzyszy im krwisty lub surowiczy wyciek z brodawki. W utkaniu guza liściastego z kolei, wyróżnia się elementy gruczolowe i mezenchymalne, które mogą ulec złośliwej transformacji. Występują w każdym wieku. W przypadku postaci łagodnej ryzyko lokalnej wznowy jest niewielkie, przerzutów nie stwierdza się. W postaci granicznej ryzyko miejscowej wznowy wzrasta do 25%, prawdopodobieństwo przerzutów wynosi < 5%.

Forma złośliwa nowotworu wiąże się z dużym ryzykiem wznowy lokalnej, przerzuty odległe dotyczą 25% przypadków. Rokowania po leczeniu operacyjnym są dobre, przeżycia odległe sięgają 95% w przypadku typu niezłośliwego, 73% dla typu borderline i 66% dla guzów złośliwych [96].

1.3.4 Rak piersi

Rak sutka jest nowotworem wywodzącym się z nabłonka, w większości przypadków dotyczy końcowej jednostki przewodowo-zrazikowej. Zarówno w Polsce jak i na świecie jest najczęstszym nowotworem złośliwym występującym u kobiet. Często przybiera postać pojedynczej, dyskretnej, bezbolesnej i ruchomej zmiany. Rak piersi częściej występuje w piersi lewej, około 50% umiejscowionych jest w kwadrancie górnym, zewnętrznym, 20% w części centralnej i odpowiednio po 10% w pozostałych kwadrantach piersi. Raki mogą występować pierwotnie obustronnie lub wieloogniskowo. Rozsiew nowotworu odbywa się drogą naczyń limfatycznych i naczyniami krwionośnymi prowadząc do odległych ognisk wtórnych niemal w każdym organie, najczęściej w płucach, układzie kostnym, nadnerczach, wątrobie i w mózgu. W momencie wykrycia ma zazwyczaj 2 - 3 cm i stwierdza się już zajęcie regionalnych węzłów chłonnych u 50% pacjentek. W przesiewowej mammografii udaje się wykryć zmiany, zanim staną się wyczuwalne palpacyjnie, o średnicy około 1 cm, a przerzuty do węzłów chłonnych stwierdza się u 15% chorych. [96]. Podstawowa klasyfikacja nowotworów piersi opiera się na kryterium naciekania błony podstawnej, zmiany pozostające w jej granicach to raki przedinwazyjne, raki które przekroczyły granicę błony podstawnej to raki naciekające (inwazyjne) [96].

1.3.4.1 Czynniki ryzyka raka piersi:

- płeć, 99% nowotworów złośliwych piersi dotyczy kobiet, 1% przypadków stwierdza się u mężczyzn [96]. W 2015 r. w Polsce zachorowało na ten typ nowotworu 18 106 kobiet i 139 mężczyzn [100];
- wiek, ryzyko zachorowania wzrasta wraz z wiekiem, szczególnie po menopauzie, szczyt zachorowań przypada na siódmą i ósmą dekadę życia (75% kobiet > 50 roku życia, 5% < 40 lat) [62, 97, 101];
- predyspozycje genetyczne, przyjmuje się, że około 5 - 10% raków ma podłoże genetyczne,

ryzyko wzrasta w przypadku obciążonego wywiadu rodzinnego u krewnych pierwszego stopnia. U kobiet będących nosicielkami mutacji w genach *BRCA1* w obrębie 17 chromosomu i *BRCA2* w obrębie 13 chromosomu ryzyko to wynosi blisko 60 - 70%. Dziedziczne mutacje genu supresorowego *TP53* występujące w zespole Li-Fraumeni zwiększają ryzyko nie tylko raka piersi, ale również białaczek, guzów mózgu i mięsaków [101, 102, 103]. Nadekspresja protoonkogenu *HER/neu* związana jest z gorszym rokowaniem, występuje w ponad 30% naciekających raków piersi. Amplifikacja genów *RAS* i *MYC* także dotyczy nowotworów złośliwych piersi [101, 102, 103];

- czynniki geograficzne, w zindustrializowanych rejonach Ameryki Północnej i w Europie Zachodniej ryzyko wystąpienia raka jest wielokrotnie wyższe w porównaniu z krajami azjatyckimi, Ameryką Łacińską czy Afryką, choć w ostatnich latach obserwuje się niekorzystny trend wzrostu zachorowań w krajach rozwijających się [62, 105];
- zmiany proliferacyjne gruczołu piersiowego bez cech atypii i z rozpoznaną atypową hiperplazją oraz rak zrazikowy in situ istotnie zwiększają ryzyko wystąpienia nowotworu piersi [62, 96];
- czynniki rasowe i etniczne, najwyższe współczynniki zachorowań dotyczą niełatynoskich białych kobiet, natomiast u kobiet afroamerykańskich i latynoskich częściej nowotwór ten występuje u młodych kobiet i wykazuje większą agresywność [104];
- wpływ hormonów, wczesna menarche i późna menopauza wydłuża okres ekspozycji hormonalnej, szczególnie oddziaływanie wysokiego poziomu estrogenów, które stymulują produkcję czynników wzrostu (transformujący czynnik wzrostu alfa) czy płytkopochodny czynnik wzrostu płytek (PDGF) co znacząco wpływa na promocję raka piersi poprzez uruchomione mechanizmy autokrynne i parakrynne [96, 102, 104]. Stosowanie doustnych środków antykoncepcyjnych wpływa na zwiększenie proliferacji komórek nabłonka gruczołowego piersi, w których potencjalnie może rozwinąć się nowotwór. Hormonalna terapia zastępcza wpływa podobnie na wzrost ryzyka jak późna menopauza. Istnieje także zależność między wystąpieniem raka piersi a wiekiem kobiety rodzącej pierwsze dziecko, pierwsza ciąża po 30 roku życia niesie za sobą większe ryzyko choroby w porównaniu do rodzących w młodszym wieku [62, 96, 101, 102, 103];

Także kobiety bezdzietne narażone są bardziej niż wieloródki. Karmienie piersią uważane jest za czynnik protekcyjny, wiąże się z mniejszym ryzykiem raka piersi, szczególnie w okresie przedmenopauzalnym [96, 101, 102];

- inne możliwe czynniki, wspomniane wcześniej egzogenne estrogeny, dieta bogata w tłuszcze nasycone i cukry prowadząca do otyłości, nadużywanie alkoholu i wyrobów tytoniowych, brak aktywności fizycznej, ekspozycja środowiskowa i zawodowa (pestycydy, mykotoksyny, promieniowanie jonizujące, także w dawkach terapeutycznych) [106, 107, 108].

1.3.4.2 Czynniki prognostyczne w nowotworach złośliwych piersi:

- wiek pacjentki, młodszy wiek pacjentki jest złym prognostykiem, niezależnie od innych czynników [96, 101];
- rozmiary guza, pomiar materiału operacyjnego stanowi jeden z ważniejszych czynników rokowniczych. Ryzyko zgonu lub nawrotu choroby koreluje ze wzrostem średnicy guza (średnica guza $< 0,5$ cm oznacza prawdopodobieństwo przeżycia pięcioletniego w 96%, w przypadku guzów $> 0,5$ cm szanse przeżycia pięcioletniego wynoszą już tylko około 63%. Niewielkie rozmiary guza nie są jednoznacznym wykładnikiem pozytywnego rokowania, niewyczuwalne guzy o średnicy $< 0,1$ cm mogą także tworzyć przerzuty do węzłów chłonnych [96, 101];
- stan pachowych węzłów, ryzyko zgonu lub wznowy wzrasta wraz z liczbą stwierdzonych przerzutowych węzłów chłonnych. W przypadku braku węzłów chłonnych z przerzutami, przeżycia pięcioletnie dotyczą 72% nowotworów złośliwych piersi, gdy przerzuty są obecne w 1 - 3 węzłów chłonnych przeżycia pięcioletnie odnoszą się do 63% chorych, w przypadku stwierdzonych przerzutów w $> 6 - 10$ węzłach chłonnych przeżycia pięcioletnie dotyczą tylko 41% pacjentek. Czynnikiem pogarszającym rokowanie jest naciekanie przez nowotwór torebki węzła chłonnego. Do wiarygodnej oceny stanu węzłów chłonnych konieczna jest ocena mikroskopowa minimum 10 węzłów chłonnych [96, 101];
- typ histologiczny, tylko 20% kobiet z rozpoznaniem rakiem przewodowym inwazyjnym (NOS) przeżyje > 20 lat, lepsze rokowania mają nowotwory: rdzeniasty, brodawkowy czy śluzowy (60% chorych z takim rozpoznaniem przeżyje > 20 lat) [96, 101];
- ocena histologicznego stopnia złośliwości (*ang. grading*), wg. skali Blooma i Richardsona

zmodyfikowanej przez Elstona i Ellisa, w której analizuje się cechy jąder komórkowych nowotworu, stopień polimorfizmu komórek, obecność cewek gruczołowych oraz indeks mitotyczny. W przypadku nowotworów in situ oceniany jest wygląd jąder komórkowych i obecność martwicy [96, 100, 101];

Stopnie złośliwości histologicznej:

G1 (3 - 5 punktów), oznacza niski stopień złośliwości, związany z wysokim stopniem dojrzałości nowotworu i małym prawdopodobieństwem przerzutów, raki dobrze zróżnicowane, 45 - 85% prawdopodobieństwo przeżycia > 10 lat

G2 (6 - 7 punktów), średni stopień złośliwości, prezentuje pośredni stopień dojrzałości, raki średnio zróżnicowane, 28 - 70% prawdopodobieństwo przeżycia > 10 lat

G3 (8 - 9 punktów), cechuje go wysoki stopień złośliwości histologicznej, niski stopień dojrzałości nowotworu o szybkim wzroście i skłonności do przerzutowania

- indeks proliferacji Ki67, antygen Ki67 (*ang. proliferative index Ki67*), marker indeksu mitotycznego. Białko jądrowe występujące w dwóch izoformach, obecne w komórce podczas faz czynnych podziału komórkowego (G1, S, G2, mitozy), nie obserwowany w fazie G0. Nie wykazuje ekspresji w trakcie procesów naprawczych DNA. Stwierdzono korelację tego czynnika z przebiegiem nowotworów, szczególnie z rakiem piersi i rakiem gruczołu krokowego [96, 100, 101, 109];
- marker angiogenezy, naczyniowo-śródnabłonkowy czynnik wzrostu (*ang. Vascular endothelial growth factor, VEGF*), białko sygnałowe biorące udział w angiogenezie, uważany za zły prognostyk w nowotworach piersi, wysoki poziom VGFR może wskazywać na wczesny etap tworzenia się przerzutu [109];
- białka szoku termicznego (*ang. heat shock proteins, HSP*), grupa białek różniących się masą cząsteczkową, ich ekspresja wzrasta w odpowiedzi na działanie czynników stresowych w komórce. Zadaniem tych białek, tzw. „białek opiekuńczych” jest ochrona innych białek wewnątrzkomórkowych przed proteolizą spowodowaną bodźcami wywołującymi stres w komórce (temperatura zarówno niska jak i podwyższona, stres osmotyczny, wpływ metali ciężkich, promieniowanie UV, niedotlenienie, działanie toksyn, infekcje, stany zapalne) [96, 109];

1.3.4.3 Wybrane czynniki predykcyjne w nowotworach złośliwych piersi:

- receptory estrogenowe (*ang. estrogen receptor, ER*), białka o masie 65 kDa związane z błoną jądrową. Aktywowane obecnością hormonów estrogenowych, stymulują wzrost i prawidłowe podziały nabłonka gruczołowego piersi. Mechanizm ten może działać także jak mitogen, wpływając na wzmożoną proliferację komórek raka naciekającego. Wykazano korelację między tempem wzrostu guza a obecnością receptorów estrogenowych. Za istotne klinicznie uważa się dodatnie reakcje jądrowe na obecność tychże receptorów w >1% komórek raka inwazyjnego. W około 80% naciekających raków przewodowych i w blisko 100% naciekających raków zrazikowych potwierdza się dodatnią ekspresję receptorów estrogenowych [62, 80, 96],
- receptory progesteronowe (*ang. progesteron receptor, PgR*), steroidowe receptory estrogenozależne, stymulowane obecnością progesteronu. Wpływają na proces namnażania i wzrost komórek nabłonka gruczołowego piersi. Za dodatni wynik badania immunohistochemicznego przyjmuje się reakcję jądrową w >1% jąder komórek raka naciekającego. Obecność receptorów progesteronowych stwierdza się w 60 – 70% inwazyjnych nowotworów piersi, a w blisko 70% równocześnie z receptorami estrogenowymi. Korelacja obu receptorów związana jest z pozytywną odpowiedzią na leczenie hormonalne w około 60% przypadków [96, 98, 101];
- receptor HER2 (*ang. epidermal growth factor receptor*), białko receptorowe spokrewnione z nabłonkowym czynnikiem wzrostu (EGFR) wykazującym aktywność kinazy tyrozynowej. Kodowane przez protoonkogen *ERB-2*, umiejscowione na 17 chromosomie. Amplifikacja tego genu prowadzi do nadekspresji białka HER2 na powierzchni komórek nowotworu (min. rak piersi i rak żołądka). Mechanizm ten został wykorzystany do stworzenia terapii humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym, które z powodu powinowactwa z białkiem HER2 wiąże się z nim, blokując tym samym rozrost komórek raka o nadmiernej ekspresji tego białka [96, 98, 101];
- E-kadheryna (*ang. E-cadherin*), cząsteczka białkowa o masie 120 kDa pełniąca ważną funkcję w adhezji komórek nabłonka gruczołowego, w polaryzacji, różnicowaniu i we wzajemnym ułożeniu komórek gruczołowych. W blisko 85% przypadków rozpoznanego inwazyjnego raka zrazikowego nie stwierdza się ekspresji tego czynnika, co wiąże się ze

wzrostem stopnia złośliwości, zwiększonym ryzykiem progresji nowotworu i tworzeniem przerzutów. W raku naciekającym typu NOS stwierdza się ekspresję E-adheryny [96];

- białko p53 (*ang. P53 protein*), białko biorące udział w regulacji mechanizmów naprawy DNA w komórce, a także w indukcji apoptozy jako odpowiedzi komórki na jej uszkodzenie. Ulega aktywacji pod wpływem stresu oksydacyjnego i cieplnego, niestabilności genomu czy rozwoju nowotworów [96];

1.3.4.4 Diagnostyka patomorfologiczna nowotworów złośliwych gruczołu piersiowego

Badanie mikroskopowe materiału tkankowego pobranego z podejrzanej zmiany lub z guza gruczołu piersiowego i otaczających go struktur (także w oparciu o badanie makroskopowe) wg. przyjętego schematu pozwala określić typ nowotworu, stopień jego zaawansowania, a także ocenić ryzyko nawrotu choroby. Na podstawie rozpoznania patomorfologicznego ustala się późniejsze algorytmy postępowania terapeutycznych. Raport patomorfologiczny powinien zawierać dane (po uwzględnieniu rodzaju dostarczonego materiału) [102]:

- lokalizacja guza z uwzględnieniem kwadrantu piersi, odległość od powięzi skóry; granic zewnętrznych, od strony przymostkowej oraz wymiarów guza;
- liczba ognisk raka;
- rodzaj naciekania;
- obecność zatorów nowotworowych w naczyniach krwionośnych i limfatycznych;
- naciekanie brodawki, powięzi, mięśni i skóry;
- obecność martwicy;
- radykalność zabiegu operacyjnego wraz z oceną marginesów;
- liczba usuniętych węzłów chłonnych z określeniem liczby węzłów objętych przerzutem;
- naciekanie tkanki tłuszczowej i torebek węzłów chłonnych;
- stan podścieliska, obecność ewentualnych nacieków zapalnych, elastozy i desmoplazji;
- stopień złośliwości histologicznej wg. skali Blooma i Richardsona zmodyfikowanej przez Elstona i Ellisa (*ang. grading*);
- klasyfikacja guza wg. skali pTNM, będącej oceną stopnia zaawansowania nowotworu opiera się na kryteriach anatomicznych w ocenie trzech najistotniejszych cech w rozwoju choroby nowotworowej, gdzie:

T oznacza wielkość guza pierwotnego (ang. tumor);

N oznacza stan regionalnych węzłów chłonnych (ang. nodes) opisujący stopień rozprzestrzenienia się nowotworu do regionalnych węzłów chłonnych drogą naczyń limfatycznych,;

M określa brak lub obecność przerzutów odległych (ang. metastases);

- podtypy nowotworów złośliwych piersi, wyróżnione na podstawie profilowania genetycznego i oceny ekspresji wybranych genów [102].

- a) *typ luminalny A (HER2 ujemny) gdzie: ER+, PgR+, HER2/NEU-, niski indeks proliferacji Ki67<14% ;*
- b) *typ luminalny B (HER2 dodatni), ER+, PgR+, HER2/NEU+, Ki67 każdy;*
- c) *typ luminalny B (HER2 ujemny), ER+, PgR+, HER2/NEU-, Ki67>14%;*
- d) *typ HER2/NEU dodatni (neluminalny), ER-, PgR-, HER2/NEU+, Ki67 każdy;*
- e) *typ bazalopodobny (basal-like breast, triple-negative breast cancer, TNBC), ER-, PgR-, HER2/NEU-, Ki67 każdy.*

1.3.4.5 Leczenie nowotworów złośliwych gruczołu piersiowego

Dobór odpowiedniego sposobu leczenia możliwy jest po ustaleniu rozpoznania patomorfologicznego z uwzględnieniem informacji uzyskanych w badaniu przedmiotowym i podmiotowym. Zazwyczaj leczeniem z wyboru jest interwencja chirurgiczna. Leczenie odbywa się w wyspecjalizowanych ośrodkach onkologicznych [96, 102, 110].

- leczenie oszczędzające z pozostawieniem części gruczołu piersiowego i zadawalającego efektu kosmetycznego, leczeniem uzupełniającym jest radioterapia. Ten typ leczenia podejmuje się w przypadku zmian <3 cm, w stopniu Tis, T1N0M0, T2N0M0. Przeciwwskazaniem do zabiegu może być obustronny nowotwór piersi, wcześniejsze napromienianie sutka, kolagenoza, ciąża i inne;
- doszczętna mastektomia w modyfikacji Pateya, wskazaniem do radykalnej mastektomii może być rak piersi w stopniu I lub II, nie zakwalifikowany do zabiegu oszczędzającego, III stopień zaawansowania raka sutka lub wznova po wcześniejszym leczeniu oszczędzającym. Nie zaleca się doszczętnej mastektomii w zaawansowanych stadiach nowotworu (stopień IIIB i IV) oraz w przypadku przeciwwskazań do znieczulenia ogólnego;
- leczenie miejscowe, prowadzone jest u pacjentek z lokalnie zaawansowanym procesem

nowotworowym bez stwierdzonych przerzutów odległych. Chora zostaje poddana leczeniu systemowemu przez 6-9 tygodni, w tym celu stosuje się chemioterapię, hormonoterapię i terapię celowaną ;

- leczenie uzupełniające, stosuje się po doszczętnym leczeniu miejscowym w przypadkach, gdy nie stwierdzono obecności przerzutów i wznowy miejscowej. Ten typ leczenia ma na celu zniszczenie potencjalnie istniejących mikroprzerzutów. O doborze leczenia decyduje status ER i wiek chorej, po wcześniejszym leczeniu chirurgicznym i chemioterapii zaleca się zazwyczaj radioterapię uzupełniającą w skojarzeniu z leczeniem systemowym ;
- leczenie przypadków rozlanego raka piersi jest rozwiązaniem paliatywnym mającym na celu złagodzenie objawów choroby. Do podstawowych metod należą chemioterapia hormonoterapia i radioterapia, a także leczenie przeciwbólowe i terapie łagodzące leczenie podstawowe;
- leczenie raka piersi w ciąży, zależne jest od zaawansowania ciąży i samego nowotworu i wymaga indywidualnej strategii. W przypadku wczesnej lub średniozaawansowanej postaci raka przewiduje się możliwość radykalnej mastektomii lub zastosowanie chemioterapii z utrzymaniem ciąży, późna ciąża może być wskazaniem do rozpoczęcia leczenia po jej rozwiązaniu. W stanach zaawansowanych choroby, w pierwszym trymestrze ciąży wskazane może być rozwiązanie ciąży i leczenie odpowiednie do zaawansowania nowotworu. W późnej ciąży możliwa jest chemioterapia programem z wyłączeniem metotreksatu lub po leczeniu po rozwiązaniu.

2. Cele pracy

Nowotwory nie są zjawiskiem nowym, począwszy od Hipokratesa, Avicenny, Galena po Rudolfa Virchowa i osiągnięcia współczesnej medycyny próby zdefiniowania raka rozumianego jako choroba rozrostowa o charakterze złośliwym nieustannie ewoluują. Dopiero przełom XX i XXI wieku wraz z niezwykle postępowaniem technologicznym pozwolił na rozwój coraz doskonalszych metod badawczych i przyczynił się do lepszego poznania istoty choroby nowotworowej dając podstawy do ustalenia precyzyjnej diagnozy i oceny czynników prognostycznych i predykcyjnych, mających kluczowe znaczenie dla określenia rodzaju i zakresu stosowanych terapii. Niezwykle ważną stają się także działalność epidemiologiczna, a w szczególności rejestry nowotworów, w których gromadzi się dane o przypadkach zachorowań i zgonów. Analiza danych w rejestrach pozwala na śledzenie zagrożeń nowotworami oraz planowanie różnorodnych aspektów walki z rakiem, zarówno profilaktyki, diagnostyki jak i leczenia. Analiza danych historycznych może posłużyć jako interesujące uzupełnienie istniejących raportów statystycznych, a materiał tkankowy ze względu na swoje właściwości może stanowić podstawę do wielu pogłębionych opracowań porównawczych.

Zakład Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii działa nieprzerwanie od 1953 r. gromadząc obszerny materiał archiwalny na który składają się materiały tkankowe i cytologiczne zatopione w blokach parafinowych, preparaty histologiczne i cytologiczne barwione hematoksyliną i eozyną oraz zbiór dokumentacji medycznej pacjentów.

Celem głównym niniejszej pracy jest retrospektywna analiza:

- a) dokumentacji medycznej pacjentów diagnozowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO,
- b) przydatności materiału tkankowego zdeponowanego w archiwum Zakładu Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii,

Cele szczegółowe obejmują:

2.1. Analizę archiwalnej dokumentacji medycznej pacjentów z lat 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 zachowanej w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO i ocenę jej wartości w kontekście zebranych danych epidemiologicznych z uwzględnieniem najistotniejszych informacji (liczba zarejestrowanych przypadków, rozpoznanie patomorfologiczne dodatnie, struktura wieku i płci, umiejscowienia, najczęstsze nowotwory złośliwe).

2.2. Ocenę zachowanych właściwości biologicznych i możliwości wykorzystania archiwalnego materiału tkankowego do badań dodatkowych na przykładzie wybranych przypadków raka piersi z lat 1954, 1964, 1971, 1984 i 1994. Materiał archiwalny Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

3. Materiał

Materiał badawczy pochodzi w całości ze zbiorów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii w Poznaniu. Dane w pracowniach histopatologii zbierane są na podstawie Ustawy o zakładach opieki zdrowotnej i Rozporządzeń Ministra Zdrowia w sprawie rodzajów i zakresu dokumentacji medycznej w zakładach opieki zdrowotnej oraz sposobu jej przetwarzania (Dz.U. z 2006, nr 247 poz. 1257) oraz w oparciu o regulacje wewnętrzne Dyrektora Wielkopolskiego Centrum Onkologii. Zasady przechowywania reguluje Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 18 grudnia 2017 r. w sprawie standardów organizacyjnych opieki zdrowotnej w dziedzinie patomorfologii, które nakłada na podmioty opieki zdrowotnej obowiązek przechowywania w/w materiału minimum 20 lat [110].

3.1 Archiwalna dokumentacja medyczna pacjentów z lat 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 ze zbiorów Zakładu Patologii Nowotworów WCO zebrana w księgach zawierających arkusze z podstawowymi danymi umożliwiającymi identyfikację pacjenta (nazwisko i imię, data urodzenia lub wiek, dane kliniczne, rodzaj materiału, treść wyniku patomorfologicznego, data wydania oraz numer badania nadany w pracowni). Dane personalne pacjentów nie zostały wykorzystane w niniejszym opracowaniu. Badania z lat 1954 - 1984 nie figurują w ewidencji szpitala, nie zachowały się również historie choroby z tego okresu, zatem w pierwszej kolejności należało stworzyć rejestr pacjentów badanych w Zakładzie Patologii Nowotworów. W wyniku starannej selekcji, spośród 16 076 arkuszy wyłoniono przypadki z rozpoznaniem nowotworem złośliwym (łącznie 5 115 badań), raport ten stał się podstawą do opracowania szczegółowych algorytmów epidemiologicznych i umożliwił stworzenie puli materiału tkankowego. Niestety nie zachowała się dokumentacja medyczna z 1994 r. prawdopodobnie zniszczona podczas jednej z wielu przeprowadzek archiwum. Brak spójnego systemu informatycznego HMS sprawił, że uzyskane dane z roku 1994 dotyczą liczby badań przyjętych do pracowni, nie udało się natomiast stworzyć pozostałych algorytmów porównawczych. Odnaleziono jedynie niewielką część dokumentacji medycznej pacjentek z rozpoznaniem nowotworem piersi (badania śródoperacyjne i resekcje gruczołu piersiowego), na tej podstawie możliwe było ustalenie prawdopodobnej liczby przypadków nowotworów złośliwych piersi i struktury wiekowej pacjentek.

3.2 Archiwalny materiał tkankowy w postaci preparatów parafinowych, wybranych przypadków raka piersi z lat 1954, 1964, 1971, 1984, 1994 (archiwum Zakładu Patologii Nowotworów, WCO) zebrany na podstawie analizy dokumentacji medycznej. Nie zachował się materiał parafinowy z roku 1974 i kilku kolejnych lat, najprawdopodobniej zagubiony lub zniszczony podczas kolejnej relokacji archiwum. Do badań wykorzystano bloczki tkankowe z 1971 r. Ze względu na stopień zniszczenia części materiału, jako reprezentatywną wybrano grupę 20 przypadków raka piersi z każdego analizowanego roku, łącznie 100 próbek.

4. Metody

4.1 Analiza dokumentacji medycznej pacjentów na podstawie istotnych parametrów statystycznych (liczby bezwzględne, wskaźnik struktury, współczynnik surowy zachorowalności):

liczby bezwzględne, wyrażają bezwzględną liczbę przypadków zachorowań/zgonów na nowotwory złośliwe w określonej populacji i w określonym przedziale czasu, uwzględniają wielkość i strukturę wiekową grupy badanej;

wskaźnik struktury, określa odsetek liczby zachorowań/zgonów z powodu nowotworów złośliwych w zdefiniowanej populacji, przedstawia procentowy udział określonej lokalizacji np.: rak piersi w odniesieniu do wszystkich nowotworów w badanym okresie, w danej populacji;

współczynnik surowy zachorowalności/umieralności przedstawia liczbę zachorowań/zgonów na 100 000 badanej populacji, wartość ta nie jest zależna od struktury wieku populacji i jest obliczony wg. wzoru:

$$SS = \frac{k}{p} \times 100\,000$$

gdzie:

k - liczba zachorowań/zgonów w badanej populacji

p - liczba ludności w badanej populacji

4.2 Ocena jakości archiwalnego materiału tkankowego na przykładzie wybranych przypadków nowotworów piersi z wykorzystaniem standardowych procedur histochemicznych, immunohistochemicznych i molekularnych, stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów, WCO z zachowaniem wszelkich zasad bezpieczeństwa na danym stanowisku pracy.

4.2.1 Techniczne opracowanie preparatów mikroskopowych (ze względu na stan archiwizowanego materiału i sposób formowania bloczka parafinowego w przeszłości próbka wymagała wstępnego „przetopienia”, a następnie impregnacji w świeżej porcji parafiny).

4.2.1.1 Materiał tkankowy zatopiono w parafinie o temp. topnienia 62 °C, po czym umieszczono w foremce dostosowanej wielkością do rozmiarów tkanki, w optymalnym położeniu

umożliwiającym uzyskanie całego przekroju badanej próbki podczas skrawania, zalano parafiną i przykryto kasetką histopatologiczną opatrzoną numerem/rok badania. Po wystudzeniu i usunięciu foremki bloczek był gotowy do skrojenia.

4.2.1.2 Blok parafinowy skrojono na mikrotomie rotacyjnym z łaźnią wodną RM 2245 (Leica) przy użyciu nożyka mikrotomowego MX35 Ultra (Thermo scientific) na skrawki grubości 4 μm , uzyskany materiał umieszczono na szkiełku podstawowym, z uwagi na przeznaczenie materiału do badań immunohistochemicznych i molekularnych użyto specjalnych szkiełek adhezyjnych o zwiększonej przyczepności, Super Frost Plus (Thermo scientific). Na preparacie zapisano rok i numer badania, a następnie materiał poddano suszeniu (temp. 52 - 54°C) w celu wyeliminowania ewentualnych artefaktów w postaci pęcherzyków powietrza. Z każdego przypadku sporządzono jeden preparat przeznaczony do barwienia HE, pięć niebarwionych do badań IHC oraz po kilka skrawków o grubości ok. 40 μm zamkniętych w jałowej probówce typu Eppendorf do badań molekularnych.

Zarówno mikrotom jak i nożyki mikrotomowe stanowią sprzęt medyczny przeznaczony do badań in vitro i został zakupiony zgodnie z dyrektywą 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej z dnia 27 października 1998 r. oraz rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej 2017/746. Szkiełka podstawowe użyte w badaniach spełniają normy zgodne ze standardami ISO: ISO 8037-1:1986, ISO8037-2:1997, ISO-8037 2:1997/COR1:2002 i są zgodne z dyrektywą 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej z dnia 27 października 1998 r. oraz z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej 2017/746 [111].

4.2.1.3 Rutynowe barwienie hematoksyliną i eozyną (HE), w aparacie Leica ST 5020 (Leica).

Tabela 6. Barwienie metodą hematoksylina i eozyna (HE), Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Odczynnik	Czas (min:sek)*
1.	Ksylen	2:00
2.	Ksylen	3:00
3.	Ksylen	3:00
4.	Propanol 100%	1:00
5.	Propanol 90%	0:30
6.	Propanol 70%	0:30
7.	Woda bieżąca	0:30
8.	Hematoksylina Harrisa	15:00
9.	Woda bieżąca	5:00
10.	1% HCl w 70% propanolu	0:05
11.	Woda bieżąca	3:00
12.	1% Eozyna Y, r. wodny	4:30
13.	Woda bieżąca	3:00
14.	Propanol 70%	0:20
15.	Propanol 90%	0:30
16.	Propanol 100%	1:00
17.	Propanol 100%	1:00
18.	Ksylen	0:20
19.	Ksylen	0:20
20.	Ksylen	0:20

*Dokładny czas barwienia zależy od subiektywnej oceny oglądającego i jest wypadkową ustalonego w pracowni algorytmu barwienia, zaleceń producenta urządzenia w którym odbywa się proces barwienia, stopnia zużycia odczynników, czasu różnicowania w 1% HCl i w związku z tym podlega pewnym wahaniom.

Po wybarwieniu preparat histologiczny zamknięto w sposób trwały przy użyciu szkiełka nakrywkowego i odpowiedniego medium do zaklejania preparatów histologicznych, Coverquick 4000 (VWR) w aparacie do montowania preparatów histologicznych CS 5030 (Leica).

Do barwienia preparatów wykorzystano odczynniki:

Hematoksylina Harrisa, numer katalogowy 0694001488 (Chemed)

Eozyna, 1% roztwór wodny, numer katalogowy 0691001488 (Chemed)

Barwniki użyte do opracowania materiału tkankowego są wyrobami medycznymi przeznaczonymi do badań in vitro, zakupione zgodnie z dyrektywą 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej z dnia 27 października 1998 r. i rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady Unii Europejskiej 2017/746 [111].

4.2.2 Metody immunohistochemiczne zastosowane w celu oznaczenia poziomu ekspresji receptorów estrogenowych α , receptorów progesteronowych, statusu białka HER2 oraz ekspresji markera nowotworowego Ki67 u pacjentek z rozpoznanym rakiem piersi z lat 1954, 1964, 1971, 1984, 1994.

4.2.2.1 Oznaczenie ekspresji receptorów estrogenowych α przeprowadzono w aparacie Omnis (Dako).

Tabela 7. Oznaczenie ekspresji receptorów estrogenowych α wg. procedury, Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Etapy postępowania	Odczynniki i immunoreagenty	Czas (min.)
1.	Usuwanie parafiny*	Clearify Cleaning Agent w temp.25°C	1:00
2.	Cieplne odmaskowanie epitopu*	EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) w temp.97°C	30:00
3.	Blokowanie endogennej peroksydazy*	EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent	3:00
4.	Inkubacja z przeciwciałem pierwotnym*	Monoklonalne przeciwciało królicze przeciw ER α w temp. 32°C	10:00
5.	Polimeryzacja*	Kompleks En Vision™ FLEX/HRP	20:00
6.	Inkubacja*	Chromogen En Vision™ FLEX DAB+Substrate Chromogen System	5:00
7.	Barwienie kontrastowe*	En Vision Tm FLEX Hematoksylin	3:00
8.	Płukanie*	Woda destylowana	

*przed każdym kolejnym etapem preparaty płukano w En Vision™ FLEX Wash Buffer (20x).

Następnie preparaty zostały ręcznie przeprowadzone przez szereg alkoholi o wzrastającym stężeniu (70%, 95%, 95%, 100%, 100%), oraz szereg ksylenów (3x) w celu skutecznego odwodnienia materiału, preparaty zamknięto przy użyciu szkiełka nakrywkowego za pomocą medium zamykającego Mounting medium (Dako).

Ocena poziomu ekspresji receptorów estrogenowych α określono na podstawie kryterium obecności reakcji barwnej, zgodnie z zaleceniami Europejskiej Organizacji na rzecz Badań i Leczenia Raka (EORTC). Za dodatnie uznaje się przypadki w których reakcja, bez względu na jej nasilenie wystąpiła $> 1\%$ komórek [113].

4.2.2.2 Oznaczenie receptorów progesteronowych przeprowadzono w aparacie Omnis (Dako).

Tabela 8. Oznaczanie receptorów progesteronowych wg. obowiązującej procedury, Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Etapy postępowania	Odczynniki i immunoreagenty	Czas (min.)
1.	Usuwanie parafiny*	Clarify Cleaning Agent w temp. 25°C	1:00
2.	Ciepłne odmaskowanie epitopu*	EnVision TM FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) w temp. 97°C	30:00
3.	Blokowanie endogennej peroksydazy*	EnVision TM FLEX Peroxidase-Blocking Reagent	3:00
4.	Inkubacja z przeciwciałem pierwotnym*	Monoklonalne przeciwciało mysie przeciw PgR w temp. 32°C	10:00
5.	Polimeryzacja *	Kompleks En Vision TM FLEX/HRP	20:00
6.	Inkubacja*	Chromogen En Vision TM FLEX DAB+Substrate Chromogen System	5:00
7.	Barwienie kontrastowe*	En Vision TM FLEX Hematoksylin	3:00
8.	Płukanie*	Woda destylowana	

*przed każdym kolejnym etapem preparaty płukano w En Vision TM FLEX Wash Buffer (20x).

Następnie preparaty zostały ręcznie przeprowadzone przez szereg alkoholi o wzrastającym stężeniu (70%, 95%, 95%, 100%, 100%), oraz szereg ksylenów (3x) w celu skutecznego odwodnienia materiału, preparaty zamknięto przy użyciu szkiełka nakrywkowego za pomocą medium zamykającego Mounting medium (Dako).

Ocena poziomu ekspresji receptorów progesteronowych określono na podstawie kryterium obecności reakcji barwnej, zgodnie z zaleceniami Europejskiej Organizacji na rzecz Badań i Leczenia Raka (EORTC). Za dodatnie uznaje się przypadki w których reakcja, bez względu na jej nasilenie wystąpiła $> 1\%$ komórek [112, 113].

4.2.2.3 Oznaczenie ekspresji wskaźnika aktywności proliferacyjnej Ki67 przeprowadzono w aparacie Omnis (Dako).

Tabela 9. Oznaczenie ekspresji wskaźnika proliferacji Ki67 wg. ustalonej procedury, Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Etapy postępowania	Odczynniki i immunoreagenty	Czas (min.)
1.	Usuwanie parafiny*	Clearify Cleaning Agent w temp. 25°C	1:00
2.	Cieplne odmaskowanie epitopu*	EnVision™FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) w temp.97°C	30:00
3.	Blokowanie endogennej peroksydazy*	EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent	3:00
4.	Inkubacja z przeciwciałem pierwotnym*	Monoklonalne przeciwciało mysie przeciw Ki67 w temp. 32°C	10:00
5.	Polimeryzacja*	Kompleks En Vision™ FLEX/HRP	20:00
6.	Inkubacja*	Chromogen En Vision™ FLEX DAB+Substrate Chromogen System	5:00
7.	Barwienie kontrastowe*	En Vision™ FLEX Hematoksylin	3:00
8.	Płukanie*	Woda destylowana	-

*przed każdym kolejnym etapem preparaty płukano w En Vision™ FLEX Wash Buffer (20x).

Następnie preparaty zostały ręcznie przeprowadzone przez szereg alkoholi o wzrastającym stężeniu (70%, 95%, 95%, 100%, 100%), oraz szereg ksylenów (3x) w celu skutecznego odwodnienia materiału, preparaty zamknięto przy użyciu szkiełka nakrywkowego za pomocą medium zamykającego Mounting medium (Dako).

Ocena poziomu ekspresji markera proliferacji Ki67 określono na podstawie kryterium obecności reakcji barwnej, zgodnie z zaleceniami Europejskiej Organizacji na rzecz Badań i Leczenia Raka (EORTC). Za wyniki dodatnie (słabe) uznaje się przypadki w których reakcja, bez względu na jej nasilenie wystąpiła w 1 - 10% komórek, dodatnie (silne) gdy reakcję barwną stwierdzono > 10% komórek [112, 113].

4.2.2.4 Oznaczanie statusu receptora HER2 przeprowadzono w aparacie Benchmark Ultra Ventana Medical System (Roche Diagnostics) przy użyciu systemu Ultra View Universal DAB Detection.

Tabela 10. Oznaczanie ekspresji receptora HER2 wg. ustalonej procedury, Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Etapy postępowania	Odczynniki i immunoreagenty	Czas (min:sek)
1.	Usuwanie parafiny	Bufor CC1 w temp. 95°C	76:00
2.	Inkubacja	Monoklonalne przeciwciało królicze przeciw HER2	20:00
3.	Inkubacja	Kompleks Ultra View Universal DAB Detection w temp. 36°C	8:00
4.	Barwienie kontrastowe	Hematoxylin	4:00
5.	Płukanie	Woda destylowana	-

*przed każdym kolejnym etapem preparaty płukano w En Vision™ FLEX Wash Buffer (20x).

Gotowe preparaty zamknięto przy użyciu szkiełek nakrywkowych i medium do zaklejania Mounting Medium (Dako).

Identyfikacja prawidłowej reakcji barwnej opiera się kryterium intensywności reakcji oraz ciągłości reakcji na powierzchni błony komórkowej [112, 113]:

status ujemny (0), nie stwierdza się reakcji barwnej na powierzchni błon komórkowych,

status ujemny (1+), ledwie widoczna reakcja błonowa w >10% komórek raka we fragmentach błon komórkowych,

status dodatni, niejednoznaczny (2+) słaba reakcja błonowa w >10% komórek raka, wymagająca potwierdzenia w badaniach molekularnych (ocena amplifikacji HER2 metodą FISH)),

status dodatni (3+) silna reakcja błonowa obejmująca pełen obwód błon komórkowych w >10% komórek raka.

W badaniach immunohistochemicznych wykorzystano immunoreagenty i odczynniki:

monoklonalne przeciwciało królicze przeciw ERα (klon EP1), numer katalogowy GA084 (Dako)

monoklonalne przeciwciało mysie przeciw PgR (klon 1294), , numer katalogowy GA090 (Dako)

monoklonalne przeciwciało mysie przeciw Ki67 (klon MIB-1), numer katalogowy GA626 (Dako)

monoklonalne przeciwciało królicze przeciw HER2 (klon4b5), numer katalogowy 790-299 (Roche)

En Vision™ FLEX Wash Buffer (20x), numer katalogowy K8007 (Dako)

En Vision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x), numer katalogowy K8004 (Dako)

En Vision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x), numer katalogowy K8005 (Dako)

Nadtlenek wodoru 30% (Chempur)

En Vision™ FLEX/HRP,), numer katalogowy K8000 (Dako)

En Vision™ FLEX/DAB + Substrate Chromogen System), numer katalogowy K8002 (Dako)

En Vision™ FLEX Hematoxylin, numer katalogowy K8008 (Dako)

Bufor ULTRA CC1 (Ultra Cell Conditioning Solution), numer katalogowy 950-224 (Roche)

Ultra LCS (Predilute), numer katalogowy 650-210 (Roche)

Reaction Buffer Concentrate (10x), numer katalogowy 950-300 (Roche)

EZ Prep Concentrate (10x), numer katalogowy 950-102 (Roche)

Ultra View Uniwersal DAB (Detection Kit) numer katalogowy 760-500 (Roche)

Hematoxylin, numer katalogowy 760-2021 (Roche)

Bluing Reagent, numer katalogowy 760-2037 (Roche)

Clarify Cleaning Agent, numer katalogowy GC 810 (StatLab Medical Product)

Jako materiał kontrolny dodatni wykorzystano:

dla receptora estrogenowego α i receptora progesteronowego- utkanie raka sutka

dla markera proliferacji Ki67- migdałek

dla receptora HER2- skrawki kontrolne posiadające hodowlane ludzkie komórki raka dostarczone przez producenta w zestawie do oznaczania receptora.

4.2.3 Procedury molekularne zastosowane do analizy archiwalnego materiału tkankowego obejmują ocenę amplifikacji HER2 metodą FISH, izolację gDNA z oznaczeniem stężenia i stopnia zanieczyszczenia próbek oraz badanie obecności mutacji BRAF jako wskaźnika jakości materiału genetycznego.

4.2.3.1 Ocenę amplifikacji HER2 metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) przeprowadzono w aparacie DakoCytomation (Dako).

Tabela 11. Ocena amplifikacji HER2 metodą FISH wg. procedury obowiązującej w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Etapy postępowania	Odczynniki	Czas /temp.°C
1.	Odparafinowanie	Ksylen	1:00
		Ksylen	10:00
		Ksylen	10:00
		Alkohol 100%	5:00
		Alkohol 100%	5:00
		Alkohol 96%	2:00
		Alkohol 80%	2:00
		Alkohol 70%	2:00
2.	Suszenie		2:00
3.	Przygotowanie materiału do hybrydyzacji	HCl (1 ampułka 0,1 M HCl w 0,5 l wody)	20:00
		Woda destylowana	3:00
		Wash buffor	3:00
		Pretreatment solution (1N NaSCN)	30:00/80°C
		Woda destylowana	1:00
		Wash buffor	5:00
4.	Trawienie	Wash buffor	5:00
		Wash buffor	5:00
		Wash buffor	5:00
5.	Suszenie	-	2:00
6.	Naniesienie sondy		
7.	Uszczelnienie preparatu	Rubbercement	
8.	Hybrydyzacja		
9.	Po hybrydyzacji	Wash buffor	30:00
		Wash buffor	5:00
		Post hybrydyzation buffor	2:00/72°C
10.	Suszenie w ciemni	-	-
11.		DAPI	-
12.	Montowanie preparatu szkiełkiem nakrywkowym		

Ocena statusu receptora HER2 metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) wg. zaleceń ASCO dla podwójnej sondy: *wynik ujemny (bez amplifikacji)* wskaźnik HER2/CEP17 < 2,0 i średnia liczba kopii genu HER2 < 4,0 sygnałów na komórkę, *niejednoznaczny* - wskaźnik HER2/CEP17 < 2,0 i średnia liczba kopii genu HER2 ≥ 4,0 do < 6,0 sygnałów na komórkę,

dodatni (z amplifikacją) wskaźnik HER2/CEP17 $\geq 2,0^2$, bez względu na średnią liczbę kopii genu HER2 lub średnia liczba kopii genu HER2 $\geq 6,0$ sygnałów na komórkę, bez względu na wskaźnik HER2/CEP17 [113]

Do oceny statusu HER2 metodą FISH użyto następujące odczynniki:

Visis LSI HER2/neu SpectrumOrange/CEP 17 Spectrum Green Probes, numer katalogowy 30-171062/35-171062 (Abbott)

DAPI Counterstain, numer katalogowy 30-804960 (Abbott)

NP-40, numer katalogowy 30-804820 (Abbott)

Visis Wash Buffer 20xSSC, numer katalogowy 30-805850 (Abbott)

Visis Pretreatment Solution, numer katalogowy 30-804920 (Abbott)

Visis Protease, numer katalogowy 30-8046940 (Abbott)

4.2.3.2 Izolację materiału genetycznego (genomowego DNA) z blozka parafinowego przeprowadzono w aparacie MagCore Nucleic Acid Extractor RBC Bioscience (MagCore).

Tabela 12. Izolacja DNA wg. stosowanej procedury (MagCore 405), Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Etapy postępowania	Odczynniki	Czas
1.	Skrojone skrawki parafinowe grubości 10-20µm przenieść do pierwszego „dolka” w kartridżu nr 405	500µl Sula oil 20µl proteinazy K (cały skrawek zanurzony w roztworze)	-
2.	Umieścić kartridż w Cardrige Rack	-	-
3.	Umieścić probówkę elucyjną w odpowiednim położeniu na T-Rack	-	-
4.	Umieścić 2 Tip Plus Holder Set w odpowiednim położeniu na T-Rack	-	-
5.	Uruchomić program izolacji nr 405, objętość elucji 100 µl	-	2:00

4.2.3.3 Pomiar czystości próbek gDNA wykonano w aparacie NanoDrop 2000 spectrofotometer (ThermoScientific).

Do izolacji gDNA wykorzystano odczynniki:

Sula oil, numer katalogowy 54404-19109 (MagCore)

Proteinaza K, numer katalogowy 2732 6800 (MagCore)

Cartridge Code 405, numer katalogowy MGF-01//MGF-03 (HF16,Compact), (MagCore)

4.2.3.4 Oznaczanie mutacji BRAF (kodon 600 i 601) wybranych przypadków raka piersi metodą HRM (Analiza krzywej topnienia wysokiej rozdzielczości, ang. *High Resolution Melting*) w aparacie CFX Connect (BioRad).

Tabela 13. Oznaczanie mutacji BRAF metodą HRM wg. procedury obowiązującej w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Odczynniki	Stężenie wyjściowe	Stężenie końcowe	1x20µl
1.	Supermix	2x	1x	10 µl
2.	Starter F+starter R	20 nM każdy	200 nM	0,2 µl
3.	gDNA	25 ng/µl	50 ng/µl	2,0 µl
4.	H ₂ O	-	-	7,8 µl

Tabela 14. Warunki reakcji: program BRAF

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	
<u>95,0°C</u> 8:00 h	<u>95,0°C</u> 0:10 h		<u>72,0°C</u> 0:25 h odczyt fluorescencji*	G O T O 2	<u>95,0°C</u> 0:10 h		90,0°C (krzywa topnienia) <u>70,0°C</u> 0:02 h odczyt fluorescencji*	<u>25,0°C</u> 0:05 h	K O N I E C
				49x		<u>60,0°C</u> 1:00 h			

*wykrywanie poziomu fluorescencji

Do oznaczenia mutacji BRAF użyto następujące odczynniki:

Precision Melt Supermix (BioRad), numer katalogowy 172 5112 (BioRad)

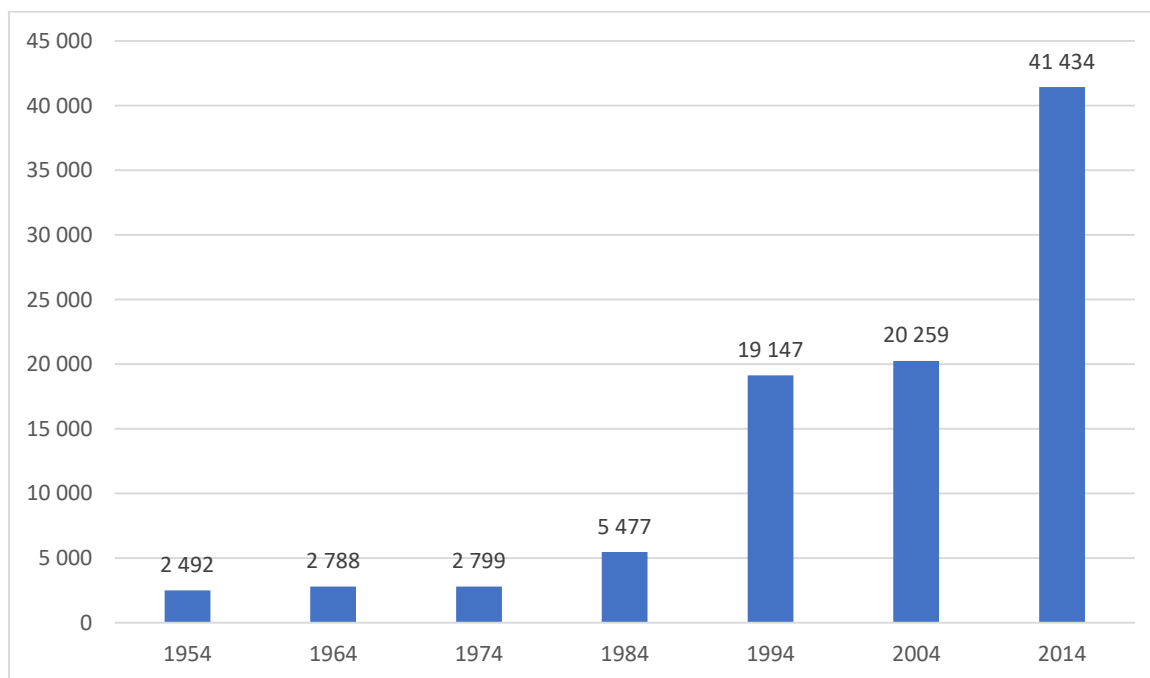
Starter 41 F (sekwencja CCTCACAGTAAAAATAGGATTTTGG) (Genomed)

Starter 42 R (sekwencja GGATCCAGACAACCTGTTCAAACCTGA) (Genomed)

4.3 Dokumentację fotograficzną sporządzono przy użyciu mikroskopu świetlnego BX41 (Olympus) i programu do wykonywania zdjęć mikroskopowych Olympus cellSensEntry (Olympus), (powiększenie obiektywu 40x).

5. Wyniki

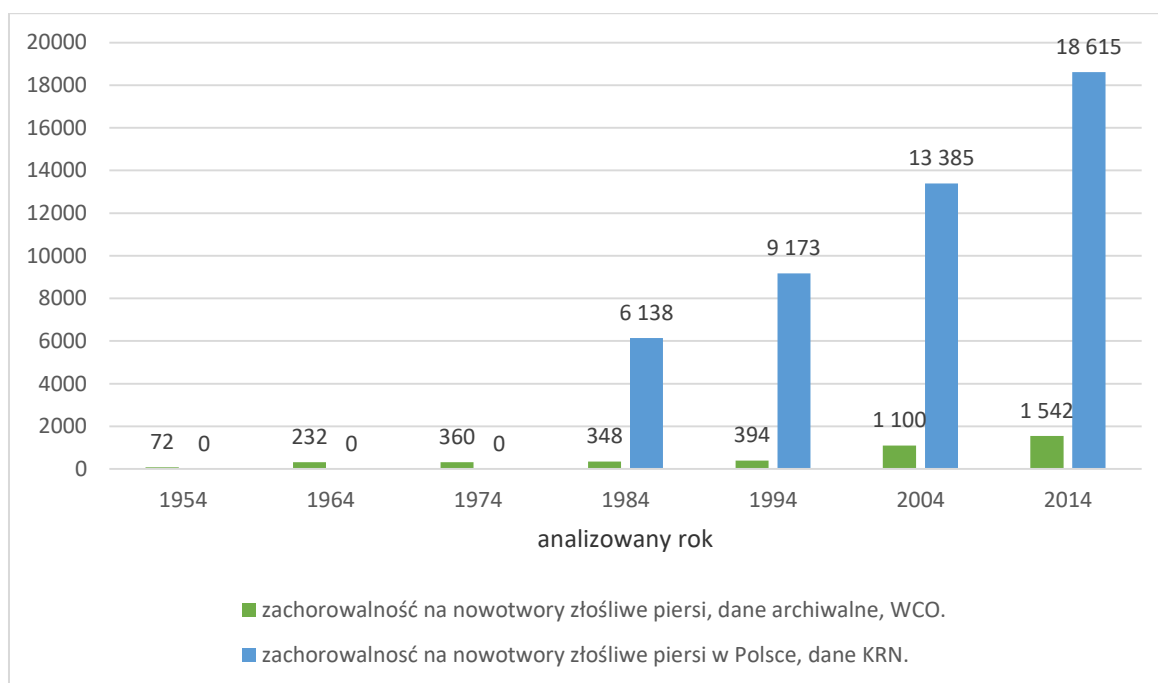
5.1 Analiza danych zawartych w archiwalnej dokumentacji medycznej pacjentów ze zbiorów Zakładu Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii (lata 1954, 1964, 1974, 1984, 1994) pozwoliła na stworzenie szeregu algorytmów istotnych parametrów epidemiologicznych (zachorowalność, wiek i płeć badanych pacjentów, najczęstsze lokalizacje zmian patologicznych, najczęstsze nowotwory). Dla porównania trendów zgłaszalności pacjentów w kolejnych dwóch dekadach (lata 2004 i 2014), posłużono się danymi z systemu informatycznego Eskulap. (rycina 8)



Rycina 7. Liczba zarejestrowanych pacjentów w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO na podstawie materiałów archiwalnych z lat 1954, 1964, 1974, 1984 i 1994 (analizy własne), uzupełniona o dane z systemu informatycznego Eskulap obejmujące lata 2004 i 2014 (WCO).

Tabela 15. Zachorowalność na nowotwory złośliwe w Wielkopolsce na podstawie danych archiwalnych z lat 1954, 1964, 1974, 1984 ze zbiorów Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Rok	Liczby bezwzględne (bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury (% przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowalności (liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy)
1.	1954	920	36, 9%	43,70
2.	1964	1052	37, 8%	42,05
3.	1974	985	35, 2%	35,54
4.	1984	1305	41, 9%	43,84
5.	1994	Brak danych		



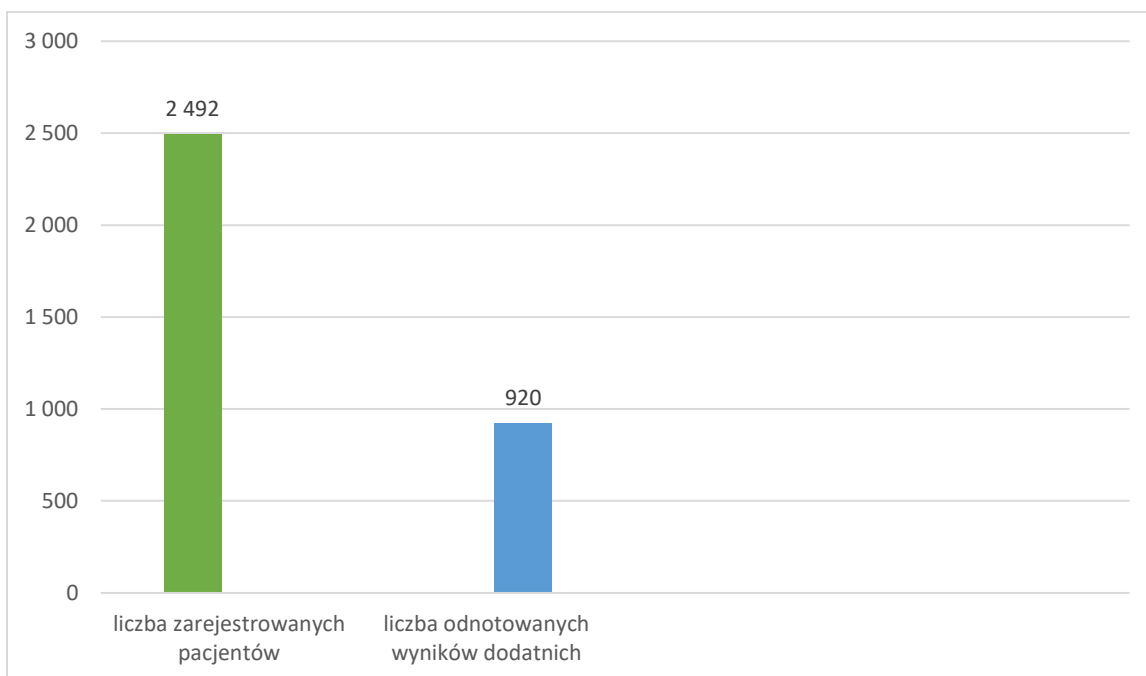
Rycina 8. Trendy zachorowalności na nowotwory złośliwe piersi na podstawie analizy archiwalnej dokumentacji medycznej z lat 1954, 1964, 1974, 1984 i 1994 uzupełnionej o dane z informatycznego systemu Eskulap z lat 2004 i 2014 w zestawieniu z danymi KRN o zachorowaniach na nowotwory złośliwe piersi w Polsce z analogicznego okresu [114].

Tabela 16. Nowotwory złośliwe piersi, zachorowalność w latach 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 (współczynnik surowy zachorowalności na 100 000 mieszkańców).¹ dane demograficzne [115]. ² dane demograficzne [116] ³ [analizy własne], WCO.

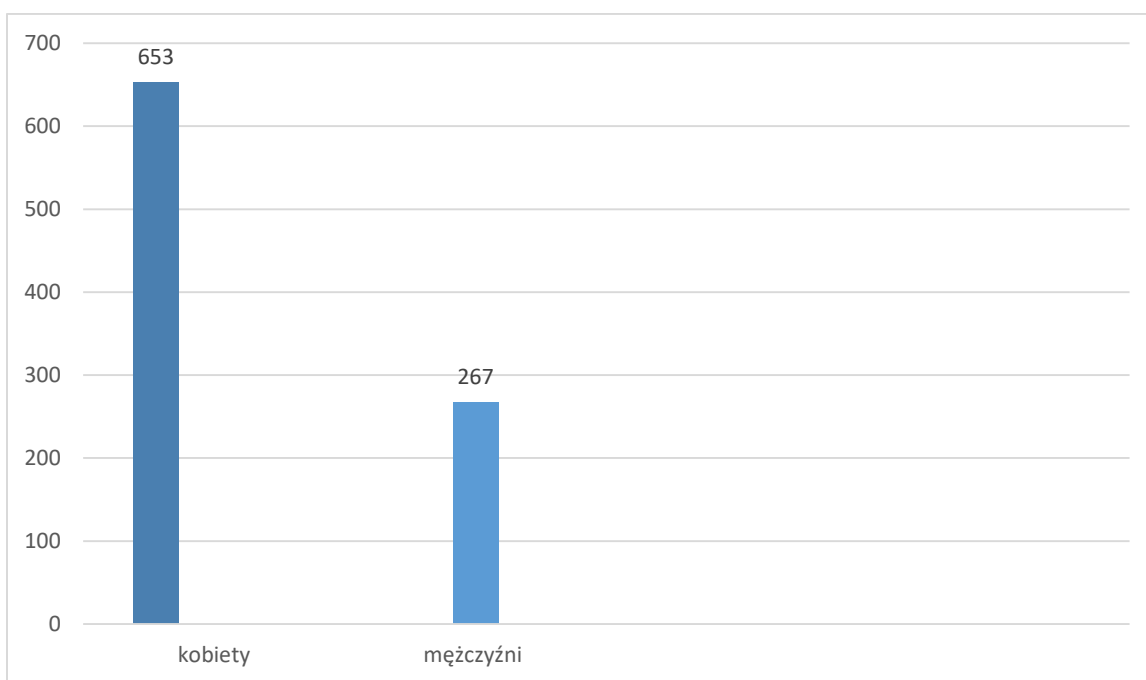
Rok	1954	1964	1974	1984	1994
Polska ^{1 2}	22,40 ¹	16,10 ¹	1,0 ¹	32,2 ²	46,30 ²
Wielkopolska ³	3,18 ³	12,43 ³	11,54 ³	11,69 ³	11,82 ³

5.1.1 Rok 1954

Rok 1954 był pierwszym pełnym rokiem działalności Pracowni Histopatologii, stąd też jest pierwszym analizowanym okresem. Badania z rozpoznaniem nowotworem złośliwym stanowią 37% ogółu zarejestrowanych przypadków. Wśród diagnozowanych pacjentów kobiety stanowią 71 % (w tej grupie znalazło się pięcioro dzieci w wieku od 3 tygodni do 9 lat), mężczyźni 29 % (*rycina 11*). Nowotwory złośliwe szyjki macicy i sutka zajmują kolejno pierwsze i drugie miejsce w statystyce najczęściej notowanych lokalizacji wśród kobiet, zwraca też uwagę duża liczba nowotworów tarczycy (*tabela 18*). Wśród najliczniej reprezentowanych nowotworów złośliwych wśród mężczyzn znajdują się nowotwory skóry i materiał laryngologiczny (*tabela 17*). Pozostałe 44% stanowią resekowane guzy w różnych lokalizacjach odnotowane u obojga płci (w tym zmiany grucznicze rozpoznane u 21 pacjentów), a także nowotwory kości długich, pojedyncze trepanobiopaty i inne. Ze względu na częstość występowania nowotworów złośliwych piersi i znaczący udział populacji kobiet wśród badanych, szczególnie przeanalizowano także strukturę wiekową pacjentek z rozpoznaniem rakiem piersi (*rycina 12*).



Rycina 9. Liczba zarejestrowanych pacjentów ogółem i liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych odnotowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO, dane archiwalne z 1954 roku.



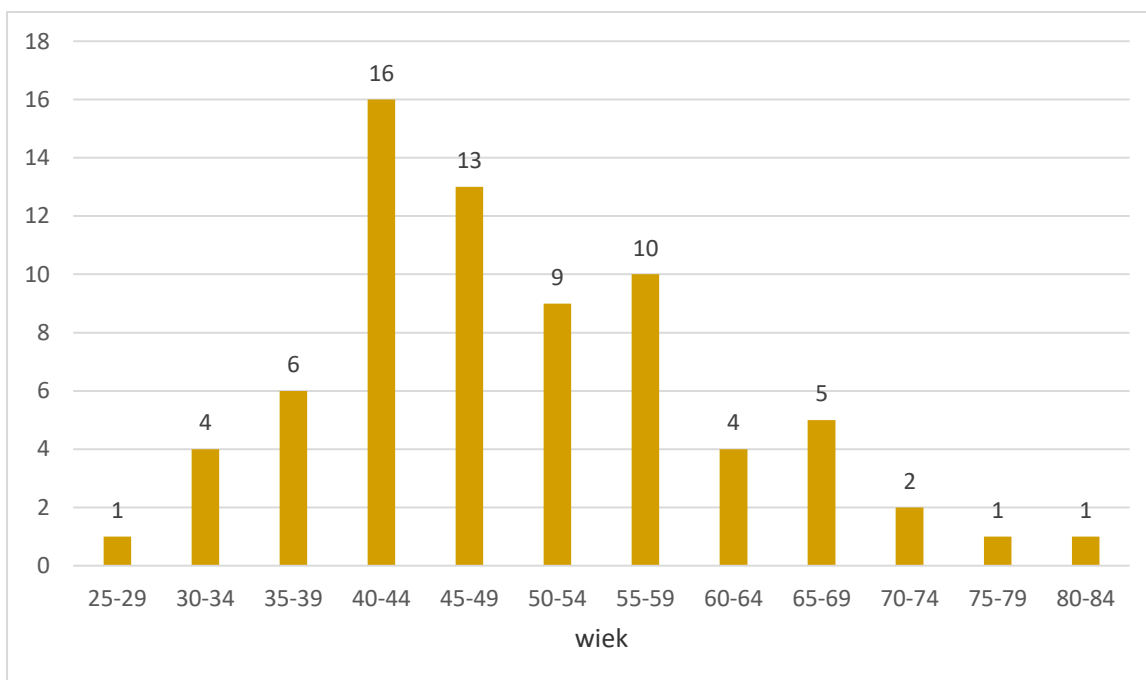
Rycina 10. Struktura płci, pacjenci z rozpoznaniem nowotworem złośliwym, na podstawie danych archiwalnych z roku 1954, Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Tabela 17. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u mężczyzn w 1954 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Umiejscowienie	Liczby bezwzględne bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury % przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowalności liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy)
1.	jelito grube, okrężnica, odbytnica	9	3,4%	0,42
2.	jama ustna	43	16,1%	2,04
3.	piers	1	0,4%	0,04
4.	tarczycyca	2	0,8%	0,08
5.	płuco, oskrzela	3	1,1%	0,14
6.	skóra (bez czerniaka złośliwego)	91	34,0%	4,32
7.	pozostałe	118	44,3%	5,60

Tabela 18. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u kobiet w 1954 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

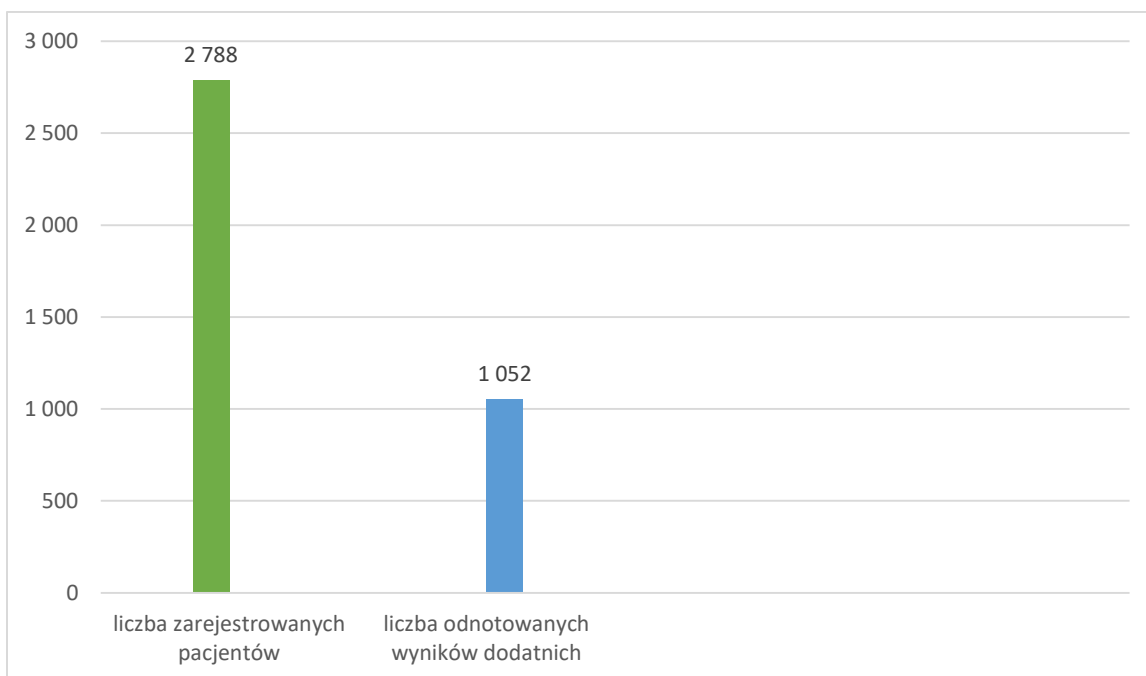
Lp.	Umiejscowienie	Liczby bezwzględne (bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury (% przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowalności (liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy).
1.	jelito grube, okrężnica, odbytnica	11	1,7%	0,5
2.	pierś	72	11,02%	3,35
3.	szyjka macicy	126	19,2%	5,98
4.	tarczycza	44	6,7%	2,09
5.	płuco, oskrzela	2	0,3%	0,09
6.	jama ustna	21	3,2%	0,99
7.	skóra (bez czerniaka złośliwego)	90	13,8%	4,27
8.	pozostałe	287	44,08%	7,03



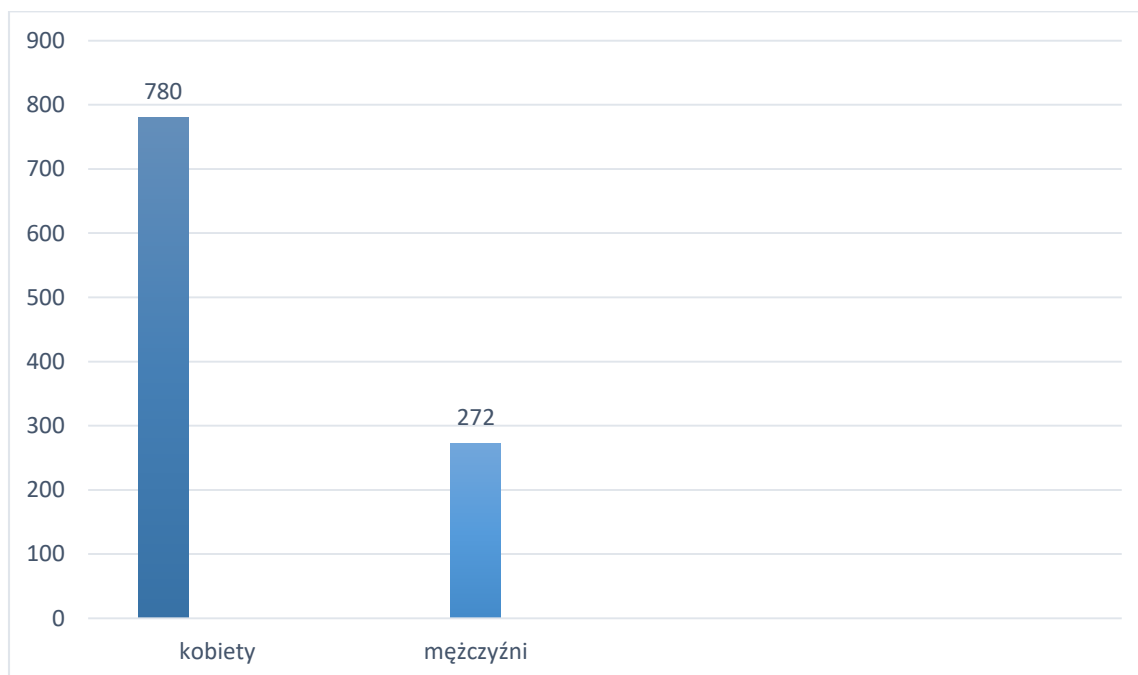
Rycina 11. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1954 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO

5.1.2 Rok 1964

W kolejnej dekadzie widoczny jest niewielki wzrost zachorowań, w porównaniu z rokiem 1954, różnica ta wyniosła 296 zarejestrowanych przypadków ogółem (*rycina 12*). Odsetek rozpoznań nowotworów złośliwych stanowi 38 % wszystkich przyjętych badań. Kobiety nadal stanowią większość pacjentów onkologicznych, 74 % (w tym ośmioro dzieci w wieku 7-18 lat), mężczyźni 26 % (w tym troje dzieci w wieku 2-8 lat), (*rycina 13*). W porównaniu z poprzednią dekadą ponad trzykrotnie wzrosła liczba przypadków raka piersi u kobiet i dziewięciokrotnie liczba rozpoznanych nowotworów płuc i oskrzeli wśród mężczyzn. Nowotwory skóry dominują u mężczyzn, najczęstszymi umiejscowieniami są: nos, małżowina uszna i wargi (*tabela 19*). Liczną grupę stanowią guzy i zmiany w różnych lokalizacjach (znaczną ich część stanowią rozpoznane ogniska przerzutowe, 69 przypadków). Ze względu na częstość występowania nowotworów piersi i znaczący udział populacji kobiet wśród badanych, szczegółowo przeanalizowano także strukturę wiekową pacjentek z rozpoznaniem rakiem piersi (*rycina 14*).



Rycina 12. Liczba zarejestrowanych pacjentów i liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych odnotowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO, dane archiwalne z 1964 r.



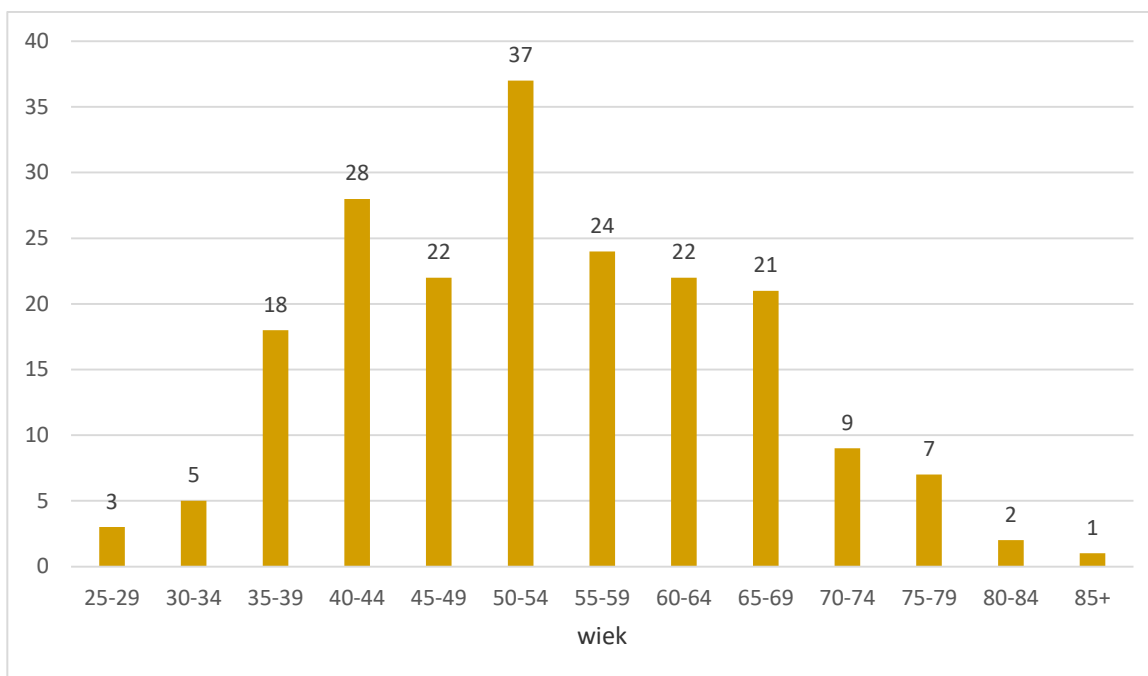
Rycina 13. Struktura płci, pacjenci z rozpoznaniem nowotworem złośliwym, na podstawie danych archiwalnych z roku 1964, Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Tabela 19. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u mężczyzn w 1964 r., dane archiwalne Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Umiejscowienie	Liczby bezwzględne (bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury (% przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowań (liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy).
1.	jelito grube, okrężnica, odbytnica	13	4.7 %	0,51
2.	płuco, oskrzela	25	9,0%	0,99
4.	jama ustna	10	3,6%	0,39
5.	skóra (bez czerniaka złośliwego)	128	47,2%	5,18
6.	pozostałe	96	35,5%	3,86

Tabela 20. Najczęściej występujące umiejscowienia nowotworów złośliwych u kobiet w 1964 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

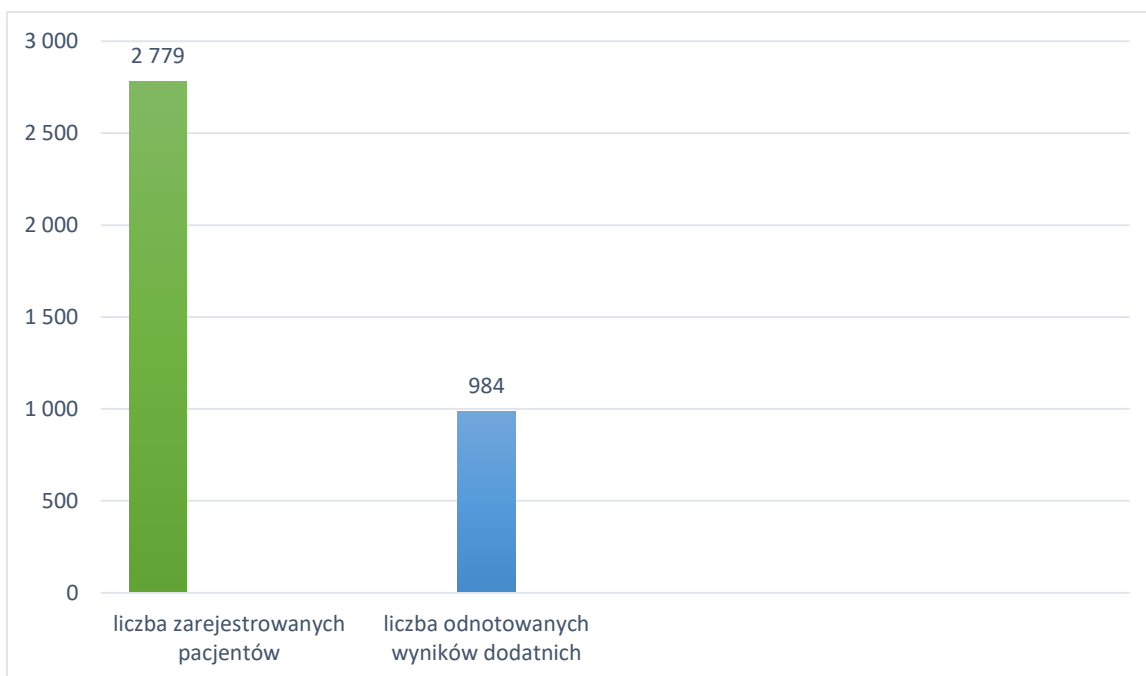
Lp.	Umiejscowienie	Liczby bezwzględne (bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury (% przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowalności (liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy).
1.	jelito grube, okrężnica, odbytnica	13	1,5%	0,51
2.	pierś	232	29,7%	9,23
3.	szyjka macicy	290	37,2%	11,59
4.	tarczycyca	17	2,1%	0,67
5.	płuco, oskrzela	18	2,2%	0,71
6.	jama ustna	11	1,3%	0,43
7.	skóra (bez czerniaka złośliwego)	100	12,5%	3,99
8.	pozostałe	99	13,5%	4,03



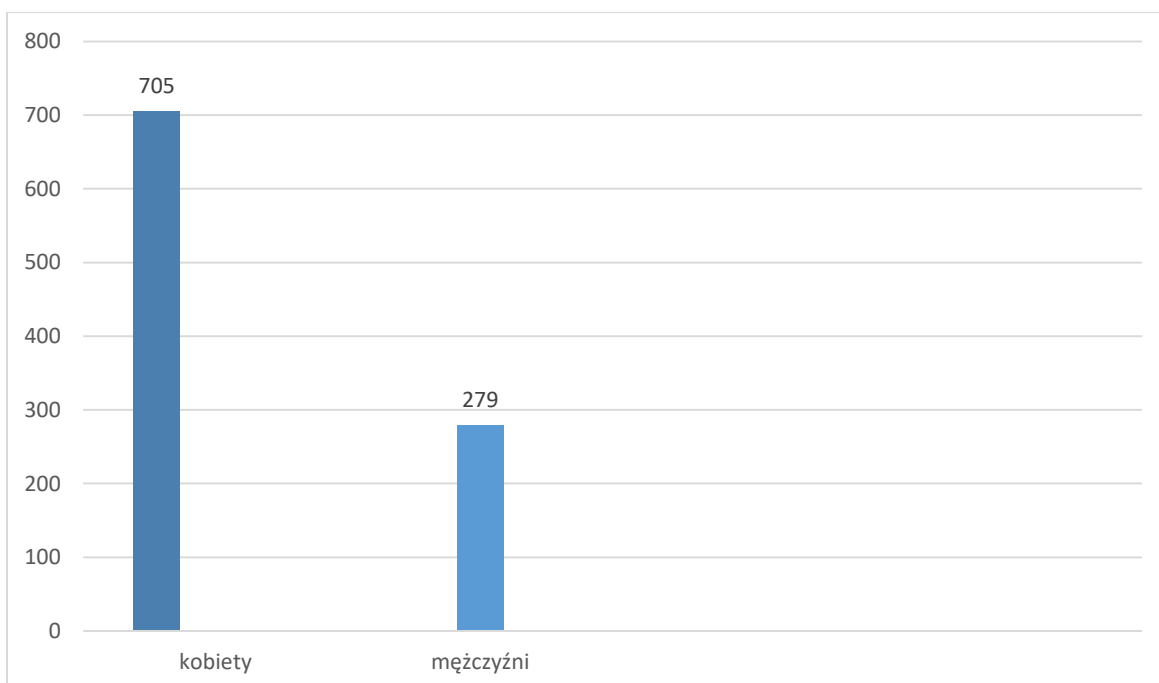
Rycina 14. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1964 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. W 33 przypadkach brak informacji o wieku pacjentki, w zestawieniu wykorzystano dane pozostałych 198 chorych.

5.1.3 Rok 1974

W roku 1974 odnotowano niewielki wzrost zachorowań, o blisko 10% w porównaniu z poprzednią dekadą (*rycina 15*). Rozpoznane nowotwory złośliwe stanowią 35% ogółu przyjętych badań. Nadal utrzymuje się przewaga kobiet, 71,7% (w tym sześcioro dzieci w wieku 10-18 lat), udział procentowy mężczyzn wyniósł odpowiednio 28,3% (w tym siedmioro dzieci w wieku 3-17 lat) (*rycina 16*). Nowotwory piersi to ponad 11% wszystkich zarejestrowanych badań i 32% wyników dodatnich w badanej populacji kobiet (*tabela 22*). Wciąż rozpoznawany jest duży odsetek nowotworów skóry u mężczyzn, w tym czerniak złośliwy (*tabela 21*). Pozostały materiał histopatologiczny stanowią guzy i liczne zmiany w wielu lokalizacjach, natomiast nowotwory kości długich, trepanobiopaty, wycinki z wątroby, śledziony i inne to niewielki odsetek badań, utrzymujący się w granicach 1-2,9% (*tabele 21 i 22*). Ze względu na częstość występowania nowotworów piersi i znaczący udział populacji kobiet wśród badanych, szczegółowo przeanalizowano także strukturę wiekową pacjentek z rozpoznaniem raka piersi (*rycina 17*).



Rycina 15. Liczba zarejestrowanych pacjentów i liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych odnotowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO, dane archiwalne z 1974 r.



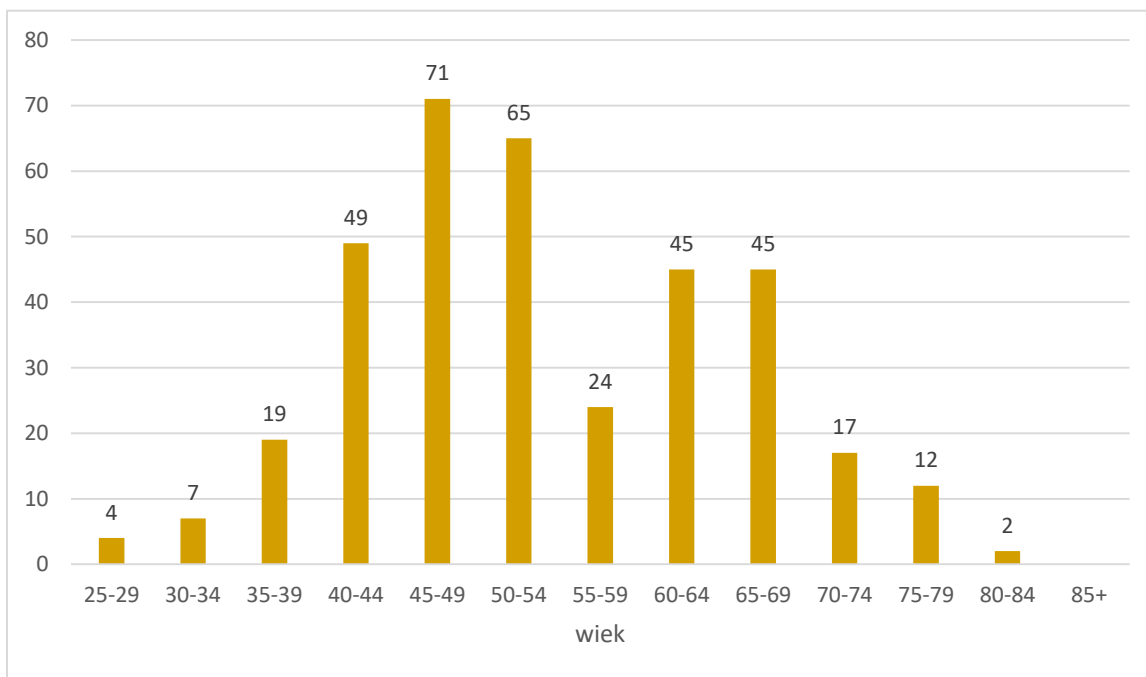
Rycina 16. Struktura płci, pacjenci z rozpoznaniem nowotworem złośliwym, na podstawie danych archiwalnych z roku 1974, Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Tabela 21. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u mężczyzn w 1974r., dane archiwalne Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Umiejscowienie	Liczby bezwzględne (bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury (% przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowalności (liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy).
1.	jelitogrupe, okrężnica, odbytnica	2	0,7 %	0,07
2.	kość/szpik (trepanobiopat)	8	2,9 %	0,28
3.	czerniak złośliwy	9	3,2 %	0,32
4.	płuco, oskrzela	11	3,9 %	0,39
5.	jama ustna	10	3,6 %	0,36
6.	skóra (bez czerniaka złośliwego)	145	51,9 %	5,23
7.	pozostałe	94	33,7%	3,39

Tabela 22. Najczęściej występujące umiejscowienia nowotworów złośliwych u kobiet w 1974 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

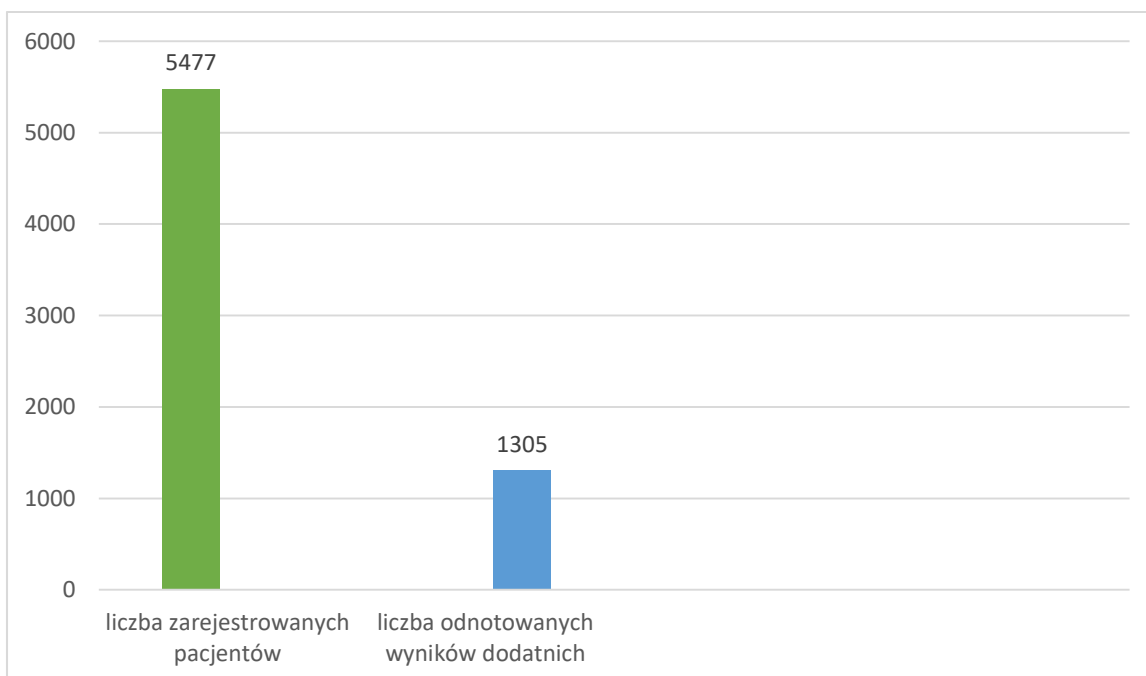
Lp.	Umiejscowienie	Liczby bezwzględne (bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury (% przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowalności (liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy)
1.	jelito grube, okrężnica, odbytnica	9	1,3%	0,32
2.	pierś	360	51.1%%	13,03
3.	szyjka macicy	72	10,2%	2,59
4.	tarczycza	17	2,4%	0,61
5.	płuco, oskrzela	11	1,6%	0,39
6.	czerniak złośliwy	14	2,0%	0,50
7.	skóra (bez czerniaka złośliwego)	120	17,0%	4,33
8.	kość/szpik (trepanobiopat)	7	1,0%	0,25
9.	pozostałe	95	13,4%	3,87



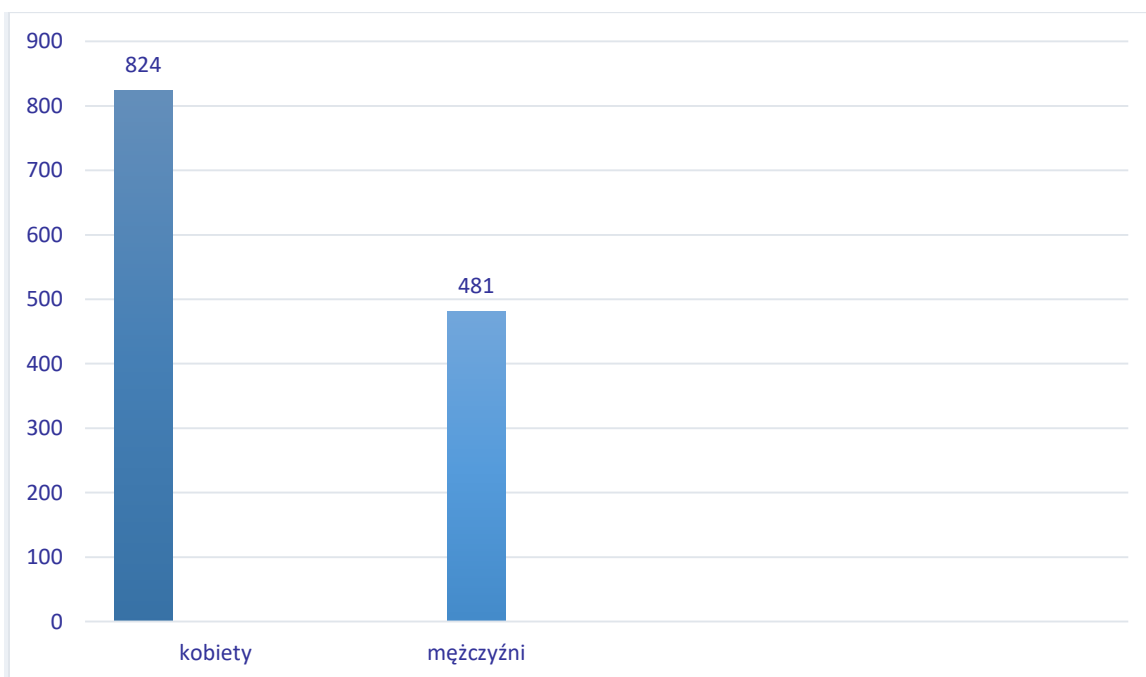
Rycina 17. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1974 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

5.1.4 Rok 1984

W 1984 r. widoczny jest znaczny wzrost liczby zarejestrowanych pacjentów, o ponad 50% w porównaniu z rokiem 1974. Nowotwory złośliwe stanowią 23,8% ocenionych badań. (rycina 18). Zauważalny jest spadek obecności kobiet w ogólnej liczbie zarejestrowanych pacjentów 63% (w tym pięcioro dzieci w wieku 2-18 lat) na niekorzyść mężczyzn, blisko 37% (w tym sześcioro dzieci w wieku 7-18 lat), (rycina 19). Nowotwory rozpoznane u dzieci w ZPN stanowią niewielką grupę w ogólnym materiale badawczym, nie przekraczającym 1%. Rak piersi stanowi niemal 42% wszystkich rozpoznań nowotworów złośliwych wśród kobiet (tabela 24). Nowotwory skóry dominują w populacji mężczyzn, odnotowano znaczny udział nowotworów okolicy twarzy (tabela 23). Odsetek pozostałych lokalizacji pozostaje w granicach wartości jednocyfrowych. Ze względu na częstość występowania nowotworów piersi i znaczący udział populacji kobiet wśród badanych, szczegółowo przeanalizowano także strukturę wiekową pacjentek z rozpoznaniem rakiem piersi (rycina 20).



Rycina 18. Liczba zarejestrowanych pacjentów i liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych odnotowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO, dane archiwalne z 1984 r.



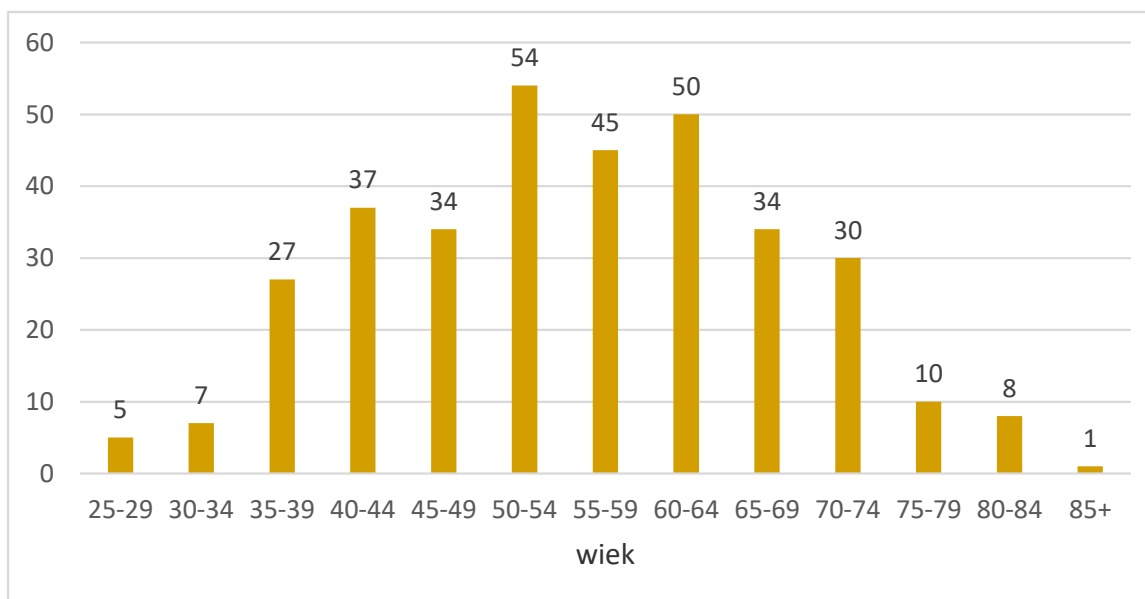
Rycina 19. Struktura płci, pacjenci z rozpoznaniem nowotworem złośliwym, na podstawie danych archiwalnych z roku 1984, Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Tabela 23. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u mężczyzn w 1984 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

Lp.	Umiejscowienie	Liczby bezwzględne (bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury (% przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowalności (liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy).
1.	jelito grube, okrężnica, odbytnica	9	1,9%	0,03
2.	kość/szpik (trepanobiopat)	14	2,9 %	0,47
3.	czerniak złośliwy	10	2,0 %	0,33
4.	płuco, oskrzela	9	1, 9 %	0,03
5.	jama ustna	14	2,9 %	0,47
6.	skóra (bez czerniaka złośliwego)	227	47,2 %	7,62
7.	pozostałe	198	41,2%	6,65

Tabela 24. Najczęściej występujące umiejscowienia nowotworów złośliwych u kobiet w 1984 r., na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

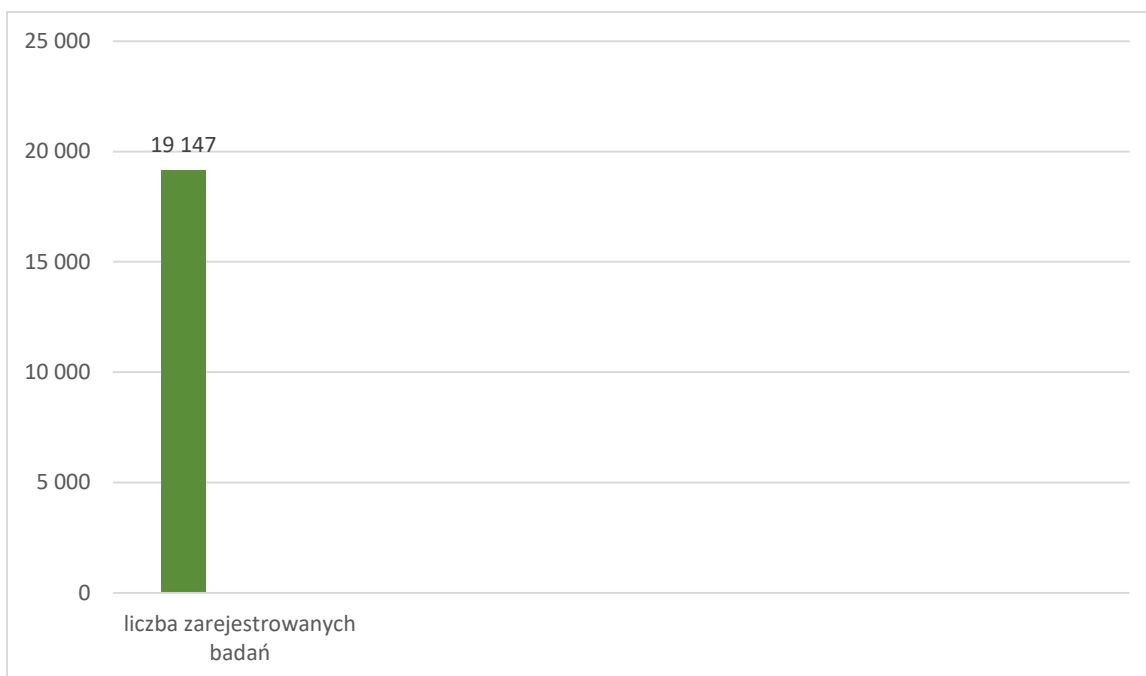
Lp.	Umiejscowienie	Liczby bezwzględne (bezwzględna liczba przypadków zachorowań, mierzona w określonej populacji i czasie).	Wskaźnik struktury (% przypadków raka do liczby wszystkich zachorowań).	Współczynnik surowy zachorowalności (liczba zachorowań na 100 000 analizowanej populacji, nie uwzględnia struktury wieku badanej grupy).
1.	jelito grube, okrężnica, odbytnica	7	0,8%	0,23
2.	pierś	348	42,2%%	11,69
3.	szyjka macicy	60	7,2%	2,01
4.	tarczycza	6	0,7%	0,30
5.	płuco, oskrzela	10	1,2%	0,33
6.	czerniak złośliwy	18	2,2%	0,60
7.	skóra (bez czerniaka złośliwego)	150	18,2%	5,03
8.	kość/szpik (trepanobiopat)	12	1,4%	0,40
9.	pozostałe	213	26,1%	7,19



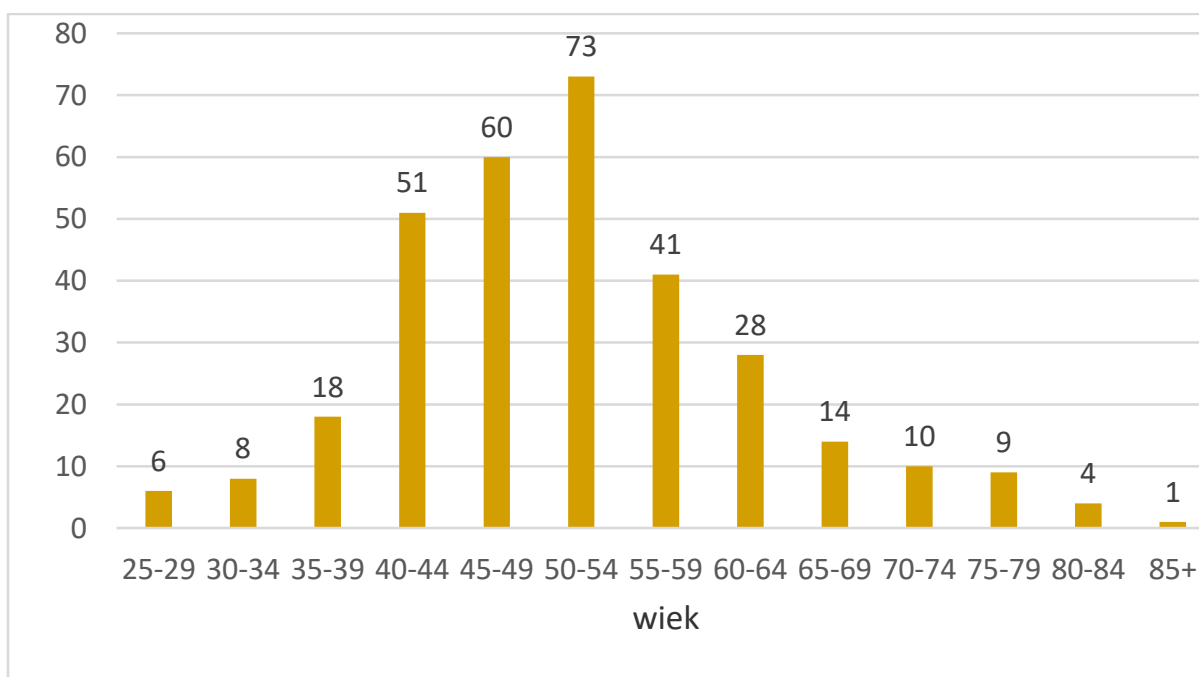
Rycina 20. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1984 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

5.1.5 Rok 1994

Brak danych archiwalnych w postaci dokumentacji medycznej pacjentów, utraconej prawdopodobnie podczas jednej z licznych przeprowadzek oraz brak możliwości wiarygodnej, elektronicznej weryfikacji danych sprawił, że uzyskane informacje dotyczą jedynie liczby zarejestrowanych badań, dają więc możliwość oceny dynamiki zachorowalności w 1994 r. w odniesieniu do działalności Wielkopolskiego Centrum Onkologii od początków jego istnienia (*rycina 8, 21*). Udało się odnaleźć niewielką część dokumentacji medycznej pacjentek z rozpoznaniem rakiem piersi, która stała się podstawą określenia liczby i struktury wiekowej badanej populacji kobiet. W 1994 r. zarejestrowano 19 147 nowych pacjentów, co oznacza blisko czterokrotny wzrost ilości badań w porównaniu z poprzednią dekadą (znaczący wzrost liczby zarejestrowanych pacjentów może mieć związek ze zmianą sposobu numeracji badań i nie jest odzwierciedleniem rzeczywistej liczby pacjentów diagnozowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów w tym okresie). Rak piersi to 394 przypadków (liczba ustalona na podstawie odnalezionej partii dokumentacji medycznej i stanowi jedynie szacunkową liczbę nowotworów piersi w badanym okresie). Ze względu na częstość występowania nowotworów piersi i znaczący udział populacji kobiet wśród badanych, szczegółowo przeanalizowano także strukturę wiekową pacjentek z rozpoznaniem rakiem piersi (*ryc. 22*).



Rycina 21. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1994 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.



Rycina 22. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1994 roku, na podstawie zachowanej dokumentacji medycznej 323 pacjentek (w przypadku 71 pacjentek brak danych dotyczących wieku), Zakład Patologii Nowotworów WCO.

5.2 Analiza jakości i użyteczności archiwalnego materiału tkankowego z lat 1954, 1964, 1971, 1984, 1994 zdeponowanego w Zakładzie Patologii Nowotworów, WCO. Zastosowano barwienie hematoksyliną i eozyną (HE), metody immunohistochemiczne w celu oznaczenia poziomu ekspresji receptorów estrogenowych α , receptorów progesteronowych, ekspresji białka HER2, indeksu proliferacji Ki67, a także ocenę amplifikacji HER2 metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH), izolację genomowego gDNA (stężenie i czystość próbek) oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WC). W zestawieniu uwzględniono wiek pacjentek, lokalizację zmian, rozpoznanie patomorfologiczne (pisownia oryginalna). Dzięki uprzejmości Kolegów i Koleżanek, specjalistów patomorfologów archiwalne preparaty histologiczne nowotworów piersi poddano współczesnej interpretacji patomorfologicznej zgodnie z obecnie stosowaną klasyfikacją z uwzględnieniem badań histochemicznych, immunohistochemicznych i molekularnych. Dzięki temu możliwa była ocena stopnia zachowanej morfologii tkanki, a także skuteczność przeprowadzonych analiz wybranych epitopów w badaniach immunohistochemicznych oraz określenie udziału zmian prekursorowych i raków inwazyjnych w badanej grupie pacjentek. Ocena amplifikacji onkogenów związanych z poziomem agresywności nowotworu i przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi pozwoliła na ustalenie obecności specjalnych typów nowotworów złośliwych, nowotworów hormonozależnych i hormononiezależnych. (załączniki 1-5)

5.2.1 Rok 1954

Tabela 25. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1954 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 1)

Lp.	Podtypy biologiczne nowotworów złośliwych piersi	Wyniki (%)
1.	luminalny A	50%
2.	luminalny B (HER2+)	15%
3.	luminalny B (HER2-)	15%
4.	HER2+ Nieluminalny	5%
5.	potrójnie negatywny	5%
6.	pozostałe (brak utkania raka, adenoza)	10%

Tabela 26. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1954 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO (załącznik 1)

Lp.	Rodzaj badania	Wyniki (%)	
1.	izolacja gDNA	udana izolacja	100%
		nieudana izolacja	-
2.	obecność mutacji BRAF (do oceny jakości uzyskanego gDNA)	obecność mutacji	40%
		wynik wątpliwy	20%
		brak mutacji	40%

Tabela 27. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie wybranych dwudziestu przypadków, materiał archiwalny z 1954 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem rutynowych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 1)

Rak piersi (C50)					
Rak przedinwazyjny (nie uwzględniono przypadków raka in situ rozpoznanego z rakiem inwazyjnym).		Rak inwazyjny		Pozostałe przypadki	
Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury
1	5%	15	75%	4	20%

5.2.2 Rok 1964

Tabela 28. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1964 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 2)

Lp.	Podtypy biologiczne nowotworów złośliwych piersi	Wyniki (%)
1.	luminalny A	35%
2.	luminalny B (HER2+)	20%
3.	luminalny B (HER2-)	5%
4.	HER2+ Nieluminalny	15%
5.	potrójnie negatywny	20%
6.	pozostałe (brak utkania raka, adenoza)	5%

Tabela 29. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1964 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 2)

Lp.	Rodzaj badania	Wyniki (%)	
1.	izolacja gDNA	udana izolacja	100%
		nieudana izolacja	-
2.	obecność mutacji BRAF (do oceny jakości uzyskanego gDNA)	obecność mutacji	60%
		wynik wątpliwy	-
		brak mutacji	40%

Tabela 30. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie dwudziestu wybranych przypadków, materiał archiwalny z 1964 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem dostępnych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 2)

Rak piersi (C50)					
Rak przedinwazyjny (nie uwzględniono przypadków raka in situ rozpoznanego z rakiem inwazyjnym).		Rak inwazyjny		Pozostałe przypadki	
Liczby Bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury
4	20%	12	60%	4	20%

5.2.3 Rok 1971

Tabela 31. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1971 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 3)

Lp.	Podtypy biologiczne nowotworów złośliwych piersi	Wyniki (%)
1.	luminalny A	40%
2.	luminalny B (HER2+)	10%
3.	luminalny B (HER2-)	25%
4.	HER2+ nieluminalny	5%
5.	potrójnienegatywny	20%
6.	pozostałe (brak utkania raka, adenoza)	-

Tabela 32. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1971 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 3)

Lp.	Rodzaj badania	Wyniki (%)	
1.	izolacja gDNA	udana izolacja	100%
		nieudana izolacja	-
2.	obecność mutacji BRAF (do oceny jakości uzyskanego gDNA)	obecność mutacji	40%
		wynik wątpliwy	40%
		brak mutacji	20%

Tabela 33. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie dwudziestu wybranych przypadków, materiał archiwalny z 1971 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem dostępnych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 3)

Rak piersi (C50)					
Rak przedinwazyjny (nie uwzględniono przypadków raka in situ rozpoznanego z rakiem inwazyjnym).		Rak inwazyjny		Pozostałe przypadki	
Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury
1	5%	18	90%	1	5%

5.2.4 Rok 1984

Tabela 34. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1984 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 4)

Lp.	Podtypy biologiczne nowotworów złośliwych piersi	Wyniki (%)
1.	luminalny A	45%
2.	luminalny B (HER2+)	10%
3.	luminalny B (HER2-)	10%
4.	HER2+ Nieluminalny	10%
5.	potrójnie negatywny	25%
6.	pozostałe (brak utkania raka, adenoza)	-

Tabela 35. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1984 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 4)

Lp.	Rodzaj badania	Wyniki (%)	
1.	izolacja gDNA	udana izolacja	100%
		nieudana izolacja	-
2.	obecność mutacji BRAF (do oceny jakości uzyskanego gDNA)	obecność mutacji	-
		wynik wątpliwy	20%
		brak mutacji	80%

Tabela 36. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie dwudziestu wybranych przypadków, materiał archiwalny z 1984 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem dostępnych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 4)

Rak piersi (C50)					
Rak przedinwazyjny (nie uwzględniono przypadków raka in situ rozpoznanego z rakiem inwazyjnym).		Rak inwazyjny		Pozostałe przypadki	
Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury
-	-	19	95%	1	5%

5.2.5 Rok 1994

Tabela 37. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1994 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 5)

Lp.	Podtypy biologiczne nowotworów złośliwych piersi	Wyniki (%)
1.	luminalny A	60%
2.	luminalny B (HER2+)	15%
3.	luminalny B (HER2-)	10%
4.	HER2+ nieluminalny	5%
5.	potrójnie negatywny	10%
6.	pozostałe (brak utkania raka, adenoza)	-

Tabela 38. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1994 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 5)

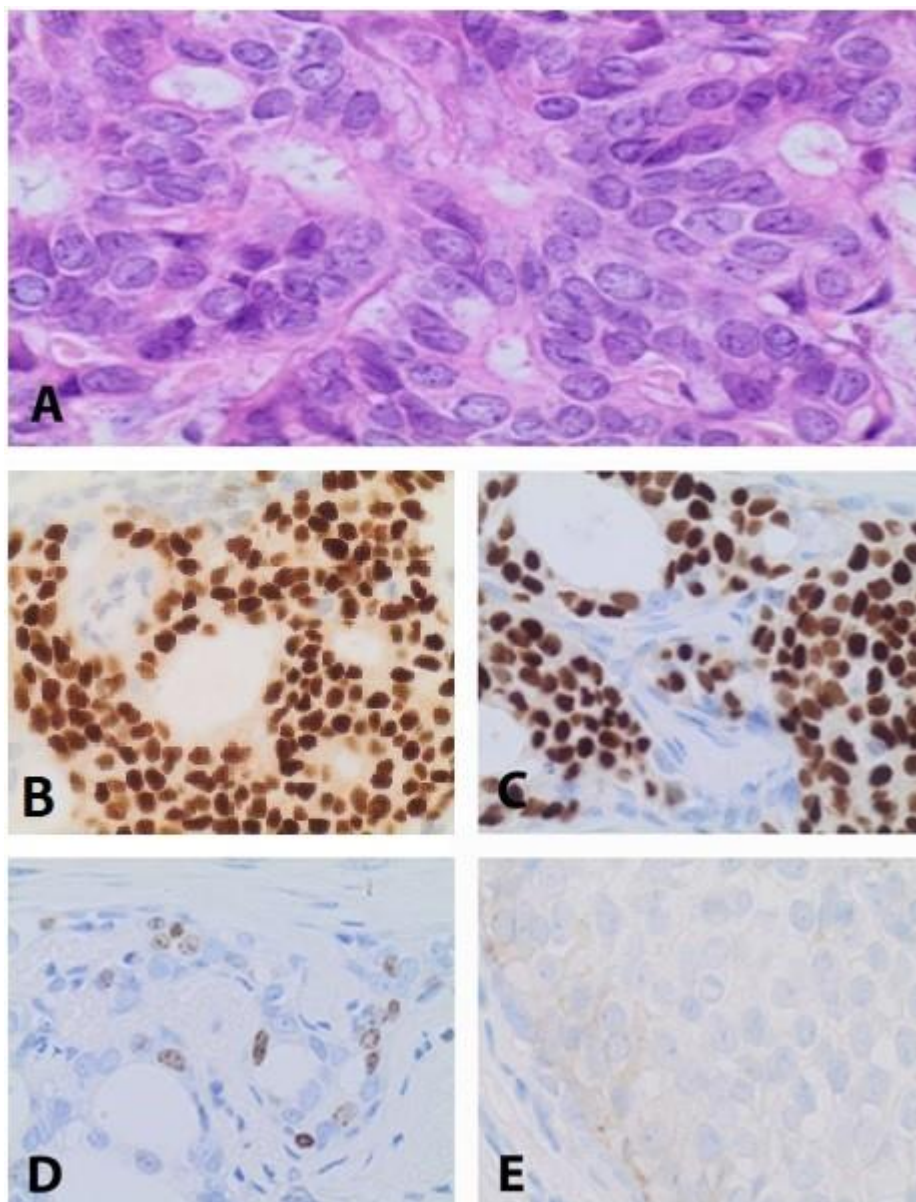
Lp.	Rodzaj badania	Wyniki(%)	
1.	izolacja gDNA	udana izolacja	100%
		nieudana izolacja	-
2.	obecność mutacji BRAF (do oceny jakości uzyskanego gDNA)	obecność mutacji	60%
		wynik wątpliwy	20%
		brak mutacji	20%

Tabela 39. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie dwudziestu wybranych przypadków, materiał archiwalny z 1994 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem dostępnych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 5).

Rak piersi (C50)					
Rak przedinwazyjny (nie uwzględniono przypadków raka in situ rozpoznanego z rakiem inwazyjnym).		Rak inwazyjny		Pozostałe przypadki	
Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury	Liczby bezwzględne	Wskaźnik struktury
2	10%	16	80%	2	10%

5.3 Dokumentacja fotograficzna wybranych przypadków raka piersi.

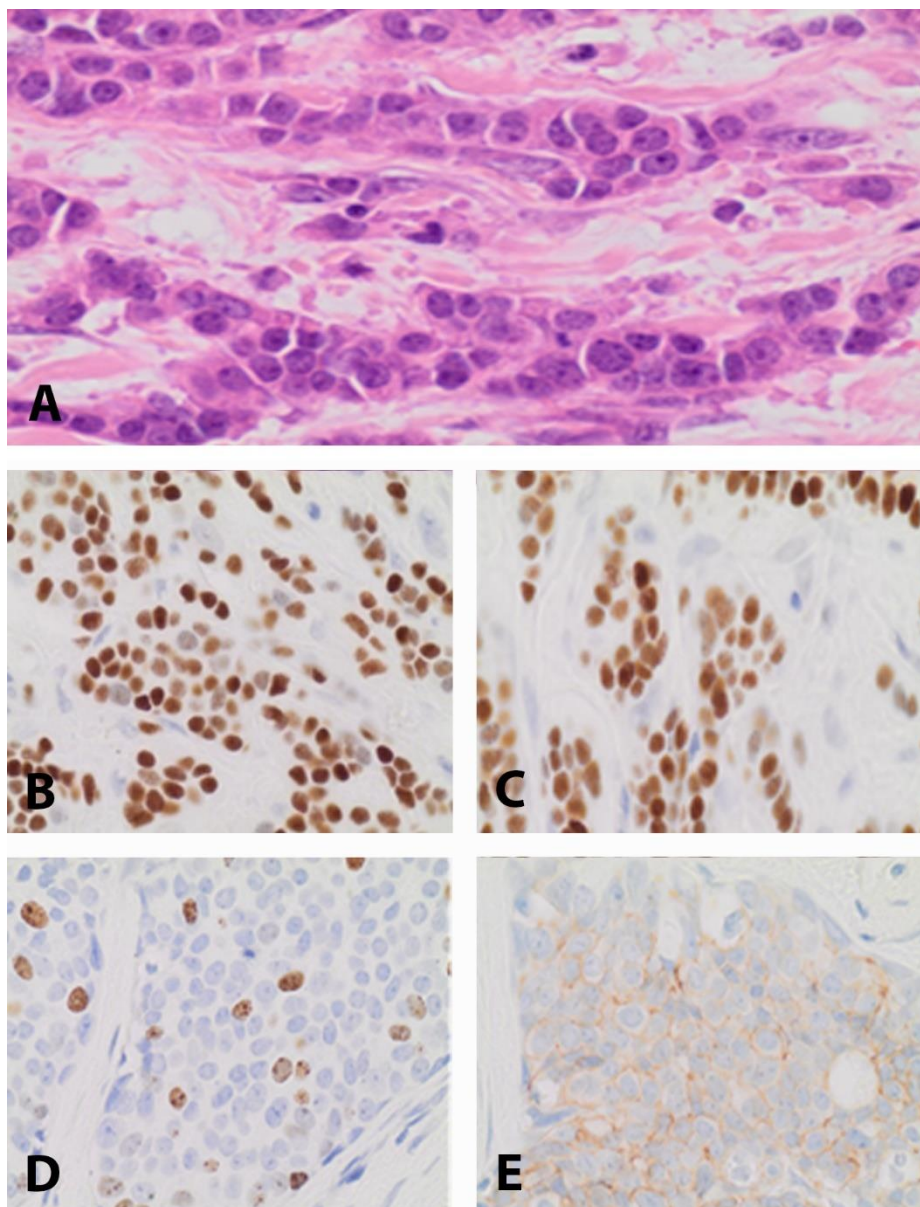
5.3.1 Rok 1954



Rycina 23. Preparat 801/54. Pacjentka lat 47, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma microcellulare, microfocale.

* Rak inwazyjny NST, NHG1(1+2+1:0mitoz/10HPF). Rak przewodowy in situ (DCIS) typ sitowaty, G2.

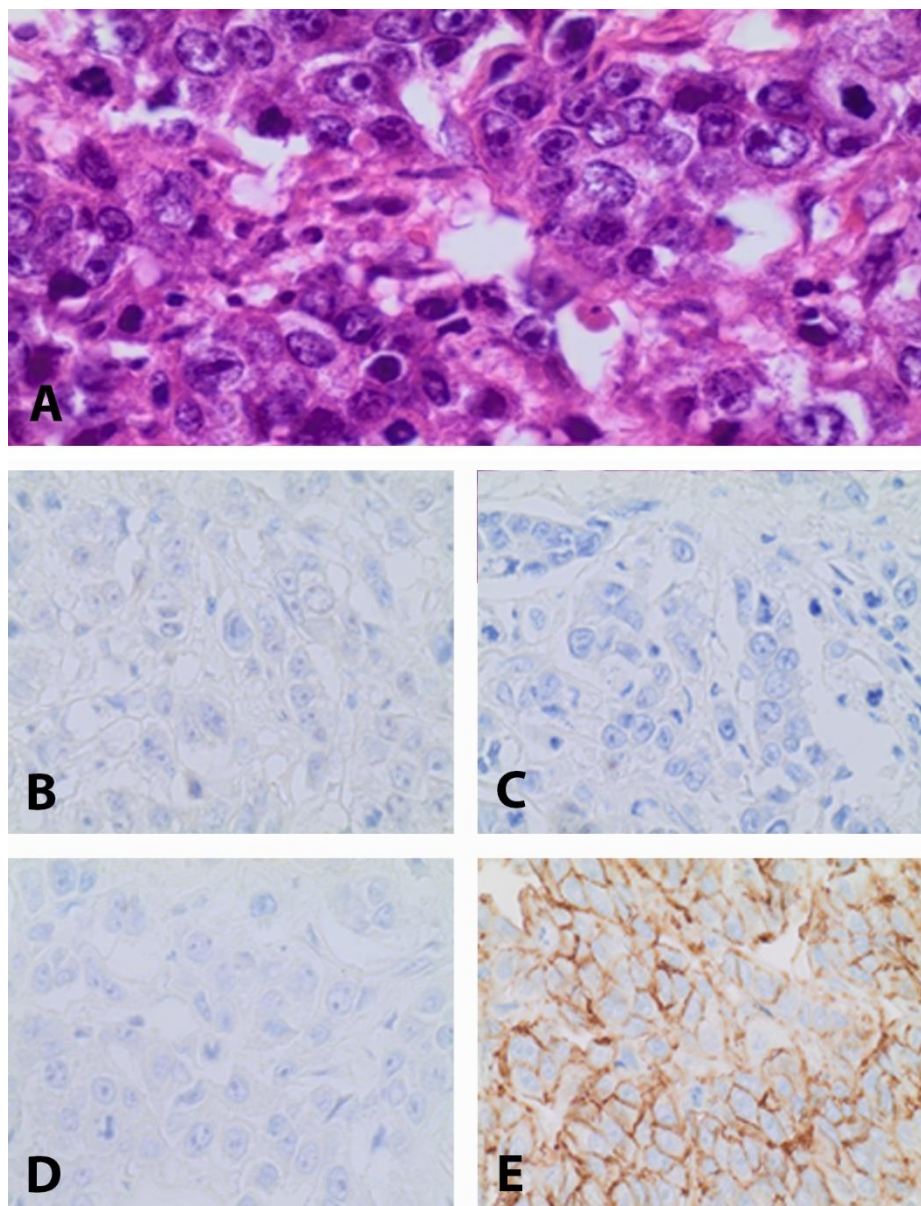
Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER(3+), C - status PgR(3+), D - Ki67(<5%), E - status HER2 (0), Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.



Rycina 24. Preparat 1448/54. Pacjentka lat 46, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma macrocellulare, microfocale.

* Rak inwazyjny NST z cechami raka zrazikowego NHG2 (3+2+1:0mitoz/10HPF).

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (3+), C - status PgR (3+), D - Ki67 (20-30%), E - status HER2 (1+), Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.

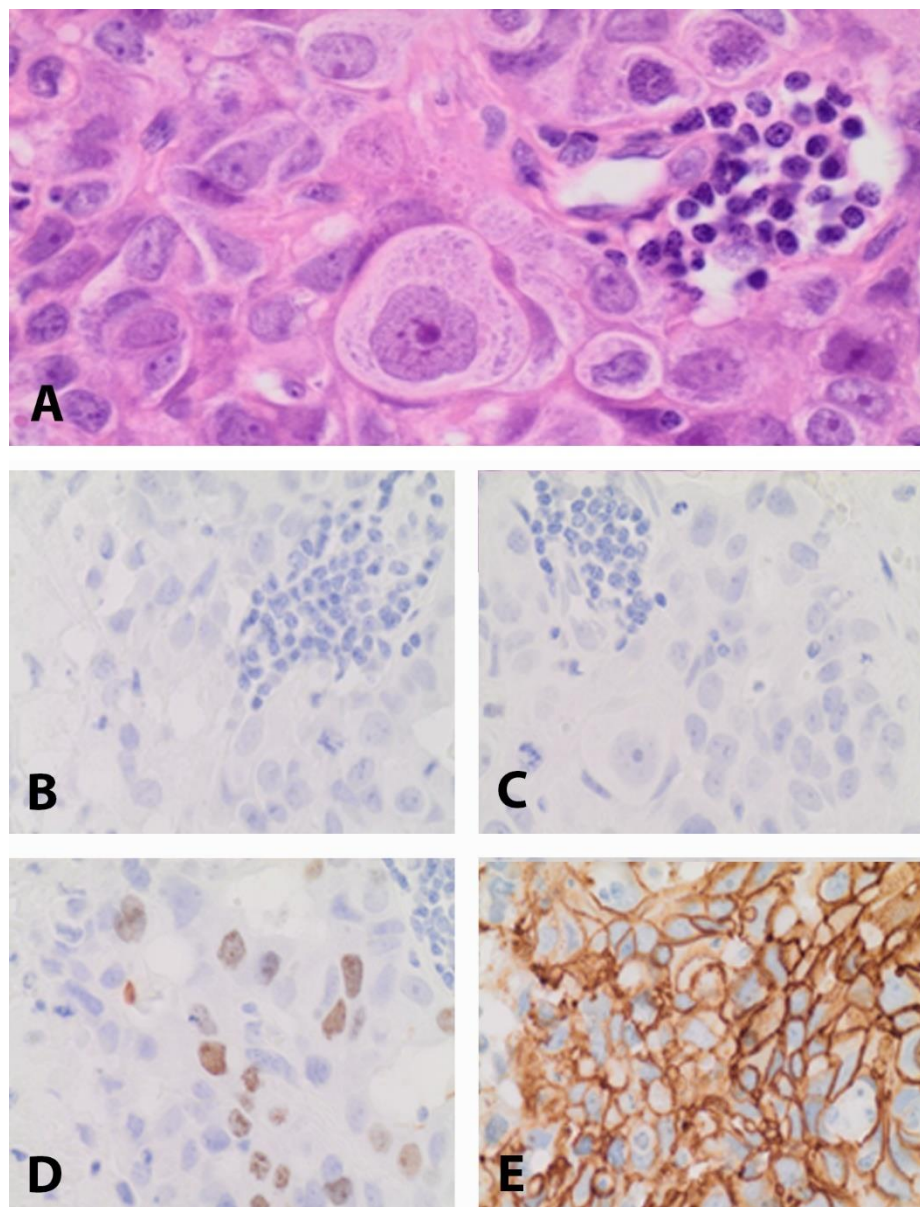


Rycina 25. Preparat 3082/54. Pacjentka lat 40, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma macrocellulare.

* Rak inwazyjny NST, NHG2 (3+3=1:6 mitoz/10HP).

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (3+), C - status PgR (3+), D - Ki67 (<5%), E - status HER2 (2+),
Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.

5.3.2 Rok 1964

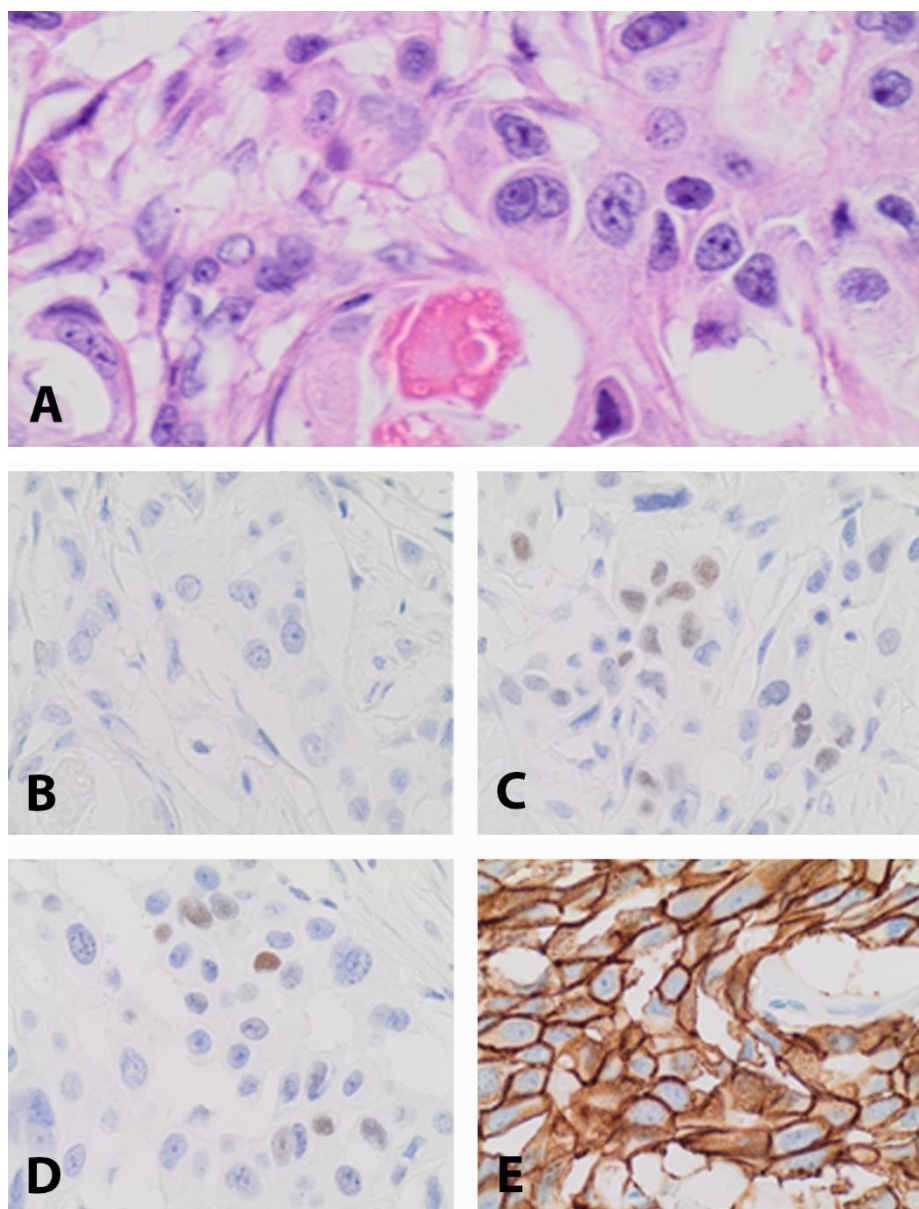


Rycina 26. Preparat 28801/64. Pacjentka lat 45, sutek prawy z węzłami chłonnymi. Foci carcinomatosi.

* Rak przewodowy in situ (DCIS), G3 wg. Van Nuysa.

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (-), C - status PgR (-), E - Ki67 (5%), status HER2 (3+),

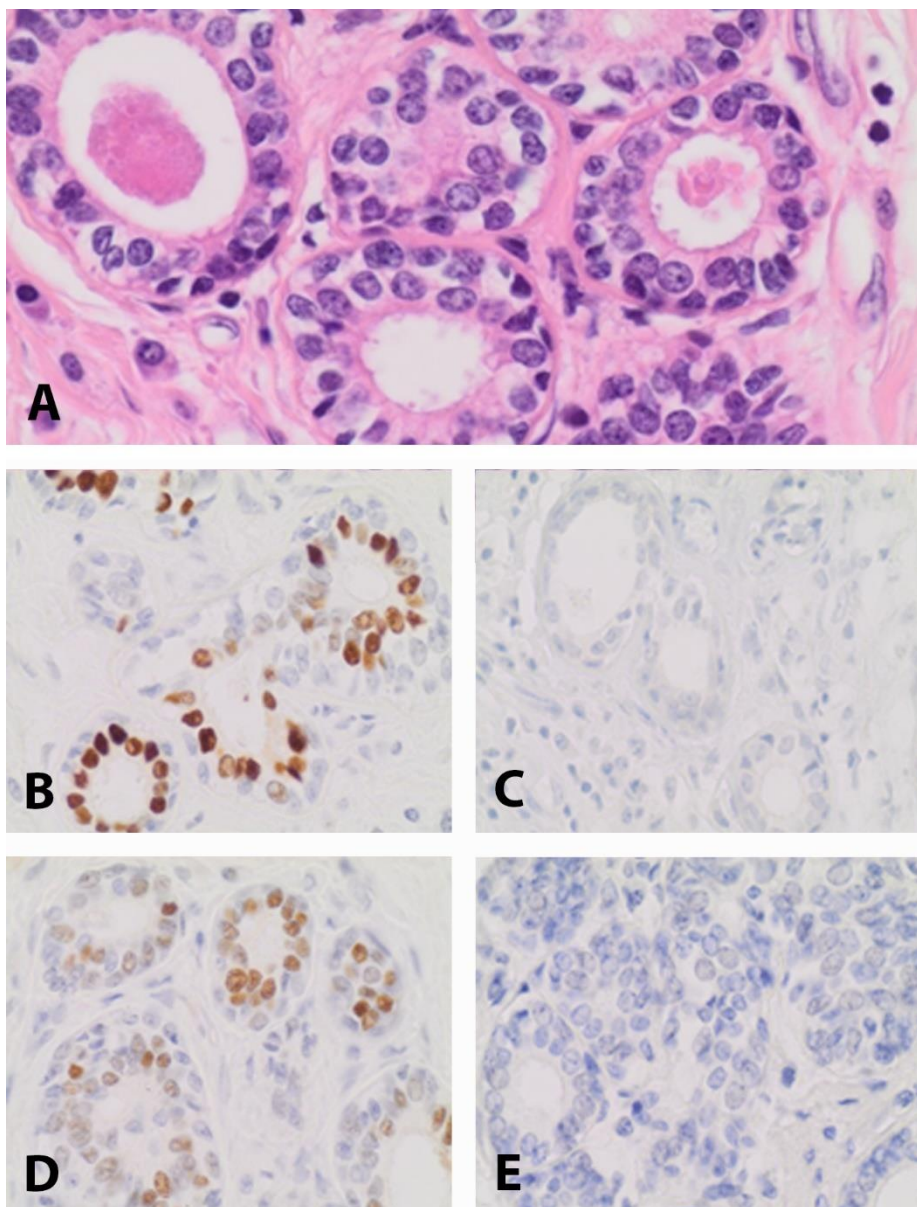
Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.



Rycina 27. Preparat 29336/64. Pacjentka lat 41, sutek prawy. Metastases carcinomatosae.

* **Rak inwazyjny NOS, DCIS 3.**

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (2+), C - status PgR (2+), D - Ki67 (<5%), E - status HER2 (3+),
Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.

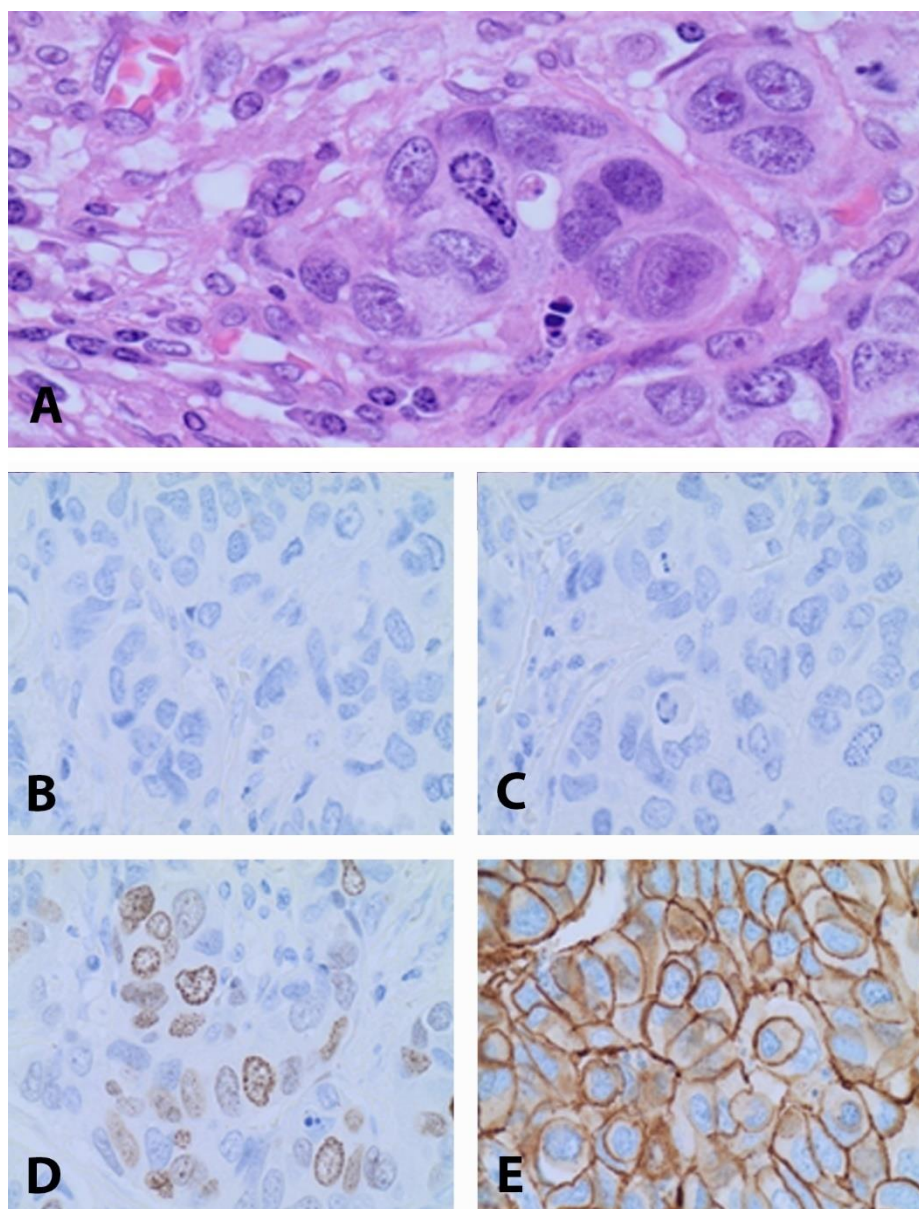


Rycina 28. Preparat 31367/64. Pacjentka lat 53, sutek prawy. Tumor phyllodes in statu malignitationis, inflammationis.

* DCIS, G3, zbyt mały obszar na inwazję typu NOS.

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (0/+), C - status PgR (-), D - Ki67 (-), E - status HER2 (0/1+),
Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.

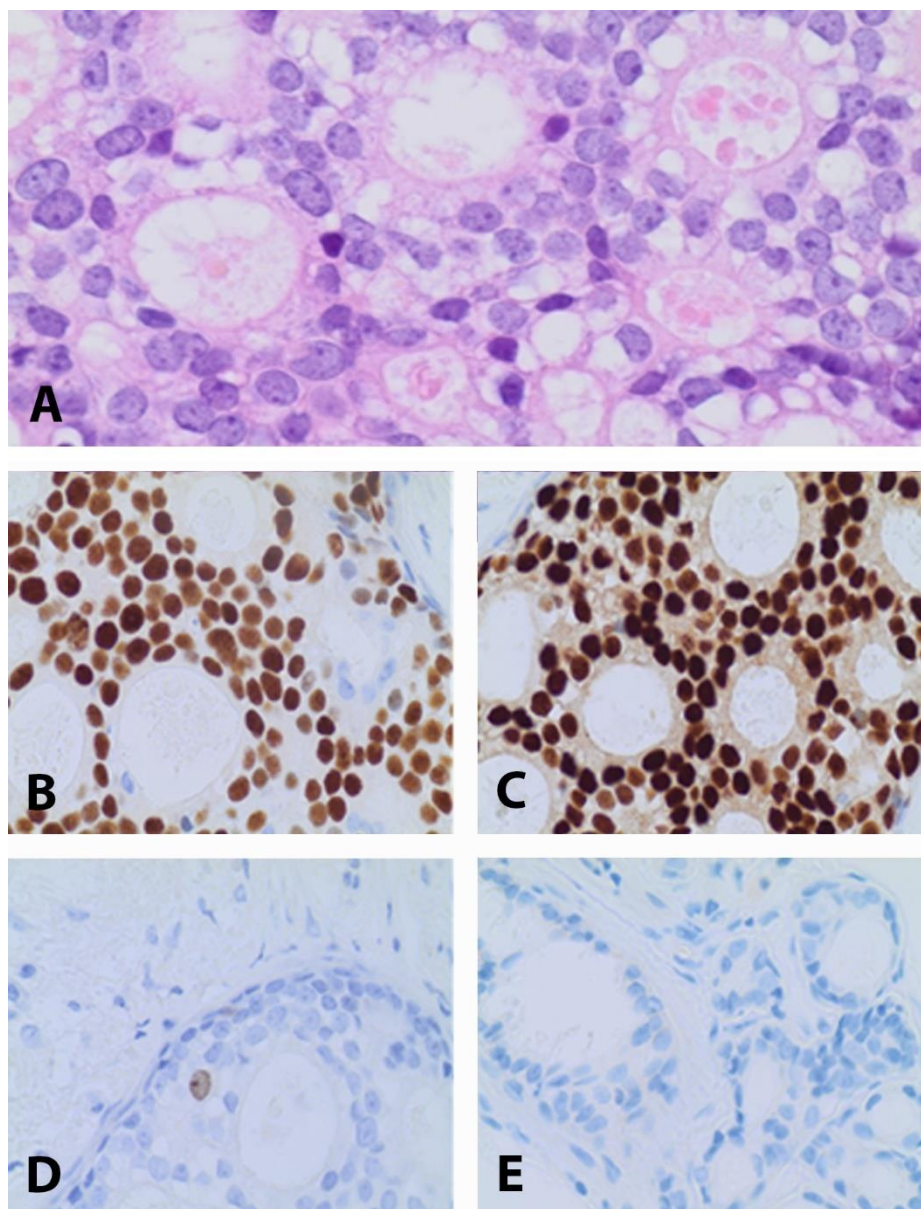
5.3.3 Rok 1971



Rycina 29. Preparat 48675/71. Pacjentka lat 47, sutek lewy. Carcinoma solidum, anaplasticum.

***Rak inwazyjny NST, NHG3(3+3+3:50 mitoz/10HPF).**

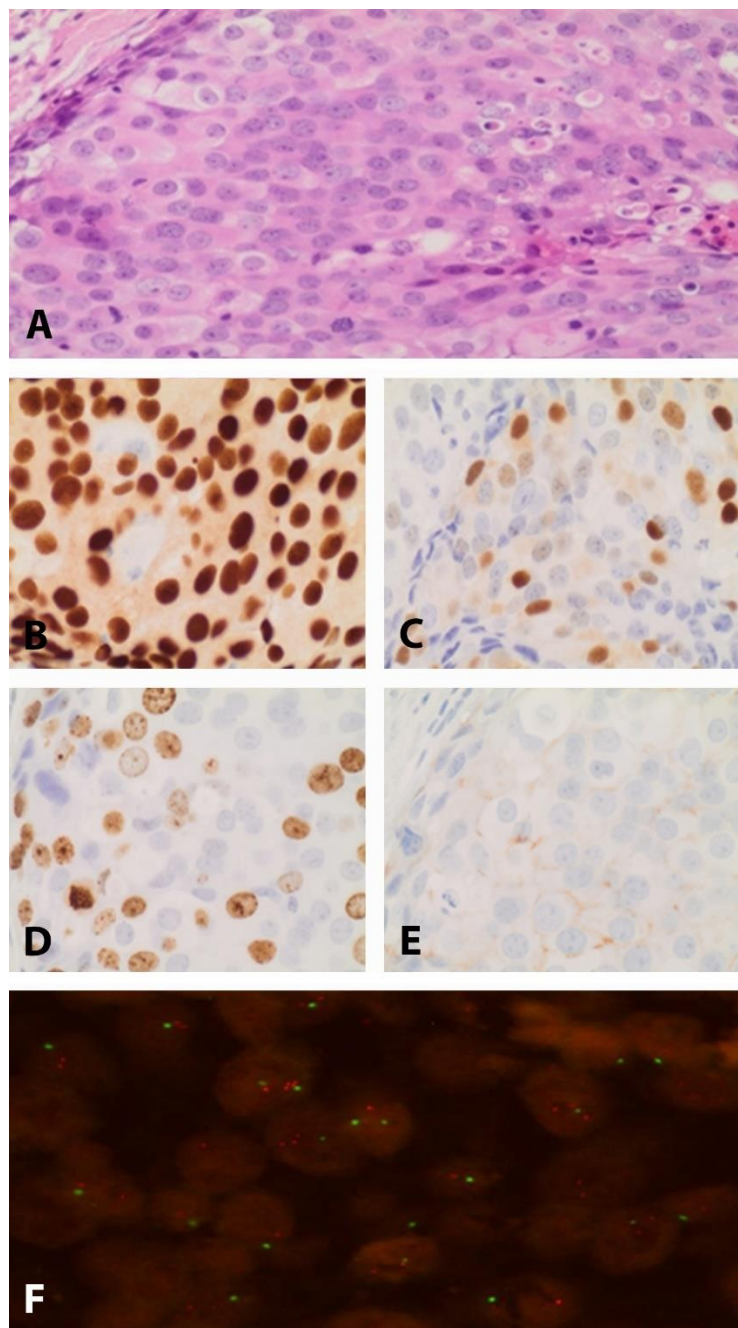
Wyniki: A - barwienie H&E, B- status ER (-), C - status PgR (-), D - Ki67 (30-40%), E - status HER2 (3+),
Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.



Rycina 30. Preparat 49986/71. Pacjentka lat 64, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma microcellulare, macro et microfocale.

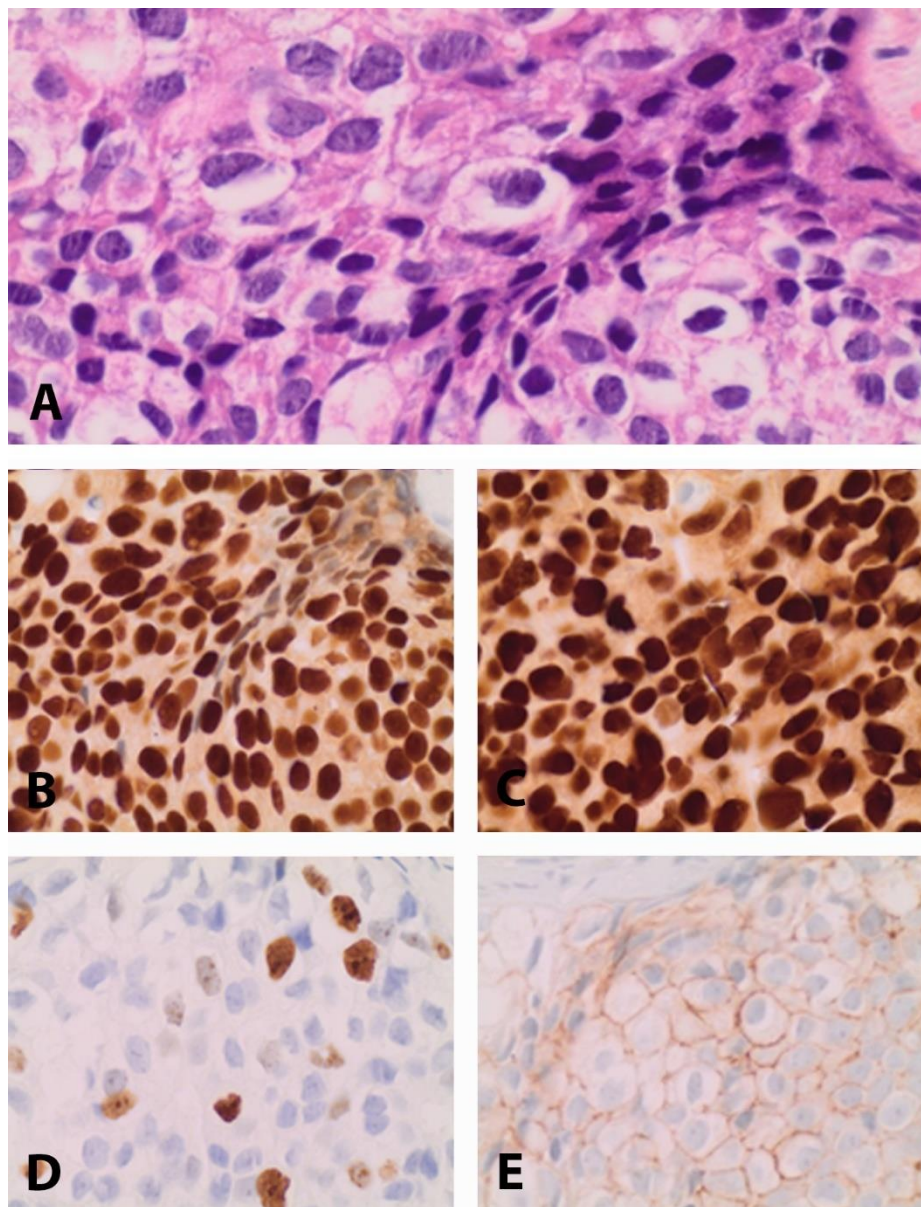
* Rak inwazyjny NST z cechami mikropapilarnymi i apokrynowymi: NHG1(2+2+1:2mitozy/10HPF).

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (3+), C - status PgR (3+), D - Ki67 (<10%), E - status HER2 (0), Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.



Rycina 31. Preparat 48860/71. Pacjentka lat 62, sutek prawy z węzłami chłonnymi. Carcinoma solidum lymphocysticum. * Rak inwazyjny NST z cechami zrazikowymi NHG2 (3+2+1;0mitoz?10HPF).
 Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (3+), C - status PgR (1+), D - Ki67 (30-40%), E - status HER2 (2+),
 Oryginalne powiększenie obiektywu 40x, F - status HER2 metodą FISH - amplifikacja genu HER2. Oryginalne powiększenie obiektywu 100x.

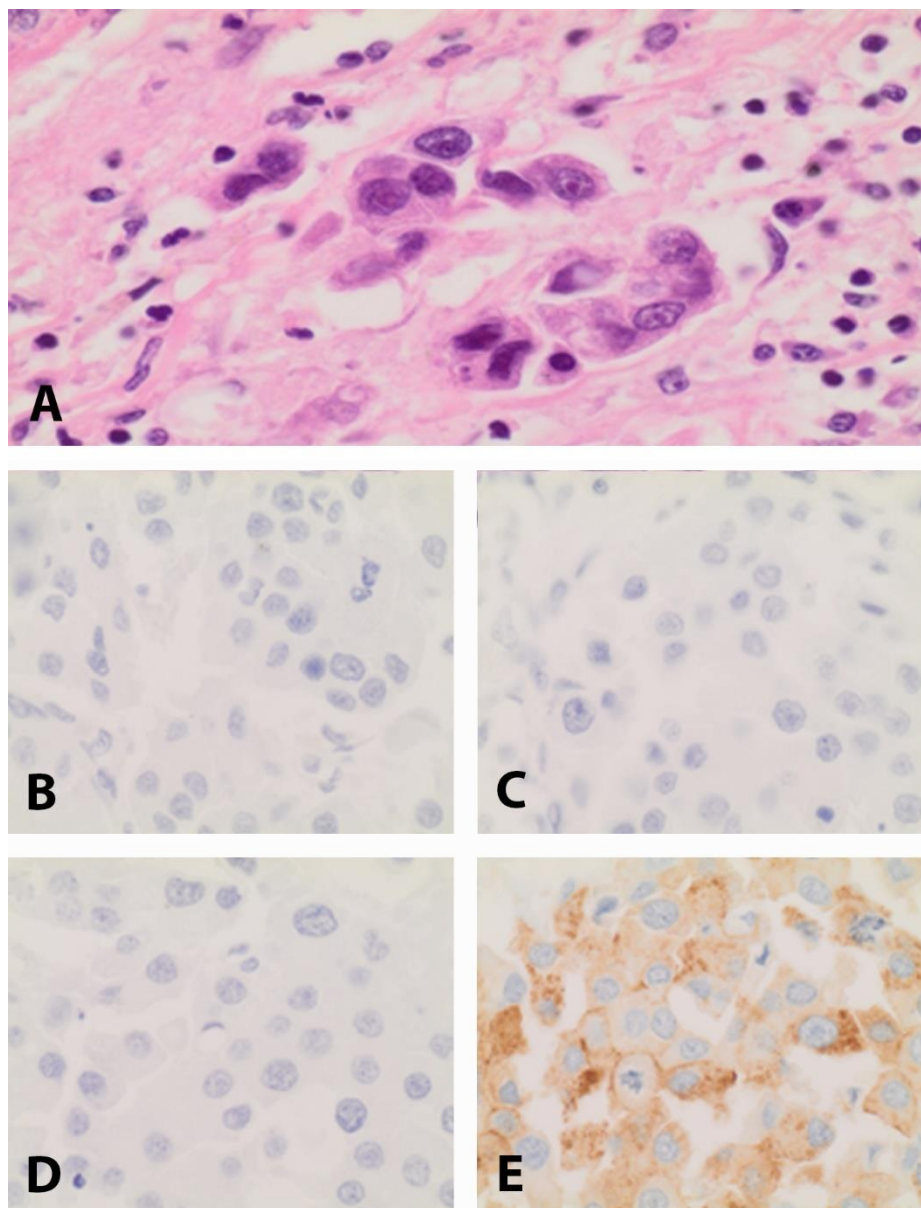
5.3.4 Rok 1984



Rycina 32. Preparat 90696/84. Pacjentka lat 56, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma cribriforme partim intralobulare.

* Rak inwazyjny NST, NHG2(3+2+1:0 mitoz/10HPF). Rak przewodowy in situ G3 wg. Van Nuys (typ lity i sitowaty o dużej atypii jąder komórkowych, martwica).

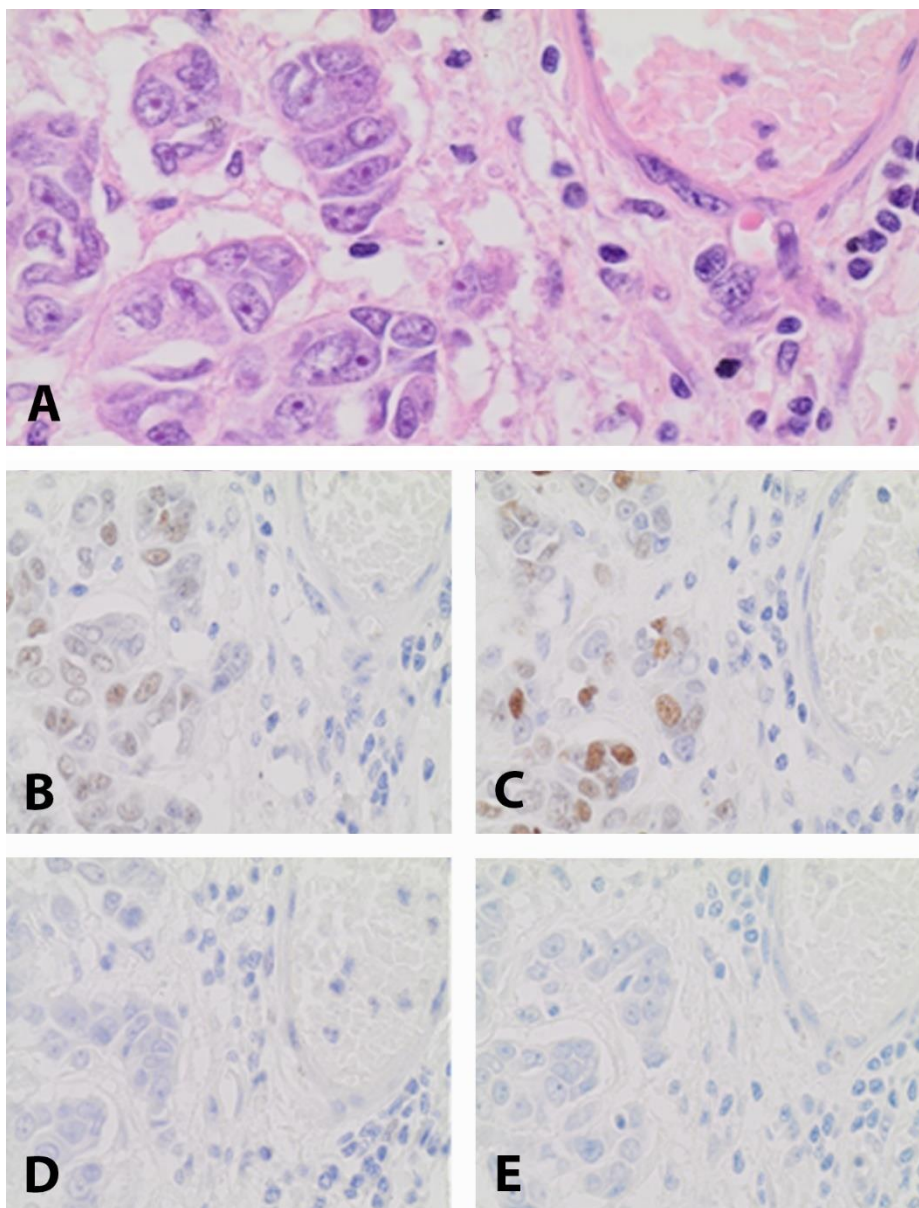
Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (3+), C - status PgR (3+), D - Ki67 (5%), E - status HER2 (2+), Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.



Rycina 33. Badanie 93216/84. Pacjentka lat 57, sutek prawy z węzłami chłonnymi. Carcinoma solidum partim mucocellulare.

* Rak inwazyjny NOS z cechami apokrynowymi/rak apokrynowy NHG2(3+3+1:3 mitozy/10HPF).

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (-), C - status PgR (1+), D - Ki67 (5%), E - status HER2 (3+),
Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.

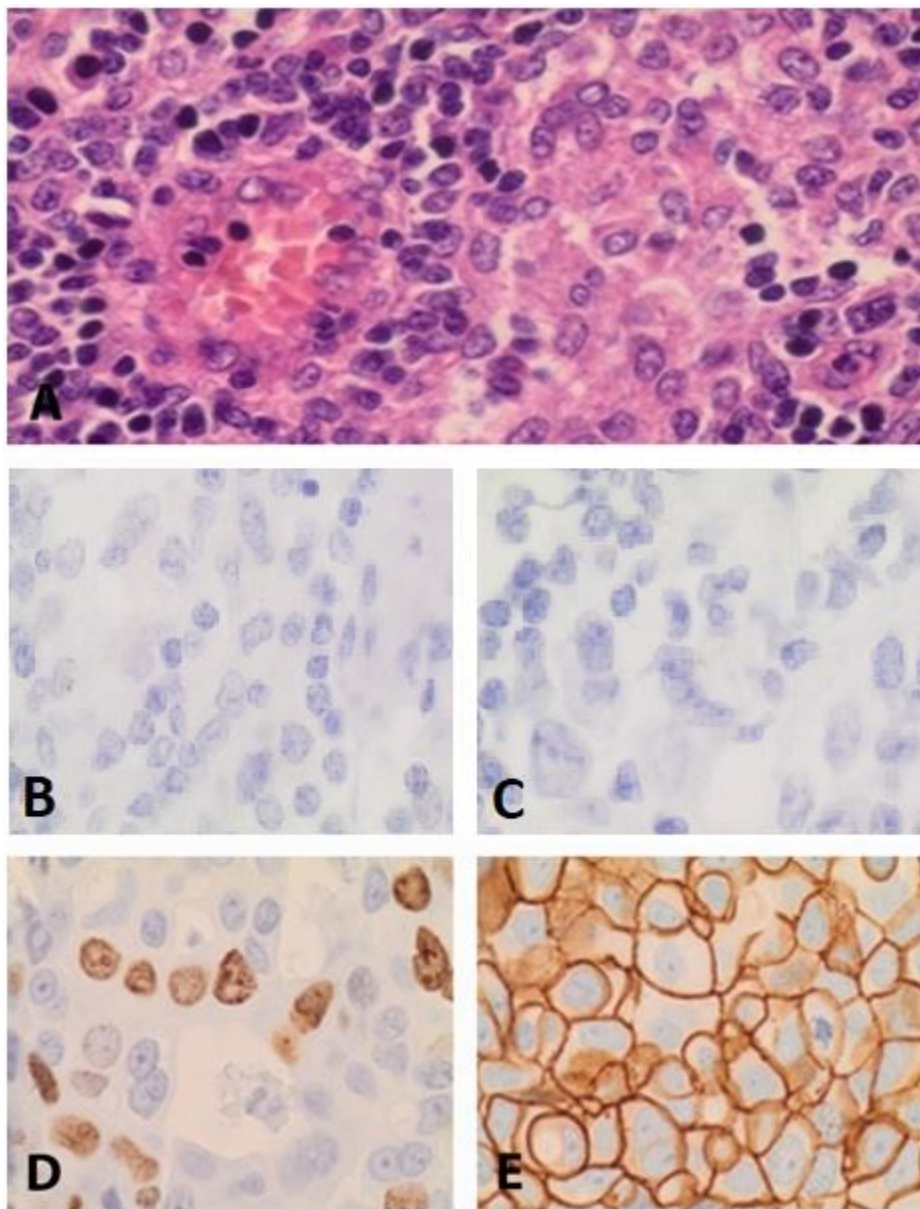


Rycina 34. Preparat 94043/84. Pacjentka lat 46, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma solidum partim adenoides, partim secretans.

* Rak inwazyjny piersi, typ najbliższy NOS z cechami mikropapilarnymi, NHG3(3+3+2:12 mitoz/10HPF).

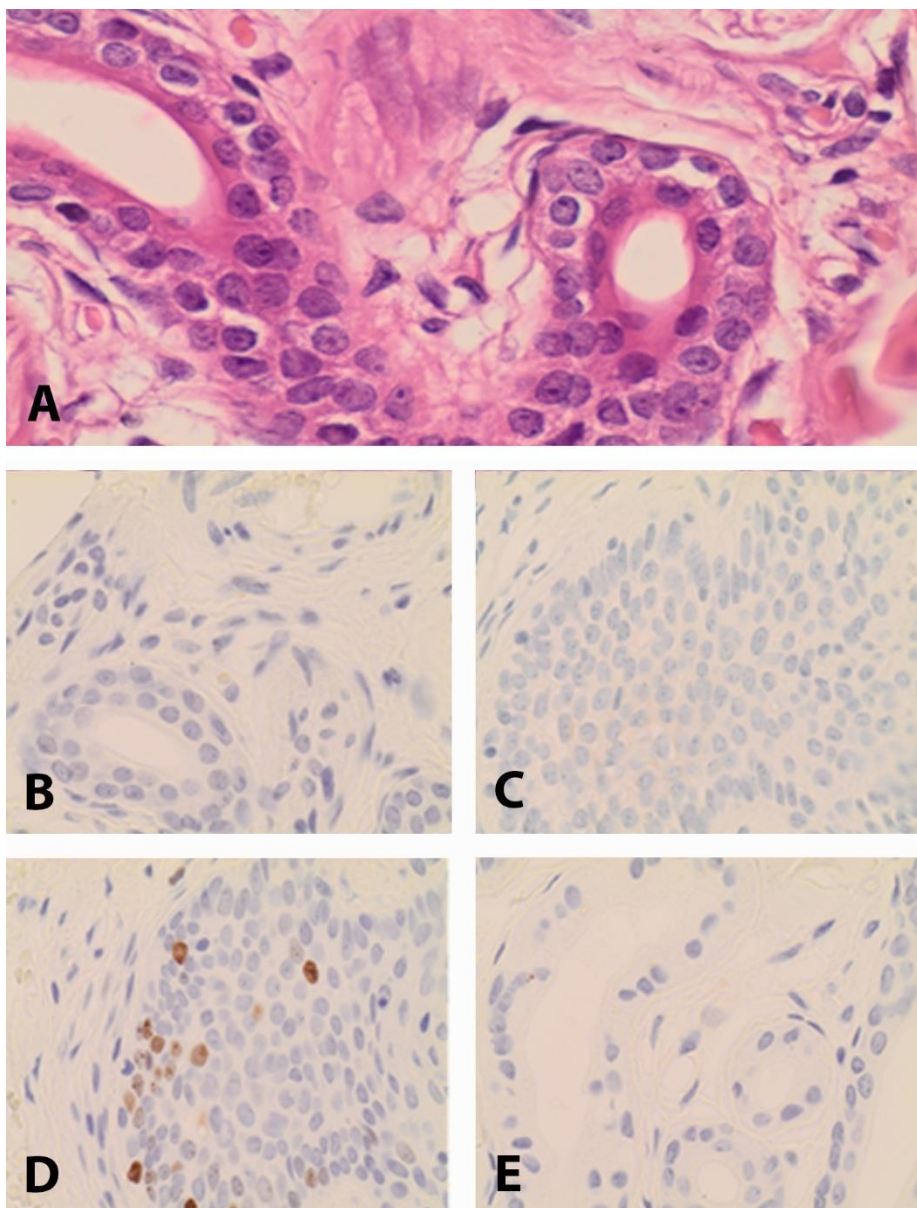
Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (1+), C - status PgR (1+), D - Ki67 (0-5%), E -status HER2 (0), Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.

5.3.5 Rok 1994



Rycina 35. Preparat 2860/94. Pacjentka lat 43, sutek prawy z węzłami chłonnymi. Carcinoma ductale invasivum. Invasio carcinomatosa vasorum lymphaticorum et venarum, G3:pT1 pN1. W utkaniu liczne ogniska carcinoma ductale praeinvasivum.

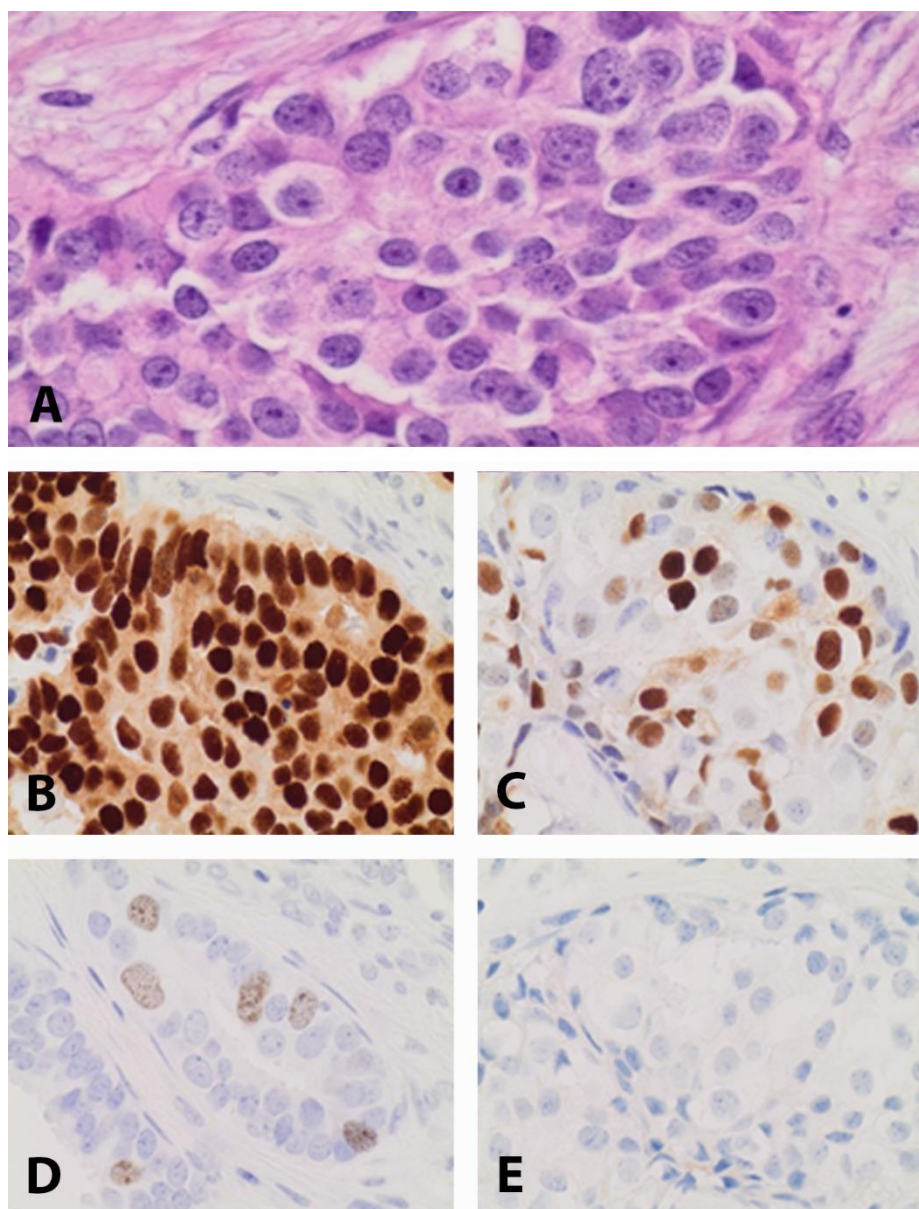
Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (2+), C - status PgR (3+), D - Ki67 (20-30%), E -status HER2 (3+), Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.



Rycina 36. Preparat 4396/94. Pacjentka lat 37, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma ductale invasivum mammae sinistrae (G2: pT1 pN1). Metastasis carcinomatosa in uno lymphonodo (I/IV). Infiltratio carcinomatosa capsulae lymphonodorum et tele adiposae peri glandularis.

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (-), C - status PgR (-), D- Ki67 (<10%), E - status HER2 (0),

Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.



Rycina 37. Preparat 3136/94. Pacjentka lat 61, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma tubulo-ductale desmoplasticum, G2.

Wyniki: A - barwienie H&E, B - status ER (3+), C - status PgR (1+), D - Ki67 (<5%), E - status HER2 (0), Oryginalne powiększenie obiektywu 40x.

6. Dyskusja

Nowotwory towarzyszą człowiekowi od tysięcy lat, poznanie przyczyn choroby stanowi odwieczny i nadal aktualny problem. Dziś wiemy, że przyczyną nowotworzenia jest złożony proces będący konsekwencją zaburzonej biologii komórki, zaburzonych mechanizmów kontrolujących proliferację komórek, kumulacji błędów genetycznych w kolejnych pokoleniach komórek potomnych spowodowanych przez mutacje DNA, samoistne lub indukowane wpływem czynników zewnętrznych [117]. Uszkodzenia DNA mogą mieć charakter mutacji punktowych (zmiany pojedynczych par zasad jak i dużych aberracji chromosomowych (delecje, translokacje, etc.). Nagłe zdarzenie w komórce może także zainicjować serię niepożądanych zmian i doprowadzić do rozwoju nowotworu. Większość mutacji w komórkach guza to mutacje somatyczne, nie są więc przekazywane potomstwu, nie są dziedziczne. Potomstwu mogą być przekazane mutacje linii zarodkowej, zmiany DNA komórek jajowych lub plemników. Mutacje takie mogą być przyczyną zwiększonego ryzyka wystąpienia pewnych nowotworów (nowotwory płuca, jelita grubego, rak piersi, rak jajnika, zespół Li i Fraumeniego) [96, 102]. Czynnikiem „promującym” może być wiek. Wraz z wiekiem spada odporność immunologiczna i częściej dochodzi do kumulacji mutacji somatycznych (złożony w czasie proces, co wyjaśnia wzrost ryzyka zachorowania na raka u osób starszych), czynniki dziedziczne (obciążony wywiad rodzinny, obecność genu BRCA1 i BRCA2, etc.), środowiskowe (nawyki żywieniowe, używki, aktywność fizyczna, posiadanie potomstwa, ekspozycja środowiskowa, miejsce i charakter pracy, czynniki społeczno-ekonomiczne: dochody, poziom wykształcenia i status społeczny, etc.), genetyczne (wrodzone choroby metaboliczne) oraz czynniki geograficzne [85, 96, 102]. Większość zachorowań na nowotwory złośliwe (70% zachorowań u mężczyzn i 60% zachorowań u kobiet) przypada na szóstą dekadę życia, a ryzyko wystąpienia choroby rośnie wraz z wiekiem osiągając szczyt w ósmej dekadzie życia [102, 118]. Nowotwory stanowią zróżnicowaną grupę chorób (dotychczas sklasyfikowano ponad 100 typów nowotworów, zawartych w X rewizji Międzynarodowej Statystycznej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych, ICD), różnice dotyczą zarówno szlaków komórkowych, mechanizmów molekularnych zaangażowanych w kancerogenezę jak i sposobu rozprzestrzeniania się nowotworu i tworzenia przerzutów odległych. Cechy charakterystyczne nadaje im tkanka, z której się wywodzą, gruczolakoraki

i raki (95%) rozwijają się z komórek nabłonkowych, mięsaki (5%) wywodzą się z komórek mezodermalnych (min. kości i mięśnie) [102, 117]. Mimo istotnych różnic, nowotwory wykazują wiele podobieństw. Wieloletnie badania amerykańskich badaczy, Douglasa Hanahana i Roberta Weinberga w 2000 roku zaowocowały określeniem cech wspólnych dla większości nowotworów: autonomiczna reakcja na sygnały wzrostu, brak wrażliwości na sygnały inhibitorów wzrostu, nieograniczony potencjał replikacyjny, inwazja i tworzenie przerzutów, niestabilność genomu i mutacje, angiogeneza, unikanie śmierci komórki, stan zapalny sprzyjający powstawaniu nowotworu, unikanie zniszczenia przez mechanizmy obronne układu immunologicznego, zdolność przeprogramowania metabolizmu energetycznego [117]. Właściwości te sprawiają, że nowotwór jest nie tylko autonomicznym procesem komórkowym, zależnym od wzajemnych oddziaływań między komórkami nowotworu, ale również od środowiska nowotworu i systemu przekazywania sygnałów, a wszystkie komórki guza pierwotnego biorą swój początek z „jednej”, zmutowanej komórki zawierającej zapis mutacji inicjującej proces karcinogenezy (inicjacja klonalna). Progresywny charakter zmian w komórce spowodowany kumulacją dodatkowych mutacji wpływających na zmianę fenotypu i ułatwiających adaptację do mikrośrodowiska, zapewnia jej przewagę we wzroście i rozwoju w porównaniu z komórkami sąsiadującymi. Znanych jest wiele mechanizmów blokujących i ograniczających proces transformacji nowotworowej, niestety przeciążenie systemów kontroli zwiększa ryzyko ominięcia mechanizmów obronnych komórki przez zmutowaną komórkę [117, 118]. Najstarszą strategią terapeutyczną i leczeniem z wyboru, jest zabieg chirurgiczny usunięcia guza w sposób jak najbardziej radykalny. Nie rozwiązuje to jednak problemu powstawania przerzutów. Aby proces ograniczyć lub wyeliminować stosuje się radioterapię bądź chemioterapię, lub obie te terapie równocześnie (teragnostyka), czyli terapie hamujące proliferację komórek nowotworu (efekt cytostatyczny) lub niszczące komórki nowotworowe (efekt cytotoksyczny). Wadą większości postępowań konwencjonalnych jest brak selektywności pomiędzy komórkami prawidłowymi i nowotworowymi, a decyzję o doborze leczenia dla pacjenta podejmuje się na podstawie wartości statystycznych dla danej populacji [117]. Prowadzi to do powstania zjawisk niepożądanych, skutków ubocznych wpływających niekorzystnie na stan zdrowia pacjentów i komfort ich życia. Nadzieję niosą genomika i proteomika nowotworów, stosunkowo młode dziedziny nauki zajmujące się analizą ludzkiego genomu i badaniem białek, ich struktury, funkcji i zależności, dostarczając cennych informacji na temat natury nowotworów, metod wczesnej

detekcji i możliwości leczenia spersonalizowanego, a więc takiego, które będzie uwzględniać różnice osobnicze pacjenta. W latach 1990 - 2003 miało miejsce wyjątkowe przedsięwzięcie naukowe, projekt poznania ludzkiego genomu, Human Genome Project. Międzynarodowy zespół naukowców pod kierunkiem prof. Mik'a Strattona, Dyrektora Instytutu Sangera w Wielkiej Brytanii, zsekwencjonował i zmapował ludzki genom, trzy miliardy par zasad [117]. Poznanie subtelnych różnic pomiędzy komórkami prawidłowymi i nowotworowymi dostarczyło wiedzy niezbędnej do tworzenia specyficznych, efektywniejszych i bezpieczniejszych leków przeciwnowotworowych, droga do medycyny spersonalizowanej została otwarta. Obecnie prowadzonych jest wiele prac nad terapiami molekularnymi takimi jak inhibitory angiogenezy, inhibitory cyklu komórkowego czy induktory apoptozy [117]. Z pomocą przychodzą nowoczesne technologie, zastosowanie mikromacierzy do analizy ekspresji genów, sekwencjonowanie nowej generacji (next-generation sequencing) czy analiza polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (single nucleotide polymorphism, nanotechnologia (transport nanocząsteczek leku, nanowektory jako środki kontrastujące, etc.), także techniki obrazowania, tomografia komputerowa, pozytonowa tomografia emisyjna, rezonans magnetyczny, obrazowanie optyczne i inne. Ogromny potencjał w walce z nowotworami tkwi w immunoterapii, komórki układu immunologicznego rozpoznają i eliminują komórki nowotworowe prowadząc tzw. nadzór immunologiczny, mogą także promować rozwój nowotworu poprzez mechanizmy selekcyjne wpływające na antygeny komórek nowotworu, w konsekwencji dochodzi do omijania systemów kontrolnych komórki i rozwoju nowotworu (immunoedycja). Wykorzystanie układu immunologicznego w immunoterapii jest ważnym elementem strategii terapeutycznych, wykorzystuje się min. rekombinowane przeciwciała do wpływania na specyficzne białka obecne na powierzchni komórek nowotworu lub na czynniki wzrostu (np. Herceptin i Awastin), generację limfocytów T pamięci do niszczenia nowotworu i przerzutu, stymulacja komórek układu immunologicznego poprzez szczepienia przeciwnowotworowe (immunizacja aktywna), blokowanie immunologicznych punktów kontrolnych, adoptywny transfer limfocytów T czy zastosowanie wirusów onkolitycznych do wybiórczego likwidowania komórek nowotworowych (np. selektywna liza komórek nowotworu) [117].

Od ponad trzech dekad prowadzone są intensywne poszukiwania mechanizmów molekularnych odpowiadających za rozwój i progresję wielu nowotworów, w tym raka piersi, które mogłyby posłużyć za czynniki prognostyczne i predykcyjne. Dostrzeżono ogromny

potencjał tkwiący w niedocenianych i niewykorzystanych dotąd repozytoriach klinicznych tkanek ludzkich, utrwalonych w formalinie i zabezpieczonych w parafinie. Szacuje się, że zakłady patologiczne na świecie generują rocznie blisko 50 milionów próbek. Niestety ani zapewnienie odpowiednich warunków ich przechowywania, ani dostępność materiału nie są priorytetem dla ośrodków medycznych [120]. W tej sytuacji niezwykle ważną inicjatywą, wartą naśladowania jest działalność Shared Pathology Informatics Network (SPIN), w ramach kooperacji dużych ośrodków uniwersyteckich tj.: Harvard University, Indiana University, University of California Los Angeles, Uniwersytetu Pittsburgh podjęto próbę opracowania systemu wyszukiwania i identyfikacji materiału archiwalnego na podstawie raportów klinicznych i archiwizowanych próbek. Oceniono jakość i dostępność materiału tkankowego na przykładzie wybranych stu rzadkich i stu najczęstszych nowotworów nabłonkowych z lat 1995 - 2005 ze wspomnianych placówek medycznych na terenie Stanów Zjednoczonych. W przeprowadzonej analizie wzięto pod uwagę jakość zachowanej dokumentacji medycznej w postaci raportów klinicznych, dostępność odpowiednich bloków parafinowych i preparatów histologicznych. Kompletność zbiorów oceniono na 89%, w tym na 76% w przypadku nowotworów rzadkich. *Patel A A. i in. (2006)* [120]. Kilka lat później *Smith M. A i in. (2011)* podjęli się podobnego zadania, celem pracy było ustalenie kryteriów jakości materiału historycznego. Zwrócono uwagę na warunki przechowywania materiału, wygodny dostęp i szybkie wyszukiwanie jako warunek niezbędny do tworzenia wiarygodnych baz danych, zeskanowano 120 000 raportów patologicznych z lat 1956 - 1979, podkreślono znaczenie opracowywania i wprowadzania standardów gwarantujących wysoką jakość materiału tkankowego, od etapu przedlaboratoryjnego począwszy, poprzez proces utrwalania i impregnacji parafiną po warunki przechowywania oraz możliwość szybkiego wglądu do badań [121].

Zakład Patologii Nowotworów rozpoczął działalność w 1953 r. jako jeden z trzech działów Wojewódzkiego Ośrodka Onkologicznego. Organizatorem pracowni był doc. Lucjan Przybora, ceniony patomorfolog kliniczny, uważany za pioniera onkologicznej histopatologii klinicznej i cytologii ginekologicznej w Wielkopolsce. Wprowadził metodę badania śródoperacyjnego z preparatów mrożonych, jako metodę rozpoznania patomorfologicznego podczas zabiegu operacyjnego. Obecnie w strukturach Zakładu działają pracownie: histopatologii, cytopatologii immunohistochemii, cytologii szyjki macicy, biologii molekularnej i cytometrii przepływowej. Zadaniem zakładu jest ustalenie precyzyjnego rozpoznania

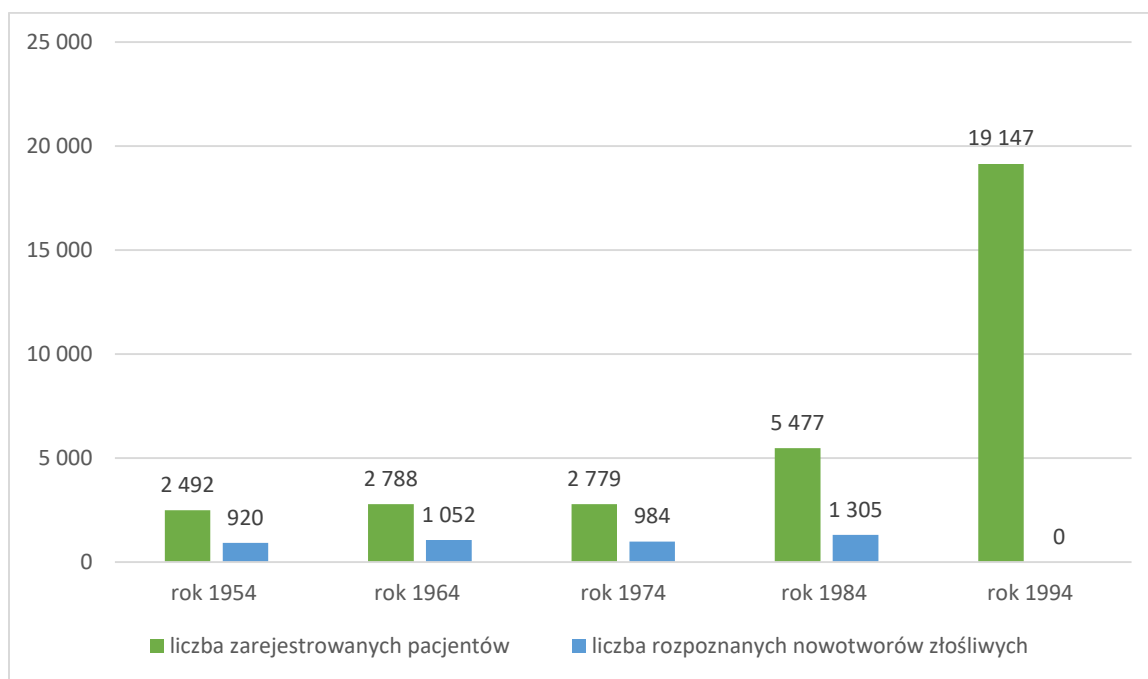
patomorfologicznego (typ histologiczny, stopień złośliwości, czynniki predykcyjne etc.). Opracowanie materiału operacyjnego, wycinków tkankowych, biopsj i materiału cytologicznego poparte badaniami immunohistochemicznymi, analizami z zakresu biologii molekularnej i cytometrii przepływowej umożliwia precyzyjne określenie nowotworu, dając podstawy do określenia czynników prognostycznych i predykcyjnych, dzięki czemu możliwy jest odpowiedni dobór skutecznego leczenia. Rozrastające się archiwum materiału tkankowego i dokumentacji medycznej oraz brak miejsca na terenie szpitala zmuszał do poszukiwania odległych lokalizacji. Liczne przeprowadzki, nieodpowiednie warunki przechowywania i działalność mikroorganizmów dokonały spustoszenia w archiwizowanym materiale, niestety część utraciono bezpowrotnie. Przeprowadzone analizy dokumentacji medycznej pacjentów i stanu depozytu tkankowego pochodzącego z archiwów Zakładu Patologii Nowotworów WCO pozwalają ocenić kompletność zbiorów z najwcześniejszych lat działalności Zakładu (1953 - 1984) na poziomie 70%. W kolejnych latach standardy przechowania dokumentacji medycznej oraz materiału tkankowego uległy znacznej poprawie, regulacje prawne narzuciły konieczność zmian, a wprowadzenie w 2002 r. systemu informatycznego i możliwość zapisu cyfrowego usprawniły dostępność raportów patologicznych. Wspomniane raporty są niezwykle ważnym tzw. wtórnym źródłem informacji dla epidemiologów i rejestrów nowotworów. Zebrane dane demograficzne i etiologiczne dotyczące chorób nowotworowych oraz ich gromadzenie, także danych archiwalnych dla określonej populacji umożliwiają śledzenie zmian w narażeniu na czynniki ryzyka, monitorowanie badań i ocenę skuteczności leczenia, prognozowania stopnia zachorowalności i umieralności na nowotwory złośliwe, planowanie strategii terapeutycznych, przyszłych kosztów społecznych, a także alokację środków na profilaktykę, diagnostykę, leczenie i rehabilitację. Według Tyczyńskiego J. (1995) *„we wszystkich elementach walki z rakiem (jakimi są prewencja, wykrywanie nowotworów, leczenie, badania laboratoryjne, epidemiologiczne, opieka terminalna i rehabilitacja) rejestr nowotworów może odgrywać ważną, a w niektórych przypadkach decydującą, rolę. Promocja zdrowego stylu życia może wpłynąć na poprawę stanu zdrowia i ograniczyć zapotrzebowanie na opiekę medyczną. Środowisko i styl życia wiążą się bezpośrednio z profilaktyką, zależną od pacjentów - ich postaw oraz wiedzy,* [127]. W interesujący sposób ujął ten problem Marc Lalonde, pełniący stanowisko ministra zdrowia Kanady w latach 80. ubiegłego wieku, przedstawił koncepcję „pół zdrowia”: zdrowie każdego z nas w 53% zależy od nas samych, w 21% od środowiska w którym żyjemy, w 16% od genów

i tylko w 10% od systemu opieki zdrowotnej [124]. Zgodnie z wyliczeniami amerykańskiego badacza Alana Devera wynika, że 90% środków przeznaczonych na system ochrony zdrowia, skutkuje 11% zmniejszeniem umieralności, a nakłady na edukację prozdrowotną pochłaniają zaledwie 1,5% minimalizując umieralność z powodu nowotworów do 43% !!! [125]. Dlatego oczywistym wydaje się przekonanie, że środki finansowe przeznaczane na ochronę zdrowia byłyby niższe, gdyby na poprawę długości i jakości życia zbiorowości mogła w wpływać dobrze zorganizowana profilaktyka zdrowotna. Wykładnikiem skali epidemii nowotworów czy innych zjawisk chorobowych jest ocena liczby zachorowań i zgonów polegająca na zliczaniu przypadków badanej populacji w określonym przedziale czasu, bezwzględna liczba przypadków zachorowań i zgonów może służyć do oceny wielkości problemu zdrowotnego lub określać dynamikę zmian w czasie (zależna od wielkości tej populacji i od struktury wieku). Współczynnik surowy chorobowości (umieralności) jest wyrażony jako liczba zachorowań (zgonów) w określonym czasie, wyrażany jako liczba przypadków na 100 000 osób w badanej populacji (nie uwzględnia się w tym przypadku struktury wieku), z kolei wskaźnik struktury wyrażony jest jako odsetek liczony od wszystkich zachorowań (zgonów) w grupie badanej i przedstawia procentowy udział danegonowotworu w odniesieniu do wszystkich nowotworów zdiagnozowanych w danym czasie [41, 52, 126]. Do porównania występowania chorób w różnych populacjach stosuje się najczęściej standaryzowany według wieku współczynnik zachorowalności i umieralności, prognozuje, ile zachorowań/zgonów wystąpiłoby w badanej populacji, gdyby struktura wieku tej populacji byłaby taka sama jak struktura wieku populacji standardowej (standardowa populacja świata) [41, 52]. Niestety, w wielu krajach brak środków na finansowanie badań statystycznych sprawia, że danych brak lub są niepełne, zdarza się, że rejestry chorobowości i zgonów są prowadzone, ale nie są kompletne i nie obejmują najbardziej niebezpiecznych grup ludności, także względy kulturowe czy religijne mogą ograniczać dostęp do rzetelnych danych, a wiek w chwili zgonu może być nieprecyzyjnie określony. Zapewnienie wiarygodnych danych o chorobach i zgonach jest jednym z podstawowych zadań dla epidemiologów [41, 52].

Prezentowane w niniejszej dysertacji wyniki szczegółowych analiz dokumentacji medycznej pacjentów z lat 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 potwierdzają jej wartość jako zasobu danych w postaci konkretnych liczb, stanowią zapis trendów zachorowań na nowotwory złośliwe na przestrzeni czterech dekad. W badaniach skupiono się na trzech istotnych wskaźnikach

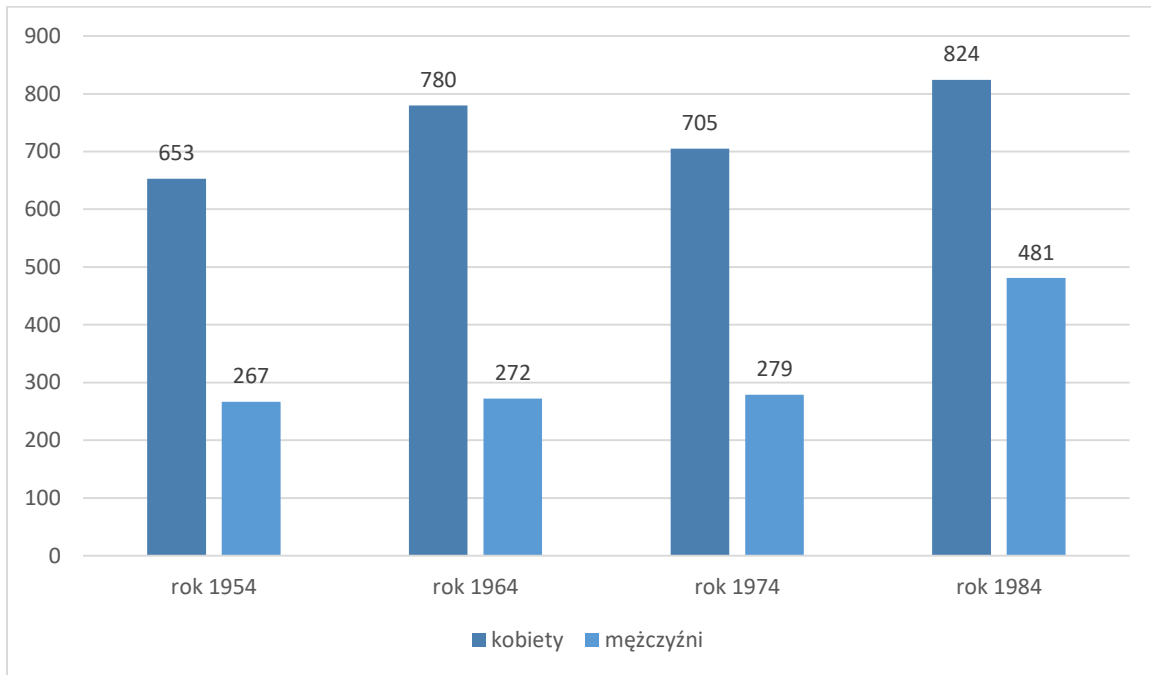
epidemiologicznych: liczby bezwzględne, współczynnik surowy chorobowości umieralności (w tym wypadku tylko chorobowości) oraz wskaźnik struktury. Obrazują one dynamikę wzrostu zachorowań (*rycina 38*), w tym na najczęstsze nowotwory: piersi, szyjki macicy, płuc i oskrzeli, które stanowią blisko 60% ogółu zachorowań na nowotwory złośliwe (*tabela 17-24*) Trend ten obserwowany jest nie tylko w regionie, ale w całym kraju [64].

Według badań przeprowadzonych przez zespół prof. Koszarowskiego w latach 1952 – 1982 w Polsce (Warszawa i województwo warszawskie, białostockie, bydgoskie, gdańskie, lubelskie, Łódź i województwo łódzkie, olsztyńskie oraz Poznań i województwo poznańskie) liczba zachorowań na nowotwory wzrosła wśród kobiet z 29 104 przypadków w 1972 r. do 31 322 w 1982 r. W populacji mężczyzn zchorowalność na nowotwory złośliwe wzrosła z 30 823 przypadków w 1972 r. do 35 098 w 1982 r. *Koszarowski T. i in. (1987)* [115]. Uzyskane wyniki są także świadectwem stanu zdrowia i kształtowania się świadomości zdrowotnej społeczeństwa w omawianym czasie, o czym świadczyć może wzrastająca zgłaszalność (*rycina 8, tabela 38*).



Rycina 38. Zestawienie zgłaszalności pacjentów i dynamiki wzrostu zachorowań na nowotwory złośliwe w latach 1954, 1964, 1974, 1984, 1994. Dane archiwalne Zakładu Patologii Nowotworów WCO.

Uwagę zwraca znaczący udział kobiet wśród pacjentów onkologicznych, w latach 1954 - 1974, utrzymywał się średnio na poziomie 72%, po dwóch dekadach względnego plateau tendencja ta uległa niewielkiemu spadkowi i wyniosła odpowiednio 63% w 1984 r. (rycina 39).

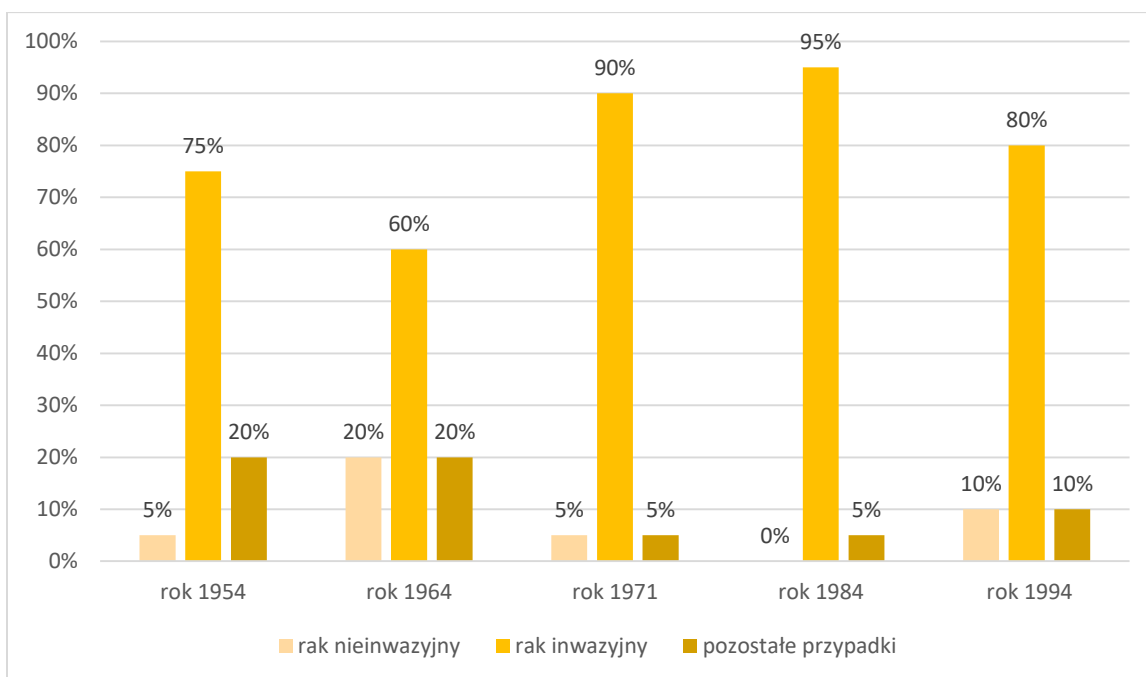


Rycina 39. Zachorowania na nowotwory złośliwe ogółem, w podziale na płeć. Materiał archiwalny Zakładu Patologii Nowotworów WCO z lat 1954, 1964, 1974, 1984.

Tendencja ta koreluje z wynikami badań ogólnopolskich. Jak zauważył prof. Koszarowski, w latach 1952 – 1972 częściej zgłaszano zachorowania na nowotwory złośliwe wśród kobiet, od roku 1973 zwiększyła się liczba zachorowań w grupie mężczyzn. Współczynniki surowe dla mężczyzn na 100 000 mieszkańców wzrosły z 61,4 w latach 1952 - 5. do 194,1 w 1982 r. Dla kobiet współczynnik ten wyniósł odpowiednio 112,1 w latach 1952 - 5. i 172,5 w 1982 r. Koszarowski T. i in. (1987) [115].

Nowotwory piersi od lat stanowią problem zdrowotny, Wielkopolska należy do regionów o najwyższych wskaźnikach zachorowań na ten typ nowotworu, to prawie 10% wszystkich przypadków w Polsce. W badanym okresie blisko 35% wszystkich nowotworów złośliwych występujących u kobiet to nowotwory złośliwe piersi, 24% w 2015 r. [76]. Najwięcej zachorowań odnotowano w przedziale wiekowym 50 - 69 lat (ryciny 11, 14, 17, 20, 22), potwierdzając tym samym nadal utrzymujący się niekorzystny trend zachorowań w piątej

i szóstej dekadzie życia [86]. Możliwość oceny materiału histologicznego z wykorzystaniem współczesnych standardów diagnostycznych wybranych przypadków nowotworów złośliwych piersi pozwoliła ustalić w grupie badanej nadzwyczaj wysoki odsetek zaawansowanych postaci nowotworów złośliwych piersi sięgający 75% w 1954 r. i 95% w 1984 r. (tabela 27, 36, rycina 40).



Rycina 40. Nowotwory piersi, w podziale na raki przedinwazyjne, raki inwazyjne i pozostałe. Na podstawie materiału archiwalnego z lat 1954, 1964, 1971, 1984, 1994. Zakład Patologii Nowotworów WCO.

Pacjentki zgłaszały się do lekarza najczęściej w zaawansowanym stadium choroby, co mogło wynikać zarówno z funkcjonujących stereotypów i obiegowych opinii na temat raka jak i z braku podstawowej wiedzy o nowotworach czy niewystarczającej profilaktyki pierwotnej (niepokoić może fakt, że stan ten nie uległ poprawie w ciągu czterdziestu lat, świadcząc wymownie o tym, jak niewiele zrobiono w kwestii upowszechniania wiedzy na temat raka i działań prewencyjnych w tym zakresie). Dopiero wprowadzenie (z dużym opóźnieniem w stosunku do Europy Zachodniej, lata 90. ubiegłego wieku) programów populacyjnych min. skryningu raka piersi (w Polsce od 2006 r.) pozwoliło na odwrócenie trendów zachorowań. Według danych Wielkopolskiego Rejestru Nowotworów z 2010 r. spośród wykrytych nowotworów złośliwych piersi, zmiany wczesne stanowiły blisko 73%, a pozostałe stopnie

zaawansowania 27% [76, 77]. Zastosowanie współczynnika surowego zachorowalności w odniesieniu do nowotworów złośliwych piersi pozwoliło lepiej ocenić kondycję zdrowotną Wielkopolanek (*tabela 16*). Niewielki odsetek rozpoznanych nowotworów złośliwych piersi w początkach działalności szpitala mógł być wynikiem niewielkiej jeszcze zgłaszalności pacjentek, w kolejnych latach utrzymywał się na stabilnym poziomie i wykazywał zbieżność z danymi ogólnopolskimi (*tabela 16*) W latach 90. wskaźnik surowy zachorowań wyraźnie odbiegał od wartości krajowych, 11,82 w Wielkopolsce (WCO) do 46,30 w Polsce [116]. Przyczyną tego stanu rzeczy mógł być nowy podział administracyjny Polski i zmiany w rejonizacji świadczonych usług medycznych, a także powstanie kolejnych szpitali onkologicznych w regionie.

W populacji mężczyzn najliczniej reprezentowane były nowotwory skóry, stanowiące niemal 45% wszystkich nowotworów złośliwych, najczęstsze w trzech lokalizacjach: usta, nos i małżowina uszna (*tabela 17, 19, 21, 23*). W dalszej kolejności zarejestrowano materiał laryngologiczny oraz nowotwory płuc i oskrzeli, zarówno u kobiet jak i mężczyzn 1,1 - 9% rozpoznanych nowotworów złośliwych w populacji mężczyzn i 0,3 - 2,2% w badanej grupie kobiet, (*tabela 17 - 24*). Będące najprawdopodobniej pokłosiem wzrostu konsumpcji wyrobów tytoniowych w latach 70. i 80., kiedy to spożycie tytoniu gwałtownie rosło, to niepokojące zjawisko utrzymywało się nie tylko w Polsce, ale i na świecie (w latach 80. 65% dorosłych mężczyzn stanowili palacze tytoniu i odpowiednio 30% kobiet). Obecnie w Polsce obserwuje się wyraźny spadek liczby palaczy, szczególnie w grupie mężczyzn (33%), niestety wśród kobiet trend ten utrzymuje się nadal na wysokim poziomie (19%) [126, 127]. Nowotwory złośliwe przewodu pokarmowego stanowią niewielki odsetek stwierdzonych nowotworów złośliwych wśród mężczyzn od 0,7 - 4,7% i 1,3 - 3,4% w populacji kobiet, co może mieć związek z utajonym przebiegiem wczesnych postaci choroby i brakiem nowoczesnych metod diagnostycznych (*tabela 17-24*).

Retrospektywny charakter badań niesie ze sobą pewne ograniczenia, brak ciągłości chronologicznej i niekompletność gromadzonych danych spowodowana rozproszeniem archiwum czy zły stan dokumentacji medycznej. Niepełne dane pacjentów uniemożliwiają jego jednoznaczną identyfikację, niemożliwym staje się prześledzenie dalszych jego losów, a tym samym ocena skuteczności postępowań medycznych (podstawowe analizy statystyczne opierają się na ocenie pięcioletniego okresu przeżycia). Brak danych klinicznych dotyczących

rozpoznania przypadku (czy było wynikiem samobadania, badania fizykalnego lub obrazowego, etc.) oraz wywiadu rodzinnego nie pozwalają sięgnąć do historii naturalnej choroby. Pomimo tych niesprzyjających okoliczności zebrany materiał może być interesującym uzupełnieniem wiedzy dotyczącej zarówno działalności Zakładu Patologii Nowotworów jak i prac z zakresu gromadzenia danych przez Wielkopolski Rejestr Nowotworów, stanowi cenną i wiarygodną bazę danych, może być inspiracją do wielu badań porównawczych, a wiedza o głównych przyczynach zachorowań i zgonów własnego regionu jest niezwykle ważna dla lekarzy, organizatorów zdrowia publicznego i epidemiologów. Warto podkreślić, iż zaletą takich analiz jest możliwość pozyskania szerokiego zakresu danych w stosunkowo krótkim czasie. Jak twierdzi *Didkowska J. i in. (2008)* „*badania epidemiologiczne o retrospektywnym charakterze mają zastosowanie szczególnie w odniesieniu do chorób, których przebadanie wymagałoby dużych kohort lub skutków długotrwałych ekspozycji na narażenia o długim okresie latencji, a analiza danych historycznych nawet w krótkim przedziale czasu pozwala na ewaluację programów populacyjnych (wdrożenie, skuteczność, wydajność programu, etc)*” [126].

Uwaga większości badaczy skoncentrowana jest przede wszystkim na sposobach pozyskania jak najlepszej jakości DNA i RNA oraz możliwości wykorzystania danych do analizy mechanizmów złośliwej transformacji, odpowiedzi na pytanie w jaki sposób sekwencja DNA determinuje różnice osobnicze i co sprawia że jesteśmy podatni na nowotwory. Badania te służą określeniu fenotypu zmian w celu odpowiedniej klasyfikacji choroby i wykorzystania w badaniach epidemiologicznych do identyfikacji właściwości molekularnych mających związek z progresją nowotworu od wczesnych stadiów choroby po stany zaawansowane, a także na określeniu cech molekularnych mających wpływ na odpowiedź na zastosowane leczenie. Zbiory archiwalne mogą posłużyć także do badań wpływu czynników biologicznych takich jak bakterie, wirusy, pasożyty czy innych zmian DNA w czasie, niezwykle ważnych w przypadku nowotworów rzadkich. *Shibata i in. (1988)* wykorzystali do badań archiwalne tkanki z lat 40. ubiegłego wieku. Zebrany materiał analizowano metodą PCR, pomimo znacznej degradacji DNA stosunkowo łatwo udało się wykryć pojedyncze sekwencje kwasu nukleinowegoi segmenty wirusa HPV [128]. *Tsutsumi Y. (2003)* wyizolował genom wirusa Epstein-Barra w materiałach liczących 170 lat [129], a *Fornaciari G. i in. (2012)* udowodnił istnienie form wirusa brodawczaka ludzkiego w tkankach pochodzących z XVI w. [130]. *Worobey R. i in (2011)* z materiału archiwalnego wyizolował wirusa niedoboru odporności HIV-1 i określił jego

pojawienie się na lata między 18884 - 1924 [131], z kolei *Mizuno T. i in. (1998)* wykazali rolę badań molekularnych w ocenie jakości i użyteczności kwasów nukleinowych w materiale tkankowym wykorzystując do tego celu 800 bloczków parafinowych z lat 1952 - 1989. Analiza próbek potwierdziła obawy, że oceniane parametry, a przede wszystkim integralność DNA i RNA podlegają pewnym niekorzystnym zmianom degradacyjnym, fragmentacji i chemicznej modyfikacji z powodu procesu utrwalania (tworzenie wiązań krzyżowych i trwałych wiązań koordynacyjnych dla jonów wapnia), procesu autolizy związanego z powolną dyfuzją utrwalacza do głębszych warstw tkanki, głównie w przypadku większych wycinków, a także parafinowania i czasu przechowywania, co jest szczególnie widoczne w przypadku RNA. Powyższe ograniczenia w sposób istotny utrudniają izolację i ocenę ilościową archiwalnego materiału. Jednak, co podkreślają sami autorzy możliwe jest pozyskanie dobrej jakości materiału stosując odpowiednie bufony i wydłużając czas inkubacji, sukcesem zespołu okazało się wykrycie genomu HCV w nowotworach wątroby [132]. Do podobnych wniosków doszedł zespół *Huang W.Y i in. (2010)*, w celu poprawy użyteczności wyekstrahowanego RNA zastosowano do inkubacji bufor Tris w temp. 70°C i wydłużono czas procesu do 3 - 5 dni. W badaniach ustalono też warunki ograniczające degradację materiału w czasie utrwalenia sugerując optymalny czas wstępnego utrwalenia w formalinie (czas między zabiegiem chirurgicznym a utrwaleniem) do 12 - 48 godzin i buforowanie formaliny do obojętnego pH w temp. 4°C. Przebadano 900 przypadków raka jelita grubego z preparatów parafinowych przy użyciu qPCR i mikromacierzy oraz standardowych zestawów do ekstrakcji kwasów nukleinowych. Wszystkie przebadane próbki wykazały stosunek 260/280 nm między 1,90 a 2,11 wykazując minimalne zanieczyszczenie i dając powtarzalne wyniki [133]. Nad oceną czystości i integralności próbek RNA metodą RT-qPCR dla określonych genów pracował także *Haynes H. R. i in. (2018)*, w badaniach wykazano, że wiek poddanych analizie tkanek nie wpłynął istotnie na wydajność, czystość i fragmentację RNA i stanowi wartościowy materiał do badań ekspresji genów (np. w analizie biomarkerów molekularnych) [134]. Ocena degradacji DNA w materiałach archiwalnych liczących od 0,5-12 lat za pomocą absorbancji ultrafioletowej technik PCR wykazała, że długi okres przechowywania nie ma znaczącego wpływu na izolację DNA. *Watanabe M. i in. (2017)* [135]. Próby opracowania optymalnych metod pozyskiwania kwasów nukleinowych z archiwalnego materiału tkankowego zamkniętego w parafinie metodą RT - PCR podjął się także *Bonin S. i in. (2010)* [136]. Niezależnie *Okello J.B i in. (2010)*, przeprowadził badania z wykorzystaniem

dziesięciu różnych metod ekstrakcji DNA i RNA materiału liczącego 3-13 lat, uzyskano ok. 90% dobrej jakości DNA i tylko w 60% wymierne RNA [137]. Z kolei *Kibriya M.G i in. (2010)* zwrócił uwagę na ograniczoną dostępność materiału świeżego bądź mrożonego będącego „złotym standardem” w biologii molekularnej, podkreślił konieczność walidacji metod PCR i mikromacierzy do rutynowego pozyskania materiału do badań ekspresji genów z archiwalnych próbek parafinowych. Badania obejmowały 21 przypadki raka piersi, wykazano, że niespełna 3% materiału jest przydatne do dalszych analiz molekularnych, a utrata sygnałów w blisko 90% próbek w porównaniu z materiałem mrożonym ogranicza analizy pojedynczych genów, z tego też powodu zalecono ostrożność w ocenie ekspresji genów materiału utrwalonego w formalinie i zamkniętego w parafinie, jednocześnie podkreślono przydatność materiału parafinowego do identyfikacji grup funkcjonalnych genów [138]. Także *Hüns M. i in. (2015)* przebadali 80 letnie archiwalne próbki pochodzące z wielu ludzkich narządów, wyekstrahowano DNA w ilości 0,25-22,77 ng/ μ l całkowitego DNA, wystarczającej do przeprowadzenia analizy sekwencjonowania pojedynczych nukleotydów [139]. *Adema V. i in. (2014)* poddali analizie metodą PCR materiał tkankowy z lat 2002 i 2010 pod kątem oceny jakości kwasów nukleinowych wykazując negatywny wpływ utrwalaczy, parafinowania i długotrwałego przechowywania na stan DNA i RNA. Zasugerowano aby w przypadkach gdzie zachodzi potrzeba analizy molekularnej w przyszłości, pozyskać DNA i RNA wkrótce po zakończeniu procesu diagnostycznego lub przechować zamrożony materiał w szpitalnym biodepozycie [140]. *Grillo F. i in. (2017)* w badaniach nad immunoreaktywnością historycznego materiału tkankowego potwierdził potencjał tkwiący w zachowanej tkance osadzonej w parafinie pochodzącej z lat 60-90. ubiegłego wieku, zastosowano dwanaście przeciwciał i porównano odpowiedź immunologiczną poszczególnych próbek (112 badań) w przypadku antygenów jądrowych stwierdzono zmniejszone nasilenie reakcji barwnej, szczególnie Ki67 i CD31, natomiast antygeny cytoplazmatyczne wykazały silną reakcję [141]. Badania archiwalnego materiału w kierunku identyfikacji rzadkiej postaci raka ślinianki (rak AciCC) wykazującego morfologiczne podobieństwo do raka wydzielniczego piersi były możliwe dzięki pozyskaniu odpowiedniej liczby przypadków. Zespół *Yu Lei i Simion I. Choisea (2011)* przeprowadził kompleksowe badania poparte oceną morfologiczną, zgodnie z najnowszą klasyfikacją nowotworów głowy i szyi, analizą immunohistochemiczną i badaniami molekularnymi (FISH) materiału z lat 1956 - 1975, w 1 na 9 opisanych przypadków raka ślinianki wykazano błędną

diagnozę, wynikającą najprawdopodobniej z przyjętych wówczas kryteriów morfologicznych. Przypadek o tyle istotny, że wiedza na temat wspomnianego raka ślinianki opierała się na badaniach z tego okresu, a możliwość zastosowania nowoczesnych metod analitycznych pozwoliła zweryfikować te dane [142]. Walidacja historycznych danych staje się koniecznością, mogłaby być pomocna w pogłębianiu wiedzy o chorobach i w ustaleniu nowych kryteriów diagnostycznych.

W doniesieniach polskich autorów można także odnaleźć dane potwierdzające zainteresowanie archiwalnymi repozytoriami tkankowymi. *Korga A. i in. (2007)* przeanalizowała czynniki mające bezpośredni wpływ jakość tkanek wykorzystywanych do badań, szczególnie proces utrwalania. Wskazano na protekcyjne działanie na DNA i RNA niższej temperatury utrwalania, ok. +4°C, a także na konieczność stosowania zbuforowanej formaliny (pH 7,2 - 7,4), roztwory o niższym pH sprzyjają usuwaniu zasad azotowych z nici DNA i tworzeniu nieprawidłowych par nukleotydów. Podkreślono także znaczenie czasu wszelkich zabiegów poprzedzających utrwalanie, należy przeprowadzać je możliwie szybko aby zapobiec zniszczeniu struktur komórkowych, enzymów i innych [143]. *Jarząb M. i in. (2008)* wyizolował RNA metodą qPCR z dwudziestu próbek raka piersi pochodzącego z rytynowej procedury radykalnej mastektomii z lat 1994 - 2003. Badania wykazały znaczny stopień zniszczenia RNA, zwrócono uwagę, że nie czas przechowywania, a sposób utrwalania materiału jest kluczem do zachowania integralności RNA [144]. *Wróbel G. i in. (2012)* zastosowali interfazalną hybrydyzację in situ materiału pochodzącego z nieziarniczych chłoniaków złośliwych u dzieci z lat 1993 - 2000. W 90% przypadków uzyskano pozytywny wynik hybrydyzacji [145]. Przytoczone publikację to oczywiście jedynie niewielki fragment prac badawczych archiwalnego materiału tkankowego w praktyce klinicznej, świadczą o jego ogromnym bogactwie i potencjale poznawczym, pomimo różnic w zastosowanych metodach, uzyskanych wynikach oraz w interpretacji opracowanego materiału stanowią wręcz nieograniczone źródło informacji nie tylko o nowotworach, ale i o wielu innych schorzeniach. Z powyższych badań wypływa jeszcze jeden ważny wniosek, istnieje mianowicie pilna potrzeba ujednolicenia sposobu utrwalania i przeprowadzania tkanek oraz optymalizacja warunków analiz ekspresji genów.

Szczegółowe badania wybranych przypadków nowotworów piersi z lat 1954, 1964, 1971, 1984 i 1994 pochodzących z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO z wykorzystaniem procedur diagnostycznych stosowanych w rutynowej praktyce, umożliwiły

ocenę zachowanych cech biologicznych materiału tkankowego (*załączniki 1 - 5*)., Zastosowanie barwienia HE będącego standardowym postępowaniem w pracowniach histopatologicznych pozwoliło na ocenę morfologii komórek. Spośród stu analizowanych przypadków raka piersi tylko w jednym stwierdzono częściową autolizę i rozfragmentowanie materiału, w trzech pojawiły się rozbieżności w ocenie patomorfologicznej, pozostały materiał nie budził wątpliwości diagnostycznych, dając podstawy do wiarygodnej oceny. Także przeprowadzone z powodzeniem badania immunohistochemiczne (ocena statusu ER, PgR, HER2, Ki67), a więc obecność i intensywność reakcji barwnych nie budziła zastrzeżeń. Analizy molekularne, zarówno ocena amplifikacji HER2 metodą FISH jak i izolacja DNA oraz oznaczenie mutacji BRAF pozwalają na pozytywną ocenę jakości zachowanego depozytu tkankowego (*załączniki 1 - 5, tabele 26, 29, 32, 35, 38*). Izolację DNA udało się przeprowadzić w 99% badanych próbek, osiągnięto stężenie w zakresie 1,07 - 470,31 ng/μl, a czystość materiału genetycznego dla wartości referencyjnych w zakresie 1,8-2,05 oznaczono w 79% materiału. W 11% prób wykazano zanieczyszczenie w granicach <1,8, >1,4 i w 9% osiągnęło wartość krytyczną dla większości reakcji enzymatycznych <1,4 (taki materiał wymaga dodatkowej ekstrakcji alkoholem przed podjęciem wszelkich analiz). Ocena statusu BRAF 25 wybranych przypadków raka piersi, posłużyła do oceny przydatności wyizolowanego gDNA (w 44% przypadków stwierdzono mutację, w 40% brak mutacji, w 16% wynik niejednoznaczny) (*tabele 26, 29, 32, 35, 38*). Osiągnięte wyniki są porównywalne z uzyskanymi przez wspomnianych wcześniej autorów analiz i stanowią wartościowy materiał zapewniający rzetelne i powtarzalne wyniki [133, 137, 139, 141].

Tabela 40. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO (załącznik 1 – 5)).

Lp.	Rodzaj badania	Wyniki (%)	
1.	izolacja gDNA	udana izolacja	99%
		nieudana izolacja	1%
2.	obecność mutacji BRAF (do oceny jakości uzyskanego gDNA)	obecność mutacji	44%
		wynik wątpliwy	16%
		brak mutacji	40%

Często obserwowanym zjawiskiem w komórkach raka jest amplifikacja onkogenów, co jest ściśle związane ze wzrostem agresywności nowotworu. Dzięki opracowaniu klasyfikacji opartej na profilowaniu genetycznym i ocenie ekspresji wybranych genów identyfikowanych na podstawie badania mikroskopowego tkanki pobranej z guza i wybarwionej metodą HE określono pięć podtypów nowotworów złośliwych piersi [102]:

typ luminalny A (HER2 ujemny) gdzie: ER+, PgR+, HER2/NEU-, Ki67 o niskim indeksie proliferacji <14%, wyróżnia się silną ekspresją genów typowych dla komórek gruczołowych, tworzących wewnętrzną warstwę prawidłowych przewodów i zrazików piersi (inner luminal cells) Charakteryzuje blisko 70% raków piersi o niskim stopniu złośliwości histologicznej związanych z niewielkim ryzykiem nawrotu i progresji choroby. Pacjentki odnoszą korzyść z leczenia hormonalnego;

typ luminalny B (HER2 dodatni), ER+, PgR+, HER2/NEU+, Ki67 >14%, charakteryzuje się ujemnym fenotypem, słabszą ekspresją ER, dotyczy raków niżej zróżnicowanych. Ponieważ wykazują one większą chemiowrażliwość, można zastosować chemioterapię, hormonoterapię i leczenie celowane z zastosowaniem trastuzumabu (rekombinowane przeciwciało wiążące się z receptorami HER2), które może obniżyć ryzyko nawrotu o około 50% i zgonu o 30%;

typ luminalny B (HER2 ujemny), ER+, PgR+, HER2/NEU-, Ki67 >14%, charakteryzuje się ujemnym fenotypem, słabszą ekspresją ER, dotyczy raków niżej zróżnicowanych. Ponieważ wykazują one większą chemiowrażliwość, można zastosować chemioterapię i hormonoterapię.

typ HER2/NEU dodatni (nieluminalny), ER-, PgR-, HER2/NEU+, Ki67 każdy, słaba ekspresja hormonalna lub jej brak oraz obecność nadekspresji genu HER2/NEU wiąże się z gorszym rokowaniem, klinicznie jednak ma ogromne znaczenie w przewidywaniu odpowiedzi na leczenie trastuzumabem (Herceptin);

typ bazalopodobny (basal like breast, triple-negative breast cancer, TNBC), ER-, PgR-, HER2/NEU-, Ki67 każdy, w większości przypadków nie wykazuje ekspresji receptorów hormonalnych i nadekspresji HER2. Najbardziej narażone na ten typ nowotworu są kobiety, które nie ukończyły 50 roku życia ze stwierdzoną mutacją w genie BRCA1 lub z obciążonym wywiadem rodzinnym w kierunku raka piersi. Guz rozwija się szybko i jest związany ze złym rokowaniem. Obserwuje się częste przerzuty odległe do mózgu i płuc;

Z uwagi na ogromne zróżnicowanie nowotworów złośliwych piersi, zarówno pod względem morfologii, historii naturalnej choroby i odpowiedzi na leczenie systemowe precyzyjna diagnoza oparta o nowoczesne kryteria diagnostyczne odgrywa niebagatelne znaczenie w określaniu czynników prognostycznych i predykcyjnych, wywierających bezpośredni wpływ na dobór odpowiedniego leczenia, które przyniesie pacjentce oczekiwaną korzyść, zminimalizuje działanie uboczne zastosowanych terapii i wpłynie na długość jej życia. Spersonalizowane leczenie ma też ogromne znaczenie w wymiarze społecznym i ekonomicznym, skraca czas rehabilitacji i pozwala szybciej wrócić do zdrowia i utraconych ról społecznych, zmniejsza także koszty całego procesu leczenia.

Obok wieku i uwarunkowań genetycznych jako czynników ryzyka dla raka piersi zwraca się szczególną uwagę na nadmierną ekspozycję na działanie endogennych estrogenów (estradiol i estron). Zaobserwowano zależność między wczesną menarche (przed 12 rokiem życia), a późną menopauzą (po 50 roku życia) oraz wiekiem pierwszej donoszonej ciąży a rakiem piersi. Najbardziej narażone są kobiety bezdzietne. U młodych kobiet głównym źródłem estrogenów są jajniki, po okresie menopauzy komórki tłuszczowe (adipocyty). Także długotrwałe stosowanie egzogennych estrogenów (antykontracepcja i hormonalna terapia zastępcza), szczególnie antykontracepcja u młodych kobiet wydaje się mieć wpływ na mechanizm kancerogenezy poprzez stymulowanie proliferacji komórek nabłonka gruczołowego piersi. Zwiększona częstość podziałów komórek gruczołu piersiowego sprawia, że pozostaje mniej czasu na naprawę DNA, to z kolei sprzyja powstawaniu błędów w trakcie replikacji i powstawaniu mutacji somatycznych prowadzących do rozwoju choroby nowotworowej [96, 102, 106, 146, 147]. Od lat 50. ubiegłego

wieku, a więc od czasu wprowadzenia pierwszych tabletek antykoncepcyjnych i syntetyzowanych hormonów steroidowych jako hormonalnej terapii zastępczej w latach 70, nieustannie prowadzone są badania ich wpływu na organizm kobiety i potencjalnych zagrożeń nowotworami złośliwymi (rak endometrium, rak jajnika i rak piersi). Obecnie przyjmuje się, że blisko 70% nowotworów złośliwych piersi uwarunkowanych jest stanem hormonalnym organizmu, raki wykazujące ekspresję ER to raki hormonozależne. Raki z nadekspresją receptora HER2, tzw. raki HER2 dodatnie stanowią 10-20% nowotworów złośliwych piersi, z kolei raki potrójnieujemne charakteryzujące się brakiem receptorów ER i PgR, i nadekspresji HER2 (15 – 20% [148, 149]. Dzięki wykorzystaniu nowoczesnych kryteriów diagnostycznych do oceny patomorfologicznej możliwa była analiza udziału tychże typów nowotworów w grupie badanych pacjentek. (tabela 42)

Tabela 41. Nowotwory złośliwe piersi, zachorowania, procentowy udział specjalnych typów nowotworów złośliwych piersi w analizowanych latach, 1954, 1964, 1971, 1984, 1994. Materiał archiwalny, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 1 – 5, tabele 25, 28, 31.

Rak piersi (C50)							
Lp.	Specjalne typy raka piersi	Podtypy biologiczne naciekającego raka piersi	Rok 1954	Rok 1964	Rok 1971	Rok 1984	Rok 1994
1.	raki hormonozależne	luminalny A luminalny B (HER2 -) luminalny B (HER2 +)	80%	60%	75%	65%	85%
2.	raki hormononiezależne	HER2 dodatni (nieluminalny) Trójujemny	20%	40%	25%	35%	15%

Wyniki powyższych analiz potwierdzają przyjęty obecnie podział nowotworów złośliwych piersi, wg. ACS udział raków hormonozależnych wynosi blisko 75% i odpowiednio około 25 % raki hormononiezależne [149, 150]. Zastanawia fakt tak dużego odsetka typu hormonozależnego raka piersi w populacji kobiet w latach 1954 - 1994, kiedy to panowały odmienne wzorce stylu życia, młodszy wiek pierwszej donoszonej ciąży, większa dietność i ograniczony wpływ egzogennych estrogenów, a więc jednych z najczęściej opisywanych *prawdopodobnych czynników ryzyka* raka piersi. Powstaje zatem pytanie, czy wydłużona ekspozycja na działanie estrogenów istotnie podnosi ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe piersi ? Może być to interesujący temat do poszerzonych analiz.

Wraz z rozwojem technik badawczych i mikroskopii rośnie zainteresowanie biobankami tkanek ludzkich i możliwością ich wykorzystania w wielu dziedzinach współczesnej medycyny, kładących nacisk na indywidualną ocenę ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej jak i spersonalizowane leczenie. Obrazowanie wielkoformatowe, profilowanie DNA, RNA i białek, testowanie i odkrywanie nowych biomarkerów, badania filogenetyczne (analiza mutacji badanych linii filogenetycznych), farmakogenomika to tylko kilka z ważnych obszarów medycyny zainteresowanych badaniem archiwalnych tkanek i szansa na uzyskanie odpowiedzi na wiele pytań dotyczących karcinogenezy i zrozumienia zmian zachodzących w funkcjonowaniu genów na wszystkich etapach rozwoju choroby nowotworowej.

Dla młodego pokolenia patomorfologów analiza historyczna zbiorów tkankowych może być ciekawą ilustracją zmieniających się kryteriów diagnostycznych i morfologicznych w czasie. Od oceny morfologii komórek jako podstawy rozpoznania patomorfologicznego w latach 60. ubiegłego wieku po wprowadzenie systemu oceny zaawansowania choroby nowotworowej (ang. staging), określenie stopnia złośliwości histologicznej (ang. grading) oraz analizy immunohistochemiczne i molekularne wraz z określeniem podtypów nowotworów złośliwych i oznaczeniem szeregu mutacji (BRCA1, BRCA2, BRAF, KRAS, NRAS i wielu innych).

Mając na uwadze ogromną wartość archiwum, należy dołożyć wszelkich starań, aby zgromadzony w nim materiał o wyższej przecież wartości badawczej niż archiwalnej służył powstaniu wielu ciekawych opracowań naukowych, które pozwolą lepiej oszacować statystycznie rozwój nowotworów w regionie i zrozumieć odmienną historię naturalną chorób nowotworowych. Może być również ważnym głosem w dyskusji o przyszłości repozytoriów

tkankowych w Polsce, w świetle obowiązujących przepisów zasady przechowywania preparatów histologicznych, zarówno materiału parafinowego jaki preparatów histologicznych reguluje Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 18 grudnia 2017 r. w sprawie standardów organizacyjnych opieki zdrowotnej w dziedzinie patomorfologii, które nakłada na podmioty opieki zdrowotnej obowiązek przechowywania w/w materiału minimum 20 lat.

7. Wnioski

W odniesieniu do celów głównych po przeprowadzeniu badania sformułowano następujące wnioski:

- a) analiza dokumentacji medycznej badań patomorfologicznych wykonanych w ZPN WCO na przestrzeni lat odzwierciedla zakres działalności szpitala i profil pacjentów objętych opieką,
- b) materiał tkankowy zabezpieczony w postaci bloczków parafinowych jest dobrze zachowany; możliwe jest wykorzystanie materiału do badań technikami histologicznymi oraz biologii molekularnej, także materiału z lat 50. ubiegłego wieku, co jest przesłanką do tworzenia repozytoriów materiałów tkankowych (zwłaszcza chorób rzadkich) do wykorzystania w celach opracowań naukowych.

W odniesieniu do celów szczegółowych po przeprowadzeniu badania sformułowano następujące wnioski:

7. 1 Analiza dokumentacji medycznej pacjentów z lat 1954, 1964, 1974, 1984 i 1994 dostarczyła wielu istotnych informacji do stworzenia algorytmów o znaczeniu epidemiologicznym:

- liczba pacjentów diagnozowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów (*ryciny 7, 8*)
- liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych (*tabela 15*)
- najczęstsze umiejscowienia zmian nowotworowych (*tabele 17-24*)
- struktura płci (*ryciny 10, 13, 16, 19*)
- struktura wieku pacjentek z rozpoznaniem rakiem piersi (*ryciny 11, 14, 17, 20, 22*)
- współczynnik surowy zachorowalności w ocenie populacji kobiet z regionu Wielkopolski

w zestawieniu z danymi krajowymi z analogicznego okresu (*tabela 16*)

Badania wykazały kompletność zdecydowanej części archiwizowanego materiału, blisko 70%, zarówno dokumentacji medycznej, jak i zdeponowanych w archiwum kostek parafinowych. Zebrane dane epidemiologiczne korelują z wynikami obserwacji prowadzonych na terenie całego kraju stanowiąc wiarygodne źródło informacji i wartościowy materiał porównawczy oraz dopełnienie istniejących statystyk [64, 73, 84, 115]. Obrazują dynamikę wzrostu zachorowań na przestrzeni czterech dekad (*rycina 38*), w tym na najczęstsze nowotwory: piersi, szyjki macicy, płuc i oskrzeli, jelita grubego i okrężnicy, które stanowią blisko 60% ogółu zachorowań na

nowotwory złośliwe w badanej populacji (*tabele 17-24*) . Trendy te potwierdzają obserwacje krajowe i metaanalizy zagraniczne [3, 5, 64, 73, 84, 115].

Ograniczeniem takich badań jest zarówno brak ciągłości chronologicznej i niekompletność gromadzonej dokumentacji medycznej spowodowana rozproszeniem archiwum jak i stopień jej zniszczenia. Także niepełne dane pacjenta uniemożliwiają jego jednoznaczną identyfikację i prześledzenie dalszych jego losów, a tym samym ocenę skuteczności postępowań medycznych (podstawowe analizy statystyczne opierają się na ocenie pięcioletniego okresu przeżycia) i brak danych klinicznych dotyczących rozpoznania przypadku (czy było wynikiem samobadania, badania fizykalnego lub obrazowego, etc.) oraz wywiadu rodzinnego nie pozwalają sięgnąć do historii naturalnej choroby.

7.2 Analiza archiwalnych próbek tkankowych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie wybranych przypadków raka piersi posłużyła do oceny stopnia zachowania właściwości biologicznych historycznego materiału tkankowego i możliwości dalszego wykorzystania do szczegółowych opracowań. W badaniach wykorzystano dostępne, rutynowe procedury diagnostyczne stosowane w Zakładzie Patologii Nowotworów (*załączniki 1- 5*);

- 96% badanych przypadków raka piersi barwionych metodą H&E nie stanowiło istotnych problemów interpretacyjnych
 - w 1% przypadków stwierdzono autolizę;
 - 3% rozpoznań było rozbieżnych z obecną oceną patomorfologiczną;
 - zastosowanie procedur immunohistochemicznych pozwoliło na ustalenie rozpoznania zgodnie z obowiązującymi standardami (wszystkie analizowane przypadki);
 - jeden przypadek HER2 (oceniony +2) poddano weryfikacji metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) i uzyskano wynik pozytywny w postaci wyraźnych sygnałów, amplifikacja genu HER2 - ratio 2,6. (*ryc.31, załącznik 3*);
 - udaną izolację gDNA przeprowadzono w 99% badanych próbek, osiągnięto stężenie w zakresie 1,07- 470,31 ng/ μ l, a czystość materiału genetycznego dla wartości referencyjnych w zakresie 1,8-2,05 oznaczono w 79% materiału, w 11% prób wykazano zanieczyszczenie w granicach <1,8 do >1,4 i w 9% analiz osiągnięto wartość krytyczną dla większości reakcji enzymatycznych <1,4 (*tabele 26, 29, 32, 35, 38, załączniki 1-5*);

- ocena statusu BRAF 25 wybranych przypadków raka piersi, posłużyła do oceny przydatności wyizolowanego gDNA (w 44% przypadków stwierdzono mutację, w 40% brak mutacji, w 16% przypadków wynik był niejednoznaczny), (*tabele 26, 29, 32, 35, 38, 40*);
- wykorzystanie nowoczesnych metod klasyfikacji nowotworów złośliwych piersi w oparciu o profilowanie molekularne pozwoliło na ocenę udziału nowotworów hormonozależnych i hormononiezależnych w badanej populacji pacjentek z rozpoznany rakiem piersi (*tabela 41*).

Zarówno techniki histopatologiczne, immunohistochemiczne i molekularne potwierdziły dobrze zachowane właściwości tkanek, morfologię komórek umożliwiającą ocenę mikroskopową jak i epitopy odkrywane w wybranych reakcjach immunohistochemicznych, a także cechy molekularne dające podstawy do wiarygodnych i powtarzalnych analiz. Wykorzystanie współczesnych metod diagnostycznych pozwoliło prześledzić także zmieniające się standardy i klasyfikacje diagnostyczne. Wyniki prezentowanych analiz potwierdzają zachowane biowłaściwości tkanek i znaczenie depozytów tkanek ludzkich dając asumpt do dalszych badań o retrospektywnym charakterze. (*ryciny 23-37, załączniki 1-5*)

8. Streszczenie

1. Wstęp

Zdrowie od zarania ludzkości było przedmiotem troski i zainteresowania człowieka. Już w V w. Hipokrates zwracał uwagę na wpływ czynników środowiska na kondycję ludzi, a działania służące zachowaniu zdrowia znane były już wśród starożytnych społeczeństw. Dzięki ogromnej pasji, wiedzy i doświadczeniu wielu wybitnych badaczy na przestrzeni tysięcy lat wiemy coraz więcej o naszym zdrowiu, jak je zachować, jak zapobiegać chorobom i jak je skutecznie leczyć. Ogromnym wyzwaniem dla starzejących się społeczeństw Ameryki Północnej i Europy Zachodniej, a także coraz częściej w Europie Wschodniej i krajach rozwijających się stają się choroby nowotworowe, będące obok chorób układu krążenia najczęstszą przyczyną zgonów.

Do niedawna nowotwory uważane były za chorobę współczesną, będącą konsekwencją postępu cywilizacyjnego, efektem działalności człowieka, jednak istnieje wiele dowodów świadczących o tym, że choroby nowotworowe towarzyszyły ludziom od tysięcy lat, zanim powstały nowoczesne kultury przemysłowe (pierwsze wzmianki pojawiają się min. w papirusach datowanych na 1500 r. przed Chrystusem czy najstarszych zabytkach piśmiennictwa sumeryjskiego z II w. p. n. e). Od czasów Hipokratesa i wielu doniosłych odkryć kolejnych stuleci, rozwoju mikroskopii i technik badawczych, rozkwitu wielu dziedzin medycyny po ewolucję technologiczną przełomu XX i XXI w. próby poznania istoty choroby nowotworowej podlegają nieustannej ewolucji. Mimo podejmowanych działań prognozy są niepokojące. W 2018 roku Światowa Organizacja Zdrowia zarejestrowała blisko 18 mln zachorowań na nowotwory złośliwe i około 9 mln zgonów z tego powodu [2], a zgodnie z dalszymi przewidywaniami Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) liczba zachorowań może wzrosnąć w 2035 roku do 24 mln i 12 mln zgonów !! [3]. Tylko w Polsce w 2018 roku odnotowano niemal 170 000 zachorowań i 100 000 zgonów w wyniku choroby nowotworowej [4]. Wśród najczęściej rejestrowanych przypadków znalazły się nowotwory złośliwe piersi, płuc, jelita grubego i okrężnicy oraz prostaty, stanowiące niemal 60% wszystkich zachorowań na nowotwory [5]. Obok niezaprzeczalnej roli chirurgii klinicznej, patomorfologii i wielu innych dziedzin współczesnej medycyny znaczącą rolę w procesie zapobiegania i leczenia chorób

nowotworowych coraz częściej odgrywa epidemiologia i działalność rejestrów nowotworów. Pozyskiwanie i gromadzenie danych dla określonych populacji o zagrożeniu chorobami nowotworowym, pozwala na wyodrębnienie grupy objętej badaniem populacyjnym, umożliwia także śledzenie zmian w narażeniu na czynniki ryzyka, monitorowanie badań i ocenę skuteczności postępowań medycznych, planowanie strategii terapeutycznych, przyszłych kosztów społecznych oraz dystrybucji środków na ochronę zdrowia. W tym kontekście niezwykle ważne stają się studia retrospektywne dające możliwość analizy danych historycznych będących cennym uzupełnieniem wiedzy na temat nowotworów, zmieniających się kryteriów diagnostycznych, a także w zakresie badań epidemiologicznych.

Zakład Patologii Nowotworów działa w strukturach Wielkopolskiego Centrum Onkologii od 1953 r., w ciągu niemal siedemdziesięciu lat swego istnienia zgromadził obszerne archiwum materiału tkankowego i cytologicznego zamkniętego w blokach parafinowych oraz bogate archiwum dokumentacji medycznej pacjentów. Pomimo zniszczenia części depozytu wskutek niewłaściwych warunków przechowywania i działalności mikroorganizmów możliwa była szczegółowa analiza zbiorów z lat 1954, 1964, 1974 (1971), 1984 i 1994 zarówno dokumentacji medycznej pacjentów pod kątem wartości epidemiologicznej (liczba przypadków ogółem, algorytmy najczęściej występujących nowotworów, struktura wieku i płci) jak i ocena zachowanych właściwości biologicznych repozytorium tkankowego w świetle współczesnych standardów diagnostycznych, dając asumpt do dalszych poszukiwań i szczegółowych badań porównawczych w przyszłości.

2. Cele.

2.1 Analiza archiwalnej dokumentacji medycznej pacjentów z lat 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 zachowanej w Zakładzie Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii WCO i ocena jej wartości w kontekście zebranych danych epidemiologicznych.

2.2 Ocena zachowanych właściwości biologicznych i potencjału badawczego archiwalnego materiału tkankowego z lat 1954, 1964, 1971, 1984 i 1994 pochodzącego z archiwów Zakładu Patologii Nowotworów WCO, na przykładzie wybranych przypadków raka piersi z wykorzystaniem standardowych procedur diagnostycznych stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO.

3. Material.

3.1 Archiwalna dokumentacja medyczna pacjentów z lat 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 ze zbiorów Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.

3.2 Archiwalny materiał tkankowy w postaci bloczków parafinowych pochodzący z wybranych przypadków raka piersi z lat 1954, 1964, 1971, 1984, 1994, archiwum Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.

4. Metody.

4.1 Analiza dokumentacji medycznej pacjentów z wykorzystaniem wybranych parametrów statystycznych (liczby bezwzględne, wskaźnik struktury, współczynnik zachorowalności).

4.2 Ocena przydatności archiwalnego materiału tkankowego na podstawie analizy stu wybranych przypadków nowotworów piersi z wykorzystaniem standardowych procedur histochemicznych, immunohistochemicznych i molekularnych stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów, WCO.

4.2.1 Podstawowe techniki opracowania materiału tkankowego (przygotowanie bloczków parafinowych, krojenie na mikrotomie skrawków tkankowych, barwienie metodą HE).

4.2.2 Analizy immunohistochemiczne wykorzystane do oceny jakości archiwalnego materiału tkankowego wybranych przypadków raka piersi (oznaczenie ekspresji receptorów estrogenowych α i receptorów progesteronowych, oznaczenie ekspresji wskaźnika proliferacji Ki67 oraz statusu HER2).

4.2.3 Procedury molekularne zastosowane do analizy jakości materiału genetycznego (amplifikacja HER2 metodą FISH, izolacja gDNA i ocena obecności mutacji BRAF).

5. Wyniki.

5.1 Szczegółowa analiza dokumentacji medycznej pacjentów dostarczyła danych umożliwiających stworzenie istotnych algorytmów statystycznych:

- liczba pacjentów diagnozowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów (*ryciny 7, 8*);
- liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych (*tabela 15*);
- najczęstsze umiejscowienia zmian nowotworowych (*tabele 17-24*);
- struktura płci (*ryciny 10, 13, 16, 19, 39*);
- struktura wieku pacjentek z rozpoznaniem raka piersi (*ryciny 11, 14, 17, 20, 22*);

- współczynnik surowy zachorowalności na nowotwory złośliwe piersi w ocenie opulacji kobiet z regionu Wielkopolski w zestawieniu z danymi krajowymi z analogicznego okresu (*tabela 17*).

5.2 Analiza depozytu tkankowego na przykładzie wybranych stu przypadków raka piersi z wykorzystaniem procedur diagnostycznych stosowanych w rutynowej praktyce potwierdziła dobrze zachowane właściwości materiału (*ryciny 23-37, załączniki 1-5*):

- 96% badanych przypadków raka piersi barwionych metodą H&E nie stanowiło istotnych problemów interpretacyjnych;
- w 1% przypadków stwierdzono autolizę;
- 3% rozpoznań było rozbieżnych z obecną oceną patomorfologiczną;
- zastosowanie analiz immunohistochemicznych pozwoliło ustalić rozpoznanie zgodnie z obowiązującymi standardami;
- zastosowane procedury umożliwiły ocenę udziału raków nieinwazyjnych i inwazyjnych w badanej grupie pacjentek (*tabele 27, 30, 33, 36, 39, rycina 40*);
- na podstawie przeprowadzonych badań ustalono także obecność nowotworów hormono zależnych, HER2 dodatnich i potrójnieujemnych (*tabele 25, 28, 31, 34, 37, 41*);
- jeden przypadek (HER2 oceniony +2), poddano ocenie amplifikacji genu HER2 metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) i uzyskano wynik pozytywny w postaci wyraźnych sygnałów, amplifikacja genu HER2 - ratio 2,6 (*rycina 31, załącznik 3*);
- izolację DNA przeprowadzono w 99% badanych próbek, osiągnięto stężenie w zakresie 1,07- 470,31 ng/μl, a czystość materiału genetycznego dla wartości referencyjnych w zakresie 1,8-2,05 oznaczono w 79% materiału, w 11% prób wykazano zanieczyszczenie w granicach <1,8 do >1,4 i w 9% analiz osiągnięto wartość krytyczną dla większości reakcji enzymatycznych <1,4 (*tabele 26, 29, 32, 35, 38, załączniki 1-5*);
- ocena statusu BRAF 25 wybranych przypadków raka piersi, posłużyła do oceny przydatności wyizolowanego gDNA (w 44% przypadków stwierdzono mutację, w 40% brak mutacji, w 16% przypadków wynik był niejednoznaczny (*załączniki 1-5*);
- udział nowotworów hormono zależnych i hormononiezależnych w badanej populacji pacjentek z rozpoznany rakiem piersi (*tabela 41*).

Słowa klucze: nowotwory, rak piersi, materiał archiwalny, epidemiologia, diagnostyka.

9. Summary

1. Introduction.

Throughout history, health has been an object of human concern and interest. As early as 5th century, Hippocrates noted the influence of environmental factors on health and activities aimed its maintenance were known among ancient societies. Thanks to the passion, knowledge and experience of many researches over thousands of years, we increasingly understand health, how to preserve it, and how to prevent and effectively treat diseases. Along with cardiovascular disease, neoplastic disease are an enormous problem for the aging populations of North America and Western Europe, and increasingly so in Eastern Europe and in developing nations. Until recently, cancer was broadly considered; to be a modern disease, a consequence of the progress of civilization, and the result of human activities. Evidence suggest however, that cancer have accompanied mankind for thousands of years, even before the emergence of modern industrial societies (Some of the earliest mentions can be found in papyri dated around 1500 BC or in ancient Sumerian text from the 2nd century BC. From the time of Hippocrates and the discoveries of the subsequent centuries, through the development of microscopy and research methodology, to the flourishing of medicine and the technical breakthroughs at the turnoff the 20th and 21st centuries attempts to understand the essence of neoplastic disease are constantly evolving. In spite of these advances, the future still looks uncertain. In 2018 the World Health Organization registered nearly 18 million cases of malignant disease and about 9 million deaths resulting from it [2]. A according to further forecast, by the International Agency for Research on Cancer (IARC), the number of cases may increase to as many as 24 million new cases and 12 million deaths by the year 2035 [3]. In Poland alone, almost 170,000 new cases and 100,000 resulting from cancer were recorded in 2018 [4]. Amongst the most frequently reported cases are malignant neoplasms of the breast, lung, large intestine and prostate, together accounting for almost 60% of all cancer cases [5]. In addition to the undeniable importance of clinical surgery, pathology and other areas of modern medicine, epidemiology and cancer registries now play significant roles in the complex process of cancer prevention and treatment. The acquisition and collation of complete data sets of strictly defined population at risk from neoplastic disease. Allows for the definition of groups that can be observed in population studies, as well as enabling the tracking of changes to exposure to risk factors, monitoring, evaluation of treatment efficacy,

planning of treatment strategies, advising on future social costs and on the distribution of funds for health protection. In this context, retrospective studies are of significant importance, in that they provide valuable supplementary information on the subject of cancer and the ever – changing diagnostic criteria, as well as in the field of epidemiological research.

The Department of Tumour Pathology has been an operational unit of the Greater Poland Cancer Centre since its foundation in 1953. During almost seventy years of its existence, the department has gathered an extensive archive of tissue and cytological specimens embedded in paraffin blocks, as well as a rich archive of medical records. Although a portion of this archive was lost as a result of poor storage conditions and the activity of microorganism, it was possible to conduct a detailed analysis of samples from the years 1954, 1964, 1974 (1971), 1984 and 1994, both in terms of paper documentations (total number of cases, most common tumours, patient age and sex) and in an assessment of the properties of preserved tissue in the repository in light of modern diagnostic standards. Thus, it is possible that the archive might be useful in comparative research in the future.

2. Aims.

2.1 An analysis archival medical records from 1954, 1964, 1974, 1984 and 1994, preserved in the Department of Tumour Pathology of the Greater Poland Cancer Center (WCO) in order establish its value as data.

2.2 An assessment of the properties of preserved biological material from 1954, 1964, 1974, 1984 and from 1994 in the archives of the Department of Tumour Pathology, WCO. In order to assess potential as research material, samples were tested according to standard diagnostic procedures used in the Department of Tumour Pathology of the Greater Poland Cancer Center.

3. Material.

3.1 Archival paper patient records from 1954, 1964, 1974, 1984 and 1994 from the collections of the Department of Tumour Pathology of the Greater Poland Cancer Center.

3.2 Archival biological material embedded in paraffin blocks from selected cases of breast cancer from 1954, 1964, 1974, 1984 and 1994 from the archives of Department of Tumour Pathology of the Greater Poland Cancer Center.

4. Methods.

4.1 The analysis of patient's record was completed by use of statistical parameters (absolute numbers of cases, structure index, incidence rate).

4.2 The assessment of the usefulness of archival biological material was based on an analysis of the hundred breast cancer cases using standard histochemical, immunohistochemical and molecular procedures used in the Department of Tumour Pathology of the Greater Poland Cancer Center.

4.2.1 Basic tissue preparation techniques (preparation of paraffin blocks, microtomy, preparation haematoxylin and eosin (HE) stained microscope slides.

4.2.2 Immunohistochemical analyses used to assess the quality of the archival tissue material of selected breast cancer cases (in order to determine the expression of a oestrogen receptors and progesterone receptors, and to assess the Ki67 proliferation index and HER2 status).

4.2.3 Assessment of the HER2 gene amplification by fluorescence in situ hybridization (FISH).

4.2.4 DNA isolation.

4.2.5 Assessment of BRAF status of selected breast cancer cases.

4.2.6 Photographic documentation of selected cases of breast cancer.

5. Results.

5.1 Detailed analysis of patient's medical records in paper from provided data the creation of statistical algorithms including:

- the number of patients diagnosed in the Department of Tumour Pathology (*figure 8*);
- the number of positive pathomorphological reports (*table 15*);
- the most common tumour sites (*tables 17-24*),
- sex structure (*figures 10, 13, 16, 19, 39*);
- age structure of patients with diagnosed breast cancer (*figures 11, 14, 17, 20, 22*);

5.2 A analysis of the properties of 100 selected cases of breast cancer using routine diagnostic procedures confirmed that the embedded material was: The following observations was made (*attachement 1-5*):

- no significant interpretation problems were encountered in 96% of the HE stained breast cancer;
- 1% of cases with diagnosed autolysis;
- 3% diagnoses were in consistent with current pathomorphological classifications;
- the application of immunohistochemical analysis made it possible to complete diagnoses in line with current standards;

- application of current assessment standards made it possible to determine the proportion of non – invasive and invasive tumours in assessed group of women (*tables 27, 30, 33, 36, 39, figure 40*);
- on the basis of the tests carried out, it was possible to determine hormone dependent, HER2 positive and triple negative cases (*tables 25, 28, 31, 34, 37, 41*);
- in one case where HER2 status had been graded 2+, the sample was further assessed for HER2 gene amplification by the fluorescent in situ hybridization (FISH) method, resulting in a clearly – positive test result (HER2 gene amplification – ratio 2,6 (*figure 31, attachment 3*);
- DNA was successful in 99% cases, reaching concentrations from 1,07 to 470,31 ng/μl, and the purity of the genetic material reached reference results of 1,8 – 2,05 ng/μl in 79% of tested material, 11% of the samples included impurities from <1,8 to >1,4 and 9% of the samples showed critical levels for the majority of enzymatic reactions < 1,4 (*tables 26, 29, 32, 35, 38, attachments 1-5*);
- in 25 analyzed cases of breast cancer, the BRAF status was accessed in order to test the value of the isolated gDNA (in 44% of cases mutations were identified, in 40% no mutation was observed and in 16% of cases result was ambiguous (*attachments 1-5*);
- the application of modern classification methods of malignant breast cancer , based on molecular profiles enabled determination of the hormone dependence or independence of the tumour (*table 41*).

5.3 Photographic documentations of selected cases of breast cancer (*figures 23 - 37*).

7. Conclusions.

7.1 Analysis of the medical records from 1954, 1964, 1974, 1984 and 1994 from the collections of the Department of Tumour Pathology provided a good deal of information necessary for the formation of meaningful epidemiological algorithms. The study confirmed that the majority of the archived material was complete. Close to 70% of paper documentation could be matched to paraffin embedded tissues, and the epidemiological data gathered correlated with observations on the national level forming a reliable source of information and comparative material suitable for the completion of existing statistical data. The findings increasing numbers of cases over four decades (*figure 38*) in which the most commonly observed cancers: breast, uterine cervix, lung and bronchial , large intestine represent close to 60% of all malignant tumours (*tables 17 - 24*).

These trends also confirm both national observations and foreign meta – analyses [3, 5, 64, 73, 84, 115].

7.2 Histopathological techniques of 100 selected cases of breast cancer using routine diagnostic procedures, immunochemistry and molecular procedures confirmed that properties of the analyzed tissues were well preserved. The morphology of the cells was suitable for microscopic analysis and epitope retrieval was suitable for immunochemistry. The results of molecular analyses were reliable and reproducible. The use of modern diagnostic methods has made it possible to trace the change in diagnostic standards and classifications. The result confirm that biomarkers are well preserved in archival tissues and thus importance of human tissue archives in the further application of retrospective studies (*attachements 1 – 5*).

Keywords: neoplasms, breast cancer, archival material, epidemiology, diagnostics.

10. Piśmiennictwo i źródła internetowe

1. World Health Preamble to the Constitution of the World Health Organization as adopted by the International Health Conference, New York, 19 – 22 June, 1946; signed on 22 July 1946 by the representatives of 61 States (Official Records of the World Health Organization).
2. GLOBOCAN 2018 <http://globocan.iarc.fr/> (data wejścia na stronę 14.05.2020 r.).
3. Zachorowalność na nowotwory złośliwe na świecie w 2018 r. Dostępny na stronie <https://gco.iarc.fr/today/online/analysis-pie-2018mde=cancer&population/> (data wejścia na stronę 14.05.2020 r.).
4. Krajowy Rejestr Nowotworów Dostępny na stronie: <http://epid.coi.waw.pl/krn> (data wejścia na stronę 23.02.2020 r.).
5. Mould R. Statystyka zachorowań na nowotwory ze szczególnym uwzględnieniem raka prostaty, okrężnicy i odbytnicy, płuca oraz piersi i szyjki macicy. Nowotwory Journal of Oncology 2008; 58(3):213 - 220.
6. Podstawowe funkcje zdrowia publicznego (Essential Public Health Operations). Dostępny na stronie: <https://pzh.gov.pl/>.
7. The study of history medicine. Dostępny na stronie: <https://quotepark.com/p./193478/>
8. Stachura J, Domagała W. Patologia słowo o chorobie, Polska Akademia Umiejętności, Wydział Lekarski, Kraków 2008;158 - 1049.
9. Faguet G. B.: A brief history of cancer: Age-old milestones underlying our current knowledge database. International Journal of Cancer 2014;136. Dostępny na stronie: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc/>
10. Berner J. Rak piersi od starożytności do współczesności. Nowotwory Journal of Oncology 2012;62(1):42 - 48.
11. Van den Tweel J. G., Taylor C. R.: A brief history of pathology. Virchows Archiw 2010;457:3 - 32.
12. Jackson M. (red.). The Oxford Handbook of History Of Medicine, Oxford: Oxford University Press 2011; 5 - 672.
13. Meder J. Rak głównym zabójcą ludzi w XXI wieku. Warszawa 2008. Polska Unia Onkologii, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie; 50 - 78.
14. Breś E. Kariera barwników w histologii. Wszechświat 2012;113(10):260 - 266.

15. The A to Z of Histological Stains: Dostępny na stronie <https://bitesizebio.com/36868histological-stains-medical-research/>.
16. Historia medycyny. Dostępny na stronie: https://pl.gaz.wiki/wiki.Historyof_medicine#statisticalmethods.
17. Mould R. F.: Wybrane wydarzenia z historii medycyny ze szczególnym uwzględnieniem raka. Nowotwory Journal of Oncology 2013;63(3):257 - 262.
18. Jabłońska B., Braszke J., Lampe P. Od Halsteda do leczenia oszczędzającego czyli krótka historia chirurgii raka gruczołu piersiowego. Postępy Nauk Medycznych 2011;1:29 - 32.
19. Kruszewski W. J. Zasady postępowania chirurgicznego w raku piersi, spełniająca wymogi leczenia. Współczesna Onkologia, 2002;6(3):144 - 148.
20. Crick i Watson: Dostępny na stronie: <https://www.Sciencehistory.org/historical-profile/>.
21. Allison i Honjo: Dostępny stronie: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2018/>.
22. Akademia Lubrańskiego: Dostępny na stronie: <https://www.poznan.pl/>.
23. Steinhaus J. Nowotwory złośliwe ich morfologia i biologia ze stanowiska patologii doświadczalnej i anatomii patologicznej. Warszawa 1918; 4:158 - 162, 193 - 226.
24. Historia patomorfologii (anatomii patologicznej) polskiej. Katedra Historii Medycyny UJCM. Dostępny na stronie: <https://khm.cm-uj.krakow.pl/dydaktyka/historia-patomorfologii/>.
25. Warszawski Uniwersytet Medyczny. Historia. Dostępny na stronie: <https://www.wum.edu.pl/>.
26. Musielak M. (Red.) Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 1950 - 2019. Historia i luminarze nauki. Wydawnictwo Naukowe, Poznań 2019:
27. Poznańskie Towarzystwo Przyjaciół Nauk. Dostępny na stronie: <https://ptpn.poznan.pl>
28. Malicki J., Wojnerowicz C., Kycler Z., Gumowska-Przybora J. Wielkopolskie Centrum Onkologii w latach 1953-2003. Nowotwory Journal of Oncology 2004;54(2):157 - 165.
29. Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego Dostępny na stronie: <https://www.ump.edu.pl/node/12909>.
30. Gryglewski R. Nowotwory w świetle badań polskich anatomopatologów czasów międzywojnia. Onkologia po Dyplomie. Warszawa 2014;1.
31. Wronkowski Z. Osiemdziesiąt lat badań w zakresie epidemiologii nowotworów, organizacji walki z rakiem, profilaktyki i oświaty zdrowotnej w Warszawie. Nowotwory Journal of Oncology 2012;62(6):473 - 476.
32. Krawczyk M. Maria Skłodowska-Curie - znaczenie jej odkryć dla medycyny. Warszawski

- Uniwersytet Medyczny, 2011;1:5 - 13.
33. Towpik E., Mould R.F., Maria Skłodowska-Curie. Memorial Issue of the Polish Oncological Journal. Nowotwory, Warszawa 1998.
34. Koszarowski Tadeusz - Wielka postać polskiej onkologii. Postępy Nauk Medycznych 2011;24(2):85 - 88
35. Kułakowski Andrzej. Biuletyn Polskiego Towarzystwa Onkologicznego. Nowotwory, 2020;5(5)295.
36. Stowarzyszenie Kobiet po Mastektomii „Amazonki” Dostępny na stronie: <https://journals.viamedica.pl/biuletyn-pto/article-view>.
37. Polska Unia Onkologii (Cele Narodowego Programu Zwalczania Chorób Nowotworowych). Dostępny na stronie: <http://www.puo.pl/program-walki-z-rakiem/>.
38. Kozierkiewicz A., Jassem J. Narodowe Strategie Zwalczania Nowotworów: doświadczenia, strategia, dobre praktyki. Nowotwory Journal of Oncology 2013;63(5):368 - 374.
39. Kułakowski A. Kierunki rozwoju i współczesne możliwości leczenia raka sutka. Nowotwory, 1994;(suplement II);44 - 45.
40. Projekt Rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie utworzenia breast cancer unit. Dostępny na stronie: https://www.praktyka_zdrowotna.com.45453_rozporzadzenia-wprowadzajace-breast-cancer-unit.
41. Beaglehole R., Bonita R., Kjellström T. Podstawy epidemiologii. WHO, Genewa 1993.:24 - 157
42. Sosiński R.; Organizacja walki z rakiem w Polsce. Warszawa 1974. Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej - Curie.
43. Jassem J. Historia leczenia raka sutka. (W:) Rak sutka. Springer PWN, 1998; 127 - 138.
44. Rothman K.J., The rise and fall of epidemiology, 1950 – 2000 A. D. International Journal of Epidemiology 2007;36(4):708 – 710.
45. Bernardino Ramazzini. Dostępny na stronie: <https://www.britannica.com>
46. Public Health Act. „Ustawa o zdrowiu publicznym z 1848 r” UK Parliament. Dostępny na stronie: <https://www.parliament.uk/about/living-heritage/transformingsociety/towncountry/>
47. Jackson M. (red.). The Oxford Handbook of History Of Medicine, Oxford: Oxford University Press 2011;5 - 672.
48. WHO. Cancer mortality, database (data wejścia na stronę 28.03.2021 r.).

49. Janssens J., Vandeloo M. Rak piersi: bezpośrednie i pośrednie czynniki ryzyka związane z wiekiem i stylem życia. *Nowotwory Journal of Oncology* 2009; 59(30):159 - 167.
50. Zatoński W., Przewoźniak K. Ograniczanie zachorowalności i umieralności z powodu chorób nowotworowych: Szymborski J.(red.), *Zdrowie Publiczne i Polityka Ludnościowa*. Rządowa Rada Ludnościowa, Warszawa 2012;2:78 - 89.
51. World Cancer Report. Genewa 2000.
52. Szeszeni-Dąbrowska Neonie (Red.); *Podstawy Epidemiologii*. Instytut Medycyny Pracy im. prof. dra med. Jerzego Nofera, Łódź 1996:1 – 114.
53. Narodowy Program Zdrowia 2007 – 2015. Załącznik do Uchwały Nr 90/2007 Rady Ministrów z dnia 15 maja 2007 roku.
54. William Farr. Dostępny na stronie: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
55. Jacques Bertillon. Dostępny na stronie: <https://www.britannica.com/>
56. Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych. Dostępny na stronie: <https://www.who.int/classifications/icd/en/historyofICD/>
57. IARC. Dostępny na stronie: <https://www.iarc.who.int/>
58. Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych. Rewizja dziesiąta. WHO 2008,1:5 - 7.
59. Europa Przeciw Rakowi (Europe Against Cancer). Polska Unia Onkologii. Narodowe programy walki z rakiem na świecie.1 - 2.
60. Zatoński W. (Red.) Europejski kodeks walki z rakiem. Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Warszawa 2009;3:9 – 19.
61. Towpik E., Wysocki W. M., 95 lat czasopisma *Nowotwory* (1923 - 2018). *Biuletyn Polskie Towarzystwo Onkologiczne*. *Nowotwory*, 2017 II(6)421 - 434
62. Ustawa z dnia 3 listopada 2015 r. o ustanowieniu programu wieloletniego „Narodowy Program Zwalczenia Chorób Nowotworowych” (Dz.U. z 2015 r. poz.1165).
63. Tyczyński J., Zatoński W.: Rejestracja nowotworów złośliwych w Polsce. Warszawa Centrum Onkologii-Instytut; 28 - 35.
64. Wojciechowska U., Didkowska J., Koćmiel A.: Nowotwory złośliwe w Polsce jako problem zdrowia publicznego. *Studia Demograficzne* 2012; 1(16)153 - 166.
65. Mould R. F.: Wybrane wydarzenia z historii medycyny, ze szczególnym uwzględnieniem zagadnień związanych z rakiem. *Nowotwory Journal of Oncology* 2015;65 (3):230 – 238.

66. Rezolucja PE 2009/2013/INI/
67. Okólnik Ministerstwa Zdrowia nr 2/51 w sprawie zgłaszania przypadków nowotworów złośliwych (Dz. U. M. Z. z 1951 r. nr 2, poz.8
68. Didkowska J., Wojciechowska U., Olasek P.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2015 roku. Krajowy Rejestr Nowotworów. Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie, Warszawa 2017:5 – 6.
69. Dyzmann- Sroka A., Myślińska W., Olenderczyk W. i in.: Nowotwory złośliwe w województwie wielkopolskim w 2002 roku. Poznań 2005 – Biuletyn nr.1, zeszyty naukowe WCO, tom 2 (4):17 – 43.
70. Zatoński W., Didkowska J., Tyczyński J. i in.: Nowotwory złośliwe w Polsce. Warszawa 1993, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie.
71. Ustawa z dnia 29 czerwca 1995 r. (Dz. U. z 1995 roku, nr 88, poz. 439 ze zm.) w sprawie badań statystycznych statystyki publicznej.
72. Ustawa z dnia 28 kwietnia 2011 r. (Dz. U. z 2015 roku, poz. 636 ze zm.) w sprawie systemów informacji w służbie zdrowia.
73. Didkowska J.: Krajowy Rejestr Nowotworów. Szansa dla polskiej onkologii. Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej – Curie, Warszawa 2020.
74. Platforma e-KRN+. Dostępny na stronie: <http://pulsmedycyny.p/projekt-e-krn-platforma-do-gromadzenia-danych-i-analiz-onkologicznych> 970573.
75. Dyzmann-Sroka A.,Trojanowski M.,Olenderczyk W., Plucińska A.:Nowotwory Złośliwe w Wielkopolsce w 2015 roku, WCO im. Marii Skłodowskiej-Curie, Poznań 2017; 14:74 - 84.
76. Dyzmann-Sroka A., Myślińska W., Olenderczyk W., Plucińska A.: Nowotwory Złośliwe w Wielkopolsce WCO im. Marii Skłodowskiej-Curie, Poznań 2009; (6):43 - 48.
77. Didkowska J., Wojciechowska U., Tarkowski W. i in.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2000 roku. Warszawa 2003, Centrum Onkologii - Instytut.
78. Potrykowska A., Strzelecki Z., Szymborski J., Witkowski J., Zachorowalność i umieralność na nowotwory a sytuacja demograficzna Polski. Rządowa Rada Ludnościowa, Warszawa 2014. 1:18 - 199
79. Mc Pherson K., Steel C. M., Dixon J. M.: Breast cancer - epidemiology, risk factors and genetics. British Journal of Medicine 2000;321:624 - 628.

80. Mould R.F., Statystyka zachorowań na nowotwory ze szczególnym uwzględnieniem raka prostaty, okrężnicy i odbytnicy, płuca oraz piersi i szyjki macicy. Nowotwory Journal of Oncology, 2008;58(3):213 - 220.
81. Didkowska J., Wojciechowska U., Zatoński W.: Prognozy zachorowalności i umieralności na wybrane nowotwory złośliwe w Polsce do 2020 roku. Centrum Onkologii - Instytut, Warszawa 2009.
82. Krajowy Rejestr Nowotworów. Dostępny na stronie: <http://epid.coi.waw.pl/krn> (data wejścia na stronę 23.02. 2020 r.).
83. Krajowy Rejestr Nowotworów. Dostępny na stronie: <http://onkologia.org.pl/nawotwory-piersi-kobiet/> (data wejścia na stronę 23.06.2020 r.).
84. Zatoński W., Didkowska J., Wojciechowska U.: Epidemiologia chorób nowotworowych w Europie Środkowej i Wschodniej w porównaniu z Europą Zachodnią i Polską. Polski Przegląd Chirurgiczny 2009; 81:808 - 837.
85. Jassem J., Krzakowski M. i in.: Breast cancer. Oncology in Clinical Practice View 2020; 16(5):207 - 260.
86. Serwis internetowy, SEER. Dostępny na stronie: (data wejścia na stronę 21.07.2020 r.).
87. SEER Cancer Statistics Review, 1994 – 2014. Dostępny na stronie: <http://seer.cancer.gov/csr> (data wejścia na stronę 23.02.2020 r.).
88. Didkowska J., Wojciechowska U.: Nowotwory piersi w Polsce i w Europie - populacyjny punkt widzenia. Nowotwory Journal of Oncology 2013;63(2):111-118.
89. GLOBOCAN 2010. Dostępny na stronie: <http://globocan.corc./> (data wejścia na stronę 23.02.2020 r)
90. Didkowska J., Wojciechowska U., Zatoński W.: Prognozy zachorowalności na nowotwory złośliwe w Polsce do 2025 r. Krajowy Rejestr Nowotworów, Warszawa 2009;11 - 69.
91. Ośrodek Profilaktyki i Epidemiologii Nowotworów im. Aliny Pieńkowskiej S. A. Mapy. Dostępny na stronie: <https://www.open.poznan.pl/epidemiologia-nowotwory-mapy>.
92. Zatoński W. (Red.) Europejski Kodeks Walki z Rakiem. Medycyna Praktyczna: COI, Wydanie 3, Warszawa 2007.
93. Wronkowski Z., Zierko M.; Zasady i wyniki programu modelowego skruningu raka piersi i raka szyjki macicy w Polsce 1999 - 2000. Nowotwory, 2002;5:21 - 157.
94. Wesołowska E.; Badania przesiewowe w zakresie wczesnego wykrywania raka piersi. Podstawy

- Onkologii Klinicznej. Meder J. (Red.) Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa 2011;17 - 21.
95. Spaczyński M.: Rekomendacje Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Ginekologów w sprawie profilaktyki i wczesnej diagnostyki zmian w gruczole sutkowym. *Gin.Prakt.* 2005;84(3):14 - 15.
96. Stachura J, Domagała W.: Patologia słowo o chorobie, Polska Akademia Umiejętności, Wydział Lekarski, Kraków 2008;1025 - 1049.
97. Wielkopolski Rejestr Nowotworów (Dane epidemiologiczne dla Wielkopolski 2014). Dostępny na stronie: <https://www.wco.pl/dane-epidemiologiczne-dla-wielkopolski>.
98. Lakhani S. R., Ellis I. O., Schnitt S. J., Puay Hoon Tan i in.: WHO Classification of tumors of the breast. International Agency for Research on Cancer, Lyon 2012; 4:36-64.
99. Krajowy Rejestr Nowotworów. Dostępny na stronie: <http://onkologia.org.pl/raporty#>. (data wejścia na stronę 19.04.2021 r.).
100. Senkus E., Jassem J.: Rak piersi - stan wiedzy w 2011 roku. *Postępy Nauk Medycznych*, Wrocław 2011;2:126 - 130.
101. Jassem J., Krzakowski M., Bobek-Bilewicz B. i in.: Breast cancer. *Oncol Clin Pract* 2018;14:210 - 252.
102. Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C.: Robbins Patologia, Wrocław 2014; 757 -766.
103. Jassem J., Krzakowski M. i in.: Rak piersi. Praktyczny przewodnik dla lekarzy. Via Medica, Gdańsk.
104. Smigal C., Jemal A., Ward E. i in.: Trends in breast cancer by race and ethnicity. *Cancer Journal of Clinical* 2006;168:83.
105. Sowa M., Smuczyński W., Tarkowski M., Wójcik K., i in.: Analiza wybranych czynników ryzyka raka piersi-przegląd piśmiennictwa. *Journal of Education, Health and Sport* 2015; 5(4): 245-248. Dostępny na stronie: <http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>.
106. Bojakowska U., Kalinowski P., Kowalska M.E. Epidemiologia i profilaktyka raka piersi. *Journal of Education, Health and Sport* 2016; 6(8):701 - 710. Dostępny na stronie: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.61187>
107. Stein C. J., Colditz G.A.: Modifiable risk factors for cancer. *British Journal of Cancer* 2004; 90:299 - 303.
108. Rosen P. P: Rosen's Breast Pathology; 3(11):344 - 345.

109. Mc Whirter R.: Simple mastectomy and radiotherapy in the treatment of breast cancer. Br. J. Radiol. 1955;28:128.
110. Ustawa o Zakładach Opieki Zdrowotnej i Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie rodzajów i zakresów dokumentacji medycznej w zakładach opieki zdrowotnej oraz sposobu jej przetwarzania. (Dz.U. 2006 r.; nr 247 poz. 1257)
111. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 18 grudnia 2017 r. w sprawie standardów organizacyjnych opieki zdrowotnej w dziedzinie patomorfologii.
112. EORCT Breast Cancer Group.: Prognostic and predictive factors. Manual for clinical research in breast cancer. 5 th ed. Glasgow 2004; :38 - 42.
113. American Society of Clinical Oncology, 2013.
114. Krajowy Rejestr Nowotworów. Raporty, nowotwory złośliwe piersi. Dostępny na stronie: <http://onkologia.org.pl/raporty#> (data wejścia na stronę 14.10.2020 r.).
115. Koszarowski T., Gadomska H., Wronkowski Z.; Nowotwory złośliwe w Polsce w latach 1952-1982. Centrum Onkologii-Instytut im. M. Skłodowskiej- Curie, Warszawa 1987;92 - 139.
116. Krajowy Rejestr Nowotworów. Raporty, nowotwory złośliwe piersi. Dostępny na stronie: <http://onkologia.org.pl/raporty#> (data wejścia na stronę 12.10.2020 r.).
117. Pecorino L. i in. Biologia molekularna nowotworów w praktyce klinicznej. Wrocław 2016;4: 287 – 361
118. Klimek R., Madej J.M., Sieroń A. Rak przyczyna, uwarunkowania, samoobrona. PWN, Warszawa 1985.
119. Didkowska J.: Wskaźniki zdrowotne chorób nowotworowych w Polsce na tle Europy. Journal of Oncology in Clinical Practice 2010;6:166. Special issue. Dostępny na stronie: <https://journals.viamedica.pl/oncology-in-clinical-practice-view/9166>.
120. Patel A. A., Gupta D. i in.: Availability and quality of paraffin block identified in pathology archives: A multiinstitutional study by the Shared Pathology Informatic Network (SPIN). BMC Cancer 2006; 7:37 Dostępny na stronie: <https://www.semantic scholar.org/>
121. Smith M. A., Barnes E. L., Chiosea S. I.: Pathology archive: evaluation of integrity, regulatory compliance, and construction of searchable database from print reports. American Journal of Clinical Pathology 2011, 135(5):753 - 759.
122. Malicki J., Wojnerowicz C., Kyler Z., Gumowska-Przybora J.: Wielkopolskie Centrum Onkologii w latach 1953-2003. Nowotwory Journal of Oncology 2004;54(2):157-165.

123. Laskowska E., Ibbs M., Marszałek A.: A retrospective assessement of the epidemiological usefulness of archival materials from 1954 - 1994, in the collection of the Departament of Tumor Pathology, Greather Poland Cancer Center, Poznań. *Postępy Biologii Komórki* 2018;45(2): 167 - 182.
124. Wysocki M.J., Miller M. Paradygmat Lalonde’a, Światowa Organizacja Zdrowia nowe_zdrowie publiczne. *Przegląd Epidemiologiczny*, 2003;57:505 - 512.
125. Wdowiak L. Dostępny na stronie: <https://demoseuropa.eu/uploud/editor/>
126. Didkowska J.: Prognozy rozwoju chorób nowotworowych w Polsce. Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie; Warszawa 2008:153 - 154.
127. Tyczyński J., Zatoński W.: Rejestracja nowotworów złośliwych w Polsce. Warszawa 1995 Centrum Onkologii-Instytut; 28 - 35.
128. Shibata D. M. i in.: Analisis of DNA sequences in forty-year-old paraffin-embedded thin-tissue section: A bridge between molecular biology and classical histology. *Canceer Research*, 1988; 48:4564 - 4566.
129. Tsutsumi Y.:Demonstration of Epstein- Barr virus genome in archival paraffin sections of Hodgkin’s lymphoma autopsied by Dr. Thomas Hodgkin nearly 170 years ago. *Acta Histochem. Cytochem.* 2003;36(6):511 - 514
130. Fornaciari G., Giuffe V. i in.: Soft tissue tumor in paleopathology a review. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1984;108(3):217 - 219 [Pub med]
131. Worobey R. Dostępny na stronie: <https://cordis.europa.eu/article.id/299331 – study – puts- hivs – origins/>
132. Mizuno T., Nagamura H., i in.: RNA from decades-old archival tissue blocks for retrospective studies 1998. *Diagnostic Molecular Biology* 1998;7(4):202 - 208. Dostępny na stronie: <https://www.semanticscholar.org/>
133. Huang W. Y., Moore L. E., Hsing A. W. i in.: Simultaneous recovery of DNA and RNA from formalin - fixed-paraffin - embedded tissue and application in epidemiologic studies. *Cancer Biomarkers Prev.* 2010; 19:973 - 977.
134. Haynes H. R., Killick-Cole C. L., Haves K. M., Redondo J.: Ewaluation of the quality of RNA extracted from archival FFPE glioblastoma and epilepsy surgical samples for gene expression assays. *Journal of Clinical Pathology* 2018; 71(8):695 - 701.

135. Watanabe M, Hashida S., Yamamoto H., Matsubara T., I in.: Estimation of age-related DNA degradation from formalin-fixed and paraffin-embedded tissue according to the extraction methods. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2017; 14:2683 - 2688.
136. Bonin S., Hlubek F., Benhattar J., Denkert C., i in.: Multicentre validation study of nucleic acid extraction from FFPE tissues. *Virchows Arch.* 2010; 457:309 - 317.
137. Okello J.B., Zurek J., Devault A.M. I in. Comparison of methods in the recovery of nucleic acid from archival formalin – fixed paraffin – embedded autopsy tissues. *Anal Biochem* 400; 2010:110-117.
138. Kibrija M G, Jasmine F., Roy S., Argos M. i in.: Analyses and interpretation of whole-genome gene expression from formalin - fixed paraffin - embedded tissue: An illustration with breast cancer tissues. *BMC Genomics* 2010; 12:622.
139. Hüns M., Rüpenack P., i in.: Molecular and immunohistochemical characterization of historical long-term preserved tissues, 2015. *Plos.Jeden.*10(8):1 - 13.
140. Adema V., Torres E., Solè E., Serrano S., I in.: Paraffin treasures: Do they last forever? *Biopreserv Biobank* 2014; 12:281 – 283
141. Grillo F., Buzzone M., Pigozzi S., i in.: Immunohistochemistry on old archival paraffin blocks: is there an expiry date?. *Journal of Clinical Pathology* 2017; 70(11):988 - 993.
142. Yu L., Chiosea S. I.: Re-evaluating historic cohort of salivary acinic cell carcinoma with new diagnostic tool, 2011. *Head and Neck Pathology* DOI:10.1007/s12105-011-0312-9. Dostępny na stronie: <https://www.semanticscholar.org/>
143. Korga A., Wilkońska K., Korbiewicz E.: Trudności w wykorzystaniu tkanek Archiwalnych blozków parafinowych w badaniach ekspresji RNA. *Postępy Hig Med. Dośw.*, 2007;61:151 - 155.
144. Jarzab M. I in.: Optimization of the method of RNA isolation from paraffin blocks to assess gene expressions in breast cancer. *Pol.J Pathol.* 2008; 59:85 - 91.
145. Wróbel G., Rygier J. i in.: Zastosowanie techniki interfazalnej fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ do badań cytogenetycznych na skrawkach parafinowych u dzieci z niezłośliwymi chłoniakami. *Journal of Onkology* 2012; 62(4):269 - 273.
146. Makowski M., Połać I., Pertyński T.; Estrogeny a rak sutki. *Przegląd Menopauzalny* 2007; 3:150 - 154.

147. Brinton L.A., Schairer C., Hoover R.N.; Menstrual factor and risk of breast cancer. *Cancer Invest.* 2001;6:245 - 254.
148. Wysocki P. J., Potemski P., Krzemieniecki K. i in.: Nowe możliwości hormonozależnego raka piersi w stadium zaawansowanym. *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2012, 8(3):85 – 90.
149. Ryś-Bednarska M., Romanowicz H.; Potrójnie ujemny rak piersi - diagnostyka i leczenie. *Nowotwory Journal of Oncology* 2012;62(6):450 - 454.

11. Spis rycin

Rycina 1. Trendy zachorowań na nowotwory złośliwe na świecie w 2018r. wg. umiejscowień [3]	37
Rycina 2. Zgony z powodu nowotworów złośliwych na świecie w 2018 r. wg. umiejscowień [3].....	37
Rycina 3. Zachorowania na nowotwory złośliwe piersi w 2018 r. w podziale na kontynenty [78].	39
Rycina 4. Śmiertelność z powodu nowotworów złośliwych piersi na świecie w 2018r. w podziale na kontynenty [78].	39
Rycina 5. Nowotwory złośliwe piersi, zachorowania w Polsce i w krajach Unii Europejskiej, współczynnik standaryzowany zachorowalności [88].	41
Rycina 6. Nowotwory piersi u kobiet, zachorowalność w Polsce wg. powiatów, 1999-2003 [91]	42
Rycina 7. Liczba zarejestrowanych pacjentów w Zakładzie Patologii Nowotworów, WCO na podstawie materiałów archiwalnych z lat 1954, 1964, 1974, 1984 i 1994, uzupełniona o dane z systemu informatycznego Eskulap obejmujące lata 2004 i 2014	71
Rycina 8. Trendy zachorowalności na nowotwory złośliwe piersi na podstawie analizy archiwalnej dokumentacji medycznej z lat 1954, 1964, 1974, 1984 i 1994 uzupełnionej o dane z informatycznego systemu Eskulap z lat 2004 i 2014 w zestawieniu z danymi KRN o zachorowaniach na nowotwory złośliwe piersi w Polsce z analogicznego okresu [114]	72
Rycina 9. Liczba zarejestrowanych pacjentów ogółem i liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych odnotowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów, WCO, dane archiwalne z 1954 roku.	74
Rycina 10. Struktura płci, pacjenci z rozpoznany nowotworem złośliwym, na podstawie danych archiwalnych z roku 1954, Zakład Patologii Nowotworów, WCO.	74
Rycina 11. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1954 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.....	77
Rycina 12. Liczba zarejestrowanych pacjentów i liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych odnotowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO, dane archiwalne z 1964 r.....	78
Rycina 13. Struktura płci, pacjenci z rozpoznany nowotworem złośliwym, na podstawie danych archiwalnych z roku 1964, Zakład Patologii Nowotworów, WCO.	78
Rycina 14. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1964 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów (WCO). * w 33 przypadkach brak informacji o wieku pacjentki, w zestawieniu wykorzystano dane pozostałych 198 chorych.	81

Rycina 15. Liczba zarejestrowanych pacjentów i liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych odnotowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów, WCO, dane archiwalne z 1974 r.....	82
Rycina 16. Struktura płci, pacjenci z rozpoznany nowotworem złośliwym, na podstawie danych archiwalnych z roku 1974, Zakład Patologii Nowotworów, WCO.	82
Rycina 17. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1974 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów (WCO).	85
Rycina 18. Liczba zarejestrowanych pacjentów i liczba rozpoznanych nowotworów złośliwych odnotowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO, dane archiwalne z 1984 r.....	86
Rycina 19. Struktura płci, pacjenci z rozpoznany nowotworem złośliwym, na podstawie danych archiwalnych z roku 1984, Zakład Patologii Nowotworów, WCO.	86
Rycina 20. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1984 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.....	89
Rycina 21. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1984 roku, na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.....	90
Rycina 22. Zachorowania, nowotwory złośliwe piersi według wieku w 1994 roku, na podstawie zachowanej dokumentacji medycznej 323 pacjentek (w przypadku 71 pacjentek brak danych dotyczących wieku), Zakład Patologii Nowotworów, WCO.....	90
Rycina 23. Preparat 801/54. Pacjentka lat 47, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma microcellulare, micro focale.* Rak inwazyjny NST, NHG1(1+2+1:0mitoz/10HPF. Rak przewodowy in situ (DCIS) typ sitowaty, G2.	100
Rycina 24. Preparat 1448/54. Pacjentka lat 46, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma macrocellulare, micro focale. * Rak inwazyjny NST z cechami raka zrazikowego NHG2 (3+2+1:0mitoz/10HPF).	101
Rycina 25. Preparat 3082/54. Pacjentka lat 40, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma macrocellulare. * Rak inwazyjny NST NHG2 (3+3=1:6mitoz/10HP).	102
Rycina 26. Preparat 28801/64. Pacjentka lat 45, sutek prawy z węzłami chłonnymi. Foci carcinomatosi. * Rak przewodowy in situ (DCIS), G3 wg. Van Nuysa.	103
Rycina 27. Preparat 29336/64. Pacjentka lat 41, sutek prawy. Metastases carcinomatosae * Rak inwazyjny NOS, DCIS 3.....	104
Rycina 28. Preparat 31367/64. Pacjentka lat 53, sutek prawy. Tumor phyllodes instatu malignitationis, inflammationis. * DCIS, G3, zbyt mały obszar na inwazję typu NOS.	105
Rycina 29. Preparat 48675/71. Pacjentka lat 47, sutek lewy. Carcinoma solidum, anaplasticum. *Rak inwazyjny NST, NHG3(3+3+3:50 mitoz/10HPF).	106

Rycina 30. Preparat 49986/71. Pacjentka lat 64, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma microcellulare, macro et microfocale. *Rak inwazyjny NST z cechami mikropapilarnymi i apokrynowymi: NHG1(2+2+1:2mitozy/10HPF).	107
Rycina 31. Preparat 48860/71. Pacjentka lat 62, sutek prawy z węzłami chłonnymi. Carcinoma solidum lymphocysticum. * Rak inwazyjny NST z cechami zrazikowymi NHG2 (3+2+1:0mitoz?10HPF).	108
Rycina 32. Preparat 90696/84. Pacjentka lat 56, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma cribriforme partim intralobulare. * Rak inwazyjny NST, NHG2(3+2+1:0 mitoz/10HPF. Rak przewodowy in situ G3 wg. Van Nuys (typ lity i sitowaty o dużej atypii jąder komórkowych, martwica).	109
Rycina 33. Badanie 93216/84. Pacjentka lat 57, sutek prawy z węzłami chłonnymi. Carcinoma solidum partim mucocellulare.* Rak inwazyjny NOS z cechami apokrynowymi/rak apokrynowy NHG2(3+3+1:3 mitozy/10HPF).	110
Rycina 34. Preparat 94043/84. Pacjentka lat 46, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma solidum partim adenoides, partim secretans. * Rak inwazyjny piersi, typ najbliższy NOS z cechami mikropapilarnymi, NHG3(3+3+2:12 mitoz/10HPF).	111
Rycina 35. Preparat 2860/94. Pacjentka lat 43, sutek prawy z węzłami chłonnymi. Carcinoma ductale invasivum. Invasio carcinomatosa vasorum lymphaticorum et venarum, G3:pT1 pN1. W utkaniu liczne ogniska carcinoma ductale praeinvasivum.	112
Rycina 36. Preparat 4396/94. Pacjentka lat 37, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma ductale invasivum mammae sinistrae (G2: pT1 pN1). Metastasis carcinomatosa in uno lymphonodo (I/IV). Infiltratio carcinomatosa capsulae lymphonodorum et tele adiposae peri glandularis.	113
Rycina 37. Preparat 3136/94. Pacjentka lat 61, sutek lewy z węzłami chłonnymi. Carcinoma tubulo-ductale desmoplasticum, G2.	114
Rycina 38. Zestawienie zgłaszalności pacjentów i dynamiki wzrostu zachorowań na nowotwory złośliwe w latach 1954, 1964, 1974, 1984, 1994. Dane archiwalne Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.	121
Rycina 39. Zachorowania na nowotwory złośliwe ogółem, w podziale na płeć. Materiał archiwalny Zakładu Patologii Nowotworów, WCO z lat 1954, 1964, 1974, 1984.	122
Rycina 40. Nowotwory piersi, w podziale na raki nieinwazyjne, raki inwazyjne i pozostałe. Na podstawie materiału archiwalnego z lat 1954, 1964, 1971, 1984, 1994. Zakład Patologii Nowotworów, WCO.	123

12. Spis tabel

Tabela 1. Śmiertelność z powodu nowotworów na świecie w świetle statystyk z lat 1880 i 1900, w podziale na 100 000 mieszkańców [23].* Dla porównania, współczynnik standaryzowany w podziale na 100 000 mieszkańców w wybranych krajach, dane z 2000 r. [48].	29
Tabela 2. Zgony z powodu nowotworów wśród mieszkańców Paryża z początków XX w. z uwzględnieniem struktury płci i wieku, w podziale na 100 000 mieszkańców [23].* Dla porównania, Francja, zgony ogółem z uwzględnieniem struktury płci i wieku, współczynnik standaryzowany na 100 000 mieszkańców, dane z 2000 r. [48].	30
Tabela 3. Zachorowania i zgony z powodu nowotworu złośliwego piersi w populacji USA w latach 1994 - 2014 na 100 000 mieszkańców [87].	40
Tabela 4. Dynamika zachorowań i zgonów z powodu nowotworów złośliwych piersi w Polsce w latach 1985-2016 [88].	41
Tabela 5. Klasyfikacja histologiczna nowotworów piersi. Wersja uproszczona wg. WHO [98].	45
Tabela 6. Barwienie metodą hematoksyliny i eozyna (HE), Zakład Patologii Nowotworów WCO.	61
Tabela 7. Oznaczenie ekspresji receptorów estrogenowych α wg. procedury, Zakład Patologii Nowotworów WCO.	62
Tabela 8. Oznaczenie receptorów progesteronowych wg. obowiązującej procedury, Zakład Patologii Nowotworów WCO.	63
Tabela 9. Oznaczenie ekspresji wskaźnika proliferacji Ki67 wg. ustalonej procedury, Zakład Patologii Nowotworów WCO.	64
Tabela 10. Oznaczenie ekspresji receptora HER2 wg. ustalonej procedury, Zakład Patologii Nowotworów WCO.	65
Tabela 11. Ocena amplifikacji HER2 metodą FISH wg. procedury obowiązującej w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO.	67
Tabela 12. Izolacja DNA wg. stosowanej procedury (MagCore 405), Zakład Patologii Nowotworów WCO.	68
Tabela 13. Oznaczenie mutacji BRAF metodą HRM wg. procedury obowiązującej w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO.	69
Tabela 14. Warunki reakcji: program BRAF	69
Tabela 15. Zachorowalność na nowotwory złośliwe w Wielkopolsce na podstawie danych archiwalnych z lat 1954, 1964, 1974, 1984 ze zbiorów Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	72
Tabela 16. Nowotwory złośliwe piersi, zachorowalność w latach 1954, 1964, 1974, 1984, 1994 (współczynnik surowy zachorowalności na 100 000 mieszkańców). ¹ dane demograficzne [115]. ² dane demograficzne [116] ³ [analizy własne], WCO.	73
Tabela 17. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u mężczyzn w 1954 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	75
Tabela 18. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u kobiet w 1954 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	76
Tabela 19. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u mężczyzn w 1964 r., dane archiwalne Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	79
Tabela 20. Najczęściej występujące umiejscowienia nowotworów złośliwych u kobiet w 1964 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	80
Tabela 21. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u mężczyzn w 1974r., dane archiwalne Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	83

Tabela 22. Najczęściej występujące umiejscowienia nowotworów złośliwych u kobiet w 1974 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	84
Tabela 23. Najczęstsze umiejscowienia nowotworów złośliwych u mężczyzn w 1984 r. na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	87
Tabela 24. Najczęściej występujące umiejscowienia nowotworów złośliwych u kobiet w 1984 r., na podstawie danych archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO.	88
Tabela 25. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1954 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 1)	92
Tabela 26. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1954 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO (załącznik 1).....	92
Tabela 27. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie wybranych dwudziestu przypadków, materiał archiwalny z 1954 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem rutynowych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 1)	93
Tabela 28. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1964 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 2)	93
Tabela 29. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1964 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 2).....	94
Tabela 30. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie dwudziestu wybranych przypadków, materiał archiwalny z 1964 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem dostępnych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 2)	94
Tabela 31. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1971 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 3)	95
Tabela 32. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1971 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 3).....	95
Tabela 33. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie dwudziestu wybranych przypadków, materiał archiwalny z 1971 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem dostępnych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 3)	96
Tabela 34. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1984 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 4)	96
Tabela 35. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1984 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 4).....	97
Tabela 36. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie dwudziestu wybranych przypadków, materiał archiwalny z 1984 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem dostępnych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 4)	97
Tabela 37. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi (przynależność do podtypów biologicznych nowotworów złośliwych piersi) z 1994 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 5)	98
Tabela 38. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi z 1994 r. do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 5).....	98

Tabela 39. Struktura zachorowań na nowotwory piersi na podstawie dwudziestu wybranych przypadków, materiał archiwalny z 1994 r. opracowany współcześnie z zastosowaniem dostępnych procedur diagnostycznych, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 5).....	99
Tabela 40. Wyniki badań molekularnych (izolacja genomowego gDNA oraz badanie na obecność mutacji BRAF wybranych przypadków raka piersi do oceny jakości uzyskanego gDNA wg. procedur obecnie stosowanych w Zakładzie Patologii Nowotworów WCO (załączniki 1 – 5)).....	130
Tabela 41. Nowotwory złośliwe piersi, zachorowania, procentowy udział specjalnych typów nowotworów złośliwych piersi w analizowanych latach, 1954, 1964, 1971, 1984, 1994. Materiał archiwalny, Zakład Patologii Nowotworów WCO. (załącznik 1 – 5, tabele 25, 28, 31.....	132

13. Załączniki

Załącznik 1. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1954 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.....	163
Załącznik 2. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1964 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.....	167
Załącznik 3. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1971 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.....	171
Załącznik 4. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1984 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.....	175
Załącznik 5. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1994 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.....	179

Załącznik 1. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1954 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.

Lp.	Numer/ rok badania	Wiek	Topografia	Rozpoznanie patomorfologiczne. <i>*ocena współczesna, na podstawie aktualnych kryteriów diagnostycznych.</i> <i>Kolor czerwony- rak inwazyjny,</i> <i>kolor niebieski-rak in situ.</i>	ER	PgR	HER2	Ki67	FISH	Izolacja gDNA	Mutacja BRAF
1.	1189/54	27	piers lewa z węzłami chłonnymi	Foci carcinomatosi in statu epidermisationis. <i>*Adenoza, włóknienie, zmiany włóknisto torbielowate.</i> <i>Nie stwierdzono utkania raka.</i>	1+	1+	0	-		101,44 ng/μl 260/280 (nm) 1,90 260/230 (nm) 1,87	

2.	1278/54	45	pierś prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma gigantocellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG2(3+3+2:0 mitoz/10HPF).</i>	3+	3+	1+	<10%		131,78 ng/μl 260/280 (nm) 1,9 260/230 (nm) 2,07	
3.	3082/54	40	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma macrocellulare. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG2(3+3=1:6mitoz/10HPF).</i>	-	-	2+	<5%	-	161,45 ng/μl 260/280 (nm) 2,22 260/230 (nm) 1,69	
4.	1279/54	44	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Cellulae carcinomatosae. Necrosis. <i>*Rak inwazyjny NST o cechach raka zrazikowego lub rak zrazikowy, NHG2(3+2+1:0mitoz/10HPF).</i>	1+	1+	1+	<10%		19,78 ng/μl 260/280 (nm) 2,01 260/230 (nm) 1,69	
5.	1142/54	35	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma microcellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG3(3+3=3:21 mitoz/10HPF).</i>	2+	2+	0	20% ogniskowo		146,8 ng/μl 260/280 (nm) 1,97 260/230 (nm) 2,18	
6.	2906/54	40	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma microcellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny NHG2(2+3+2:10 mitoz/10HPF.)</i>	1+	1+	1+	<10%		20,04 ng/μl 260/280 (nm) 2,07 260/230 (nm) 1,45	
7.	801/54	47	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma microcellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG1(1+2+1:0mitoz/10HPF. Rak przewodowy in situ (DCIS) typ sitowaty, G2.</i>	3+	3+	0	>5%		72,32 ng/μl 260/280 (nm) 1,91 260/230 (nm) 2,08	

8.	987/54	35	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma microcellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG3(3+3+2:14mitoz/10HPF).</i>	2+	2+	3+	30%		76,1 ng/μl 260/280 (nm) 1,94 260/230 (nm) 2,26	Mutacja
9.	1111/54	46	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma macrocellulare, microfocale, metastasis. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG2(3+3+1:1mitoza/10HPF).</i> <i>Rak przewodowy in situ (DCIS), typ lity i sitowaty, G2.</i>	3+	3+	2+	10%		1,07 ng/μl 260/280 (nm) 1,21 260/230 (nm) 2,07	
10.	2627/54	58	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma cribrosum partim in statu degenerationis. <i>*Adenoza? Rozrost przewodowy atypowy.</i>	-	-	0	5%		112,21 ng/μl 260/280 (nm) 1,78 260/230 (nm) 1,69	
11.	3183/54	42	pierś lewa	Carcinoma cylindrocellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny NST NHG1(2+2+1:0mitoz/10HPF).</i>	2+	2+	0	<5%		7,73 ng/μl 260/280 (nm) 1,71 260/230 (nm) 1,47	
12.	1313/54		pierś prawa	Foci carcinomatosi. <i>*Rak przewodowy in situ (DCIS), G2.</i>	-	-	3+	<5%		48,31 ng/μl 260/280 (nm) 1,95 260/230 nm) 2,05	
13.	2645/54	46	pierś prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma Pageti, macrocellulare, microfocale partim gelatinosum. <i>*Rak inwazyjny typ NST NHG- 2(3+3+1:7 mitoz/10HPF).</i> <i>Rak przewodowy in situ (DCIS), typ sitowaty, G2.</i>	1+	1+	3+	10-20%		43,4 ng/μl 260/280 (nm) 1,91 260/230 (nm) 2,51	Wynik niepewny

14.	2958/54	46	pierś prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma cribrosum, microfocale <i>*Rak inwazyjny NST, NHG2(3+2+1:1mitoza/10HPF). Rak przewodowy in situ (DCIS), typ sitowaty i mikropapilarny, G2.</i>	3+	3+	0	<5%		3,3 ng/μl 260/280 (nm) 2,1 260/230 (nm) 1,02	
15.	1448/54	46	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma macrocellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny NST z cechami raka zrazikowego NHG2(3+2+1:0mitoz/10HPF).</i>	3+	3+	1+	20-30%		4,9 ng/μl 260/280 (nm) 2,8 260/230 (nm) -3,43	Brak mutacji
16.	2689/54	54	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma macrocellulare, microcellulare. <i>*Rak inwazyjny NST NHG3(3+3+3:19mitoz/10HPF).</i>	1+	1+	3+	10-20%		38,9 ng/μl 260/280 (nm) 1,87 260/230 (nm) 2,22	Brak mutacji
17.	2411/54	43	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma macrocellulare, microcellulare. <i>*Rak inwazyjny NST NHG2(3+3+1:1mitoza/10HPF).</i>	1+	1+	3+	10%		109,1 ng/μl 260/280 (nm) 1,98 260/230 (nm) 2,33	Mutacja
18.	2220/54	35	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma Pageti. <i>*Carcinoma Pageti.</i>	2+	2+	3+	10-20%%		202,87 ng/μl 260/280 (nm) 1,93 260/230 (nm) 2,15	
19.	2178/54	34	guz sutka - badanie śródoopera- cyjne	Foci carcinomatosi. Myoepithelio-adenoma cum epithelioplasia. <i>*Adenoza?. Adenosis tumor.</i>	2+	2+	0	-		129,64 ng/μl 260/280 (nm) 1,85 60/230 (nm) 1,83	

20.	869/54	49	p iers̄ lewa z w̄złami chłonnymi	Carcinoma cylindrocellulare, macrofocale et dispersum. <i>*Rak inwazyjny typ NST z cechami raka zrazikowego, NHG1(2+2+1:1mitoza/10HPF).</i>	3+	-	-0	10%		12,7 ng/μl 260/280 (nm) 1,35 60/230 (nm) 1,01	
-----	--------	----	--	---	----	---	----	-----	--	---	--

* materiał archiwalny oceniony przez lekarzy patomorfologów z wykorzystaniem obecnie stosowanych kryteriów, na podstawie badań histochemicznych, immunohistochemicznych i molekularnych.

Załącznik 2. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1964 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.

Lp .	Numer i rok badania	Wiek	Topografia	Rozpoznanie patomorfologiczne <i>*ocena współczesna, na podstawie aktualnych kryteriów diagnostycznych. Kolor czerwony- rak inwazyjny, kolor niebieski-rak in situ.</i>	ER	PgR	HER2	Ki67	FISH	Izolacja gDNA	Status BRAF
1.	29336/64	41	piers̄ prawa	Metastases carcinomatosae. <i>*Rak inwazyjny NOS, DCIS 3.</i>	1+	1+	3+	-		26,2 ng/μl 260/280 (nm) 1,96 260/230 (nm) 2,40	
2.	31330/64	42	guzek piersi prawej	Adenocarcinoma. <i>*Rak inwazyjny NOS.</i>	3+	3+	0/1+	>10%		19,4 ng/μl 260/280 (nm) 1,94 260/230 (nm) 2,07	

3.	31367/64	53	piers prawa	Tumor phyllodes In statu malignitationis, inflammationis. <i>*DCIS, G3, zbyt mały obszar na inwazję typu NOS.</i>	0/+	-	0/1+	-		26,8 ng/μl 260/280 (nm) 1,92 260/230 (nm) 2,97	Brak mutacji
4.	29882/64	68	zmiana z piersi lewej	Carcinoma papillare intracysticum. <i>*Carcinoma papillare intracysticum.</i>	+/-	+/-	0/1+	80%		14,5 ng/μl 260/280 (nm) 1,95 260/230 (nm) 1,94	Mutacja
5.	29535/64	58	piers prawa	Carcinoma microcellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny typu NOS (materiał zautolizowany).</i>	3+	1+	0/1+	5%		29,7 ng/μl 260/280 (nm) 1,97 260/230 (nm) 2,62	
6.	31365/64	62	piers lewa	Carcinoma intraductale. Carcinoma Pageti. <i>*Carcinoma ductale. Carcinoma Pageti.</i>	1+	1+	3+	10- 20%		31,2 ng/μl 260/280 (nm) 1,91 260/230 (nm) 2,12	
7.	30554/64	41	piers lewa	Carcinoma microcellulare, microfocale. <i>*DCIS z mikroinwazją oraz rak śluzowy inwazyjny.</i>	3+	3+	1+	<5%		26,9 ng/μl 260/280 (nm) 1,95 260/230 2,37	
8.	31228/64	40	piers lewa	Carcinoma microcellulare, microfocale. <i>*Rak inwazyjny (NOS) NHG 2.</i>	-	+/-	0	20%		30,6 ng/μl 260/280 (nm) 1,95 260/230 (nm) 2,41	

9.	30101/64	52	zmiana z piersi prawej	Carcinoma Pageti *Carcinoma Pageti.	-	-	3+	10-20%		18,9 ng/μl 260/280 (nm) 1,89 260/230 (nm) 2,12	
10.	30927/64	40	piers lewa	Carcinoma microcellulare, microfocale. *Rak inwazyjny (NOS) NHG2. Rak przewodowy in situ (DCIS), G3 wg. Van Nuysa.	2+	-	3+	30%		19,3 ng/μl 260/280 (nm) 1,95 260/230 (nm) 2,09	
11.	29760/64	50	zmiana z piersi lewej	Carcinoma microcellulare, microfocale partim adenoides. *Rak inwazyjny (NOS) NHG2.	3+	-	0	<1%		31,3 ng/μl 260/280 (nm) 1,94 260/230 (nm) 2,52	
12.	28801/64	54	piers prawa	Foci carcinomatosi. *Rak przewodowy in situ (DCIS), G3 wg. Van Nuysa.	-	-	3+	<5%		72,83 ng/μl 260/280 (nm) 1,9 260/230 (nm) 1,72	
13.	29611/64	67	piers prawa	Carcinoma microcellulare, microfocale. *Rak inwazyjny typu NOS z elementami raka śluzowego NHG-2.	3+	2+	0	<5%		30,0 ng/μl 260/280 (nm) 1,97 260/230 (nm) 2,54	
14.	29368/64	58	piers prawa	Carcinoma macrocellulare partim adenoides. *Rak przewodowy in situ (DCIS), G1 wg. Van Nuysa z mikroinwazją wielonaczyniową.	3+	2+	2+	-		16,7 ng/μl 260/280 (nm) 1,9 260/230 (nm) 2,36	

15.	28687/64	53	piers prawa	Carcinoma macrocellulare partim adenoides. <i>*Brak utkania raka.</i>	-	-	0	-		18,6 ng/μl 260/280 (nm) 1,84 260/230 (nm) 2,27	
16.	31195/64	67	piers lewa	Carcinoma macrocellulare et microcellulare. <i>*Rak inwazyjny typu NOS, NHG2.</i> <i>Rak przewodowy in situ (DCIS), G2.</i>	3+	+	2+	5%		141,0 ng/μl 260/280 (nm) 1,9 260/230 (nm) 2,26	Mutacja
17.	29782/64	54	zmiana z piersi lewej	Carcinoma microcellulare, microfocale partim adenoids. <i>*Rak inwazyjny typ NOS, NHG2.</i>	+1	1+	1+	30%		36,9 ng/μl 260/280 (nm) 1,95 260/230 (nm) 2,59	Brak mutacji
18.	30868/64	43	zmiana z piersi lewej	Carcinoma microcellulare et microfocale . <i>*Rak inwazyjny typu NOS, NHG.</i> <i>Rak przewodowy(DCIS)3 (wg. Van Nuysa).</i>	3+	3+	0	>10%		57,3 ng/μl 260/280 (nm) 1,94 260/230 (nm) 2,34	Mutacja
19.	29640/64	39	piers prawa	Carcinoma microcellulare. <i>*Carcinoma invasivum typ NOS, NHG2.</i>	3+	1+	0	<1%		30,9 ng/μl 260/280 (nm) 1,89 260/230 (nm) 2,19	
20.	29636/64	54	zmiana z piersi prawej	Carcinoma macrocellulare et microcellulare. <i>*Carcinoma invasivum, typ NOS, NHG2.</i>	-	-	0	40%		31,2 ng/μl 260/280 (nm) 1,97 260/230 (nm) 2,4	

* materiał archiwalny oceniony przez lekarzy patomorfologów z wykorzystaniem obecnie stosowanych kryteriów, na podstawie badań histochemicznych, immunohistochemicznych i molekularnych.

Załącznik 3. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1971 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.

Lp.	Numer/ rok badania	Wiek	Topografia	Rozpoznanie patomorfologiczne <i>*ocena współczesna, na podstawie aktualnych kryteriów diagnostycznych. Kolor czerwony- rak inwazyjny, kolor niebieski-rak in situ.</i>	ER	PgR	HER2	Ki67	FISH	Izolacja gDNA	Status BRAF
1.	49167/ 71	46	guz piersi lewej	Carcinoma solidum partim adanoides. <i>*Phyllodes tumor G1.</i>	3+	3+	0	5%		45,7 ng/μl 260/280 (nm) 1,74 260/230 (nm) 1,04	
2.	48675/ 71	47	piers lewa	Carcinoma solidum, anaplasticum. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG3(3+3+3:50 mitoz/10HPF).</i>	-	-	3+	40- 50%		30,0 ng/μl 260/280 (nm) 1,91 260/230 (nm) 2,06	
3.	48623/ 71	39	guz piersi lewej	Carcinoma solidum, anaplasticum. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG3(3+3+3:20 mitoz/10HPF).</i>	-	-	0	40- 50%		56,67 ng/μl 260/280 (nm) 1,92 260/230 (nm) 1,99	
4.	50041/ 71	43	piers prawa	Carcinoma macro et microcellulare, partim cribrosum. <i>*Rak inwazyjny NST o cechach raka sitowatego.NHG1(2=2+1:2mitozy /10HPF). Rak (DCIS) typ sitowaty z martwicą comedo (G2 wg. Van Nuysa).</i>	1+	1+	0	5- 10%		159,0 ng/μl 260/280 (nm) 1,81 260/230 (nm) 2,18	Wynik niepewny

5.	49986/ 71	64	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma microcellulare, macro et microfocale. <i>*Rak inwazyjny NST z cechami mikropapilarnymi i apokrynowymi: NHG1(2+2+1:2 mitozy/10HPF).</i>	2+	2+	0	<10%		34,4 ng/μl 260/280 (nm) 1,90 260/230 (nm) 2,03	Wynik niepewny
6.	49909/ 71	58	piers lewa z węzłami chłonnymi	Foci carcinomatosi. Hyperplasia folliculare reactiva. <i>*Rak przewodowy in situ (DCIS), typ sitowaty i lity o wysokiej atypii jądrowej bez mitozy (G3 wg. Van Nuysa), 1 drobne ognisko.</i>	1+	1+	3+ ognisko wo	0		39,3 ng/μl 260/280 (nm) 1,86 260/230 (nm) 1,72	
7.	48750/ 71	74	piers lewa	Adenocarcinoma. <i>*Rak inwazyjny NST z cechami mikropapilarnymi NHG2(3+2+1:2mitozy 10HPF).</i>	1+	3+	-	<5%		12,3 ng/μl 260/280 (nm) 1,96 260/230 (nm) 1,55	
8.	48690/ 71	40	piers prawa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinoma partim solidum. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG3(3+3+3:20mitoz/10HPF).</i>	3+	2+	3+	20- 30%		40,05 ng/μl 260/280 (nm) 1,78 260/230 (nm) 1,35	
9.	49941/ 71	59	piers męska lewa	Carcinoma solidum partim adenocarcinoma. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG2(3+3+1:5mitoz/10HPF).</i>	3+	1+	-	10%		26,6 ng/μl 260/280 (nm) 2,06 260/230 (nm) 1,90	
10.	48721/ 71	52	piers lewa z węzłami chłonnymi.	Carcinoma solidum. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG3(3+3+3:20mitoz/10HPF).</i>	-	-	-	5%		29,9 ng/μl/ 260/280 (nm) 1,93 260/230 (nm) 2,10	

11.	49701/ 71	44	piers prawa	Carcinoma microcellulare, macro et microfocale et dispersum. Metastases. <i>*Rak inwazyjny NST</i> <i>NHG1(2+2+1:2 mitozy/10HPF).</i>	3+	3+	2+	<10%		53,8 ng/μl 260/280 (nm) 1,69 260/230 (nm) 1,06	
12.	50275/ 71	31	piers prawa	Carcinoma solidum z komponentą łączno-tkankową sugerującą tumor phyllodes. <i>*Rak inwazyjny NST o morfologii basal like carcinoma:</i> <i>NHG3(3+3+3:60mitoz/10HPF).</i>	1+	1+	1+	50%		167,0 ng/μl 260/280 (nm) 1,88 260/230 (nm) 2,23	Mutacja
13.	50125/ 71	?	piers lewa	Carcinoma folliculare recidiva. <i>*Rak inwazyjny typ NST</i> <i>NHG3(3+3+3:40mitoz/10HPF).</i>	-	-	-	1-5%		24,6 ng/μl 260/280 (nm) 1,97 260/230 (nm) 1,69	
14.	49622/ 71	62	piers lewa	Carcinoma solidum partim adenocarcinoma. Metastases carcinomatosae. <i>*Rak inwazyjny NST, NHG(3+3+3: 30mitoz/10HPF).</i> <i>Rak przewodowy in situ (DCIS), typ sitowaty i mikropapilarny,G2.</i>	3+	-	-	40- 50%		149,7 ng/μl 260/280 (nm) 1,87 260/230 (nm) 2,22	Mutacja
15.	49127/ 71	48	piers prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum, anaplasticum. <i>*Rak inwazyjny NST,</i> <i>NHG3(3+2+3:40mitoz/10HPF).</i>	-	-	-	40- 50%		34,0 ng/μl 260/280 (nm) 1,87 260/230 (nm) 2,07	
16.	49636/ 71	40	piers prawa	Carcinoma microcellulare, macro et microfocale. <i>*Rak inwazyjny NST</i> <i>NHG3(3+3+3:50mitoz/10HPF).</i>	2+	-	-	50%		29,2 ng/μl 260/280 (nm) 1,92 260/230 (nm) 2,27	

17.	48854/ 71	68	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum <i>*Rak inwazyjny NST NHG3(3+3+3:60mitoz/10HPF).</i>	1+	-	1+	30- 40% %		28,5 ng/μl 260/280 (nm) 1,86 260/230 (nm) 1,98	
18.	49632/ 71	72	pierś prawa	Carcinoma microcellulare, macro et microfocale et dispersum. <i>*Rak inwazyjny, typ zrazikowy: NHG2(3+2+1:0mitoz/10HPF).</i>	3+	-	-	10-%		14,9 ng/μl 260/280 (nm) 1,67 260/230 (nm) 1,09	
19.	48860/ 71	62	pierś prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum lymphocysticum. <i>*Rak inwazyjny NST z cechami zrazikowymi NHG2(3+2+1:0mitoz?10HPF).</i>	3+	1+	2+	30- 40%	Amplifi- kacja genu HER2	28,7 ng/μl 260/280 (nm) 1,93 260/230 (nm) 2,32	
20.	49371/ 71	54	pierś prawa	Carcinoma solidum. <i>*Carcinoma invasivum typ NST z cechami raka zrazikowego, NHG2(3+2+1:0mitoz/10HPF).</i>	1+	1+	-	<5%		37,1 ng/μl 260/280(nm) 1,94 260/230 (nm) 2,7	Brak mutacji

* materiał archiwalny oceniony przez lekarzy patomorfologów z wykorzystaniem obecnie stosowanych kryteriów, na podstawie badań histochemicznych, immunohistochemicznych i molekularnych.

Załącznik 4. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1984 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.

Lp.	Numer / rok badania	Wiek	Topografia	Rozpoznanie patomorfologiczne <i>*ocena współczesna, na podstawie aktualnych kryteriów diagnostycznych. Kolor czerwony- rak inwazyjny, kolor niebieski- rak in situ.</i>	ER	PgR	HER	Ki67	FISH	Izolacja gDNA	Status BRAF
1.	93163/84	48	piersź lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim lymphoplasticum partim necroticum. <i>*Rak inwazyjny piersi, typ najbliższy NOS, NHG2 (3+3+2:16 mitoz/10HPF).</i>	-	-	1+	60%		317,35 ng/μl 260/280 (nm) 1,86 260/230 (nm) 2,08	
2.	93978/84	70	piersź lewa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinoma partim solidum, partim desmoplasticum. <i>*Rak inwazyjny piersi, typ najbliższy NOS, NHG1(2+2+1:5 mitoz/10HPF).</i>	3+	3+	0	5%		314,91 ng/μl 260/280 (nm) 1,84 260/230 (nm) 1,99	
3.	91436/84	44	piersź lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim adenoides. <i>*Rak inwazyjny piersi, typ najbliższy NOS, NHG3 (3+2+3:20 mitoz/10HPF).</i>	-	-	3+	30%		470,31 ng/μl 260/280 (nm) 1,91 260/230 (nm) 2,16	
4.	90783/84	56	piersź prawa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinoma desmoplasticum. <i>*Rak inwazyjny piersi, typ najbliższy NOS, NHG2 (3+2+1:1 mitoz/10HPF).</i>	3+	1+	1+	10%		26,8 ng/μl 260/280 (nm) 1,97 260/230 (nm) 2,0	Brak mutacji

5.	94043/84	46	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim adenoides, partim secretans. <i>* Rak inwazyjny piersi, typ najbliższy NOS z cechami mikropapilarnymi, NHG3 (3+3+2:12 mitoz/10HPF).</i>	1+	1+	0	0-5%		77,84 ng/μl 260/280 (nm) 1,83 260/230 (nm) 2,0	
6.	92078/84	49	piers prawa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinoma partim solidum, partim cribriforme. <i>* Rak inwazyjny piersi, typ najbliższy NOS, NHG 1 (1+2+1:1 mitoza/10HPF).</i>	3+	3+	0	20%		25,5 ng/μl 260/280 (nm) 1,94 260/230 (nm) 2,29	Brak mutacji
7.	93831/84	60	piers prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim adenoides, partim lobulare. <i>*Rak inwazyjny NOS z cechami raka zrazikowego NHG2(3+3+1:4mitozy/10HPF).</i>	3+	1+	0	5- 10%		98,14 ng/μl 260/280 (nm) 1,88 260/230 (nm) 2,02	
8.	91556/84	64	piers prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim secretans, partim necroticum. <i>*Rak inwazyjny NOS z cechami raka pleomorficznego NHG3(3+3+1:5mitoz/10HPF).</i>	-	-	0	10%		150,72 ng/μl 260/280 (nm) 1,9 260/230 (nm) 1,93	
9.	90730/84	64	piers prawa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinoma desmoplasticum. <i>*Rak inwazyjny NOS z cechami raka mikropapilarnego/ inwazyjny rak mikropapilarny NHG2(3+2+1:4mitoz/10HPF).</i>	3+	2+	2+	5- 10%		374,03 ng/μl 260/280 (nm) 1,91 260/230 (nm) 2,13	
10.	91578/84	59	piers prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim secretans, partim necroticum. <i>*Rak inwazyjny NOS, NHG3(3+3+3: 18mitoz/10HPF).</i>	1+	1+	0/1+	10%		106,3 ng/μl 260/280 (nm) 1,92 260/230 (nm) 2,31	Wynik niepewny

11.	90750/84	44	pierś prawa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinoma partim solidum, partim secretans. <i>*Rak inwazyjny NOS NHG1(2+2+1:1mitoza/10HPF).</i>	3+	3+	0/1+	<5%		153,42 ng/μl 260/280 (nm) 1,91 260/230 (nm) 2,13	
12.	94122/84	31	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinoma papillare, intracysticum *Encapsulated papillary carcinoma. (materiał rozfragmentowany).	-	-	3+	5%		33,32 ng/μl 260/280 (nm) 1,79 260/230 (nm) 1,35	
13.	91021/84	53	pierś prawa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinoma partim solidum, partim desmoplasticum. *Rak inwazyjny NOS NHG2(2+2+1:3 mitozy/10HPF).	3+	3+	0	10%		315,36 ng/μl 260/280 (nm) 1,89 260/230 (nm) 2,15	
14.	93216/84	57	pierś prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim mucocellulare. *Rak inwazyjny NOS z cechami apokrynowymi/ rak apokrynowy NHG2(3+3+1:3 mitozy/10HPF).	-	-	0/1+	-	Brak ampli- fikacji genu HER2	183,66 ng/μl 260/280 (nm) 1,88 260/230 (nm) 1,97	
15.	93219/84	48	pierś lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim necroticum. *Rak inwazyjny NOS typ pleomorficzny/ rak metaplastyczny NHG3(3+3+3:68 mitoz/10HPF).	-	-	0	40- 50%		188,53 ng/μl 260/280 (nm) 1,88 260/230 (nm) 1,91	
16.	91810/84	44	pierś prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum adenoides, partim desmoplasticum *Rak inwazyjny NOS NHG2(3+2+2:15mitoz/10HPF).	3+	3+	0	40- 50%		338,17 ng/μl 260/280 (nm) 1,88 260/230 (nm) 2,1	

17.	93781/84	48	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinosarcoma. *Carcinosarcoma.	-	-	0	<5%		316,75 ng/μl 260/280 (nm) 1,9 260/230 (nm) 2,16	
18.	90696/84	56	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma cribriforme partim intralobulare. *Rak inwazyjny NST, NHG2(3+2+1:0 mitoz/10HPF. Rak przewodowy in situ G3 wg. Van Nuys (typ lity i sitowaty o dużej atypii jąder komórkowych, martwica).	3+	3+	2+	5%		37,9 ng/μl 260/280 (nm) 1,96 260/230 (nm) 2,23	Brak mutacji
19.	91947/84	72	piers prawa z węzłami chłonnymi	Adenocarcinom desmoplasticum. *Rak inwazyjny NST, NHG2(2+3+1:4 mitozy/10HPF).	3+	3+	0	20%		122,2 ng/μl 260/280 (nm) 1,92 260/230 (nm) 2,26	Brak mutacji
20.	92972/84	54	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma solidum partim planoepitheliale *Rak inwazyjny metaplastyczny z metaplazją płaskonabłonową NHG 2(3+3+1:0 mitoz/10HPF).	1+	-	0	<5%		255,28 ng/μl 260/280 (nm) 1,92 260/230 (nm) 2,01	

* materiał archiwalny oceniony przez lekarzy patomorfologów z wykorzystaniem obecnie stosowanych kryteriów, na podstawie badań histochemicznych, immunohistochemicznych i molekularnych.

Załącznik 5. Wyniki badań diagnostycznych wybranych przypadków raka piersi z 1994 r. z zasobów archiwalnych Zakładu Patologii Nowotworów, WCO.

Lp.	Numer i rok badania	Wiek	Topografia	Rozpoznanie patomorfologiczne <i>*ocena współczesna, na podstawie aktualnych kryteriów iagnostycznych. Kolor czerwony- rak inwazyjny, kolor niebieski- rak in situ.</i>	ER	PgR	HER 2	Ki67	FISH	Izolacja gDNA	Status BRAF
1.	2589/94	35	piersź lewa	Carcinoma ductale invasivum. Invasio carcinomatosa vasorum lymphaticorum et venarum, G3:pT1 pN1	-	-	0	<1%		10,04 ng/μl 260/280 (nm) 1,8 260/230 (nm) 1,58	
2.	2859-61/94	43	piersź prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma ductale invasivum. Invasio carcinomatosa vasorum lymphaticorum et venarum, G3:pT1 pN1. W utkaniu liczne ogniska carcinoma ductale praeinvasivum.	2+	2+	3+	5-10%		299,0 ng/μl 260/280 (nm) 1,93 260/230 (nm) 2,03	
3.	2222-24/94	65	piersź prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma Pageti mamillae. Carcinoma ductale praeinvasivum. Lymphonodulitis reactiva No 13.	-	1+	0	<1%		79,5 ng/μl 260/280 (nm) 2,05 260/230 (nm) 1,98	
4.	3135-36/94	61	piersź lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma tubulo-ductale desmoplasticum, G2.	-	-	0	<5%		76,45 ng/μl 260/280 (nm) 1,96 260/230 (nm) 1,98	
5.	3225/94	44	piersź prawa	Carcinoma ductale invasivum mammae dextre (G2:pT4B, pN?).	1+	3+	0/1+	10%		64,6 ng/μl 260/280 (nm) 1,94 260/230 (nm) 2,32	Mutacja

6.	3329-31/94	59	pierś lewa	<i>Carcinoma lobulare praeinvasivum mammae sinistre.</i> (badanie śródoperacyjne).	3+	3+	0/1+	>1%		9,8 ng/μl 260/280 (nm) 2,09 260/230 (nm) 2,62	Mutacja
7.	3463-65/94	45	pierś prawa z węzłami chłonnymi	<i>Carcinoma ductale infiltrans partim ductalo-lobulare.</i> Mamilla sine laesionibus. Lymphonodulitis reactiva No 7, G2.	1+	1+	0	-		11,03 ng/μl 260/280 (nm) 1,56 260/230 (nm) 0,21	
8.	4008-11/94	39	pierś lewa z węzłami chłonnymi	<i>Carcinoma ductale invasivum (G2) partim carcinoma intraductale</i> (około 15% utkania guza). Mamille sine laesionibus, mamma secretans (graviditas Hbd 24). Metastases carcinomatosae in lymphonodulitis No IV/VI. Infiltratio carcinomatosa capsulae lymphonodorum et tele adiposae periglandularum.	-	3+	3+	<1%		258,62 ng/μl 260/280 (nm) 1,91 260/230 (nm) 1,97	
9.	4025-27/94	48	pierś lewa z węzłami chłonnymi	<i>Carcinoma ductale infiltrans, G3.</i> Lymphonodulitis reactiva No 9.	1+	1+	0	20-30%		41,46 ng/μl 260/280 (nm) 1,96 260/230 (nm) 1,90	
10.	4117-19/94	51	pierś prawa z węzłami chłonnymi	<i>Carcinoma ductale infiltrans mammae dextre, G2.</i> Mamille sine laesionibus. Metastases carcinomatosae diffusae 5/6.	2+	2+	2+	10%		54,4 ng/μl 260/280 (nm) 1,99 260/230 (nm) 1,80	
11.	4374-75/94	54	pierś prawa	<i>Carcinoma tubulo-ductale invasivum partim carcinoma lobulare</i> (badanie śródoperacyjne).	2+	-	0	-		1,82 ng/μl 260/280 (nm) -0,96 260/230 (nm) 1,07	

12.	4376-78/94	56	piers prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma tubulo-ductale invasivum partim lobulare mammae dexterae. (G1:pT1 pN0)	3+	3+	0	>5%		7,74 ng/μl 260/280 (nm) 1,61 260/230 (nm) 1,44	
13.	4381-83/94	73	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma lobulare invasivum. Invasio carcinomatosa capsulae lymphaticorum. Carcinoma papillare intracysticum et invasion incipiens. (G1:pT1, pN1). Metastases carcinomatosa lymphonodorum No III(III/IV). Infiltratio carcinomatosa capsulae lymphonodorum et tele adiposae perifocalis (carcinoma lobulare).	3+	3+	2+	<5%		239,51 ng/μl 260/20 (nm) 1,87 260/230 (nm) 1,85	
14.	4397-4400/94	37	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma ductale invasivum mammae sinistrae (G2: pT1 pN1). Metastasis carcinomatosa in uno lymphonodo (I/IV). Infiltratio carcinomatosa capsulae lymphonodorum et tele adiposae periglandularis.	3+	3+	0	10%		2,14 ng/μl 260/280 (nm) 3,65 260/230 (nm) 0,59	
15.	4336-38/94	46	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma ductale invasivum mammae sinistrae. Metastases carcinomatosa lymphonodorum (II/VII). Sinus histiocyticus lymphonodorum (VI).	-	1+	0	<1%		102,0 ng/μl 260/280 (nm) 1,98 260/230 (nm) 2,21	Mutacja
16.	4324/94	47	piers prawa	Epithelioplasia partim papillomatosa intraductalis.? Carcinoma?	3+	3+	3+	<5%		25,8 ng/μl 260/280 (nm) 2,03 260/230 (nm) 2,49	Brak mutacji

17.	4396-98/94	37	piers prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma ductale invasivum mammae dextrae (G2;pT1, pN0). Lymphonodulitis chronicae et lipomatosis lymphonodorum No XVIII.	-	-	0	<1%		6,71 ng/μl 260/280 (nm) 1,85 260/230 (nm) 1,11	
18.	4334/9	56	piers lewa	Carcinoma ductale invasivum mammae sinistrae (pT4c). Status post chemiotherapiam. Infiltratio carcinoma cutis.	1+	1+	2+	10%		37,11 ng/μl 260/280 (nm) 2,06 260/230 (nm) 1,54	
19.	3196-99/94	72	piers prawa z węzłami chłonnymi	Carcinoma ductale invasivum mammae dextrae (G2,pT2, pN1). Invasio carcinomatosae vasorum lymphaticorum. W utkaniu pojedyncze ogniska carcinoma ductale praeinvasivum (<10% utkania nowotworowego). Metastases carcinomatosae lymphonodorum NO III (III/IV).	3+	2+	0	10%		176,2 ng/μl 260/280 (nm) 1,87 260/230 (nm) 2,02	
20.	4371/94	54	piers lewa z węzłami chłonnymi	Carcinoma ductale invasivum mammae sinistrae (G3, pT1, pN1). Mammillae sine laesionibus. Metastases carcinomatosae in lymphonodulitis (IV/VI). Infiltratio carcinomatosa capsulae lymphonodorum et telae adiposae emboliae carcinomatosae.	-	-	3+	>5%		Nieudana izolacja	Nieudana izolacja