

Δ.Α. 695 ... 5



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ**

Διευθυντής: Η Καθηγήτρια Ν.Ι. Αγγώνη

**«Ιστοχημική και ανοσοϊστοχημική μελέτη της προέλευσης των
αποκρινών κυττάρων του μαζικού αδένα σε νεκροτομικό υλικό
εμβρύων και νεογνών»**

**ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΖΑΓΟΡΙΑΝΑΚΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2005



ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΑΠΟΤΥΠΩΜΑΤΑ
ΑΝΤΙΣΤΗΜΑΧΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΝΟΝΩΝ
ΠΡΟΚΑΛΗΤΕΡΟΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΑΠΟΤΥΠΩΜΑΤΑ
ΑΝΤΙΣΤΗΜΑΧΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΑΠΟΤΥΠΩΜΑΤΑ
ΑΝΤΙΣΤΗΜΑΧΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα»

Ν.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2



ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΤΗΣΗΣ: 8-7-1999

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ
ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 393α/23-11-99

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

Αγνάντη Νίκη
Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
ΜΕΛΗ

- Στεφάνου Δημήτριος
- Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Βουγιουκλάκης Θεόδωρος
- Επίκουρος Καθηγητής Ιατροδικαστικής & Τοξικολογίας Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: 30-11-1999

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΕΩΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ
ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 29-6-2005

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Επαμεινώνδας Τσιάνος
Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Αγνάντη Νίκη, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής, επιβλέπων μέλος
2. Στεφάνου Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής
Ανατομικής, μέλος
3. Βουγιουκλάκης Θεόδωρος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατροδικαστικής &
Τοξικολογίας, μέλος
4. Παρασκευαΐδης Ευάγγελος, Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, μέλος
5. Τσατσούλης Αγαθοκλής, Καθηγητής Ενδοκρινολογίας, μέλος
6. Μπατιστάτου Άννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, μέλος
7. Μπάτσης Χαράλαμπος, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής, μέλος

ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: Άριστα

Η Γραμματέας της Ιατρικής Σχολής


Ευαγγελία Τσαγγαλά



...από την
...
...
...

...
...
...
...
...
...
...
...
...
...
...

Στη μάνα μου Φωτεινή, φωτεινή ηλιαχτίδα της ζωής μου

...
...
...

...
...
...
...

...
...
...



Η παρούσα διδακτορική διατριβή, εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής και Ιατροδικαστικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κατά το χρονικό διάστημα 1999-2005. Μέσα από τις επόμενες γραμμές θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους που συνέβαλαν ουσιαστικά στην πραγματοποίησή της και ολοκλήρωσή της.

Ευχαριστώ θερμά την Καθηγήτή μου, κα Νίκη Αγνάντη, Διευθύντη του Παθολογοανατομικού-Κυτταρολογικού Εργαστηρίου και Αντιπρύτανη του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την σύλληψη, ανάθεση και επίβλεψη της διδακτορικής διατριβής. Η Καθηγήτης Νίκη Ι. Αγνάντη, επικεφαλής της τριμελούς επιτροπής, από τους πρωτοπόρους επιστήμονες της μελέτης του καρκίνου του μαστού στη χώρα μας, με τη μεγάλη ευγένεια του χαρακτήρα της, την πλατύτητα και την εγρήγορση της σκέψης της, υπήρξε για μένα ακρογωνιαίος λίθος για την εκπόνηση της διατριβής. Εκφράζω την ευγνωμοσύνη και τις ευχαριστίες μου για την αμέριστη ηθική υποστήριξη, το συνεχές αδιάπτωτο ενδιαφέρον και την ακαταπόνητη καθοδήγηση .

Ευχαριστώ επίσης τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής, κύριο Δημήτριο Στεφάνου, για την ουσιαστική συμβολή του στην επιλογή του θέματος της διδακτορικής διατριβής και το αμείωτο ενδιαφέρον του για την πραγματοποίησή της.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή Ιατροδικαστικής κύριο Θεόδωρο Βουγιουκλάκη, μέλος της τριμελούς επιτροπής για την πρακτική καθοδήγηση, για την προσφορά του υλικού, τη συνεχή παρότρυνση και την ενθάρρυνση στην ολοκλήρωση της διδακτορικής διατριβής .

Επίσης ευχαριστώ τον Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης, κύριο Σιβρίδη, για την προσφορά του υλικού, χωρίς το οποίο θα ήταν αδύνατη η εκπόνηση αυτής της διατριβής.



Εκφράζω τις ευχαριστίες μου στους Καθηγητές κο Ευάγγελο Παρασκευαΐδη και κο Αγαθοκλή Τσατσούλη, καθώς και στους Επίκουρους Καθηγητές κα Άννα Μπατιστάτου και κο Χαράλαμπο Μπάτση για τη συμμετοχή στην επταμελή εξεταστική επιτροπή καθώς και τις επικοινωνητικές συμβουλές και τις τελικές υποδείξεις τους στην παρούσα διατριβή.

..

Έπιθυμώ επίσης να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην τεχνολόγο (ΕΤΕΠ) του Πανεπιστημιακού Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου Ιωαννίνων κα Αντιγόνη Χριστοδούλου, για τη συμβολή της στην πραγματοποίηση του τεχνικού μέρους της εργασίας, συγκεκριμένα στην ανοσοϊστοχημεία, και στην κυρία Βούλα Δημακοπούλου για την ιστοχημεία.

Τέλος ευχαριστώ, την αδερφή μου και συνάμα συνάδελφο, κα Νεκταρία Ζαγοριανάκου-Μακρυδήμα, για την βοήθεια της στην ψηφιακή επεξεργασία εικόνων, διαγραμμάτων, τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τη συνεχή ηθική συμπαράσταση.



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το αποκρινές επιθήλιο στο μαζικό αδένα, απαντάται σε ευρύ φάσμα οντοτήτων, τόσο σε καλοήθεις καταστάσεις όσο και σε κακοήθεις. Έχουν γίνει διάφορες μελέτες (ιστοχημικές, ανοσοϊστοχημικές, νεκροτομικές, κυτταροκαλλιέργειες ή με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο) για την προέλευση των αποκρινών κυττάρων στο μαζικό αδένα. Ακόμη και σήμερα όμως παραμένει μια αινιγματική οντότητα. Θεωρείται σαν προϊόν φυσιολογικής διαφοροποίησης ή μετάπλασης ή εκφύλισης ή έγκλεισης αποκρινών αδένων στην περιοχή του μαζικού αδένα.

Σκοπός, της παρούσας μελέτης είναι η αποσαφήνιση της ιστογένεσης του αποκρινούς επιθηλίου του μαζικού αδένα. Ερευνήσαμε την παρουσία αποκρινών κυττάρων ή κυττάρων με αποκρινή διαφοροποίηση κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του ανθρώπινου μαζικού αδένα, εξετάζοντας νεκροτομικό υλικό εμβρύων και νεογνών.

Μελετήθηκε η κυτταρομορφολογία των αδενικών δομών σε τομές αιματοξυλίνης-ηωσίνης, η ιστοχημική και η ανοσοϊστοχημική έκφραση δεικτών αποκρινούς διαφοροποίησης.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΑΝΑΠΤΥΞΗ	3
ΑΝΑΤΟΜΙΑ	9
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	15
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	25
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΑΖΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ	26
ΔΙΑΜΑΡΤΙΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΠΛΑΣΗΣ	28
ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΔΙΑΠΛΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΑΖΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ	30
ΑΠΟΚΡΙΝΕΣ ΕΠΙΘΗΛΙΟ	31
ΘΕΩΡΙΕΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΑΠΟΚΡΙΝΟΥΣ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ	32
ΚΥΣΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ-ΑΠΟΚΡΙΝΕΙΣ ΚΥΣΤΕΙΣ	33
ΘΗΛΩΔΕΙΣ ΑΠΟΚΡΙΝΕΙΣ ΑΛΛΑΓΕΣ	37
<i>Καλοήθης αποκρινής υπερπλασία</i>	38
<i>Άτυπη αποκρινή υπερπλασία</i>	41
ΑΠΟΚΡΙΝΕΣ ΠΟΡΟΓΕΝΕΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ IN SITU (DCIS)	46
ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΑΠΟΚΡΙΝΕΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ	47
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	53
ΔΕΙΓΜΑΤΑ	59
<i>Ανοσοϊστοχημική εκτίμηση</i>	60
<i>Στατιστική Ανάλυση</i>	60



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
Α. ΧΡΩΣΗ ΑΙΜΑΤΟΞΥΛΙΝΗΣ-ΗΩΣΙΝΗΣ	63
Β. ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	64
Γ. ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	64
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	67
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	73
ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	74
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	75
ABSTRACT	77
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ-ΕΙΚΟΝΕΣ	81
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	91



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ανάπτυξη και ιστολογία του φυσιολογικού μαστού

Ανάπτυξη-Ιστορική ανασκόπηση

Ο μαστός αποτελεί σύμβολο γυναικείας ομορφιάς, μητρότητας και γονιμότητας. Στον άντρα παραμένει υποτυπώδης κατά τη διάρκεια της ζωής. Στη γυναίκα είναι υποτυπώδης στην παιδική ηλικία και παρουσιάζει σημαντική ανάπτυξη στη διάρκεια της εφηβείας και στην ενήλικη ζωή. Η λειτουργία του μαστού εκφράζεται με την έκκριση γάλακτος από τα επιθηλιακά κύτταρα τα οποία οργανώνονται σε αδενοκυψέλες και πόρους.

Η δημιουργία των μαστών αντιπροσωπεύει κριτικό στάδιο στη μορφογένεση. Υποστηρίζεται ότι ορισμένα αρχικά γεγονότα της καρκινογένεσης του μαστού συμβαίνουν στα πρώιμα στάδια της ενδομήτριας ανάπτυξης [1, 2, 3].

Η ενδομήτρια ανάπτυξη του μαστού έχει εκτενώς περιγραφεί στην διεθνή βιβλιογραφία συνοδευμένη από λεπτομερή διαγράμματα ανάπτυξης των διαφορετικών σταδίων, τα οποία όμως παρουσιάζουν σημαντικές ασάφειες. Το κυριότερο πρόβλημα αυτών ήταν ότι δεν συμβάδιζαν τα στάδια ανάπτυξης με την ηλικία του εμβρύου ή του νεογέννητου παιδιού [4-8] (Πίνακας 1).

Η σημαντικότερη μελέτη της εμβρυϊκής ανάπτυξης του μαζικού αδένου εμφανίστηκε στη διεθνή βιβλιογραφία το 1949, όπου ο *Hughes* υπολογίζει την ανάπτυξη του μαζικού αδένου σε συνάρτηση με την ηλικία του εμβρύου [9]. Σε αυτή την πρότυπη εργασία ο *Hughes* μελέτησε συνολικά 70 έμβρυα και αναφαίρει ότι ο ανθρώπινος μαζικός αδένος αρχίζει ν' αναπτύσσεται όταν το έμβρυο έχει μήκος 4.5-6 χιλιοστά.

Η συσχέτιση παλαιότερων και νεότερων δημοσιευμένων στοιχείων στη διεθνή βιβλιογραφία, είναι ιδιαίτερα δύσκολη. Ο λόγος έγκειται στο ότι τα παλαιότερα



δεδομένα τα οποία αφορούν την ανάπτυξη του μαζικού αδένος, είναι βασισμένα σε μετρήσεις του μήκους των εμβρύων, ενώ τα πιο πρόσφατα δημοσιευμένα δεδομένα μελετών, βασίζονται στις εβδομάδες ενδομήτριας ανάπτυξης εμβρύου.

Παλαιότερα ορισμένες θεωρίες επιστημόνων, ανέφεραν ότι ο μαζικός αδένος είναι ένας τροποποιημένος αποκρινής, σμηγματογόνος ή εκκρινής αδένος, αλλά δεν υπήρξε ποτέ επιστημονική τεκμηρίωση των θεωριών αυτών [10].

Πίνακας 1. Στάδια Αναπτύξεως του Μαστού (O.Hövels, Redact: Wartm: Wiesbaden, 1977)

M 1	Πριν την ήβη: δεν ψηλαφάται αδένος, προβάλλει μόνο η θηλή.
M 2	Στάδιο βλαστήσεως: Ελαφρά προβολή του αδένος στην περιοχή της θηλαίας άλως. Μεγέθυνση της διαμέτρου της θηλαίας σχετικά σχετικά με το M 1.
M 3	Ο μαζικός αδένος και η άλως μεγεθύνονται περαιτέρω. Ο αδένος είναι τώρα μεγαλύτερος από τη θηλαία άλως, η οποία όμως δεν έχει δική της παρυφή.
M 4	Η άλως και η θηλή προβάλλουν διακρινόμενες σαφώς από το υπόλοιπο αδένος.
M 5	Πλήρως ανεπτυγμένος μαστός: Η θηλαία άλως δεν προβάλλει πια από την συνολική παρυφή του μαστού



ΑΝΑΠΤΥΞΗ

Ο μαστός σχηματίζεται κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη από τη μαστική γραμμή, μία πάχυνση της επιδερμίδας που αναπτύσσεται αμφοτερόπλευρα στην πρόσθια επιφάνεια του σώματος, μεταξύ των εκφύσεων των άνω και κάτω άκρων. Η πρώτη καταβολή του μαστού αναγνωρίζεται σε έμβρυα πέμπτης ή έκτης εβδομάδας κύησης [11].

Κατά τη διάρκεια της 5^{ης} έως 6^{ης} εμβρυϊκής εβδομάδας, το εξώδερμα (επιδερμίδα), παχύνεται κατά μήκος μιας γραμμής που εκτείνεται στις δυο πλευρές του σώματος από τη μασχάλη προς τις βουβωνικές χώρες και στη συνέχεια ατροφεί (τα κατώτερα 2/3), εκτός από το τμήμα της θηλής από το οποίο θα αναπτυχθεί ο μαζικός αδένας (αρχέγονη καταβολή θηλής). Τα επιθηλιακά-εξωδερμικά κύτταρα της θωρακικής πάχυνσης εκεί εισδύουν βαθειά στο υποκείμενο μεσέγγυμα και δημιουργούν τους μαζικούς αδένες. Στα ζώα σε αντίθεση με τον άνθρωπο κατά μήκος αυτής της γραμμής, δημιουργούνται πλήθος μαστών.

Κατά τον τέταρτο μήνα της ενδομήτριας ζωής, από τη βασική στοιβάδα της αρχέγονης θηλής, αναπτύσσονται προς το χόριο 15 έως 20 συμπαγείς αρχικά επιθηλιακές καταδύσεις, που μέχρι τον ένατο μήνα σχηματίζουν αυλό και εκβάλλουν σε μια εμβάθυνση της επιδερμίδας στην περιοχή της θηλής.

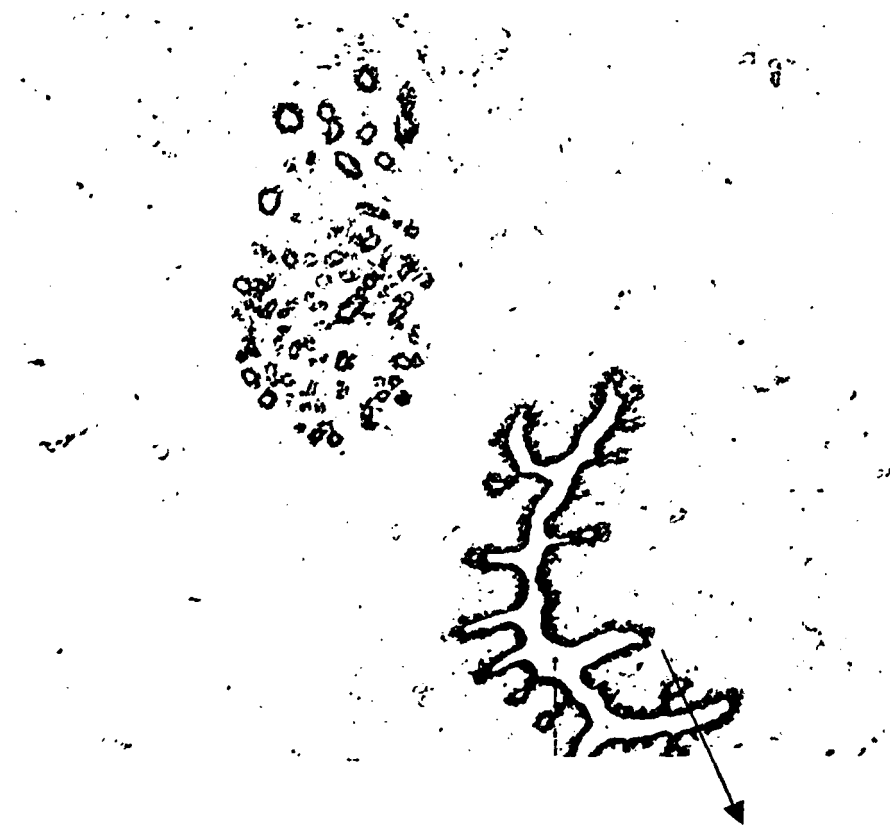
Κατά τη γέννηση του εμβρύου, η θηλή και η θηλαία άλωσ έχουν πλέον ολοκληρώσει την ανάπτυξή τους και υπάρχει ένα αρχέγονο λοβιακό και εκφορητικό σύστημα με 15 έως 20 στόμια που εκβάλλουν στην εξωτερική επιφάνεια της θηλής.

Στο πρώιμο στάδιο της ανάπτυξης η διάπλαση του μαστού είναι ακριβώς ή ίδια και στα δύο φύλα [12]. Η ανάπτυξη επηρεάζεται από πληθώρα ορμονών ινσουλίνη, προλακτίνη, αυξητική ορμόνη και τα οιστρογόνα [13]. Η επίδραση της προλακτίνης είναι τόσο είναι τόσο έντονη που ορισμένες φορές οδηγεί σε παροδική έκκριση τόσο σε αγόρια όσο και κορίτσια (πύαρ, γάλα της μάγισσας).



Ο μαστός αποτελείται από διακλαδιζόμενους πόρους και ο μεσεγγυματικό ιστός γύρω από τους πόρους αυτούς διαφοροποιείται σε συνδετικό ιστό. Κατ τη διάρκεια της ήβης στα κορίτσια και πριν από την εμμηναρχή, παρατηρείται ανάπτυξη και διόγκωση των μαστών, που οφείλεται σε υπερπλασία τόσο των πόρων όσο και του υποστρώματος που τους περιβάλλει. Οι πόροι επιμηκύνονται, ενώ από τα τελικά τυφλά άκρα τους σχηματίζονται πολλαπλά μικρά, σακκοειδή ανευρύσματα (στοιχειώδεις αδενοκυψέλες) [14,15]. Συγχρόνως παρατηρείται υπερπλασία του επιθηλίου και αθροίσεις επιθηλιακών κυττάρων που αργότερα θα σχηματίσουν αυλό (Εικόνα 1).

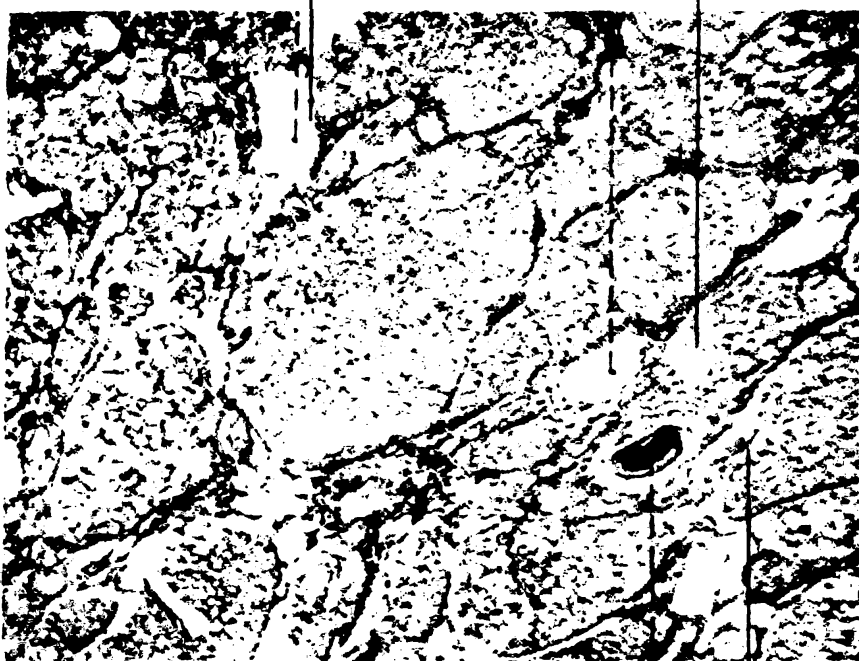
Εικόνα 1. Τμήμα μαζικού αδένος έφηβης, που αποτελείται από ένα μεγάλο απεκκριτικό πόρο και ένα άθροισμα από εκκριτικές κυψελίδες που περιβάλλονται από μία λεπτή ινώδη κάψα



Απεκκριτικός πόρος

Εικόνα 2. Σε ολοκληρωτικά ανεπτυγμένο στάδιο γαλουχίας ο μαζικός αδένας αποτελείται από 10-15 ξεχωριστούς σωληνο-κυψελιδωτούς αδένες, που τα εκκριτικά τους τμήματα διαφέρουν σημαντικά σε μέγεθος, επειδή βρίσκονται σε διάφορα στάδια λειτουργίας.

Λιπώδης ιστός *Εκκριτικός πόρος*



Αρτηρία γεμάτη με ερυθροκύτταρα

Στη γυναίκα της αναπαραγωγικής ηλικίας (Εικόνα 2), ο μαστός είναι πλέον ένας διαφοροποιημένος αδένας (σύνθετος κυψελοειδής) [16, 17], που αποτελείται από 15 έως 20 κύριους εκφορητικούς πόρους, με πολλαπλές δενδροειδείς διακλαδώσεις κατά μήκος της πορείας τους προς τη θηλή και από απειράριθμες αδενοκυψέλες που κρέμονται από τις τελικές και τυφλές απολήξεις των πόρων. Οι αδενοκυψέλες όπως διατάσσονται σε ομάδες, σχηματίζουν λόβια. Πολλά λόβια (10-100) σχηματίζουν λοβούς. Αυτοί είναι 15-20, όσοι δηλαδή και οι πόροι και διατάσσονται ακτινοειδώς γύρω από τη θηλή. Ουσιαστικά κάθε λοβός είναι ένας ξεχωριστός αδένας, με δικό του

εκφορητικό γαλακτοφόρο πόρο. Οι εκφορητικοί γαλακτοφόροι πόροι των λοβών έχουν ανεξάρτητη έξοδο ο καθένας στη θηλή του μαστού.

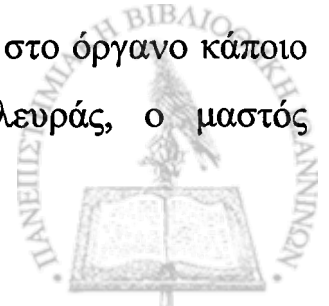
Σε όλες τις περιπτώσεις, υπάρχει υπόστρωμα ινώδους συνδετικού ιστού και λίπους, πλούσιο σε αιμοφόρα αγγεία, λεμφοφόρα αγγεία και νεύρα. Η στοιχειώδης αυτή οργάνωση επιτρέπει τη διάκριση του αδένου σε δυο κύρια μέρη, το εκκριτικό και το εκφορητικό.

Το εκκριτικό μέρος του μαστού συγκροτείται από το λόβιο με τους λεπτότατους τελικούς λοβιακούς πόρους και χαρακτηρίζεται ως τελική προλοβιακή ή απλώς λοβιακή μονάδα.

Επισημαίνεται ότι οι περισσότερες παθολογικές καταστάσεις αναπτύσσονται στη λοβιακή μονάδα, ιδιαίτερα στους τελικούς ένδο- και έξω-λοβιακούς πόρους, και μόνον ελάχιστες από αυτές όπως τα θηλώματα και η πορεκτασία, αναπτύσσονται στο σύστημα των μεγάλων εκφορητικών πόρων [18].

Το εκφορητικό μέρος του αδένου διαμορφώνεται από τους κύριους εκφορητικούς πόρους του μαζικού αδένου. Αυτοί, γνωστότεροι ως γαλακτοφόροι πόροι, αντιστοιχούν ένας σε κάθε λοβό και εκβάλλουν στην επιφάνεια της θηλής με ανεξάρτητα στόμια. Λίγο πριν την εκβολή τους, οι γαλακτοφόροι πόροι εμφανίζουν ατρακτοειδή διεύρυνση, το γαλακτοφόρο κόλπο. Είναι εντυπωσιακό ότι τα αδενικά αυτά συστατικά αποτελούν λιγότερο από το 10% του ώριμου μαστού, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό είναι συνδετικός ιστός και λίπος [19] (Εικόνα 3, 4).

Η οπίσθια επιφάνεια του μαστού είναι υποκοίλη και έρχεται σε συνάφεια με το μείζονα θωρακικό μυ και, σε μικρότερη έκταση, με τον πρόσθιο οδοντωτό. Από τους μυς αυτούς ο μαστός χωρίζεται με την εν τω βάθει ή θωρακική περιτονία, καθώς και με τη λεπτή ζώνη χαλαρού συνδετικού ιστού που, παρεμβαλλομένη μεταξύ περιτονίας και μαστού, επιτρέπει στο όργανο κάποιο βαθμό κινητικότητας [20]. Από καθαρά πρακτικής πλευράς, ο μαστός



διακρίνεται σε 4 τεταρτημόρια (άνω έσω, άνω έξω, κάτω έξω, κάτω έσω) και μια κεντρική περιοχή σε ακτίνα 1 εκ. από τη θηλαία άλω. Από τα τμήματα αυτά του μαστού, το άνω έξω τεταρτημόριο εμπεριέχει τη μεγαλύτερη ποσότητα αδενικού ιστού, γεγονός που ευθύνεται για τη συχνότερη εντόπιση του καρκίνου στη θέση αυτή.

Εικόνα 3. Φυσιολογικός μαζικός αδένας (Ατλας Ανατομίας Frank H. Netter, M.D., σελ 167)

Μείζον θωρακικός μύς



Θηλαία άλω

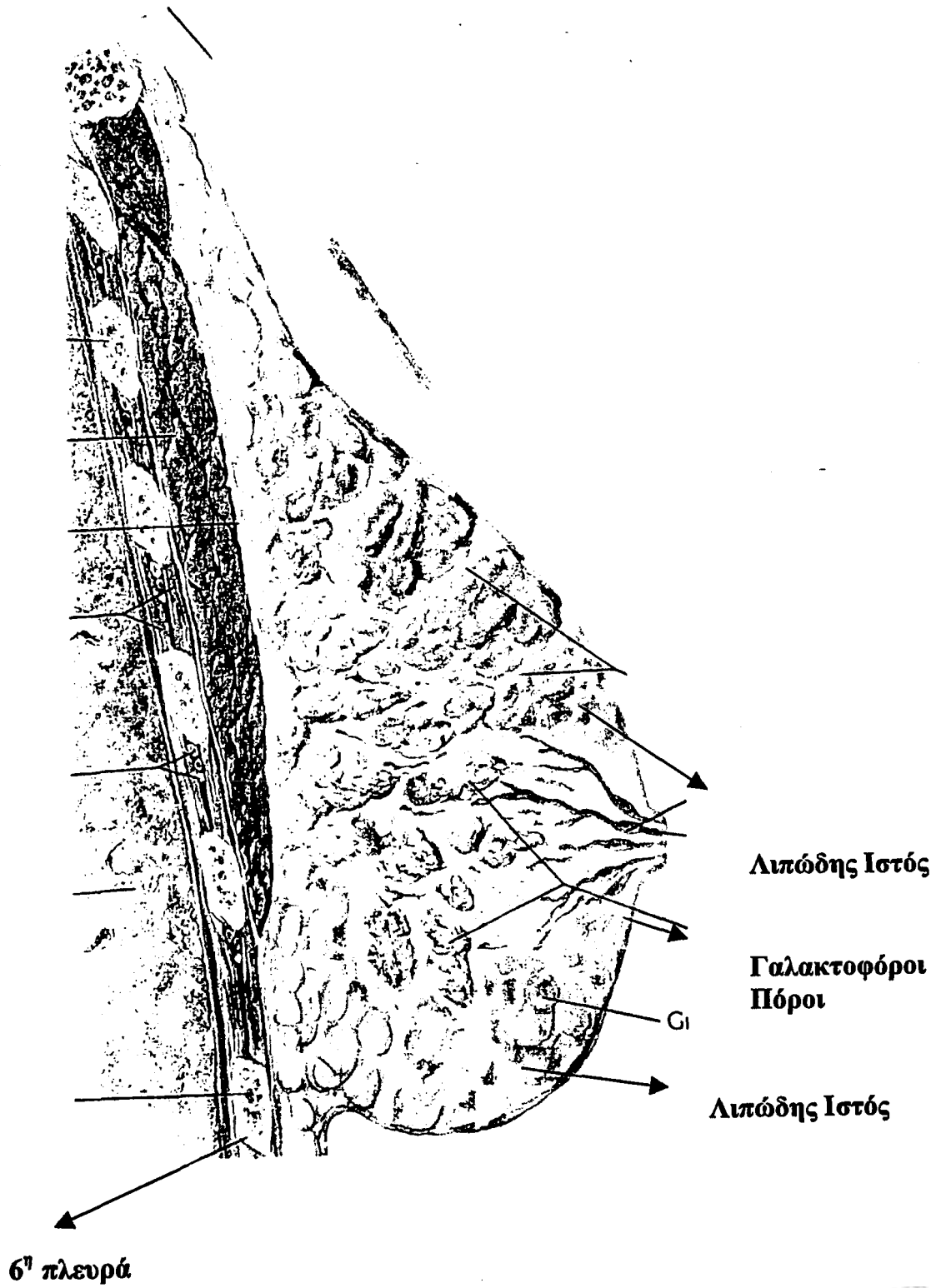
Λιπώδης ιστός

Γαλακτοφόροι πόροι -

Θηλή του μαστού



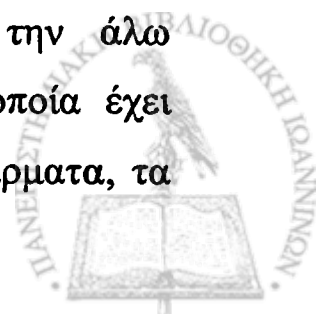
Εικόνα 4. Φυσιολογικός μαζικός αδένας (*Άτλας Ανατομίας, Frank H. Netter, M.D., σελ 167*)



ΑΝΑΤΟΜΙΑ

Ο μαστός είναι ορμονοεξάρτητος, σύνθετος, σωληνοκυψελώδης εξωκρινής αδέννας του γεννητικού συστήματος. Τοπογραφικά, στην ένηβη και άτοκο γυναίκα βρίσκεται στην υποδόρια περιτονία της πρόσθιας επιφάνειας του θώρακος, μπροστά από το μείζονα θωρακικό μυ, μεταξύ της στερνικής και της πρόσθιας μασχαλιαίας γραμμής και εκτείνεται από τη 2^η ή 3^η μέχρι και την 6^η ή 7^η πλευρά [20, 21]. Ο υπόλοιπος χώρος, μεταξύ των δύο μαστών ονομάζεται μεσομαστικός κόλπος. Το σχήμα, το μέγεθος, το βάρος και η σύσταση κάθε μαστού, εξατομικεύονται και εξαρτώνται από την τεκνοποίηση, την παχυσαρκία, την ηλικία και την περίοδο της γενετησίας ζωής της συγκεκριμένης γυναίκας. Το βάρος του κάθε μαστού κυμαίνεται από 40-200 γρ. ή και περισσότερο. Κατά την κύηση και το θηλασμό γίνεται ογκωδέστερος, ενώ μετά την εμμηνόπαυση, ο μαζικός αδέννας ατροφεί και βαθμιαία γίνεται μικρότερος. Στην άτοκη ανήλικη γυναίκα ο μαστός έχει, κατά μέσο όρο, ύψος 10-11 εκ., πλάτος 12-13 εκ. και πάχος 5-6 εκ. Κάθε μαστός έχει δύο επιφάνειες και μία περιφέρεια. Η πρόσθια επιφάνεια είναι κυρτή, καλύπτεται από δέρμα, στη μεσότητα περίπου φέρει τη θηλή και γύρω από αυτή, τη θηλαία άλω (Εικόνα 3). Η θηλή είναι καστανέρυθρο κωνοειδές έπαρμα, το μέγεθος και το σχήμα της οποίας παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία. Καλύπτεται από πολύστιβο πλακώδες κερατινοποιημένο επιθήλιο.

Στην κορυφή της θηλής παρατηρούνται ρωγμές, στις οποίες βρίσκονται 15-20 στόμια, που αποτελούν τις εκβολές των αντίστοιχων γαλακτοφόρων πόρων (Εικόνα 4). Η γύρω από τη θηλή καστανέρυθρη περιοχή του δέρματος αποτελεί την άλω, το χρώμα γίνεται μελανότερο κατά την εγκυμοσύνη και μετά το πέρας αυτής δεν επανέρχεται στο αρχικό του χρώμα. Στη θηλή και στην άλω εκβάλλουν αποκρινείς (οσμηγόνοι) αδένες. Περιμετρικά από την άλω εκβάλλουν μεγάλοι σμηγματογόνοι και ιδρωτοποιοί αδένες. Η άλως οποία έχει διάμετρο 1,5-6 εκ. και παρουσιάζει 10-15 μικρά υποστρόγγυλα επάρματα, τα



αλωαία οζίδια, που καλύπτουν τους προαναφερθέντες αλωαίους αδένες (αδένες Montgomery) (Εικόνα 5).

Η οπίσθια επιφάνεια του μαστού εφάπτεται στην περιτονία του μείζονος θωρακικού μυός (Εικόνες 3, 4).

Εικόνα 5. Αδένες Montgomery, στον υποθηλαίο ιστό, κοντά στη θηλή.



Η αγγείωση του μαστού (Εικόνα 6) γίνεται από τις εξής αρτηρίες:

- 1) έσω μαστική (κλάδος υποκλειδίου)
- 2) πλάγια θωρακική (κλάδος μασχαλιαίας)
- 3) μεσοπλεύριες (κλάδοι μασχαλιαίας)

Οι αρτηρίες αυτές εμφανίζουν αναστομώσεις και σχηματίζουν ένα επιπολής και ένα εν τω βάθει πλέγμα. Οι φλέβες ακολουθούν την πορεία των αρτηριακών πλεγμάτων και εκβάλλουν στη μασχαλιαία και στην έσω μαστική

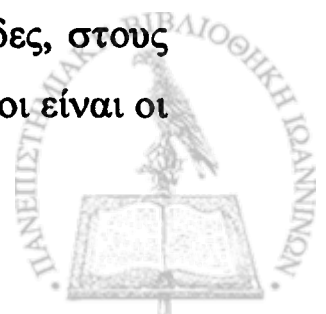


φλέβα [20, 22]. Η γνώση των διαφόρων οδών φλεβικής αποχέτευσης είναι απαραίτητη για την κατανόηση της αιματογενούς διασποράς του καρκίνου. Τα κακοήθη κύτταρα, αφού διηθήσουν τα λεπτά τοιχώματα των αιμοφόρων τριχοειδών και φλεβιδίων, εισέρχονται, μέσω της έσω μαστικής ή της πλάγιας θωρακικής φλέβας, στο σύστημα της άνω κοίλης. Από αυτή, τα κύτταρα φέρονται στη δεξιά καρδιά, την πνευμονική αρτηρία και το πνευμονικό δίκτυο των τριχοειδών (μικρή κυκλοφορία), με πιθανότητα ανάπτυξης στους πνεύμονες και τον υπεζοκότα. Πολλά κακοήθη κύτταρα συνεχίζουν την πορεία τους και, μέσω των πνευμονικών φλεβών, της αριστερής καρδιάς και της αορτής διασπείρονται στα διάφορα όργανα του σώματος και κυρίως στο ήπαρ και τον εγκέφαλο.

Άλλα κακοήθη κύτταρα, που εισέρχονται στην οδό αποχέτευσης αίματος των οπίσθιων μεσοπλευρίων φλεβών, έχουν πρόσθετες μεταστατικές δυνατότητες. Τα κύτταρα αυτά, εκτός του ότι προσεγγίζουν τα τριχοειδή της κυκλοφορίας μέσω του συστήματος των άζυγων φλεβών, έχουν την ευκαιρία να εμφυτεύονται στα σώματα των σπονδύλων και τα οστά της πυέλου, μετά από μια παλίνδρομη ροή στα αναστομωτικά τους πλέγματα των σπονδυλικών φλεβών. Η εξωλεμφαδενική αυτή διασπορά του καρκίνου είναι στοιχείο κακής πρόγνωσης.

Τα λεμφαγγεία του μαστού (Εικόνα 7) αρχίζουν από ένα λεπτό άθροισμα λεμφικών χώρων που φέρονται επιμήκως κάτω από τα επιθηλιακά κύτταρα των γαλακτοφόρων πόρων. Έτσι δημιουργούνται τα τριχοειδή των λεμφαγγείων, δηλαδή τα λεμφαγγεία των γαλακτοφόρων πόρων, τα οποία τελικά εκβάλλουν στους λεμφαδένες της μασχάλης και της έσω μαστική αρτηρίας.

Οι λεμφαδένες του μαστού τοπογραφικά χωρίζονται σε δύο ομάδες, στους μασχالياίους και στους λεμφαδένες της έσω μαστικής. Οι μασχالياίοι είναι οι



σπουδαιότεροι και χωρίζονται σε πέντε υποομάδες: έξω μαστικοί, υποπλάτιοι, κατώτεροι και κεντρικοί μασχαλιαίοι, και υποκλείδιοι λεμφαδένες [20].

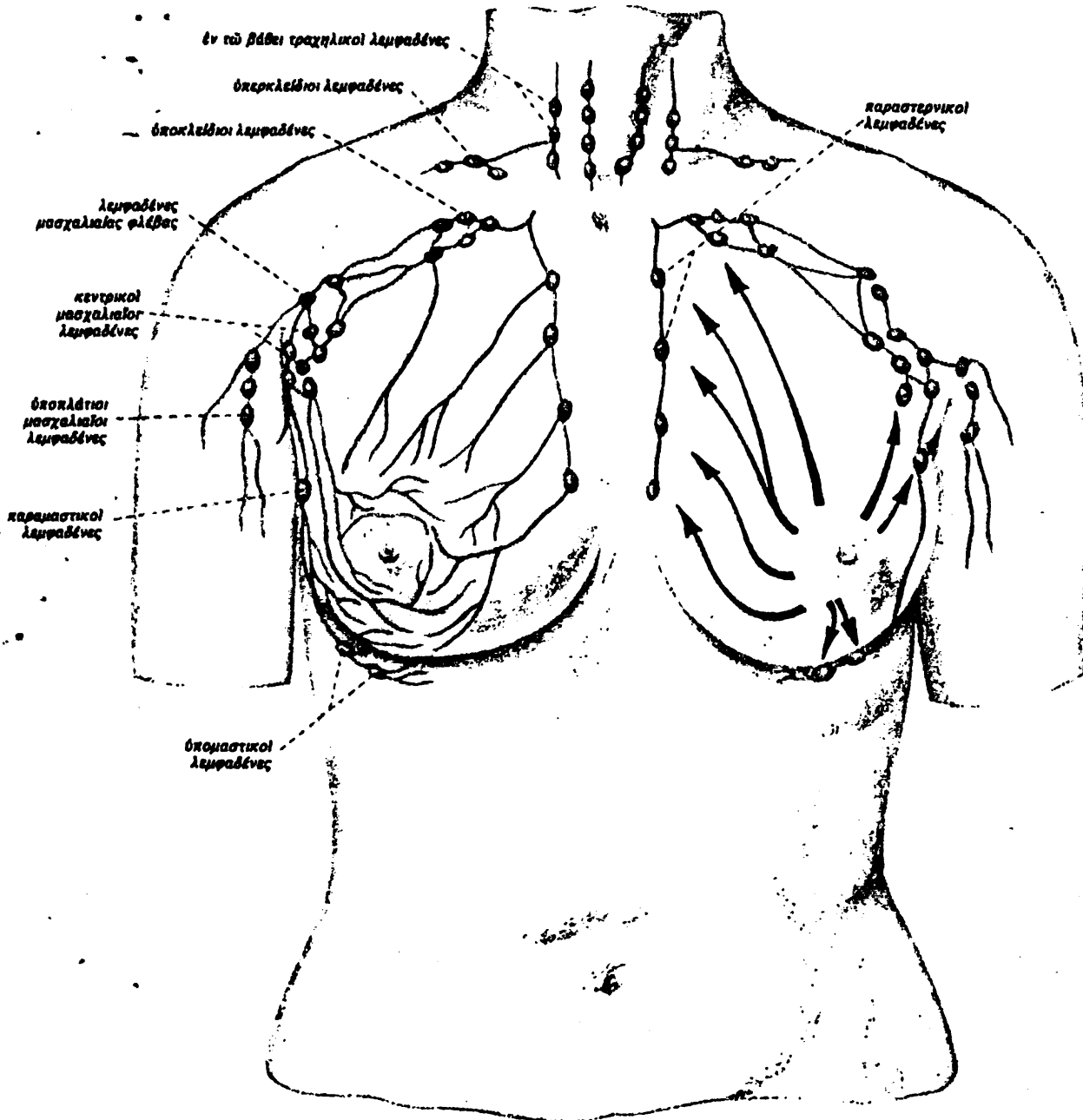
Τα πιο σημαντικά νεύρα είναι το μακρό θωρακικό νεύρο του *Bell* και το θωρακοραχιαίο νεύρο. Το δέρμα του μαστού δέχεται νεύρωση από τα υπερκλείδια νεύρα και από πρόσθιους και πλάγιους κλάδους των μεσοπλευρίων νεύρων (4^ο-6^ο μεσοπλεύριο νεύρο).

Εικόνα 6. Αγγεία μαζικού αδένος (*Atlante di Anatomia Umana, Άτλας Ανατομίας, Frank H. Netter, M.D., Ciba-Geigy Edizioni, σελ 16*)



Εικόνα 7. Οδοί αποχτεύσεως της λέμφου από το γυναικείο μαστό. Θέση των επιχώριων λεμφαδένων και οι συνδέσεις τους, (Bastler 1978).

Από Benninghoff/Goerttler: *Lehrbuch der Anatomie des Menschen*, Bd. 2, 12. Aufl. (Hgg. H. Ferner und J. Staubesand). Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore 1979). (Sobotta, *Άτλας Ανατομικής του ανθρώπου*, τόμος 2ος, 2η Ελληνική Έκδοση σελ 16)



ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Το γυναικείο γεννητικό σύστημα αποτελείται από τα πρωτεύοντα, τα δευτερεύοντα και τα παραπληρωματικά όργανα. Στα πρωτεύοντα όργανα ανήκουν οι ωοθήκες, στα δευτερεύοντα οι σάλπιγγες, η μήτρα και ο κόλπος και τέλος στα παραπληρωματικά οι μαστοί. Η ανάπτυξη και η λειτουργία του μαστού εξαρτάται αποκλειστικά από την επίδραση πολλαπλών ορμονικών παραγόντων για τους οποίους αποτελεί έναν από τους σπουδαιότερους αδένες-στόχους [23].

Οι μαστοί στην νεαρή γυναίκα έχουν συνήθως πυκνό αδενικό ιστό και σχετικά λίγο κυτταρολιπώδες υπόστρωμα (Εικόνα 8). Όσο προχωρεί όμως η ηλικία, η σχέση αυτή μεταβάλλεται. Ο αδενικός ιστός λιγοστεύει και αυξάνει αντίθετα ο χαλαρός κυτταρολιπώδης ιστός. Στην ενήλικη γυναίκα, οι μαζικοί αδένες αποτελούνται από γαλακτοφόρους πόρους και σωληνοκυψελιδωτούς εκκριτικούς αδένες. Κοντά στο στόμιο της θηλής οι γαλακτοφόροι πόροι διαστέλλονται και σχηματίζουν τις λεγόμενες ληκύθους ή γαλακτοφόρα κολποειδή. Οι γαλακτοφόροι πόροι επενδύονται κοντά στα εξωτερικά τους στόμια με πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο. Βαθύτερα στον αδένα το επιθήλιο γίνεται διαδοχικά λεπτότερο με λιγότερες κυτταρικές στιβάδες και εν τέλει αποτελείται από δύο στιβάδες κυβοειδών ή χαμηλών κυλινδρικών κυττάρων. Κοντά στα εκκριτικά τμήματα του αδένα (κυψελιδικοί πόροι και κυψελίδες) το επιθήλιο γίνεται απλό κυβικό και στηρίζεται πάνω στην βασική μεμβράνη και σε μία ασυνεχή στιβάδα από προσεκβολές μυοεπιθηλιακών κυττάρων.

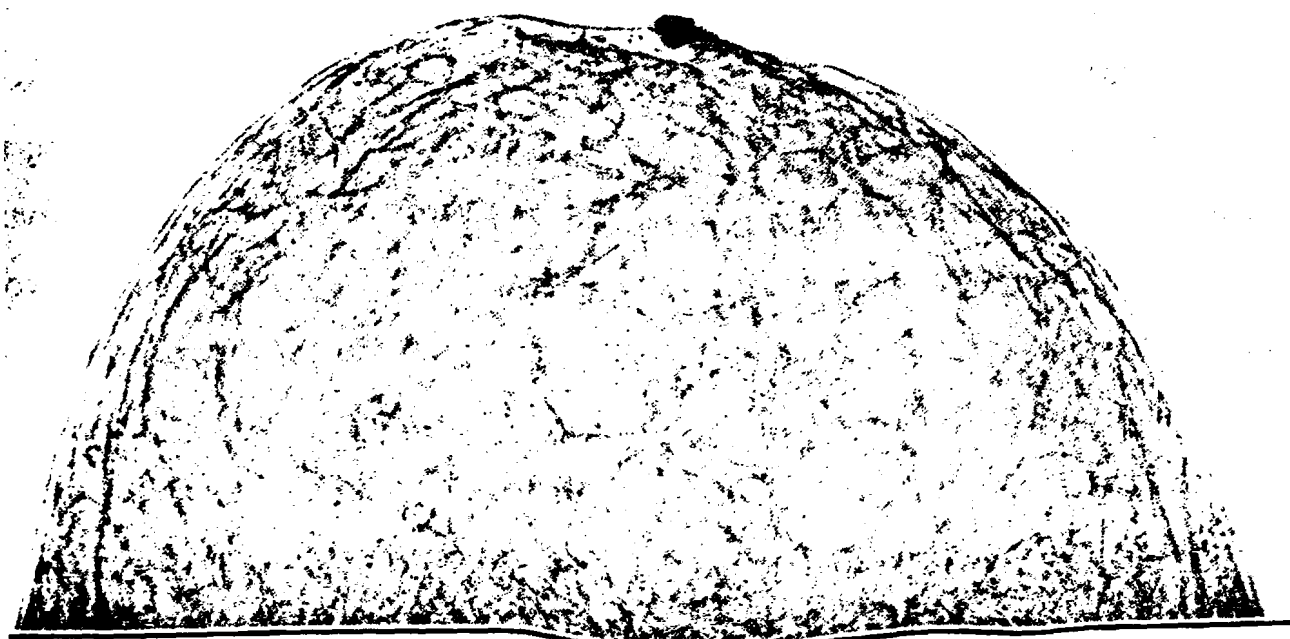


Εικόνα 8. Ξηροακτινογραφία του γυναικείου μαστού

(Πορεία των ακτίνων από επάνω προς τα κάτω): Διαγράφονται το λίπος (λευκό), ο συνδετικός ιστός και τα αγγεία (σκούρα).

Λήψη: Καθηγ. Dr. G. Kaufmann, κέντρο Κλινικής Ακτινολογίας του Πανεπιστημίου του Freiberg.

(Sobotta, Άτλας Ανατομικής του ανθρώπου, τόμος 2ος, 2η Ελληνική Έκδοση σελ.9)



Μεταβολές του μαστού κατά τη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου.

Στην διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου παρατηρούνται μικρές αλλοιώσεις στην ιστολογική δομή αυτών των αδένων, όπως γύρω στο χρόνο της ωορρηξίας. Στο φυσιολογικό προεμμηνοπαυσιακό μαστό, τα οιστρογόνα αλληλεπιδρούν με τους αντίστοιχους υποδοχείς κατά τη διάρκεια της θυλακικής φάσης, επάγοντας τη γονιδιακή έκφραση και τον πολλαπλασιασμό. Στην παραγωγική φάση, η προγεστερόνη αλληλεπιδρά με τους προγεστερονικούς υποδοχείς ενισχύοντας το αυξητικό αποτέλεσμα και τη δράση στα αδένια. Σε αυτή τη φάση η λοβιακή μονάδα αποτελείται από μικρότατες αδενοκυψέλες, με στενούς αυλούς και δύο στοίχους χαμηλών κυβοειδών κυττάρων, χωρίς εκκρίσεις και χωρίς εμφανή μιτωτική δραστηριότητα (0-0.5 μιτώσεις ανά λόβιο) [24-26]. Το διάμεσο υπόστρωμα του ινώδους συνδετικού ιστού είναι πυκνό και περιέχει μικρό αριθμό λεμφοκυττάρων. Ελάχιστα διαυγή κύτταρα αναγνωρίζονται στη βασική στιβάδα του επιθηλίου.

Στην εκκριτική φάση του καταμήνιου κύκλου η λοβιακή μονάδα εμφανίζει αύξηση του μεγέθους, λόγω αύξησης των αδενοκυψελών. Τα επιθηλιακά κύτταρα είναι υψηλότερα και αναγνωρίζονται ευκολότερα μιτώσεις (1.0-1.3 μιτώσεις ανά λόβιο) [25, 26]. Χαρακτηριστική είναι η έντονη παρουσία των διαυγών κυττάρων της βασικής στιβάδας [27, 24]. Ο διάμεσος ιστός είναι χαλαρός, έντονα οίδηματώδης και εμφανίζει μικρή αύξηση των λεμφοκυττάρων. Με την παλινδρόμηση του ωχρού σωματίου και την έναρξη της εμμήνου ρύσεως, επέρχεται προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος στο μαζικό ιστό. Οι αδενοκυψέλες εξακολουθούν να περιέχουν εκκρίσεις και τα επιθηλιακά κύτταρα λόγω της αποκρινούς έκκρισης παρουσιάζονται εξαντλημένα και με εκφυλιστικές αλλοιώσεις. Μιτώσεις δεν παρατηρούνται. Το υπόστρωμα εμφανίζεται συμπαγές και με έντονη λεμφοκυτταρική διήθηση.



Έτσι, σε κάθε κύκλο παρατηρείται μία διαδοχή γεγονότων που οδηγούν σε αύξηση και διαφοροποίηση του μαστικού επιθηλίου, την οποία ακολουθεί παλινδρόμηση. Η έλλειψη στεροειδών ορμονών του φύλου στην εμμηνόπαυση προκαλεί λιπώδη διήθηση του μαστού.

Επίσης μεγαλύτερη συγκέντρωση λιπώδους ιστού και μεγαλύτερη υδάτωσ συνδετικού ιστού στην προεμμηνορρυσιακή φάση, έχει σαν αποτέλεσμα τη μεγέθυνση του μαστού. Οι μεταβολές του μαστού στη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου περιγράφονται και στα διάφορα συστατικά της εξώτατης αφοριστικής ζώνης των κολλαγόνων ινών και ινοβλαστών. Στο μέσο του κύκλου (όγδοη έως εικοστή δεύτερη ημέρα) διακρίνεται για τη σημαντική μείωση της λαμινίνης, της ινονεκτίνης, της θειικής πρωτεογλυκάνης και του κολλαγόνου IV και V, ενώ τα άλλα συστατικά κολλαγόνου τύπου I, III, VI και VI παραμένουν αναλλοίωτα [28]. Οι παρατηρήσεις αυτές υποδηλώνουν ότι πληθώρα εξωκυττάρων ουσιών μετέχουν στη ρύθμιση της ορμονικής λειτουργίας του μαστού. Ακόμα η διαίρεση των μαζικών αδενών σε λόβι γίνεται εντονότερη. Η μαστική θηλή εξωτερικά καλύπτεται από κερατινοποιημένο πολύστιβο-πλακώδες επιθήλιο που είναι συνέχεια του επιθηλίου του γειτονικού δέρματος. Το επιθήλιο της μαστικής θηλής στηρίζεται σε μια στιβάδα συνδετικού ιστού πλούσιου σε λείες μυικές ίνες. Αυτές οι ίνες είναι διατεταγμένες κυκλικά γύρω από τους γαλακτοφόρους πόρους και είναι παράλληλες προς αυτούς, όπου συναντούν τη θηλή και ανοίγουν χωριστά στην κορυφή της. Τα μορφώματα αυτά, αν και ουσιαστικά αποτελούν τμήματα της υπόλοιπης επιδερμίδας, διακρίνονται από την αύξηση της μελανίνης και διαυγών κυττάρων στη βασική στιβάδα. Τα κύτταρα αυτά φαίνεται να αποτελούν προδρομικές μορφές των κυττάρων Paget.

Οι ορμονικές επιδράσεις προϋποθέτουν την ύπαρξη ειδικών υποδοχέων που βρίσκονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και τον πυρήνα των κυττάρων του αδενικού επιθηλίου, του διαμέσου συνδετικού και του λιπώδους ιστού.



Έχουν απομονωθεί υποδοχείς για την προλακτίνη, τα οιστρογόνα, την προγεστερόνη, την αυξητική ορμόνη, τις θυρεοειδικές ορμόνες, την ινσουλίνη και τα γλυκοκορτικοειδή (Πίνακας 2). Από όλες αυτές τις ορμόνες φαίνεται ότι κυρίαρχη επίδραση στα επιθηλιακά στοιχεία ασκεί η προλακτίνη, αλλά και αυτή εκδηλώνεται σε συνεργασία με τα οιστρογόνα και την προγεστερόνη. Η προλακτίνη με τη συνδυασμένη δράση οιστρογόνων και προγεστερόνης, προκαλεί την έκκριση γάλακτος, ελέγχοντας και τη σύνθεση των πρωτεϊνών του γάλακτος, καζεΐνης και α-λακταλβουμίνης. Η προλακτίνη, αφού συνδεθεί με τους υποδοχείς, μεταφέρεται μέσω αγνώστου μηχανισμού στους πόρους, για αυτό βρίσκεται σε πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις στο γάλα και στο υγρό των πόρων και έτσι περιλαμβάνεται στους προδιαθεσικούς παράγοντες για την ανάπτυξη καρκίνου του μαστού. Με την παρουσία προλακτίνης, και λιγότερο της αυξητικής ορμόνης, τα οιστρογόνα συντελούν στην επιμήκυνση και πάχυνση των γαλακτοφόρων πόρων. Ενώ, η προγεστερόνη με τη συνεργασία των οιστρογόνων και των υποφυσιακών ορμονών προωθεί την ανάπτυξη των κυψελών στο τελικό άκρο των κυψελιδικών πόρων. Από τις άλλες ορμόνες, η αυξητική και η ινσουλίνη, δρουν συνεργικά με την προλακτίνη, ενώ τα γλυκοκορτικοειδή και οι θυρεοειδικές ορμόνες φαίνεται ότι είναι απαραίτητες για τις περισσότερες φάσεις ανάπτυξης και λειτουργίας του μαστού.

Ορισμένοι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι οι θυρεοειδικές ορμόνες σχετίζονται με την παθογένεια ασθενειών του αδένου, καθ' όσον η συχνότητα θυρεοειδοπάθειας έχει βρεθεί σημαντικά αυξημένη σε καλοήθεις μαστοπάθειες και νεοπλάσματα του μαστού.

Η βιολογική δράση των ορμονών στο μαστό επηρεάζεται από πολυάριθμους παράγοντες, όπως οι μεταβολές της ορμονοέκκρισης στον εμμηνορρυσιακό κύκλο, η αυξομείωση των μαστοτροπών ορμονών και η ποικίλλουσα δεκτικότητα που εξαρτάται από τις μεταβολές στη διαθεσιμότητα των υποδοχέων στις διάφορες ορμόνες.



Όπως φαίνεται η λειτουργική και μορφολογική κατάσταση του μαστού καθορίζεται από την ισορροπία των πολλαπλών ορμονικών επιδράσεων που δέχεται ο αδένας. Λόγω αυτής της πλήρους εξάρτησης του μαστού από τις μαστοτρόπες ορμόνες, υποστηρίζεται ότι σε κάθε ενδοκρινολογική πάθηση πρέπει να διερευνάται ο μαστός, καθώς επίσης σε κάθε πάθηση του μαστού να ερευνηθεί η κατάσταση του ενδοκρινικού συστήματος.

Οι μορφολογικές μεταβολές του μαστού συνοδεύονται από υποκειμενικά ενοχλήματα και αλλαγές του μεγέθους που οφείλονται στις μεταβολές του επιθηλίου και του οιδήματος του συνδετικού υποστρώματος. Στη δέκατη έκτη ημέρα του καταμήνιου κύκλου ο μαστός βαθμιαία αυξάνεται και ολοκληρώνεται πριν την έμμηνου ρύση που υποχωρεί αμέσως μετά από αυτή [29]. Οι πρώτες δέκα ημέρες είναι η κατάλληλη χρονική περίοδος για τη κλινική εξέταση του μαστού.

Πίνακας 2. Κυριότερες ορμονικές επιδράσεις στο μαστικό αδένιο.

Ορμόνες	Αποτελέσματα
Οιστρογόνα	<ul style="list-style-type: none"> ● Απαραίτητα για την ανάπτυξη των πόρων κατά τη εφηβεία ● Απαραίτητα για την λοβιοκυψελική ανάπτυξη κατά τη κύηση ● Η ύπαρξή τους δεν είναι αναγκαία στη γαλουχία ● Απαραίτητα για την πρόιμη επαγωγή των υποδοχέων προγεστερόνης
Προγεστερόνη	<ul style="list-style-type: none"> ● Απαραίτητα για την λοβιοκυψελική διαφοροποίηση και ανάπτυξη ● Η ύπαρξή τους δεν είναι απαραίτητη στην ανάπτυξη των πόρων ● Πιθανά ασκούν μιτογόνο δράση στο φυσιολογικό μαστικό αδένιο



	Αποτελέσματα
Τεστοστερόνη	<ul style="list-style-type: none"> ● Αναχαιτίζει την οιστρογονική δράση, καταστέλλει τους οιστρογονικούς και προγεστερονικούς υποδοχείς
Γλυκοκορτικοειδή	<ul style="list-style-type: none"> ● Απαραίτητα για τη μέγιστη ανάπτυξη των πόρων ● Αυξάνουν (όχι ουσιαστικά) τη λοβιοκυψελιδική ανάπτυξη κατά την κύηση
Ινσουλίνη	<ul style="list-style-type: none"> ● Αυξάνει την πρωτεϊνική σύνθεση των επιθηλιακών κυττάρων ● Αυξάνει την ανάπτυξη των πόρων, κυψελίδων

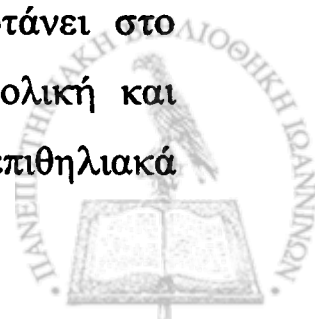
Μεταβολές του μαστού κατά τη διάρκεια της κύησης και γαλουχίας.

Κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης το μέγεθος της λοβιακής μονάδας παραμένει σταθερό, εμφανίζονται κενοτόπια στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων και ελάχιστες ευκαιριακές μιτώσεις [30].

Στο μέσο της κύησης κυριαρχεί η υπερπλασία της λοβιακής μονάδας, με αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των αδενοκυψελών, πολλές είναι διατεταμένες και περιέχουν εκκρίσεις. Τα κενοτόπια είναι περισσότερο έκδηλα και διαπιστώνεται άθροιση του εκκρίματος στο ελεύθερο άκρο των επιθηλιακών κυττάρων. Τα μυοεπιθηλιακά εμφανίζουν μικρή αύξηση του μεγέθους.

Στο τελευταίο τρίμηνο παρατηρείται εξάλειψη του διάμεσου υποστρώματος και η εκκριτική δραστηριότητα καθώς και η αύξηση του αριθμού των λοβίων είναι αξιοσημείωτη.

Στην περίοδο της γαλουχίας, η διάταξη των αδενοκυψελών φτάνει στο έπακρο, ενώ η εξάλειψη του διάμεσου υποστρώματος είναι καθολική και πλήρης. Μιτώσεις αναγνωρίζονται τόσο σε επιθηλιακά και μυοεπιθηλιακά



κύτταρα, αρκετά επιθηλιακά κύτταρα εμφανίζουν διπυρήνωση. Οι μεταβολές δεν είναι ομοιόμορφες στις λοβιακές μονάδες, άλλες αδενοκυψέλες παρουσιάζουν αποπλατυσμένο επιθήλιο με ικανή διάταση και μεγάλο ποσοστό εκκρίσεων ενώ άλλες εμφανίζουν υψηλό κυλινδρικό επιθήλιο, μικρή διάταση και ελάχιστες εκκρίσεις.

Το μέγεθος του μαστού αυξάνει προοδευτικά κατά τη διάρκεια της κύησης φτάνοντας στο διπλάσιο ή τριπλάσιο του αρχικού κατά τη γαλουχία [31].

Υπόστροφες μεταβολές του μαστού.

Μετά το πέρας της γαλουχίας ο μαστός επανέρχεται στην κατάσταση της λειτουργικής ηρεμίας σε διάστημα τριών μηνών, αν και αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι κάποια λόβια διατηρούν τη λειτουργική δραστηριότητα για αρκετά χρόνια [32, 33]. Χωρίς εγκυμοσύνη μεμονωμένα λόβια παρουσιάζουν εκκριτική δραστηριότητα σε φυσιολογικούς μαστούς [30, 34-36]. Το φαινόμενο αυτό σχετίζεται με τη λήψη ορμονικών σκευασμάτων ή πρωτοπαθή υπερπρολακτιναιμία.

Κατά την εμμηνόπαυση παρατηρείται συρρίκνωση των αδενοκυψελών και ατροφία της λοβιακής μονάδας, λόγω απώλειας των επιθηλιακών και των διαυγών κυττάρων και υπέρμετρης αύξησης του διάμεσου συνδετικού ιστού, με ή χωρίς υαλοειδή εκφύλιση. Μιτώσεις δεν αναγνωρίζονται δημιουργούνται μικροκύστες, καθώς και αύξηση του ελαστικού ιστού γύρω από τα τοιχώματα [25, 26]. Οι υπόστροφες αλλοιώσεις δεν παρατηρούνται ομοιόμορφα στον μαζικό αδένα και δημιουργούν διάφορες αναλογίες επιθηλιακού στοιχείου, ινώδους συνδετικού ιστού και λίπους που έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία ψηλαφητών οζιδίων. Κατά αυτό τον τρόπο καταστάσεις του μαστού που αναφέρονται ως παθολογικές θα μπορούσαν να εντάσσονται στο πλαίσιο των φυσιολογικών αλλαγών [32].



Η ελάττωση του επιθηλιακού στοιχείου είναι προοδευτική και εξελίσσεται από την ηλικία των τριάντα ετών έως των εξήντα ετών [37, 38].

Μαστός του άνδρα

Στον άνδρα εμφανίζεται το σύστημα των πόρων του μαστού δηλαδή το εκφορητικό μέρος αλλά δεν αναπτύσσονται ποτέ οι αδενοκυψέλες ή λόβια, δηλαδή στον άνδρα δεν είναι ανεπτυγμένο το εκκριτικό μέρος του μαζικού αδένου. Η θηλή είναι μικρή, ενώ η θηλαία άλωσ εμφανίζει καλή, σχετικά ανάπτυξη. Αρκετά συχνά ο μαστός του άντρα αναπτύσσει προσωρινή διόγκωση στη διάρκεια της εφηβείας.

Γυναικομαστία

Η γυναικομαστία είναι αποτέλεσμα υψηλών τιμών οιστρογόνων που μπορεί να οφείλονται σε κίρρωση του ήπατος οπότε τα οιστρογόνα δε μεταβολίζονται, σε θεραπεία για καρκίνο του προστάτη, σε νεοπλάσματα των όρχεων, των επινεφριδίων και σε σύνδρομο Klinefelter. Είναι δυνατό να οφείλεται επίσης σε φάρμακα όπως η δακτυλίτιδα και η χλωροπρομαζίνη. Γυναικομαστία παρουσιάζουν επίσης εργάτες βιομηχανιών παραγωγής οιστρογόνων. Η γυναικομαστία είναι στα 75% των περιπτώσεων ετερόπλευρη και οφείλεται σε υπερτροφία του μαζικού αδένου.

Καρκινώματα

Καρκινώματα του μαστού στον άντρα είναι σπάνια. Αναπτύσσονται συνήθως σε ηλικιωμένους είναι συνήθως πορογενή, αλλά έχουν αναφερθεί λοβιακά [38a]. Έχουν χειρότερη πρόγνωση από τα αντίστοιχα των γυναικών.



ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Ο μαστός με όλη την πολυπλοκότητα, είναι κατά βάση ένας διαφοροποιημένος ιδρωτοποιός αδένας.

α) Η λοβιακή μονάδα αποτελείται από τη βασική μεμβράνη και δύο κυρίως τύπους διαφοροποιημένων κυττάρων: τα *επιθηλιακά κύτταρα*, που καταλαμβάνουν το εσωτερικό των αδενοκυψελών και του αυλού των τελικών πόρων, και τα *μυοεπιθηλιακά*, που διατάσσονται μεταξύ της βασικής μεμβράνης του επιθηλίου. Τα επιθηλιακά κύτταρα είναι εμπλουτισμένα με υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης και η προσδοκόμενη λειτουργία τους είναι εκκριτική. Τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα περιβάλλουν τις αδενοκυψέλες και, κυρίως, τους τελικούς λοβιακούς πόρους. Χάρη στις συσταλτικές ιδιότητες των μυονηματίων τους επιτυγχάνεται η έξοδος του εκκρίματος από τα επιθηλιακά κύτταρα και η προώθησή του στο σύστημα των εκφορητικών πόρων. Επισημαίνεται η παρουσία μικρών σφαιροειδών κυττάρων, τα οποία φαίνεται να αντιπροσωπεύουν πρόδρομες μορφές των μυοεπιθηλιακών κυττάρων.

β) Το υπόστρωμα του αδένος είναι βλεννώδους σύστασης, με ελάχιστες ελαστικές ίνες και μεγάλη ευαισθησία στις ορμόνες, ενώ γύρω από τους μεγάλους εκφορητικούς πόρους εμφανίζεται λιγότερο διαφοροποιημένο, με επικράτηση του πυκνού ινώδους συνδετικού ιστού, ελαστικών ινών και της εξωκυττάριας πρωτεΐνης τενασκίνης. Το υπόστρωμα συχνά περιέχει λεμφοκύτταρα και λιγότερο συχνά ιστιοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και σιτευτικά κύτταρα. Τα λεμφοκύτταρα έχουν την τάση να επεκτείνονται προς το επιθήλιο.

γ) Ενδιαφέρον παρουσιάζει η λεπτή κατασκευή της θηλής και της θηλαίας άλω. Τα μορφώματα αυτά ουσιαστικά αποτελούν τμήματα της υπόλοιπης επιδερμίδας, διακρίνονται από αυτή για την εντυπωσιακή αύξηση της



μελανίνης και την ευκαιριακή παρουσία διαυγών κυττάρων στη βασική τοι στιβάδα. Η θηλαία άλλως περιέχει και αυτή πολυάριθμους σμηγματογόνοι αδένες, τους αλωαίους ή αδένες του *Montgomery*, που εκβάλλουν απευθείας, από κοινού με τους γαλακτοφόρους πόρους στην επιφάνεια του δέρματος.

Σε κατάσταση λειτουργικής ηρεμίας τα επιθηλιακά κύτταρα είναι κυβοειδή ή χαμηλά κυλινδρικά με ωοειδείς πυρήνες και σπάνιες μιτώσεις. Υπάρχει μικρή υπεροχή του δείκτη απόπτωσης ($\Delta A=0.21$) έναντι του δείκτη μίτωσης ($\Delta M=0.15$), που οδηγεί σε βαθμιαία υπόστροφη μεταβολή του επιθηλίου ($\Delta A/\Delta M=1.33$) [37]. Τα κύτταρα αναγνωρίζονται ως επιθηλιακά μ μονοκλωνικά αντισώματα που στρέφονται κατά της κερατίνης 7 και 19 [38] του αντιγόνου EMA των επιθηλιακών μεμβρανών [39] και των πρωτεϊνών του γάλακτος α -λακταλβουμίνης και καζεΐνης [32]. Τα επιθηλιακά κύτταρα είναι επίσης εμπλουτισμένα με υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης και προσδοκόμενη λειτουργία είναι εκκριτική.

Η ανίχνευση των μυοεπιθηλιακών κυττάρων βασίζεται στους ανοσοϊστοχημικούς δείκτες ακτίνη, μυοσίνη [32], κερατίνη 14 και τη πρωτεΐνη S100 [40-42], p63 [43], CD10 [44].

Η βασική μεμβράνη είναι λεπτή και επιδεικνύεται με τις συμβατικές χρώσεις PAS(Periodic acid-Schiff reaction) και των δικτυωτών ινών. Η ανοσοϊστοχημική εντόπιση επιτυγχάνεται με αντισώματα κατά της λαμινίνης και του κολλαγόνου τύπου IV [45].

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΑΖΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ

Στη μελέτη με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τα επιθηλιακά κύτταρα έχουν ομαλή ή ελαφρά αναδιπλωμένη κυτταρική μεμβράνη άφθονα δεσμοσωμάτια στα μεσοκυττάρια διαστήματα και σποραδικές μικρολαχνώδεις προσεκβολές προς τον αυλό [46-49].



Οι πυρήνες είναι ομαλοί με διπλή πυρηνική μεμβράνη, ομοιογενή κατανομή της χρωματίνης και μεγάλο, ευδιάκριτο πυρήνιο.

Τα μιτοχόνδρια είναι μέτρια σε αριθμό σχήματος ωοειδούς ή επιμήκους. Η συσκευή Golgi είναι μικρή σε μέγεθος και δυσδιάκριτη. Στο πρωτόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων, ανευρίσκονται ελεύθερα ριβοσωμάτια ομοιόμορφα κατανεμημένα, αλλά τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο δεν παρατηρείται σχεδόν ποτέ σε μη λειτουργικό μαστό. Ευκαιριακά αναγνωρίζονται εκκριτικά κοκκία, διαφόρου σχήματος και ηλεκτρονικής πυκνότητας, ενώ με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους ανιχνεύονται μικρός αριθμός ενδοκρινικών κυττάρων [50, 51].

Τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα φέρουν ημισεληνοειδείς πυρήνες με αναδιπλωμένη την πρωτοπλασματική μεμβράνη και παρουσιάζουν δεσμοσωμάτια που κατευθύνονται προς τη βασικά μεμβράνη [51, 31].

Το πρωτόπλασμά τους είναι διαυγές και φέρει παράλληλα διατασσόμενα προς τον πυρήνα ινίδια πάχους 50-70Å. Αυτά ομοιάζουν με τα ινίδια των λείων μυικών ινών και σχηματίζουν κατά τόπους σκιερά (dense, πυκνά) σωματίδια.

Η βασική μεμβράνη των πόρων θεωρείται σαν ιδιαίτερη ανατομική και λειτουργική οντότητα και χαρακτηρίζεται με τον όρο επιθηλιοστρωματική σύζευξη (epithelial-stromal junction) [52-55].

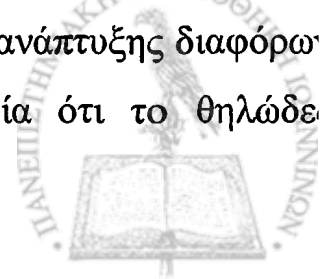
Η δομή της είναι ίδια με επιθηλιακές βασικές μεμβράνες άλλων οργάνων και όμοια σε όλες τις διακλαδώσεις του αδενικού δένδρου και είναι στιβαδωτή. Η εσωτερική στοιβάδα αποτελείται από τις πρωτοπλασματικές μεμβράνες των επιθηλιακών και μυοεπιθηλιακών κυττάρων μαζί με τα μεσοκυττάρια διαστήματα. Το πέταλο αυτό αποτελεί τον επόμενο στοιχείο της βασικής μεμβράνης και έχει την ίδια σκιερότητα με τα λεπτοινιδώδη στοιχεία του διαυγούς πετάλου. Το πάχος του είναι μάλλον σταθερό και κυμαίνεται από 400-800 Å, όπως στις βασικές μεμβράνες των περισσότερων επιθηλίων. Έξω από το βασικό πέταλο υπάρχει η στοιβάδα των συνδετικών ινών, πάχους 3-9μ., η οποία περιλαμβάνει και ελαστικές ίνες.



Εξωτερικά ανευρίσκονται οι συνοριακοί ινοβλάστες (delimiting fibroblasts) που σχηματίζουν ασυνεχή στοιβάδα. Αιμοφόρα αγγεία και νευρικές απολήξεις δεν υπάρχουν στη βασική μεμβράνη, εκτός από τριχοειδή αγγεία που βρίσκονται πολύ κοντά στη ζώνη των ινοβλαστών.

ΔΙΑΜΑΡΤΙΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΠΛΑΣΗΣ

Ο αριστερός μαστός είναι ελαφρά μεγαλύτερος από το δεξιό. Εκτός απ τη φυσιολογική παρέκκλιση του μεγέθους των δύο μαστών, ιδιαίτερα εμφανεί στην περίοδο της εφηβικής ανάπτυξης, αναγνωρίζονται και αξιοσημείωτε διαφορές (ασυμμετρία ή ανισομαστία) που προκαλούν δυσμορφίες και συναισθηματικές διαταραχές. Αυτές αφορούν τις καταστάσεις των υποανάπτυκτων μαστών (μικρομαστία) και της υπερβολικής αύξησης του μεγέθους τους (μεγαλομαστία), κυρίως λόγω της εναπόθεσης λίπους και τη αύξησης του ινώδους συνδετικού ιστού. Η αδυναμία του σχηματισμού θηλή (αθηλία) ή μαστού (αμαστία) είναι σπάνια, αντίθετα οι υπεράριθμες θηλέ (πολυθηλία) και οι υπεράριθμοι μαστοί με θηλή και θηλαία άλω (πολυμαστία) αποτελούν αρκετά συχνά διαμαρτίες. Εξίσου συχνή θεωρείται η παρουσί μεμονομένων αδενικών λοβίων, χωρίς θηλή και θηλαία άλω, έξω από τα ανατομικά όρια του μαστού (εκτοπία). Τέτοιες περιπτώσεις πολυθηλίας, πολυμαστίας και εκτοπίας του μαστού έχουν την τάση να αναπτύσσονται κατά μήκος της μαστικής γραμμής και κυρίως στους μασχαλιαίους λεμφαδένες κάτω από το φυσιολογικό μαστό και στο αιδείο [56, 57], προφανώς λόγω τη παραμονής τμημάτων της στη διάρκεια της εμβρυικής ζωής. Οι υπεράριθμοι μαστοί όπως και τα έκτοπα αδενικά λόβια, εναρμονίζονται πλήρως με τη φυσιολογικές μεταβολές του ορθότοπου αδένος π.χ. με μεταβολές τη γαλουχίας, αλλά υπόκεινται και σε όμοιους κινδύνους της ανάπτυξης διαφόρων νεοπλασμάτων. Αναφέρεται πρόσφατα στη βιβλιογραφία ότι το θηλάδε



ιδραδένωμα του αιδοίου δεν αποτελεί γνήσιο νεόπλασμα των ιδρωτοποιών αδένων, αλλά ενδοπορικό θήλωμα του μαστού που αναπτύσσεται σε έδαφος έκτοπων αδενικών λοβίων [11].

Άλλη αναγνωρίσιμη οντότητα είναι η εμβάθυνση της θηλής στο δέρμα που προκαλεί δυσχέρεια κατά το θηλασμό (συγγενής εισολκή της θηλής). Παρόμοιο πρόβλημα δημιουργείται όταν οι γαλακτοφόροι πόροι δεν εκβάλλουν στην κορυφή της θηλής, αλλά στη θηλαία άλω. Εντυπωσιακή ανάπτυξη των μαστών στην παιδική ηλικία πολλές φορές απαντάται κατά το δεύτερο έτος, ως μεμονωμένο φαινόμενο και χωρίς την εκδήλωση άλλων δευτερογενών χαρακτήρων του θήλεος φύλου (πρώιμη θηλαρχή). Αυτόματη υποχώρηση παρατηρείται μετά από μερικά χρόνια και οφείλεται σε διαταραχή του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες, με αύξηση της έκκρισης ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης.

Γυναικομαστία ονομάζεται η ετερόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη αύξηση του μεγέθους του μαστού σε άρρενες εφήβους ή άντρες προχωρημένης ηλικίας. Ιστολογικά αναγνωρίζεται υπερπλασία του ινώδους συνδετικού ιστού και του επιθηλίου των πόρων (γυναικομαστία) ή απλή αύξηση του λιπώδους ιστού (ψευδογυναικομαστία). Γενικά η γυναικομαστία είναι συχνή και φαίνεται να οφείλεται σε διαταραχή της σχέσης ανδρογόνων /οιστρογόνων, προς όφελος των οιστρογόνων. Με την προοδευτική ωρίμανση των όρχεων στους εφήβους η διαταραχή αυτή εξομαλύνεται και η κατάσταση υποχωρεί αυτομάτως [58]. Σπάνια η αύξηση υποκρύπτει παθολογία π.χ. σύνδρομο Klinefelter, η κίρρωση του ήπατος και νεοπλάσματα των όρχεων. Η ψευδογυναικομαστία αμφοτερόπλευρη ή ετερόπλευρη αποτελεί τοπική εκδήλωση παχυσαρκίας.



ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΔΙΑΠΛΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΑΖΙΚΟΥ ΑΔΕΝΑ

Κατά τα πρώτα στάδια της οργανογένεσης αρκετά σύνδρομα επηρεάζουν την ανάπτυξη του μαζικού αδένου. Αμαστία, πολυμαστία και πολυθηλία εμφανίζονται ως μεμονωμένοι φαινότυποι ή στα πλαίσια συνδρόμων.

Μεταλλάξεις του γονιδίου TBX-3 (οικογένεια T-Box γονιδίων) προκαλεί ωλένης-μαζικού αδένου σύνδρομο, ένα σύνολο πλειότροπων ανωμαλιών.

Άκρα του σώματος, αποκρινείς αδένες, δόντια, μαστοί και γεννητικό σύστημα επηρεάζονται σε αυτό το σύνδρομο υποδηλώνοντας ότι κατά τη διάρκεια της δημιουργίας αυτών των οργάνων επιθηλιακές-μεσεγγυματικές αλλαγές πραγματοποιούνται. Άνδρες και γυναίκες που εμφανίζουν το ωλένης-μαζικού αδένου σύνδρομο είναι δυνατό να εμφανίζουν υπεράριθμους μαστούς ή υποπλαστικούς ή να απουσιάζουν ολοκληρωτικά.

Ένα άλλο πρόσφατα περιγραφέν σύνδρομο είναι το LMS (limb-mammary syndrome), που χαρτογραφείται στη θέση 3q27. Η κλινική του παρουσία, περιλαμβάνει σοβαρές βλάβες άνω άκρου και/ή βλάβες του άκρου ποδός και υποπλασία ή απλασία των μαστών και των θηλών.

Οι φαινότυποι των προσβαλλόμενων ατόμων υποδηλώνουν ότι τα ίδια γονίδια είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη των άκρων και των μαστών που δημιουργούνται σαν αποτέλεσμα αλληλοεπιδράσεων επιθηλιακών-μεσεγγυματικών, καθώς το ίδιο συμβαίνει με τους αποκρινείς αδένες και τους οδόντες.

Οι ποικίλοι φαινότυποι υποδεικνύουν ότι τα γονίδια που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μαστών είναι επιρρεπείς σε αλλαγές από άλλα γονίδια ή και περιβαλλοντικούς παράγοντες [59-63].



ΑΠΟΚΡΙΝΕΣ ΕΠΙΘΗΛΙΟ

Η ονομασία αποκρινές επιθήλιο προέρχεται από την ελληνική λέξη από + έκκριση, οφείλεται στην παρουσία θραυσμάτων του κυτταροπλάσματος στον αυλό των αδενίων και την απώλεια μέρους του κορυφαίου τμήματος του κυτταροπλάσματος όταν ολοκληρωθεί η έκκριση των επιθηλιακών κυττάρων. Είναι φυσιολογικό συστατικό των αποκρινών αδένων της μασχαλιαίας περιοχής, των βλεφάρων (Moll), των κυψελίδων ωτός, της ουρογεννητικής περιοχής και μαζικού αδένου.

Τα αποκρινή επιθηλιακά κύτταρα που απαντώνται στο μαστό, είναι μεγάλα κύτταρα έχουν άφθονο ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα, πλούσιο σε μιτοχόνδρια, των οποίων η υπερμικροσκοπική εντόπιση και η κατανομή είναι η ίδια με των αποκρινών κυττάρων του δέρματος [64, 65]. Είναι πλούσια σε οξειδωτικά ένζυμα, κυρίως σε όξινη φωσφατάση και διυδρογονάσες (γεγονός που συμβιβάζεται με τα πολλά μιτοχόνδρια) και έχουν αναπτυγμένη συσκευή Golgi, ενδεικτικό της έντονης εκκριτικής τους δραστηριότητας. Είναι θετικά στη χρώση PAS και ιδιαίτερα προς το αυλικό τμήμα του κυττάρου. Τα PAS θετικά κοκκία είναι ανθεκτικά στη διάσταση και αντιστοιχούν σε σύνθετα λιπίδια (γλυκολιπίδια και φωσφολιπίδια). Ακόμη τα αποκρινή κύτταρα περιλαμβάνουν κατά τόπους στο κυτταρόπλασμά τους κοκκία καφεοειδούς χρωστικής καθώς και κοκκία αιμοσιδρινής όπως και τα αποκρινή κύτταρα του δέρματος.

Ανοσοϊστοχημικές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία καλοήθων και κακοήθων οντοτήτων του μαστού, που παρουσιάζουν αποκρινή διαφοροποίηση, αναφέρουν ότι τα κύτταρα αυτά στερούνται τους ορμονικούς υποδοχείς οιστρογόνων/προγεστερόνης (ER/PR), φέρουν ορμονικούς υποδοχείς ανδρογόνων (AR), σε αντίθεση με το φυσιολογικό επιθήλιο του μαζικού αδένου.



Συνεπώς τα αποκρινή κύτταρα διαφέρουν όχι μόνο σε μορφολογικό επίπεδο αλλά και σε βιολογικό από τα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού [64, 66, 67].

Επίσης μορφολογικά και λειτουργικά διαφέρουν από τους σμηγματογόνους και ιδρωτοποιούς αδένες του δέρματος. Οι αποκρινείς αδένες αρχίζουν ν'αναπτύσσονται ως επιθηλιακές παχύνσεις του εξωτερικού ελύτρου της ρίζας των τριχοθυλακίων από τον έκτο μήνα της εμβρυικής ηλικίας [68, 69].

Μεγάλος αριθμός καλοήθων και κακοήθων οντοτήτων του μαστού περιέχουν επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία κυτταρολογικά είναι όμοια με αυτά που αποτελούν τους αποκρινείς αδένες π.χ. ινοκυστική νόσος του μαστού [70-73], θηλώματα μαστού [73], ινοαδενώματα [74,], άτυπες αποκρινείς υπερλασίες, αποκρινές ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα (μη διηθητικό-in situ) DCIS και διηθητικό αποκρινές καρκίνωμα [75, 76].

Αποτελέσματα ερευνών με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αναφέρουν ότι η παρουσία μιτοχονδρίων είναι υπεύθυνη για την κυτταροπλασματική ηωσινοφιλία και η κατάταξή τους στην κατηγορία των αποκρινών κυττάρων κατά τη μελέτη με το οπτικό μικροσκόπιο, στην πραγματικότητα όμως κυστίδια και πυκνά κοκκία φέρουν την πρωτεΐνη -15 υγρού αδρής κυστικής νόσου (GCDFP-15).

ΘΕΩΡΙΕΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΑΠΟΚΡΙΝΟΥΣ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ

Η προέλευση των αποκρινών κυττάρων ήταν πάντοτε αντικείμενο αμφισβήτησης. Πολλές θεωρίες στη διεθνή βιβλιογραφία εξηγούν την παρουσία αυτής της αινιγματικής οντότητας.

Αρχικά θεωρούνταν σαν προϊόν μετάπλασης [70, 74, 77, 78] ή τελικής διαφοροποίησης [79, 80] ή εκφύλισης ή υποστροφής [81]. Άλλοι συγγραφείς θεωρούν ότι τα αποκρινή κύτταρα είναι φυσιολογικά συστατικά του μαζικού αδένου ή ακόμη ότι το αποκρινές επιθήλιο αντιπροσωπεύει εγκλωβισμένους

δερματικούς αποκρινείς αδένες στην περιοχή του μαζικού αδένος κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης [65]. Τέλος άλλοι συγγραφείς ισχυρίζονται ότι αντιπροσωπεύουν ενεργά μεταβολικά κύτταρα [82].

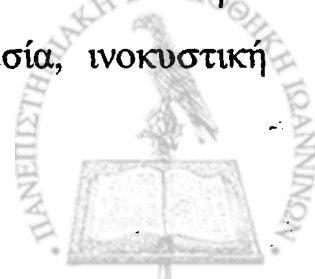
Επιθηλιακά κύτταρα παράγουν GCDFP-15 σε πρωτογενή στάδια δημιουργίας του εμβρυϊκού μαζικού αδένος χωρίς να παρουσιάζουν ιδιαίτερη κατανομή και στη συνέχεια με την πρόοδο της εγκυμοσύνης ο συνολικός αριθμός αυτών αυξάνεται [65]. Τα περισσότερα νεογέννητα φέρουν κλινικά ψηλαφητούς μαστούς και έκκριση γάλακτος παρατηρείται και στα δύο φύλα.

Ο McKiernan και οι συνεργάτες, μελετώντας την ιστολογία της ανάπτυξης του μαζικού αδένος αναφέρουν την παρουσία λοβιακών δομών, διατεταμένους πόρους και προϊόντα αποκρινούς εκκρίσεως [83]. Σε μαστούς νεογέννητων, τα επιθηλιακά κύτταρα φέρουν ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα με τυπική αποκρινή έκκριση [84]. Επίσης έχει αναφερθεί ότι τα αποκρινή κύτταρα στην παιδική ηλικία αντιπροσωπεύουν τμήμα της υποστροφής του μαζικού αδένος που πραγματοποιείται με τη γέννηση [85].

ΚΥΣΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ - ΑΠΟΚΡΙΝΕΙΣ ΚΥΣΤΕΙΣ

Ο αποκρινής φαινότυπος αναγνωρίζεται σε ευρύ φάσμα επιθηλιακών αλλοιώσεων του μαστού που κυμαίνεται από την καλοήγη μεταπλασία έως το αποκρινές καρκίνωμα.

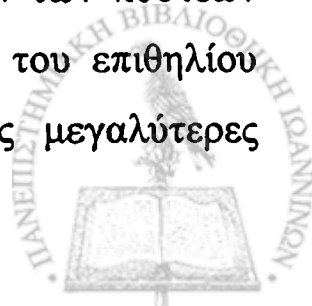
Το αποκρινές επιθήλιο (ΑΕ) είναι συχνό εύρημα σε ποσοστό περίπου 40% στις καλοήθεις βιοψίες του μαστού [86]. Οι αλλοιώσεις της ινοκυστικής νόσου είναι κλινικά ορατές περίπου στο 50% των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας. Στις Δυτικές Χώρες, 7% των γυναικών εμφανίζουν ψηλαφητές κύστες. Κατά καιρούς για τον προσδιορισμό της έχουν προταθεί πολλοί όροι όπως: ινοαδένωση, κυστική μαστοπάθεια, μαστική δυσπλασία, ινοκυστική



νόσος και χρόνια μαστίτιδα. Χρησιμοποιείται επίσης συχνά ιδιαίτερα στα αγγλικά ο όρος ινοκυστικές αλλαγές (fibrocystic change).

Οι κύστει θεωρούνται ως η χαρακτηριστικότερη αλλοίωση της κυστικής νόσου του μαστού (όρος που έχει προταθεί αρχικά από τον *Haagensen* και στη συνέχεια από τον *Azzopardi* [87]. Ο *Wellings* και οι συνεργάτες του θεωρούν τα αποκρινή κύτταρα προγεννήτορες της κυστικής νόσου του μαστού [86]. Μικροσκοπικά αποκρινείς αλλαγές είναι συνήθεις στο γυναικείο μαστικό αδένωμα μετά την ηλικία των 30 ετών, σπάνια ανευρίσκονται σε γυναίκες μικρότερες της ηλικίας των 19 ετών, και αυξάνονται με την ηλικία και γίνονται πιο σταθερό εύρημα μεταεμμηνοπαυσιακά. Επιπροσθέτως κύστεις με αποκρινές επιθήλιο απαντώνται συχνότερα σε μαστούς με καρκίνωμα σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς μαστούς και αριθμητικά ο αριθμός των αποκρινών κύστεων είναι μεγαλύτερος στις περιπτώσεις καρκινωμάτων του μαστού [86].

Οι κύστεις του μαστού, σύμφωνα με τον *Haagensen* υποδιαιρούνται σε δύο ομάδες, μακροσκοπικές (μεγίστης διαμέτρου 3 χιλιοστών) και μικροσκοπικές. Η ανάπτυξή τους είναι πολυεστιακή και αμφοτερόπλευρη και το περιεχόμενο των μεγαλύτερων και ψηλαφητών κύστεων διαυγές, λεπτόρρευστο, ορώδες ή πρασινόφαιο. Η ιστολογία των κύστεων είναι απλή. Οι μικροσκοπικές κύστεις έχουν αποπλατυσμένο επιθήλιο και παχύρρευστο βλεννώδες περιεχόμενο. Τα κύτταρα που τις επενδύουν είναι κατά κανόνα εξαντλημένα βλεννοπαραγωγά κύτταρα. Οι υπόλοιπες κύστεις έχουν αποκρινές επιθήλιο και η ανάπτυξή τους οφείλεται στη μικρή υπερπλαστική, αλλά έντονη εκκριτική δραστηριότητα των αποκρινών κυττάρων. Σε εξαιρετικά μεγάλες κύστεις το επιθήλιο καταστρέφεται και το τοίχωμα αποτελείται από ινώδη ιστό, συχνά παρατηρείται φλεγμονή του τοιχώματος. Η παρακέντηση αυτών των κύστεων έχει ως αποτέλεσμα τη μόνιμη εξαφάνιση λόγω καταστροφής του επιθηλίου που αποτελεί την πηγή της παραγωγής του. Δύο από τις μεγαλύτερες



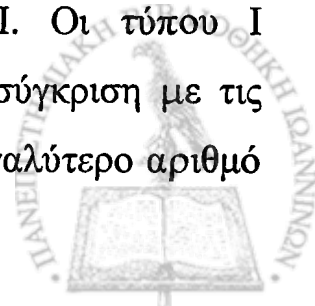
επιδημιολογικές μελέτες με μεγάλη διάρκεια παρακολούθησης ασθενών παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Ο *Haagensen* και οι συνεργάτες του (1981) αναφέρουν 3 φορές υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού, στην ομάδα γυναικών που υποβλήθηκαν σε αναρρόφηση λόγω ψηλαφητών κύστεων, ο οποίος αυξάνονταν όταν υπήρχε οικογενειακό ιστορικό της νόσου [88].

Αντίθετα οι *Dupont και Page* (1985), αναφέρουν ότι οι γυναίκες με αρνητικό οικογενειακό ιστορικό παρουσιάζουν 1,5 φορά κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου [89]. Η μελέτη αυτή όμως δεν είναι συγκρίσιμη με την προηγούμενη διότι λαμβάνονταν υπόψη το μέγεθος των κύστεων (μεγαλύτερων από ένα εκατοστό, $d > 1\text{cm}$) και όχι λαμβάνοντας ως κριτήριο την ψηλάφηση των κύστεων.

Κατά *Haagensen* [87], η κυτταρολογική εξέταση του υγρού δεν έχει διαγνωστική σημασία, κρίνεται όμως σκόπιμη όμως όταν το περιεχόμενο είναι αιμορραγικό για τη διάγνωση ενδοπορικού θηλώματος ή καρκινώματος με κυστική διάταση μεγάλου πόρου.

Αποκρινή επιθηλιακά κύτταρα συχνά απαντώνται στο επιθήλιο των κύστεων υπό τάση, εκεί λαμβάνουν τη μορφολογία επιπέδων ή κυβοειδών κυττάρων και συνήθως δημιουργούν ένα στίχο κυττάρων ή παρουσιάζονται σα μεμονωμένες θηλώδεις προσεκβολές ή λαμβάνουν πιο σύνθετη θηλωματώδη αρχιτεκτονική. Οι κύστεις που το περιεχόμενό τους περιέχει υψηλή αναλογία καλίου ($\text{Na}^+/\text{K}^+ < 3$) συνήθως επενδύονται με αποκρινή κύτταρα και χαρακτηρίζονται ως κύστεις τύπου I, ενώ εκείνες που η αναλογία $\text{Na}^+/\text{K}^+ > 3$ επενδύονται από αποπλατυσμένο επιθήλιο και χαρακτηρίζονται ως τύπου II κύστεις. Υπάρχουν διχογνωμίες στις βιβλιογραφικές αναφορές όσον αφορά το κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθειας στις κύστεις τύπου I, II. Οι τύπου I παρουσιάζουν υψηλότερο ποσοστό ανάπτυξης καρκίνου σε σύγκριση με τις κύστεις τύπου II [90-95], αλλά μεταγενέστερες μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό



ασθενών και μακρύτερο χρόνο παρακολούθησης καταρρίπτουν τις προγενέστερες μελέτες [96, 97].

Πρόσφατη μελέτη που πραγματοποιήθηκε από την ομάδα του *Dixon* (1999) και σύμπεριλαμβάνει 1300 γυναίκες, με ψηλαφητές κύστες που αναρροφήθηκαν κατά τη χρονική περίοδο μεταξύ 1981 έως 1987, αναφέρει συνολικά, ότι η ανάπτυξη καρκίνου του μαστού στις γυναίκες με ψηλαφητές κύστες ήταν σχεδόν τρεις φορές μεγαλύτερη απ' ό τι στο σύνολο του πληθυσμού. Αυτή η αυξημένη αναλογία αφορούσε και τους δύο τύπους κύστεων (I και II). Ο κίνδυνος της ανάπτυξης καρκίνου ήταν μεγαλύτερος κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους μετά την αναρρόφηση σε σύγκριση με την πρώτη πενταετία. Οι ερευνητές ανέφεραν σημαντική συσχέτιση μεταξύ κινδύνου εμφάνισης της νόσου και ηλικίας που πραγματοποιήθηκε η πρώτη αναρρόφηση. Γυναίκες ηλικίας μικρότερης των 45 ετών, παρουσίαζαν 6 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου σε σχέση με το συνολικό πληθυσμό, ενώ ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου μειώνονταν στο 1.7 στις γυναίκες άνω των 55 ετών. Οι συγγραφείς για να εξηγήσουν τον αυξημένο δείκτη στις νεότερες γυναίκες καταλήγουν ότι το επιθήλιο του μαζικού αδένα είναι πιο ευαίσθητο στην κακοήθη εξαλλαγή, εξαιτίας της αυξημένης δραστηριότητάς του με τη δημιουργία κύστεων σε συνδυασμό με τις υψηλές συγκεντρώσεις οιστρογόνων στις προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες [96].

Το υγρό αυτών των κύστεων αναλύθηκε βιοχημικά. Τέσσερις πρωτεΐνες ανευρέθηκαν οι οποίες ονομάστηκαν πρωτεΐνες υγρού αδρής κυστικής μαστοπάθειας (gross cystic disease fluid proteins, GCDFPs). Αυτές οι πρωτεΐνες είναι οι κάτωθι: GCDFP-15, GCDFP-24 (απολιποπρωτεΐνη-D, Apo-D), GCDF-44 (zinc α 2- γλυκοπρωτεΐνη, ZnGP) και GCDF-70, που υποδηλώνουν ότι αυτές οι πρωτεΐνες της κυστικής μαστοπάθειας είναι μονομερή με μοριακά μεγέθη 15000, 24000, 44000 και 70000 Da, αντίστοιχα. Η GCDFP-70 είναι ανοσολογικά πανομοιότυπη με την αλβουμίνη. Αντισώματα

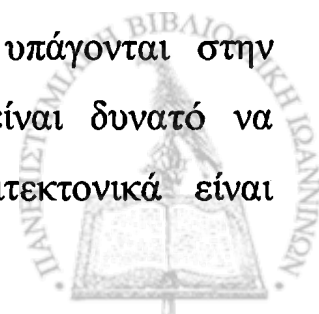
έναντι των GCDFP-15, -24 και -44 υπάρχουν και δίνουν τη δυνατότητα για κλινικοπαθολογικές μελέτες χρησιμοποιώντας ανοσοϊστοχημικές τεχνικές [97-104]. Σε τομές φυσιολογικού μαστικού αδένου οι παραπάνω τρεις πρωτεΐνες δεν εμφανίζουν ενεργή έκφραση. Ωστόσο, όταν παρουσιάζεται αποκρινής μετάπλαση του επιθηλίου, έντονη και ομοιόμορφη έκφραση των πρωτεϊνών παρατηρείται.

Η γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 15kDa, το κυριότερο συστατικό του υγρού των κύστεων αντιπροσωπεύει τον ανοσοϊστοχημικό δείκτη αποκρινούς διαφοροποίησης. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της γλυκοπρωτεΐνης GCDFP-15 ανευρέθηκε στους φυσιολογικούς αποκρινείς αδένες, εκκρινείς αδένες, στο αποκρινές επιθήλιο του μαστού συμπεριλαμβανομένων και των κύστεων και στα αποκρινή καρκινώματα του μαστού [105-109].

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την έκφραση της γλυκοπρωτεΐνης GCDFP-15 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 7 και είναι το ίδιο που επάγει τη σύνθεση της προλακτίνης (PIP) [110]. Η περιγραφή του πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από το Shiu και τους συνεργάτες [111-113], καθώς επίσης και σε κυτταρικές σειρές T47D [114].

ΘΗΛΩΔΕΙΣ ΑΠΟΚΡΙΝΕΙΣ ΑΛΛΑΓΕΣ

Αποκρινής μετάπλαση ξεκινά στα λόβια, μικρούς πόρους ή εστίες αδένωσης τυφλών πόρων. Στις μικροσκοπικές κύστες που επενδύονται από αποκρινές επιθήλιο είναι δυνατό να λαμβάνει τη μορφή θηλωδών σχηματισμών που προβάλλουν στον αυλό των κύστεων ή πόρων. Ενίοτε είναι δυνατή η ύπαρξη θηλών με ένα κεντρικό τριχοειδές, αυτές οι δομές δεν υπάγονται στην κατηγορία των θηλωμάτων. Επιπροσθέτως το επιθήλιο είναι δυνατό να δημιουργεί looping bridges (τοξωτές γέφυρες) που αρχιτεκτονικά είναι



πανομοιότυπες με αυτές που απαντώνται στην άτυπη υπερπλασία και στο πορογενές καρκίνωμα *in situ*.

Η ονομασία θηλώδης αποκρινής αλλαγή χρησιμοποιήθηκε από τον *Page* το 1978 [115] και ο όρος αποκρινής υπερπλασία από την *Tavassoli* το 1994 [116].

Το 1996 οι *Page, Dupont* και συνεργάτες κατηγοριοποίησαν τις αποκρινείς θηλώδεις προσεκβολές σε τρεις ομάδες:

α) απλή

β) σύνθετη και

γ) υψηλά σύνθετη

λαμβάνοντας ως κριτήρια το μήκος και την αρχιτεκτονική δομή. Μελετήθηκαν 3000 βιοψίες μαστού όπου άτυπη υπερπλασία παρατηρήθηκε στο 20% των περιπτώσεων και μόλις το 1% των περιπτώσεων παρουσίασαν εξαιρετικά σύνθετο αποκρινές επιθήλιο. Αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης κακοήθους νόσου παρουσίασαν οι γυναίκες στις βιοψίες των οποίων ανευρέθηκε άτυπη υπερπλασία να συνυπάρχει με υψηλά σύνθετο αποκρινές επιθήλιο.

Στην διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης μεταγενέστερου καρκίνου του μαστού στο 2.4% για τις γυναίκες που εμφανίζουν σύνθετες αποκρινείς θηλώδεις αλλοιώσεις [117].

A) Καλοήθης αποκρινής υπερπλασία

Ο όρος αποκρινής αδένωση χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από το 1987 από τον *Eusebi* για να περιγράψει αποκρινείς αλλαγές σε αδένια που συσχετιζόνταν με δύο περιστατικά αδеноμυοεπιθηλιώματος [118], μια οντότητα που παλαιότερα βιβλιογραφικά αναφέρονταν σαν “αδеноμυοεπιθηλιωμάτωσης αδένωση” [119].



Ο όρος αποκρινής αδένωση χρησιμοποιήθηκε σε μεγάλο αριθμό δημοσιεύσεων για να περιγράψουν αποκρινείς χαρακτήρες σε ένα ευρύ φάσμα υπερπλαστικών αλλοιώσεων.

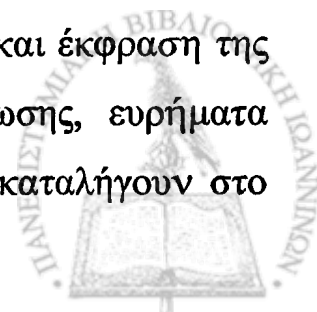
Οι *Simpson και Page* (1990) χρησιμοποίησαν τον όρο για να περιγράψουν αποκρινείς αλλαγές σε αδένια, σε σκληρυντική αδένωση, ακτινωτή ουλή και σύνθετη σκληρυντική αδένωση και σε αναδρομική ανασκόπηση 10000 καλοήθων βιοψιών μαστού ταυτοποίησαν 55 περιπτώσεις αποκρινούς αδένωσης [120].

Αποκρινής αδένωση, είναι μια σπάνια οντότητα που χαρακτηρίζεται από την παρουσία αποκρινών κυττάρων σε λοβιακές μονάδες, συνδυαζόμενη με σκληρυντική αδένωση [121-123].

Το 2001, ο *Endoh* προκαλεί σύγχυση στη Διεθνή Βιβλιογραφία χρησιμοποιώντας τον ίδιο όρο αποκρινής αδένωση για να περιγράψει ογκόμορφη κακοήγη επεξεργασία με μέγιστη διάμετρο 4.3 cm στηριζόμενος σε εργαστηριακά ευρήματα μονοκλωνικότητας[124]. Αυτή η οντότητα ήταν σαφώς διαφορετική από τις βιβλιογραφικές αναφορές άλλων συγγραφέων και στη συνέχεια διασαφηνίστηκε από τους *Page και Simpson* [125].

Αρκετές μελέτες ερευνούν την παρουσία μοριακών δεικτών στην αποκρινή αδένωση. Αυτές οι μελέτες είναι δύσκολο να αξιολογηθούν διότι δεν αποσαφηνίζουν τον ακριβή ιστολογικό τύπο της αποκρινούς αλλοίωσης που μελετάται [126, 127]. Επίσης βιβλιογραφικές αναφορές υπάρχουν ότι μεγάλος αριθμός καλοήθων αλλοιώσεων εμφανίζει κλωνική ετερογένεια και μονοκλωνικότητα[128]

Μια μελέτη, δημοσιευμένη από τον *Wells* και συνεργάτες το 1995, έδειξε αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, που εκφράζεται ανασοιστοχημικά με το αντιγόνο Ki-67, έκφραση του ογκογονιδίου c-erbB2 (57.1%) και έκφραση της p53 πρωτεΐνης σε περιπτώσεις βιοψιών αποκρινούς αδένωσης, ευρήματα πρωτόγνωρα για καλοήθεις αλλοιώσεις [122]. Οι μελετητές καταλήγουν στο



συμπέρασμα ότι το αποκρινές επιθήλιο δεν είναι προϊόν εκφύλισης [120], ούτε προϊόν ολοκληρωμένης διαφοροποίησης [79, 129], αλλά πιθανά να συσχετίζεται με την εμφάνιση πορογενούς καρκινώματος *in situ* από μεγάλα κύτταρα ή ακόμα με διηθητικό πορογενές καρκίνωμα.

Μελέτη της πολλαπλασιαστικής ικανότητας των αποκρινών κυττάρων σε καλοήθεις αλλοιώσεις με τη βοήθεια του δείκτη πολλαπλασιασμού Ki-67 είναι συγκρίσιμα με τα ποσοστά που ανευρέθηκαν σε καρκινώματα του μαστού [130].

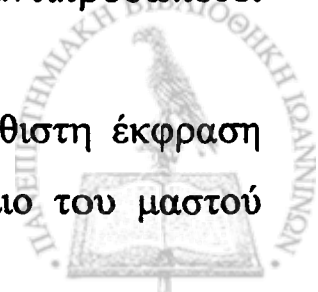
Επίσης υψηλότερος δείκτης πολλαπλασιασμού ανευρίσκεται σταθερά σε αποκρινείς υπερπλαστικές αλλοιώσεις σε σύγκριση με την παρουσία αποκρινών κυττάρων σε κύστεις [127, 122, 131].

Σε μελέτη του *Seidman* και συνεργάτων το 1996 με κλινική παρακολούθηση 37 ασθενών, που παρουσίαζαν σε βιοπτικό υλικό άτυπα αποκρινή κύτταρα στα πλαίσια σκληρυντικής αδένωσης, 4 ασθενείς ηλικίας άνω των 60 ετών εμφάνισαν καρκίνο του μαστού 5.6 χρόνια αργότερα [123].

Μια σειρά μελετών παρουσίασε υπερέκφραση της ογκοπρωτεΐνης c-erbB2 σε περιστατικά αποκρινούς αδένωσης σε παρόμοιο ποσοστό [122, 132, 133]. Επιπροσθέτως αναφέρεται έκφραση c-erbB-2 στα κύτταρα του αποκρινούς μεταπλαστικού επιθηλίου [129, 134]. Αντίθετα, άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι δεν παρατηρήθηκε έκφραση της πρωτεΐνης c-erbB2 σε καμιά από τις περιπτώσεις φυσιολογικού και υπερπλαστικού επιθηλίου μαστού με ατυπία ή χωρίς ατυπία. Επίσης το ίδιο αναφέρθηκε και σε περιπτώσεις καλά διαφοροποιημένου πορογενούς καρκινώματος μαστού [135, 136].

Η έκφραση της πρωτεΐνης p53 έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά στον πυρήνα των κυττάρων στις περιοχές της αποκρινούς αδένωσης και αντιπροσωπεύει ασυνήθιστο φαινόμενο σε καλοήθεις αλλοιώσεις [136].

Από το 1988, από τον *Παπαμιχάλη* έχει αναφερθεί ασυνήθιστη έκφραση του ογκογονιδίου c-myc στο αποκρινές μεταπλαστικό επιθήλιο του μαστού



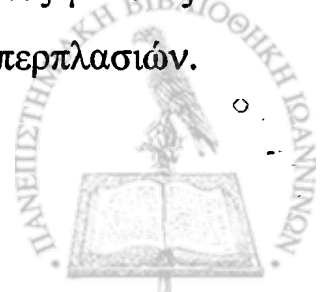
[137]. Στη συνέχεια το 1992 από την ομάδα της *N.I.Αγνάντη* αναφέρεται έκφραση των ογκοπρωτεϊνών *ras* και *c-myc* στο αποκρινές επιθήλιο [138]. Το ποσοστό της πυρηνικής έκφρασης ήταν υψηλότερο στην αποκρινή αδένωση σε σχέση με το αποκρινές επιθήλιο.

Τέλος είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι λόγω του μεγάλου εύρους οντοτήτων των μη-υπερπλαστικών και υπερπλαστικών αποκρινών αλλοιώσεων που χαρακτηρίζονται ως «*αποκρινής αδένωση*» και της μεγάλης σύγχυσης που προκαλείται, είναι προτιμητέο, όπως προτείνει ο *Eusebi*, να περιγράφονται οι αποκρινείς αλλαγές στις ήδη γνωστές οντότητες και όχι διαφορετικές οντότητες π.χ. σκληρυντική αδένωση ή ακτινωτή ουλή να κατηγοροποιούνται στην ίδια διαγνωστική κατηγορία εξαιτίας της ύπαρξης των αποκρινών αλλαγών [64].

Μελλοντικές μελέτες, χρησιμοποιώντας πιο αυστηρά και ακριβή κριτήρια κατηγοριοποίησης των αποκρινών αλλοιώσεων, είναι δυνατό να διασαφηνίσουν τα αντικρουόμενα αποτελέσματα που έχουν αναφερθεί για πολλές αλλοιώσεις που έχουν περιγραφεί ως τις μέρες μας σαν «*αποκρινής αδένωση*».

Ατυπή αποκρινή υπερπλασία

Υπάρχει αντιπαράθεση των συγγραφέων όσο αφορά τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για να ορίσουν την κυτταρική ατυπία και την κλινική σημασία της ατυπίας του αποκρινούς επιθηλίου. Αυτό βρίσκει εφαρμογή στις αποκρινείς αλλαγές των σκληρυντικών αλλοιώσεων. Μέρος αυτής της δυσκολίας σχετίζεται με το γεγονός ότι τα φυσιολογικά αποκρινή κύτταρα είναι μεγάλου μεγέθους με ευδιάκριτα πυρήνια. Υπάρχουν ελάχιστες μελέτες που αξιολογούν την κλινική σημασία της ατυπίας των αποκρινών υπερπλασιών.



Σε μελέτη του *Carter* και των συνεργατών που παρακολούθησαν 51 ασθενείς με «άτυπη αποκρινή μετάπλαση σε σκληρυντικές αλλοιώσεις» για 35 μήνες καμία απ'αυτές δεν ανέπτυξαν καρκίνου του μαστού. Οι συγγραφείς όρισαν σαν ατυπία την παρουσία πλειόμορφων πυρηνίων και αυξημένη σχέση πυρήνα/κυτταροπλάσματος[121]

Σε αντίθεση, ο *Seidman* και οι συνεργάτες του αναφέρουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε άτυπες αποκρινείς υπερπλαστικές αλλοιώσεις. Κυτταρολογική ατυπία ορίστηκε από αυτή την ομάδα εργασίας η αύξηση του πυρήνα των αποκρινών κυττάρων στο τριπλάσιο με εμφανή διογκωμένα πυρήνια. Κλινική παρακολούθηση 37 ασθενών που παρουσίαζαν σε βιοπτικό υλικό άτυπα αποκρινή κύτταρα στα πλαίσια σκληρυντικής αδένωσης, 4 ασθενείς ηλικίας άνω των 60 ετών εμφάνισαν καρκίνο του μαστού 5.6 χρόνια αργότερα[123].

Ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου μαστού είναι υπερεκτιμημένος εξαιτίας του γεγονότος ότι ορισμένα από αυτά τα περιστατικά αντιπροσωπεύουν καρκινοποίηση της σκληρυντικής αδένωσης από πορογενές καρκίνωμα *in situ* (DCIS), διότι οι συγγραφείς διασαφήνισαν ότι οι αλλοιώσεις κατηγοριοποιήθηκαν βασισμένοι στην παρουσία/απουσία της ατυπίας όπως ορίστηκε προηγουμένως και δεν έγινε προσπάθεια περαιτέρω διάκρισης μη-διηθητικού αποκρινούς καρκινώματος από τα περιστατικά που εμφάνιζαν κυτταρολογική ατυπία.

Ο όρος «οριακής κακοήθειας» χρησιμοποιείται για να διαχωρίσει την ομάδα των άτυπων αποκρινών αλλοιώσεων που φέρουν ορισμένα αλλά όχι το σύνολο των χαρακτηριστικών του πορογενούς καρκινώματος *in situ* (DCIS). Η Masood και οι συνεργάτες υποστηρίζουν ότι είναι εφικτό να διαφοροδιαγνωστεί υπερπλασία, άτυπη υπερπλασία και κακοήθη νεοπλασία. Χρησιμοποιώντας αυστηρά κυτταρολογικά κριτήρια (αρχιτεκτονική διάταξη κυττάρων, πλειομορφία, ανισοπυρήνωση, παρουσία μυοεπιθηλιακών κυττάρων, πυρήνια

και κατανομή της χρωματίνης) είναι δυνατό να ταυτοποιήσουμε το συνεχόμενο φάσμα αλλοιώσεων του επιθηλίου του μαστού και να διαφοροδιαγνώσουμε υπερπλασία από νεοπλασία [140-142].

Αυτά τα κριτήρια, ωστόσο δεν είναι εφαρμόσιμα στις αποκρινείς αλλοιώσεις. Δυο διαφορετικές ομάδες ερευνητών προσπάθησαν να ορίσουν κριτήρια την ιστολογική ταυτοποίηση μεταξύ άτυπων αποκρινών αλλοιώσεων και αποκρινούς DCIS [143, 116].

Η πρώτη ομάδα χρησιμοποιεί κυτταρολογικά χαρακτηριστικά και κριτήρια μεγέθους (<4χιλ, 4-8χιλ, και >8χιλ). Αλλοιώσεις με συνήθη αποκρινή χαρακτηριστικά και μεγέθους μικρότερου των 8mm ονομάστηκαν καλοήγη.

Αλλοιώσεις με κυτταρολογικά χαρακτηριστικά όπως σε περιπτώσεις DCIS (ανώμαλη πτύχωση πυρηνικής μεμβράνης, αδρή κοκκίωση χρωματίνης, πολλαπλά εμφανή πυρήνια) χαρακτηρίστηκαν σαν αποκρινή DCIS.

Στην κατηγορία «οριακής κακοήθειας» χρησιμοποιούνται πρωταρχικά κυτταρολογικά χαρακτηριστικά όπως πυρηνική διόγκωση, ελαφρά ανώμαλη πυρηνική πτύχωση, ποικιλία πυρηνικού μεγέθους και πολλαπλά μικρά πυρήνια. Αξιοσημείωτη πυρηνική διόγκωση θεωρήθηκε ως στοιχείο ατυπίας. Το μέγεθος χρησιμοποιήθηκε ως δευτερογενές κριτήριο κατηγοριοποίησης για τις αλλοιώσεις μεγέθους μεταξύ 4-8 χιλιοστών απαιτούν τα κυτταρολογικά χαρακτηριστικά οριακής κακοήθειας να είναι παρόντα στην πλειονότητα του κυτταρικού πληθυσμού, πριν κατηγοριοποιηθούν ως «οριακής κακοήθειας DCIS». Αλλοιώσεις μεγέθους μεγαλύτερης των 8 χιλιοστών χαρακτηρίζονται σαν «οριακής κακοήθειας DCIS» έστω και αν μικρός πληθυσμός κυττάρων φέρει κυτταρολογικά χαρακτηριστικά οριακής κακοήθειας. Αυτός ο διαχωρισμός δεν έχει αξιολογηθεί από μελέτες κλινικής παρακολούθησης.

Η δεύτερη ομάδα των *Tavassoli* και *Norris* χρησιμοποίησε σαν κριτήρια ατυπίας:

α) το μέγεθος του πυρήνα (τρεις φορές του φυσιολογικού),



β) την πυρηνική στοιβαδοποίηση ή τη δημιουργία θηλών ώστε να κατηγοριοποιηθούν οι άτυπες αποκρινείς αλλοιώσεις[116].

Οι περιπτώσεις με κυτταρολογική ατυπία όπως ορίστηκε προηγουμένως και η στοιβαδοποίηση πυρήνων με ταυτόχρονο σχηματισμό θηλών περιγράφησαν σαν άτυπη αποκρινής υπερπλασία και ο όρος «άτυπη αποκρινής μετάπλαση» χρησιμοποιήθηκε για τις περιπτώσεις που παρουσίαζαν μόνο κυτταρολογική ατυπία. Το κριτήριο του μεγέθους των 2mm χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό των αποκρινών υπερπλαστικών αλλοιώσεων που παρουσιάζουν κυτταρολογική ατυπία και cribriform αρχιτεκτονική από αποκρινή DCIS. Αυτή η μελέτη συμπεριλάμβανε μερική κλινική παρακολούθηση των ασθενών και η μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών υπεβλήθη σε μαστεκτομή, οπότε η φυσική ιστορία αυτών των αποκρινών υπερπλασιών παραμένει αδιευκρίνιστη.

Η παρουσία νέκρωσης από αυτή την ομάδα ερευνητών θεωρείται ως εξαιρετικά χρήσιμο κριτήριο για τη διαφοροδιάγνωση καλοήθων αποκρινών αλλοιώσεων από αποκρινές DCIS. Στην πραγματικότητα αυτοί οι μελετητές συμβουλεύουν αποφυγή διάγνωσης αποκρινούς DCIS όταν απουσιάζει το στοιχείο της νέκρωσης.

Άλλοι ερευνητές θεωρούν ότι η νέκρωση δεν είναι απαραίτητο συστατικό για τη διάγνωση αποκρινούς DCIS. Στην πραγματικότητα όταν η νέκρωση είναι παρούσα, το πυρηνικό grade τείνει να είναι υψηλό, και η διάγνωση του DCIS παρουσιάζει ευκολία [144].

Συνοψίζοντας τα κριτήρια διαχωρισμού των άτυπων αποκρινών αλλοιώσεων από DCIS παραθέτονται στον Πίνακα 3:



Πίνακας 3. Προτεινόμενα κριτήρια άτυπης αποκρινούς υπερπλασίας από χαμηλού βαθμού κακοήθειας αποκρινές DCIS.

ΑΤΥΠΕΣ ΑΠΟΚΡΙΝΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ	ΧΑΜΗΛΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΑΠΟΚΡΙΝΕΣ DCIS
Απαντώνται σε σκληρυντική αδένωση, σύνθετη σκληρυντική αδένωση ή θήλωμα	Απαντώνται συνηθέστερα σε σκληρυντική αδένωση, σύνθετη σκληρυντική αδένωση ή θήλωμα
Πυρηνική στιβαδοποίηση ή δημιουργία θηλών	Φέρουν τα ιστολογικά χαρακτηριστικά των μη αποκρινών DCIS
3 φορές του φυσιολογικού πυρηνική διόγκωση, με δημιουργία πυρηνίων	Διογκωμένα κύτταρα με διογκωμένα και ακανόνιστα πυρήνια
Τα κύτταρα φέρουν πολλαπλά μικρότερα πυρήνια με ποικιλία μεγεθους	Κύτταρα με πολλαπλά μικρότερα πυρήνια με ποικίλο πυρηνικό μέγεθος
Ελαφρά ανώμαλες πυρηνικές μεμβράνες	Ακανόνιστες πυρηνικές μεμβράνες
Ομαλή κατανομή της χρωματίνης	Αδρή κοκκίωση της χρωματίνης
Απουσία νέκρωσης	Απουσία νέκρωσης
Συνήθως το μέγεθος των αλλοιώσεων περιορίζεται σε έκταση μικρότερη των 2-4 mm	Το μέγεθος των αλλοιώσεων είναι μεγαλύτερο των 4 mm
Συνήθως περιλαμβάνει μία λοβιακή μονάδα	Οι αλλοιώσεις ανευρίσκονται σε περισσότερες από δύο λοβιακές μονάδες και τους μεταξύ τους πόρους



ΑΠΟΚΡΙΝΕΣ ΠΟΡΟΓΕΝΕΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ IN SITU (DCIS)

Το αποκρινές καρκίνωμα in situ ιστολογικά χαρακτηρίζεται από πληθυσμό αποκρινών κυττάρων που παρουσιάζουν πυρηνική πλειομορφία και ευμεγέθεις πυρήνες, πολλαπλά εμφανή πυρήνια και ανώμαλες πυρηνικές μεμβράνες. Η διάγνωση γίνεται ευκολότερη με την παρουσία άμορφου, ασθενώς ηωσινόφιλου υλικού που παρουσιάζει συχνότατα περιοχικές εναποθέσεις αλάτων ασβεστίου (comedo-type necrosis). Παρόλο που το αποκρινές καρκίνωμα in situ μπορεί να διαγνωστεί και σε περιπτώσεις με μικρότερο βαθμό πυρηνικής πλειομορφίας, η διαγνωστική πρόκληση σ'αυτές τις περιπτώσεις είναι η ακριβής κατηγοριοποίηση του πυρηνικού βαθμού κακοήθειας [145].

Οι συμμετέχοντες στο Consensus Conference on the Classification of Ductal Carcinoma In-Situ αναγνώρισαν το αποκρινές καρκίνωμα in situ σαν ιδιαίτερη μορφή, αλλά δεν καθόρισαν κριτήρια υποκατηγοριοποίησης [146].

Αξιοσημείωτο είναι ότι στην πρόσφατη ταξινόμηση της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας, το 2003, το αποκρινές DCIS συμπεριλαμβάνεται στην ευρύτερη κατηγορία των ενδοεπιθηλιακών καρκινωμάτων του μαστού [146a].

Πολλοί ερευνητές θεωρούν ότι οι περισσότερες αποκρινείς DCIS αλλοιώσεις είναι ενδιάμεσου βαθμού κακοήθειας [116].

Πρόσφατη μελέτη αναφέρει κριτήρια κατάταξης του αποκρινούς DCIS λαμβάνοντας υπόψη α. το πυρηνικό grade και β. την παρουσία ή απουσία εκτεταμένης νέκρωσης (comedo-type) σε χαμηλού, ενδιάμεσου και υψηλού ιστολογικού βαθμού κακοήθειας. Αποπτωτικά κύτταρα δεν ελήφθησαν υπόψη.

Χαμηλού βαθμού κακοήθειας αποκρινές DCIS χαρακτηρίστηκαν οι περιπτώσεις με πυρηνικό βαθμό κακοήθειας 1 ή 2 και απουσία στοιχείων νέκρωσης.

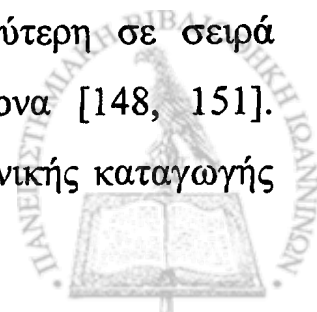


Υψηλού βαθμού κακοήθειας αποκρινές DCIS χαρακτηρίστηκαν οι περιπτώσεις με πυρηνικό βαθμό κακοήθειας 3 (πολλαπλά πυρήνια και αδρή κατανομή χρωματίνης) και παρουσία εκτεταμένης νέκρωσης.

Ενδιάμεσου βαθμού κακοήθειας αποκρινές DCIS χαρακτηρίστηκαν οι περιπτώσεις με πυρηνικό βαθμό κακοήθειας 1 ή 2 και παρουσία νέκρωσης. Η ετερογένεια των αποκρινών αλλοιώσεων οδήγησε τους συγγραφείς να υποθέσουν ότι χαμηλού βαθμού αποκρινείς αλλοιώσεις DCIS αποτελούν τον πρόδρομο υψηλού βαθμού αποκρινών αλλοιώσεων DCIS. Το πυρηνικό grade ορίζεται στις εστίες με τη μέγιστη πυρηνική πλειομορφία [147].

ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΑΠΟΚΡΙΝΕΣ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Ο καρκίνος του μαστού αντιπροσωπεύει το 32% του συνόλου των κακοήθων νεοπλασιών του γυναικείου φύλου [148]. Όγκοι μαστού είχαν περιγραφεί ήδη από τους Αιγυπτίους χιλιάδες χρόνια π.Χ.. Είναι ο Ιπποκράτης και στη συνέχεια ο Γαληνός που τους περιέγραψαν και ασχολούνται με την αιτιολογία, πρόγνωση και θεραπεία τους. Πάγκοσμίως, ο συνολικός αριθμός των νέων περιστατικών που διαγιγνώσκονται ετήσια ξεπερνούν το ένα εκατομμύριο, αλλά αναμένεται ως το τέλος της δεκαετίας να ξεπεράσουν το ενάμιση εκατομμύριο [149]. Υπάρχει σημαντική γεωγραφική διαφορά της συχνότητας του καρκίνου του μαστού, με μεγαλύτερο αριθμό περιστατικών στις αναπτυγμένες χώρες σε σχέση με τις αναπτυσσόμενες [150]. Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, 215.990 νέες περιπτώσεις αναμένεται να διαγνωστούν στο έτος 2004, από αυτές 59.390 των νέων περιστατικών είναι *in situ carcinoma* (27%) [151, 52]. Μια στις εννέα γυναίκες θα αναπτύξει καρκίνο του μαστού κατά τη διάρκεια της ζωής της, συνεπώς θεωρείται δεύτερη σε σειρά συχνότητας αιτία θανάτου μετά τον καρκίνο του πνεύμονα [148, 151]. Στατιστικά υψηλή συχνότητα αναφέρεται στις γυναίκες ισπανικής καταγωγής



με 11.000 νέα περιστατικά το 2003. Κάθε χρόνο πάνω από 3.500 Ελληνίδες παρουσιάζουν καρκίνο μαστού[152].

Οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τη συχνότητα του αποκρινούς καρκινώματος παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις. Η διάγνωση βασίζεται κυρίως στην παρατήρηση με οπτικό μικροσκόπιο, μερικές φορές υποβοηθείται από την μελέτη με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο[153].

Η συχνότητα των καρκινωμάτων αυτών κυμαίνεται μεταξύ 0.3% έως 4%. Ο Rosen προτείνει ότι ο όρος πρέπει να χρησιμοποιείται για τα νεοπλάσματα εκείνα που συνολικά ή σχεδόν το σύνολο του επιθηλίου παρουσιάζει αποκρινείς χαρακτήρες [154].

Κατά τον *Azzopardi*, η συχνότητα αυτού του ιστολογικού τύπου κυμαίνεται από 0.3%-0.4% όταν αποκρινείς χαρακτήρες αναγνωρίζονται στο σύνολο των κακοήθων νεοπλασματικών κυττάρων και αγγίζει το 1% όταν παρατηρούνται σε περιορισμένες θέσεις του νεοπλάσματος [74]. Ο *Fisher* και συνεργάτες αναφέρουν συχνότητα 2.2% και άλλοι ερευνητές προτείνουν ότι αυτή η συχνότητα μπορεί να είναι υψηλότερη στις περιπτώσεις όπου αναγνωρίζονται έστω υπαινικτικά χαρακτήρες αποκρινούς διαφοροποίησης [155]. Ο *Bonser* και οι συνεργάτες του αναφέρουν ποσοστό που αγγίζει το 14.5% [156]. Το 1981 ο *Haagensen* και οι συνεργάτες του αναφέρουν ότι 57% των καρκινωμάτων που αναπτύσσονται σε ασθενείς με κυστική μαστοπάθεια παρουσιάζουν αποκρινείς χαρακτήρες [157]. Επίσης εστιακή αποκρινή διαφοροποίηση που αγγίζει το 60% έχει αναφερθεί σε καρκινώματα χωρίς ειδικούς χαρακτήρες (πορογενή, NST).

Η συχνότητα ανέρχεται σε ποσοστό 72%, όταν ο αποκρινής φαινότυπος βασίζεται στην ανοσοϊστοχημική έκφραση της 15-kDa γλυκοπρωτεΐνης της κυστικής νόσου (GCDFP) [158, 159, 160].



Αυτές οι αξιοσημείωτες διαφορές επιβάλλουν την επιτακτική χρησιμοποίηση αντικειμενικών διαγνωστικών κριτηρίων για την διάγνωση αποκρινών καρκινωμάτων μέσω του οπτικού μικροσκοπίου.

Το αποκρινές καρκίνωμα αποτελεί παραλλαγή του πορογενούς καρκινώματος, αλλά εστίες αποκρινούς διαφοροποίησης έχουν αναφερθεί και σε ειδικούς τύπους θηλώδους καρκινώματος καθώς επίσης και πλειόμορφου λοβιακού καρκινώματος [161-165].

Το αποκρινές καρκίνωμα είναι ένας σπάνιος τύπος πορογενούς αδενοκαρκινώματος που απαντάται σε γυναίκες προχωρημένης ηλικίας, με μεγαλύτερη συχνότητα προσβολής κατά τη διάρκεια της έκτης και έβδομης δεκαετίας [165]. Διχογνωμίες αναφέρονται στην βιβλιογραφία όσον αφορά την πρόγνωση. Ωστόσο υποστηρίζεται ότι ασθενείς με αποκρινικό καρκίνωμα έχουν μεγαλύτερη επιβίωση [156], αυτή η υπόθεση δεν αποδεικνύεται βάσιμη σε σύγκριση με τους άλλους ιστολογικούς τύπους των πορογενών αδενοκαρκινωμάτων [159, 166]. Αποκρινή καρκινώματα απαντώνται και στα δύο φύλα εμφανίζονται ως συμπαγείς ή κυστικές επεξεργασίες με διάμετρο από 0.5-5 εκατοστά [167, 168].

Ιστολογικά τα καρκινωματώδη κύτταρα έχουν ηωσινόφιλο, αδιαφανές κυτταρόπλασμα διατάσσονται σε συμπαγείς αθροίσεις ή δοκίδες μοιάζουν με τα κύτταρα του επιθηλίου των αποκρινών αδένων μόνο μορφολογικά, χωρίς να δίνουν θετική τη χρώση Gomori για σίδηρο όπως τα κύτταρα των γνήσιων αποκρινών αδένων. Τα κοκκία είναι PAS-θετικά, PAS με διάσταση – ανθεκτικά, Sudan black και βλεννοκαρμίνη θετικά.. Στις περιοχές όπου παρατηρείται αδενική διαφοροποίηση και αναγνωρίζονται αυλικόι σχηματισμοί, τα κύτταρα παρουσιάζουν κυτταροπλασματικές προσεκβολές κατά μήκος τους. Ο βαθμός της ατυπίας ποικίλλει και τα νεοπλασματικά κύτταρα περιστασιακά παρουσιάζουν παράξενους, πολυλοβωτούς πυρήνες που περιέχουν πολλαπλά πυρήνια [167, 168].

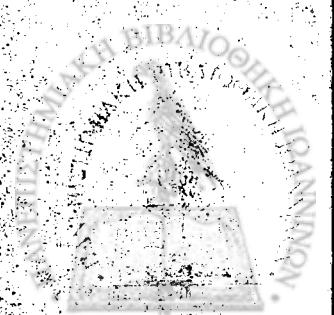


Η βιοψία με τη χρήση λεπτής βελόνης (FNAB) αποφέρει άφθονα πλειόμορφα καρκινικά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά έχουν άφθονο βασεόφιλο έως ηωσινόφιλο, κοκκιώδες κυτταρόπλασμα. Οι πυρήνες είναι διογκωμένοι και ασκοειδείς και βρίσκονται κεντρικά ή περιφερικά τοποθετημένοι. Τα πυρήνια είναι εμφανή και πολλαπλά [169].

Το καλά διαφοροποιημένο αποκρινικό καρκίνωμα θα πρέπει να διακρίνεται από την αποκρινή μετάπλαση και την αποκρινή υπερπλασία που απαντώνται σε υπερπλασία πόρων ή λοβίων. Ο πολύμορφος κυτταρικός πληθυσμός των υπερπλασιών, η έλλειψη σημαντικής υπερχρωμασίας και η ανισοπυρήνωση είναι κυτταρολογικά χαρακτηριστικά που συνηγορούν για τη διάγνωση των καλοήθων αποκρινών αλλαγών. Το 1980, καθορίστηκαν αυστηρά κυτταρολογικά κριτήρια βασισμένα στην πρωταρχική περιγραφή της « μη-κακοήθους ατυπίας », που είχε εισαγάγει στην Δεσνή Βιβλιογραφία ο Καθηγητής Γεώργιος Παπανικολάου [170]. Άλλες οντότητες που συμπεριλαμβάνονται στη διαφορική διάγνωση είναι ο λιποεκκριτικός και ο εκκριτικός τύπος αδenoκαρκινώματος [171,172].



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Το υλικό της μελέτης μας αποτελείται από 34 δείγματα μαστών νεκρών εμβρύων, που ελήφθησαν από το Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων και 16 από το Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Γενικού Νοσοκομείου Αλεξανδρούπολης. Οι μαστοί ελήφθησαν από νεκρά θήλεα έμβρυα. Τα δείγματα μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα φορμόλης 10% και στη συνέχεια εγκλείσθηκαν σε μπλόκ παραφίνης. Οι ληφθείσες τομές ήταν πάχους 4μm. Από κάθε μαστό πάρθηκαν πέντε μπλόκ και πέντε πλακίδια ετοιμάστηκαν από κάθε μπλόκ.

Μια τομή από κάθε περίπτωση χρώστηκε με χρώση ηωσίνης-αιματοξυλίνης και χρησιμοποιήθηκε για την ιστολογική εκτίμηση του μαζικού παρεγχύματος. Μια τομή χρησιμοποιήθηκε για ιστοχημική χρώση PAS diastase.

Η ανοσοϊστοχημική χρώση, έγινε με τη μέθοδο του συμπλέγματος αβιδίνης-βιοτίνης. Η τεχνική αυτή βασίζεται στην υψηλή συγγένεια της βιοτίνης προς την αβιδίνη, για τη δέσμευση της υπεροξειδάσης στο πρωταρχικό αντίσωμα. Έτσι είναι δυνατή η ανίχνευση αντιγόνων σε τομές παραφίνης, η οποία βασίζεται στη δυνατότητα εύκολου προσδιορισμού, με κοινό οπτικό μικροσκόπιο του μελετώμενου αντιγόνου, εφόσον προστεθεί ένας ιστοχημικά γνωστός δείκτης/αντίσωμα έναντι του άγνωστου αντιγόνου. Με τη χρησιμοποίηση και των δυο θέσεων σύνδεσης του αρχικού αντισώματος (τμήμα Fc και Fab), των αντισωμάτων ενός ενδιάμεσου αντιορού και του συμπλέγματος PAP επιτυγχάνεται η δημιουργία μιας αλυσιδωτής δέσμευσης αντισωμάτων και η έμμεση εντόπιση του αντιγόνου. Αναλυτικά τα στάδια της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου του συμπλέγματος αβιδίνης-βιοτίνης είναι τα κάτωθι:



- Τομές παραφίνης πάχους 2μm τοποθετήθηκαν σε κλίβανο, σε θερμοκρασία 60°C κατά τη διάρκεια της προηγούμενης νύχτας, ώστε να αποξηρανθούν.
- Αποπαραφίνωση με εμβύθιση των τομών σε ξυλόλη για 20'. Αλλαγή τη ξυλόλης έγινε στα πρώτα 10'.
- Ενυδάτωση των τομών σε κατιόντα διαλύματα αλκοόλης και απεσταγμένο νερό.
- Εμβύθιση των τομών σε απόλυτη μεθανόλη, η οποία περιείχε 3% H₂O₂ για 30'.
- Έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα tris-saline (TBS) pH=7.6
- Επικάλυψη των τομών με φυσιολογικό ορό κουνελιού, αραιωμένο 1/4 (normal rabbit serum -Dako [Καλλιφρονάς]), ή με φυσιολογικό ορό χοίρου, παρόμοιας αραιώσης (normal swine serum-Dako [Καλλιφρονάς]), ανάλογα με το αν πρόκειται για μονοκλωνικό ή πολυκλωνικό αντίσωμα αντίστοιχα για 10'.
- Απομάκρυνση του ορού από τις τομές.
- Επικάλυψη των τομών με τον εκάστοτε πρωταρχικό αντιορό για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου ή ολονύχτια στους 4°C.
- Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBS.
- Επικάλυψη των τομών με αντιορό κουνελιού έναντι ανοσοσφαιρίνης τετονικίου σε αραιώση 1:500 (rabbit anti-mouse biotinylated-Dako [Καλλιφρονάς]) ή με αντιορό χοίρου έναντι ανοσοσφαιρίνης τετονικού κουνελιού (swine anti-rabbit biotinylated-Dako [Καλλιφρονάς]), ανάλογα με το αν πρόκειται για μονοκλωνικό ή πολυκλωνικό αντίσωμα αντίστοιχα για 30'.



- Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBS.
- Επικάλυψη των τομών με το αντιδραστήριο του συμπλέγματος αβιδίνης-βιοτίνης (ABC complex-Dako [Καλλιφρονάς]) για 60'.
- Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBS.
- Επικάλυψη των τομών με φρέσκο διάλυμα χρωνογόνου, που περιέχει 0.035% διαμινοβενζιδίνη (DAB), σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris (ενεργοποιημένου από υπεροξείδιο του υδρογόνου) και έλεγχος των πλακιδίων με το κοινό μικροσκόπιο, μέχρι εμφάνισης φαιού χρώματος των κυττάρων.
- Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό.
- Χρώση των τομών με αιματοξυλίνη Harris για 4'.
- Έκπλυση των τομών με νερό βρύσης.
- Αφυδάτωση των τομών σε ανιόντα διαλύματα αλκοόλης.
- Καθαρισμός των τομών σε ξυλόλη.
- Επικάλυψη των τομών.

ΝΕΩΤΕΡΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ (ENVISION KIT, DAKO)

1. Από την προηγούμενη νύχτα τοποθετούμε τα πλακίδια στον κλίβανο στους 56° -60° C
2. Την επομένη ημέρα ξεκινάμε τη διαδικασία της χρώσης.
3. Αποπαραφίνωση με εμβύθιση των τομών σε ξυλόλη στον κλίβανο στους 56° C για 20'. Στη συνέχεια ενυδάτωση των τομών σε διαλύματα αλκοόλης



- (100° πολλές βουτιές, 96° πολλές βουτιές),έκπλυση με τρεχούμενο νερό κι εμβύθιση σε απεσταγμένο νερό.
4. Επικάλυψη των τομών με ένζυμο (τρυψίνη ή πρωτεϊνάση) ή τοποθέτησ στο φούρνο μικροκυμάτων για δύο δεκαπεντάλεπτα σε 300 Wat Χρησιμοποιούμε ρυθμιστικό διάλυμα citrate buffer ph=6.00.
 5. Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό.
 6. Εμβύθιση των τομών σε μεθυλική αλκοόλη,η οποία περιείχε 1% H_2C ώστε να δεσμευτεί η ενδογενής υπεροξειδάση.
 7. Έκπλυση με απεσταγμένο νερό τουλάχιστον τρεις φορές.
 8. Εμβύθιση σε ρυθμιστικό διάλυμα tris-saline (TBS) για χρονικό διάστημ 10'[DAKO,έτοιμη συσκευασία που διαλύεται σε 1 lit H_2O]
 9. Επικάλυψη των τομών με πρωτοταγές αντίσωμα (ολονύκτιο).
 10. Εμβύθιση σε TBS για χρόνο 10'.
 11. Επικάλυψη των τομών με envision HRP(DAKO, ποντικιού /κουνελιοί για 30'.
 12. Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBS για 10'.
 13. Επικάλυψη των τομών με φρέσκο διάλυμα χρωμογόνου,(1 ml buffer κι 20 μ l χρωστικής),και έλεγχος στο μικροσκόπιο,μέχρι εμφάνισης φαιο χρώματος των κυττάρων.
 14. Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό.
 15. Χρώση των τομών με αιματοξυλίνη Harris 10% για 1'.
 16. Έκπλυση των τομών με νερό βρύσης.
 17. Αφυδάτωση των τομών σε ανιόντα διαλύματα αλκοόλης.
 18. Καθαρισμός των τομών σε ξυλόλη.
 19. Επικάλυψη των τομών



Πρωτεΐνη-15 υγρού αδρής κυστικής νόσου

Λυοφιλοποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού

Για την *in vitro* διαγνωστική χρήση. Το NCL-GCDFP15 προορίζεται για χρήση στην ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός του μορίου της πρωτεΐνης υγρού της ανθρώπινης αδρής κυστικής νόσου (15 kd).

Αρχή της διαδικασίας.

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής χρώσης (IHC) επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτοταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτοταγές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική εναργopoποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Το δείγμα μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε αντίχρωση και να καλυφθεί με καλυπτρίδα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται με χρήση μικροσκοπίου φωτός και βοηθούν στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών εξεργασιών, οι οποίες ενδέχεται ή όχι να σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Κλώνος

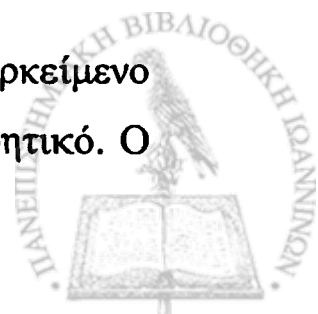
23A3

Ανοσόγόνo

Ανασυνδιασμένη προκαρυωτική πρωτεΐνη που αντιστοιχεί στην απεκκρινόμενη περιοχή του μορίου πρωτεΐνης υγρού της αδρής κυστικής νόσου (15 kd).

Σύνθεση αντιδραστηρίου

Το NCL-GCDFP15 είναι ένα λυοφιλοποιημένο υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει 15 mM αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Ο



χρήστης χρειάζεται να αναστήσει το περιεχόμενο του φυαλιδίου με τον σωστό όγκο αποστειρωμένου απεσταγμένου νερού.

Ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης: 1.0-8.0 g/L.

Συγκέντρωση αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 120.6 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA.

ΧΡΩΣΗ PAS

1. Ξυλόλη-Οινόπνευμα 100°-96°-70°
2. Απεσταγμένο νερό
3. 1% Periodic acid για 10 λεπτά
4. Νερό βρύσης για 5-10 λεπτά
5. Απεσταγμένο νερό
6. Αντιδραστήριο Sciff για 30 λεπτά
7. Νερό βρύσης για 5-10 λεπτά
8. Αιματοξυλίνη για 2 λεπτά
9. Νερό βρύσης για 5 λεπτά
10. Οινόπνευμα 70°-96°-100° Ξυλόλη-Κάλυψη

ΧΡΩΣΗ PAS-με διασάση

1. Ξυλόλη-Οινόπνευμα 100°-96°-70°
2. Απεσταγμένο νερό
3. Tampone Diastasato για 30 λεπτά
4. Νερό βρύσης για 10 λεπτά

Συνεχίζεται η διαδικασία της χρώσης από το στάδιο αυτό όπως και στη χρώση χρώση PAS.



ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Ο συνολικός αριθμός των νεκρών εμβρύων που εξετάσθηκαν είναι 50. Η ηλικία κύησης κυμαίνεται από δεκαεννέα έως σαράντα εβδομάδες. Στην πρώτη ομάδα συμπεριλαμβάνονται έμβρυα ηλικίας κύησης δεκαεννέα έως εικοσιοκτώ εβδομάδων, στη δεύτερη ομάδα έμβρυα εικοσιοκτώ έως τριανταπέντε εβδομάδων και στην τρίτη ομάδα έμβρυα ηλικίας τριανταπέντε έως σαράντα εβδομάδες. -

Συμπεριλαμβάνεται στο υλικό μας μαστός νηπίου ηλικίας δύο ετών.

Ηλικία και αίτια θανάτου των εμβρύων

Συμπεριλαμβάνεται στο υλικό μας μαστός νηπίου ηλικίας δύο ετών. Οι κυριότερες αιτίες ενδομήτριου θανάτου των εμβρύων με φυσιολογική διάπλαση είναι οι λοιμώξεις και η ενδομήτρια υποξία. Η τελευταία κυριαρχεί στο τρίτο τρίμηνο της κύησης και αιτιολογικά κυρίως αποδίδεται σε μητρικούς παράγοντες (διαβήτης, υπέρταση, αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, καρδιολογική ή νεφρική νόσος, αναιμία, προεκλαμψία) και πλακουντιακούς παράγοντες (πρόωρη αποκόλληση, επιπωματικός πλακούντας, λοίμωξη). Η αναγνώριση της ενδομήτριας ασφυξίας βασίζεται σε ενδείξεις από την εξωτερική επισκόπηση του εμβρύου (ίχνη μηκωνίου στο δέρμα, πετέχειες), από τη μακροσκοπική εξέταση των οργάνων (εγκεφαλικές αλλοιώσεις, αιμορραγίες ή αγγειακή συμφόρηση οργάνων) και τέλος από χαρακτηριστικές ιστολογικές αλλοιώσεις (σύνδρομο εισρόφησης μηκωνίου από τους πνεύμονες, υποξικές εγκεφαλικές αλλοιώσεις, οξεία σωληναριακή νέκρωση νεφρών, λεμφοπενικές αλλοιώσεις θύμου, αιμορραγική νέκρωση επινεφριδίων).



Ανιούσα ενδομήτρια πνευμονία του εμβρύου συμβαίνει μέσω εισροφήσεως μολυσμένου αμνιακού υγρού μετά από χοριοαμνίτιδα.

Σηψαιμία του εμβρύου μπορεί να προκληθεί κατόπιν ανιούσας από τε τράχηλο ή αιματογενούς διαπλακουντιακής διασποράς του λοιμώδους παράγοντα. Συχνότερα ανευρίσκεται πνευμονία και σπανιότερα μηνιγγίτιδα.

Στο υλικό της μελέτης μας τα αίτια θανάτου των εμβρύων και νεογνών ήταν τα κάτωθι: χοριοαμνίτιδα, πνευμονία, πλακουντιακή αιμορραγία, σύνδρομο υαλοειδούς μεμβράνης και μαζική εγκεφαλική αιμορραγία. Στον πίνακα συνοψίζονται η ηλικία κύησης- αίτια θανάτου.

Ανοσοϊστοχημική εκτίμηση

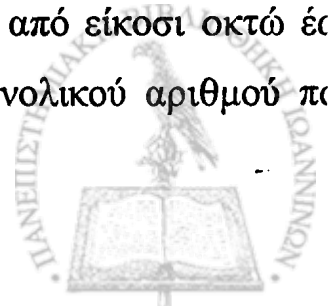
Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης προσδιορίστηκε σε οπτικό μικροσκόπιο χωρίς κλινικές πληροφορίες για την κάθε περίπτωση. Η ανοσοϊστοχημική χρώση εκτιμήθηκε μόνο στις περιοχές όπου υπήρχε καλά διατηρημένος ιστός καθώς και σε περιοχές χωρίς αλλοιώσεις ή artifacts.

Στατιστική Ανάλυση

Ο συνολικός αριθμός των νεκρών εμβρύων που εξετάστηκαν ήταν 50. Το υλικό μας χωρίστηκε σε ομάδες με βάση την ηλικία ενδομήτριας ανάπτυξης.

Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει έμβρυα ηλικίας από 19 έως 28 εβδομάδες. Παρατηρήθηκε ότι στην πρώτη ομάδα περιλαμβάνονται είκοσι πέντε έμβρυα που αναλογούν στο 50% του συνολικού αριθμού των εμβρύων που εξετάστηκαν.

Η δεύτερη ομάδα αποτελείται από 9 έμβρυα, ηλικίας από είκοσι οκτώ έως τριανταπέντε εβδομάδες κύησης, ποσοστό 18% του συνολικού αριθμού που εξετάστηκαν.



Η τρίτη ομάδα αποτελείται από έμβρυα τριανταπέντε έως σαράντα εβδομάδων, ο συνολικός αριθμός αυτών ήταν 16, που αντιπροσωπεύει το 32% του συνολικού αριθμού των εμβρύων που εξετάσθηκαν.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε σε ηλεκτρονικό υπολογιστή χρησιμοποιώντας το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) (Windows, version 10). Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Krùshal Wallis Anova.

Στο πρώτο *group* με ενδομήτρια ανάπτυξη (19-28 εβδομάδες κύησης), η τιμή της GCDFP-15 ήταν μηδέν και στα 25 περιστατικά που μελετήθηκαν.

Στο δεύτερο *group* ενδομήτριας ανάπτυξης (28-35 εβδομάδες κύησης), η μέση τιμή της GCDFP-15 ήταν (mean value=25.8). Η ελάχιστη τιμή των κυττάρων των πόρων που ανευρέθηκαν και εξέφρασαν ανοσοϊστοχημικά την πρωτεΐνη GCDFP-15, ήταν το ελάχιστο 1 και η μέγιστη τιμή ήταν 60.

Στο τρίτο *group* ενδομήτριας ανάπτυξης που αποτελείται από 16 έμβρυα, η μέση τιμή ήταν 89.3 (mean value =89.3). Η ελάχιστη τιμή των επιθηλιακών κυττάρων των πόρων που εξέφρασαν την πρωτεΐνη GCDFP-15 ήταν 66% και η μέγιστη 100% , στο σύνολο των κυττάρων των πόρων που εξετάσθηκαν.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α. Χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης

Αρχικά πραγματοποιήθηκε εκτίμηση των 50 συνολικά περιστατικών με κοινό οπτικό μικροσκόπιο, μετά από την επεξεργασία των δειγμάτων με τη χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης.

Οι μαστοί των εμβρύων με ηλικία κύησης από 28 έως 32 εβδομάδες κατά τη μικροσκόπηση με κοινό μικροσκόπιο και μικρή μεγένθυση παρουσιάζονται σαν μικροί, καλά περιγεγραμμένοι όζοι στο χόριο. Στους όζους αυτό παρατηρούμε στρογγύλου-οβάλ σχήματος πόρους που περιβάλλονται με μεσέγχυμα και ενίοτε αναγνωρίζεται ενδοαυλικά άμορφο υλικό, αποφολιδωμένα κύτταρα και νεκρωτικά αποτρίμματα. Οι πόροι αυτοί επενδύονται από διπλό στοίχο επιθηλιακών κυττάρων. Τα κύτταρα του εξωτερικού στοίχου παρουσιάζουν ακαθόριστα, συγκεχυμένα κυτταροπλασματικά όρια και φέρουν διαυγές κυτταρόπλασμα με ασκοειδείς πυρήνες. Η εσωτερική στιβάδα κυττάρων παρουσιάζει ασθενώς ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και ενίοτε ακανόνιστες αυλικές κυτταροπλασματικές προσεκβολές.

Σε προχωρημένα στάδια κύησης οι μαστοί μεγεθύνονται και επεκτείνονται εως τον υποδόριο ιστό. Οι πόροι εμφανίζονται περισσότερο διακλαδιζόμενοι με στρογγύλες-τυφλές απολήξεις. Οι πόροι επενδύονται από δύο εως τρεις στοίχους κυττάρων με παρόμοια χαρακτηριστικά που περιγράφησαν προηγουμένως.



B. ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η αξιολόγηση των πλακιδίων που χρώστηκαν με τη ιστοχημική χρώση PA diastase ήταν αρνητική.

Γ. ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Σε όλους τους εμβρυικούς μαστούς της δεύτερης και τρίτης ομάδας που μελετήθηκαν αναγνωρίστηκαν διάσπαρτα επιθηλιακά κύτταρα με κυτταροπλασματική διάχυτη θετικότητα έναντι του αντισώματος GCDFP-1. Αυτά τα κύτταρα ανευρίσκονταν σε ορισμένους πόρους χωρίς ιδιαίτερη αρχιτεκτονική κατανομή και παρουσίαζαν αύξηση στον αριθμό τους όσο αυξάνονταν η ηλικία κύησης. Σημαντικά αυξημένος ήταν ο αριθμός των κυττάρων των εμβρυικών μαστών μεγαλύτερων της τριακοστής όγδοι εβδομάδας κύησης.

Οι ιδρωτοποιοί αδένες του δέρματος που βρίσκονταν πάνω από τον μαστούς που μελετήθηκαν παρουσίαζαν πολυάριθμα κύτταρα θετικά στο αντίσωμα GCDFP-15, ενώ το πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο ήταν αρνητικό.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή είχε στόχο την ιστογενετική προσέγγιση του αποκρινούς επιθήλιου στο μαζικό αδένια σε νεκροτομικό υλικό εμβρύων και νεογνών.

Το αποκρινές επιθήλιο του μαστού αποτελούσε και αποτελεί αντικείμενο έντονης αντιπαράθεσης μεταξύ των επιστημόνων. Θεωρήθηκε φυσιολογικό συστατικό του αδένια, προϊόν μετάπλασης ή εκφύλισης ή υποστοφής ή γενεσιουργό αίτιο της κυστικής νόσου ή προγεννήτορας των υψηλής κακοήθειας μη διηθητικών καρκινωμάτων και διηθητικών καρκινωμάτων.

Η γνώση και κατανόηση των γεγονότων που οδηγούν στη διαφοροποίηση και μορφογένεση του θηλυκού μαστού είναι δυνατό να αποσαφηνίσουν ορισμένα χαρακτηριστικά που αφορούν την ανατομία του φυσιολογικού ώριμου και την παθογένεση των αλλοιώσεων που εμφανίζονται σ' αυτόν [173-175]. Υπάρχουν αναφορές στη Διεθνή Βιβλιογραφία ότι η καρκινογένεση είναι δυνατό ν' αρχίζει κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης [176-180].

Η καρκινογένεση είναι η διεργασία που οδηγεί σε εξαλλαγή φυσιολογικών κυττάρων προς κακοήθη νεοπλασματικά με την πρόκληση μόνιμων βλαβών στο γενετικό υλικό (μεταλλάξεις), οι οποίες μεταβιβάζονται σε κάθε γενιά (κλώνο) νεοπλασματικών κυττάρων. Ο καρκίνος είναι μια ετερογενής νόσος που περιλαμβάνει μια μεγάλη ποικιλία παθολογικών οντοτήτων και ευρύ φάσμα κλινικής συμπεριφοράς [181-183].

Σε μοριακό επίπεδο γενετικές αλλαγές έχουν σαν αποτέλεσμα εκτροπή του φυσιολογικού κυτταρικού κύκλου. Στα πλαίσια της προσπάθειας κατανόησης της καρκινογένεσης και της αντιμετώπισης της νόσου γίνονται επισταμένες προσπάθειες να προσδιοριστεί το προφίλ του καρκινικού κυττάρου στο επίπεδο του γενετικού υλικού αλλά και στο επίπεδο της γονιδιακής έκφρασης.



Τα στάδια ανάπτυξης του αδένου είναι σύνθετα και όχι απόλυτα διασαφηνισμένα. Η δομική ανάπτυξη του πορογενούς συστήματος και η λειτουργική διαφοροποίηση του επικαλυπτικού επιθηλίου στα πρώτα στάδια ανάπτυξης έχουν περιγραφεί κατά το παρελθόν. Η ανάπτυξη του μαστού αρρεόχει έχει διαιρεθεί σε τρία μορφολογικά στάδια (MS I-III) και πέντε λειτουργικά (FS I-V) [184].

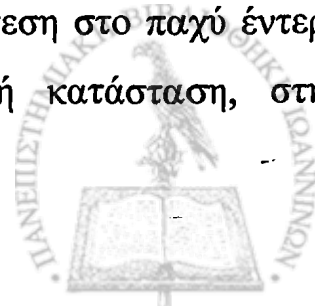
Ο Dabelow το έτος 1957 και ο Vorherr το 1974 περιέγραψαν στις εργασίες τους την ανάπτυξη λοβιοκυψελιδικών δομών κατά τη χρονική περίοδο μεταξύ τριακοστής δεύτερης και τεσσαρακοστής εβδομάδας κύησης [185, 186].

Λοβιακές δομές και διατεταμένοι πόροι πληρούμενοι από εκκρίσεις κοκκιοκυτταρικού τύπου επιθήλιο περιγράφονται σε νεογέννητα από τους ερευνητές Russo και Russo [176, 187, 188].

Τα ευρήματα της δικής μας εργασίας βρίσκονται σε απόλυτη συμφωνία με τα αποτελέσματα που έχουν αναφερθεί στην εργασία Viacava και συνεργατών [65].

Η παρουσία κυττάρων που δε φέρουν αποκρινή μορφολογικά χαρακτηριστικά, αλλά παρουσιάζουν λειτουργικότητα αποκρινούς κυττάρου δίνοντας θετική έκφραση στο δείκτη αποκρινούς διαφοροποίησης GCDFP-1 είναι παρόντα από την εικοστή όγδοη εβδομάδα κύησης και αυξάνονται με τη πρόοδο της εγκυμοσύνης. Τα προαναφερθέντα κύτταρα είναι δυνατό να ονομάζονται «προαποκρινή» (pre-apocrine) κατά Bussolati [70] ή κύτταρα «κύτταρα προγεννήτορες αποκρινούς διαφοροποίησης» κατά Viacava [65].

Ιστορικά, η ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού θεωρούνταν σαν μια πολυσταδιακή διαδικασία, κατά την οποία γενετικά και επιγενετικά γεγονότα καθόριζαν τη μετατροπή των φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά, παρόμοια με το μοντέλο Volgestein που αφορούσε την καρκινογένεση στο παχύ έντερο και τις προοδευτικές αλλαγές από την φυσιολογική κατάσταση, στη



υπερπλασία με ή χωρίς ατυπία, μη διηθητικό καρκίνωμα, διηθητικό καρκίνωμα και στην ανάπτυξη μετάστασης [189].

Στις μέρες μας τα μορφολογικά κριτήρια στην αξιολόγηση των πρόδρομων αλλοιώσεων του μαστού παραμένουν χρήσιμα και αξιόπιστα. Τα νεότερα δεδομένα όμως της Ανοσοϊστοχημείας και της Μοριακής Γενετικής άλλαξαν τη θεωρία της πολυσταδιακής διαδικασίας της καρκινογένεσης του μαστού [190, 191].

Η πρώτη σύνδεση καρκίνου και γενετικών ανωμαλιών πραγματοποιήθηκε από τον Γερμανό Παθολογοανατόμο David von Hansemann το 1890 [192].

Είναι πιθανό ότι γενετικές αλλαγές συμβαίνουν στα πρώτα στάδια της ανάπτυξης του μαζικού αδένου, αλλά για να τεκμηριωθεί αυτή η άποψη απαιτείται εκτεταμένη έρευνα για να προσδιοριστεί η γενετική αστάθεια-έλλειψη ετεροζυγωτίας (LOH) σε όλα τα τεταρτημόρια του μαστού [193]. Προφανώς η γενετική αστάθεια σε φυσιολογικά λόβια ασθενών με καρκίνο του μαστού είναι ο λόγος που ενώ υποβάλλονται σε ριζική εκτομή του όγκου αργότερα παρουσιάζουν υποτροπή της νόσου. Στη Βιβλιογραφία υπάρχουν τεκμηριωμένες μελέτες ότι έλλειψη ετεροζυγωτίας-LOH σε περιπτώσεις ασθενών με διηθητικά καρκινώματα αναγνωρίζεται και σε μορφολογικά υγιή λόβια που γειτνιάζουν στις εστίες του όγκου [194, 195]. Τα παραπάνω ευρήματα μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι πιθανά ορισμένα από τα αδενικά λόβια του μαστού είναι κλωνικής φύσης. Οι γενετικές ανωμαλίες που ανευρίσκονται σε φυσιολογικά κύτταρα των πόρων ή των τελικών πορολοβιακών μονάδων (TDLU) παρουσιάζουν ελάχιστες ή καθόλου ομοιότητες με τα γειτνιάζοντα κακοήθη νεοπλασματικά, αυτές οι ανωμαλίες μπορεί να υποδηλώνουν ελαττωματικούς μηχανισμούς για την διατήρηση της γονιδιακής ακεραιότητας, που είναι δυνατό να συμβάλουν στην καρκινογένεση και υποδηλώνουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης κακοήθους νόσου [196].



Το αποκρινές κύτταρο στο παρελθόν θεωρήθηκε υπεύθυνο για τη ανάπτυξη της κυστικής νόσου. Υπάρχουν δύο τύποι κύστεων του μαστού. Ο τύπος I που επενδύεται από αποκρινή κύτταρα και περιέχει υγρό με υψηλές συγκεντρώσεις στεροειδών, ανδροστερόνης, επιανδροστερόνης και δευδροεπιανδροστερόνης.

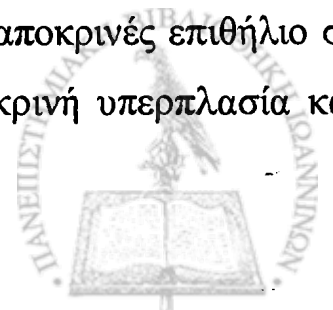
Οι απόψεις δίστανται στη Διεθνή Βιβλιογραφία για τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού σε ασθενείς με κυστική νόσο. Ο μεγαλύτερος όγκος αυτών αναφέρουν ότι οι ασθενείς με κύστες τύπου I παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο νόσησης από καρκίνο του μαστού σε σύγκριση με τις ασθενείς με κύστες τύπου II

[90-93]. Στις ομάδες υψηλού κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου οι αποκρινείς αλλοιώσεις είναι συχνότερες από ότι στις ομάδες χαμηλού κινδύνου [141].

Τα αποκρινή κύτταρα στερούνται ορμονικών υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης, έκφρασης του αντιαποπτωτικού γονιδίου bcl-2, ενώ φέρουν υποδοχείς ανδρογόνων. Τα επίπεδα αποκρινή κύτταρα θα μπορούσε να ισχυριστεί κάποιος ότι αντιπροσωπεύουν τελικά στάδια διαφοροποίησης, αλλά βιβλιογραφικά δεδομένα αποδεικνύουν μεταβολική δραστηριότητα του επιθηλίου καθώς επίσης και μικρό ποσοστό πολλαπλασιασμού αυτών [66, 127, 130, 131].

Ιστολογικές οντότητες που ενέχουν κίνδυνο ανάπτυξης κακοήθειας όπως σύνθετη επιθηλιακή υπερπλασία ανευρίσκονται πιο συχνά σε αποκρινείς κύστες. Ιστολογικά χαρακτηριστικά μετάβασης του καλοήθους αποκρινούς επιθηλίου σε διηθητικό καρκίνωμα με μορφολογική αξιολόγηση έχουν αναφερθεί στη Βιβλιογραφία [94].

Η εργασία της Καθηγήτριάς μας Ν.Ι.Αγνάντη που αφορούσε την ανώμαλη έκφραση των ογκογονιδίων ras p21 και c-myc p62 στο αποκρινές επιθήλιο σε περιπτώσεις σύνθετης κυστικής νόσου με θηλώδη αποκρινή υπερπλασία και



εισηγήθηκε την πιθανή προ-νεοπλασματική φύση των αποκρινών κυττάρων άνοιξε καινούργιους δρόμους στο ερευνητικό πεδίο [138].

Ο καρκίνος σπάνια αναπτύσσεται σε κύστεις, αλλά οι κύστεις μπορεί να είναι ο δείκτης αυξημένης επιθηλιακής δραστηριότητας στο μαζικό αδένια που καθιστά το μαστό επιρρεπή στην καρκινογένεση.

Διαθέτοντας στο ερευνητικό οπλοστάσιο εκτός από την κλασσική κυτταρογενετική προσέγγιση, τη φθορισμική υβριδοποίηση in-situ (FISH), το συγκριτικό γενομικό υβριδισμό (CGH), το πολυχρωματικό υβριδισμό M-FISH μας παρέχεται η δυνατότητα να μελετήσουμε μοριακά δεδομένα των καλοήθων υπερπλασιών, των προδιηθητικών αλλοιώσεων και τη σχέση τους με το διηθητικό καρκίνωμα [198].

Τουλάχιστον ένα μέρος των αλλοιώσεων με αποκρινή μορφολογία παρουσιάζουν γενετική αστάθεια -κυρίως απώλεια της ετεροζυγωτίας (LOH)- με πιο συχνά εμπλεκόμενα χρωμοσωμικά σκέλη τα 1p, 11q, 13q, 16q, 17q [199, 200].

Έρευνες με CGH σε αποκρινή μετάπλαση, αποκρινές καρκίνωμα in-situ και το αντίστοιχο διηθητικό αναφέρουν κοινές γενετικές αλλαγές που αυξάνονται ανάλογα με το βαθμό κακοήθειας. Με την τεχνική CGH ανιχνεύονται περίσσεια γενετικού υλικού στα χρωμοσωμικά σκέλη 1p, 2q και 13q και έλλειψη γενετικού υλικού στα σημεία 1p, 2p, 10q, 16q, 17q και 22q [201].

Τα παραπάνω ευρήματα παρατηρούνται συχνότερα στην αποκρινή αδένωση, αποκρινή υπερπλασία σε σύγκριση με τις αποκρινείς κύστεις για μεγάλο χρονικό διάστημα αγνοούνταν από τους Παθολογοανατόμους. Αξιοσημείωτο είναι ότι αλλοιώσεις υπερπλασίας με αρχιτεκτονική δομή μικροθηλώδους μη διηθητικού καρκινώματος (micropapillary DCIS) θεωρούνταν ως καλοήθειες λόγω του άφθονου ροδόχρου κυτταροπλάσματος [202, 203]. Αλλοίωση που θεωρούνταν σαν θηλώδης αποκρινής υπερπλασία θα μπορούσε να διαγνωστεί ως DCIS από ορισμένους Παθολογοανατόμους αν



αγνοούνταν η αποκρινής φύση τους.Βιβλιογραφικά τεκμηριωμένη είναι άποψη ότι ορισμένες από αυτές τις αλλοιώσεις αντιπροσωπεύουν τοι προγεννήτορες των υψηλής κακοήθειας μη διηθητικών καρκινωμάτων και το διηθητικών καρκινωμάτων [204].

Καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το αποκρινές επιθήλιο μπορεί να είναι πιθανά ο προπομπός κακοήθους μεταμόρφωσης ή μπορεί να αντιπροσωπεύ ένα είδος απάντησης στο ίδιο ερέθισμα που προάγει την καρκινογένεση μπορεί να υποδηλώνει αστάθεια του επιθηλίου και ανάπτυξη αλλοιώσεων με μεγαλύτερη προδιάθεση για την ανάπτυξη κακοήθους νόσου. Κύτταρα με αποκρινείς χαρακτήρες που στερούνται αποκρινούς μορφολογία ανευρίσκονται στο μαζικό αδένα από την εικοστή όγδοη εβδομάδα κύησης και βαθμιαία αυξάνονται .

Άγνωστοι μηχανισμοί δημιουργούν το κατάλληλο περιβάλλον (πιθανά με ανδρογόνα) για την ωρίμανσή τους, τον πολλαπλασιασμό τους ή τη μετατροπή ορισμένων απ'αυτά σε προγεννήτορες της κυστικής νόσου ή υψηλού βαθμ κακοήθειας μη διηθητικού καρκινώματος DCIS ή διηθητικού καρκινώματος.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης τα συμπεράσματα που μπορούμε να εξάγουμε είναι τα εξής:

- Όλοι οι μαστοί νεκρών εμβρύων με ηλικία κύησης δεκαεννέα εβδομάδων έως δύο ημερών στερούνται λοβιακών μονάδων, παρουσιάζουν όμως πορογενείς δομές οι οποίες περιβάλλονται από χαλαρό στρώμα και παρουσιάζουν πολυστιβάδωση επιθηλιακών κυττάρων. Μικρός αριθμός στοιχειωδών λοβίων αναγνωρίζεται στο μαστό ηλικίας δύο ετών. Συγχρόνως παρατηρείται μείωση του αριθμού των επιθηλιακών κυττάρων στους πόρους και περιπορική ανάπτυξη πυκνού συνδετικού ιστού.
- Μυοεπιθηλιακά κύτταρα αναγνωρίζονται σε όλες τις ηλικίες χωρίς ιδιαίτερες αλλαγές ως προς την ποσότητα και την κατανομή.
- Η πρωτεΐνη GCDFP-15 εκφράζεται στους εμβρυϊκούς μαζικούς αδένες από την εικοστή όγδοη εβδομάδα κύησης.
- Κύτταρα τα οποία εκφράζουν την GCDFP-15 ανευρίσκονται σε όλους τους εμβρυϊκούς μαστούς και βαθμιαία αυξάνονται με την πρόοδο της εγκυμοσύνης.
- Περιστασιακά ορισμένα κύτταρα σε λοβιακές μονάδες ώριμων μαστών εκφράζουν GCDFP-15.
- Τα κύτταρα που στερούνται τη μορφολογία των αποκρινικών, αλλά εκφράζουν την GCDFP-15 προτείνουμε να ονομάζονται προαποκρινικά ή προγεννήτορες των αποκρινικών κυττάρων.



ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η πρωτεΐνη GCDFP-15 εκφράζεται στους εμβρυϊκούς μαζικούς αδένες από την εικοστή όγδοη εβδομάδα κύησης. Τα κύτταρα που στερούνται τη μορφολογία των αποκρινικών, αλλά εκφράζουν την GCDFP-15 πρότείνουμε να ονομάζονται προαποκρινικά ή προγεννήτορες των αποκρινικών κυττάρων.
- Στηριζόμαστε σε πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα και υποστηρίζουμε την άποψη ότι καλοήθεις αποκρινείς αλλοιώσεις που παρουσιάζουν μοριακές αλλαγές μπορεί να θεωρούνται ως κλωνικές και προγεννήτορες κακοήθους εξαλλαγής. Πιστεύουμε ότι μεγαλύτερες κλινικές έρευνες και μοριακές μελέτες απαιτούνται για την ενδελεχή κατανόηση της φυσικής εξέλιξης των αποκρινών κυττάρων.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ονομασία αποκρινές επιθήλιο προέρχεται από την ελληνική λέξη από + έκκριση, οφείλεται στην παρουσία θραυσμάτων του κυτταροπλάσματος στον αυλό των αδενίων και την απώλεια μέρους του κορυφαίου τμήματος του κυτταροπλάσματος όταν ολοκληρωθεί η έκκριση των επιθηλιακών κυττάρων.

Τα αποκρινή επιθηλιακά κύτταρα που απαντώνται στο μαστό, είναι μεγάλα κύτταρα έχουν άφθονο ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα, πλούσιο σε μιτοχόνδρια, των οποίων η υπερμικροσκοπική εντόπιση και η κατανομή είναι η ίδια με των αποκρινών κυττάρων του δέρματος. Είναι πλούσια σε οξειδωτικά ένζυμα, κυρίως σε όξινη φωσφατάση και διυδρογονάσες (γεγονός που συμβιβάζεται με τα πολλά μιτοχόνδρια) και έχουν αναπτυγμένη συσκευή Golgi, ενδεικτικό της έντονης εκκριτικής τους δραστηριότητας. Είναι θετικά στη χρώση PAS και ιδιαίτερα προς το αυλικό τμήμα του κυττάρου. Τα PAS θετικά κοκκία είναι ανθεκτικά στη διάσταση και αντιστοιχούν σε σύνθετα λιπίδια (γλυκολιπίδια και φωσφολιπίδια). Ακόμη τα αποκρινή κύτταρα περιλαμβάνουν κατά τόπους στο κυτταρόπλασμά τους κοκκία καφεοειδούς χρωστικής καθώς και κοκκία αιμοσιδρινής όπως και τα αποκρινή κύτταρα του δέρματος.

Ανοσοϊστοχημικές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία καλοήθων και κακοήθων οντοτήτων του μαστού, που παρουσιάζουν αποκρινή διαφοροποίηση, αναφέρουν ότι τα κύτταρα αυτά στερούνται τους ορμονικούς υποδοχείς οιστρογόνων/προγεστερόνης (ER/PR), φέρουν ορμονικούς υποδοχείς ανδρογόνων (AR), σε αντίθεση με το φυσιολογικό επιθήλιο του μαστικού αδένου. Συνεπώς τα αποκρινή κύτταρα διαφέρουν όχι μόνο σε μορφολογικό επίπεδο αλλά και σε βιολογικό από τα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού.

Το αποκρινές επιθήλιο στο μαστικό αδένου, απαντάται σε ευρύ φάσμα οντοτήτων, τόσο σε καλοήθεις καταστάσεις όσο και σε κακοήθειες. Έχουν γίνει



διάφορες μελέτες (ιστοχημικές, ανοσοϊστοχημικές, νεκροτομικ κυτταροκαλλιέργειες ή με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο) για την προέλευση των αποκρινών κυττάρων στο μαζικό αδέν. Ακόμη και σήμερα όμως παραμένει μια αινιγματική οντότητα. Θεωρείται σαν προϊόν φυσιολογικής διαφοροποίησης ή μετάπλασης ή εκφύλισης ή έγκλεισης αποκρινών αδένων στην περιοχή του μαζικού αδένου.

Σκοπός, της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η αποσαφήνιση της ιστογένεσης του αποκρινούς επιθηλίου του μαζικού αδένου. Ερευνήσαμε την παρουσία αποκρινών κυττάρων ή κυττάρων με αποκρινή διαφοροποίηση και τη διάρκεια της ανάπτυξης του ανθρώπινου μαζικού αδένου, εξετάζοντας νεκροτομικό υλικό 50 θήλεων εμβρύων και ενός νεογνού.

Μελετήθηκε η κυτταρομορφολογία των αδενικών δομών σε το αιματοξυλίνης-ηωσίνης, η ιστοχημική και η ανοσοϊστοχημική έκφραση των αποκρινών διαφοροποίησης.

Κατά τη μικροσκόπηση με το κοινό μικροσκόπιο οι μαστοί των εμβρύων παρουσιάζονται σαν μικροί καλά περιγεγραμμένοι όζοι που περικλείονται από στρογγύλους –οβάλ πόρους.

Η αξιολόγηση των πλακιδίων που χρώστηκαν με την ιστοχημική χρώση Papanicolaou ήταν αρνητική.

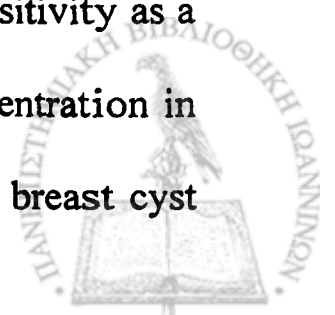
Η πρωτεΐνη GCDFP-15 εκφράζεται στους εμβρυϊκούς μαζικούς αδένες από την εικοστή όγδοη εβδομάδα κύησης.

Τα κύτταρα που στερούνται τη μορφολογία των αποκρινικών, αλλά εκφράζουν την GCDFP-15 προτείνουμε να ονομάζονται προαποκρινικά ή προγεννήτο των αποκρινικών κυττάρων



ABSTRACT

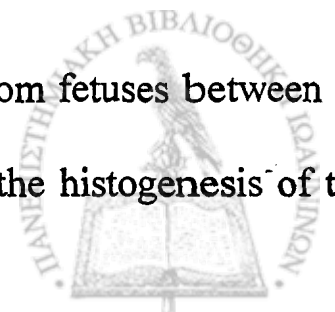
The apocrine epithelium (from the Greek word από + έκκριση), is a normal constituent of apocrine glands of axillary, anogenital skin, eyelids (Moll), ears (ceruminous), and mammary area, which consists of cells with eosinophilic cytoplasm that may contain lipid, iron, lipofuscin, PAS-positive diastase-resistant granules and a large nucleus located near the base of the cell. Fragments of apical cytoplasm are found in the lumen of these glands. The apocrine glands develop as epithelial buds from the outer root sheath of the hair follicles in 5 to 6 month-old fetuses and continue into late embryonic life as long as new hair follicles develop. The glycoprotein GCDFP-15, of 15kDa, the major component of cyst fluid, represents an immunocytochemical marker of apocrine differentiation which is more reliable than morphology and the detection of PIP/GCDFP-15 mRNA using in situ hybridization. It is identical to the gene of the prolactin inducible protein (PIP) described in the breast cancer line T-47D. The gene is expressed in apocrine glands and in exocrine organs that have common phylogenetic features with apocrine glands such as the bronchial epithelium, the sweat, salivary and lacrimal glands and the seminal vesicles. According to human genome sequencing data, the GCDFP/PIP is localized at 7q34. The GCDFP-15 had 95% specificity and 74% sensitivity as a marker for breast cancer. GCDFP-15 is present at a very low concentration in the plasma of physiological women and is 140.000 times higher in breast cyst



fluid compared to plasma. The concentration in amniotic fluid of pregnant women is 7.200 ng/ml. An appreciable discriminating feature between apocrine cells and normal luminal epithelial cells of the breast is that while the former express androgen receptors and lack estrogen and progesterone receptors the latter are ER/PR positive and AR negative. The apocrine cells differ from normal cells not only morphologically but also biologically

The origin of apocrine cells has always been a contradictory issue. Several answers have been given for the presence of this enigmatic entity. The existence of apocrine cells in the breast has generally been regarded as a metaplasia process but this issue has recently been debated. Some authors believe that apocrine metaplasia in general is a terminally differentiated entity, and others considered that the apocrine epithelium is degenerate epithelium. Epithelial cells in some very primitive structures with no particular distribution produce GCDFP-15 in normal fetal breast and their overall number increased with gestational age. It was mentioned in the infant under development, that apocrine metaplasia was seen as part of the post neonatal involution. Others suggest that apocrine epithelium belong to entrapped cutaneous apocrine glands in the area of mammary gland during the process of development.

We analyzed 50 autopsy specimens of female breasts from fetuses between 28 and 40 weeks of gestational age, in an attempt to clarify the histogenesis of the



breast apocrine epithelium .We examined for the presence of apocrine cells or cells with apocrine differentiation during human breast development. Formalin – fixed,paraffin-embedded sections of 50 female fetuses breasts specimens were stained with haematoxylin –eosin,PAS-diastrase and were investigated immunohistochemically (using the avidin –biotin immunoperoxidase method) for apocrine marker GCDFP-15.

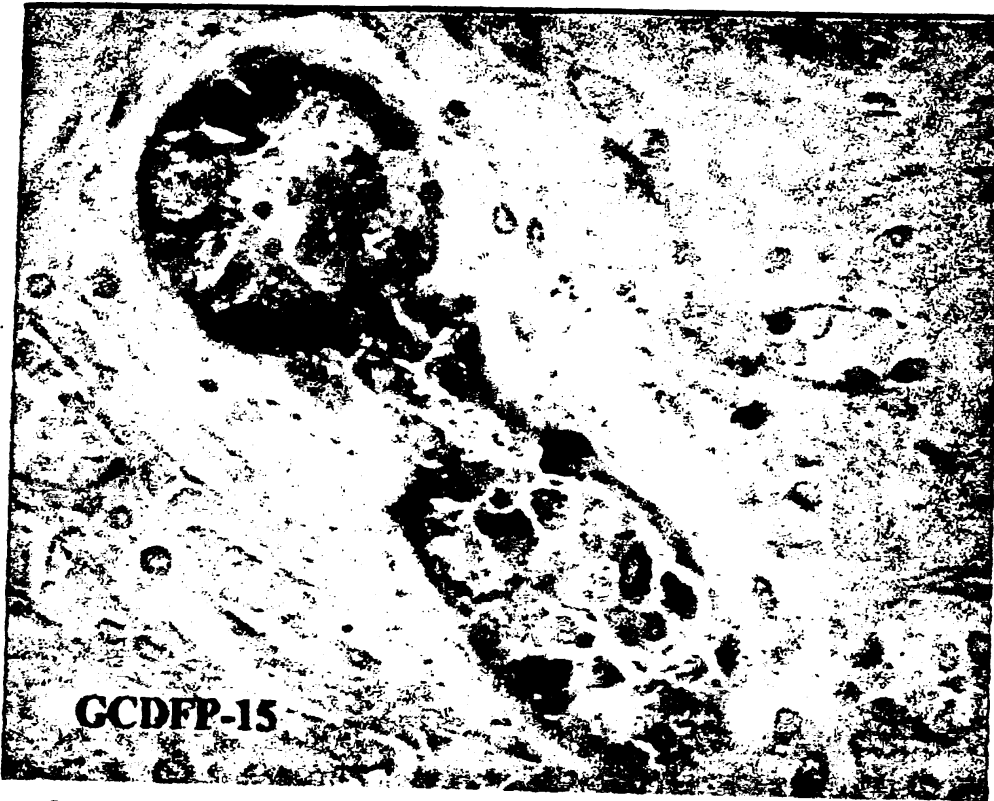
In conclusion:

1. PAS diastase was negative.
2. No cells with histological apocrine features were found in the ducts of fetal breasts.
3. All fetal breasts showed some ducts with sparse GCDFP-15-immunoreactive cells, the overall number of these cells increased with gestional age.
4. We proposed the term “pre-apocrine”or “apocrine-precursor cells”for GCDFP-15 positive breast epithelium cells without apocrine morphology



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ
ΕΙΚΟΝΕΣ

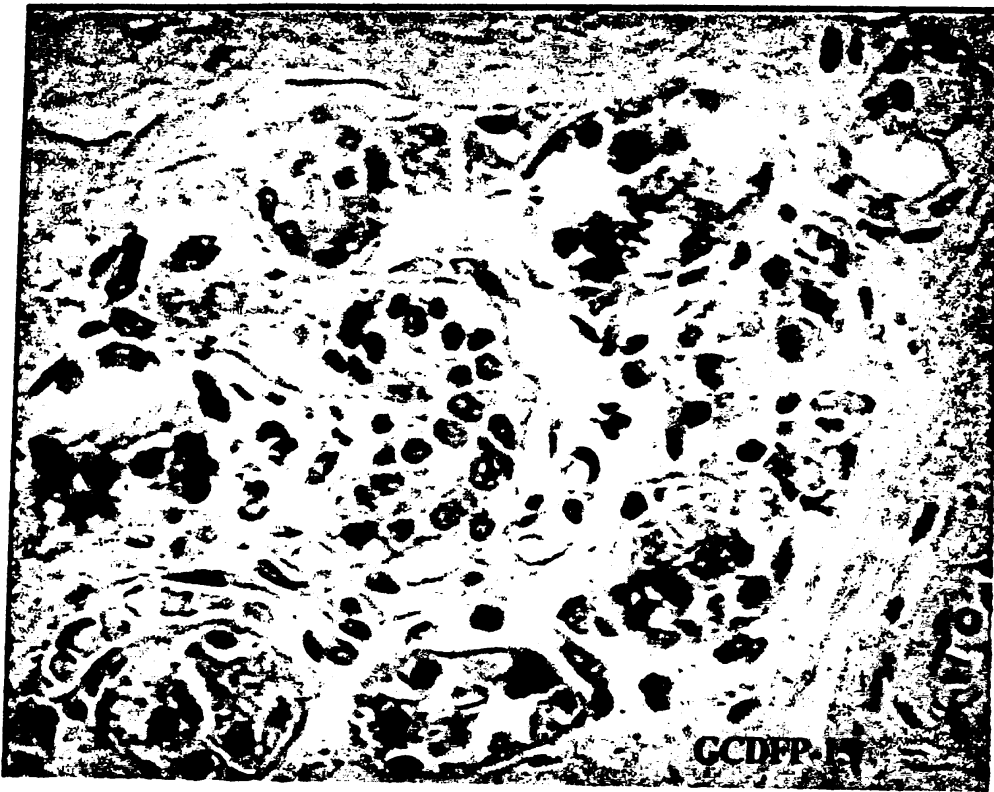




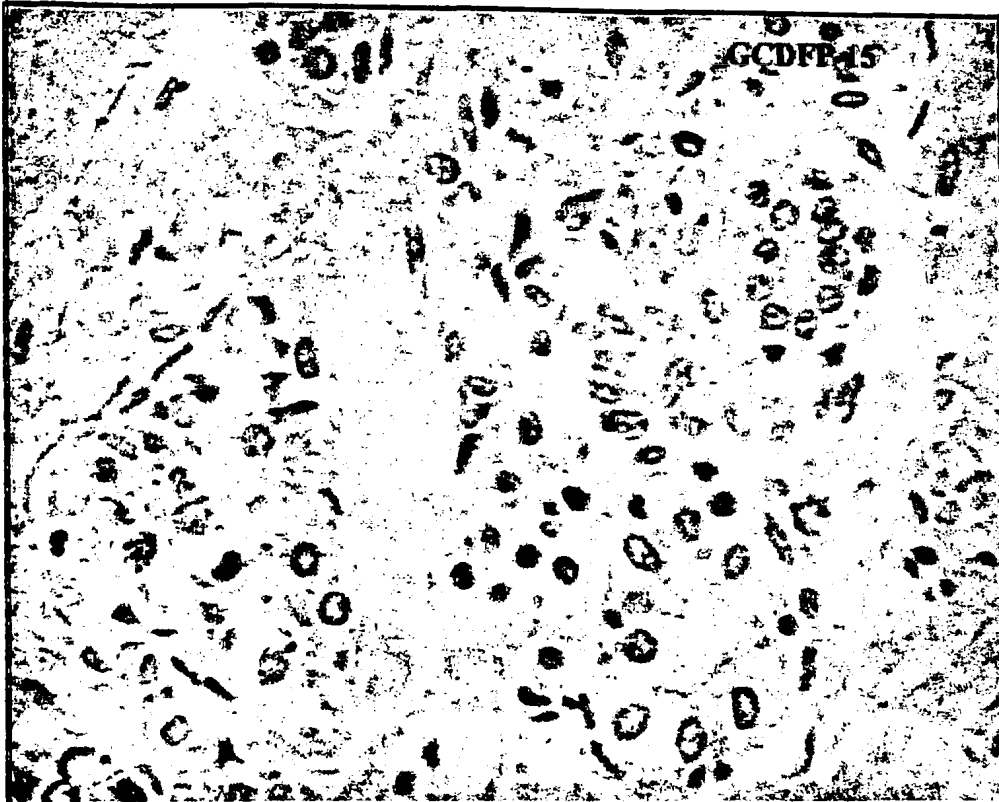
Εικόνα 1. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της GCDFP-15 πρωτεΐνης σε μαστό εμβρύου 40 εβδομάδων (νεκροτομικό υλικό).



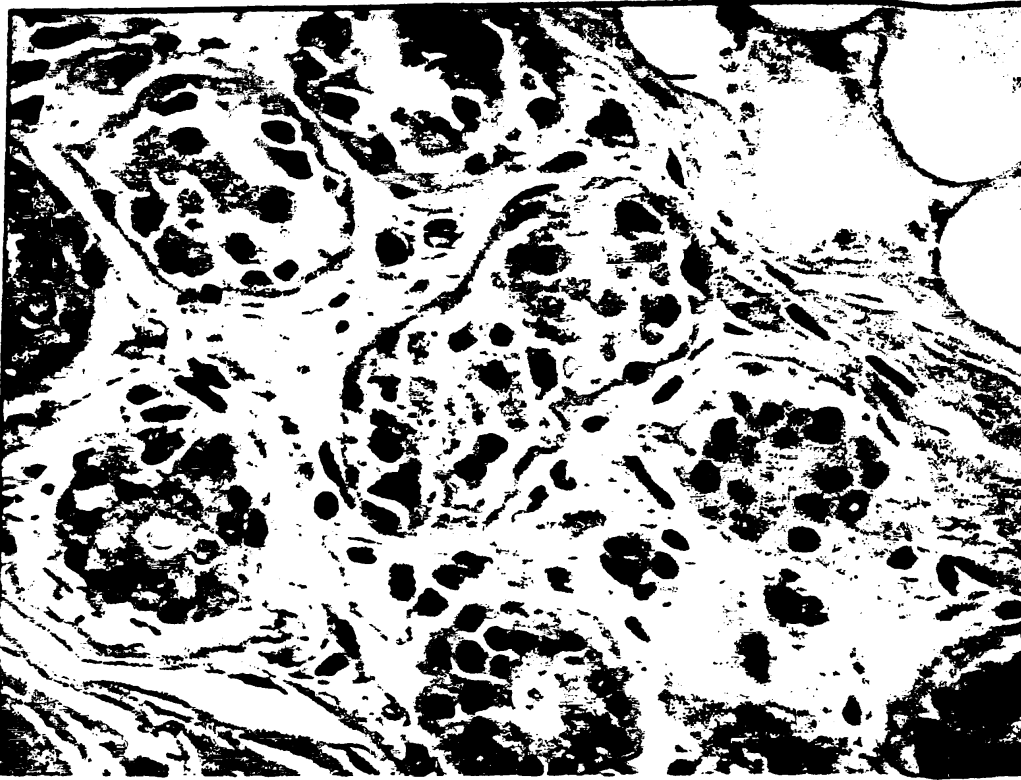
Εικόνα 2. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της GCDFP-15 πρωτεΐνης σε μαστό εμβρύου 39 εβδομάδων (νεκροτομικό υλικό).



Εικόνα 3. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της GCDFP-15 πρωτεΐνης σε μαστό εμβρύου 33 εβδομάδων (νεκροτομικό υλικό).



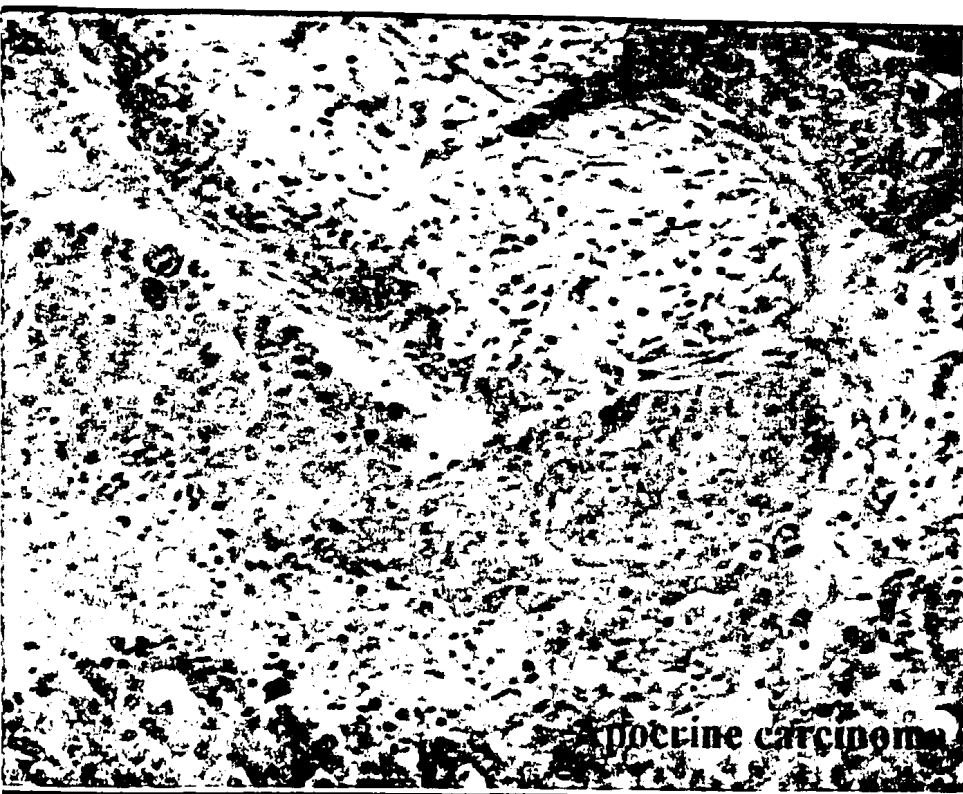
Εικόνα 4. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της GCDFP-15 πρωτεΐνης σε μαστό εμβρύου 28 εβδομάδων (νεκροτομικό υλικό).



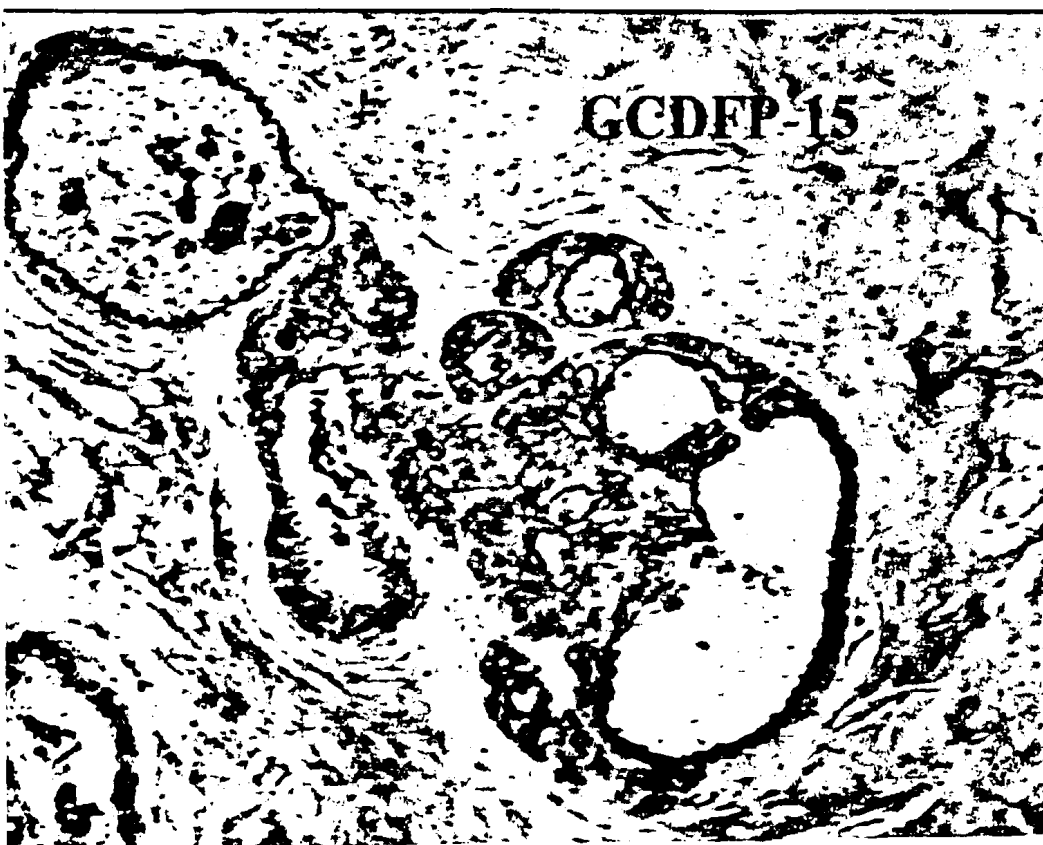
Εικόνα 5. Χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης σε μαστό εμβρύου 39 εβδομάδων (νεκροτομικό υλικό).



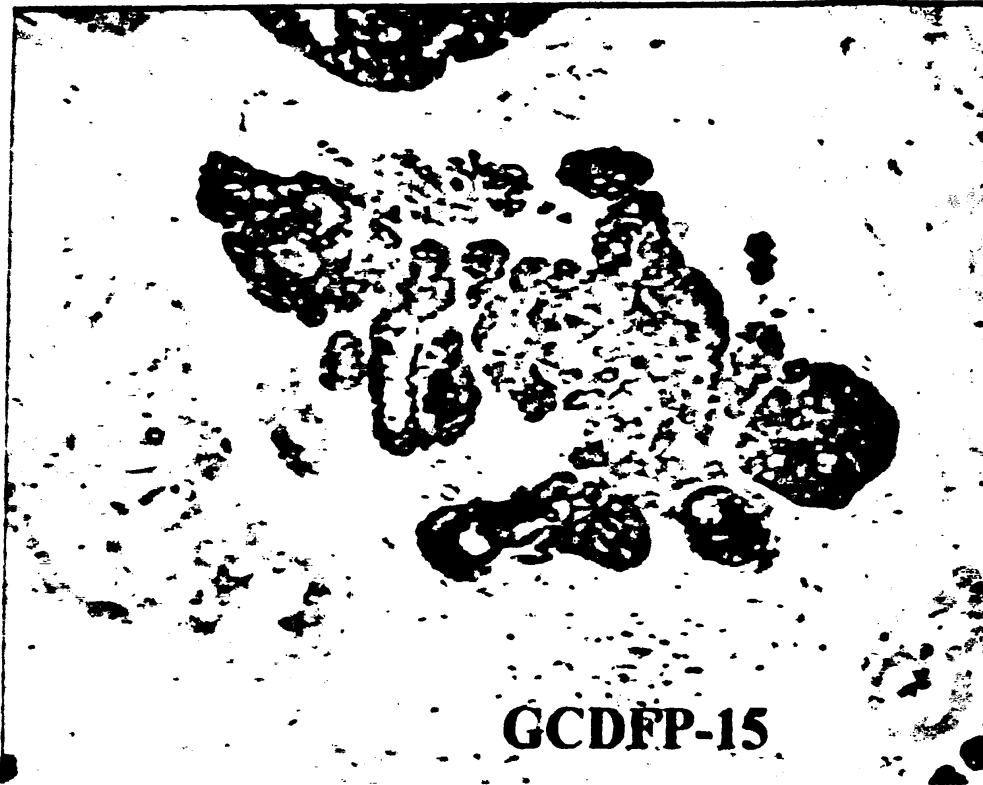
Εικόνα 6. Χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης σε αποκρινές καρκίνωμα *in situ* μαζικού αδένα.



Εικόνα 7. Χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης σε αποκρινές καρκίνωμα μαστικού αδένου.



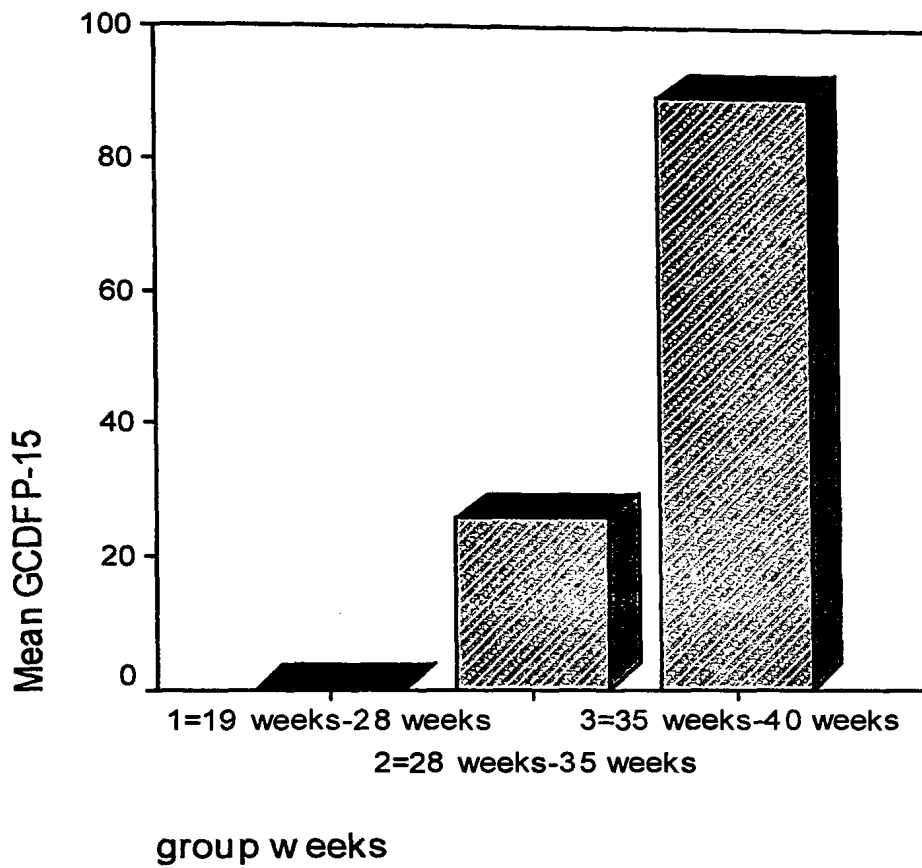
Εικόνα 8. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της GCDFP-15 πρωτεΐνης σε αποκρινές καρκίνωμα μαστικού αδένου.



Εικόνα 9. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της GCDFP-15 πρωτεΐνης σε αποκρινές καρκίνωμα *in situ* μαστικού αδένου.



Εικόνα 10. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της GCDFP-15 πρωτεΐνης σε κυστική νόσο μαστικού αδένου.



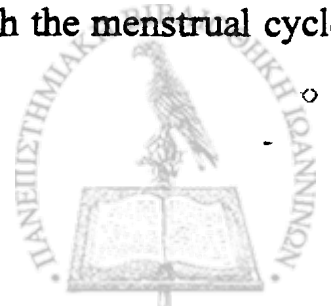
Γράφημα 1. Συσχέτιση της ανοσοϊστοχημική έκφραση της GCDFP-1: πρωτεΐνης με τις εβδομάδες ενδομήτριας ανάπτυξης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. R. Anbazhagan, B. Nathan and B. A Gusterson (1992). Prenatal influences and breast cancer [letter, comment]. *Lancet* 340:1477-1478.
2. R. Anbazhagan and B. A Gusterson (1992). Reversed cerebral asymmetry and breast cancer [letter; comment]. *Lancet* 339:1056
3. R. Anbazhagan and B. A Gusterson (1994) Prenatal factors may influence predisposition to breast cancer. *Eur.J.Cancer* 1:1-3
4. J. F Meckel (1820). *Handbuch der menschlichen Anatomie*, Halle, Germany
5. C.Langer(1850). *Milchdruse*. *Idenschr.Akad.Wiss.Wien*.
6. M.Huss(1873). *Entwicklungsgeschichte der Milchdrusen*. *Jena Z.Naturw.*7:176
7. A.Kolliker (1879). *Brustdruse*. *Verh.Med.-Physik.Ges.Wurzb.*14:198-202
8. G.Rein (1896). *Hyperthelie menschlichen Embryonen* .*Anat.Anz.*11:702
- 8a. Hövels O. *Monatsschr Kinderheilkd* 1977.Sep; 125(9):848-50
9. E.S.R. Hughes (1949). The development of the mammary gland. *Ann.R.Coll.Surg.Engl.*6:99-119.
10. P.P. Osin R. Anbazhagan, J Bartkova, B. Nathan, and B.A. Gusterson (1998). Breast development gives insights into breast disease. *Histopathology* 33:275-283.
11. Langman J. *Medical Embryology*. 5th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1985.
12. Anbazhagan R, Bartek J, Monaghan P, Gusterson BA. Growth and development of the human infant breast. *Am J Anatomy* 192:407-417,1991.
13. Garry F. *Physiology and Pathology of the puerperium*. In: *Principles and Practice of Obstetrics and Perinatology*. Edited by Iffy L and Kaminetzky HA. John Willey and Sons. New York 1981.



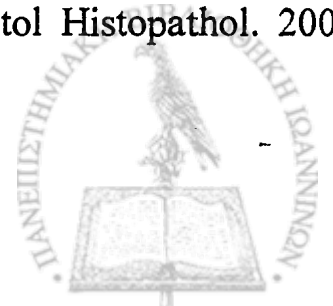
14. Monaghan P, Perusinghe NP, Cowen P, Gusterson BA. Peripubertal human breast development. *Anatomical Record* 226:501-508, 1990.
15. Ο.Β Κωτούλας. Ιστολογία –τα συστήματα οργάνων. Τεύχος 2°. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων Ιατρική Σχολή. Ιωάννινα 1985.
16. Rosai J. Breast. In: *Ackerman's Surgical Pathology*. 7th edition. Vol2. The C.V. Mosby Company. St Louis 1989.
17. Anderson TJ and Page DL. The breast. In: *Oxford Textbook of Pathology*. Vol 2a. Pathology of Systems. Edited by McGee JO'D, Isaacson PG and Wright NA. Oxford University Press. Oxford 1992
18. Stegner HE. Pathology of malignant disease of the breast. In: *Surgery of the Breast. Diagnosis and Treatment of Breast Diseases*. Edited by Stromberk LO, Rosato FE. Thieme Verlag. Stuttgart 1986.
19. McDivitt RW. Breast. In : *Anderson's Pathology* (edited by Kissane JM). Vol II. Ninth edition. The CV Mosby Company. St Louis 1990.
20. *Gray's Anatomy*. 37th edition. Edited by Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Churchill Livingstone. Edinburgh 1993.
21. Σάββα Α. Επίτομη Ανατομική του Ανθρώπου και Ατλας. Έκδοση Δ'. Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυρακίδη. Θεσσαλονίκη 1989.
22. Glassberg RM, Sussman SK, Glickstein MF. CT anatomy of the internal mammary vessels: importance in planning percutaneous transthoracic procedures. *Am L Roentgenol* 155: 397-400, 1990.
23. Anderson TJ, Battersby S, King RJB, McPherson K, Going JJ. Oral contraceptive use influences resting proliferation. *Hum Pathol* 20: 1139-1144, 1989.
24. Vogel PM, Georgiade NG, Fetter BF, Vogel FS, McCarty KS Jr. The correlation of histologic changes in the human breast with the menstrual cycle. *Am L Pathol* 104: 23-34, 1981.



25. Bartow SA, Fenoglio-Preiser C. The breast. In: Pathology. Edited by Rubin and Farber JL. JB Lippincott Company. Philadelphia 1988.
26. Longacre TA, Bartow SA. A correlative morphologic study of human breast and endometrium in the menstrual cycle. *Am J Surg Pathol* 10: 382-393; 1986.
27. Joshi K, Smith JA, Perusinghe N, Monaghan P. Cell proliferation in the human mammary epithelium. Differential contribution by epithelial and myoepithelial cells. *Am J Pathol* 124; 199-206: 1986.
28. Ferguson JE, Schor AM, Howell A, Ferguson MW. Changes in the extracellular matrix of the normal human breast during the menstrual cycle. *Cell Tiss Res* 268: 167-177, 1992.
29. Fowler PA, Casey CE, Cameron GG, Foster MA, Knight CH, Cyclic changes in composition and volume of the breast during the menstrual cycle, measured by magnetic resonance imaging. *Br J Obstetr Gynecol* 97: 595-602. 1990.
30. Bailey AJ, Sloane JP, Trickey BS, Ormerod MC. An immunocytochemical study of a-lactalbumin in human breast tissue. *J Pathol* 137: 13-23, 1982.
31. Spring-Mills E, Berg NB, Hafez ESE. Lactation and fertility regulation. In *Human Reproduction. Conception and Contraception. Second edition.* Edited by Hafez ESE. Harper & Row Publishers. Hagerstown, Cambridge 1980.
32. Sloane JP. *Biopsy Pathology of the Breast*. Chapman and Hall Medical. London 1985.
33. Page DL, Anderson TJ. *Diagnostic Histopathology of the Breast*. Churchill Livingstone. Edinburgh 1987.
34. Tavassoli FA, Yeh IT. Lactational and clear cell changes of the breast in non-lactating, non-pregnant women. *Am J Clin Pathol* 87: 23-29, 1987.
35. Hulman G, Trowbridge P, Taylor CN, Chilvers CED, Sloane JP, et al. Oral contraceptive use and histopathology of cancerous breasts in young women. *J Pathol* 167: 407-411, 1992.



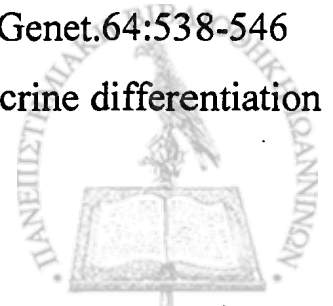
36. Bloxham CA, Shrimankar JJ, Wadehra V, Griffith CDM. Fine needle aspiration of a lactational focus in a non-pregnant women. *Cytopathol* 4: 243-246, 1993.
37. Allan DJ, Howell A, Roberts SA, Williams GT, Watson RJ, Coyne JD, Clarke RB, Laidlaw IJ, Potten CS. Reduction in apoptosis relative to mitosis in histologically normal epithelium accompanies fibrocystic change and carcinoma of the premenopausal human breast. *J Pathol* 167: 25-32, 1992.
38. Tsubura A, Okada H, Senzaki H, Hatano T, Morii S. Keratin expression in the normal breast and in breast carcinoma. *Histopathology* 18: 517-522, 1991.
- 38a. Maly B, Maly A, Pappo I, Meir K, Pappo O. Pleomorphic variant of invasive lobular carcinoma of the male breast. *Virchows Arch* 2005 Mar; 446 (3): 344-5, *Epub* 2005 Feb 22.
39. Sloane JP, Ormerod MG. Distribution of epithelial membrane antigen in normal and neoplastic tissues and its value in diagnostic tumor pathology. *Cancer* 47: 1786-1795, 1981.
40. Dwarakanath S, Lee AKC, DeLellis RA, Silverman ML, Frasca L, Wolfe HJ: S-100 protein positivity in breast carcinomas. A potential pitfall in diagnostic Immunohistochemistry. *Hum Pathol* 18: 1144-1148, 1987.
41. Egan MJ, Newman J, Crocker J, Collard M: Immunohistochemical localization of S100 protein in benign and malignant conditions of the breast. *Arch Pathol Lab Med* 111: 28-31, 1987.
42. Jarasch E-D, Nagle RB, Kaufmann M, Maurer C, Bocker WJ. Differential diagnosis of benign epithelial proliferations and carcinomas of the breast using antibodies to cytokeratins. *Hum Pathol* 19: 276-289, 1988.
43. Stefanou D, Batistatou A, Nonni A, Arkoumani E, Agnantis NJ. p63 expression in benign and malignant breast lesions. *Histol Histopathol*. 2004 Apr; 19(2): 465-71.



44. Kalof AN, Tam D, Beatty B and Cooper K. Immunostaining patterns of myoepithelial cells in breast lesions: a comparison of CD10 and smooth muscle myosin heavy chain. *Journal of Clinical Pathology* 2004; 57:625-629.
45. Charpin C, Lissitzky JC, Jacquemier J, Lavaut MN, Kopp F, Pourreau-Schneider N, Martin PM, Toga M: Immunohistochemical detection of laminin in 98 human breast carcinomas. A light and electron microscopic study. *Pathol* 17: 355-365, 1986.
46. Smith CA, Monaghan P, Neville AM: Basal clear cells of the normal human breast. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 402: 319-329, 1984.
47. Fisher ER. Ultrastructure of the human breast and its disorders. *A.J.Clin.Path.* 1976, 66:291.
48. Waugh D and Van der Hoeven E. Fine structure of the human adult female breast. *Labor. Invest.* 1962, 11:220.
49. Eyden BP, Ferguson J. Anchoring fibrils and type VII collagen in human breast. *J Submicrosc Cytol Pathol* 22: 477-479, 1990.
50. Battersby S, Dely CJ, Hopkinson HE, Anderson TJ. The nature of breast dense core granules: chromogranin reactivity. *Histopathology* 20: 107-114, 1992.
51. Murad TM and VonHaam E. Ultrastructure of myoepithelial cells in human mammary gland tumors. *Cancer*, 1968, 21:1137.
52. Sjostrand FS and Rhodin J. The Ultrastructure of the proximal convoluted tubes of the mouse kidney as revealed by high resolution electron microscopy. *Exp. Cell Research*, 1953, 4:426.
53. Kurtz SM. The electron microscopic studies of the developing human glomerulus. *Exp. Cell Research*, 1958, 14: 355.
54. Lever JD. The subendothelial space in certain endocrine tissue. *J. Biophysic. Biochem. Cytol.* 1966, 2: 293.



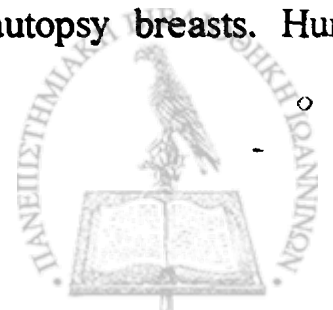
55. Ozello L. Epithelial-stromal junction of normal and dysplastic mammary glands. *Cancer*, 1970, 25: 586.
56. Turner DR, Millis RR. Breast tissue inclusions in axillary lymph nodes. *Histopathology* 4, 631-636, 1980.
57. O'Hara MF, Page DL. Adenomas of the breast and ectopic breast under lactational influences. *Hum Pathol* 16. 707-712, 1985.
58. Moore DC, Schlaepfer LD, Paunier L, Sizonenko PC. Hormonal changes during puberty. V. Transient pubertal gynecomastia: Abnormal androgen - estrogen ratios. *J Clin Endocrinol Metabol* 58: 492, 1984.
59. R.R. Gates (1946). Inheritance of various sexual and intersexual conditions, *Human Genetics*, Macmillan, New York.
60. F.C. Fraser (1956). Dominant Inheritance of Absent Nipples and Breasts, *Instituto Gregorio Mendel*, Rome.
61. H. Goldenring and E.S. Crelin (1961). Mother and daughter with bilateral congenital amastia. *Yale J. Biol. Med.* 33:466-467.
62. G. H Klinkerfuss (1924). Four generations of polymastia. *JAMA* 82: 1247-1248. M. Bamshad, R.C Lin, D.J. Jaw, W.S Watkins, PA Krakowiak, M.E Moore, P. Franceschini, R Lala, L.B. Holmes, T.C Gebuhr, BG Bruneau, A Schinzel, CE Seidman, and L.B Jorde (1997). Mutations in human TBX3 alter limb, apocrine and genital development in ulnar-mammary syndrome. *Nat. Genet.* 16:311-315
63. H. van Bokhoven, M. Jung, A.P Smits, S. van Beersum, RSFM van Steensel, M Veenstra, J. H Tuerlings, EC Mariman, HG Brunner, TF Wienker, A. Reis, HH Ropers, and B.C Hamel (1999). Limb mammary syndrome: A new genetic disorder with mammary hypoplasia, ectrodactyly, and other hand /foot anomalies maps to human chromosome 3q27. *Am. J. Hum. Genet.* 64:538-546
64. Eusebi V. Damiani S. Losi L. Millis RR (1997). Apocrine differentiation in breast epithelium. *Adv Anat Pathol* 4:139-155.



65. Viacava P, Naccarato AG, Bevilacqua G (1997) Apocrine epithelium of the breast: does it result from metaplasia; *Virchows Arch* 1997,4; 139-1551.
66. Gatalica Z. Immunohistochemical analysis of apocrine breast lesions. *Pathol Res Pract* 1997; 193:753-8.
67. Tavassoli FA, Purcell CA, and Man YC: Down regulation of bcl-2, ER, PR associated with AR expression is triggered by apocrine differentiation of mammary epithelium *Mod Pathol* 1996, 9:25A.
68. Mehregan AH, Hashimoto K, Mehregan DA and Mehregan DR. Normal structure of the skin. In: Mehregan AH, Hashimoto K, Mehregan DA, Mehregan DA, Mehregan DR, eds. *Pinkus' Guide to dermatohistopathology* .6th ed. Norwalk; Appleton & Lange, 1995.
69. Ackerman AB. Skin, structure and function. Ackerman AB, ed. *Histologic diagnosis of inflammatory skin diseases*. Philadelphia; Lea & Febiger, 1978.
70. Bussolati G, Sapino A, Gugliotta P, Marci L. Cytological analysis of benign breast disease *Cancer Detect Prev* 1992; 16:89-9227.
71. Higginson JF, McDonald JR (1949). Apocrine tissue, chronic cystic mastitis and sweat gland carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 88:1-10.
72. Murad TM, Hamm E von (1968). The ultrastructure of fibrocystic disease of the breast. *Cancer* 22:587-600.
73. Pier WJ, Garancis JC, Kuzma JF (1970). The ultrastructure of apocrine cells in intracystic papilloma and fibrocystic disease of the breast. *Arch Pathol* 89:446-45229.
74. Azzopardi J. 1979 *Problems in breast pathology*. Saunders, Philadelphia, p 341-344.
75. Lodato RF, Maguire HC Jr, Greene MI, Weiner DB, LiVolsi VA. Immunohistochemical evaluation of c-erbB-2 oncogene expression in ductal carcinoma in situ and atypical ductal hyperplasia of the breast. *Mod Pathol*, 1990 Jul; 3(4): 449-54.



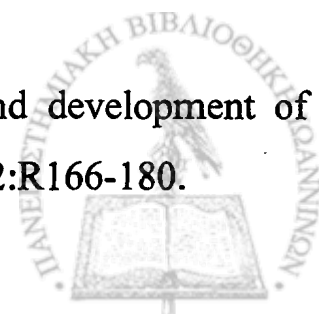
76. Abati AD, Kimmel M, Rosen PP. Apocrine mammary carcinoma. A clinicopathologic study of 72 cases. *Am J Clin Pathol*. 1990 Oct; 94(4):371-7.
77. Ahmed A: Apocrine metaplasia in cystic hyperplastic mastopathy. Histochemical and ultrastructural observations *Pathol* 1975, 115:211-214.
78. Tremblay G (1968) Histochemical studies of oxidative enzymes in apocrine like cells of the breast.
79. Raju U, Zarbo RJ, Kubus J, et al. The histologic spectrum of apocrine breast proliferations: A comparative study of morphology and DNA content by image analysis. *Hum Pathol* 1993; 24:173-181.
80. Dawson EK (1932) Sweat gland carcinoma of the breast. A morphohistological and in axillary apocrine glands. *J Invest Dermatol* 50: 238-243
81. Simpson JF, Page DL, Dupont study. *Edinburgh Med J* 39:409-438WD. Apocrine adenosis –a mimic of mammary carcinoma. *Surg Pathol* 1990;3: 289-99
82. Wellings SR, Jensen HM, Marcum RG (1975). An atlas of subgross pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions. *J Natl Cancer Inst* 55:231-243.
83. McKiernan O, J Coyne and S. Cahalane 1988. Histology of breast development in early life. *Arch. Dis. Child.* ,63:136-139.
84. Russo J, Russo IH. Development of the human breast. *Maturitas* 2004 Sep 24; 49(1):2-15.
85. Howard BA, Gusterson BA. Human breast development. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, Vol. 5, No 2, 2026.
86. Wellings SR, Alpers CE. Apocrine cystic metaplasia: subgross pathology and prevalence in cancer-associated versus random autopsy breasts. *Hum Pathol* 1987; 18:381-86.



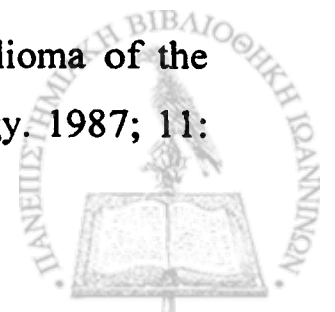
87. Haagensen, D.E., Jr., and Mazoujian, G. (1986). In Diseases of the Breast, 3rd ed., (ed) Haagensen, C.D (W.B.Saunders, Philadelphia), pp.474-500.
88. Haagensen CD. Diseases of the breast. Philadelphia: WB Saunders, 1981.
89. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. N.Engl J Med 1985; 312:146-151.
90. Devitt JE, To T, Milller AB. Risk of breast cancer in women with breast cysts. Can Med Assoc J. 1992; 147:45-49.
91. Jones BM, Bradbeer JW. The presentation and progress of macroscopic breast cysts. Br J Surg. 1980; 67: 669-671.
92. Roberts MM, Jones V, Elton RA, et al. Risk of breast cancer in women with history of benign disease of the breast. Br Med J (Clin Res Ed). 1984; 288: 275-278.
93. Bundred NJ, West RR, Dowd JO, et al. Is there an increase risk of breast cancer in women who have had a breast cyst aspirated? Br J Cancer. 1991; 64.
94. Dixon JM, Lumsden AB, Miller WR. The relationship of cyst type to risk factors for breast cancer and the subsequent development of breast cancer in patients with breast cystic disease. Eur J Cancer Clin Oncol. 1985; 21:1047-1050.
95. Bruzzi P, Dogliotti L, Naldoni C, et al. Cohort study of association of risk of breast cancer with cyst type in women with gross cystic disease of the breast. Br Med J. 1997; 314: 925-928.
96. Dixon JM, McDonald C, Miller WR. Risk of breast cancer in women with palpable breast cysts: a prospective study. Lancet. 1999; 353: 1742-17452.
97. Fitzgibbons PL, Henson DE, Hutter RV. Benign breast changes and the risk of subsequent breast cancer: an update of the 1985 consensus statement. Cancer Committee of the College of American Pathologists. Arch Pathol Lab Med 1998; 122: 1053-1055.



98. Balbin M. Freije JMP. Fuye A. Sanchez LM. Lopez-Oyin C (1990) Apolipoprotein D is the major component protein in cyst fluid from women with breast gross cystic disease. *Boichem J* 271: 803-807.
99. Bundred NJ. Miller WR. Walker RA (1987). An immunohistochemical study of the tissue distribution of the breast cyst fluid protein, zine alpha glycoprotein. *Histopathology* 11: 603-610.
100. Burgi W. Schmidt K (1961) preparation and properties of Zn-glycoprotein of normal human plasma. *J Biol Chem* 236: 1066-1074.
101. Haagensen DE. Mazoujian G. Dilley WG. Pedersen CE. Kissters S.I. Wells SA (1979) Breast gross cystic disease fluid analysis. Isolation and radioimmunoassay for a major component protein. *J. Natl Canser Ihst* 62:239-4-247.
102. Mazoujian G, Pinkus G, Davis S, et al: Immunoperoxidase localization of a breast gross cystic disease fluid protein (abstract). *Lab Invest* 46: 46 1982.
103. Mazoujian G, Wharol HJ, Haagensen DE (1984) The ultrastructural localization of gross cystic fluid protein (GCDFP-15) in breast epithelium. *Am J Pathol* 116: 305-310.
104. Mazoujian G, Parish TH, Haagensen DE (1988) Immunoperoxidase localization of GCDFP-15 with mouse monoclonal antibodies versus rabbit antiserum. *J Histochem Cytochem* 36:377-382.
105. Mazoujian G, Pinkus GS, Davis S, Haagensen DE, Haagensen CD (1989) Expression of GCDFP-15 in breast carcinomas: relationship to pathologic and clinical factors. *Cancer* 63:2156-2161.
106. Pagani A, Eusebi V, Bussolati G (1994) Detection protein GCDFP-15 gene expression in apocrine epithelium of the breast and salivary glands. *Appl Immunohistochem* 2:29-35.
107. Sato K, Leidal R, Sato F (1987) Morphology and development of an apoeccrine gland sweat in human axillae. *Am Physiol* 252:R166-180.



108. Swanson PE, Pettinato G, Lillemoe TJ, Wick MR (1991) Gross cystic disease fluid protein-15 in salivary gland tumors Arch Pathol Lab Med 115:158-163.
109. Parish TH, Wu YJ, Rittenhaus C, Daviw S, Haagenden D, SHC (1985) Generation of monoclonal antibodies reactin with glycoprotein marker of apocrine epithelium and metastasic breast carcinoma. In: Peters H (ed) Protides of the biological fluids. Pergamon Press, Oxford, pp 517-521.
110. Myal Y, Gregory C, Wang H, Hamerton JL, Shiu RPC (1989) The gene for prolactin inducible protein, uniquely expressed in exocrine organs, maps to chromosom 7. Somat Cell Mol Gen 15:265-270.
111. Shiu, R.P.C. and Iwaslow, B.M (1985). J.Biol. Chem. 260:11307-11313.
112. Murphy L.C., Tsuyuki, D., Myal, Y. and Shiu, R.P.C. (1987). J. Biol. Chem. 262:15236-15341.
113. Murphy, L.C., Lee-Wing, M., Goldenberg, G.J. and Shiu R.P.C. (1987). Cancer Res 47:4160-416414.
114. Haagensen DE, Stewart P, Dilley WG, Wellis SA (1992). Secretion of breast gross cystic disease fluid proteins by TA7D breast cancer cells in culture modulation by steroid hormones. Br Cancer Res Treat 23: 77-86.
115. Page DL, Vander Zwwag R, Rogers LW, et al. Relation between component parts of fibrocystic disease complex and breast cancer. J Natl Cancer Inst 1978; 61:1055-63.
116. Tavassoli FA, Norris HJ. Intraductal apocrine carcinoma: A clinicopathological study of 37 cases. Mod Pathol 1994; 7:813-818.
117. Page DL, Dupont WD, Jensen RA. Papillary apocrine change of the breast: associations with atypical hyperplasia and risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1996; 5: 29-32.
118. Eusebi V, Casadei GP, Bussolati G, et al. Adenomyoepithelioma of the breast with a distinctive type of apocrine adenosis. Histopathology. 1987; 11:



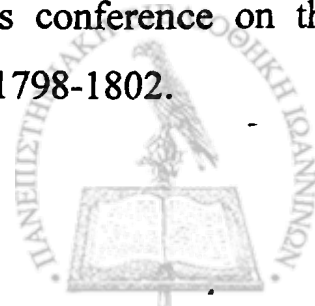
- 305-315. 119. Kiaer H, Nielsen B, Paulsen S, et al. Adenomyoepithelial adenosis and low grade malignant adenomyoepithelioma of the breast. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1984; 405:55-67.
120. Simpson JF, Page DL, Dupont WD. Apocrine adenosis-a mimic of mammary carcinoma. *Surg Pathol.* 1990; 3:289-299.
121. Carter DJ, Rosen PP. Atypical apocrine metaplasia in sclerosing lesions of the breast: a study of 51 patients. *Mod Pathol* 1991; 4:1-5.
122. Wells CA, McGregor GI, Makunura CN, et al. Apocrine adenosis: a precursor of aggressive breast cancer. *J Clin Pathol.* 1995; 48:737-742.
123. Seidman JD, Ashton M, Lefkowitz M. Atypical apocrine adenosis of the breast: a clinicopathologic study of 37 patients with 8.7 year follow-up. *Cancer,* 1996; 77:2529-2537.
124. Endoh Y, Tamura G, Kato N, Motoyama T. Apocrine adenosis of the breast : clonal evidence of neoplasia. *Histopathology* 2001, 38, 221-224.
125. Page DL, Simpson JF. What is apocrine adenosis, anyway? *Histopathology.* 2001; 39:433-434.
126. Selim AA, El-Ayat G, Wells CA (2000) C-erbB2 oncoprotein expression, gene amplification and chromosome 17 aneusomy in apocrine adenosis of the breast *J Pathol* 191:138-142.
127. Moriya T, Sakamoto K, Sasano H, et al. Immunohistochemical analysis of Ki-67, p53, p21 and p27 in benign and malignant apocrine lesions of the breast: its correlation to histologic findings in 43 cases. *Mod Pathol.* 2000; 13:13-18.
128. Diallo R, Schaefer KL, Poremba C et al. Monoclonality in normal epithelium and in hyperplastic and neoplastic lesions of the breast. *J Pathol.* 2001 193; 27-32.
129. Bussolati G, Sapino A, Gugliotta P, Macri L. Cytological analysis of benign breast disease. *Cancer Detect Prev* 1992; 16:89-92.



130. Barnard NJ, Hall PA, Lemoine NR, Kadar N. Proliferative index in breast carcinoma determined in-situ by Ki-67 immunostaining and its relationship to clinical and pathological variables. *J Pathol* 1987;152:287-95.
131. Selim AA, El-Ayat G, Wells CA. Expression of c-erbB-2, p53, Bcl-2, Bax, c-myc and Ki-67 in apocrine metaplasia and apocrine change within sclerosing adenosis of the breast. *Virchows Arch*. 2002;441: 449-455.
132. Ioffe OB, Iskander M, Rucker C, Silverberg SG (1999). Is apocrine metaplasia premalignant? A comparative study of c-erbB2, p27, bcl-2 and Ki-67 expression in apocrine proliferations and benign breast tissue. *Lab Invest* 79:22.
133. Selim AA, El-Ayat G, Wells CA (2000) C-erbB2 oncoprotein expression, gene amplification and chromosome 17 aneusomy in apocrine adenosis of the breast *J Pathol* 191:138-142.
134. McCann A, Johnston PA, Dervan PA, Gullick WJ, Carney DN (1989) c-erbB2 oncoprotein expression in malignant and nonmalignant breast tissue. *Int J Med Sci* 158:137-140.
135. Coene ED, Schelfhout V, Winkler RA, Schelfhout A-M, Van Roy N, Grootclaes M, Speleman F, De Potter CR(1997). Amplification units and translocation at chromosome 17q and c-erbB2 overexpression in the pathogenesis of breast cancer. *Virchows Arch* 430:365-372.
136. Selim AA, Perera R, Yeomans P, Jordan S, Wells CA (1997) Bcl-2 expression in ductal carcinoma in situ of the breast : relationship to c-erbB2, p53 proteins and oestrogen and progesterone receptors. *J Pathol* 182:16.
137. Papamichalis G, Francia K, Karachaliou FE, Anastasiades OT, Spandidos DA. Expression of the c-myc oncoprotein in human metaplastic epithelial cells of fibrocystic disease. *Anticancer Res* 1988;8:1217-1222.



138. Agnantis NJ, Mahera H, Maounis N, Spandidos DA. Immunohistochemical study of ras and myc oncoproteins in apocrine breast lesions with and without papillomatosis. *Eur J Gynaecol Oncol* 1992; 13:309-31.
- 138a. Agnantis NJ. Immunohistochemical analysis of Ras and C-myc Oncoproteins in breast lesions. *Senology*, Elsevier Science Publ.B.V, Amsterdam, *Excerpta Medica*, 407-410:1992.
139. Eusebi V, Damiani S, Losi L, ET al. Apocrine differentiation in breast epithelium. *Adv Anat Pathol*.1997; 4:139-155.
140. Masood S., Frykberg ER, McLellan GL et al.: Cytologic differentiation between proliferative and nonproliferative breast lesions in mammographically guided fine-needle aspirates". *Diagn.Cytopatholol*. 1991, 7, 581.
141. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med* 1985; 312:146-151.
142. Page DL, Rogers LW. Combined histological and cytological criteria for the diagnosis of mammary atypical ductal hyperplasia. *Human Pathol*.1992; 23:1095-1097.
143. O'Malley FP, Page DL, Nelson EH, et al. Ductal carcinoma in situ of the breast with apocrine cytology: definition of a borderline category. *Hum Pathol*.1994; 25:164-168.
144. Durham JR, Fechner RE. The histologic spectrum of apocrine lesions of the breast. *Am J Clin Pathol*. 2000; 113(5Suppl 1):S3-S18
145. Scott MA, Lagios MD, Axelsson K, et al. Ductal carcinoma in situ of the breast: reproducibility of histological subtype analysis. *Hum.Pathol* 1997; 28: 967-973
146. The Consensus Conference Committee. Consensus conference on the classification of ductal carcinoma in situ. *Cancer*.1997; 80:1798-1802.



- 146a. World Health Organization Classification of Tumors. Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Edit. Tavassoli F & Devilee P, Lyon 2003, pp10.
147. Leal C, Henrique R, Monteiro P, et al. Apocrine ductal carcinoma in situ of the breast: histological classification and expression of biologic markers. Hum Pathol. 2001; 32:487-493.
148. Jemal A, Samuels A, Murray T, et al.: Cancer statistics, 2004. CA Cancer J Clin, 2004, 54, 8-29.
149. Parkin DM. The world cancer burden into the 21st century. Presented at the 16th Asia Pacific Cancer Conference, Manila, Philippines, November 21, 2001.
150. Hisham AN, Yip CH. Overview of breast cancer in Malaysian women: a problem with late diagnosis. Asian J Surg. 2004 Apr; 27 (2):130-3.
151. Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2001. CA Cancer J Clin 2001; 51:15-36.
152. Αγνάντη ΝΙ. Ειδική Παθολογική Ανατομική. Μέρος 2ο, σελ 22, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων 2000.
153. Lester S, Cotran R. The breast. In: Cotran R, Kumar V, Collins T, editors. Robbins pathologic basis of disease, 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1998. p 1093-1120.
154. Rosen PP: Benign papillary tumors. Rosen's Breast Pathology. Philadelphia. Lippincott-Raven, 1997, pp 67-104.
155. Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B: The pathology of invasive breast cancer. Cancer 36:1, 1975.
156. Bonser GM, Dossett JA, Jull JW: Human and experimental breast cancer. London, Pitman Medical, 1961.
157. Haagensen CD, Bodian C, Haagensen DE: Breast Carcinoma. Risk and Detection. Philadelphia, WB Saunders Co, 1981.



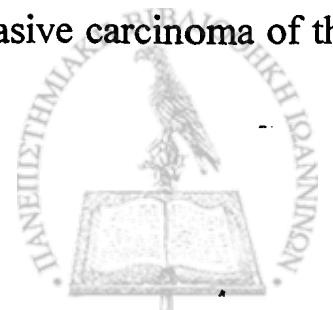
158. Mazoujian G, Pinkus GS, Davis S, et al. Immunohistochemistry of a gross cystic disease fluid protein (GCDFP-15) of the breast. A marker of apocrine epithelium and breast carcinomas with apocrine features. *Am J Pathol.*1983; 110:105-112.
159. Eusebi V, Millis RR, Cattani MG, et al. Apocrine carcinoma of the breast A morphologic and immunocytochemical study. *Am J Pathol.*1986; 123: 532-541.
160. Wick MR, Lillemoe TJ, Copland GT, et al. Gross cystic disease fluid protein-15 as a marker for breast cancer: immunohistochemical analysis of 690 human neoplasms and comparison with alpha-lactalbumin. *Hum Pathol.*1989; 20:281-287.
161. Papotti M, Eusebi V, Gugliotta P, et al. Immunohistochemical analysis of benign and malignant papillary lesions of the breast. *Am J Surg Pathol.*1983; 7:451-461.
162. Eusebi V, Magalhaes F, Azzopardi JG. Pleomorphic lobular carcinoma of the breast: an aggressive tumor showing apocrine differentiation. *Hum Pathol.*1992; 23: 655-66.
163. Kaya H, Aribal E, Yegen C. Apocrine differentiation in invasive pleomorphic lobular carcinoma with in situ ductal and lobular apocrine carcinoma: case report. *Pathol Oncol Res.*2002; 8(2):151-2.
164. Tashiro T, Hirokawa M, Iuchi K, Emoto K, Tanaka T, Monobe Y, Sano T. Cytology of pleomorphic lobular carcinoma with apocrine cell differentiation of the breast. A case report. *Acta Cytol.*2003 Mar-April; 47(2): 265-165. Abati AD, Kimmel M, Rosen PP: Apocrine mammary carcinoma. A clinicopathological study of 72 cases. *Am J Clin Pathol* 94:371-377, 1990.
166. Frable WJ, Kay S: Carcinoma of the breast. Histologic and clinical features of apocrine tumors. *Cancer* 21:756-763, 1968.



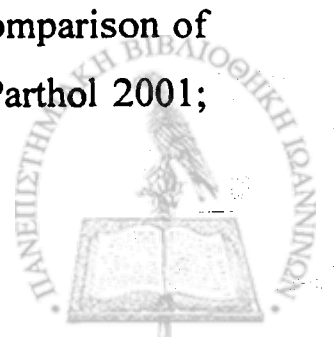
167. Bryant J: Male breast cancer: a case of apocrine carcinoma with psammoma bodies. *Hum Pathol* 12:751-753, 1981.
168. Zajdela A, Ghossein NA, Pilleran JP, et al: The experience of aspiration cytology in the diagnosis of breast cancer. Experience at the Fondation Curie. *Cancer* 35: 499-506, 1975.
169. Ito F, Avai, Suzuki M, et al: Apocrine carcinoma of the breast with cytologic, histologic and electron microscopic findings: a case report. *Acta Cytol* 36: 792, 1992.
170. Papanicolaou GN. *Atlas of Exfoliative Cytology*, Cambridge, Mass, The Commonwealth fund by Harvard University Press, 55, 1963.
171. Lapey JD: Lipid-rich mammary carcinoma: diagnosis by cytology. Case report. *Acta Cytol* 21:120-122, 1977.
172. Mossler JA, Barton TK, Brinkhous AD, et al: Apocrine differentiation in human mammary carcinoma. *Cancer* 46: 2463, 1980.
173. Brumsted JR, Riddick DH. The endocrinology of the mammary gland. In *Breast Disease for Gynecologists* (ed Hindle, WH). Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut 1989.
174. Carrow RE. Anatomy of the female breast. In: *Breast Disease for Gynecologists*. Edited by Hindle WH. Appleton & Lange. Norwalk, Connecticut 1989.
175. Harris JB, Hellman S, Camellos GP, Fisher B. Cancer of the Breast. In: *Cancer. Principles and Practice of Oncology*. 2nd Edition. Edited by De Vita VT, Jr, Hellman S, Rosenberg SA. JB Lippincott Company. Philadelphia 1985.
176. J. Russo and I.H Russo. Development pattern of human breast and susceptibility to carcinogenesis, *Eur. J. Cancer Prevent.* 2 (1993), pp. 58-100.
177. J. Russo and I.H. Russo. Toward a physiological approach to breast cancer prevention. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent.* 3 (1994), pp. 353-364.



178. Ekblom A, Trichopoulos D, Adami H-O, Hsieh C-C, Lan S-J. Evidence of prenatal influence on breast cancer risk. *Lancet* 1992; 340: 1015-1018.
179. Anbazhagan R, Nathan B, and B.A Gusterson (1992). Prenatal influences and breast cancer. *Lancet* 340: 1477-1478.
180. Anbazhagan R, Gusterson BA. Prenatal factors may influence predisposition to breast cancer. *Eur J Cancer* 1994; 188: 229-230.
181. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100:57-70.
182. Reis -Fihlo JS, Lakhani SR. The diagnosis and management of preinvasive breast disease: genetic alterations in preinvasive lesions: *Breast Cancer Res* 2003; 313-319.
183. Farabegoli F, Champene MH, Bieche I, et al. Genetic pathways in the evolution of breast ductal carcinoma in situ. *J Pathol* 2002; 196: 280-286.
184. Anbazhagan R, Bartek J, Monaghan P, Gusterson BA. Growth and development of the human breast. *Am J Anat.* 1991 Dec; 1929 (4): 407-17.
185. Dabelow A. 1957. Die Milchdruse. In: *Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen. Vol 3, Haut und Sinnes Organs*, W.Bargmann, ed. Springer-Verlag, Berlin pp 277-485.
186. Vorherr H 1974. Development of the female breast. In *The breast*. Academic Press, New York, pp1-19.
187. Russo J, Russo IH. Development of the human breast. *Maturitas* Vol 49, Issue 1, 2-15.
188. Russo J, Russo IH. In: Neville MC, Daniel CW, editors. *The mammary gland*. New York, NY: Plenum Publishing Corporation; 1987. pp 67-93.
189. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal -tumor development. *N. Engl J Med* 1988; 319:525-532.
190. Lakhani SR. The transition from hyperplasia to invasive carcinoma of the br-ast. *J Pathol* 1999; 187: 272-278.



191. Buerger H, Otterbach F, Simon R, et al. Comparative genomic hybridization of ductal carcinoma in situ of the breast-evidence of multiple genetic pathways. *J Pathol* 1999; 187:44.
192. Von Hansemann D. Uber asymmetrische Zellteilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung. *Virchows Arch Pathol Anat* 1890; 119:299-234.
193. Lakhani SR, Chaggar R, Davies S, Jones C, Collins N, Odel C, Stratton M, O'Hare J. Genetic alterations in normal luminal and myoepithelial cells of the breast. *J Pathol* 189: 496-503 (1999).
194. Deng G, Lu Y, Zlotnikov G, Thor AD, Smith HS. Loss of heterozygosity in normal tissue adjacent to breast carcinomas. *Science* 1996; 274: 2057-2.
195. Larson PS, de la Morenas A, Cupples LA, Huang K, Rosenberg CL. Genetically abnormal clones in histologically normal breast tissue. *Am Pathol* 1998 ; 152:1591-1598.
196. Chen LC, Kurisu W, Ljung BM, Goldman ES, Moore D, II Smith HS: Heterogeneity for allelic loss in human breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1992.
197. Yates AJ, Ahmed A: Apocrine carcinoma and apocrine metaplasia. *Histopathology* 1988, 13: 228-231.
198. Ma XJ, Salunga R, Tuggle JT, et al. Gene expression profiles of human breast progression *Proc Natl. Acad Sci USA* 2003 ;100: 5974-5979.
199. Selim AG, Ryan A, El-Ayat G, Wells CA. Loss of heterozygosity and allelic imbalance in apocrine metaplasia of the breast :microdissection microsatellite analysis. *J Pathol* 2002; 196: 287-291.
200. Selim AG, Ryan A, El-Ayat G, Wells CA. Loss of heterozygosity and allelic imbalance in apocrine adenosis of the breast. *Cancer Detect Prev* 2001; 25: 262-267.
201. Jones C, Damiani S, Wells D, et al. Molecular cytogenetic comparison of apocrine hyperplasia and apocrine carcinoma of the breast. *Am J Parthol* 2001; 150: 207-214.



202. De Potter CR, Foschini MP, Schelfout AM, Schrocter C, Eusebi V. Immunohistochemical study of neu protein overexpression in clinging in situ duct carcinoma of the breast .Virchows Archiv A Pathol Anat Histopathol 1993; 422: 375-380.
203. Eusebi V, Feudale E, Foschini MP, Micheli A, Conti A, Riva C, Di Palma S, Rilke F : Long term follow up in situ carcinoma of the breast .Semin Diagn Pathol 1994, 11: 223-235.
204. Simpson PT, Reis-Fihlo JS, Gale T, Lakhani SR. Molecular evolution of breast cancer. J Pathol 2005; 205: 248-254.

