

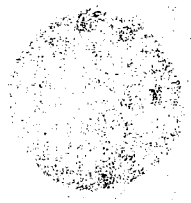
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000200287



A



489

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ  
ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ  
ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΤΟΜΟΣ  
ΕΚΔΟΣΗ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ  
ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΤΗΣ Ε. ΠΑΡΑΚΕΥΣΤΑΝ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ  
ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΤΗΣ Ε. ΠΑΡΑΚΕΥΣΤΑΝ  
ΕΚΔΟΣΗ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ  
ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΤΗΣ Ε. ΠΑΡΑΚΕΥΣΤΑΝ

Ε. ΠΑΡΑΚΕΥΣΤΑΝ  
ΕΚΔΟΣΕΩΝ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ

ΕΚΔΟΣΗ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ





**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ**

**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ-ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**Διευθυντής: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΪΔΗΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ (ΠΛΟΕΙΔΙΑ DNA),  
ΤΟΥ ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΟΥ P53 ΚΑΙ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ MIB-1 ΣΤΑ  
ΜΥΕΛΟΕΙΔΗ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΣΕ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ  
ΜΕ ΤΗΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΟΥΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ**

**ΜΑΡΙΑ ΚΑΝΑΡΑ**

**ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2006**



ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΑΠΟΦΑΣΗ 202/27

ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΑΠΟΦΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

- 1. Α. Δαλακός, Καθηγητής Ανατομικής Γνωστικής Επιστήμης
- 2. Ν. Αγαπίου, Καθηγητής Παθολογίας Ανατομίας
- 3. Β. Παπαδόπουλος, Καθηγητής Μαθηματικής Στατιστικής

ΑΠΟΦΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ 02/27-1977

ΟΡΘΟΙ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΕΤΟΙ ΚΑΝΟΝΕΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

- 1. Η Διδακτορική Διατριβή είναι έργο επιστημονικής έρευνας.
- 2. Η Διδακτορική Διατριβή υποβάλλεται στην Επικριτική Επιτροπή.
- 3. Η Διδακτορική Διατριβή υποβάλλεται σε τρεις αντίτυπα.
- 4. Η Διδακτορική Διατριβή υποβάλλεται με την οριστική της μορφή.
- 5. Η Διδακτορική Διατριβή υποβάλλεται με την οριστική της μορφή.
- 6. Η Διδακτορική Διατριβή υποβάλλεται με την οριστική της μορφή.
- 7. Η Διδακτορική Διατριβή υποβάλλεται με την οριστική της μορφή.

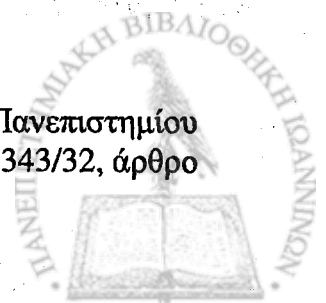
ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΑΠΟΦΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

ΟΡΘΟΙ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΕΤΟΙ ΚΑΝΟΝΕΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2.»



ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΤΗΣΕΩΣ : 26-02-1997

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ :  
ΣΥΝΕΔΡΙΑΣΗ ΑΡΙΘΜ. 327<sup>ο</sup>/17-06-1997

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ :

1. Δ. Λώλης, τ. Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, επιβλέπων.
2. Ν. Αγνάντη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, μέλος.
3. Ε. Παρασκευαΐδης, Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, μέλος.

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ : 02-07-1997

ΟΝΟΜΑΤΑ ΜΕΛΩΝ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ :

1. Δ. Λώλης, τ. Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, επιβλέπων
2. Ν. Αγνάντη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, μέλος
3. Ε. Παρασκευαΐδης, Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, μέλος
4. Β. Μαλάμου-Μήτση, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, μέλος
5. Δ. Στεφάνου, Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογικής Ανατομίας, μέλος
6. Σ. Καλανταρίδου, Επίκουρη Καθηγήτρια Μαιευτικής-Γυναικολογίας, μέλος
7. Α. Μπατιστάτου, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, μέλος

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ : 08-06-2004

ΒΑΘΜΟΣ ΜΕ ΤΟΝ ΟΠΟΙΟ ΕΓΙΝΕ ΑΠΟΔΕΚΤΗ Η ΔΙΑΤΡΙΒΗ : ΑΡΙΣΤΑ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ : ΕΠΑΜΕΙΝΩΝΔΑΣ ΤΣΙΑΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ  
ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

Η ΓΡΑΜΜΑΤΕΑΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΤΣΑΛΑ



## Περιεχόμενα

### Γενικό μέρος

	Σελίδες
1. Στοιχεία εμβρυολογίας, ανατομίας και φυσιολογίας του μαστού	1-21
2. Αιτιολογία και παθογένεση του καρκίνου του μαστού	22-48
3. Πορογενής διηθητικός καρκίνος του μαστού	49-81
4. Μυελοειδή καρκινώματα του μαστού	82-121
5. Πλοειδία DNA στον καρκίνο του μαστού	122-154
6. P53 και MIB-1 στον καρκίνο του μαστού	155-186

### Ειδικό μέρος

1. Υλικό και μέθοδος	187-197
2. Αποτελέσματα	198-233
3. Συζήτηση	234-244
4. Συπεράσματα	245
5. Περίληψη	246-248
6. <i>Study of the biological behavior of medullary breast cancers in relation with their DNA ploidy, oncogene p53 and MIB-1 index</i>	249-250
7. <i>In conclusion</i>	251
8. Φωτογραφίες-Πίνακες	252-256



Μηδεὶς με φαύλην κάσθενῃ νομιζέτω  
Μηδ' ἤσυχαιαν, ἀλλὰ θατέρου τρόπου,  
Βαρείαν ἐχθροῖς καὶ φίλοισιν εὐμενῇ  
Τῶν γάρ τοιούτων ευκλεέστατος βίος.

(Κανένας μη με θεωρεῖ δειλὴ και αδύναμη,  
Οὔτε πονόψυχη, μα το ενάντιο εἶμαι  
Δίνω αγάπη στην αγάπη, θέληση στο μίσος,  
Ἔτσι από την ανθρώπινη ζωή απομένει δόξα.)  
Ευριπίδη «Μήδεια»

We are such stuff  
As dreams are made off; and our little life  
Is rounded with a sleep.  
W. Shakespeare "The Tempest"

Στα χαρτιά σκυφτός και στα βιβλία τ'απύθμενα  
με σκοινί λιανό κατεβαίνοντας  
νύχτες και νύχτες  
το λευκό αναζήτησα ως την ύστατη ένταση του μαύρου  
την ελπίδα ως τα δάκρυα  
τη χαρά ως την άκρα απόγνωση  
Ο. Ελύτη «Το Άξιον Εστί»

...Ήταν ποτάμι σκοτεινό, πνιγμένο στα κλαριά·ερχόταν βουερό και τραγουδούσε μουρμουριστά ανάμεσα στα καλάμια·έστελνε σμάρι τα πουλιά να μην μ'αφήνουν να περπατήσω και στάλαζε δροσιά επάνω στις πληγές μου που ήμουνα μιά δύστυχη κοπέλα που την τσουρούφλισε η φωτιά...Μην το πιστεύεις πως ο καιρός μπορεί να γειάνει·πως βολεί να σε φυλάξουν τα ντουβάρια. Ψέματα. Σαν φτάσει ο καημός ώσαμε το φυλλοκάρδι δεν ξεριζώνεται

Φ. Γ. Λόρκα «Ο Ματωμένος Γάμος»

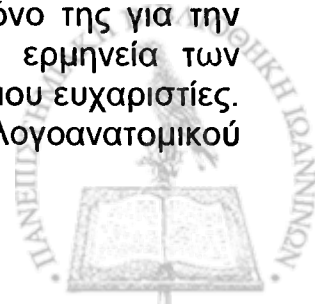


## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα μυελοειδή καρκινώματα του μαστού αποτελούν ένα ιδιαίτερα γοητευτικό αντικείμενο μελέτης για τον ερευνητή, μιά και εμφανίζουν την παραδοξότητα του να συνδυάζουν εξαιρετικά κακοήθη ιστοπαθολογική εικόνα με επιθετικούς βιολογικούς χαρακτήρες, με σχετικά καλύτερη από την αναμενόμενη κλινική πορεία. Η ερμηνεία του φαινομένου αυτού βρίσκεται πιθανόν στην λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση που τα περιβάλλει και αποτελεί προϊόν ανοσολογικής αντίδρασης του ξενιστή υποκινούμενης από αντιγονικούς χαρακτήρες του καρκινώματος. Η κατανόηση των χαρακτήρων αυτών θα αποτελούσε σημαντικό βήμα στην πρόληψη και πληρέστερη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού. Ο σκοπός της εργασίας αυτής είναι η μελέτη του γενετικού περιεχομένου (πλοειδίας DNA), του ρυθμού πολλαπλασιασμού (μέσω του δείκτη MIB-1) και της απόπτωσης (μέσω του ογκογονιδίου p53) των καρκινωμάτων αυτών και το κατά πόσο οι παράγοντες αυτοί συμβάλλουν στην ιδιάζουσα βιολογική συμπεριφορά του.

Οφείλω βαθιά ευγνωμοσύνη και σεβασμό στον Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας και Διευθυντή του Μαιευτικού-Γυναικολογικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Δ. Λώλη που μου εμπιστεύθηκε την ερευνητική αυτή εργασία και με υποστήριξε σημαντικά στην πραγμάτωσή της. Χωρίς τη συνδρομή του η εργασία αυτή δεν θα είχε ποτέ ολοκληρωθεί. Εκφράζω ευγνωμοσύνη και σεβασμό στην Καθηγήτρια Παθολογοανατομίας και Διευθύντρια του Παθολογοανατομικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Ν.Αγνάντη που με την υπομονή και την εμπειρία της με βοήθησε ουσιαστικά στο σχεδιασμό της εργασίας. Ευγνωμοσύνη και σεβασμό οφείλω στον Αν. Καθηγητή Γ. Αντσακλή, Διευθυντή της Χειρουργικής Κλινικής του Σισμανογλείου Π. Γ.Ν. Νοσοκομείου Αττικής, όπου μαθήτευσα σαν ειδικευόμενη της γενικής χειρουργικής, οι διδαχές του οποίου ήταν πολύτιμες στην κατανόηση των κανόνων της χειρουργικής. Ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη οφείλω στον Διευθυντή της Χειρουργικής Κλινικής του Π. Γ. Ν. Νοσοκομείου Αττικής «Ο Άγιος Σάββας» για την πολύ σημαντική του βοήθεια-οι οδηγίες του για τη μεθοδολογία που πρέπει να ακολουθείται στο ερευνητικό έργο με κατηύθυναν στην οργάνωση της διατριβής. Τις θερμές μου ευχαριστίες εκφράζω στον Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας και Διευθυντή του Μαιευτικού-Γυναικολογικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Ε. Παρασκευαΐδη που έδειξε ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την παρούσα εργασία και οι συμβουλές του με βοήθησαν σημαντικά στην ολοκλήρωσή της.

Τα παθολογοανατομικά δείγματα προήλθαν κατά το μεγαλύτερο μέρος από το Παθολογοανατομικό Τμήμα του Γ. Π. Νοσοκομείου-Μαιευτηρίου «Ελενα Βενιζέλου». Η Διευθύντρια Ε. Μπαϊρακτάρη-Κουρή, μου εμπιστεύτηκε το υλικό του αρχείου και μου παρείχε αμέριστη βοήθεια και σημαντικές συμβουλές. Την ευγνωμονώ με σεβασμό. Η παθολογοανατόμος Επιμελήτρια Α΄Σ. Αρβανίτη διέθεσε μεγάλο μέρος από τον πολύτιμο χρόνο της για την εκτίμηση των ιστοπαθολογοανατομικών δειγμάτων και την ερμηνεία των ανοσοϊστοχημικών αποτελεσμάτων. Της εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες. Ευχαριστώ ιδιαίτερα τις παρασκευάστριες του Παθολογοανατομικού





Τμήματος του Γ. Π. Νοσοκομείου-Μαιευτηρίου «Έλενα Βενιζέλου», που με κόπο και ανιδιοτελώς πραγματοποίησαν τις ανοσοϊστοχημικές δοκιμασίες. Η εκτίμηση της πλοειδίας του DNA των παθολογοανατομικών δειγμάτων έγινε στο τμήμα Μοριακής Βιολογίας του Παθολογοανατομικού Τμήματος του Ν. Γ. Νοσοκομείου Μελισσίων «Αμαλία Φλέμινγκ». Η Διευθύντρια του τμήματος Ε. Κόκκα μου παρείχε κάθε δυνατή βοήθεια και κατευθυντήριες οδηγίες για την πραγμάτωση του ερευνητικού έργου. Την ευχαριστώ και της εκφράζω την ευγνωμοσύνη μου. Ευχαριστώ ιδιαίτερα την παθολογοανατόμο Επιμελήτρια Α' Ε. Πατρά για την βοήθειά της στην επιλογή των δειγμάτων. Οι προσδιορισμοί της πλοειδίας έγιναν από τον παθολογοανατόμο Επιμελητή Α' Ν. Καπράνο. Τον ευχαριστώ θερμά για την βοήθεια και τις πολύτιμες συμβουλές. Ευχαριστώ ιδιαίτερα τους παρασκευαστές του Παθολογοανατομικού Τμήματος του Ν. Γ. Νοσοκομείου Μελισσίων «Αμαλία Φλέμινγκ» για τον χρόνο και τον κόπο που αφιέρωσαν στην επεξεργασία των δειγμάτων. Η επιλογή των δειγμάτων από το Παθολογοανατομικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, έγιναν από την Λέκτορα του Πανεπιστημίου Αθηνών Α. Νόνη. Εκφράζω την ευγνωμοσύνη και τις ευχαριστίες μου για την πολύτιμη βοήθειά της. Η Διοικήτρια του Γ. Π. Νοσοκομείου-Μαιευτηρίου «Έλενα Βενιζέλου» Κ. Κούκιου-Σπανοπούλου, ενέκρινε την αίτησή μου για την χορήγηση πληροφοριών από τους ατομικούς φακέλους και τα φύλλα νοσηλείας των ασθενών που έπασχαν από μυελοειδές καρκίνωμα του μαστού και υποβλήθηκαν σε χειρουργικές επεμβάσεις από το 1985 μέχρι το 1999. Την ευχαριστώ θερμά. Την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποίησε η Ε. Δεληγά, την οποία ευχαριστώ ιδιαίτερα. Ευχαριστίες και ευγνωμοσύνη εκφράζω στην θεία μου Λ. Ιωνά για την αγάπη και τη συμπαράστασή της. Το ερευνητικό μου έργο υποστήριξαν με αγάπη, ενθάρρυνση και οικονομική ενίσχυση οι γονείς μου Α. και Π. Καναρά και ο αδερφός μου Ν. Καναράς. Αυτά που τους οφείλω ξεπερνούν τα όρια ενός απλού ευχαριστώ. Τους αγαπώ και ελπίζω να σταθώ αντάξια των προσδοκιών τους. Ο σύζυγός μου και σύντροφος της ζωής μου Χειρουργός Δ. Παπαγόρας στάθηκε για μένα ένας μεγάλος δάσκαλος. Χωρίς τις οδηγίες, την συμπαράστασή του και πάνω απ'όλα την αγάπη του, η προσπάθεια αυτή δεν θα είχε ολοκληρωθεί ποτέ. Τον ευχαριστώ και τον αγκαλιάζω.



*Στους γονείς μου, με αγάπη,  
ευγνωμοσύνη και σεβασμό.*



## **Study of the biological behavior of medullary breast carcinomas in relation with their DNA ploidy, P53 and MIB-1 expression.**

In this study we collected pathological material from 48 patients with tumors that had been diagnosed initially as medullary carcinoma of the breast(MC) during the period from 1985 to 1999. The patients were treated, 40 of them in the Hospital "Marika Iliadi" in Athens and 8 in the University Hospital of Ioannina. For the diagnosis we used the Ridolfi criteria, as first published in 1977 and still widely used by the majority of histopathological laboratories because of their accuracy and reproducibility. We performed DNA ploidy analysis and immunostaining for p53 and MIB-1. For the DNA ploidy analysis, we used formalin-fixed, paraffin embedded tumor samples in sections of 20 $\mu$ m thickness. The mechanical extraction of the cells was done by sample preparation with medimachine system(DAKO, Glostrup, Denmark) by using the proper filters for retaining the nuclei. For measuring the nuclear DNA content we used the image cytometry analysis CAS 200 after Feulgen staining. At least 150 cells were measured from each sample and we excluded cells with mixed nuclei. Tetraploid cells of mouse liver were the reference standard for DNA. We considered the tumors as diploid when the cancer cells had DNA index within the range 0.9 and 1.1. A tumor with a peak falling outside this range was reported as DNA aneuploid. The sections that were produced from each formalin-fixed, paraffin embedded tumor samples, were stained from immunoreactivity to p53(DO7, Dako, Glostrup, Denmark) and to MIB-1(Immunotec, Marseille, France) using the standard avidin-biotin method(ABC). The cases were considered to be p53 positive if over 10% of the tumor cells manifested a definite nuclear staining and MIB-1 positive if there was any staining of the nucleoplasm or nucleoli, regardless of staining intensity. The MIB-1 index was calculated as the fraction of positive tumor cells: if it was over 20% the tumor was characterized as having rapid growth. Clinical data was available from hospital and histopathological records. Follow-up information was obtained from cancer registry records and hospital charts and information given from the patients themselves or their relatives.

MC accounts for 2% of all breast carcinomas in Greece. The age of women ranges between 40 and 55, with a mean of around 53 years. We found an increased occurrence in the outer upper quadrant of the left breast. The mean diameter was calculated to 3 cm.

The median time for diagnosis was 6.8 months. The majority of the patients were treated with breast conservation surgery followed by adjuvant treatment(radiation, chemotherapy, hormonal therapy).

There was no relation with smoking, alcohol, benign breast disease or oral contraceptives or hormone therapy.

Delayed diagnosis, peritumoral lymphatic and blood vessel invasion, NPI(Nottigham Prognostic Index) $\geq$ 5.4, lymph node metastases, EIC(extensive intraductal component) and family history, were negative prognostic factors as they were related with shorter disease-free and overall survival and increase of recurrences.

There was a high prevalence of patients with family history, mainly for breast and ovary cancer which were characterized by aggressive biological



features(NPI>5.4, aneuploid tumors the most p53(+)/MIB-1(+)) and clinical behavior.

No difference was found between typical and atypical MC regarding size, age, location, menopausal status and family history. Concerning the histopathological features, in TMC there was increased tumor necrosis and dense lymphocytic infiltrate. The morphological features indicated a grade 3 tumor. In AMC there was an increased presence of blood vessel and lymphatic invasion.

Despite the early diagnosis, over 50% of the patients had NPI>5.4. There is little possibility for NPI to be used as a prognostic indicator for MC.

In 43.8 of patients we had positive lymph nodes. The frequency of axillary lymph node metastases is the same for TMC and AMC but a greater possibility for AMC to metastasize in more than 4 lymph nodes.

The incidence of recurrence, systemic in most cases, was 27% and time of recurrence was within the first 36 months after treatment. In AMC it is related with lymph node status but not in TMC. Bones were the most common site of metastasis, followed by the liver and lungs. There is a tendency for AMC to metastasize, especially to the bones.

The overall 5-year survival rate for TMC was 80.77% and for AMC 72.7% and there was also an increased disease-free survival for TMC, better than the rate reported for invasive ductal carcinomas, despite the increased lymph node status.

MC were aneuploid in 90%-overdiploid in 60%. The average DNA index was 1.56, slightly increased in AMC.

The patients staged in TNM 2b, 3a, 3b and 4 at the time of diagnosis which had the worse prognosis, had also increased DI. There was no difference in DI for patients with NPI>5.4. Premenopausal women had lower DNA index except the ones staged 2b, 3a, 3b and 4 which had an increased DI and worse prognosis. We conclude that DI cannot be used generally as a prognostic index in MC but only in special categories.

The majority of MC had mutation of p53 oncogene. There was a direct relationship between the degree of lymphoplasmacytic infiltration and the expression of p53 suggesting a possible host immunoreaction in the mutated protein. P53(+) MC had a greater possibility of metastasis in axillary lymph nodes and bones, although we found no relationship with recurrences or 5-year survival. 50% of the tumors were p53(+)/MIB-1(+) suggesting same distribution pattern of the two parameters.

The MIB-1 index of the study group was 21%, almost the same in TMC and AMC. nevertheless AMC had mostly MIB-1 index over 25% suggesting rapidly growing tumors.

Blood vessel invasion and lymph node metastases were more often in MIB-1(+)MC but we failed to prove statistically significant relationship between MIB-1 index and 5-year survival or recurrence.

Using the Cox model, we found that important factors for recurrence were age, lymph node status and tumor necrosis and for 5-year survival only the lymph node status.



## IN CONCLUSION

1. MC consist a specific, although rare, entity of infiltrative ductal breast carcinomas, which inspite their aggressive morphologic and biologic features, have better prognosis with the exception of patients with family history of cancer.
2. Most of the MC are aneuploid. DNA ploidy can be used as a prognostic factor in MC, only in the group of premenopausal women.
3. The majority of MC, have p53 mutations: cancer cells are positive in more than 50% of the tumor sample. There was a direct relationship between the degree of lymphoplasmacytic infiltration and the expression of p53 suggesting a possible host immunoreaction in the mutated protein. P53(+) MC had a greater possibility of metastasis in axillary lymph nodes and bones, although we found no relationship with recurrences or 5-year survival.
4. The MIB-1 index of the study group was 21%. Blood vessel invasion and lymph node metastases were more often in MIB-1(+)MC but we failed to prove statistically significant relationship between MIB-1index and 5-year survival or recurrence.
5. MC are tumors with high proliferative rate and, in the same time, increased apoptosis. There seems to be a balance between the two factors which when is altered results in greater possibility of metastasis and worse prognosis.
6. The factors influencing recurrence are:age, tumor necrosis and lymph node status. The only statistically significant factor for 5-year survival was lymph node status.



**1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑΣ, ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**



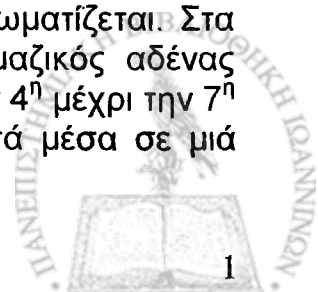
Ο μαστός ή μαζικός αδένας μέσω της λειτουργίας του θηλασμού είναι όργανο απαραίτητο για την επιβίωση του νεογέννητου, αλλά και για την αποκατάσταση του οργανισμού της μητέρας στην φυσιολογική πρό της εγκυμοσύνης κατάσταση. Η κατανόηση της ανατομίας και φυσιολογίας του οργάνου αυτού και των πολύπλοκων ενδοκρινικών αλληλεπιδράσεων του είναι απαραίτητη για την ερμηνεία της παθοφυσιολογίας του και των καλοήθων και κακοήθων ανωμαλιών του και ειδικότερα για τον καρκίνο του μαστού αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την πληρέστερη θεραπευτική αντιμετώπισή του.

### **Εμβυολογία του μαστού**

Κατά την πέμπτη εβδομάδα της ενδομήτριας ανάπτυξης, αναπτύσσεται η λεγόμενη «γαλακτική χορδή» προερχόμενη από το εξώδερμα που εκτείνεται από την περιοχή της μασχάλης μέχρι την βουβωνική χώρα. Στην περιοχή του θώρακα διευρύνεται διαμορφώνοντας την ανατομική περιοχή του μαστού, ενώ η υπολειπόμενη γαλακτική χορδή υποστρέφει. Υπολλειματική υποσττροφή ή διασπορά της γαλακτικής χορδής οδηγεί σε δευτερογενείς μαζικούς αδένες που συναντώνται σε ένα ποσοστό από 2% έως 6% των γυναικών.

Στην 7η ή 8η εβδομάδα της κυφορίας, επισυμβαίνει μία πάχυνση στην περιοχή της μαζικής ακρολοφίας (milk hill stage), που ακολουθείται από ενθήκωση της πάχυνσης αυτής στο μεσέγχυμα του θωρακικού τοιχώματος (disk stage) και ανάπτυξη σε τρεις διαστάσεις (globular stage). Στην 10η μέχρι 14η εβδομάδα ολοκληρώνεται η είσοδος στο μεσέγχυμα του θωρακικού τοιχώματος με αποτέλεσμα την επιπέδωση της πάχυνσης (cone stage). Μεταξύ 12<sup>ης</sup> και 16<sup>ης</sup> εβδομάδας μεσεγγυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται στις λείες μυϊκές ίνες της θηλής. Συσσωματώματα επιθηλιακών κυττάρων σχηματίζονται (budding stage) διαμορφώνοντας κατόπιν 15 έως 20 ταινίες (branching stage) την 16<sup>η</sup> εβδομάδα. Αυτές αντιπροσωπεύουν τις μελλοντικές εκκριτικές θηλές. Οι δευτερογενείς ανατομικές κατασκευές του μαστού αναπτύσσονται στη συνέχεια, με διαφοροποίηση των θυλάκων των τριχών, των σμηγματογόνων και των ιδρωτοποιών αδένων, αλλά μόνο οι ιδρωτοποιοί αδένες αναπτύσσονται πλήρως σε αυτή τη φάση, οι οποίοι πιστεύεται ότι αποτελούν και την φυλογενετική καταβολή του μαζικού αδένος. Επιπλέον ειδικοί αποκρινείς αδένες διαμορφώνουν τους αδένες του Montgomery γύρω από τη θηλή. Οι ανατομικές αυτές κατασκευές είναι ανεξάρτητες ορμονικών επιρροών.

Κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου της κύησης και ειδικά από την 20<sup>η</sup> μέχρι την 32<sup>η</sup> εβδομάδα φυλετικές ορμόνες του πλακούντα εισέρχονται στην κυκλοφορία του εμβρύου και προάγουν την σωληναριοποίηση του συσσωματώματος των επιθηλιακών ιστών (canalization stage). Στο τέλος της περιόδου αυτής 15 μέχρι 25 γαλακτοφόροι πόροι έχουν αναπτυχθεί και προσκολλώνται μαζί με τους σμηγματογόνους αδένες κοντά στην επιδερμίδα. Η παρεγγυματική διαφοροποίηση συμβαίνει από την 32<sup>η</sup> έως την 40<sup>η</sup> εβδομάδα με την ανάπτυξη των λοβίων που περιέχουν πρωτόγαλα (end-vesicle stage). Στο στάδιο αυτό σημειώνεται μεγάλη ανάπτυξη της κυρίως μάζας του μαστικού αδένος και η θηλή διαμορφώνεται και χρωματίζεται. Στα περισσότερα νεογνά ανεξαρτήτως φύλου ο διεγερμένος μαζικός αδένας μπορεί να εκκρίνει το λεγόμενο «γάλα των μαγισσών» από την 4<sup>η</sup> μέχρι την 7<sup>η</sup> ημέρα μετά την γέννηση. Η έκκριση από τον μαστό σταματά μέσα σε μία



περίοδο τριών ή τεσσάρων εβδομάδων λόγω της απόσυρσης των πλακουντιακών ορμονών. Στη παιδική ηλικία ολοκληρώνεται η ανάπτυξη των πόρων.

### **Ανάπτυξη του μαστού κατά τη διάρκεια της εφηβείας**

Η φάση της εφηβείας ξεκινά από την ηλικία των 10 ή 12 χρόνων σαν αποτέλεσμα της επίδρασης των υποθαλαμικών ορμονών των υπεύθυνων για την έκκριση των γοναδοτροφινών οι οποίες διοχετεύονται στο φλεβικό σύστημα υποθαλάμου –υπόφυσης. Τα βασεόφιλα κύτταρα της πρόσθιας υπόφυσης εκκρίνουν την θυλακιοτρόπο (FSH) και την ωχρινοποιητική ορμόνη (LH). Η FSH προκαλεί την ωρίμανση των πρωτογενών ωοθυλακίων σε γραφιανά ωοθυλάκια που εκκρίνουν οιστρογόνα με την μορφή της 17β-οιστραδιόλης. Οι ορμόνες αυτές προάγουν την ανάπτυξη και ωρίμανση των μαστών και των γεννητικών οργάνων περίπου 1 με 2 χρόνια μετά την εμμηναρχή, γιατί στην αρχή το υποθαλαμοϋποφυσιακό σύστημα είναι αρρυθμιστο αφού η ωρίμανση των πρωτογενών ωοθυλακίων δεν καταλήγει σε ωορρηξία στην ωχρινοποιητική φάση και έτσι η σύνθεση των ωοθηκικών οιστρογόνων κυριαρχεί στη σύνθεση της προγεστερόνης.

Η επίδραση των οιστρογόνων στον αναπτυσσόμενο μαστό αφορά την προαγωγή της κατά μήκος ανάπτυξης του επιθηλίου των πόρων. Οι τελικοί πόροι συσσωρεύονται και διαμορφώνονται περαιτέρω τα λόβια. Συγχρόνως ο συνδετικός ιστός αυξάνει σε μάζα και ελαστικότητα, η αγγείωση αυξάνει καθώς και η εναπόθεση λίπους. Οι αρχικές αυτές αλλαγές προκαλούνται από οιστρογόνα που συνθέτονται από τα ανώριμα πρωτογενή ωοθυλάκια που είναι ανωορρηκτικά. Μετά την ωρίμανση των ωοθυλακίων το ωχρό σωματίο παράγει προγεστερόνη. Οι σχετιζόμενοι ρόλοι αυτών των ορμονών δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένοι. Σε πειραματικές μελέτες μόνα τους τα οιστρογόνα έχουν αυξητική δράση στους πόρους κάτι που είναι αδύνατο να κάνει από μόνη της η προγεστερόνη. Η συνδυασμένη δράση των δύο ορμονών προάγει την πλήρη ανάπτυξη του συστήματος των πόρων και των λοβίων του μαζικού αδένου.

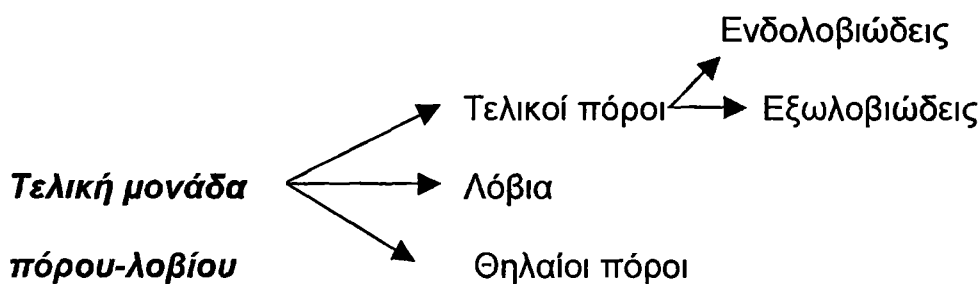
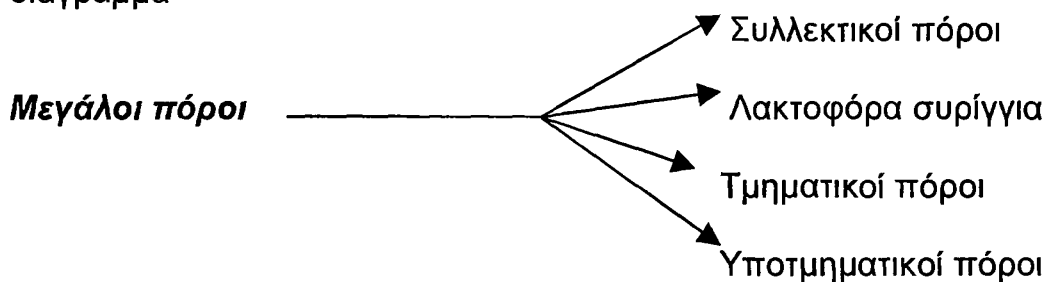
Οι διαφοροποιήσεις του μαστού με την πάροδο της ηλικίας σε ιστολογικό επίπεδο έχουν καταταγεί από τον Tanner σε πέντε (χρονολογικές) φάσεις:

- Φάση 1<sup>η</sup> :Εφηβεία: Μορφοποίηση και ανόρθωση της θηλής χωρίς όμως ψηλαφητό μαζικό ιστό. Χρωματισμός της θηλής.
- Φάση 2<sup>η</sup> :11.1+-1.1 έτη: Παρουσία αδενικού ιστού στην υποθηλαία περιοχή. Προεξοχή (σαν σύνολο) του μαστού και της θηλής από το θωρακικό τοίχωμα.
- Φάση 3<sup>η</sup> :12.2+-1.09 έτη: Αύξηση στην ποσότητα του ψηλαφητού πιά μαζικού ιστού με μεγέθυνση του μαστού. Αύξηση στην διάμετρο και τον χρωματισμό της θηλής. Το περίγραμμα του μαστού και της θηλής παραμένει ενιαίο.
- Φάση 4<sup>η</sup> :13.1+-1.15 έτη: Μεγέθυνση της θηλής και αύξηση του χρωματισμού της. Διαχωρισμός της σαν δευτερογενής ανατομική κατασκευή πάνω από το επίπεδο του μαστού.
- Φάση 5<sup>η</sup> :15.3+-1.7 έτη: Τελική διαμόρφωση του ομαλού περιγράμματος του μαστού.



## Ανατομία του μαστού

Ο μαστός στον ενήλικα βρίσκεται μεταξύ της 2<sup>ης</sup> και 6<sup>ης</sup> πλευράς στον κάθετο άξονα και μεταξύ του στερνικού ορίου και της μεσομασχαλιαίας γραμμής στον οριζόντιο άξονα. Ο μέσος μαστός έχει διάμετρο από 10 έως 12 εκ. και το πάχος του κεντρικά κυμαίνεται από 5 μέχρι 7 εκ. Μαζικός αδένας προβάλλει επίσης εντός της μασχαλιαίας κοιλότητας στην λεγόμενη ουρά του Spence. Το περίγραμμα του μαστού εμφανίζει μεγάλη ποικιλία, συνήθως όμως έχει σχήμα τρούλου με κωνική διαμόρφωση που τροποποιείται σε εκκρεμοειδή με την πάροδο της ηλικίας. Τρεις είναι οι βασικές ανατομικές κατασκευές του μαστού: το δέρμα, ο υποδόριος ιστός και ο μαζικός ιστός με τον τελευταίο να αποτελείται από το στρώμα και το παρέγχυμα. Το παρέγχυμα αποτελείται από 15 έως 20 τμήματα που παρατάσσονται κυκλωτερώς γύρω από τη θηλή. Ο πόρος κάθε τμήματος έχει διάμετρο περίπου 2 χιλ. και περίπου 5 μέχρι 10 τελικοί γαλακτοφόροι πόροι καταλήγουν στην θηλή. Η διάταξη των συστήματος των πόρων του μαστού είναι σύμφωνα με το παρακάτω διάγραμμα



Κάθε πόρος παροχετεύει ένα λόβιο αποτελούμενο από 20 έως 40 μικρότερες μονάδες. Η μικροανατομία του μαστού έχει περιγραφεί από τον Parks με λεπτομέρεια. Αυτός αναφέρει ότι η κάθε λοβιακή μονάδα αποτελείται από 10 μέχρι 100 σωληνώδεις εκκριτικές μονάδες. Το στρώμα και ο υποδόριος ιστός περιέχουν λίπος, συνδετικό ιστό, αιμοφόρα αγγεία, νεύρα και λεμφαγγεία. Το δέρμα του μαστού είναι λεπτό και διαθέτει θυλάκους τριχών, σμηγματογόνους και ιδρωτοποιούς αδένες. Η θηλή που τοποθετείται περίπου στο 4<sup>ο</sup> μεσοπλευρικό διάστημα (στον μη εκκρεμοειδή μαστό), περιέχει τελικές αισθητήριες απολήξεις, συμπεριλαμβανομένων σωματίων του Ruffini και τελικών σωματίων του Krause. Έχει σμηγματογόνους και αποκρινείς αδένες αλλά όχι θυλάκους τριχών. Είναι κυκλική και χρωματισμένη διαμέτρου 15 έως

60 χιλ. Τα οζίδια του Morgagni βρίσκονται κοντά στην περιφέρεια της θηλής και αποτελούν μορφώματα που δημιουργούνται από την εκβολή των πόρων των αδένων του Montgomery. Οι αδένες αυτοί είναι σμηγματογόνοι αδένες με την δυνατότητα της έκκρισης γάλακτος. Αντιπροσωπεύουν ένα ενδιάμεσο στάδιο μεταξύ ιδρωτοποιού και μαζικού αδένος.

Ο μαστός καλύπτεται από περιτονίες. Η άνω επιφάνεια του μαστού καλύπτεται από την επιφανειακή θωρακική περιτονία που είναι συνεχόμενη με την κοιλιακή περιτονία του Camper. Η κατώτερη επιφάνεια του μαστού βρίσκεται σε επαφή με την εν τω βάθει θωρακική περιτονία που καλύπτει τον μείζονα θωρακικό και τον πρόσθιο οδοντωτό μυ. Οι δύο περιτοναϊκές στιβάδες συνδέονται με δέσμες μυϊκών ινών, τον λεγόμενο σύνδεσμο του Cooper που αποτελεί και το φυσικό μέσο στήριξης του μαστού.

#### *Αιματική κυκλοφορία του μαστού*

Η πρωτογενής προμήθεια σε αίμα του μαστού προέρχεται από την έσω μαστική και τις πλάγιες θωρακικές αρτηρίες. Περίπου το 60% της αιμάτωσης και κυρίως τα μέσα και κεντρικά τμήματα, προέρχεται από τους πρόσθιους διατιτρώντες κλάδους της έσω μαστικής. Το 30% που αφορά το άνω και το έξω τεταρτημόριο, από την πλάγια θωρακική. Μικρότερη συνεισφορά στην αιμάτωση έχουν ο θωρακικός κλάδος της ακρωμιοθωρακικής, οι πλάγιοι κλάδοι της 3<sup>ης</sup>, 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> μεσοπλεύριας, καθώς και η υποπλάτια και θωρακοραχιαία αρτηρία.

#### *Λεμφική κυκλοφορία του μαστού*

**Λεμφαγγεία:** Η υποεπιθηλιακή, θηλωματώδης δέσμη των λεμφαγγείων του μαστού είναι σε συνέχεια με την υποεπιθηλιακή στιβάδα των λεμφαγγείων του υπολοίπου σώματος. Αυτά τα χωρίς βαλβίδες λεμφαγγεία επικοινωνούν με τα υποδερματικά και με το πλέγμα του Sappey που συγκεντρώνει τα λεμφαγγεία από την περιοχή της θηλής. Η επικοινωνία γίνεται με πλάγια λεμφαγγεία ισοδύναμα με αυτά που συνδέουν τα υποδερματικά με τα υποεπιθηλιακά πλέγματα σε άλλες περιοχές του σώματος. Η λέμφος ρέει με κατεύθυνση από τα επιφανειακά στα εν τω βάθει πλέγματα και από το υποθηλαίο πλέγμα δια μέσου των λεμφαγγείων των γαλακτοφόρων πόρων στα περιλοβιώδη και εν τω βάθει υποδόρια πλέγματα. Τα λεμφαγγεία των πόρων βρίσκονται επί τα εκτός της υποεπιθηλιακής στιβάδας του τοιχώματός τους. Η ροή από τα εν τω βάθει υποδόρια και τα μαστικά λεμφαγγεία είναι κεντρομόλος προς τους μασχαλιαίους και τους έσω μαστικούς λεμφαδένες και μελέτες με ραδιοσημασμένο κολλοειδές έδειξαν ότι η αναλογία της λέμφου είναι 97% στους πρώτους και 3% στους δεύτερους, απέρριψαν δε συγχρόνως την παλιά υπόθεση ότι η φορά είναι περιμετρική προς το πλέγμα του Sappey. Σημειώνεται ότι παροχέτευση της λέμφου προς τα λεμφογάγγλια της έσω μαστικής μπορεί να παρατηρηθεί μετά από χορήγηση της ραδιενεργού ουσίας σε οποιοδήποτε τεταρτημόριο του μαστού.

**Λεμφαδένες:** A) Μασχαλιαίοι: Η μελέτη της τοπογραφίας των μασχαλιαίων λεμφαδένων είναι σημαντική γιατί υποδεικνύει τις μεταστατικές οδούς εξάπλωσης του καρκίνου του μαστού. Υπάρχουν δύο μέθοδοι ομαδοποίησης τους. Η πρώτη ταξινόμηση είναι ανατομική και διακρίνει τους: 1) κορυφαίους ή υποκλειδίους που βρίσκονται κεντρικά του ελάσσονος θωρακικού 2) λεμφαδένες της μασχαλιαίας φλέβας που εκτείνονται από τον ελάσσονα θωρακικό μέχρι το πλάγιο όριο της μασχαλιαίας κοιλότητας 3) διαθωρακικά

*Λεμφογάγγλια (Rotter)* μεταξύ μείζονος και ελάσσονος θωρακικού μυός κατά μήκος του πλάγιου θωρακικού νεύρου 4) *υποπλάτια* κατά μήκος των υποπλάτιων αγγείων 5) *κεντρικά* κάτω από τον ελάσσονα θωρακικό και το πλάγιο όριο του μείζονος θωρακικού μυός 6) *έξω μαστικά* και 7) *παραμαστικά* στο υποδόριο λίπος πάνω από το άνω έξω τεταρτημόριο του μαστού. Η δεύτερη ταξινόμηση είναι με βάση την πορεία της μεταστατικής νόσου και διακρίνει τα λεμφογάγγλια σε τρία επίπεδα ανάλογα με την χρονική φάση της προσβολής τους, τα οποία στην παθολογοανατομική εξέταση πρέπει να είναι αναγνωρίσιμα με την τοποθέτηση ραμμάτων διεγχειρητικά. Το *επίπεδο I* περιλαμβάνει τα λεμφογάγγλια που βρίσκονται πλάγια από το πλάγιο όριο του ελάσσονος θωρακικού, το *επίπεδο II* αυτά που βρίσκονται πίσω από τον ελάσσονα θωρακικό και το *επίπεδο III* τα λεμφογάγγλια κεντρικά του μέσου ορίου του ελάσσονος θωρακικού.

**B) Έσω μαστικής:** Τα λεμφογάγγλια της έσω μαστικής βρίσκονται στη παραστερνική περιοχή στα μεσοπλεύρια διαστήματα σε στενή σχέση με τα αγγεία εντός του εξωπλευρικού λίπους. Από το 2<sup>ο</sup> μεσοπλεύριο διάστημα και κάτω χωρίζονται από την εκάστοτε πλευρά μία λεπτή στιβάδα περιτονίας προερχόμενη από αυτή του εγκάρσιου θωρακικού μυός. Ο αριθμός και η κατανομή τους σε σχέση με τα αγγεία ποικίλλει, στις περισσότερες πάντως περιπτώσεις βρίσκονται κεντρικά των αγγείων στο 1<sup>ο</sup>, 2<sup>ο</sup>, 3<sup>ο</sup>, 6<sup>ο</sup> μεσοπλεύριο διάστημα. Η ανεύρεση καρκινικής διήθησης στους λεμφαδένες αυτούς έχει ιδιαίτερη προγνωστική σημασία.

Σε παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων μπορεί να αποφράσσεται η φυσιολογική λεμφική αποχέτευση και να χρησιμοποιούνται εναλλακτικές ανατομικές πορείες. Έχουν περιγραφεί οι ακόλουθες:

α) Εν τω βάθει υποστερνική προς την ετερόπλευρη έσω μαστική.

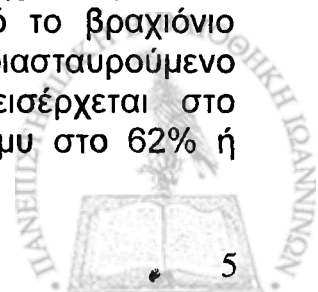
β) Επιφανειακή προστερνική προς το πλάγιο μεσοπλεύριο διάστημα και ακολούθως στο μεσοθωράκιο (μπορεί να μελετηθεί μετά από χορήγηση ραδιενεργού ισοτόπου, γεγονός ιδιαίτερα χρήσιμο στον πρώιμο καρκίνο του μαστού) και

γ) Το λεγόμενο «μονοπάτι του Gerota» διαμέσου της θήκης του ορθού κοιλιακού στα υποδιαφραγματικά και υποπεριτοναϊκά πλέγματα. Η οδός αυτή ευθύνεται για την απ'ευθείας εξάπλωση του όγκου στο ήπαρ και στους οπισθοπεριτοναϊκούς λεμφαδένες.

### *Μύες και νεύρα του μαστού*

Οι σημαντικοί μύες της περιοχής του μαστού είναι οι ακόλουθοι:

- Ο μείζων θωρακικός μυς: Παρουσιάζει τρεις εκφυτικές μοίρες, την κλειδική, την στερνοπλευρική και την κοιλιακή και καταφύεται στην ακρολοφία του μείζονος βραχιονίου ογκώματος. Είναι ισχυρός μυς με κινητική και επικουρική εισπνευστική λειτουργία, νευρώνεται από τα έξω και έσω θωρακικά νεύρα (A5-Θ1) και συμβάλλει στο σχηματισμό του πρόσθιου τοιχώματος της μασχαλιαίας κοιλότητας.
- Ο ελάσων θωρακικός μυς: Εκφύεται από την εξωτερική πλευρά της 3<sup>ης</sup>, 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> πλευράς και καταφύεται περίπου στη μέση της άνω επιφάνειας της κορακοειδούς απόφυσης της ωμοπλάτης. Νευρώνεται από το μέσο θωρακικό νεύρο που προέρχεται από το βραχιόνιο πλέγμα (A5-A8) και κατέρχεται οπίσθια προς το μυ διασταυρούμενο πρόσθια με την μασχαλιαία φλέβα. Το νεύρο εισέρχεται στο μεσοθωρακικό διάστημα περνώντας, μέσα από τον μυ στο 62% ή



γύρω από το πλάγιο όριο στο 38% και κλάδοι του παρέχουν και κινητική νεύρωση στο μείζονα θωρακικό. Οι όροι μέσο και πλάγιο θωρακικό προκαλούν μάλλον σύγχυση μιά και αναφέρονται στην έκφυσή τους περισσότερο παρά στην ανατομική τους θέση. Ο μέσος θωρακικός κλάδος του νεύρου συνήθως θυσιάζεται στην τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή· αν διατηρηθεί βελτιώνεται το αισθητικό αποτέλεσμα αφού το θωρακικό τοίχωμα λόγω διατήρησης του τόνου του ελάσσονος θωρακικού δεν προσκολλάται στον θωρακικό κλωβό.

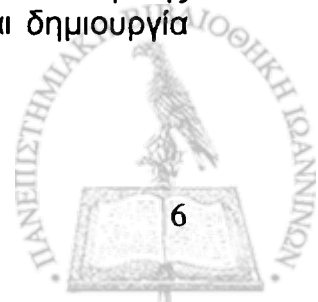
- Ο πρόσθιος οδοντωτός: Σταθεροποιεί την ωμοπλάτη πάνω στο θωρακικό τοίχωμα. Εκφύεται από τις πλάγιες επιφάνειες των πρώτων 8 πλευρών και οι μυϊκές του ίνες προς τα κάτω διαπλέκονται με αυτές της έκφυσης του έξω λοξού. Νευρώνεται από το μακρό θωρακικό νεύρο του Bell που προέρχεται από τις ρίζες του βραχιονίου πλέγματος. Διέρχεται πίσω από τα μασχαλιαία αγγεία και ξεκινά την πορεία του στο θωρακικό τοίχωμα ψηλά στη μέση υποπλάτια περιοχή. Πορεύεται επιφανειακά της εν τω βάθει περιτονίας. Χρειάζεται προσοχή για την αποφυγή τρώσης του στην μαστεκτομή κατά την διάρκεια της πρόσ τα κάτω πορείας του γιατί αυτή συνεπάγεται την πτώση της ωμοπλάτης και την απώλεια μυϊκής ισχύος του ώμου.
- Ο πλατύς ραχιαίος: Είναι ο μεγαλύτερος μυς του ανθρώπινου σώματος. Νευρώνεται από το θωρακοραχιαίο νεύρο που διέρχεται πίσω από τα μασχαλιαία αγγεία, διασχίζει την μασχαλιαία κοιλότητα και έρχεται σε στενή σχέση με τα υποπλάτια αγγεία και λεμφογάγγλια. Η τρώση του δεν συνεπάγεται κάποιο ιδιαίτερο λειτουργικό ή αισθητικό πρόβλημα, με μόνο αποτέλεσμα την λόγω ατροφίας του μύος αδυναμία μεταφοράς αντικειμένων μεταξύ του άνω άκρου και του θωρακικού τοιχώματος. Παρ'όλα αυτά πρέπει να διατηρείται όπου είναι δυνατόν.

Ένα σημαντικό ανατομικό σημείο στην κορυφή της μασχάλης είναι η έκφυση του υποπλάτιου μύος από την πλευροχονδρική ένωση της πρώτης πλευράς. Στο τενοντώδες κατώτερο τμήμα του μύος δύο στιβάδες περιτονίας ενώνονται και σχηματίζουν τον σύνδεσμο του Halsted που εκτείνεται από την κορακοειδή απόφυση της ωμοπλάτης μέχρι την 1<sup>η</sup> πλευρά. Στο σημείο αυτό τα μασχαλιαία αγγεία με την φλέβα να κείται πρόσθια από την αρτηρία, εισέρχονται στον θώρακα περνώντας πάνω από την 1η πλευρά και κάτω από την κλειδα. Κοντά στην κορυφή εκφύεται μία μικρή αρτηρία η άνω θωρακική προερχόμενη από την μασχαλιαία και πορεύεται ακολούθως μεταξύ της 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> πλευράς.

### **Μικροσκοπική ανατομία του μαστού**

Στην παιδική ηλικία το επιθήλιο του μαστού αποτελείται από δύο στιβάδες, μια βασική κυβοειδή και μια επιφανειακή επίπεδη. Με την παρουσία των οιστρογόνων στην εφηβεία το επιθήλιο πολλαπλασιάζεται και γίνεται πολυστιβαδικό. Τότε παρατηρούνται οι ακόλουθοι τύποι κυττάρων:

- A-κύτταρα(επιφανειακά): Είναι βαθυχρωματικά, βασεόφιλα κύτταρα, πλούσια σε ριβοσώματα. Υπόκεινται σε διαδικασίες διακυτταρικής πρόσφυσης με αποτέλεσμα οίδημα των μιτοχονδρίων και δημιουργία ενδοαυλικών κυτταρικών συσσωματωμάτων.



- **B-κύτταρα (βασικά):** Αποτελούν τον κύριο τύπο κυττάρων του επιθηλίου του μαστού. Είναι διαυγή και διαθέτουν πυρήνα χωρίς πυρήνια. Όπου βρίσκονται σε επαφή με τον αυλό στην κυτταρική μεμβράνη εμφανίζονται μικροσωληνάρια. Τα ενδοκυτταροπλασματικά ινίδια είναι παρόμοια με αυτά των μυοεπιθηλιακών κυττάρων, γεγονός που υποδηλώνει την διαφοροποίησή τους σ' αυτόν τον κυτταρικό τύπο.
- **Μυοεπιθηλιακά κύτταρα:** Βρίσκονται γύρω από την θηλή και τους μικρούς εκφορητικούς γαλακτοφόρους πόρους μεταξύ της εσωτερικής επιφάνειας της βασικής μεμβράνης και της περιτονίας. Η διάταξή τους είναι αστεροειδής. Το σαρκόπλασμα περιέχει ινίδια 50 με 80 nm τα οποία εισάγονται με τα ημιδεσμοσώματα στην βασική μεμβράνη. Δεν διαθέτουν νεύρωση υπόκεινται όμως στην επίδραση της προλακτίνης και της ωκυτοκίνης.

### **Φυσιολογία του μαστού**

#### *Μεταβολές κατά τη διάρκεια του εμμηνορυσιακού κύκλου*

Ο φυσιολογικός μαστός υφίσταται περιοδικές ιστολογικές αλλαγές εξαρτώμενες από τις ορμονικές διακυμάνσεις κατά την διάρκεια του εμμηνορυσιακού κύκλου. Έτσι διακρίνουμε τις παρακάτω φάσεις με τις αντίστοιχες μορφολογικές μεταβολές κατά την διάρκεια του κύκλου:

**Φάση 1<sup>η</sup> Αυξητική (3<sup>η</sup>-7<sup>η</sup> ημέρα)** Το στρώμα είναι πυκνό, κυτταροβριθές, οι αυλοί κλειστοί, οι μιτώσεις συχνές (4-10 κ.ο.π.). Υπάρχει ένας τύπος κυττάρων, τα διαυγή ηωσινόφιλα, τοποθετημένα χωρίς κάποιον ιδιαίτερο προσανατολισμό. Λόγω της ραγδαίας πτώσης των στεροειδών ορμονών, η εκκριτική δραστηριότητα του επιθηλίου στη φάση αυτή υποστρέφει.

**Φάση 2<sup>η</sup> Θυλακιώδης (8<sup>η</sup>-14<sup>η</sup> ημέρα)** Το στρώμα είναι επίσης πυκνό, κολλαγενικό και οι αυλοί καθορίζονται. Τρεις τύποι κυττάρων διακρίνονται: τα σωληνώδη κυλινδρικά βασεόφιλα, ένας ενδιάμεσος ανοιχτόχρωμος τύπος και τα διαυγή βασικά κύτταρα με τον υπερχρωματικό πυρήνα (από τα οποία προέρχονται και τα μυοεπιθηλιακά). Τα κύτταρα αυτά διατάσσονται κυκλικά γύρω από τους αυλούς. Μιτώσεις υπάρχουν, ενώ από την φάση αυτή και μετά απουσιάζουν.

Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός στην φάση αυτή οφείλεται στα παραγόμενα από τα γραφιανά ωοθυλάκια οιστρογόνα κάτω από την επίδραση των FSH και LH. Η σύνθεση του RNA είναι αυξημένη, η πυκνότητα του πυρήνα αυξημένη, τα πυρήνια είναι διευρυσμένα και παρατηρούνται αλλαγές στα κυτταρικά οργανίδια. Συγκεκριμένα η συσκευή Golgi, τα ριβοσώματα και τα μιτοχόνδρια αυξάνουν σε αριθμό και μέγεθος.

Στη φάση αυτή και την χρονική στιγμή της μέγιστης οιστρογονικής έκκρισης επισυμβαίνει η ωορρηξία.

**Φάση 3<sup>η</sup> Ωχρινική (15<sup>η</sup>-20<sup>η</sup> ημέρα)** Το στρώμα εμφανίζεται αραιό, οι αυλοί είναι ανοιχτοί με κάποια αρχόμενη εκκριτική δραστηριότητα. Υπάρχουν οι ίδιοι τύποι κυττάρων με την ίδια διάταξη όπως και στην προηγούμενη φάση με έκδηλη όμως κενοτοπιώδη εκφύλιση των βασικών κυττάρων. Οι μιτώσεις από την φάση αυτή και μετά απουσιάζουν.

Οι αλλαγές προάγονται από την προγεστερόνη η έκκριση της οποίας στην ωχρινική φάση μεγιστοποιείται. Οι γαλακτοφόροι πόροι διευρύνονται και τα επιθηλιακά κύτταρα διαφοροποιούνται σε εκκριτικά με μερικά μονοστιβαδική

τοποθέτησή τους. Επίσης συνθέτονται σταγονίδια λίπους που στη συνέχεια εκκρίνονται ενδοαυλικά.

**Φάση 4<sup>η</sup> Εκκριτική (21<sup>η</sup>-27<sup>η</sup> ημέρα)** Το στρώμα είναι αραιό με κάποιο βαθμό οίδηματος, ενώ υπάρχει ενεργός αποκρινής έκκριση από τα σωληνώδη κύτταρα.

Στη φάση αυτή λόγω αύξησης του ενδογενούς οιστρογόνου το οποίο έχει δράση παρόμοια με της ισταμίνης στην μικροκυκλοφορία του μαστού, υπάρχει αύξηση της αιματικής ροής κατά 15 έως 30 κ.εκ. 3-4 ημέρες πριν από την έμμηνο ρύση. Το αίσθημα βάρους οφείλεται στο διαλοβιακό οίδημα και στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων των πόρων.

**Φάση 5<sup>η</sup> Εμμηνορυσιακή (28<sup>η</sup>-2<sup>η</sup> ημέρα)** Το στρώμα ξαναγίνεται κυτταροβριθές, οι αυλοί είναι διατεταμένοι με εκκριτική δραστηριότητα μικρότερη όμως από την προηγούμενη φάση και υπάρχουν μόνο τα σωληνώδη βασεόφιλα κύτταρα με ελάχιστο κυτταρόπλασμα.

Οι εξαρτώμενες από τις ορμόνες αλλαγές στο επιθήλιο του μαστού εκτελούνται είτε με την μεσολάβηση διακυτταρικών στεροειδών υποδοχέων, είτε με πεπτιδικούς υποδοχείς συνδεδεμένους στην μεμβράνη. Οι συνδέσεις των ορμονών με τους υποδοχείς αυτούς προάγουν τις μοριακές και στην συνέχεια τις μορφολογικές αλλαγές στο επιθήλιο.

Με ενσωμάτωση ραδιενεργού θυμιδίνης στον πυρήνα βραχύβιας καλλιέργειας φυσιολογικού μαστικού ιστού έγινε δυνατή η μελέτη των κυκλικών αλλαγών στη σύνθεση του DNA κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Έτσι διαπιστώθηκε ότι αυξάνει στην ωχρινική φάση και ελατώνεται στη θυλακιώδη. Αυξημένη καταστροφή κυττάρων (απόπτωση) συμβαίνει 3 ημέρες μετά τη μεγιστοποίηση των μιτώσεων ώστε να διατηρείται μιά ισορροπία μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κυτταρικού θανάτου. Παρ'όλα αυτά το ισοζύγιο είναι υπέρ της κυτταρικής αύξησης και η ανάπτυξη αυτή συνεχίζεται μέχρι περίπου την ηλικία των 35 ετών.

#### *Μεταβολές κατά τη διάρκεια της κύησης και της γαλουχίας*

Στην κύηση σημειώνεται σημαντική ανάπτυξη των πόρων, των λοβίων και της θηλής κάτω από την επίδραση των στεροειδών του πλακούντα και του ωχρού σωματίου, του πλακουντιακού γαλακτογόνου, της προλακτίνης και της χοριακής γοναδοτροφίνης. Ειδικά η προλακτίνη αυξάνει με αργό ρυθμό κατά την διάρκεια του πρώτου μισού της κύησης, στο τελευταίο τρίμηνο δε η τιμή της φτάνει στο πενταπλάσιο του φυσιολογικού, προάγοντας κατ'αρχήν την επιθηλιακή ανάπτυξη και ακολούθως την πρωτεϊνική σύνθεση από το επιθήλιο.

Στις πρώτες 3-4 εβδομάδες της κύησης οι πόροι οργανώνονται σε ομάδες με σύγχρονη λοβιακή αναδιαμόρφωση κάτω από την οιστρογονική επίδραση. Στις 5-8 εβδομάδες η μεγέθυνση των μαστών είναι αξιοσημείωτη με σύγχρονο αίσθημα βάρους, αύξηση της χρώσης της θηλαίας περιοχής και διαγραφή των επιφανειακών φλεβών. Στο δεύτερο τρίμηνο κάτω από την επίδραση της προγεστερόνης τα λόβια αυξάνονται σε μέγεθος. Στο δεύτερο μισό της κύησης το αυξημένο μέγεθος του μαστού προέρχεται, όχι από πολλαπλασιασμό επιθηλιακών κυττάρων αλλά από τη διάταση των θηλαίων πόρων από σμήγμα (colostrum), καθώς επίσης και από την υπερτροφία των μυοεπιθηλιακών κυττάρων και τη συσσώρευση συνδετικού ιστού και λίπους. Αν οι διαδικασίες αυτές διακοπούν λόγω πρόωρου τοκετού, η γαλουχία είναι επαρκής από την 16<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης και μετά.

Στην αρχή του δεύτερου τριμήνου χάνεται η επιφανειακή στιβάδα των Α-κυττάρων. Πριν (όπως και στην μη-έγκυο) υπάρχει η διάταξη με δύο στιβάδες. Στο 2<sup>ο</sup> και 3<sup>ο</sup> τρίμηνο η μονή αυτή στιβάδα διαφοροποιείται λόγω συσσώρευσης ηωσινοφίλων, πλασματοκυττάρων και λευκοκυττάρων γύρω από την θηλή. Όσο η κύηση προχωράει, colostrum αποτελούμενο από αποδομηθέντα επιθηλιακά κύτταρα συγκεντρώνεται. Σ' αυτό επιπροστίθενται λεμφοκύτταρα, στρογγυλά κύτταρα και τμήματα φαγοκυτταρικών αφρωδών κυττάρων (τα ονομαζόμενα σωμάτια του Donpe).

Μετά την γέννηση αποσύρονται άμεσα το πλακουντιακό γαλακτογόνο και οι φυλετικές στεροειδείς ορμόνες που ανταγωνίζονται την δράση της προλακτίνης στο επιθήλιο του μαζικού αδένος καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης. Την 4<sup>η</sup> με 5<sup>η</sup> ημέρα ελαττώνεται η έκκριση του PIF από το υποθαλαμοϋποφυσιακό σύστημα, γεγονός που επιτρέπει την διαμεμβρανική έκκριση της προλακτίνης από τα λακτοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης (σημειώνεται ότι οι φυλετικές στεροειδείς ορμόνες δεν είναι απαραίτητες για την φυσιολογική λακτοφορία). Η προλακτίνη παρουσία της αυξητικής ορμόνης, της ινσουλίνης και της κορτιζόλης μετατρέπει τα μαστικά επιθηλιακά κύτταρα από μία προεκκριτική σε εκκριτική φάση.

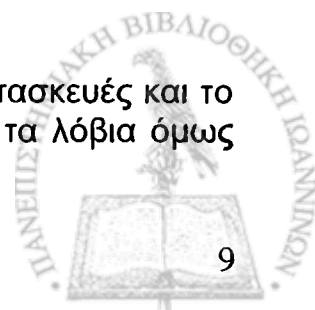
Η δράση της προλακτίνης επιτυγχάνεται μέσω μεμβρανικών υποδοχέων και το κύριο ερέθισμα για την έκκρισή της είναι ο θηλασμός. Μετά την σύνδεση με τους υποδοχείς το DNA και το RNA του πυρήνα αυξάνονται καθώς και η δραστηριότητα των μιτοχονδρίων, των ριβοσωμάτων και της συσκευής του Golgi. Ενεργοποιούνται επίσης οι συνθετικοί οδοί των πρωτεϊνών, του λίπους, της λακτόζης καθώς και αυτοί της μεταφοράς ιόντων. Η πρωτεϊνική κινάση του c-AMP ενεργοποιούμενη από την προλακτίνη προάγει την φωσφορυλίωση του γάλακτος. Ενεργοποιούνται επίσης η δραστηριότητα της πολυμεράσης και η κυτταρική αντιγραφή. Μεγάλα σωμάτια λίπους αναπτύσσονται και κινούνται προς την κορυφή του κυττάρου τα οποία τελικά εκκρίνονται μαζί με τμήμα της κυτταρικής μεμβράνης και του κυτταροπλάσματος τα οποία ακολούθως αποκαθίστανται.

Τις πρώτες 4-5 ημέρες μετά την γέννηση οι μαστοί μεγεθύνονται λόγω της συσσώρευσης των εκκρίσεων στους πόρους. Η αρχική έκκριση είναι το colostrum ένα λεπτόρρευστο κίτρινου χρώματος υγρό που περιέχει λακτοσφερίνη ταυτόσημη με τις ανοσοσφαιρίνες του αίματος, γεγονός με άγνωστη μέχρι σήμερα σημασία. Πιθανολογείται ότι αποτελεί συνέχεια της παθητικά μεταβιβαζόμενης ανοσίας όπως αυτή ξεκινά από την μητέρα στο έμβρυο μέσω του πλακούντα. Στο colostrum περιέχονται επίσης λιπαρά οξέα όπως το δεκαδιενοϊκό οξύ, φωσφολιπίδια, λιποδιαλυτές βιταμίνες και λακτοαλβουμίνη που του προσδίδουν εξαιρετική θρεπτική αξία. Ακολουθεί παραγωγή ενός μεταβατικού γάλακτος και του τελικού που περιέχει που περιέχει επιπλέον καζεΐνη, καροτενοειδή και διάλυμα ιχνοστοιχείων σε λακτόζη.

Υπεύθυνη για την ενεργητική έκκριση του γάλακτος είναι η ωκυτοκίνη που παράγεται από τον οπίσθιο λοβό της υπόφυσης και δρα στα μυοεπιθηλιακά κύτταρα επιτυγχάνοντας αύξηση της πίεσης στους πόρους κατά 20 έως 25 mm Hg.

### *Εμμηνόπαυση*

Με την έκπτωση της ωοθηκικής λειτουργίας οι επιθηλιακές κατασκευές και το στρώμα υποστρέφουν. Το σύστημα των πόρων παραμένει, τα λόβια όμως



συρρικνώνονται. Είναι ενδιαφέρον ότι οι τελευταίες ανατομικές κατασκευές που εμφανίζονται στην σεξουαλική ωρίμανση είναι και οι πρώτες που εξαφανίζονται.

## **ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**

### **Στοιχεία από το ατομικό αναμνηστικό**

Η λήψη του ιστορικού αποτελεί το πρώτο βήμα στην κλινική εκτίμηση του μαστού. Το πρώτο σε συχνότητα σύμπτωμα για το οποίο καταφεύγει συνήθως μία γυναίκα στον γιατρό είναι ο εντοπισμός μίας ψηλαφητής μάζας (65%). Άλλα σημεία είναι πόνος στο μαστό, αλλαγή στο σχήμα και το μέγεθος του μαστού, έκκριμα από την θηλή και δερματικές μεταβολές. Εκτιμώνται η διάρκεια των συμπτωμάτων και η σχέση τους με τον εμμηνορρυσιακό κύκλο. Τα στοιχεία που αναζητώνται από το ιστορικό είναι : ηλικία εμμηναρχής, αριθμός κυήσεων, τέκνα, ηλικία πρώτης τεκνοποίησης, οικογενειακό ιστορικό καρκίνου, ιστορικό βιοψιών και ιστολογική τους διάγνωση. Σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ρωτάται επίσης η ημερομηνία της τελευταίας εμμήνου ρύσεως, η διάρκεια και η συχνότητά τους και η χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών. Σε μετεμμηνοπαυσιακές, η ηλικία της εμμηνόπαυσης και η χρήση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης.

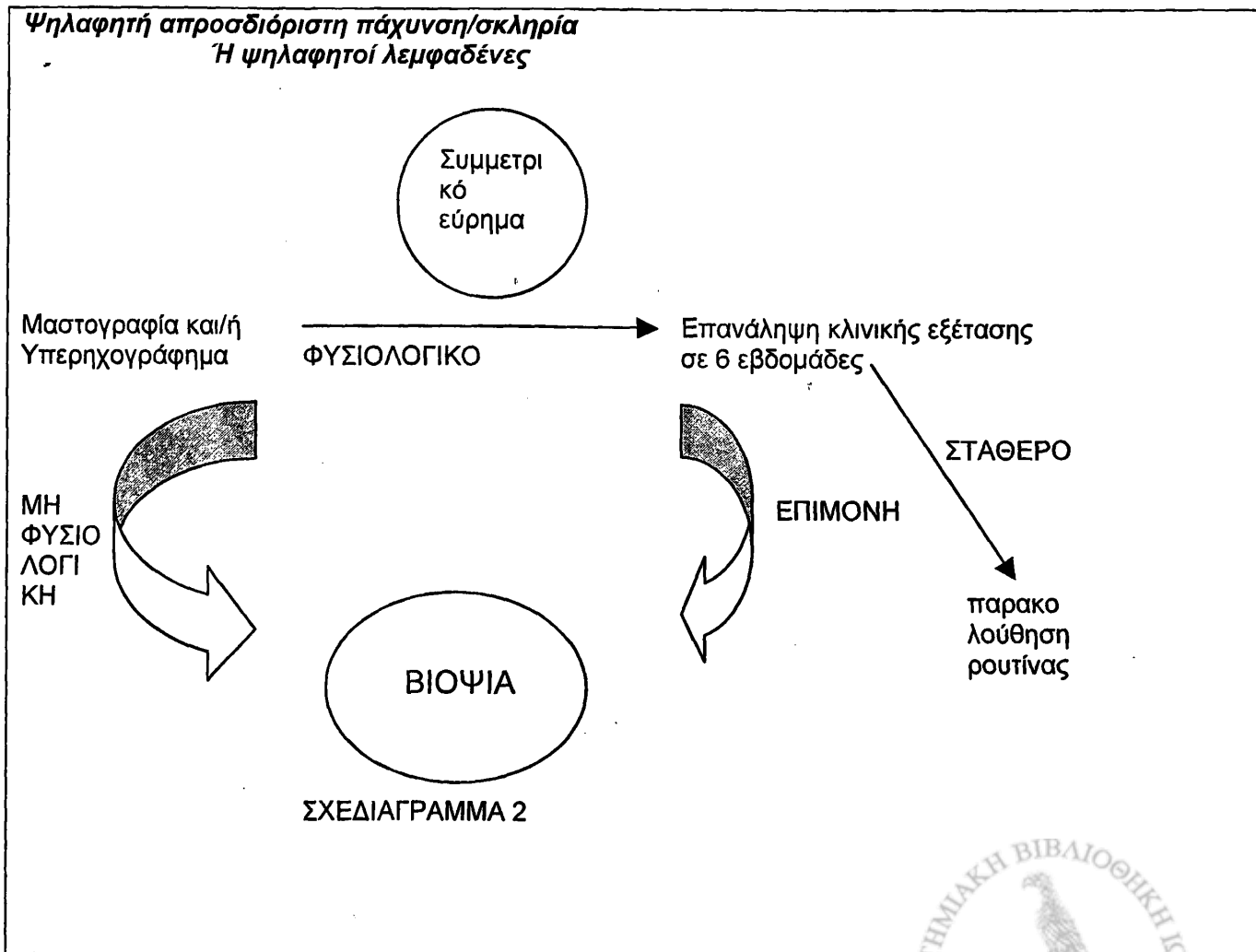
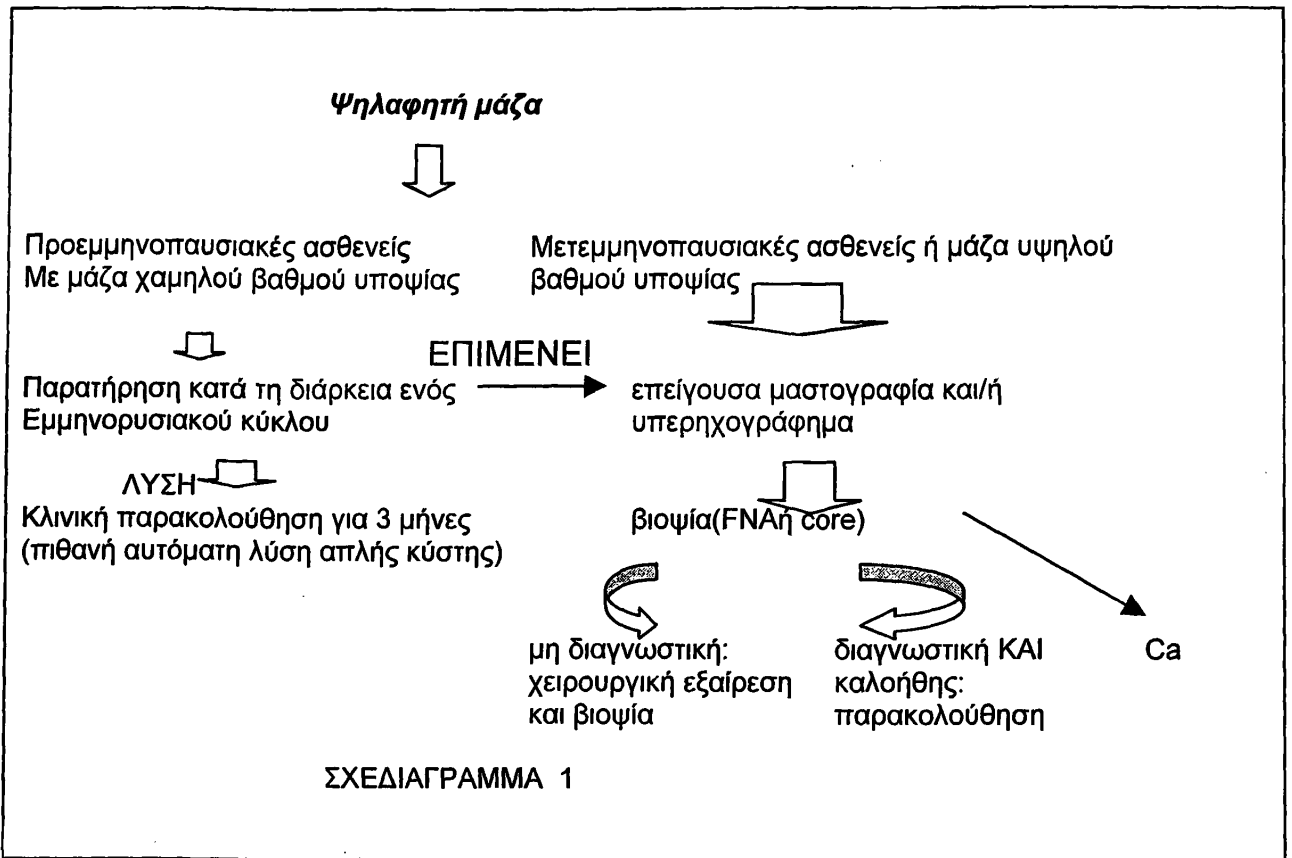
### **Κλινική εξέταση του μαστού**

Πρέπει να γίνεται σε περιβάλλον τέτοιο ώστε να αισθάνεται άνετα η ασθενής και να εξασφαλίζεται η αξιοπρέπειά της. Ξεκινά με την γυναίκα καθιστή και επισκόπηση των μαστών ώστε να εκτιμηθεί το σχήμα, η συμμετρία, το μέγεθος, η ύπαρξη υπεράριθμων θηλών ή έκτοπου μαζικού αδένου, ενώ με ανύψωση των χεριών τεντωμένων και κάθοδό τους εκτιμάται η παράλληλη συμμετρική κίνηση και αποκαλύπτονται ανωμαλίες του δέρματος ή διογκώσεις. Ακολουθεί η ψηλάφηση κατ'αρχήν μεταξύ των δύο χεριών και μετά με το ένα χέρι πιέζοντας το μαστό στο πρόσθιο θωρακικό τοίχωμα. Τυχόν καθήλωση του μαστού στο μείζονα θωρακικό μυ αποκαλύπτεται αν η ασθενής σφίξει με τα δύο χέρια τη μέση της. Η μασχαλιαία κοιλότητα της ασθενούς εξετάζεται από το αντίθετο χέρι του εξετάζοντος και αφού ο βραχιόνάς της παραμένει λυγισμένος και χαλαρός πάνω στο σύστοιχο χέρι του εξετάζοντα. Στη συνέχεια η ασθενής ξαπλώνει με τα χέρια στα πλευρά και στη θέση αυτή ψηλαφώνται οι μαστοί και όλη η επιφάνεια του πρόσθιου θωρακικού τοιχώματος από τις κλείδες μέχρι το πλευρικό τόξο και μεταξύ των δύο οπίσθιων μασχαλιαίων γραμμών. Κάθε βλάβη που γίνεται αντιληπτή πρέπει να περιγράφεται επακριβώς. Η διήθηση του δέρματος μπορεί να εκτιμηθεί και με πίεσή του μεταξύ του αντίχειρα και του δείκτη, ενώ αν η ασθενής αναφέρει έκκριση από τη θηλή πρέπει να προσπαθήσουμε να την αναπαράγουμε πιέζοντας την περιοχή γύρω από τη θηλαία άνω και με κατεύθυνση από την περιφέρεια προς το κέντρο. Το υλικό αποστέλλεται πάντα για κυτταρολογική εξέταση και αν η πρώτη εξέταση είναι αρνητική για κακοήθεια αποστέλλονται δύο ή τρεις ακόμη εξετάσεις σε απόσταση μίας εβδομάδας η μία από την άλλη πριν εφησυχάσουμε για την καλοήθεια του αιτίου.

Στα δύο παρακάτω σχεδιαγράμματα περιγράφονται οι αλγόριθμοι αντιμετώπισης σε περιπτώσεις παθολογικών ευρημάτων από την κλινική εξέταση του μαστού :







## **Απεικονιστικές μέθοδοι**

### **Μαστογραφία**

Ο κύριος ρόλος της είναι να ανιχνεύσει τον καρκίνο σε μικρότερο μέγεθος και πρωιμότερο στάδιο απ'ότι η κλινική εκτίμηση και αυτό έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στην μείωση της θνητότητας. Έτσι για τις γυναίκες ηλικίας άνω των 50 ετών η μαστογραφία συνέβαλε στην μείωση της θνητότητας κατά 30%, ενώ οι καρκίνοι που ανιχνεύτηκαν μόνο μαστογραφικά κατά τη διάρκεια πληθυσμιακού ελέγχου εμφανίζουν 10ετή επιβίωση που φτάνει το 95%. Πρέπει όμως να επισημανθεί ότι η ύποπτη κλινική εξέταση ακόμη κι αν η μαστογραφία είναι αρνητική πρέπει να οδηγεί σε περαιτέρω διερεύνηση με βιοψία. Εφαρμόζεται και σε γυναίκες που έχουν χειρουργηθεί για καρκίνο, τόσο για διερεύνηση υπολειπόμενης νόσου στον ομόπλευρο μαστό, όσο και για ανίχνευση καρκίνου στον ετερόπλευρο μαστό. Επίσης χρησιμοποιείται (με αρκετή επιφύλαξη) στην εκτίμηση ψηλαφητικών καλοήθων ανωμαλιών, κυρίως στο να εντοπιστεί έγκαιρα κάποια κακοήθεια. Κάθε μαστός ακτινογραφείται σε δύο προβολές, μία κεφαλοουραία και μία λοξή. Η δόση που λαμβάνει η ασθενής είναι ελάχιστη, από 0.09-0.15 rads/film και ο κίνδυνος προκλήσεως νοσηρότητας είναι ανύπαρκτος και δεν πρέπει σε καμμία περίπτωση να αποτρέπει την γυναίκα από μαστογραφικό έλεγχο.

Για να είναι δυνατή η διάγνωση του καρκίνου, η μαστογραφία πρέπει να πληρεί όλες τις απαραίτητες ποιοτικές προϋποθέσεις, ο ακτινολόγος να ταυτοποιήσει ότι το απεικονιζόμενο μόρφωμα είναι πραγματικά τριών διαστάσεων και όχι artifact και να προσδιοριστεί η θέση του στο μαστό. Τα δυνατά αποτελέσματα είναι :α)Αρνητική για ευρήματα β)Αρνητική για κακοήθεια αλλά με εντοπισμό καλοήθους μορφώματος γ)Καλόηθες μόρφωμα το οποίο απαιτεί μικρής διάρκειας follow-up ώστε να επιβεβαιωθεί η σταθερότητα ή η υποστροφή του δ)Ενδιάμεσο μόρφωμα με όχι εύκολα προσδιοριζόμενη από τον ακτινολόγο πιθανότητα κακοήθειας που απαιτεί συνήθως βιοψία ε)Μόρφωμα του οποίου η εμφάνιση δηλώνει μεγάλη πιθανότητα κακοήθειας και απαιτεί βιοψία. Τα χαρακτηριστικά ευρήματα σ'αυτή την περίπτωση είναι μία μάζα, αποπιτανώσεις(μεγαλύτερες του 1 χιλ.), αρχιτεκτονική παραμόρφωση, ασυμμετρία(στην αρχιτεκτονική, στην πυκνότητα των ιστών ή διάταξη των πόρων), μεταβολές στο δέρμα ή την θηλή.

Σε ψηλαφητές βλάβες η ευαισθησία της μεθόδου ξεπερνά το 75% και η ειδικότητα το 90%. Πρέπει να σημειωθεί ότι μαστογραφία δεν γίνεται πριν από την ηλικία των 40 ετών αν δεν υπάρχει ειδική ένδειξη λόγω της αυξημένης πυκνότητας του μαζικού αδένου σε νεαρή ηλικία που δεν επιτρέπει την ανάδειξη βλαβών λόγω έλλειψης σκιαγραφικών αντιθέσεων.

### **Υπερηχογράφημα**

Παρά την εξέλιξη της τεχνολογίας τα τελευταία χρόνια είναι ακόμη πολύ αμφίβολο αν θα μπορέσει το υπερηχογράφημα να χρησιμοποιηθεί για την διαφορική διάγνωση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων μαζών. Επίσης είναι βασικό μειονέκτημα η αδυναμία του να ανιχνεύσει καρκίνο σε πρώιμο στάδιο. Υπερέχει όμως της μαστογραφίας στην ανάδειξη μικρού μεγέθους βλαβών (ενδοαυλικό θήλωμα) και στην απεικόνιση της μορφολογίας των πόρων.



Για πολλά χρόνια διερευνήθηκε η δυνατότητα αύξησης της ευαισθησίας και ειδικότητας της μεθόδου με προσδιορισμό της ταχύτητας της αιματικής ροής με Doppler. Αυτό στηρίχτηκε στη λογική ότι πολλοί καλοήθεις καρκίνοι του μαστού εμφανίζουν αυξημένη νεοαγγείωση (σε μικροσκοπικό επίπεδο), ενώ αντίθετα οι καλοήθεις όγκοι δεν εμφανίζουν αυξημένη αιματική ροή. Τα κλινικά αποτελέσματα όμως δεν ήταν απολύτως πειστικά. Παρ'όλο που πολλοί καρκίνοι χαρακτηρίζονται από αυξημένη ταχύτητα ροής αίματος ιδιαίτερα στην περιφέρεια, η διακριτική ικανότητα μεταξύ καλοήθων και κακοήθων νεοπλασιών δεν είναι ιδιαίτερα υψηλή. Το σήμα του έγχρωμου Doppler σε μία βλάβη που θεωρείται καλοήθης αποτελεί ένδειξη για βιοψία, ενώ η απουσία του είναι καθησυχαστική, αυτό όμως δεν έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία μιά και οι ύποπτες βλάβες απαιτούν πάντα βιοψία. Απο την άλλη και οι καλοήθεις βλάβες μπορεί να παρουσιάζουν αυξημένη αιματική ροή, ενώ καρκίνοι μικρότεροι από 1 εκ. δεν παρουσιάζουν μεταβολές στην αιμάτωσή τους και συνεπώς δεν μπορούν να ανιχνευθούν με το Doppler. Έτσι η σημασία του υπερηχογραφήματος φαίνεται να περιορίζεται στη διαφορική διάγνωση μεταξύ κύστεων και συμπαγών όγκων και σαν οδηγός σε παρεμβατικές διαδικασίες. Ακόμη χρησιμοποιείται σε εκτίμηση εμφυτευμάτων σιλικόνης για πιθανή ρήξη, σε ψηλαφητές μάζες χωρίς σαφή μαστογραφικά ευρήματα και σε ασθενείς ηλικίας μικρότερης των 30 ετών με ψηλαφητό εύρημα.

#### *Γαλακτογραφία*

Είναι ακτινολογική εξέταση απεικόνισης των γαλακτοφόρων πόρων μετά από καθετηριασμό τους και έγχυση σκιαγραφικής ουσίας. Σήμερα η χρήση της έχει περιοριστεί αφού έχει αντικατασταθεί σε μεγάλο βαθμό από το υπερηχογράφημα. Παράλληλα έχει αρχίσει να εφαρμόζεται η μέθοδος της ενδοσκοπησης των γαλακτοφόρων πόρων σε περιπτώσεις ασθενών με έκκριση από τη θηλή, η οποία οφείλεται συνήθως σε καλόηθες ενδοπορικό θήλωμα, σε ποσοστό όμως μέχρι και 10% συναντάται και σε ασθενείς με καρκίνο *in situ* (DCIS). Με την τεχνική αυτή υπάρχει όχι μόνο η δυνατότητα βιοψίας αλλά και εκτίμησης της έκτασης της βλάβης ώστε στην ογκεκτομή να εκτελείται μεγαλύτερη αφαίρεση μαζικού ιστού. Η ευαισθησία της μεθόδου στις περιπτώσεις αυτές είναι μεγαλύτερη του 91% ενώ της μαστογραφίας μικρότερη από 40%. Πιστεύεται ότι στο μέλλον θα βελτιωθεί περαιτέρω η διαγνωστική της αξία που σήμερα εκτιμάται γύρω στο 85% και θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στον έλεγχο γυναικών με υψηλό κίνδυνο για καρκίνο του μαστού, αλλά και στην ενδοσκοπική εκτομή αρχόμενου καρκίνου με laser.

#### *MRI*

Ο μαστός ήταν από τις πρώτες περιοχές που διερευνήθηκαν με την μαγνητική τομογραφία, ιδιαίτερα στον έλεγχο της ακεραιότητας των σιλικονούχων εμφυτευμάτων. Αργότερα περιορίστηκε εν μέρει η εφαρμογή της, χρησιμοποιήθηκε όμως εκ νέου τα τελευταία χρόνια στην ανίχνευση του καρκίνου του μαστού μετά την ανακάλυψη ότι προσλαμβάνει ενδοφλέβια το χορηγούμενο σκιαγραφικό λόγω της παρουσίας μικρονεοαγγείωσης δίνοντας συγχρόνως τη δυνατότητα να μελετηθεί η καμπύλη χρόνου-μεταβολής έντασης του σήματος. Η σπουδαιότερη εφαρμογή της είναι η ανίχνευση του διηθητικού και μη καρκινώματος του μαστού που είναι κλινικά ψηλάφητο και μαστογραφικά άορατο. Παραμένει πάντως το πρόβλημα της μεγάλης ευαισθησίας (37-97% ενώ η μαστογραφία 10-40%) αλλά σχετικά μικρής

ειδικότητας της μεθόδου λόγω ύπαρξης και καλοήθων βλαβών με τα ίδια ευρήματα, του αυξημένου κόστους(που ίσως στο μέλλον περιοριστεί με την εφαρμογή μικρών μαγνητών) και της βελτίωσης των τεχνικών βιοψίας με MRI.

#### *Αξονική τομογραφία*

Η συμβολή της στην διερεύνηση της παθολογίας του μαστού είναι μικρή μιά και η διακριτική της ικανότητα για μικρές μάζες είναι χαμηλή και για τη δημιουργία αντίθεσης απαιτείται έκθεση σε υψηλή δόση ακτινοβολίας. Περιορίζεται στην εκτίμηση των έσω μαστικών λεμφαδένων(αν υπάρχει ανώμαλη διόγκωσή τους), καθώς και του θωρακικού τοιχώματος και της μασχάλης μετά από μαστεκτομή, ενώ χρησιμοποιείται επίσης στην διερεύνηση πιθανής μεταστατικής νόσου.

#### *Ψηφιακή μαστογραφία*

Βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το χρησιμοποιούμενο φιλμ όχι μόνο ανιχνεύει την βλάβη, αλλά έχει επίσης την δυνατότητα τροποποίησης της απεικόνισής της και αποθήκευσής της. Έτσι η εικόνα μπορεί να επεξεργαστεί μετά την λήψη, με ρύθμιση της φωτεινότητας, αντίθεσης και μεγεθύνσης, τα artifact είναι ελάχιστα και υπάρχει μεγάλη διακριτική ικανότητα ως προς τις δομές του μαστού με παρόμοιες πυκνότητες(π.χ. μικροαποπιτανώσεις ή συμπαγές μώρφωμα σε πυκνό μαστό). Τα μειονεκτήματα είναι η περιορισμένη διακριτική ικανότητα σε σχέση με την μαστογραφία που αντιρροπείται από την βελτιωμένη εικόνα λόγω της παρουσίας χαμηλότερου θορύβου και καλύτερης αντίθεσης, το αυξημένο κόστος και η παρουσίαση αφού οι οθόνες εμφανίζουν χαμηλότερη ανάλυση από αυτή που απαιτείται.

#### *CAD(Διάγνωση με την βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή)*

Σε ένα ποσοστό 15-20% των καρκίνων του μαστού η διάγνωση δεν είναι δυνατή με την μαστογραφία. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στη φύση του μορφώματος είτε σε παράγοντες όπως παράβλεψη ή κούραση του ακτινολόγου και το λάθος εξαιτίας της δεύτερης αυτής κατηγορίας είναι που προσπαθεί να περιορίσει η CAD που αποτελεί ανάλυση των ακτινολογικών δεδομένων με την βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή και χρησιμοποιείται από τον ακτινολόγο σαν «δεύτερη γνώμη». Ο σκοπός είναι να επιτευχθεί βελτίωση της ευαισθησίας και της ειδικότητας με το να ενισχύεται η απεικόνιση των μαζών και των μικροασβεστώσεων και να ελαττώνεται αυτή του υπόλοιπου ιστού, του «θορύβου». Τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα ελαττώνονται με μιά ειδική μέθοδο που ονομάζεται artificial neural network (ANN).

#### *PET (Positron Emission Tomography)*

Πρόκειται για μία μέθοδο η οποία χρησιμοποιεί ραδιοϊσότοπα προκειμένου να καθορίσει, είτε την αιματική ροή, είτε την πρόσληψη ή την χρησιμοποίηση οξυγόνου από τον όγκο ή τις μεταβολικές του ιδιότητες όπως καθορίζονται από την πρόσληψη γλυκόζης εφόσον το καρκινικό κύτταρο χαρακτηρίζεται από αυξημένη γλυκόλυση. Γενικά σε απουσία φλεγμονώδους διεργασίας όσο πιο αυξημένη είναι η πρόσληψη τόσο μεγαλύτερη η πιθανότητα της κακοήθειας. Αποτελεί πεδίο εντατικής έρευνας στον καρκίνο του μαστού όπου πιστεύεται ότι θα επιλύσει τα παρακάτω προβλήματα :



- Την ανίχνευση καρκίνου του μαστού σε νεαρές γυναίκες με μαστογραφικά αυξημένης πυκνότητας μαστούς.
- Τον καθορισμό των βλαβών που απαιτούν βιοψία με εκτίμηση της μεγαλύτερης ή μικρότερης πιθανότητας κακοήθειας.
- Την πιθανότητα διασποράς του καρκίνου στους περιοχικούς λεμφαδένες. Επίσης την ανάδειξη διηθημένων ενδομαστικών ή υπερκλειδίων λεμφαδένων
- Την ανίχνευση μεταστατικών εστιών σε μαλακά μόρια και οστά.
- Την διάγνωση καρκίνων μικρότερων από 1 εκ. σε διάμετρο. Στην περίπτωση αυτή η ευαισθησία της μεθόδου είναι ακόμη μικρή, διερευνώνται όμως τεχνικές τροποποιήσεις ώστε να αυξηθεί. Είναι σημαντικό επίσης ότι μεταβολικές αλλαγές του όγκου προαναγγέλουν αυξήσεις στο μέγεθός του.
- Τον καθορισμό της πιθανότητας να ανταποκριθεί ένας καρκίνος στην χορηγούμενη θεραπευτική αγωγή. Η μικρότερη πρόσληψη χαρακτηρίζει συνήθως τους όγκους με καλή ανταπόκριση. Επίσης αντίθετα η επιτυχής χημειο-, ορμονο- ή ραδιοθεραπεία συνοδεύεται από μείωση στην πρόσληψη της ουσίας.
- Την ανίχνευση καρκίνου σε μαστούς με εμφυτεύματα σιλικόνης.

Οι ουσίες που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι τα ραδιοϊσότοπα τα σεσημασμένα με C-11, η φλουορο-17-οιστραδιόλη, η φλουορο-οξυγλυκόζη (FDG) και για μεγαλύτερους όγκους αμινοξέα όπως η μεθειονίνη.

Το σημαντικότερο μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι ο κάθετος άξονας των απεικονίσεων είναι μικρός (15 εκ. ή λιγότερο) το οποίο θα μπορούσε μεν να διορθωθεί με πολλαπλές λήψεις, αυτό όμως καθίσταται αδύνατο λόγω του μικρού χρόνου ημίσειας ζωής των ραδιοϊσοτόπων. Ένα πρόσθετο μειονέκτημα είναι ότι απαιτείται χρήση κύκλωτρου, γεγονός που και ανεβάζει το κόστος αλλά και μειώνει την διαθεσιμότητα των παραγόμενων ραδιοφαρμακευτικών ουσιών.

### Σπινθηρογράφημα

Τα μειονεκτήματα της προηγούμενης μεθόδου δεν υφίστανται στην τεχνική SPECT (single-photon emission tomography) που είναι επίσης υπό διερεύνηση τα τελευταία χρόνια με χρησιμοποίηση δύο κυρίως ισοτόπων, του Tc 99m sestamibi και του Thallium-201(λιγότερο από το πρώτο λόγω κάποιων προβλημάτων στην εφαρμογή του). Με αυτά είναι δυνατή η ανίχνευση καρκινικών μαζών μεγέθους περίπου 1.5 εκ. και λόγω της αυξημένης αιματικής τους ροής αλλά και λόγω αυξημένης ενεργού συσσώρευσης των παραγόντων στα μιτοχόνδρια.

Οι κύριες ενδείξεις της μεθόδου, η οποία βέβαια όπως και η PET δεν βρίσκεται πρὸς το παρόν στην πρώτη γραμμή των απεικονιστικών μεθόδων του μαστού, είναι η διάγνωση μεταστατικών μασχαλιαίων λεμφαδένων σε ασθενείς με αρνητικά ψηλαφητικά και μαστογραφικά ευρήματα και ο καθορισμός της ανταπόκρισης της νόσου στην χημειοθεραπεία. Τα μειονεκτήματά της είναι η μειωμένη ευαισθησία στην αποκάλυψη μικρών αψηλάφητων όγκων λόγω ελαττωμένης καθήλωσης του ραδιοφαρμάκου (αναμένεται να βελτιωθεί με διορθωμένη σχεδίαση των γ-camera), το ότι δεν υπάρχει δυνατότητα να γίνει βιοψία βλαβών που απεικονίζονται μόνο σπινθηρογραφικά και τα ψευδώς θετικά ευρήματα λόγω καθήλωσης του ραδιοφαρμάκου στις ινοκυστικές βλάβες και τα ινοαδενώματα.

Συμπερασματικά οι μέθοδοι μεταβολικών απεικονίσεων που χρησιμοποιούν τεχνικές πυρηνικής ιατρικής είναι πολλά υποσχόμενες, απαιτούνται όμως ακόμη αρκετές μελέτες προτού καθιερωθεί η ευρεία εφαρμογή τους η οποία θα συμβάλλει σημαντικά στην βελτίωση της διαγνωστικής προσέγγισης αλλά και της μετεγχειρητικής παρακολούθησης και της θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενών με καρκίνο του μαστού.

### **ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΒΙΟΨΙΑΣ**

Για να γίνει σφαιρική και λεπτομερής εκτίμηση της βλάβης του μαστού είναι απαραίτητη η λήψη ιστοτεμαχίου όπου είναι δυνατή η εφαρμογή όλων των ιστολογικών, ανοσοϊστοχημικών και μοριακών τεχνικών απ'όπου θα αντλήσουμε τις απαραίτητες πληροφορίες. Αυτό μπορεί να γίνει με τις παρακάτω μεθόδους :

#### **Βιοψία εκτομής**

Πρόκειται για ολική αφαίρεση της βλάβης η οποία αν γίνει με ικανό όριο υγιούς ιστού σε περίπτωση κακοήθειας, μπορεί να αποτελέσει οριστική χειρουργική θεραπεία(ογκεκτομή). Αν η βιοψία δεν είναι ψηλαφητή μπορεί να γίνει εντοπισμός της με τη βοήθεια μαστογράφου ή υπερήχων και να τοποθετηθεί στο κέντρο της βλάβης αγκιστροειδές σύρμα(hook wire) το οποίο στην επέμβαση θα οδηγήσει το χειρουργό στη βλάβη και μετά το παρασκεύασμα πρέπει να μαστογραφείται(speciment mammography) ώστε ο χειρουργός να είναι βέβαιος ότι αφαίρεσε τη βλάβη που φαινόταν στη μαστογραφία. Η βιοψία μπορεί να γίνει είτε με τοπική είτε με γενική αναισθησία.

#### **Βιοψία βελόνης(tru-cut)**

Γίνεται με ευρεία βελόνη η οποία επιτρέπει την λήψη ενός νηματοειδούς ιστοτεμαχίου (core biopsy). Οι ενδείξεις για την εκτέλεσή της είναι οι ακόλουθες : α) Επιβεβαίωση της διάγνωσης πιθανών καλοήθων ή αμφιβόλων μαζών ή αποτιτανώσεων που ανιχνεύτηκαν με απεικονιστικές μεθόδους β) Τελική σταδιοποίηση μεγάλων ψηλαφητών ευρημάτων γ) Αντί της ανοιχτής βιοψίας σε ειδικές κατηγορίες ασθενών όπως π.χ. ηλικιωμένοι ασθενείς που ο κίνδυνος του χειρουργείου είναι αυξημένος. Απόλυτες αντενδείξεις δεν υπάρχουν, ενώ στις σχετικές περιλαμβάνονται οι διαταραχές πήξεως και η αδυναμία συνεργασίας της ασθενούς. Μπορεί να γίνει με δύο τρόπους :

- Πιστόλι αυτόματης βιοψίας : Σ'αυτό προσαρμόζεται μιά ειδική βελόνη με διπλό αυλό 14 ή 16 G η οποία στην άκρη έχει μιά ειδική εγκοπή για την λήψη του ιστού και μέσω ενός μηχανισμού ελατηρίου επιτυγχάνεται η γρήγορη προώθησή της. Αμέσως μετά έρχεται μιά δεύτερη εξωτερική βελόνη και κλείνει από πάνω της κόβοντας και παγιδεύοντας το ιστοτεμάχιο. Μετά από κάθε δειγματοληψία χρειάζεται απόσυρση από τη βλάβη και μετά την εκκένωση του φορτίου της η βελόνη εισάγεται ξανά στο στόχο. Συνήθως λαμβάνονται 3-5 τεμάχια μεγέθους 1.5-2 εκ., εκτός από τις μικροαποτιτανώσεις όπου απαιτούνται περισσότερα.
- Μονάδα μαμμοτόμου : Χρησιμοποιείται επίσης βελόνη με διπλό αυλό 11-12 G η οποία εισάγεται μιά μόνο φορά στο στόχο και μέσω περιστροφικής κίνησης συλλέγει πολλαπλά δείγματα ιστού μέσω κενού που δημιουργείται στο ειδικό τμήμα του συστήματος. Πλεονεκτεί απέναντι στη βιοψία με πιστόλι γιατί με μιά και μόνο εισαγωγή της



βελόνης αφαιρούνται μεγαλύτερα και περισσότερα κομμάτια ιστού σε λιγότερο χρόνο. Αναφέρεται επίσης δυνατότητα αφαίρεσης βλάβης διαμέτρου μέχρι 1.5 εκ. Το σημαντικότερο μειονέκτημα είναι το υψηλό κόστος. Πάντως μεταξύ των δύο μεθόδων δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Σε μη ψηλαφητές βλάβες χρησιμοποιούνται απεικονιστικά συστήματα για την καθοδήγηση της βιοψίας. Η επιλογή εξαρτάται από τον τρόπο απεικόνισης (μαστογραφικός ή υπερηχογραφικός), αν όμως θέλουμε να αποφύγουμε την έκθεση σε ακτινοβολία προτιμάται το υπερηχογράφημα. Η ευαισθησία είναι της τάξης του 85-97% και η ειδικότητα 99%( και ίσως παραπάνω για τις στερεοταξικές βιοψίες).

1) Βιοψία υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση : Η βελόνη θα πρέπει να έχει όσο το δυνατόν παράλληλη πορεία με το θωρακικό τοίχωμα για την αποφυγή τραυματισμού του μείζονα θωρακικού μυός. Απαιτείται μεν λιγότερο χρόνο σε σχέση με τις άλλες μεθόδους, δεν είναι όμως εφαρμόσιμη στις μικροαπτοπιτανώσεις και επιπλέον οι μικρές ή μη διηθητικές βλάβες μπορεί να μην απεικονίζονται ευχερώς.

2)Βιοψία υπό μαστογραφική καθοδήγηση-Στερεοτακτική βιοψία : Επιλέγεται το σημείο εισόδου ώστε η διαδρομή εντός του μαστού να είναι η συντομότερη. Γίνονται αρχικά δύο λήψεις, +15° και -15° κλίση της λυχνίας πάνω στο ίδιο film και με βάση αυτές επιλέγεται ο στόχος. Ανάλογα με τα δεδομένα που εισάγουμε στον υπολογιστή-στόχος, είδος βιοψίας, μήκος βελόνης-προσδιορίζεται από το σύστημα το βάθος της βλάβης και η θέση εισαγωγής της βελόνης. Λάθος στον εντοπισμό μπορεί να προκύψει μόνο από μετακίνηση της ασθενούς ή αν οι στόχοι που επιλέγονται στις +15° και -15° είναι βλάβες μη ιδανικές, κάτι που μπορεί να συμβεί σε ασαφώς αφοριζόμενες βλάβες όπου είναι δύσκολο να αναγνωριστεί η ίδια δομή στο σύστημα της στερεοταξίας ή σε περίπτωση πολλαπλών μικροαπτοπιτανώσεων με ελάχιστο πλειομορφισμό.

Και με τους δύο παραπάνω τρόπους μπορεί να έχουμε ψευδώς αρνητικά ευρήματα αν ληφθούν μη αντιπροσωπευτικά τεμάχια ιστού (κεντρική νέκρωση ή ίνωση εντός του όγκου ή διάσπαρτη ανάπτυξη των κυττάρων του όγκου) παρά την ακριβή τοποθέτηση της βελόνας.

Σε πρόσφατες μελέτες αναφέρεται εφαρμογή της core biopsy υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση στους λεμφαδένες της μασχαλιαίας κοιλότητας για την διάγνωση ή όχι μεταστατικής διήθησής τους.

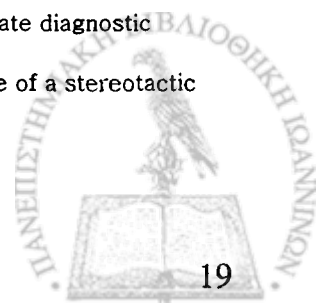
### **Βιοψία με λεπτή βελόνη (FNA)**

Πρόκειται για παρακέντηση ενός ογκιδίου του μαστού με βελόνη 21 G η οποία προσαρμόζεται σε σύριγγα 10 ml που συγκρατείται με ειδική λαβή ώστε να είναι δυνατός ο χειρισμός της με το ένα χέρι ενώ το άλλο ψηλαφά και εντοπίζει τη βλάβη, διαδικασία που μπορεί να γίνει και υπό υπερηχοτομογραφική καθοδήγηση. Στη σύριγγα δημιουργείται κενό και η βελόνη περνά αρκετές φορές από τη βλάβη μέχρι να ληφθεί ικανή ποσότητα υλικού. Αν πρόκειται για κυστική βλάβη το αναρρόφημα είναι υγρό και η μάζα εξαφανίζεται. Αν η εξέταση είναι μη διαγνωστική επαναλαμβάνεται μέχρι να πάρουμε οριστική απάντηση. Επιπρόσθετες πληροφορίες που μπορεί να ληφθούν εκτός από τη διάγνωση της κακοήθειας είναι ο βαθμός διαφοροποίησης, ο προσδιορισμός των ορμονικών υποδοχέων, ιστοχημικές και μοριακές συνιστώσες του όγκου, ενώ είναι δυνατή και η εκτέλεση κυτταρομετρίας ροής.

Η ευαισθησία της εξέτασης κυμαίνεται από 53 έως 99% και η ειδικότητα από 96 έως 100%. Τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα οφείλονται σε ανεπαρκή δείγματα ιστού ή σε λάθος ερμηνεία του αποτελέσματος. Επίσης είναι δύσκολη η αναγνώριση του μικροκυτταρικού λοβιακού καρκινώματος, ενώ δεν είναι δυνατή η διαφορική διάγνωση μεταξύ του μυξοειδούς ινοαδενώματος και του βλεννώδους καρκινώματος καθώς επίσης και μεταξύ διηθητικού και μη καρκίνου.



1. Adler LP, Crowe JP, al-Kaisi NK. Evaluation of breast masses and axillary lymph nodes with F-18 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose PET. *Radiology* 1993;187:743.
2. American Joint Committee on Cancer. Manual for staging of cancer, ed. 3, Philadelphia, JB Lippincott, 1988:145.
3. Avril N, Schelling M, Dose J. Utility of PET in Breast Cancer. *Clin Positron Imaging*. 1999 Oct;2(5):261-271.
4. Boontje AH. Axillary vein entrapment. *Br J Surg* 1979;66:331
5. Chan HP, Lo SC, Helvie MA. Resognition of mammographic microcalcifications with artificial neural network. *Radiology* 1993;189:318.
6. Chadwick DR, Shorthouse AJ. Wire-directed localization biopsy of the breast: an audit of results and analysis of factors influencing therapeutic value in the treatment of breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 1997 Apr;23(2):128-33.
7. Chen DR, Jeng LB, Kao A. Comparing thallium-201 spect mammoscintigraphy and ultrasonography to detect breast cancer in mammographical dense breasts. *Neoplasma*. 2003;50(3):222-6.
8. Coleman-Krnacik S, Rosen JM. Differential temporal and spatial gene expression of fibroblast growth factor family members during mouse mammary gland development. *Mol Endocrinol* 1994;8:218
9. Copeland EM, Bland IK. The breast. In:Manke D, ed. *Essentials of Surgery-Sabiston*, Philadelphia PA, WB Saunders 1987;17:288.
10. Damera A, Evans AJ, Comford EJ. Diagnosis of axillary nodal metastases by ultrasound-guided core biopsy in primary operable breast cancer. *Br J Cancer*. 2003 Oct 6;89(7):1310-3.
11. Dawson EK. A histological study of the normal mamma in relation to growth factor I. Early development to maturity. *Edinb Med J*1934;41:653
12. Dickson RB, Lippman ME. Growth regulation of normal and malignant breast epithelium. In:*The Breast*. Bland KI, Copeland EM(eds). Philadelphia WB Saunders, 1991:363
13. Dixon MJ, Walsh J, Paterson D. Colour Doppler ultrasonography studies of benign and malignant breast lesions. *Br J Surg* 1992; 79:259.
14. Dooley WC, Veronesi U, Elledge R. Detection of pre-malignant and malignant breast cells by ductal lavage. *Breast Cancer Res Treat* 2000;64:30
15. Ege GN. Internal mammary lymphoscintigraphy. *Radiology* 1975;118:101
16. Elvecrog EL, Lechner MC, Nelson MT. . Nonpalpable breast lesions: correlation of stereotactic large core needle biopsy and surgical biopsy results. *Radiology* 1993;189:665.
17. Elvecrog EL, Lechner MC, Nelson MT. Nonpalpable breast lesions: correlation of stereotaxic large-core needle biopsy and surgical biopsy results. *Radiology*. 1993 Aug;188(2):453-5.
18. Ferguson DJP, Anderson TJ. Morphological evaluation of cell turnover in relation to the menstrual cycle in the resting human breast. *Br J Cancer* 1981;44:177-181
19. Fletcher SW, Black W, Harris R. Report of the International Workshop on screening for Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1644.
20. Fornage BD, Faroux MJ, Simatos A. breast masses : US-guided fine needle aspiration biopsy. *Radiology* 1987;162:409.
21. Gilles R, Guinebretiere JM, Lucidarme O. Nonpalpable breast tumors :diagnosis with contrast enhanced subtraction dynamic MR imaging. *Radiology* 1994;191:625.
22. Gisvold JJ, Martin JK. Prebiopsy localization of nonpalpable breast lesions. *AJR* 1984;143:477.
23. Haagensen CD. *Diseases of the breast*. Philadelphia, WB Saunders, 1986:502.
24. Hamilton NJ, Boyd JD, Mossman HW. *Human Embryology*. Cambridge, Heffer, 1968:428.
25. Harms SE, Flamig DP. MR imaging of the breast. *J Magn Reson Imaging* 1993;3:277.
26. Hermans J. The value of aspiration cytologic examination of the breast: a statistical review of the medical literature. *Cancer* 1992;69:2104.
27. Jackson VP. The role of ultrasound in breast imaging. *Radiology* 1990;177:305.
28. Kaiser WA, Zeitler E. MR imaging of the breast : fast imaging sequences with and without Gd-DTPA. *Radiology* 1989;170:681.
29. Kopans DB. Mammography screening for breast cancer. *Cancer* 1993;72:1809. Kopans DB. Efficacy of screening mammography for women in their 40's. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:1721.
30. Kopans DB, Meyer JE, Cohen AM. Palpable breast masses: the importance of preoperative mammography. *JAMA* 1981;246:2819.
31. Kopans DB, Meyer JE, Lindfors KK. Whole breast ultrasound imaging: four-year follow-up. *Radiology* 1985;157:505.
32. Kopans DB, Meyer JE, Lindfors KK. Breast sonography to guide aspiration of cysts and preoperative localization of occult breast lesions. *AJR* 1984;143:489.
33. Kopans DB. Review of stereotaxic large-core needle biopsy and surgical biopsy results in nonpalpable breast lesions. *Radiology* 1993;189:665.
34. Koss LG. The palpable breast nodule : a cost-effectiveness analysis of alternate diagnostic approaches. *Cancer* 1993;72:1449.
35. Kuhl CK, Elevelt A, Leutner CC. Interventional breast MR imaging: clinical use of a stereotactic localization and biopsy device. *Radiology*. 1997 Sep;204(3):667-75.



36. Liscia DS, Merlo G, Ciardiello F, et al. Transforming growth factor-alpha messenger RNA localization in the developing adult rat and human mammary gland by in situ hybridization. *Dev Biol* 1990;140:123.
37. Maidment AD. Digital mammography. *Semin Roentgenol.* 2003 Jul;38(3):216-30
38. Mayr NA, Staples JJ, Robinson RA. Morphometric studies in intraductal breast carcinoma using computerized image analysis. *Cancer* 1991;67:2805.
39. McMahon AJ, Lutfy AM, Matthew A. Needle core biopsy of the breast with a spring loaded device. *Br J Surg* 1992;79:1042.
40. Moosman DA. Anatomy of the pectoral nerves and their preservation in modified mastectomy. *Am J Surg* 1980;139:883.
41. Moskowitz M. The predictive value of certain mammographic signs in screening for breast cancer. *Cancer* 1983;51:1007.
42. Olsson H, Jernstrom H, Alm P. Proliferation of the breast epithelium in relation to menstrual cycle phase, hormonal use, and reproductive factors. *Breast Cancer Res Treat.* 1996;40(2):187-96.
43. Parker SH, Lovin JD, Jobe WE. Nonpalpable breast lesions: stereotactic automated large core biopsies. *Radiology* 1991;180:403.
44. Parker SH, Lovin JD, Jobe WE. Nonpalpable breast lesions: stereotactic automated large-core biopsies. *Radiology.* 1991 Aug;180(2):403-7.
45. Parks AG. The micro-anatomy of the breast. *Ann R Coll Surg Engl* 1959; 25:235.
46. Pitelka DR. The mammary gland. In: Weiss L, ed. *Cell and tissue biology.* Baltimore, Urban & Schwarzenberg, 1988:877.
47. Pressler V., Namiki T, Cieply J. Stereotactic fine needle aspiration of mammographic lesions. *J Am Coll Surg.* 1994 Jan;178(1):54-8.
48. Robinson SD, Silberstein GB, Roberts AB, Flanders KC, Daniel CW. Regulated expression and growth inhibitory effects of transforming growth factor-beta isoforms in mouse mammary gland development. *Development* 1991;113:867.
49. Russo J, Russo IH. Development of human mammary gland. In: Neville MC, Daniel CW, eds. *The mammary gland,* New York, Plenum, 1987:67.
50. Sakakura T. Mammary embryogenesis. In : *The Mammary Gland.* Neville MC, Daniel CW(eds). New York, Plenum, 1987 :37
51. Sickles EA, Weber WN, Galvin HB. Mammographic screening : how to operate successfully at low cost. *Radiology* 1986;160:95.
52. Shen KW, Wu J, Lu SJ. Fiberoptic ductoscopy for breast cancer patients with nipple discharge. *Surg Endosc* 2001;15:1340-45.
53. Sickles EA. Periodic mammographic follow-up of probably benign lesions: results of 3184 consecutive cases. *Radiology* 1981;179:463.
54. Snedeker SM, Brown CF, Di Augustine RP. Expression and functional properties of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor during mouse mammary gland ductal morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:276.
55. Steyaert L. Doppler sonography in breast pathology. *JBR-BTR.* 2000 Jun;83(3):121-2.
56. Tanner JM. *Wachstum und Reifung des Menschen.* Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1962.
57. Thomas JM, Redding WH, Sloane JP. The spread of breast cancer: importance of the intrathoracic lymphatic route and its relevance to treatment. *Br J Cancer* 1979;40:540.
58. Turkington RW. Multiple hormonal interactions: the mammary gland. In: Litwack G, ed. *Biochemical actions of hormones,* New York, Academic 1972:55.
59. Turner-Warwick RT. The lymphatics of the breast. *Br J Surg* 1959;46:574.
60. Urban JA, Marjani MA. Significance of internal mammary lymph nodes in carcinoma of the breast. *Am J Roentgenol* 1971;111:130.
61. Tse NY, Hoh CK, Hawkins RA. The application of positron emission tomographic imaging with fluorodeoxyglucose to the evaluation of breast disease. *Ann Surg* 1992;216:27
62. Τσιφτσής ΔΑ, Ψυχogiός Ι. Παθήσεις του μαστού. Ι. Παπαδημητρίου Σύγχρονη Γενική Χειρουργική. Παρισάνας, Αθήνα, 2001 τόμος 1<sup>ος</sup> 492.
63. Tyson JE, Hwang P, Guyda H. Studies of prolactin secretion in human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1972;113:14
64. Vogel PM, Georgiade NG, Fetter BF. The correlation of histologic changes in the human breast with the menstrual cycle. *Am J Pathol* 1981;104:23.
65. Vonderhaar BK. Regulation of development of the normal mammary gland by hormones and growth factors. *Cancer Treat Res* 1988;40:251.
66. Vorherr H. *The breast : morphology, physiology and lactation.* New York, Academic, 1974.
67. Wittliff JL, Lewko WM, Park DC. Hormones, receptors and breast cancer. In : McGuire WL, ed. *Steroid binding proteins of mammary tissues and their clinical significance in breast cancer,* New York, Raven, 1978;10:327.
68. Wright T, McGeachan A. Breast cancer : new technologies for risk assessment and diagnosis. *Mol Diagn.* 2003 Mar;7(1):49-55.
69. Wu Y, Giger ML, Doi K. Artificial neural networks in mammography : application to decision making in the diagnosis of breast cancer. *Radiology* 1993;187:81.

70. Zografos GC, Doumitriou C, Lappas D. Localization of nonpalpable breast lesions using hook-wire combined with isosulfan blue dye. *J Surg Oncol.* 2003 Jan;82(1):73-4.
71. Swann CA, Kopans DB, Koerner FC. The halo sign and malignant breast lesions. *AJR* 1987;149:1145

Επιδημιολογία και Πρόληψη

Η επίπτωση του καρκίνου του μαστού στην Ελλάδα είναι περίπου 15-20% των καρκίνων, με την ηλικία να αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου. Η πρόληψη και η έγκαιρη διάγνωση είναι κρίσιμα στοιχεία για την αντιμετώπιση αυτής της νόσου. Η παρούσα μελέτη εξετάζει τους παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού, με έμφαση στην αιτιολογία και την παθογένεση.

## 2. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Ο καρκίνος του μαστού είναι μια πολύπλοκη νόσος, η αιτιολογία της οποίας περιλαμβάνει τόσο γενετικούς παράγοντες όσο και περιβαλλοντικούς. Η παθογένεση της νόσου είναι ο αποτέλεσμα της συσσώρευσης μεταλλάξεων σε κληρονομικά ονόματα, οι οποίες οδηγούν στην ανάπτυξη νεοπλασματικών κυττάρων. Τα κύρια αίτια περιλαμβάνουν την ηλικία, την οικογενειακή ιστορία, την έκθεση σε ορμόνες, την έκθεση σε ακτινοβολία και την παρουσία άλλων καρκίνων. Η πρόληψη και η έγκαιρη διάγνωση είναι κρίσιμα στοιχεία για την αντιμετώπιση αυτής της νόσου. Η παρούσα μελέτη εξετάζει τους παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού, με έμφαση στην αιτιολογία και την παθογένεση.



## Επιδημιολογικά δεδομένα

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον δεύτερο σε συχνότητα καρκίνο διεθνώς ακολουθώντας τον καρκίνο του πνεύμονα και την συχνότερη μορφή νεοπλασματος στις γυναίκες των ανεπτυγμένων χωρών του Δυτικού ημισφαιρίου στις οποίες είναι και η πρώτη αιτία θανάτου από νεοπλασία. Στις ΗΠΑ το διάστημα 1948-1995 ήταν η πρώτη σε συχνότητα αιτία θανάτου μεταξύ των ασθενών με καρκίνο-την τελευταία δεκαετία έχει υπερκερασθεί από τον καρκίνο του πνεύμονα. Το 32% των νέων περιπτώσεων διαγνωσμένων νεοπλασιών στις γυναίκες και το 18% των θανάτων οφείλονται στον καρκίνο του μαστού. Στη χώρα μας υπολογίζονται κατά έτος 3.300 νέα κρούσματα με περίπου 1200 θανάτους. Μιά γυναίκα κατά τη διάρκεια της ζωής της έχει 11% πιθανότητα να εμφανίσει καρκίνο του μαστού και 4% πιθανότητα να πεθάνει από τη νόσο αυτή.

Από τα μέσα περίπου της δεκαετίας του 1970 παρατηρήθηκαν φαινόμενα στασιμότητας ή και μείωσης των ποσοστών θνητότητας σε χώρες με υψηλά ποσοστά εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ενώ χώρες με χαμηλά ποσοστά παρουσίασαν αύξηση της συχνότητας εμφάνισης της νόσου. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την εν μέρει εξομάλυνση των εθνολογικών διαφορών. Χαμηλή συχνότητα της νόσου υπάρχει κυρίως στην Κίνα, Ιαπωνία και Ινδία, ενδιάμεση στην Νότια Αμερική και την Ανατολική Ευρώπη και υψηλή στην Δυτική Ευρώπη, Καναδά και Βόρεια Αμερική. Τα αστικά κέντρα χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη επίπτωση της νόσου σε σχέση με τις αγροτικές περιοχές. Είναι ενδιαφέρον ότι η συχνότητα στους μετανάστες μεταβάλλεται και πλησιάζει αυτή των αυτόχθονων κατοίκων, εξαρτάται δε από το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την μετανάστευση και τροποποιείται περαιτέρω στις επόμενες γενιές. Στην λευκή φυλή είναι πιο συχνός απ'ότι στην μαύρη και στην ασιατική φυλή.

Στους άντρες ο καρκίνος του μαστού εμφανίζεται πολύ σπανιότερα σε σχέση με τις γυναίκες (1% στο σύνολο των περιστατικών καρκίνου του μαστού), σε μεγάλο δε ποσοτό των ασθενών εμπλέκονται γενετικοί παράγοντες(30%). Αποτελεί διαφορετική νοσολογική οντότητα και θεωρείται ότι έχει χειρότερη πρόγνωση απ'ότι ο γυναικείος καρκίνος του μαστού, ίσως όμως σε αυτό να συμβάλλει η συνήθως καθυστερημένη διάγνωση.

Ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού αυξάνει ραγδαία με την ηλικία κατά τη διάρκεια των αναπαραγωγικών χρόνων. Μετά την εμμηνόπαυση συνεχίζει να αυξάνει αλλά με βραδύτερους ρυθμούς. Ένα ιδιαίτερο φαινόμενο που παρατηρείται είναι ότι ενώ στην μαύρη φυλή υπάρχει αυξημένη συχνότητα της νόσου στα αναπαραγωγικά χρόνια, θάνατοι από τη νόσο επισυμβαίνουν πολύ αργότερα απ'ότι στη λευκή φυλή.

Τα περιστατικά καρκίνου του μαστού παρουσιάζουν συνεχή αύξηση σε διεθνές επίπεδο. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην αυξημένη διάδοση του screening αλλά και στην τελειοποίηση των διαγνωστικών τεχνικών. Έτσι έχουμε αύξηση της συχνότητας των in situ καρκινωμάτων αλλά και αυτών με

διάμετρο μικρότερη των 2εκ. Επίσης έχει σημειωθεί αύξηση της συχνότητας των θετικών για οιστρογονικούς υποδοχείς όγκων ιδιαίτερα σε μεγαλύτερης ηλικίας γυναίκες.

Το σημαντικό είναι ότι φαίνεται να έχει επιτευχθεί βελτίωση όσον αφορά τα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης η οποία υπερβαίνει το 80%, 86% σε περιπτώσεις έγκαιρης διάγνωσης με περιορισμένης έκτασης νόσο, ενώ πέφτει στο 20% σε μεταστατική νόσο. Σε περισσότερες από τις μισές περιπτώσεις η διάγνωση γίνεται όταν η νόσος είναι εντοπισμένη, σε ακόμη ένα τρίτο δε των περιπτώσεων όταν είναι σε πρώιμο στάδιο. Στην βελτίωση της επιβίωσης φαίνεται ότι έχει συμβάλει και η εισαγωγή των αντιοιστρογόνων.

## **ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥΧ**

Όπως και με άλλες νεοπλασίες έτσι και με τον καρκίνο του μαστού είναι βασικό να καθοριστούν ομάδες που πρόκειται να επωφεληθούν από πρώιμότερα και εντατικότερα προγράμματα πληθυσμιακού ελέγχου ή πρωτογενή πρόληψη. Έχουν οριστεί κάποιοι παράγοντες που θεωρούνται ότι συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Πρέπει πάντως να σημειωθεί ότι ακόμη και σήμερα τα δύο τρίτα των γυναικών με καρκίνο του μαστού δεν έχουν κανένα αναγνωρίσιμο παράγοντα κινδύνου.

### **A. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

#### **Δημογραφικοί παράγοντες**

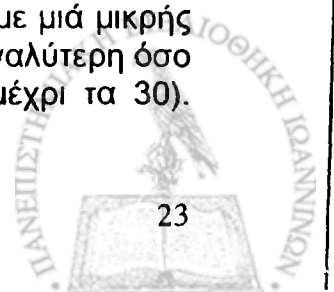
Η νόσος εμφανίζεται συχνότερα στις ανώτερες κοινωνικοοικονομικές τάξεις, ίσως όμως η συσχέτιση αυτή να αντανακλά την επίδραση άλλων παραγόντων όπως μεγαλύτερη ηλικία πρώτης κύησης. Αυξημένη συχνότητα εμφανίζουν και οι άγαμες γυναίκες ηλικίας άνω των 40 όπως και οι καλόγριες. Είναι υπό διερεύνηση η αυξημένη επίπτωση της νόσου στις γυναίκες εβραϊκού θρησκευματος και φαίνεται να σχετίζεται με συγκεκριμένες γονιδιακές μεταλλάξεις.

#### **Οικογενείς παράγοντες**

Οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού σε συγγενή πρώτου βαθμού διπλασιάζει τον κίνδυνο εμφάνισης. Αν και η μητέρα και η αδερφή είχαν καρκίνο ο κίνδυνος είναι ακόμη μεγαλύτερος, όπως και αν ο καρκίνος εμφανίστηκε σε μικρή ηλικία ή ήταν αμφοτερόπλευρος. Η αναγνώριση γενετικών βλαβών υπεύθυνων για καρκίνο του μαστού(π.χ. στο α σκέλος του χρωμοσώματος 17), έθεσε την τελευταία δεκαετία την πιθανότητα της αναγνώρισης της γενετικής προδιάθεσης και της πρόληψης.

#### **Αναπαραγωγικοί παράγοντες**

Ο κυριότερος παράγοντας κινδύνου στην κατηγορία αυτή είναι η ηλικία της πρώτης κύησης μετά τα 30 έτη. Στην ομάδα αυτή είναι πιθανότερη η εμφάνιση καρκίνου του μαστού ακόμη και σε σχέση με την ομάδα των άτεκνων γυναικών· οι ερευνητές θεωρούν ότι το φαινόμενο αυτό οφείλεται εν μέρει στην περαιτέρω διέγερση ήδη απορρυθμισμένων κυττάρων. Η προστατευτική επίδραση της εγκυμοσύνης εμφανίζεται με μικρή καθυστέρηση, με μία μικρής διάρκειας αύξηση του κινδύνου μετά τον τοκετό και είναι τόσο μεγαλύτερη όσο μεγαλύτερη είναι η ηλικία της γυναίκας στην πρώτη κύηση (μέχρι τα 30).



Μεγάλες χρονικές αποστάσεις μεταξύ των κυήσεων συνδέονται με επιπλέον αύξηση του κινδύνου. Ένας ακόμη παράγοντας κινδύνου είναι διάρκεια κύησης μικρότερη των 40 εβδομάδων καθώς επίσης και εκτρώσεις ή αποβολές.

Φαίνεται ότι η εγκυμοσύνη έχει δύο αντικρουόμενα αποτελέσματα στον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού που είναι ιδιαίτερα εμφανή στην πρώτη εγκυμοσύνη, παράδοξο το οποίο ερμηνεύεται από την έκκριση και τον μεταβολισμό των οιστρογόνων. Έτσι στο πρώτο τρίμηνο, το επίπεδο της ελεύθερης οιστραδιόλης αυξάνεται ραγδαία, αποτέλεσμα που είναι πιο εμφανές στην πρώτη παρά στις επόμενες κυήσεις και ισοδυναμεί πρακτικά με αρκετούς ωορρηκτικούς κύκλους μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα. Παρ'όλα αυτά το αρνητικό αυτό αποτέλεσμα ισοβαθμίζεται από δύο ωφέλιμα επακόλουθα της (πλήρους) κύησης. Τα επίπεδα της προλακτίνης είναι χαμηλότερα καθώς και τα επίπεδα της ελεύθερης οιστραδιόλης, ενώ τα επίπεδα της SHBG (sex-hormone-binding-globulin) είναι υψηλότερα.

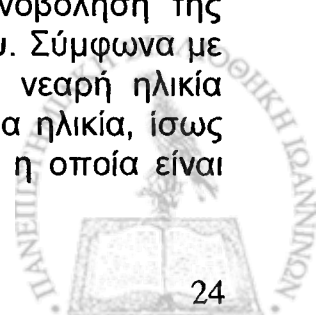
Είναι ακόμη υπό διερεύνηση το γιατί η στειρότητα έχει αρνητική επίδραση και το αν η επίδραση αυτή εξαρτάται από τον τύπο της στειρότητας (με ειδικό ενδιαφέρον για ορισμένους τύπους ορμονικών ανεπαρκειών) ή αν οφείλεται στη χρήση φαρμάκων που διεγείρουν την ωορρηξία.

Τέλος όσον αφορά το θηλασμό, οι έρευνες έδειξαν ότι υπάρχει προστατευτική δράση, ιδιαίτερα όσον αφορά τον πρώιμο καρκίνο, γεγονός λογικό αφού συνδέεται με καθυστέρηση της ωορρηξίας. Από την άλλη, διάρκεια θηλασμού μεγαλύτερη από 2 έτη θεωρείται ότι αναστέλλει την ευνοϊκή του επίδραση.

### ***Εμμηνορρυσιακοί παράγοντες***

Η πρώιμη εμμηναρχή είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού και μάλιστα πριν από την ηλικία των 12 ετών ο κίνδυνος είναι 50% μεγαλύτερος απ'ότι μετά τα 15. Έχει υπολογιστεί ότι κάθε έτος καθυστέρησης της εμμηναρχής συνεπάγεται ελάττωση κατά 20% του κινδύνου. Επίσης σημαντικός είναι και ο χρόνος εγκατάστασης τακτικών-ωορρηκτικών ωοθηκικών κύκλων (που είναι τόσο γρηγορότερος όσο νωρίτερη είναι η εμμηναρχή), αφού υπολογίζεται ότι οι γυναίκες όπου ρυθμίζεται ο εμμηνορρυσιακός κύκλος σε ένα έτος από την εμμηναρχή, υπόκεινται σε διπλάσιο κίνδυνο από αυτές όπου το αντίστοιχο χρονικό διάστημα είναι 5 χρόνια. Αυτό συμβαίνει επειδή η συσσωρευμένη συχνότητα ωορρηκτικών κύκλων είναι δείκτης αυξημένης οιστρογονικής (και προγεστερονικής) έκθεσης (βλ. παρακάτω) αφού τα αθροιστικά ορμονικά επίπεδα μιάς φυσιολογικής ωχρινικής φάσης είναι κατά πολύ υψηλότερα από εκείνα της αντίστοιχης περιόδου ενός μη ωορρηκτικού κύκλου. Την τελευταία δεκαετία παρατηρείται στις χώρες του Δυτικού κόσμου συνεχής ελάττωση της ηλικίας εμμηναρχής η οποία πιθανόν οφείλεται στην ταχύτερη εγκατάσταση της απαραίτητης αναλογίας βάρους σώματος-ύψους, στην καταπολέμηση των μολυσματικών ασθενειών και την βελτιωμένη θρέψη.

Η καθυστερημένη εμμηνόπαυση είναι ένας ακόμη παράγοντας κινδύνου. Ο κίνδυνος είναι διπλάσιος για εμμηνόπαυση μετά τα 55 απ'ότι για πριν τα 45. Πρόωρη εμμηνόπαυση οφειλόμενη σε ωοθηκεκτομή ή ακτινοβολήση της πυέλου συνοδεύεται αντίστοιχα με 50% ελάττωση του κινδύνου. Σύμφωνα με κάποιες έρευνες όμως η αμφοτερόπλευρη ωοθηκεκτομή σε νεαρή ηλικία υπερβαίνει το θετικό αποτέλεσμα της εμμηνόπαυσης στην ίδια ηλικία, ίσως λόγω της απότομης πτώσης των ορμονών που συνεπάγεται η οποία είναι



σταδιακή σε φυσιολογική εμμηνόπαυση. Η υστερεκτομή σε νεαρή ηλικία χωρίς ωοθηκεκτομή ή εκτομή της μιάς ωοθήκης δεν τροποποιεί τον κίνδυνο, χρειάζεται όμως προσοχή για τους λόγους που επιβάλλουν την επέμβαση αυτή οι οποίοι μπορεί να σχετίζονται με τη νόσο.

### **Περιγεννητικοί κίνδυνοι**

Με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού έχουν συσχετισθεί η μεγάλη ηλικία της μητέρας κατά τη γέννηση και το να είναι το νεογέννητο πρωτότοκο ή αυξημένου σωματικού βάρους. Αντίθετα η μητρική προεκλαμψία έχει συσχετισθεί με ελάττωση του κινδύνου στις κόρες. Τα χαρακτηριστικά αυτά πιθανόν αντανakλούν διάφορους βαθμούς έκθεσης σε οιστρογόνα των νεογέννητων. Υπάρχουν τέλος κάποιες μελέτες που αναφέρουν ελαττωμένο κίνδυνο σε βρέφη που θηλάζουν, μένει όμως να καθοριστεί αν αυτό οφείλεται στο μητρικό γάλα ή αντίθετα σε αρνητική επίδραση των υποκατάστατων του.

### **Ιατρικό ιστορικό**

Στοιχεία από έρευνες δείχνουν ότι γυναίκες με ιστορικό βιοψίας η οποία έδειξε καλοήγη πάθηση του μαστού εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Η ερμηνεία του φαινομένου αυτού είναι περίπλοκη. Η συσχέτιση φαίνεται να εξαρτάται όχι μόνο από τις ενδείξεις της βιοψίας αλλά και από τα ιστολογικά χαρακτηριστικά των αλλοιώσεων. Οι πιο επικίνδυνες φαίνεται να είναι οι άτυπες υπερπλαστικές μορφές και γενικά αυτές που χαρακτηρίζονται από αυξημένους ρυθμούς πολλαπλασιασμού, οι συσχετίσεις όμως δυσχεραίνονται από το γεγονός ότι δεν υπάρχει συγκεκριμένη κατάταξη των αλλοιώσεων αυτών. Απαιτούνται περισσότερες έρευνες καθώς και εκτίμηση των παραγόντων που μπορούν να προάγουν την εξέλιξη κάποιων καλοήθων παθήσεων σε καρκίνο.

Ένας ακόμη παράγοντας κινδύνου είναι η μαστογραφική απεικόνιση. Μαστοί με περιοχές αυξημένης πυκνότητας σε ποσοστό μεγαλύτερο του 65%, σχετίζονται με τετραπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.

Οι θυρεοειδοπάθειες (ιδιαίτερα οι αυτοάνοσες), η υπέρταση και ο διαβήτης, έχει βρεθεί ότι παρουσιάζουν αυξημένη πιθανότητα για καρκίνο του μαστού μπορεί όμως οι συσχετίσεις αυτές εν μέρει να αντανakλούν την επίδραση άλλων παραγόντων (π.χ. βάρος) ή χορηγούμενων για την πάθηση φαρμάκων. Ειδικά για τον θυρεοειδή, πιστεύεται ότι στην αιτιοπαθογένεια εμπλέκονται διαιτητικοί (κατανάλωση τροφών πλούσιων σε ιώδιο) και ιδιοσυστασιακοί παράγοντες (κυκλοφορούντα αντιθυρεοειδικά αντισώματα με πιθανολογούμενη θετική επίδραση).

Τα εμφυτεύματα σιλικόνης δεν έχουν σχετισθεί μέχρι σήμερα με αυξημένο κίνδυνο απαιτούνται όμως περισσότερες έρευνες για το θέμα αυτό.

### **Πρωτογενής καρκίνος**

Καρκίνος στον ένα μαστό σχετίζεται με κίνδυνο 2 μέχρι 4 φορές μεγαλύτερο εμφάνισης καρκίνου στον άλλο μαστό ιδιαίτερα σε γυναίκες με θετικό οικογενειακό ιστορικό για τη νόσο. Επίσης γυναίκες με καρκίνο του μαστού παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης δεύτερου καρκίνου στο ενδομήτριο, στις ωοθήκες, στο κόλον, στους σιελογόνους αδένες, στο





θυρεοειδή καθώς και μελανώματος, πιθανόν λόγω έκθεσης σε κοινούς για τις οντότητες αυτές παράγοντες κινδύνου.

### **Φυσική δραστηριότητα**

Υπάρχουν κάποιες μελέτες ότι τακτική φυσική δραστηριότητα σχετίζεται με ελάττωση ιδιαίτερα του πρώιμου καρκίνου, επίδραση που φαίνεται να είναι ανεξάρτητη της σωματικής μάζας. Σε μελέτες αναφέρεται ότι γυναίκες με 4 ή περισσότερες ώρες άσκησης την εβδομάδα κατά τη διάρκεια των αναπαραγωγικών χρόνων έχουν κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού ελαττωμένο κατά 60% σε σχέση με εκείνες που δεν ασκούνται. Η συσχέτιση αυτή είναι βιολογικά λογική, δεδομένης της τροποποίησης των εμμηνορρυσιακών κύκλων και της παραγωγής των ωθητικών ορμονών με την άσκηση. Είναι επίσης γνωστό ότι η έντονη άσκηση στην εφηβεία καθυστερεί την εμμηναρχή και ότι ακόμη και μέτρια φυσική δραστηριότητα μπορεί να οδηγήσει σε ανωορρηκτικούς κύκλους.

### **Κάπνισμα**

Δεν έχει μέχρι σήμερα τεκμηριωθεί γενικά κάποια συσχέτιση πέρα από την πρωιμότερη έναρξη της εμμηνόπαυσης στις καπνίστριες.

### **Βαφές μαλλιών**

Έρευνες για μιτωγενετική επίδραση των χημικών αυτών οδήγησαν και σε διερεύνηση πιθανής συσχέτισης με τον καρκίνο του μαστού, η οποία όμως μέχρι σήμερα δεν έχει επιβεβαιωθεί.

### **Ακτινοβολία**

Από μελέτες γυναικών στην Ιαπωνία που εκτέθηκαν στην ατομική βόμβα και γυναικών με επανειλημμένη έκθεση στην ακτινοβολία για ιατρικούς λόγους, είναι τεκμηριωμένο ότι ιονίζουσα ακτινοβολία στο θώρακα σε μέτριες μέχρι υψηλές δόσεις (1 έως 3 Gy) πριν από την ηλικία των 40 ετών, αυξάνει τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού και μάλιστα όσο μεγαλύτερη η δόση τόσο μεγαλύτερος και ο κίνδυνος. Έτσι μετά από ακτινοβολήση για νόσο του Hodgkin υπάρχει αυξημένη εμφάνιση καρκίνου του μαστού, ενώ θεωρείται πιθανότερη η εμφάνιση δευτερογενούς καρκίνου του μαστού όταν έχει εφαρμοστεί ακτινοθεραπεία για τον πρωτογενή καρκίνο, κυρίως αν αυτή έγινε πριν από την ηλικία των 45 ετών.

Ένα ιδιαίτερο θέμα είναι η επίδραση της ακτινογραφίας θώρακος και της μαστογραφίας. Η δόση της ακτινοβολίας είναι πολύ μικρή, περίπου 0,0002 και 0,00015 Gy αντίστοιχα και το ποσοστό καρκίνου του μαστού το οφειλόμενο σε ραδιογραφικές διαδικασίες πολύ μικρότερο από 1%, έτσι ώστε σε κάθε περίπτωση η πιθανή βλάβη αντισταθμίζεται από τα οφέλη.

Η έκθεση σε ηλεκτρικά πεδία είναι ένα άλλο ζήτημα γιατί θεωρείται ότι τα 50 έως 60 Hz και το διακοπτόμενο φως ελαττώνουν την έκκριση της μελατονίνης γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη έκκριση οιστρογόνου και προλακτίνης.

Η απόκλιση τέλος στον καρκίνο του μαστού μεταξύ βορρά και νότου έχει συσχετισθεί με τη διαφορετική έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία και την πιθανότητα η βιταμίνη D και οι μεταβολίτες της να ελαττώνουν τον κίνδυνο.

### **Επαγγελματικοί κίνδυνοι**



Επαγγέλματα που θεωρείται ότι σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο είναι τα εμπλεκόμενα με ραδιογραφικές διαδικασίες, με ηλεκτρομαγνητικά πεδία καθώς και οι νοσηλεύτριες.

### **Χημικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες**

Εξετάζεται η συσχέτιση με οργανοχλωρίδια, την μόλυνση της ατμόσφαιρας και διάφορους χημικούς παράγοντες.

### **B. ΟΙΚΟΓΕΝΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**

Η πρώτη αναφορά για οικογενειακή εμφάνιση καρκίνου του μαστού υπάρχει ήδη στην αρχαία Ρώμη. Η πρώτη επίσημη καταγραφή έγινε το 1866 από έναν Γάλλο χειρουργό που ανέφερε 10 περιστατικά καρκίνου του μαστού σε 4 γενιές της οικογένειας της συζύγου του και 4 ακόμη περιστατικά στην ίδια οικογένεια με όγκους ήπατος. Οι πιθανές ερμηνείες που έχουν διατυπωθεί για την εμφάνιση του οικογενούς καρκίνου είναι: α) γεωγραφικά περιορισμένη έκθεση σε καρκινογόνους παράγοντες β) τρόπος ζωής υποδεικνυόμενος από συγκεκριμένες κουλτούρες (π.χ. ηλικία απόκτησης του πρώτου παιδιού) γ) πολιτικοοικονομικές διαφορές που αντανakλούν σε διαφορετικές διαιτητικές συμπεριφορές και συνήθειες. Επιπλέον στην διαφορετική έκφραση των γενετικών παραγόντων συμβάλλει η έκταση που ένας γενετικός παράγοντας καταλαμβάνει στην ζωή ενός ατόμου. Οι περιπτώσεις κληρονομικού καρκίνου του μαστού έχουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά: ηλικία εμφάνισης πολύ μικρότερη από τις σποραδικές περιπτώσεις, αυξημένη συχνότητα αμφοτερόπλευρου καρκίνου και εμφάνιση συνοδών νεοπλασιών. Δεν υπάρχουν διαφορές στον ιστολογικό τύπο (εκτός από κάποια ογκογονίδια που έχουν συνδεθεί με συγκεκριμένους τύπους καρκίνου), στον βαθμό κακοήθειας, το μεταστατικό πρότυπο ή την επιβίωση.

Οι μηχανισμοί γενετικής μεταβίβασης είναι δύο:

1) *Αυτοσωματικό επικρατές πρότυπο*: Σύμφωνα με τον ορισμό του Mendel, ο τύπος αυτός της μεταβίβασης σημαίνει την ολοκληρωτική ή σχεδόν μεταβίβαση γενετικών χαρακτηριστικών χωρίς μεταβολές τους από τον υβριδισμό. Ένα άτομο μπορεί να έχει έναν από τους ακόλουθους γονότυπους: να είναι φορέας δύο μη μεταλλαγμένων γονιδιακών αντιγράφων ή όπως ονομάζονται αλληλίων (φυσιολογικός), να είναι φορέας ενός (ετερόζυγος), ή δύο μεταλλαγμένων αλληλίων (ομόζυγος). Η πιθανότητα κάποιος να νοσήσει, είναι σε άμεση εξάρτηση με την διεισδυτικότητα του γονιδίου δηλ. την πιθανότητα το αποτέλεσμα μιάς μετάλλαξης να γίνει κλινικά εμφανές. Όσο το προβληματικό γονίδιο δεν είναι στο φυλετικό χρωμόσωμα, το φύλο του φορέα είναι άσχετο. Στην περίπτωση όμως του αυτοσωμικού επικρατούντα τύπου μεταβίβασης του καρκίνου του μαστού υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην διεισδυτικότητα μεταξύ αρρένων και θηλέων φορέων. Κατά τη διάρκεια της μείωσης κάθε γαμέτης φέρει ένα μόνο αντίγραφο του πρὸς διερεύνηση γονιδίου, με αποτέλεσμα 50% πιθανότητα κάθε απογόνου να κληρονομήσει ένα μεταλλαγμένο γονίδιο από ετεροζυγώτη γονέα. Στο γενεαλογικό δέντρο αυτό παρουσιάζεται σαν κάθετη μεταβίβαση ενός χαρακτηριστικού. Μία τυπική περίπτωση είναι το ογκογονίδιο BRCA1, που η μετάλλαξή του προκαλεί καρκίνο μόνο σε γυναίκες φορείς και όχι σε άντρες.

2) *Ογκογονίδια-ογκοκατασταλτικά γονίδια* : Τρεις είναι οι βασικοί τύποι γενετικής βλάβης που συναντώνται στα καρκινικά κύτταρα και θεωρούνται υπεύθυνοι για την ανάπτυξη του κακοήθους φαινότυπου: α) ενεργοποίηση πρωτοογκογονιδίων με αποτέλεσμα πλεόνασμα λειτουργίας του κυττάρου β) απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων που συνεπάγεται απώλεια λειτουργικότητας για το κύτταρο γ) απενεργοποίηση των γονιδίων των υπεύθυνων για την επισκευή του DNA που εξασφαλίζουν την πρόληψη των μεταλλάξεων σε κριτικής σημασίας γονίδια. Τα γονίδια της β και γ κατηγορίας είναι πολύ σημαντικά για την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και την φυσιολογική λειτουργικότητα και η μετάλλαξή τους οδηγεί σε κακοήθη εξαλλαγή. Η ανακάλυψη των γονιδίων αυτών έγινε με την παρατήρηση ότι σε καλλιέργειες φυσιολογικών κυττάρων με καρκινικά δημιουργούνταν νέα κύτταρα χωρίς κακοήθη χαρακτηριστικά. Έτσι οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν γονίδια που η φυσιολογική τους λειτουργία είναι η καταστολή της κακοήθους κυτταρικής ανάπτυξης, η απώλεια των οποίων έχει σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη κλινικά ανιχνεύσιμου καρκίνου. Επειδή όμως όλα τα άτομα διαθέτουν δύο αντίγραφα από κάθε γονίδιο απαιτούνταν μία πρόσθετη εξήγηση για την ερμηνεία του φαινομένου που δόθηκε το 1971 από τον Knudsen και ήταν η «υπόθεση των δύο χτυπημάτων»: ο καρκίνος επισυμβαίνει σαν αποτέλεσμα δύο γενετικών συμβάντων που αφορούν το ίδιο κύτταρο και αδρανοποιούν και τα δύο αντίγραφα του ογκοκατασταλτικού γονιδίου. Στην περίπτωση του σποραδικού καρκίνου η πιθανότητα είναι μικρή. Στον κληρονομούμενο όμως καρκίνο υπάρχει ήδη η μετάλλαξη στο ένα αλληλίο, οπότε αρκεί ένα μόνο «χτύπημα» για την ογκογένεση. Η ανίχνευση του δεύτερου αυτού χτυπήματος γίνεται με την λεγόμενη «απώλεια της ετεροζυγωτίας» που σημαίνει απώλεια ενός μεγάλου τμήματος χρωμοσώματος που περιέχει το μόνο λειτουργικό αντίγραφο του ογκογονιδίου. Η επίμονα διαπιστούμενη απώλεια ετεροζυγωτίας ενός γενετικού δείκτη σε συγκεκριμένη περιοχή σε καρκινικά κύτταρα πολλαπλών ασθενών αποτελεί ισχυρή ένδειξη παρουσίας ογκογονιδίου στην περιοχή αυτή. Επιπλέον η απώλεια ετεροζυγωτίας μπορεί να συνδέεται με κλινικά χαρακτηριστικά όπως η εμφάνιση μακρινών μεταστάσεων και συνεπώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη του κλινικού αποτελέσματος.

#### *Κληρονομικά σύνδρομα με καρκίνο του μαστού*

Η μελέτη των μεταβολών στο γενετικό υλικό σε συνδυασμό με την ανάλυση κλινικών συνδρόμων με αυξημένη επίπτωση καρκίνου του μαστού, έδωσε την δυνατότητα αναγνώρισης κληρονομούμενων γενετικών μεταλλάξεων που οδηγούν στην ανάπτυξή του. Η πιο συχνά απαντώμενη αφορά τον συγκεκριμένης τοπογραφικής εμφάνισης καρκίνο του μαστού σαν αποτέλεσμα μίας απλής γενετικής ανωμαλίας. Μπορεί επίσης να παρουσιάζεται σε συνδυασμό με άλλες κακοήθειες ή και με καλοήθειες παθήσεις. Στις περιπτώσεις αυτές τα γονίδια που οδηγούν στους συγκεκριμένους φαινότυπους μπορεί επίσης να οδηγούν και στην εμφάνιση του καρκίνου του μαστού ή να οφείλονται σε διαφορετικά γονίδια που όμως καταλαμβάνουν παραπλήσιες θέσεις στο ίδιο χρωμόσωμα. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί τα ακόλουθα σύνδρομα :

- *Σύνδρομο καρκίνου μαστού-ωοθηκών* Η πρώτη αναφορά για το σύνδρομο αυτό έγινε το 1971 από τους Lynch και Krush. Αργότερα διαπιστώθηκε ότι υπεύθυνη για την εμφάνιση του συνδρόμου ήταν μετάλλαξη σε γονίδιο που κατόπιν ονομάστηκε BRCA1, είναι

ογκοκατασταλτικό γονίδιο, εδράζεται στο χρωμόσωμα 17q21 και λειτουργεί σαν παράγοντας αντιγραφής. Οι γυναίκες φορείς του γονιδίου έχουν δια βίου 85% κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού, ιδιαίτερα αμφοτερόπλευρο και 40-50% κίνδυνο για καρκίνο των ωοθηκών. Υπάρχουν δύο «υποτύποι» μετάλλαξης και οι δύο με υψηλή διεισδυτικότητα, από τους οποίους ο ένας εμφανίζει μεγαλύτερο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού στον φορέα, ενώ ο άλλος για καρκίνο των ωοθηκών. Η μέση ηλικία των ασθενών με καρκίνο είναι μικρότερη από αυτή του γενικού πληθυσμού, οι όγκοι είναι κυρίως ανευπλοειδικοί και με υψηλό ποσοστό κυττάρων στην S-φάση, οι ασθενείς όμως περιέργως εμφανίζουν καλύτερη επιβίωση. Σε τελευταίες μελέτες υπάρχουν στοιχεία ότι οι οικογένειες με το σύνδρομο αυτό εμφανίζουν επίσης αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη και του κόλου, ο μικρός όμως αριθμός κρουσμάτων υποδεικνύει είτε ότι το μεταλλαγμένο γονίδιο έχει χαμηλή διεισδυτικότητα αναφορικά με τους συγκεκριμένους καρκίνους είτε ότι πρόκειται για περιορισμένο αριθμό ατόμων με ειδική μετάλλαξη. Μία παραλλαγή του συνδρόμου αφορά μετάλλαξη ενός άλλου ογκοκατασταλτικού γονιδίου που ονομάστηκε BRCA 2 και εδράζεται στο χρωμόσωμα 13, είναι δε υπεύθυνο περισσότερο για λοβιακούς παρά για πορογενείς καρκίνους του μαστού. Παρ'όλο που η μετάλλαξη του BRCA1 ενοχοποιείται για το 3-5% των καρκίνων του μαστού έχει διαπιστωθεί ότι από τις ασθενείς με μετάλλαξη το 85% θα εμφανίσουν καρκίνο του μαστού και στο γενικό πληθυσμό η πιθανότητα μετάλλαξης είναι 1 στις 600. Ο γενετικός έλεγχος θα μπορεί να εντοπίζει το περίπου 50% των γυναικών αυτών που είναι σε αυξημένο κίνδυνο ώστε να προειδοποιούνται και να αντιμετωπίζονται εφόσον το επιθυμούν σε αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή στην ενηλικίωση.

- **Σύνδρομο Li-Fraumeni:** Ονομάζεται και SBLA από τα αγγλικά αρχικά των νόσων που περιλαμβάνει και που είναι σαρκώματα μαλακών μορίων και οστών, όγκοι εγκεφάλου, λευχαιμίες, αδρενοκορτικοειδή καρκινώματα. Ο τρόπος μεταβίβασης είναι αυτοσωματικός επικρατώντας με διεισδυτικότητα εξαρτώμενη από την ηλικία που φτάνει το 90% στα 70 έτη. Το 30% των όγκων στις οικογένειες που πάσχουν από το σύνδρομο αυτό εμφανίζονται πριν από την ηλικία των 15 ετών, στα άρρενα μέλη σε λίγο μεγαλύτερες ηλικίες από τα θήλεα. Καρκίνος του μαστού εμφανίζεται συνήθως μεταξύ 22 και 45 ετών και είναι αμφοτερόπλευρος στο 25%. Υπεύθυνη για το σύνδρομο αυτό θεωρείται ότι είναι μετάλλαξη στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 κυρίως στην αλληλουχία 5 έως 9 των exons αλλά πιθανόν και σε άλλα σημεία του γονιδίου. Η συχνότητα του συνδρόμου υπολογίζεται στο 1% των περιστατικών εμφάνισης καρκίνου του μαστού πριν από την ηλικία των 40 ετών.
- **Σύνδρομο Cowden :** Ονομάζεται και σύνδρομο πολλαπλών αμαρτωμάτων. Τα πιο χαρακτηριστικά ευρήματα περιλαμβάνουν πολλαπλά τριχειλημώματα της προσωπικής χώρας, θηλωμάτωση των χειλέων και του βλεννογόνου του στόματος και κεράτωση των άκρων, καθώς επίσης και σπίλους και αγγειώματα. Καλόθεις παθήσεις σε άλλα όργανα αφορούν βρογχοκήλες, αδενώματα, πολύποδες του γαστρεντερικού σωλήνα, λειομύματα της μήτρας, λιπώματα και μη

κακοήθεις παθήσεις του μαστού όπως φιμπροαδενώματα, ινοκυστικά μορφώματα, πορογενείς επιθηλιακές υπερπλασίες και παραμορφώσεις της θηλαίας περιοχής. Στο σύνδρομο αυτό έχει αναφερθεί αυξημένη συχνότητα εμφάνισης πορογενούς καρκίνου του μαστού συχνά αμφοτερόπλευρου.

- *Σύνδρομο Muir* : Παραλλαγή του συνδρόμου Lynch τύπου II, περιλαμβάνει πολλαπλούς όγκους του δέρματος σε συνδυασμό με πολλαπλούς καλοήθεις και κακοήθεις όγκους του ανώτερου και κατώτερου γαστρεντερικού σωλήνα και του ουροποιογεννητικού συστήματος. Υπεύθυνη θεωρείται μετάλλαξη στις γονιδιακές περιοχές MLH1 και MSH2 (υπεύθυνες και για τον κληρονομικό μη πολυποειδή καρκίνο) που επηρεάζουν την ικανότητα των κυττάρων να επισκευάζουν το DNA που έχει υποστεί βλάβες και ο τρόπος κληρονομικότητας είναι αυτοσωματικός επικρατητικός με υψηλή διεισδυτικότητα. Υπάρχει αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού ιδιαίτερα μετά την εμμηνόπαυση.
- *Αταξία-τηλαγγειεκτασία* : Αποτελεί μιά αυτοσωματική υπολειπόμενα μεταβιβαζόμενη διαταραχή που χαρακτηρίζεται από παρεγκεφαλιδική αταξία, υπερευαίσθησία στην ακτινοβολία, τηλαγγειεκτασίες και αυξημένη επίπτωση κακοήθων νόσων όπως λεμφοκυτταρική λευχαιμία, non-Hodgkin λέμφωμα, καρκίνοι του μαστού, του ουρογεννητικού και του πεπτικού . Αιτία του συνδρόμου αποτελεί μετάλλαξη στο χρωμόσωμα 11q22 με αποτέλεσμα ευθραυστότητα και μειωμένη ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA. Οι ομοζυγώτες που εκδηλώνουν το σύνδρομο είναι αρκετά σπάνιοι ( 3 μέχρι 11 γεννήσεις στο εκατομμύριο), υπήρξε όμως τα τελευταία χρόνια αυξημένο ενδιαφέρον για τους ετεροζυγώτες που αντιστοιχούν στο 7% του γενικού πληθυσμού εξαιτίας μιάς μελέτης που ανέφερε ότι έχουν πενταπλάσια πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του μαστού και δεν θα πρέπει συνεπώς να υποβάλλονται σε μαστογραφία (που αποτελεί πηγή ιονίζουσας ακτινοβολίας). Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δεν επιβεβαιώθηκαν.
- *Μετάθεση του χρ.11 στο χρ.22* : Η μετάθεση μεταξύ του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 11 στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 22 είναι η πιο συχνά αναφερόμενη κληρονομούμενη «ζυγισμένη» μετάθεση που έχει καταγραφεί στον άνθρωπο και έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού. Νεοπλασίες που οφείλονται σε αλληλομετάθεση περιλαμβάνουν το ρετινοβλάστωμα, σαρκώματα σε συνδυασμό με νευροϊνωμάτωση και το καρκίνωμα νεφρικών κυττάρων.

Η κλινική πορεία των καρκίνων του μαστού που εμφανίζονται στα πλαίσια των προαναφερθέντων συνδρόμων είναι καλύτερη απ'ότι στον γενικό πληθυσμό με λιγότερες υποτροπές ιδιαίτερα σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες και αυξημένη συνολική επιβίωση.

*PBD (proliferative breast disease)*: Είναι όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει διάφορες καλοήθεις παθήσεις του μαστού που χαρακτηρίζονται ιστολογικά από υπερπλασία και κυτταρική ατυπία αλλά χωρίς ένδειξη διάσπασης της βασικής μεμβράνης και εισβολής άτυπων κυττάρων. Παρ'όλο που δεν έχει επιτευχθεί ακόμη ο ακριβής καθορισμός της οντότητας αυτής υπάρχουν στοιχεία που την ενοχοποιούν σαν μιά

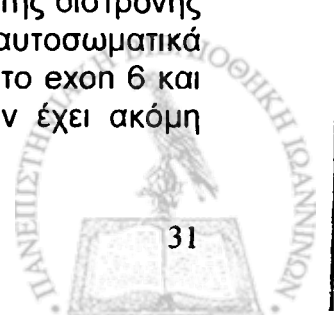
προκαρκινωματώδη κατάσταση. Έτσι το υπεύθυνο κύτταρο προέρχεται από την μονάδα πόρου-λοβίου και εμφανίζει μορφολογικές ομοιότητες με αυτό του μη-διηθητικού καρκίνου, ενώ ιστολογικά δείγματα της νόσου ανευρίσκονται συχνά σε δείγματα μαστεκτομών από ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Υπάρχουν μελέτες που υπολογίζουν ότι γυναίκες με PBD έχουν διπλάσιο μέχρι πενταπλάσιο κίνδυνο να νοσήσουν από καρκίνο του μαστού. Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η νόσος αυτή αποτελεί ένα ενδιάμεσο προ-κακόηθες στάδιο σε άτομα γενετικά επιβαρυνμένα για καρκίνο του μαστού χωρίς να μπορέσει να καθοριστεί συγκεκριμένο πρότυπο μεταβίβασης δεδομένης της χαμηλής διεισδυτικότητας στις γυναίκες και της μηδενικής στους άντρες.

*Οικογενής καρκίνος του μαστού στους άντρες* Αν η μελέτη του οικογενούς καρκίνου του μαστού στις γυναίκες καθίσταται δυσχερής από τον μεγάλο αριθμό των σποραδικών περιπτώσεων, στους άντρες η μελέτη αυτή είναι ακόμη πιο δύσκολη εξαιτίας της χαμηλής συχνότητας εμφάνισης της συγκεκριμένης νόσου. Παρ'όλα αυτά η πρώτη σχετική μελέτη χρονολογείται από το 1889. Τα συμπεράσματα στα οποία κατέληξε ήταν ότι πρόκειται όπως και στον γυναικείο οικογενή καρκίνο για μία ετερογενή ομάδα στην οποία εκτός από καρκίνο του μαστού υπάρχει ακόμη αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του οροφάρυγγα, ενώ στις γυναίκες συγγενείς εμφανίζονται αρκετά περιστατικά καρκίνου του μαστού και των ωθηκών. Άλλες μελέτες αναφέρουν ότι η μέση ηλικία εμφάνισης είναι τα 46 έτη (ενώ στον σποραδικό τα 57) και ο κίνδυνος εμφάνισης για ένα μέλος της οικογένειας αυξάνει αντιστρόφως ανάλογα με την ηλικία διάγνωσης του πάσχοντος συγγενούς. Το 1992 διατυπώθηκε η άποψη ότι υπεύθυνη για τη νόσο είναι μετάλλαξη στο γονίδιο το υπεύθυνο για τον υποδοχέα του ανδρογόνου. Φαίνεται λοιπόν ότι παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου του μαστού στους άντρες είναι ο διαταραγμένος ορμονικός μεταβολισμός. Υπάρχει πιθανόν και σύνδεση του καρκίνου αυτού και με μετάλλαξη του γονιδίου BRCA1, η διεισδυτικότητά του όμως είναι εξαιρετικά χαμηλή.

### **Γ. ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΟΡΜΟΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

Πειραματικές, κλινικές και επιδημιολογικές έρευνες υποδεικνύουν ότι οι ορμόνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αιτιολογία του καρκίνου του μαστού. Οι παράγοντες κινδύνου αφορούν άμεσα την συσσωρευόμενη έκθεση του μαστού στα οιστρογόνα και πιθανώς και στην προγεστερόνη. Οι ωθητικές ορμόνες, καθώς και τα αντισυλληπτικά και η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης επηρεάζουν τον ρυθμό της κυτταρικής διαίρεσης. Αυτό σημαίνει ότι έτσι, είτε διευκολύνουν την μονιμοποίηση των γενετικών λαθών από απώλεια της ετεροζυγωτίας, είτε οδηγούν σε μεταλλάξεις από βλάβες στα ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA, είτε επιταχύνουν την δημιουργία του κακοήθους φαινότυπου από μεταλλάξεις στα ογκοκατασταλτικά γονίδια.

Τα γονίδια που ρυθμίζουν τον μεταβολισμό της οιστραδιόλης (17 HSD) υπάρχουν σε τουλάχιστον δύο μορφές στον μαζικό αδένα (τύποι I και II), ένας από τους οποίους φαίνεται να καταλύει την μετατροπή της οιστρόνης σε οιστραδιόλη. Ο τύπος II αποκωδικοποιείται από δύο αυτοσωματικά αλληλία και έχει μελετηθεί σχέση μεταξύ πολυμορφισμών στο exon 6 και ανάπτυξης καρκίνου του μαστού, ενώ για τον τύπο I δεν έχει ακόμη



διευκρινηστεί αν είναι ανεξάρτητο ή «ψευδογονίδιο». Το δεύτερο σημαντικό γονίδιο που εμπλέκεται στον ορμονικό μεταβολισμό είναι αυτό του οιστρογονικού υποδοχέα. Είναι μεγάλο γονίδιο (μήκος 140 kb) και έχουν περιγραφεί διάφοροι πολυμορφισμοί και μεταλλάξεις με λειτουργική σημασία που δεν έχει μελετηθεί πλήρως.

Σήμερα γίνονται προσπάθειες πρόληψης του καρκίνου του μαστού οι οποίες εστιάζονται στην ελάττωση της έκθεσης του μαστού σε ορμόνες κατά τη διάρκεια της ζωής.

*Μοντέλο ημερολογιακής ηλικίας του καρκίνου του μαστού* Το 1983 δημιουργήθηκε ένα μοντέλο επίπτωσης καρκίνου του μαστού που συνδυάζει όλους τους αναπαραγωγικούς και ενδοκρινικούς παράγοντες κινδύνου και παρέχει ειδικές για την ηλικία καμπύλες σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Βασίζεται στην κεντρική ιδέα ότι ο καρκίνος του μαστού δεν αυξάνει με την ημερολογιακή ηλικία αλλά με την ηλικία γήρανης του μαζικού ιστού στην δύναμη 4.5, η οποία είναι στενά σχετιζόμενη με τις κυτταροκινητικές ιδιότητες του αδένου που με τη σειρά τους σχετίζονται με την έκθεση στις ωοθηκικές ορμόνες. Όταν ο ιστός δεν υπόκειται σε κυτταρικό πολλαπλασιασμό, η ηλικία θεωρείται 0, ενώ όταν ο μιτωτικός ρυθμός είναι μέγιστος η ηλικία θεωρείται 1. Πρακτικά στην εμμηναρχή η ηλικία είναι 1 ενώ στα 40 αρχίζει η βαθμιαία πτώση μέχρι τον τελευταίο εμμηνορυσιακό κύκλο, μετά από τον οποίο θεωρείται ότι μηδενίζεται.

## **ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΟΡΜΟΝΕΣ**

### ***Οιστρογόνα***

Η συσχέτιση του καρκίνου με την κυκλική ωοθηκική έκκριση που έχει καταδειχτεί και πειραματικά, υποδεικνύει την σημασία της στην παθογένεση του καρκίνου του μαστού. Σε πειραματόζωα η χορήγηση οιστραδιόλης και σε μερικές περιπτώσεις οιστριόλης αυξάνει την επίπτωση των όγκων του μαστού. Η ακριβής εκτίμηση των συσχετίσεων δυσχεραίνεται από τεχνικές δυσκολίες ποσοτικής μέτρησης των οιστρογόνων στο αίμα, καθώς και από το ότι δεν υπάρχει συμφωνία στις μελέτες μεταξύ των μεθόδων που χρησιμοποιούνται, της ημέρας του κύκλου που γίνονται οι μετρήσεις και των ηλικιών των ασθενών. Παρ' όλα αυτά τα αυξημένα επίπεδα οιστρογόνων φαίνεται να σχετίζονται με όγκους μεγαλύτερου μεγέθους και συγχρόνως καθυστερημένη ανταπόκριση στην χημειοθεραπευτική αγωγή, ενώ η ωοθηκική ή η χορήγηση αντιοιστρογόνου έχει το αντίθετο αποτέλεσμα. Αντίστροφα παρατηρείται αύξηση περίπου κατά 30% των επιπέδων της οιστραδιόλης στον καρκίνο του μαστού και ιδιαίτερα των βιοδιαθέσιμων κλασμάτων (των μη συνδεδεμένων με αλβουμίνη) τα οποία φαίνεται ότι επηρεάζονται από παράγοντες ανεξάρτητους από την συγκέντρωση της SHBG που είναι συνήθως ελαττωμένη. Επίσης έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα οιστραδιόλης σε άτεκνες γυναίκες, καθώς και διαφορετικές τιμές ανάλογα με το γεωγραφικό επίπεδο.

Τα τελευταία χρόνια υπήρξε αυξημένο ενδιαφέρον για τα διαιτητικά φυτοοιστρογόνα και οργανοχλωρικές ενώσεις, αν λόγω της οιστρογονικής τους δράσης (που είναι βέβαια μικρή) οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του μαστού. Φαίνεται ότι υπάρχουν δύο διαφορετικές μεταβολικές οδοί της οιστραδιόλης, η 16 και η 2 υδροξυλίωση από τις οποίες μόνο το

προϊόν της πρώτης είναι δυνητικό οιστρογόνο και έχει παρατηρηθεί σε αυξημένη έκταση σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Ίσως λοιπόν κάποιες παραλλαγές στις μεταβολικές οδούς να επηρεάζουν τα αποτελέσματα των φυτοοιστρογόνων.

### **Προγεστερόνη**

Υπάρχουν αρκετά στοιχεία ότι αυξημένα επίπεδα της προγεστερόνης, εμπλέκονται στην παθογένεση του καρκίνου του μαστού. Η μιτωτική δραστηριότητα του επιθηλίου του μαζικού αδένος ποικίλει στην διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου και μεγιστοποιείται αργά στην ωχρινική φάση, γεγονός που υποδεικνύει ότι η προγεστερόνη τουλάχιστον με την παρουσία οιστρογόνου προάγει την μίτωση του επιθηλίου. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σε αντίθεση με την δράση της στο ενδομήτριο, όπου η μέγιστη μιτωτική δραστηριότητα σημειώνεται στην από οιστρογόνα ρυθμιζόμενη θυλακιώδη φάση του κύκλου, συμφωνεί όμως με τα πειραματικά δεδομένα ότι η προγεστερόνη προάγει την ανάπτυξη των πόρων στο μαζικό αδένος. Επίσης είναι σε συμφωνία με την παρατήρηση ότι οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού έχουν συντομότερους σε διάρκεια εμμηνορρυσιακούς κύκλους, γεγονός που συνεπάγεται παραμονή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στην ωχρινική φάση με τα υψηλά επίπεδα προγεστερόνης.

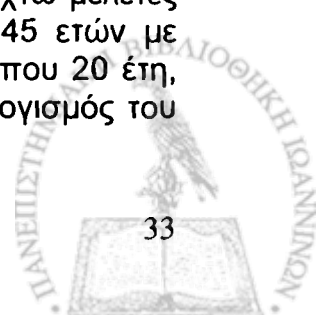
Από την άλλη πλευρά σε κλινικές μελέτες όπου προσδιορίστηκαν επίπεδα προγεστερόνης ή του μεταβολίτη της, πρεγνανδιόλης στα ούρα σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, βρέθηκαν χαμηλότερα επίπεδα σε αυτές με καρκίνο του μαστού, γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πιθανόν πρώιμα στην κλινική πορεία του καρκίνου του μαστού διακόπτεται η ρυθμικότητα του κύκλου. Επίσης σε γυναίκες με ανεπάρκεια της προγεστερόνης βρέθηκε παραδόξως αυξημένη επίπτωση καρκίνου του μαστού. Τα αντιφατικά αυτά αποτελέσματα δεν είναι ιδιαίτερα διαφωτιστικά για τον ρόλο της προγεστερόνης και απαιτούνται περισσότερες μελέτες ιδιαίτερα σε γυναίκες που λαμβάνουν μεθοξυπρογεστερόνη σαν αντισύλληψη ή ορμονική θεραπεία.

## **ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΟΡΜΟΝΕΣ**

### **Από του στόματος αντισυλληπτικά**

Υπάρχουν αρκετές μελέτες για την πιθανή σχέση μεταξύ της λήψης αντισυλληπτικών και τον πιθανό κίνδυνο από καρκίνο του μαστού των οποίων όμως τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα και το μόνο συμπέρασμα στο οποίο με βεβαιότητα οδηγούν είναι ότι η δράση τους δεν είναι προστατευτική. Λίγες είναι οι μελέτες για την χρήση των αντισυλληπτικών στην περιεμμηνοπαυσιακή περίοδο. Γενικά βρίσκεται κάποια θετική συσχέτιση με τον καρκίνο του μαστού, όχι όμως στατιστικά σημαντική, γεγονός λογικό αν σκεφτεί κανείς ότι παρέχουν αυξημένη ορμονική έκθεση και μάλιστα παρόμοια με αυτή ενός κανονικού κύκλου σε χρονική φάση όπου αυτή θα έπρεπε να είναι ελαττωμένη.

Μιά άλλη κατηγορία μελετών αφορά τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε νεαρές γυναίκες μετά από μακροχρόνια χρήση. Οχτώ μελέτες που έγιναν την δεκαετία του 1980 σε γυναίκες κάτω των 45 ετών με ιστορικό λήψης από του στόματος αντισυλληπτικών επί περίπου 20 έτη, έδειξαν (εκτός από μία στην οποία δεν ήταν δυνατός ο υπολογισμός του





ανά έτος κινδύνου) ότι υπάρχει μία αύξηση κατά έτος του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του μαστού κατά 3% περίπου στις γυναίκες αυτές. Για τη χρήση πριν από την πρώτη κύηση η αύξηση είναι περίπου 3.8% ανά έτος.

Μελέτες σχετικά με την λήψη από του στόματος αντισυλληπτικών σε ομάδες υψηλού κινδύνου δεν κατέληξαν επίσης σε ξεκάθαρα συμπεράσματα. Έτσι διαπιστώθηκε αυξημένος κίνδυνος για τις γυναίκες με αδερφές με καρκίνο του μαστού, αλλά όχι για αυτές με μητέρες που εμφάνισαν την ίδια νόσο. Καμμία επιβάρυνση τέλος δεν διαπιστώθηκε για γυναίκες που έπασχαν από καλοήγη νόσο του μαστού.

### **Ενέσιμα αντισυλληπτικά**

Από τα μέσα της δεκαετίας του 1960 ξεκίνησε σε περιορισμένη κλίμακα η χρήση της DMPA (depot methoxyprogesterone acetate), μιάς προγεστερόνης παρατεταμένης δράσης σε ενέσιμη μορφή. Σε κάποιες μελέτες διαπιστώθηκε αυξημένος κίνδυνος καρκίνου του μαστού ιδιαίτερα σε γυναίκες με χρήση του αντισυλληπτικού αυτού για 2 έως 5 έτη πριν από την ηλικία των 25 ετών, σε κάποιες άλλες όχι. Εφόσον τα οιστρογόνα έχουν ενοχοποιηθεί για την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού, θα μπορούσε κάποιος να περιμένει ότι το DMPA θα ελάττωνε τον κίνδυνο αφού προλαμβάνει την ωορρηξία ενώ συγχρόνως δεν περιλαμβάνει έκθεση σε εξωγενή οιστρογόνα και τα μετρήσιμα επίπεδα οιστραδιόλης μετά την χορήγησή του είναι αισθητά χαμηλότερα από εκείνα μιάς φυσιολογικής θυλακιώδους φάσης. Παρόλα αυτά δεν έχει διαπιστωθεί προστατευτική δράση του συγκεκριμένου φαρμάκου ίσως γιατί η προγεστερόνη ή η προγεστίνη παίζουν κάποιο ρόλο στην διέγερση των κυττάρων του μαζικού αδένου.

### **Ορμονική θεραπεία υποκατάστασης (HRT)**

Οι περισσότερες μελέτες για το θέμα της χορήγησης HRT σε γυναίκες που βρίσκονται στην περίοδο της εμμηνόπαυσης έχουν γίνει στις ΗΠΑ με χρήση οιστρογόνων σε δόση 0,625 mg/d για 25 ημέρες σε συνδυασμό με προγεστερόνη 10mg/d για τις ημέρες 14-25. Η έκθεση των γυναικών σε αυτές τις ορμόνες αυξάνεται έτσι κατά πολύ απ'ότι φυσιολογικά συμβαίνει σ' αυτή την χρονική περίοδο. Τα αποτελέσματα των μελετών δεν συμφωνούν απόλυτα, δείχνουν πάντως ότι η χρήση HRT ιδιαίτερα σε υψηλές δόσεις ή για μεγάλα χρονικά διαστήματα, αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού κατά 2.2% ανά έτος χρήσης, μπορεί όμως ακόμη και αυτό το ποσοστό να είναι κατώτερο του πραγματικού κινδύνου γιατί η εφαρμογή της συγκεκριμένης αγωγής αφορά κυρίως γυναίκες με πρόωρη εμμηνόπαυση που αποτελεί προστατευτικό, όπως αναφέρθηκε, παράγοντα. Αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται ιδιαίτερα υπόψη σε γυναίκες με ήδη αυξημένο κίνδυνο λόγω επιβαρυσμένου οικογενειακού ιστορικού όπως έδειξε και μία σχετική μελέτη. Τέλος φαίνεται ότι η χορήγηση οιστρογόνων μόνο απ'ότι συνδυασμού οιστρογόνων προγεστερόνης είναι καλύτερη γιατί φαίνεται ότι η προγεστερόνη ενισχύει την καρκινογόνο επίδραση των οιστρογόνων στο μαστό.

### **Δ. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**



Η μεγάλη ποικιλία της επίπτωσης του καρκίνου του μαστού σε γεωγραφική κλίμακα και το φαινόμενο που παρατηρείται στους μετανάστες να προσαρμόζεται η συχνότητα σε αυτή της χώρας που διαμένουν, δηλώνει ότι παράγοντες σχετικοί με τον τρόπο ζωής συνδέονται άμεσα με την αιτιολογία της νόσου.

### **Λίπος**

Υπάρχουν αρκετές μελέτες σε πειραματόζωα οι οποίες αναφέρουν ότι η αυξημένη κατανάλωση λίπους συνδέεται με αύξηση της επίπτωσης του καρκίνου του μαστού (σε κάποιες μάλιστα αναφέρεται σαν ανεξάρτητος παράγοντας), φαίνεται όμως ότι μάλλον η αυξημένη κατανάλωση ενέργειας που χαρακτηρίζει τις δίαιτες με αυξημένο λίπος παρά το λίπος αυτό καθ'εαυτό οδηγεί στην αύξηση της συχνότητας. Το περίεργο είναι ότι διατροφικές έρευνες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση λίπους τις τελευταίες δεκαετίες ακολουθεί φθίνουσα πορεία ενώ αντίθετα η συχνότητα του καρκίνου του μαστού συνεχώς αυξάνει. Επίσης μελέτες σε πληθυσμούς που για θρησκευτικούς λόγους δεν καταναλώνουν κρέας και άλλα ζωικά προϊόντα (που συνήθως περιέχουν και το υψηλότερο ποσοστό λίπους) έχουν μεν χαμηλή συχνότητα καρκίνου του κόλου αλλά η συχνότητα του καρκίνου του μαστού ελάχιστα διαφέρει από αυτή του γενικού πληθυσμού. Η πλειοψηφία πάντως των ερευνών δείχνει κάποια μικρή αλλά όχι σημαντική αύξηση του κινδύνου με την αύξηση του προσλαμβανόμενου με την τροφή λίπους. Υπάρχει η υπόθεση η οποία ακόμη δεν έχει επιβεβαιωθεί ότι πιθανόν η αυξημένη κατανάλωση λίπους στην παιδική ηλικία και στην εφηβεία οδηγεί σε αυξημένη επίπτωση καρκίνου του μαστού στην ενήλικη ζωή.

### **Φυτικές ίνες**

Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι δίαιτες υψηλές σε φυτικές ίνες πιθανόν να δρουν προστατευτικά στον καρκίνο του μαστού λόγω αναστολής της εντερικής επαναρρόφησης των οιστρογόνων που αποβάλλονται από το χοληφόρα. Οι έρευνες επιβεβαιώνουν γενικά την υπόθεση αυτή, χωρίς όμως να υπάρχει συμφωνία για το μέγεθος της προστατευτικής αυτής δράσης.

### **Βιταμίνες και Ιχνοστοιχεία**

**Βιταμίνη Α:** Περιλαμβάνονται η ρετινόλη, οι εστέρες της και κάποια καροτενοειδή που μετατρέπονται στο εντερικό επιθήλιο σε ρετινόλη. Οι ουσίες αυτές είναι αντιοξειδωτικές και παρέχουν έτσι κυτταρική άμυνα απέναντι στις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου που καταστρέφουν το DNA. Η βιταμίνη Α αποτελεί επίσης ρυθμιστή της κυτταρικής διαφοροποίησης και μπορεί να εμποδίσει την εμφάνιση κυττάρων με κακοήγη φαινότυπο. Οι μελέτες συγκλίνουν στο ότι ιδιαίτερα τα καροτενοειδή μπορεί να διαδραματίσουν προστατευτικό ρόλο στον καρκίνο του μαστού.

**Βιταμίνη Ε:** Επίσης αντιοξειδωτική ουσία, σε πειραματικό επίπεδο φάνηκε να αναστέλλει την ανάπτυξη όγκων στο μαστό, σε κλινικό όμως επίπεδο οι περισσότερες μελέτες δεν διαπιστώνουν κάποια ιδιαίτερη προστατευτική επίδραση σε καρκίνο του μαστού.

**Βιταμίνη C:** Το ασκορβικό οξύ όπως αλλιώς ονομάζεται αποτελεί μία ακόμη αντιοξειδωτική ουσία που μπορεί να παρεμποδίζει την διαμόρφωση



των καρκινογόνων νιτροζαμινών. Μετααναλύσεις δείχνουν προστατευτική επίδραση στον καρκίνο του μαστού η οποία μένει να διερευνηθεί περαιτέρω.

**Σελήνιο:** Το σελήνιο αποτελεί συστατικό του αντιοξειδωτικού ενζύμου glutathione peroxidase, αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και σε πειραματικό επίπεδο φάνηκε να δρά προστατευτικά εναντίον ορισμένων μορφών καρκίνου. Στον καρκίνο του μαστού τα (λίγα) δεδομένα που υπάρχουν συνηγορούν για την ύπαρξη της πιθανότητας όταν η λήψη σεληνίου πέφτει κάτω από κάποιο όριο να αυξάνεται ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου.

#### **Αλκοόλ-Καφεΐνη-Αντικαρκινογόνα φυτοχημικά**

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που αναφέρουν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε γυναίκες που καταναλώνουν αυξημένες ποσότητες αλκοόλ. Αυξημένη συχνότητα υπάρχει και στις περιπτώσεις που οι γυναίκες έπιναν πριν από την ηλικία των 30 ετών και μετά σταμάτησαν. Στην μελέτη του ο Reichman παρατήρησε ότι η κατανάλωση δύο αλκοολούχων ποτών την ημέρα αυξάνει τα επίπεδα των οιστρογόνων στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και πιθανόν αυτός είναι ο μηχανισμός που ευθύνεται για την εμφάνιση του καρκίνου.

Ο περιορισμός της καφεΐνης στη διαίτα σε γυναίκες με καλοήγη πάθηση του μαστού οδηγεί σε ανακούφιση από τα συμπτώματα, μέχρι σήμερα όμως δεν έχει τεκμηριωθεί στατιστικά κάποια συσχέτιση με τον καρκίνο του μαστού.

Σε κάποιες μελέτες έχουν αναφερθεί στοιχεία ότι πιθανόν κάποιες ουσίες, συγκεκριμένα τα ισοφλαβινοειδή, που περιέχονται σε φρούτα και λαχανικά και ιδιαίτερα στη σόγια, να δρουν προστατευτικά στον καρκίνο του μαστού λόγω της αντιοιστρογονικής τους δράσης και της δυνατότητάς τους να επιμηκύνουν την διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου.

#### **Ύψος-Δείκτης σωματικής μάζας**

Έχει διατυπωθεί μέτρια συσχέτιση μεταξύ του ύψους και του κινδύνου καρκίνου του μαστού, είναι δυσχερής όμως η εξαγωγή συμπερασμάτων γιατί συσχετίζεται με πολλούς παράγοντες, άλλους προστατευτικούς (καθυστερημένη ηλικία εμμηναρχής) και άλλους επιβαρυντικούς (υψηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, μεγάλη ηλικία τεκνοποίησης).

Όσον αφορά το βάρος και το δείκτη σωματικής μάζας, η αύξησή τους θεωρείται παράγοντας κινδύνου. Η αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη κατά τη φάση της ανάπτυξης οδηγεί σε αύξηση της μάζας του μαζικού αδένα που συνεπάγεται και σχετική αύξηση του κινδύνου. Μετά την ηλικία των 60 ετών πάντως αύξηση κατά 10 κιλά του σωματικού βάρους συνεπάγεται αύξηση κατά 80% του κινδύνου καρκίνου του μαστού. Πιθανόν η επίδραση αυτή να οφείλεται σε αύξηση του σωματικού λίπους μιά και μετά την εμμηνόπαυση η κύρια πηγή οιστρογόνων είναι η στον υποδόριο ιστό μετατροπή των επινεφριδιακών ανδρογόνων σε οιστρόνη.

### **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**

#### **Ογκογονίδια**

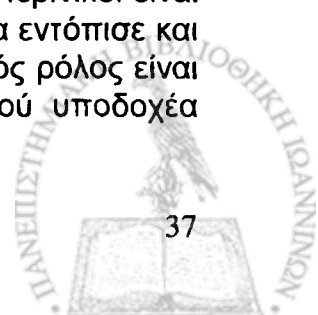


Οι πιο συχνές γενετικές ανωμαλίες που οδηγούν στην ανάπτυξη τόσο του σποραδικού όσο και του οικογενούς καρκίνου του μαστού φαίνεται ότι είναι απώλειες της ετεροζυγωτίας (loss of heterozygosity-LOH) σε πολλαπλές θέσεις, η οποία όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως αποκαλύπτει τις λειτουργικές συνέπειες της μετάλλαξης σε ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο με «απομάκρυνση» του κυρίαρχου φυσιολογικού αλληλίου. Σήμερα η LOH στις περιοχές 13q, 9p και 16q έχει αναγνωριστεί στα γονίδια P53, BRCA1 και 2, RB-1, CDKN2 (που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p16) και το CDH1 (που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη E-καθερίνη). Τα RB-1 και CDKN2 ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο, ενώ το CDH1 την διαφοροποίηση. Άλλα ογκοκατασταλτικά γονίδια που πιθανόν εμπλέκονται στην εξελικτική διαδικασία του καρκίνου έχουν εντοπιστεί στις θέσεις 6q, 7q, 11p, 11q, 15q, 17q, 20 και 22. Είναι αξιοσημείωτο ότι τροποποίηση του DNA μπορεί να οδηγήσει σε απενεργοποίηση του ενός αλληλίου πριν την απώλεια της ετεροζυγωτίας του άλλου. Για παράδειγμα, παρόλο που η σημειακή μετάλλαξη είναι πιο συχνή για τα P53 και Rb, η μεθυλίωση του γονιδίου είναι πιο συχνή για τα CDKN2 και CDH1. Σε μερικές περιπτώσεις, περιοχές που περιέχουν ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι πιο ευένδοτες στην πλήρη απώλεια ή διαγραφή και των δύο αλληλίων. Κάποια ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως π.χ. αυτό που αποκωδικοποιεί την p27 ρυθμιστική του κύκλου πρωτεΐνη, έχουν το χαρακτηριστικό της απλοειδούς ανεπάρκειας όπου ένα απλό αντίγραφο του γονιδίου δεν είναι αρκετό για να καταστείλει τον καρκίνο. Για τον τύπο αυτόν ογκοκατασταλτικού γονιδίου, η μετάλλαξη, διαγραφή ή LOH δεν είναι συνήθεις.

Ο δεύτερος πιο συνηθισμένος τύπος γενετικής παραλλαγής στον καρκίνο του μαστού είναι η γονιδιακή μεγέθυνση. Το αρχικό βήμα φαίνεται να είναι η διαμόρφωση εξωχρωματοσωμικών αυτοαναπαραγόμενων μονάδων τα οποία κατόπιν ενσωματώνονται μόνιμα στις χρωμοσωματικές περιοχές και δημιουργούν γενετικές μονάδες μεγαλύτερου μεγέθους. Τέτοια ογκογονίδια είναι τα c-erb-2 (υποδοχέας παράγοντα ανάπτυξης), c-MYC (πυρηνικός παράγοντας αντιγραφής) και το CCND1 (ρυθμιστική κινάση του κυτταρικού κύκλου).

### **Ορμονικοί υποδοχείς**

Οι οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς είναι διμερείς ρυθμιστικές πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε πολλαπλές παθολογίες του μαζικού αδένου. Η βασική λειτουργία των οιστρογόνων και της προγεστερόνης στο μαστό είναι να κατευθύνουν την επιθηλιακή του ανάπτυξη και διαφοροποίηση. Παρόλο που τα στεροειδή θεωρούνται πρωταρχικής σημασίας για όγκους της αναπαραγωγικής περιόδου, η τοπική αρωματοποίηση των επινεφριδιακών ανδρογόνων παρέχει οιστρογόνα και στην μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο. Και τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη δρουν μέσω των πυρηνικών τους υποδοχέων για να ρυθμίσουν την αντιγραφή γονιδίων. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τους υποδοχείς κάθε τάξης στεροειδών είναι μέλη μίας μεγάλης οικογένειας ρυθμιστικών αντιγραφής παραγόντων. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς μπορεί να υπάρχουν σε ομοδιμερείς ή ετεροδιμερείς μορφές αποτελούμενες από α και β υποδοχείς, ενώ αντίθετα οι προγεστερονικοί είναι πάντα ετεροδιμερείς πρωτεΐνες. Έρευνα σε επιμέρους συστήματα εντόπισε και κάποιες συμπληρωματικές υπομονάδες των οποίων ο βιολογικός ρόλος είναι ακόμη υπό έρευνα. Κάθε στοιχειακή μονάδα του στεροειδικού υποδοχέα



συνδέεται με άλλες πρωτεΐνες συμπεριλαμβανομένων και των heat shock proteins, λειτουργία που αποσκοπεί στην ρύθμιση της κετυλίωσης και αποακετυλίωσης των ιστονών. Η διαδικασία αυτή επιτρέπει την πλήρη πρόσβαση του DNA στους ορμονικούς υποδοχείς μέσω ενός δακτυλίου ψευδαργύρου και την δημιουργία σταθερού συμπλέγματος που διευκολύνει την αντιγραφή. Είναι ενδιαφέρον ότι και η ρυθμιστική του κυτταρικού κύκλου κυκλίνη D1 επίσης αντιδρά με τον οιστρογονικό υποδοχέα ώστε να προάγει την δραστηριότητα της αντιγραφής.

Κάθε υποδοχέας χαρακτηρίζεται από εξαιρετική ευελιξία και μπορεί να μεταβάλλει την διαμόρφωσή του ώστε να μπορεί να επιτελέσει τις λειτουργίες του. Επίσης αναπτυξιακοί παράγοντες (όπως ο EGF) και ορμόνες μέσω φωσφορυλίωσης μπορούν να ρυθμίσουν άμεσα την λειτουργία των υποδοχέων. Είναι σημαντική η διαπίστωση ότι υπάρχει διαπλοκή μεταξύ των κυτταρικών οδών ανάπτυξης και ορμονικής ρύθμισης στις οποίες βασικό ρόλο διαδραματίζουν πυρηνικές πρωτοογκοπρωτεΐνες και γενικά πρωτεΐνες ρυθμιστικές του κυτταρικού κύκλου όπως η κυκλίνη D, ενώ τα στεροειδή με τη σειρά τους ρυθμίζουν τα γονίδια τα υπεύθυνα για την έκφραση των πρωτεϊνών αυτών. Έτσι λοιπόν όταν καταργείται ο φυσιολογικός ορμονικός έλεγχος, οι παράγοντες ανάπτυξης είναι υπεύθυνοι για την έκφραση προοδευτικά κακοθέστερων φαινοτύπων.

Αν δεχτούμε ότι η ανάπτυξη καρκίνου στο μαστό ελέγχεται από τα οιστρογόνα, ο καθορισμός των κυτταρικών τους συγκεντρώσεων που σήμερα γίνεται σε ευρεία κλίμακα με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους, θα έπρεπε να καθορίζει την ομάδα των ασθενών με βελτιωμένη πρόγνωση αλλά και αυτή που θα ωφεληθεί από την αντιορμονική θεραπεία. Αυτό όμως δεν συμβαίνει πάντα. Παρ'όλο που πάνω από 60% των καρκίνων του μαστού είναι θετικοί για οιστρογονικούς υποδοχείς, ποσοστό μικρότερο από τα 2/3 των θετικών αυτών όγκων ανταποκρίνονται στην ενδοκρινική θεραπεία, ενώ από την άλλη 5 εως 10% των αρνητικών όγκων εμφανίζουν ανταπόκριση. Στην προσπάθεια βελτίωσης της προγνωστικής ικανότητας προστέθηκε και ο προσδιορισμός των υποδοχέων προγεστερόνης, η έκφραση της οποίας ρυθμίζεται θετικά σε πολλούς φυσιολογικούς και καρκινικούς ιστούς από τα οιστρογόνα. Δεν είναι γνωστό αν όσον αφορά το μαζικό αδένιο η ρύθμιση αυτή είναι ταυτόσημη στους κυτταρικούς υποπληθυσμούς των πόρων και των λοβίων. Είναι ενδιαφέρον ότι η ορμονική έκφραση παρουσιάζεται ισχυρότερη στους ορμονοεξαρτώμενους καρκίνους σε σχέση με το φυσιολογικό μαζικό αδένιο. Έτσι ενώ οι ER και PR θετικοί επιθηλιακοί πληθυσμοί δεν ανήκουν υπό φυσιολογικές συνθήκες στις πολλαπλασιαζόμενες ομάδες, σε περίπτωση καρκίνου τα κύτταρα αυτά αναπτύσσονται ταχύτατα. Το ίδιο συμβαίνει και στο φυσιολογικό επιθήλιο που περιβάλλει τον καρκινικό ιστό στο μαζικό αδένιο το οποίο αντιδρά με αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού στα οιστρογόνα.

Δεν είναι ξεκάθαρες ακόμη οι σχέσεις μεταξύ των θετικών (ER+) και αρνητικών (ER-) οιστρογονικών μορφών της νόσου. Κάποιοι αρνητικοί όγκοι δεν μεταγράφουν το ER mRNA λόγω εκτεταμένης μεθυλίωσης στο 5' άκρο του γονιδίου. Θεραπεία in vitro με azacytidine, έναν αναστολέα της μεθυλίωσης του γονιδίου καταλήγει στην έκφραση ER, οι μηχανισμοί αυτοί όμως δεν έχουν μελετηθεί ακόμη σε κλινικό επίπεδο. Ένας βασικός στρατηγικός στόχος στην θεραπεία του καρκίνου του μαστού σχετικά με τους υποδοχείς είναι η προσπάθεια διατήρησης της αντιορμονικής απάντησης στους ασθενείς. Σε μελέτες σχετικά με την αντίσταση στην ταμοξιφαίνη,

διαπιστώθηκε ότι ίσως οφείλεται σε κυτταρική υπερευαίσθητοποίηση στην ασθενή οιστρογονική δράση του φαρμάκου λόγω έκφρασης ρυθμιζόμενων από τους υποδοχείς πρωτεϊνών, μετάλλαξης των υποδοχέων ή εμφάνισης των λεγόμενων «ισομορφών» τους που προκύπτουν από απώλειες στα εxοn 2, 3, 4, 7 και η έκφρασή τους συνδέεται με άλλοτε άλλο ιστολογικό βαθμό και περιεχόμενο σε πρωτεΐνη (απώλεια στο εxοn 4= χαμηλός ιστολογικός βαθμός και υψηλό PR, απώλεια στα εxοn 2, 3, 7= υψηλός βαθμός και υψηλό ER).

Παρ'όλο που η μέτρηση του PR βελτιώνει την προβλεψιμότητα της ορμονοεξάρτησης του όγκου, η σχέση αυτή παραμένει ατελής. Κλινικές μελέτες δείχνουν ότι μεταξύ των ER+ όγκων, μόνο το 70% είναι επίσης PR+ και το 25-30% των PR- ανταποκρίνονται στην ορμονική θεραπεία. Οι λόγοι είναι αδιευκρίνηστοι αλλά μπορεί να περιλαμβάνουν εργαστηριακά σφάλματα, διαφορετικό μεταβολισμό της ταμοξιφαίνης, την ικανότητα μεταλλαγμένου ER ή PR να ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση και τέλος την δυνατότητα των ελαττωματικών ή φωσφορυλιωμένων υποδοχέων να προάγουν την σύνθεση πρωτεϊνών που φυσιολογικά ρυθμίζονται από άλλους παράγοντες.

Αυξημένη έκφραση κυτταρικών ενζύμων που περιλαμβάνονται στην ομάδα της κινάσης C εμπλέκονται στην δημιουργία κακοήθους φαινοτύπου μέσω αρνητικής ρύθμισης του ER mRNA και πιθανόν ευθύνονται για την αντίσταση στη θεραπεία που εμφανίζεται σε ER+ όγκους.

### **Αυτοκρινικοί και παρακρινικοί αυξητικοί παράγοντες**

Την τελευταία δεκαετία υπάρχει αυξημένο ερευνητικό ενδιαφέρον για τους μηχανισμούς δράσης των οιστρογόνων και της προγεστερόνης σε ιστικό επίπεδο η οποία ρυθμίζεται από ένα πολυπαραγοντικό σύστημα που απαρτίζεται από πολυπεπτιδικές ορμόνες με τοπική δραστηριότητα που αποκαλούνται αυξητικοί παράγοντες, το επίπεδο της κυτταρικής διαφοροποίησης, τις διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις και προσκολλήσεις καθώς και παράγοντες του πλάσματος. Καθοριστικό ρόλο στο σύστημα αυτό διαδραματίζουν οι αυξητικοί παράγοντες που θεωρείται ότι δρουν σε τέσσερα επίπεδα :

- Αλληλεπιδρούν με ελαττωματικά ή υπερεκφραζόμενα ρυθμιστικά ανάπτυξης γονίδια (ογκογονίδια ή πρωτοογκογονίδια).
- Με την θετική αυξητική τους δράση σε κακοήθη ή δυνητικά κακοήθη κύτταρα ενισχύουν την κακοήθη εξέλιξη σε παρακείμενα κύτταρα του όγκου τα οποία επωφελούνται από τον προστιθέμενο πολλαπλασιασμό.
- Μεγεθύνουν τις παθολογικές αλληλεπιδράσεις όγκου-ξενιστή με αποτέλεσμα στρωματοεπιθηλιακή ενίσχυση της οιστρογονικής προκαλούμενης ανάπτυξης, παρεκκίνουσα στρωματική σύνθεση κολλαγόνου (δεσμοπλασία) και αυξημένη αγγειακή σύνθεση και διήθηση, μηχανισμοί που οδηγούν τελικά σε μετάσταση του όγκου.
- Καταστέλλουν την ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή στον όγκο και περιορίζουν την ανταπόκριση του όγκου στην θεραπεία, χημειοθεραπευτική και αντιορμονική.

Το 1970 ταυτοποιήθηκαν οι πρώτοι αυξητικοί παράγοντες που ονομάστηκαν TGFs (transforming growth factors) λόγω της ικανότητάς τους να προάγουν την φαινοτυπική μεταμόρφωση (οριζόμενη ως άναρχη εστιακή ανάπτυξη των κυτταρικών μονοστιβάδων) σε ορισμένους ινοβλάστες τρωκτικών. Σήμερα γνωρίζουμε ότι πρόκειται για διάφορες οικογένειες πολυπεπτιδίων που



συνθέτονται και εκκρίνονται από κυτταρικές σειρές είτε φυσιολογικές είτε μεταλλαγμένες (εξαιτίας ακτινοβολίας, ρετροϊών, χημικών παραγόντων ή ογκογονιδίων). Η δράση τους είναι αυτοκρινική (αυτο-ρυθμιστική), παρακρινική (ρυθμιστική παρακείμενων κυττάρων) και ενδοκρινική (ρυθμιστική απομακρυσμένων κυττάρων). Βρίσκονται σε στενή σχέση με τα οιστρογόνα και την προγεστερόνη, με αμφοτερόπλευρη παρεμβολή στις λειτουργίες τους. Οι αυξητικοί παράγοντες μάλιστα παρεμβαίνοντας στο επίπεδο της χρωματίνης μπορούν να τροποποιήσουν την λειτουργικότητα των ορμονικών υποδοχέων. Οι οικογένειες οι οποίες σήμερα έχουν αναγνωρισθεί είναι οι ακόλουθες :

\* EGF : Περιλαμβάνει πολυπεπτίδια μονής αλυσού με την ικανότητα να ανταγωνίζονται τον επιδερμιδικό αυξητικό παράγοντα (EGFR) στη σύνδεση με τον υποδοχέα του, να προάγουν τον διμερισμό του, να ενεργοποιούν τον υποδοχέα τυροσίνης-κινάσης, με τελικό αποτέλεσμα να προάγουν τον πολλαπλασιασμό ή την διαφοροποίηση. Οι παράγοντες αυτοί είναι οι TGF- $\alpha$ , οι παράγοντες δέσμευσης ηπαρίνης (AR-HbEGF), cripto-1,  $\beta$ -σελουλίνη, VGF(οι δύο τελευταίοι είναι και τα μόνα μέλη της ομάδας που δεν ανιχνεύονται στον καρκίνο του μαστού), καθώς και η χερεγκουλίνη- $\alpha$  και ο NDF που δεσμεύουν το ομόλογο του EGFR erbB-2 και τα πρόσφατα ταυτοποιηθέντα erb-3 και 4. Πιστεύεται ότι η ομάδα αυτή παίζει κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη του όγκου και στην αλληλεπίδρασή του με τον περιβάλλοντα ιστό του ξενιστή.

\* TGF- $\beta$  : Περιλαμβάνει τρία διαφορετικά γονιδιακά προϊόντα που έχουν ταυτοποιηθεί σε καρκίνο του μαστού και άλλους καρκίνους αλλά και σε φυσιολογικά επιθήλια. Παρ'όλο που το ένα παρουσιάζεται ανενεργό, τα άλλα δύο φαίνεται να είναι υπομονάδες υποδοχέα που παραλαμβάνουν διακυτταρικά σήματα μέσω ειδικής για κινάση σύνδεσης σερίνης-θρεονίνης, με πιθανή ρυθμιστική αναπαραγωγική λειτουργία, λειτουργία αναστολής ανάπτυξης με την μεσολάβηση των πρωτεϊνών ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου (CDK4 και p15), αλλά και λειτουργίες διαφοροποίησης μέσω διαφορετικών μεταβολικών οδών. Η υπερέκφραση πάντως της TGF- $\beta$  σε δείγματα βιοψιών καρκίνων του μαστού συνδέεται με αυξημένη κακοήθεια του όγκου και αυτό μάλλον οφείλεται στο ότι in vivo διαθέτει και δραστηριότητες ανοσοκαταστολής και αγγειογένεσης.

\* IGF(insuline like GF) 1και 2-PDFG-A,B(platelet derived GF)- FGF(fibroblast GF) : Κάθε μία από αυτές τις ομάδες συνδέεται με τους ειδικούς υποδοχείς κωδικοποίησης της τυροσίνης-κινάσης.

\* VEGF(vascular endothelial GF)-πλειοτροπίνη-HGF(hepatocyte GF)-Met : Κωδικοποιητές επίσης της τυροσίνης-κινάσης, διαφορετικοί όμως από την προηγούμενη κατηγορία.

\* MDGF-1(mammary-derived GF) : Θεωρείται ότι επίσης προάγει την τυροσινική φωσφορλίωση κάποιας κυτταρικής πρωτεΐνης και διεγείρει την παραγωγή κολλαγόνου και την ανάπτυξη του όγκου.

Οι αυξητικοί παράγοντες υπό φυσιολογικές συνθήκες ρυθμίζουν την επιθηλιακή ανάπτυξη και σε ιστικό επίπεδο τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων, αλλά και μεταξύ των κυττάρων και του υποστρώματος. Διαταραχή στην παραγωγή τους, είτε με τη μορφή της υπερπαραγωγής των αυξητικών, είτε με την μορφή της μειωμένης παραγωγής των ανασταλτικών παραγόντων, θεωρείται ότι εμπλέκεται στην μετατροπή των κυττάρων από φυσιολογικά σε κακοήγη. Σε πρώιμο επίπεδο πιστεύεται ότι απευαισθητοποιούν το επιθήλιο

στους ανασταλτικούς και το ευαισθητοποιούν στους διεγερτικούς παράγοντες ανάπτυξης, ενώ συγχρόνως υποστηρίζουν τη δράση των στεροειδών στο στρώμα. Σε μιά δεύτερη φάση της καρκινικής εξέλιξης, αποδιοργανώνουν την αρχιτεκτονική του στρώματος (δεσμοπλασία) και προάγουν την εναπόθεση του κολλαγόνου (οι MDFG-1, TGF-α και β), την αγγειογένεση( οι FGF και TGF-β) προκαλώντας συγχρόνως ανοσοκαταστολή (TGF-β). Το τελικό αποτέλεσμα είναι η τοπική διήθηση, η αγγειογένεση και η μετάσταση.

### **Μηχανισμοί διήθησης και μετάστασης**

Η διαδικασία της διήθησης και μετάστασης αποτελεί ένα ιδιαίτερα πολύπλοκο γεγονός. Ξεκινά με τα καρκινικά κύτταρα να διασπούν το όριο του όγκου, το παρέγχυμα του ξενιστή και τη βασική μεμβράνη, χρησιμοποιώντας ανάστροφους μηχανισμούς πρόσφυσης, πρωτεΐνες παραγόμενες από τα καρκινικά κύτταρα ή τα κύτταρα του στρώματος και κινητικότητα. Όταν επιτευχθεί η τοπική διήθηση, πρέπει να εισέλθουν στην αιματική και λεμφική κυκλοφορία, υπερνικώντας συγχρόνως τους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή. Παράλληλα στην περιοχή της μετάστασης πρέπει να ξεκινά και η διαδικασία της αγγειογένεσης η οποία επίσης απαιτεί ενδοθηλιακή μετανάστευση κυττάρων, διήθηση και πολλαπλασιασμό τους. Η ρύθμιση των φαινομένων αυτών φαίνεται πως επιτυγχάνεται μέσω πολύπλοκων κυτταρικών ανταποκρίσεων σε παρακρινικά σήματα.

Οι πιο συχνές ανατομικές περιοχές μετάστασης του καρκίνου του μαστού είναι οι λεμφαδένες, οι πνεύμονες, τα οστά, το ήπαρ και ο εγκέφαλος. Υπάρχουν ενδείξεις ότι μοριακά συμπλέγματα πρόσφυσης που προάγουν την εξαγγείωση ευθύνονται για τις «προτιμήσεις» σε συγκεκριμένες μεταστατικές εστίες και συγκεκριμένα η αββ4 ιντεγκρίνη για το ήπαρ, η οστική σιαλοπρωτεΐνη για τον σκελετό και κάποιες γλυκοζαμινογλυκάνες που διεγείρουν την παραγωγή αυτοκρινικών αυξητικών παραγόντων από τα καρκινικά κύτταρα. Τα παρεπόμενα των μεταστάσεων περιλαμβάνουν ανεπάρκειες οργάνων, αποφρακτικές συνδρομές και παρανεοπλασματικά σύνδρομα, οι θεραπευτικές παρεμβάσεις δε καταλήγουν πολύ συχνά σε λοιμώξεις απειλητικές για τη ζωή. Υπολογίζεται ότι στην χρονική φάση της διάγνωσης και εγχείρησης, το 38% περίπου των ασθενών εμφανίζουν λεμφαδενικές μεταστάσεις, ενώ το 7% απομακρυσμένες. Είναι πιθανό ένα μεγάλο μέρος των ασθενών τη στιγμή της διάγνωσης να εμφανίζει και μικρομεταστάσεις, των οποίων αν υπήρχε η δυνατότητα ανίχνευσης θα βελτίωνε την πρόγνωση αφού η έγκαιρη θεραπεία τους θα απέτρεπε την εξέλιξη τους σε μεταστατική νόσο.

Το μεταστατικό δυναμικό ενός όγκου είναι σε άμεση σχέση με μοριακά γεγονότα τα οποία είναι πιθανόν γονιδιακά καθοριζόμενα. Σήμερα μάλιστα πιστεύεται ότι τα ίδια γονίδια καθορίζουν την διήθηση και μετάσταση μέσω καταρρακτοειδών συστημάτων που με την σειρά τους ρυθμίζουν αρνητικά ή θετικά άλλα γονίδια. Αυτά που έχουν μέχρι σήμερα μελετηθεί είναι τα *ras*, *nm23* και *neu* (το ανάλογο των *c-erbB-2* και *Her-2*).

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως η αλληλουχία των γεγονότων που συμμετέχουν στην διαδικασία της μετάστασης είναι η ακόλουθη :

α) *Προσκόλληση* : Τα καρκινικά κύτταρα προσκολλώνται μεταξύ τους αλλά και με άλλα κύτταρα και με εξωκυτταρικές διάμεσες ουσίες μέσω τεσσάρων ομάδων κυτταρικών υποδοχέων μοριακών συμπλεγμάτων επιφανείας : (\*)τις ιντεγκρίνες, που ρυθμίζουν την σύνδεση του κυττάρου με εξωκυτταρικές πρωτεΐνες και την κυτταρική διαφοροποίηση, συνδέεται συχνά δε με επιθετική



μεταστατική συμπεριφορά (\*) ιμμουνογλομπουλίνες (οικογένεια CAM) που παίζουν ρόλο στις διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις. Υπό διερεύνηση ιδιαίτερα στον καρκίνο του μαστού είναι η πρωτεΐνη CD44 που διαθέτει ιδιότητες CAM και σε πειράματα έχει αποδειχτεί ότι η εμφύτευσή της σε κύτταρο οδηγεί σε απόκτηση μεταστατικού δυναμικού (\*) καθεδρίνες που ανήκουν κι αυτές στην οικογένεια των CAM, είναι όμως Ca-εξαρτώμενες και η έκφρασή τους συνδέεται με επιθηλιακή διαφοροποίηση και οι (\*) σελεκτίνες που πιστεύεται ότι επηρεάζουν την αιματογενή και λεμφογενή καρκινική διασπορά.

β) *Πρωτεολυτική διάσπαση της βασικής μεμβράνης* : Είναι ένα πολύ σημαντικό βήμα στην μεταστατική διαδικασία και καταλύεται από τις πρωτεϊνάσες, η ισορροπία των οποίων σε σχέση με τους αντίστοιχους αναστολείς φαίνεται να καθορίζει το μεταστατικό φαινότυπο και περιλαμβάνει τις ακόλουθες ομάδες : (\*) Pa (plasminogen activators) που μετατρέπουν το πλασμινογόνο σε πλασμίνη, ένα ένζυμο με ευρεία ειδικότητα υποστρώματος. Υψηλά επίπεδα του uPA έχουν συνδεθεί με επιδείνωση της κλινικής πορείας, το ίδιο όμως και τα υψηλά επίπεδα του αναστολέα του, πιθανόν λόγω σχηματισμού συμπλεγμάτων στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων που προστατεύουν τον παράγοντα από την αποδόμηση ή λόγω ανεξάρτητης ευνοϊκής επίδρασης στην αγγειογένεση. Ένας άλλος αναστολέας, η μασπίνη, θεωρείται ότι συνδέεται με μικρότερο μέγεθος όγκου και μεταστατικό δυναμικό (\*) οι μεταλλοπρωτεϊνάσες και ιδιαίτερα η στρωματομυελουσίνη-3 που πιστεύεται ότι προάγει τις λεμφαδενικές μεταστάσεις (\*) οι καθεψίνες και ιδιαίτερα η D με αμφιλεγόμενη επίδραση στην πρόγνωση και βιολογία όχι ακόμη πλήρως κατανοητή.

γ) *Κινητικότητα* : Για την ολοκλήρωση της διαδικασίας της διήθησης είναι απαραίτητη η μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων, με διέγερση πιθανόν από αυξητικούς παράγοντες και με διακυτταρική σηματοδότηση ρυθμιζόμενη από κυτοκίνες.

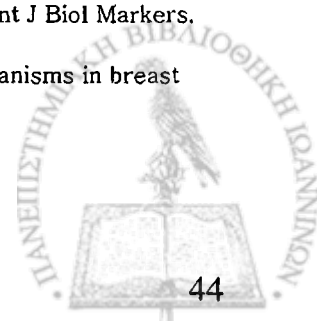
Όταν τα καρκινικά κύτταρα εγκατασταθούν στην μεταστατική εστία ξεκινά ο αποικισμός της υπό την επίδραση παρακρινικών αλλά και τοπικά παραγόμενων αυξητικών παραγόντων. Ο Kerbel διατύπωσε την άποψη ότι καθώς τα κύτταρα αποκτούν μεταστατικό δυναμικό τροποποιείται η παραγωγή αλλά και η ανταπόκρισή τους στους αυξητικούς παράγοντες με αποτέλεσμα την ανάπτυξη επιθετικότερου φαινότυπου. Μετά από πειράματα σε κυτταρικές σειρές τρωκτικών διατυπώθηκε η υπόθεση του κυρίαρχου κλώνου, σύμφωνα με την οποία μετά τις πρώτες εβδομάδες ανάπτυξης όπου οι πρωτογενείς όγκοι παρουσιάζουν πολλαπλούς κλώνους σε διαφορετικές χρωμοσωμικές περιοχές, κυριαρχούν ορισμένοι από αυτούς και οι ίδιοι απαρτίζουν και τις μεταστατικές εστίες. Σ' αυτές τα καρκινικά κύτταρα πρέπει πιά να επιβιώσουν σ'ένα ξένο περιβάλλον χωρίς τις διακυτταρικές επιδράσεις και τους αυξητικούς παράγοντες που υπάρχουν στο περιβάλλον του πρωτογενούς όγκου και φαίνεται να παρουσιάζουν υπερέχοντα χαρακτηριστικά και την ικανότητα να αναπτύσσονται υπό την επίδραση ευρέως κυκλοφορούντων κυτοκινών και ιδιαίτερα της TGF-β. Το περίεργο είναι ότι η συγκεκριμένη κυτοκίνη παρ'όλο που η δράση της είναι ανασταλτική της ανάπτυξης, φαίνεται να παράγεται από τους μη μεταστατικούς κλώνους και να διεγείρει την ανάπτυξη των κυρίαρχων μεταστατικών, σε ανοσοϊστοχημικές μελέτες δε ταυτοποιείται στις διηθητικές περιοχές του όγκου και στις λεμφαδενικές μεταστάσεις, in vivo προκαλεί αύξηση του μεταστατικού δυναμικού στους πνεύμονες, ενώ η υψηλή της έκφραση συνδέεται με

## επιβαρυνμένη επιβίωση. Ανάλογες μελέτες έχουν γίνει και για την ιντερλευκίνη-6.

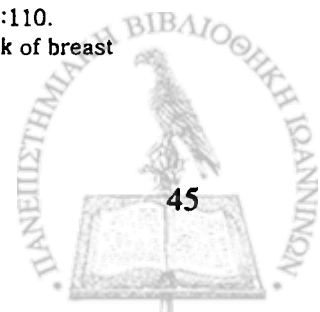
Η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) είναι ένας σημαντικός παράγοντας που εμπλέκεται στην ανάπτυξη της νόσου και στην επιβίωση. Η μελέτη που αναφέρεται στο κείμενο εξετάζει τον ρόλο της IL-6 στην επιβίωση των ασθενών με καρκίνο. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι υψηλότερα επίπεδα IL-6 είναι συνδεδασμένα με χειρότερη επιβίωση. Αυτή η σχέση παραμένει σταθερή και μετά την προσαρμογή για διάφορα κλινικά χαρακτηριστικά, όπως το στάδιο της νόσου, η ηλικία και η κατάσταση της υγείας. Η μελέτη υποδηλώνει ότι η IL-6 μπορεί να λειτουργήσει ως βιοδείκτης για την πρόγνωση της νόσου. Επιπλέον, η μελέτη υποστηρίζει την ιδέα ότι η IL-6 μπορεί να είναι ένας στόχος για τη θεραπεία. Η ανάπτυξη φαρμάκων που μειώνουν τα επίπεδα IL-6 μπορεί να βελτιώσει την επιβίωση των ασθενών. Η μελέτη αυτή είναι σημαντική για την κατανόηση της βιολογίας της νόσου και για την ανάπτυξη νέων θεραπειών. Τα αποτελέσματα της μελέτης έχουν σημαντικές κλινικές εφαρμογές. Η μελέτη αυτή είναι μέρος μιας σειράς από μελέτες που εξετάζουν τον ρόλο της IL-6 στην επιβίωση. Η μελέτη αυτή είναι σημαντική για την κατανόηση της βιολογίας της νόσου και για την ανάπτυξη νέων θεραπειών. Τα αποτελέσματα της μελέτης έχουν σημαντικές κλινικές εφαρμογές. Η μελέτη αυτή είναι μέρος μιας σειράς από μελέτες που εξετάζουν τον ρόλο της IL-6 στην επιβίωση. Η μελέτη αυτή είναι σημαντική για την κατανόηση της βιολογίας της νόσου και για την ανάπτυξη νέων θεραπειών. Τα αποτελέσματα της μελέτης έχουν σημαντικές κλινικές εφαρμογές.



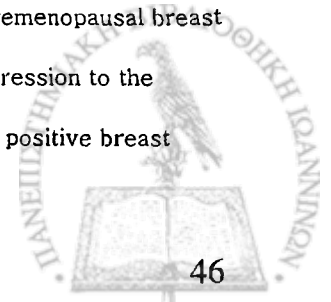
1. Aldercreutz H, Fotsis T, Hockerstedt K. Diet and urinary estrogen profile in premenopausal omnivorous and vegetarian women and premenopausal women with breast cancer. *J Steroid Biochem* 1989;34:527.
2. Allegra JC, Lippman ME. Estrogen receptor status and the disease-free interval in breast cancer. *Recent Results Cancer Res* 1980;71:20.
3. Anderson DE. An inherited form of large bowel cancer: Muir's syndrome. *Cancer* 1980;45[Suppl 15]:1103.
4. Armstrong K, Eiszen A, Weber B. Assessing the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2000;342:564.
5. Bellachene A, Merville MP, Castronovo V. Expression of bone sialoprotein, a bone matrix protein, in human breast cancer. *Cancer Res* 1994;54:2823.
6. Bernstein L, Pike MC, Ross RK. Estrogen and sex hormone-binding globulin levels in nulliparous and parous women. *J Natl Cancer Inst* 1985;74:741.
7. Bernstein JL, Thompson WD, Risch N. The genetic epidemiology of second primary breast cancer. *Am J Epidemiol* 1992;136:937.
8. Bernstein L, Ross L. Hormones and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:48.
9. Berkel H, Birdsell DC, Jenkins H. Breast augmentation: a risk factor for breast cancer? *N Engl J Med* 1992;326:1649.
10. Birch JM, Blair V, Kelsey AM. Cancer phenotype correlates with constitutional TP53 genotype in families with the Li-Fraumeni syndrome. *Oncogene*. 1998 Sep 3;17(9):1061-8.
11. Boice JD Jr, Harvey E, Blettner M. Cancer in the contralateral breast after radiotherapy for breast cancer. *N Engl J Med* 1992;326:781.
12. Boudreau N, Myers C. Breast cancer-induced angiogenesis: multiple mechanisms and the role of the microenvironment. *Breast Cancer Res*. 2003;5(3):140-6.
13. Brownstein M, Wolf M, Bikowski J. Cowden's disease: a cutaneous marker of breast cancer. *Cancer* 1978;41:2393.
14. Bruzzi P, Negri E, La Vecchia C. Short term increase in risk of breast cancer after full term pregnancy. *BMJ* 1988;47:757.
15. Brzezinski A, Peretz T, Mor-Yosef S. Ovarian stimulation and breast cancer: is there a link? *Gynecol Oncol* 1994;52:292.
16. Carter CL, Corle DK, Micozzi MS. A prospective study of the development of breast cancer in 16,692 women with benign breast disease. *Am J Epidemiol* 1988;128:467.
17. Cauley JA, Lucas FL, Kuller LH, et al. Elevated serum estradiol and testosterone concentrations are associated with a high risk for breast cancer. *Ann Intern Med* 1999;130:270.
18. Cho E, Spiegelman D, Hunter DJ. Premenopausal fat intake and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Jul 16;95(14):1079-85.
19. Cho E, Spiegelman D, Hunter DJ. Premenopausal intakes of vitamins A, C, and E, folate, and carotenoids, and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003 Aug;12(8):713-20.
20. Claus EB, Risch NJ, Thompson WD. Age at onset as an indicator of a familial risk of breast cancer. *Am J Epidemiol* 1990;131:961.
21. Claus EG, Risch N, Thompson WD. Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer: implications for risk prediction. *Cancer* 1994;73:643.
22. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53,297 women with breast cancer and 100,239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996;47:1713.
23. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet* 1997;350:1047.
24. Cornelis RS, Devilee P, Van Vliet M. Allele loss patterns on chromosome 17q in 109 breast carcinomas indicate at least two distinct target regions. *Oncogene* 1993;8:781.
25. Cortessis V, Ingles S, Millikan R. Linkage analysis of DRD2 a marker linked to the ataxia-telangiectasia gene in 64 families with premenopausal bilateral breast cancer. *Cancer Res* 1993;53:5083.
26. Cowdan LD, Gordis L, Tonascia JA. Breast cancer incidence in women with history of progesterone deficiency. *Am J Epidemiol* 1981;114:209.
27. Cropp Cs, Nevanlinna HA, Pyrhonen S. Evidence for involvement of BRCA1 in sporadic breast carcinomas. *Cancer Res* 1994;54:2548.
28. Cufer T, Borstnar S, Vrhovec I. Prognostic and predictive value of the urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitors PAI-1 and PAI-2 in operable breast cancer. *Int J Biol Markers*. 2003 Apr-Jun;18(2):106-15.
29. Daniel C, Silberstein GB. Local effects of growth factors. In : *Regulatory mechanisms in breast cancer*. Dickson RB, Lippman ME(eds). Boston, Kluwer, 1990:79



30. De Michele A, Weber BL. Inherited genetic factors. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, eds. *Diseases of the breast*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000:221.
31. Devilee P, Van Vliet M, Van Sloun P. Allelotype of human breast carcinoma: a
32. second major site for loss of heterozygosity is on chromosome 6q. *Oncogene* 1991;6:1705.
33. Dickson RB, Lippman ME. Estrogenic regulation of growth and polypeptide growth factor secretion in human breast carcinoma. *Endocr Rev* 1987;8:29
34. Dickson RB, Lippman ME. Control of human breast cancer by estrogen, growth factors and oncogenes. In: *Breast Cancer: Cellular and Molecular Biology*. Dickson RB, Lippman ME(eds). Boston, Kluwer, 1988:363
35. Dickson RB, Lippman ME. Growth regulation of normal and malignant breast epithelium. In: Bland KI, Kopeland EM, eds. *The breast*. Philadelphia, WB Saunders, 1991:363.
36. Dickson RB, Stancel G. Estrogen-mediated processes in normal and cancer cells. *J Natl Cancer Inst* 2000
37. Dickson RB, Russo J. Biochemical control of breast development. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, eds. *Diseases of the breast*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000:15.
38. Dorgan JF, Brown C, Barrett M. Physical activity and risk of breast cancer in the Framingham heart study. *Am J Epidemiol* 1994;139:662.
39. Dupont W, Page D. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med* 1985;312:146.
40. Easton DF, Ford D, Bishop DT. Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1 mutation carriers. *Lancet* 1994;343:692
41. Ekblom A, Trichopoulos D, Adami HO. Evidence of prenatal influences on breast cancer risk. *Lancet* 1992;340:1015.
42. Elledge RM, Fuqua SAW. Estrogen and progesterone receptors. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, eds. *Diseases of the breast*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000:471.
43. Ferguson AT, Lapidus RG, Baylin SB, Davidson NE. Demethylation of the estrogen receptor gene in estrogen receptor-negative breast cancer cells can reactivate estrogen receptor gene expression. *Cancer Res* 1995;55:2279.
44. Fidler IJ, Gersten DM, Hart IR. The biology of cancer invasion and metastasis. *Adv Cancer Res* 1978;28:149.
45. Foekens J, Schmitt M, Van Putten W. Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator in 671 primary breast cancer patients. *Cancer Res* 1992;52:6101.
46. Freudenheim J, Marshall J, Vena J, et al. Premenopausal breast cancer risk and intake of vegetables, fruits, and related nutrients. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:340.
47. Gapstur S, Potter J, Sellers T, et al. Increased risk of breast cancer with alcohol consumption in postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1992;136:1221.
48. Gerber B, Muller H, Reimer T. Nutrition and lifestyle factors on the risk of developing breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2003 May;79(2):265-76.
49. Gervais-Fagnou DD, Girouard C, Laperriere N, Pintillie M, Goss PE. Breast cancer in women following supradiaphragmatic irradiation for Hodgkin's disease. *Oncology* 1999;57:224.
50. Glass AG, Hoover RN. Rising incidence of breast cancer : relationship to stage and receptor status. *J Natl cancer Inst* 1990;82:693.
51. Golditz GA, Feskanich D, Chen WY. Physical activity and risk of breast cancer in premenopausal women. *Br J Cancer.* 2003 Sep 1;89(5):847-51.
52. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 2000;50:7.
53. Hall JM, Lee MK, Newman B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990;250:1684.
54. Hall N, Williams M, Murday V, et al. Muir-Torre syndrome: a variant of the cancer family syndrome. *J Med Genet* 1994;31:627.
55. Hancock SL, Tucker MA, Hoppe RT. Breast cancer after treatment of Hodgkin's disease. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:25.
56. Hankinson S, Colditz G, Manson J, et al. A prospective study of oral contraceptive use and risk of breast cancer (Nurses' Health Study, United States). *Cancer Causes Control* 1997;8:65.
57. Hauser AR, Lerner JJ, King RA. Familial male breast cancer. *Am J Med Genet* 1992;44:839.
58. Henderson BE, Ross RK, Judd HL. Do regular ovulatory cycles increase breast cancer risk? *Cancer* 1985;56:1206.
59. Hoskins KF, Stopfer JE, Calzone KA. Assessment and counselling for familial cancer risk: a guide for clinicians. *JAMA* 1995;273:577.
60. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, et al. Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. *JAMA* 1997;278:1407.
61. Hunter D, Willett W. Diet, body size, and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:110.
62. Hunter D, Spiegelman D, Adami H, et al. Cohort studies of fat intake and the risk of breast cancer--a pooled analysis. *N Engl J Med* 1996;334:356.



63. Ivanovic V, Todorovic-Rakovic N, Demajo M. Elevated plasma levels of transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) in patients with advanced breast cancer: association with disease progression. *Eur J Cancer* 2003 Mar;39(4):454-61.
64. Jacobsen BK, Lund E. Level of education, use of oral contraceptives and reproductive factors: the Tromso Study. *Int J Epidemiol* 1990;19:967.
65. Janerich DT, Hoff MB. Evidence for a crossover in breast cancer risk factors. *Am J Epidemiol* 1982;116:737.
66. John EM, Kelsey J. Radiation and other environmental exposures and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:157.
67. Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, et al. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science* 1995;270:1491.
68. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:233.
69. Kenney N, Smith G, Maroulakou I, et al. Detection of amphiregulin and Cripto-1 in mammary tumors from transgenic mice. *Mol Carcinog* 1996;15:44.
70. Kern FG. The role of angiogenesis in the transition to hormone independence and acquisition of the metastatic phenotype. In: Manni A, ed. *Endocrinology of breast cancer*. Totowa, NJ: Humana Press, 1999:169.
71. Knudsen AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;68:820.
72. Krieger N, Hiatt RA. Risk of breast cancer after benign breast diseases: variation by histologic type, degree of atypia, age at biopsy and length of follow-up. *Am J Epidemiol* 1992;135:619.
73. Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA. Breast cancer and serum organochlorides: a prospective study among white, black and Asian women. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:589.
74. Lakhani SR. The pathology of hereditary breast cancer. *Dis Markers*. 1999 Oct;15(1-3):113-4.
75. Lakhani SR, Gusterson BA, Jacquemier J. The pathology of familial breast cancer: histological features of cancers in families not attributable to mutations in BRCA1 or BRCA2. *Clin Cancer Res*. 2000 Mar;6(3):782-9.
76. Lalloo F, Varley J, Ellis D. Prediction of pathogenic mutations in patients with early-onset breast cancer by family history. *Lancet*. 2003 Mar 29;361(9363):1101-2.
77. Lee IM. Physical activity in women: how much is good enough? *JAMA*. 2003 Sep 10;290(10):1377-9.
78. Liaw D, Marsh DJ, Li J, et al. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nature Genet* 1997;16:64.
79. Li C, Malone KE, Porter PL. Reproductive and anthropometric factors in relation to the risk of lobular and ductal breast carcinoma among women 65-79 years of age. *Int J Cancer*. 2003 Nov 20;107(4):647-51.
80. Linblom A, Skoog L, Rotstein S. Loss of heterozygosity in familial breast carcinomas. *Cancer Res* 1993;53:4356.
81. Linblom A, Sandelin K, Iselius L. Predisposition for breast cancer in carriers of constitutional translocation 11q;22q. *Am J Hum Genet* 1994;54:871.
82. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991;64:327.
83. Lopez-Saez JB, Senra-Varela A, Pousa-Estevez L. Selenium in breast cancer. *Oncology*. 2003;64(3):227-31.
84. MacMahon B, Trichopoulos D, Brown J. Age at menarche, urine estrogens and breast cancer risk. *Int J Cancer* 1982;30:427.
85. Melbye M, Wohlfahrt J, Olsen J. Induced abortion and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1997;336:81.
86. McCune BK, Mullin BR, Flanders KC, et al. Localization of transforming growth factor-beta isoforms in lesions of the human breast. *Hum Pathol* 1992;23:13.
87. McDonald M, Steeg P. Molecular basis of tumor metastasis. *Cancer Surv* 1993;64:327
88. Middleton LP, Amin M, Gwyn K. Breast carcinoma in pregnant women: assessment of clinicopathologic and immunohistochemical features. *Cancer*. 2003 Sep 1;98(5):1055-60.
89. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA-1. *Science* 1994;266:66.
90. Miller BA, Feuer EJ, Hankey BF. Recent incidence trends for breast cancer in women and the relevance of early detection: an update. *CA Cancer J Clin* 1993;43:27.
91. Nasca PC, Baptiste MS, Field NA. An epidemiologic case-control study of breast cancer and exposure to hair dyes. *Ann Epidemiol* 1992;2:577.
92. Newcomb P, Storer B, Longnecker M, et al. Lactation and a reduced risk of premenopausal breast cancer. *N Engl J Med* 1994;330:81.
93. Nicolson GL. Breast cancer metastasis-associated genes: role in tumour progression to the metastatic state. *Biochem Soc Symp* 1996;63:231.
94. Paik S, Hartmann DP, Dickson RB, Lippman ME. Antiestrogen resistance in ER positive breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 1994;31:301.



95. Palmer JR, Rosenberg L. Cigarette smoking and the risk of breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15:145.
96. Parazzini F, La Vecchia C, Negri E. Spontaneous and induced abortions and risk of breast cancer. *Int J Cancer* 1991;48:816.
97. Parham DM, Jankowski J. Transforming growth factor alpha in epithelial proliferative diseases of the breast. *J Clin Pathol* 1992;45:513.
98. Pauli b, Augustin-Voss H, Eisabon M. Organ-preference of metastasis: the role of endothelial cell adhesion molecules. *Cancer Metastasis Rev* 1990;9:175.
99. Phillips KA, Glendon G, Knight J. Putting the risk of breast cancer in perspective. *N Engl J Med* 1999;340:141.
100. Pietras RJ. Interactions between estrogen and growth factor receptors in human breast cancers and the tumor-associated vasculature. *Breast Cancer Res* 2003 Sep-Oct;9(5):361-73.
101. Piva R, Gambari R, Zoratao F. Analysis of upstream sequences of the human estrogen receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;183:996.
102. Potten C, Watson R, Williams G. The effect of age and menstrual cycle upon proliferative activity of the normal human breast. *Br J Cancer* 1988;58:163.
103. Qi CF, Liscia DS, Normanno N, et al. Expression of transforming growth factor alpha, amphiregulin and Cripto-1 in human breast carcinomas. *Br J Cancer* 1994;69:903.
104. Richter WO. Fatty acids and breast cancer--is there a relationship? *Eur J Med Res*. 2003 Aug 20;8(8):373-80.
105. Russo IH. Cigarette smoking and risk of breast cancer in women. *Lancet*. 2002 Oct 5;360(9339):1033-4. Review.
106. Saftlas AF, Hoover RN, Brinton LA. Mammographic densities and risk of breast cancer. *Cancer* 1991;67:2833.
107. Salomon DS, Kidwell WR. Tumor associated growth factors in malignant rodent and human mammary epithelial cells. In: *Breast Cancer: Cellular and Molecular Biology*. Dickson RB, Lippman ME (eds). Boston, Kluwer, 1988:363
108. Schairer C, Lubin J, Troisi R, et al. Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA* 2000;283:485.
109. Sidransky D, Tolino t, Helzlsouer K. Inherited p53 gene mutations in breast cancer. *Cancer Res* 1992;52:2984.
110. Skolnick MH, Cannon-Albright LA, Goldgar DA. Inheritance of proliferative breast disease in breast cancer kindreds. *Science* 1990;250:1715.
111. Smyth PP. The thyroid, iodine and breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2003;5(5):235-8.
112. Stetler-Stevenson WG, Aznavoorian S, Liotta LA. Tumor cell interactions with the extracellular matrix during invasion and metastasis. *Annu Rev Cell Biol*, 1993;9:541.
113. Srivastava S, Zou ZQ, Pirolo K, Blattner W, Chang EH. Germ line transmission of a mutated p53 gene in a cancer-prone family with Li Fraumeni syndrome. *Nature* 1991;348:747.
114. Srivastava S, Tong YA, Devadas K. Detection of both mutant and wild-type p53 protein in normal skin fibroblasts and demonstration of a shared "second hit" on p43 in diverse tumors from a cancer-prone family with Li-Fraumeni syndrome. *Oncogene* 1992;7:987.
115. Stefanidis K, Navrozoglou L, Mouzakioti E, Al Mousa N, Lolis D, Kontostolis E. Breast cancer during pregnancy and lactation. *Eur J Gynaecol Oncol*. 1998;19(5):487-8.
116. Stracke M, Aznavoorian S, Beckner M. Cell motility, a principal requirement for metastasis. In: Goldberg ID, ed. *Cell motility factors*. Basel, Verlag 1991:147.
117. Strong LC, Williams WR, Tainsky MA. The Li-Fraumeni syndrome: from clinical epidemiology to molecular genetics. *Am J Epidemiol* 1992;135:190.
118. Suchard M, Landers JP, Sandhu NP, et al. Steroid hormone regulation of nuclear proto-oncogenes. *Endocr Rev* 1993;14:659
119. Suo Z, Risberg B, Karlsson MG. The expression of EGFR family ligands in breast carcinomas. *Int J Surg Pathol*. 2002 Apr;10(2):91-9.
120. Swift M, Reitnauer P, Morrell D, et al. Breast and other cancers in families with ataxia-telangiectasia. *N Engl J Med* 1987;316:1289.
121. Tandon AK, Clark GM, Chambiss GC. Cathepsin D and prognosis in breast cancer. *N Engl J Med* 1990;332:3904.
122. Terry PD, Rohan TE. Cigarette smoking and the risk of breast cancer in women: a review of the literature. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Oct;11(10 Pt 1):953-71. Review
123. Tetu B, Brisson J, Wang CS. Expression of cathepsin D, stromelysin-3, and urokinase by reactive stromal cells on breast carcinoma prognosis. *Cancer*. 2001 Dec 1;92(11):2957-64.
124. Thune I, Brenn T, Lund E, Gaard M. Physical activity and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1997;336:1269.
125. Trichopoulos D, Mc Mahon B, Cole P. The menopause and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 1972;48:605.
126. Trichopoulos D, Brown J, Garas J. Elevated urine estrogen and pregnandiol levels in daughters of breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1981;67:603.
127. Trichopoulos D, Hsieh C, MacMahon B. Age at first birth and breast cancer risk. *Int J Cancer* 1983;31:701.

128. Vonderhaar BK. Regulation of development of the normal mammary gland by hormones and growth factors. In :Breast Cancer: Cellular and Molecular Biology. Dickson RB, Lippman ME(eds). Boston, Kluwer, 1988:251
129. Weinstat-Saslow D, Steeg P. Angiogenesis and colonization in the tumor metastatic process: basic and applied advances. FASEB J 1994;8:401.
130. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. Nature 1995;378:789.
131. Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC. Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. J Natl cancer Inst 1993;85:1819.
132. Zuppan P, Hall J, Lee M. Possible linkage of the estrogen receptor gene to breast cancer in a family with late-onset disease. Am J Hum Genet 1991;48:1065.

### **3. ΠΟΡΟΓΕΝΗΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**





### **Ιστοπαθολογική κατάταξη του καρκίνου του μαστού**

Τα νεοπλασμάτα του μαστού διακρίνονται σε επιθηλιακής προέλευσης που είναι και τα συχνότερα και τα μη επιθηλιακής προέλευσης. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει τα διηθητικά και τα μη διηθητικά (in situ) καρκινώματα, τα οποία ανάλογα με την εντόπιση και τα κυτταρολογικά χαρακτηριστικά χαρακτηρίζονται σαν πορογενή και λοβιακά καρκινώματα. Η ιστολογική κατάταξη γίνεται σύμφωνα με τον ακόλουθο πίνακα στον οποίο αναγράφονται και οι αντίστοιχες συχνότητες εμφάνισής τους :

<b>A.Πορογενής καρκίνος</b>	
<b>Μη διηθητικός(in situ)</b>	<b>2-30%</b>
Θηλώδης	
Φαγεσωρικός	
Ηθμοειδής	
Συμπαγής	
<b>Διηθητικός</b>	<b>70%</b>
Πορογενής μη ειδικός με ή χωρίς σκιρρώδη αντίδραση	
Μυελοειδής	5%
Θηλώδης-μικροθηλώδης	1.5%
Βλεννώδης ή κολλοειδής	2%
Διαφοροποιημένος	
<b>B.Λοβιακός</b>	
<b>Διηθητικός</b>	<b>8%</b>
<b>Μη διηθητικός</b>	<b>0.8-8%</b>

Πίνακας 2

<b>Σπάνιες μορφές καρκίνου</b>	
Νόσος του Paget	3%
Φλεγμονώδης	5%
Ηθμοειδής	
Λιποεκκριτικός	
Αδενοειδής κυστικός	0.5%
Νεανικός εκκριτικός	
Μεταπλαστικός	
Σωληνώδεις (σωληνώδη στοιχεία>80% καρκ.μάζας)	2%

Πίνακας 3

Οι μη επιθηλιακοί όγκοι στον μαστό οι οποίοι αναγράφονται στον ακόλουθο πίνακα είναι αρκετά σπάνιοι με συχνότερα εμφανιζόμενο το φυλλοειδές κυστεοσάρκωμα :

<b>Σαρκώματα</b>	
Φυλλοειδές (καλοήθης, κακοήθης, ενδιάμεση μορφή)	(κακοήθης) 6.2-27%
Αγγειοσάρκωμα (πρωτογενές ή από καλοήθες περιλοβιακό αγγείωμα)	0.5-2%
Ινοσάρκωμα, λιποσάρκωμα, ραβδομυοσάρκωμα, οστεοσάρκωμα, νευροσάρκωμα, καρκινοσάρκωμα.	
Λεμφώματα και λευχαιμίες (πρωτοπαθή ή σαν εκδήλωση γενικευμένης πάθησης)	

Πίνακας 4

### **Φυσική ιστορία του καρκίνου του μαστού**

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί ανομοιογενή πάθηση αφού οι εκδηλώσεις και η εξέλιξη του ποικίλουν από άτομο σε άτομο. Οι θεωρίες για την βιολογική του συμπεριφορά είναι τρεις :η παλαιότερη του Halsted η οποία μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του '80 υπαγόρευε και την θεραπευτική προσέγγιση του καρκίνου του μαστού και οι νεότερες Fisher και Spectrum. Σύμφωνα με την πρώτη, αν ο καρκίνος του μαστού δεν έχει λεμφαδενική διασπορά, είναι τοπική νόσος με δυνατότητες πλήρους ίασης αν γίνει ευρεία εκτομή του μαστού και των μασχαλαίων λεμφαδένων. Η θεωρία αυτή όμως δεν ερμηνεύει το γιατί ασθενείς με μικρούς όγκους και αρνητικούς λεμφαδένες καταλήγουν από συστηματική διασπορά της νόσου. Το κενό αυτό έρχεται να καλύψει η δεύτερη θεωρία, σύμφωνα με την οποία ο καρκίνος του μαστού από την αρχική κακοήγη εξαλλαγή ενός κυττάρου για να φτάσει σε μέγεθος όγκου διαμέτρου 1 εκ. και να γίνει κλινικά ή μαστογραφικά εμφανής, απαιτείται χρονική διαδρομή 6 εως 10 ετών στη διάρκεια της οποίας είναι δυνατή η μεταβολή του φαινότυπου του όγκου και η απόκτηση μεταστατικής ικανότητας της πρωτοπαθούς εστίας ταυτόχρονα προς τους λεμφαδένες και προς οποιοδήποτε άλλο όργανο. Η θεωρία του Fisher η οποία αντιμετωπίζει τον καρκίνο του μαστού σαν μία εξαρχής συστηματική νόσο, μετέβαλε τις θεραπευτικές στρατηγικές των τελευταίων χρόνων ιδιαίτερα στην ευρεία εφαρμογή των επεμβάσεων διατήρησης του μαστού. Μεταξύ των δύο αυτών θεωριών και ουσιαστικά εξέλιξη της δεύτερης, είναι η θεωρία Spectrum σύμφωνα με την οποία ο καρκίνος του μαστού είναι συστηματική νόσος στους περισσότερους αλλά όχι σε όλους τους ασθενείς και αυτό σημαίνει ότι κάποιοι μπορεί να επωφεληθούν από την πρώιμη διάγνωση και την περιοχική θεραπεία. Η τρίτη θεωρία θέτει την απόλυτη αναγκαιότητα της συνδυασμένης τοπικής και συστηματικής θεραπείας της νόσου και επιβεβαιώνεται από τα εξής στοιχεία:1)Ο έλεγχος με μαστογραφία σε ασυμπτωματικές ασθενείς έχει αποδειχτεί ότι μειώνει κατά 25% την θνητότητα από καρκίνο του μαστού 2) Όσο το μέγεθος του όγκου αυξάνει, αυξάνεται και η πιθανότητα εμφάνισης μεταστάσεων, υπάρχει μάλιστα μία κρίσιμη διάμετρος που έχει καθοριστεί γύρω στα 3.6 εκ. η οποία συνδέεται με 50% πιθανότητα μετάστασης 3)Πολλοί ασθενείς ακόμη και από αυτούς με λεμφαδενικές μεταστάσεις, επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά από τοπικό έλεγχο της νόσου, ιδιαίτερα όταν η διάμετρος είναι μικρότερη από 2 εκ. και ο αριθμός των προσβεβλημένων λεμφαδένων 1-3. Οι τρεις θεωρίες παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 1.

<b>Halsted</b>	<b>Fisher</b>	<b>Spectrum</b>
Η επέκταση των όγκων γίνεται με προκαθορισμένο μηχανικό πρότυπο	Δεν υπάρχει καθορισμένος τρόπος διασποράς των νεοπλασματικών κυττάρων	Στους περισσότερους ασθενείς, η λεμφαδενική διήθηση προάγει τις απομακρυσμένες μεταστάσεις
Τα νεοπλασματικά κύτταρα επεκτείνονται άμεσα προς τα λεμφογάγγλια γι αυτό και η	Τα νεοπλασματικά κύτταρα επεκτείνονται στα λεμφογάγγλια με εμβολισμό	

εκτομή πρέπει να γίνεται en bloc		
Η ύπαρξη διηθημένων καρκινικών λεμφογαγγλίων είναι πηγή επέκτασης της πάθησης και αποτελούν δείκτη διασποράς της νόσου	Η ύπαρξη διηθημένων καρκινικών λεμφογαγγλίων είναι δείκτης της σχέσης όγκου-ξενιστή η οποία και καθορίζει την ανάπτυξη μεταστάσεων	Τα διηθημένα καρκινικά λεμφογαγγλία είναι δείκτης της σχέσης όγκου-ξενιστή και συνδέεται με την επικείμενη εμφάνιση απομακρυσμένης νόσου
Τα επιχώρια λεμφογάγγλια αποτελούν φραγμό στη διασπορά των καρκινικών κυττάρων	όχι	Τα επιχώρια λεμφογάγγλια αποτελούν φραγμό στη διασπορά των καρκινικών κυττάρων, αλλά η διήθησή τους δεν συνδέεται πάντοτε με εμφάνιση μεταστάσεων
Τα επιχώρια λεμφογάγγλια έχουν ανατομική αξία	Τα επιχώρια λεμφογάγγλια έχουν βιολογική αξία	
Η αιματική οδός είναι ελάσσονος σημασίας για την διασπορά των όγκων	Η αιματική οδός είναι μείζονος σημασίας για την διασπορά των όγκων	Η αιματική οδός είναι μείζονος σημασίας για την διασπορά των όγκων
Ο όγκος είναι ανεξάρτητος από τον ξενιστή	Ο όγκος είναι σε άμεση εξάρτηση από τον ξενιστή και οι μεταξύ τους διαπλοκές καθορίζουν την εξέλιξη της πάθησης	
Ο εγχειρήσιμος καρκίνος του μαστού είναι τοπική πάθηση	Ο εγχειρήσιμος καρκίνος του μαστού είναι συστηματική νόσος	Ο εγχειρήσιμος καρκίνος του μαστού είναι συστηματική νόσος σε πολλές περιπτώσεις αλλά όχι σε όλες
Η έκταση της εγχείρησης και η εφαρμοζόμενη τεχνική αποτελούν καθοριστικό παράγοντα για την επιβίωση	όχι	Η έκταση της εγχείρησης και η εφαρμοζόμενη τεχνική δeneύεται πιθανό να επηρεάσουν σημαντικά την επιβίωση, αλλά μπορεί να είναι σημαντικά για κάποιους ασθενείς

Πίνακας 1

Πάντως επειδή ο καρκίνος του μαστού είναι λεμφόφιλος νεοπλασία και ο μαστός όργανο πλούσιο σε λεμφική αποχέτευση, οι μασχαλιαίοι λεμφαδένες εξακολουθούν να αποτελούν την πρώτη και συχνότερη θέση μετάστασης. Η αποκάλυψη διηθημένων μασχαλιαίων λεμφαδένων σημαίνει ότι η νόσος έχει καταστεί συστηματική, ενώ η απουσία τους δεν αποκλείει την ύπαρξη συστηματικών μεταστάσεων σε άλλα όργανα. Σε ένα ποσοστό 10-15% των ασθενών με όγκους έσω τεταρτημορίου και αρνητικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες αποκαλύπτονται μεταστάσεις στα λεμφογάγγλια της έσω μαστικής, ενώ σπανιότερη θέση μετάστασης είναι τα λεμφογάγγλια του Rotter μεταξύ μείζονος και ελάσσονος θωρακικού μυός. Οι αιματογενείς μεταστάσεις φέρονται προς τη μασχαλιαία φλέβα και τη συστηματική κυκλοφορία, ενώ με τις μεσοπλευρίες φλέβες στο σπονδυλικό πλέγμα κα δι αυτού στη σπονδυλική στήλη, την πύελο, την κεφαλή των μηριαίων και βραχιονίων οστών και τη βάση του κρανίου. Τοπικά διηθεί τους συνδέσμους του Cooper προκαλώντας ρυτίδωση του υπερκείμενου δέρματος και αν δεν αντιμετωπιστεί νεκρώνεται και αιμορραγεί, είναι σπάνια όμως σήμερα η εμφάνιση μιάς τέτοιας κλινικής εικόνας λόγω εγκαίρτερης θεραπευτικής αντιμετώπισης της νόσου.

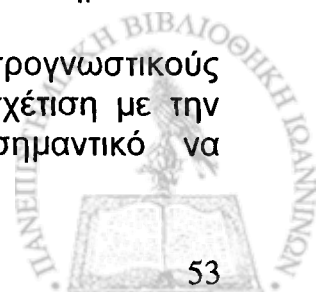
### **Πορογενής διηθητικός καρκίνος του μαστού**

Όταν τα κακοήθη κύτταρα εισβάλλουν στην βασική μεμβράνη των πόρων του μαστού, ο όγκος χαρακτηρίζεται σαν πορογενής διηθητικός. Ο πορογενής διηθητικός καρκίνος του μαστού αποτελεί την μεγαλύτερη αριθμητικά ομάδα των κακοήθων όγκων του μαστού με συχνότητα που κυμαίνεται από 65 εως 85%. Σύμφωνα με τον ορισμό της WHO με τον όρο αυτό εκτός από τα αληθή πορογενή καρκινώματα (σωληνώδη, μυελοειδή, μεταπλαστικά, κολλοειδή, αδενοκυστικά), περιλαμβάνονται και παθολογικές οντότητες που χαρακτηρίζονται σαν «πορογενή διηθητικά μη καθοριζόμενα» (invasive duct carcinoma, not otherwise specified-NOS) και είναι ο σκίρρος, ο καρκίνος με παραγωγική ίνωση και το simplex. Πρέπει εδώ να διευκρινηστεί ότι στην κατηγορία των NOS εντάσσονται και τα πορογενή διηθητικά καρκινώματα που εμφανίζουν ένα ή περισσότερα χαρακτηριστικά κάποιων ειδικών ιστολογικών τύπων με καλύτερη σχετικά πρόγνωση, των οποίων για να τεθεί η διάγνωση απαιτείται η πλήρης ανάπτυξη του δεδομένου για κάθε τύπο προτύπου. Επίσης σε ποσοστό περίπου 30% εμφανίζουν συνδυασμούς χαρακτήρων, π.χ. με διηθητικά λοβιώδη, που δυσχεραίνουν περαιτέρω τον καθορισμό της βιολογίας τους και της κλινικής τους πορείας.

**Κλινικοί χαρακτήρες** : Εκτός κάποιων εξαιρέσεων (π.χ. νόσος Paget της θηλής που συνοδεύεται σχεδόν πάντα από πορογενές διηθητικό καρκίνωμα), δεν υπάρχουν ιδιαίτερα κλινικά χαρακτηριστικά. Πρόκειται συνήθως για μία ψηλαφητή μάζα που εμφανίζεται συνήθως στην ηλικία των 40-50 ετών.

**Μακροσκοπική παθολογία** : Πρόκειται για συμπαγείς όγκους. Κυστική διαμόρφωση είναι σπάνια, μπορεί όμως να υπάρχει λόγω νέκρωσης η οποία συνοδεύεται και από αιμορραγία της εκφυλισμένης περιοχής. Μη κυστικές περιοχές νέκρωσης εμφανίζονται μαλακές και λευκού χρώματος, περιοχές με σκίρρο ή ινώδες στρώμα είναι γκριζωπές, ενώ η παρουσία σημαντικού βαθμού ελάστωσης προσδίδει κίτρινο χρώμα.

Η διάμετρος του όγκου είναι ένας από τους πιο σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες και μελέτες έχουν δείξει ότι είναι σε άμεση συσχέτιση με την συχνότητα διήθησης των λεμφαδένων. Είναι λοιπόν σημαντικό να



προσδιορίζεται στο παρασκεύασμα η μέγιστη διάμετρος του, διαδικασία που πρέπει να λαμβάνει χώρα πριν την μονιμοποίηση, τον προσδιορισμό των ορμονικών υποδοχέων ή οποιαδήποτε άλλη τεχνική μέθοδο. Βέβαια η εκτίμηση αυτή δεν είναι απόλυτα ακριβής μιά και εκτός από την καθ'αυτό νεοπλασματική μάζα προσμετράται και καλοήθης υπερπλαστικός ή αντιδραστικός καλοήθης ιστός άλλοτε άλλου μεγέθους.

Με βάση την μακροσκοπική μορφολογία μπορούμε να διακρίνουμε δύο ομάδες : τα αστεροειδή και τα καλώς περιγεγραμμένα, αν και έχει διαπιστωθεί ότι παραπάνω από το 50% των τελευταίων εμφανίζουν εστιακή διήθηση. Στην πρώτη κατηγορία οι όγκοι έχουν μεγαλύτερο μέγεθος και αυξημένη συχνότητα λεμφαδενικών μεταστάσεων σε σύγκριση με την δεύτερη κατηγορία.

Μικροσκοπική παθολογία : Ο «βαθμός» ενός νεοπλασματος αποτελεί μία εκτίμηση της διαφοροποίησης του η οποία αφορά το διηθητικό τμήμα του όγκου. Ο «βαθμός του πυρήνα» είναι κυτταρολογική συγκριτική εκτίμηση των δομικών χαρακτηριστικών του δεδομένου καρκινικού πυρήνα σε σχέση με των φυσιολογικών επιθηλιακών κυττάρων του μαζικού αδένου και απόδοσή του σε βαθμολογική κλίμακα: 1(φτωχή διαφοροποίηση), 2 (ενδιάμεση) και 3 (καλή διαφοροποίηση). Η «ιστολογική βαθμολόγηση» εκτιμά το αναπτυξιακό πρότυπο και την κυτταρολογική διαφοροποίηση των διηθητικών νεοπλασμάτων με χρήση των παραμέτρων της έκτασης της σωληναριακής διαμόρφωσης, του βαθμού της πυρηνικής υπερχρωματίας και του ρυθμού των μιτώσεων. Η κλίμακα είναι αντίστροφη από αυτή της βαθμολόγησης του πυρήνα : I(καλή διαφοροποίηση), II(ενδιάμεση) και III (φτωχή διαφοροποίηση).

Ο ιστολογικός βαθμός και ο πυρηνικός βαθμός διαφοροποίησης συμπίπτουν στα περισσότερα διηθητικά καρκινώματα. Οι περισσότερες έρευνες έχουν δείξει ότι εντάσσονται στους προγνωστικούς παράγοντες, αφού η χαμηλή διαφοροποίηση συνδέεται με υψηλή συχνότητα λεμφαδενικών και γενικευμένων μεταστάσεων καθώς και υποτροπών. Σε ταξινόμηση κατά στάδια είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην πρόβλεψη πρόγνωσης σε ασθενείς σταδίου I. Επίσης η απουσία σωληναριακής διαμόρφωσης θεωρείται προγνωστικός δείκτης όταν συνδυάζεται με κυτταρολογικά χαρακτηριστικά φτωχής διαφοροποίησης, αφού συνδέεται με 20πλάσια αύξηση του κινδύνου υποτροπής.

### **Σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού**

Πρόκειται για μέθοδο ομαδοποίησης των ασθενών ανάλογα με την έκταση της πάθησής τους. Είναι χρήσιμο στην επιλογή της θεραπευτικής αγωγής, στην σύγκριση μεταξύ των διαφόρων εφαρμοζόμενων θεραπειών και στον καθορισμό της πρόγνωσης. Το πρώτο σύστημα σταδιοποίησης ήταν αυτό του πανεπιστημίου της Columbia. Σήμερα εφαρμόζεται διεθνώς το TNM σύστημα που έχει θεσπιστεί από την American Joint Committee on Cancer (AJCC), με το T να αναφέρεται στον όγκο, το N στους λεμφαδένες και το M στις μεταστάσεις. Αναλυτικά οι παράμετροι αυτοί είναι :

#### Μέγεθος του όγκου(T)

*T<sub>x</sub>* Η πρωτοπαθής εστία δεν μπορεί να εκτιμηθεί

*T<sub>0</sub>* Δεν υπάρχουν ενδείξεις της πρωτοπαθούς εστίας

*T<sub>is</sub>* Καρκίνωμα in situ (μη διηθητικό) πορογενές ή λοβιακό, ή νόσος Paget της θηλής χωρίς μάζα στο μαστό



T1 Όγκος με διάμετρο  $\leq 2$  εκ.

- T1a Διάμετρος  $\leq 0.5$  εκ.
- T1b Διάμετρος  $\geq 0.5$  εκ αλλά  $\leq 1$  εκ.
- T1c Διάμετρος  $\geq 1$  εκ. αλλά  $\leq 2$  εκ.

T2 Όγκος με διάμετρο 2-5 εκ.

T3 Όγκος διαμέτρου μεγαλύτερης των 5 εκ.

T4 Όγκος κάθε διαμέτρου που διηθεί το θωρακικό τοίχωμα ή το δέρμα ή παρουσία φλεγμονώδους καρκινώματος

- T4a Επέκταση στο θωρακικό τοίχωμα
- T4b Οίδημα (περιλαμβάνει το λεγόμενο «δέρμα πορτοκαλιού»), εξέλκωση του δέρματος ή δορυφορικοί όζοι εντοπιζόμενοι στον ίδιο μαστό
- T4c Όγκος και T4a και T4b
- T4d Φλεγμονώδες καρκίνωμα

#### Περιοχικοί λεμφαδένες (N)

Nx Οι περιοχικοί λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν (π.χ. αν έχουν πρόσφατα αφαιρεθεί)

N0 Δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις

N1 Μετάσταση σε έναν ή περισσότερους ομόπλευρους μασχαλιαίους λεμφαδένες κινητούς και διακριτούς μεταξύ τους

N2 Μετάσταση σε έναν ή περισσότερους ομόπλευρους μασχαλιαίους λεμφαδένες συμφυόμενους μεταξύ τους ή σε άλλα ανατομικά μέρη

N3 Μετάσταση στα έσω μαστικά λεμφογάγγλια

Στην εκτίμηση των περιοχικών λεμφαδένων διακρίνουμε διάφορους βαθμούς παθολογίας :

pNx Οι περιοχικοί λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν

pN0 Δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις

pN1 Μετάσταση σε έναν ή περισσότερους ομόπλευρους μασχαλιαίους λεμφαδένες κινητούς και διακριτούς μεταξύ τους

- pN1a Ανίχνευση μόνο μικρομεταστάσεων μεγέθους  $< 0.2$  εκ.
- pN1b Μετάσταση σε ένα ή περισσότερους αν το μέγεθος κάποιου είναι  $> 0.2$  εκ.
- pN1b1 Μετάσταση σε 1-3 λεμφαδένες με κάποιον  $> 0.2$  εκ. στην μεγαλύτερη διάσταση
- pN1b2 Μετάσταση σε περισσότερους από 4 με κάποιον  $> 0.2$  εκ. και όλους  $< 2$  εκ. στην μεγαλύτερη διάσταση
- pN1b3 Επέκταση του όγκου έξω από την κάψα του λεμφαδένα με την μετάσταση να μετράται  $< 2$  εκ.
- pN1b4 Μετάσταση  $> 2$  εκ.

pN2 Μετάσταση σε έναν ή περισσότερους ομόπλευρους μασχαλιαίους λεμφαδένες συμφυόμενους μεταξύ τους ή σε άλλα ανατομικά μέρη

pN3 Μετάσταση στα έσω μαστικά λεμφογάγγλια

#### Απομακρυσμένες μεταστάσεις (M)

Mx Οι μεταστάσεις δεν μπορούν να εκτιμηθούν

M0 Απουσία μετάστασης

M1 Απομακρυσμένες μεταστάσεις (περιλαμβάνονται οι ομόπλευροι υπερκλειδίοι και οι ετερόπλευροι μασχαλιαίοι λεμφαδένες)



### Παρατηρήσεις στο TNM

- Ένας όγκος θεωρείται ακατάλληλος για παθολογική ταξινόμηση (pTχ) αν η εξαίρεση της πρωτοπαθούς εστίας αποκαλύπτει καρκίνο σε όποιο όριο της εξαίρεσης με την αδρή παθολογική εκτίμηση. Επίσης περιοχικοί λεμφαδένες δεν ταξινομούνται (pNχ) αν εξαιρέθηκαν λιγότεροι από το πρώτο επίπεδο.
- Το μέγεθος της πρωτοπαθούς εστίας εκτιμάται κλινικά (π.χ. με την κλινική εξέταση ή την μαστογραφία ανάλογα με το ποιά θεωρείται πιο ακριβής) και παθολογικά με μέτρηση του διηθητικού στοιχείου. Αν η έκταση του μη-διηθητικού στοιχείου είναι μεγάλη και του διηθητικού μικρή, ο όγκος ταξινομείται με βάση τη δεύτερη.
- Τα σύγχρονα αμφοτερόπλευρα καρκινώματα ταξινομούνται ξεχωριστά.

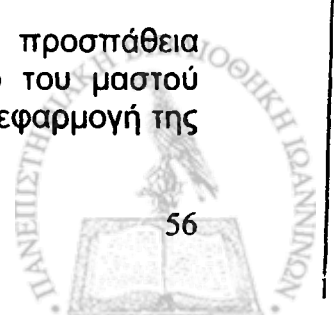
Τα στάδια της νόσου διαμορφώνονται από το TNM σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα :

ΣΤΑΔΙΟ	TNM
<b>0</b>	TisN0M0
<b>I</b>	T1N0M0
<b>IIA</b>	T0N1M0 T1N1M0 T2N0M0
<b>IIB</b>	T2N1M0 T3N0M0
<b>IIIA</b>	T0N2M0 T1N2M0 T2N2M0 T3N1M0 T3N2M0
<b>IIIB</b>	T4 όποιο N M0 Όποιο TN3M0
<b>IV</b>	Όποιο T όποιοNM1

Το σημερινό TNM σύστημα διαφέρει από τα συστήματα των προηγούμενων χρόνων γιατί χρησιμοποιεί τα διεγχειρητικά ευρήματα και σε συνδυασμό με την κλινική εκτίμηση και τα παθολογοανατομικά αποτελέσματα από την εξέταση του δείγματος επιτρέπει την ορθότερη επιλογή της πρωτογενούς αλλά και της συμπληρωματικής θεραπείας. Μειονεκτεί λόγω της πολυπλοκότητάς του αλλά και ως προς το ότι δεν χρησιμοποιεί κριτήρια καταλληλότητας ή μη του ασθενούς για επέμβαση διατήρησης του μαστού, επίσης δεν υπολογίζει την πιθανότητα ενώ τοπικής ή συστηματικής υποτροπής με ή χωρίς συστηματική θεραπεία. Στην κλινική καθημερινή πράξη χρησιμοποιούνται οι παράμετροι του μεγέθους του όγκου και των ιστολογικών ευρημάτων των λεμφαδένων που ομαδοποιούνται σε τέσσερις κατηγορίες : αρνητικοί, 1-3 θετικοί, 4-9 θετικοί και περισσότεροι από 10 θετικοί. Προσπάθειες γίνονται για περαιτέρω βελτίωση του συστήματος.

### ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η χρησιμοποίηση προγνωστικών παραγόντων σε μία προσπάθεια πρόβλεψης της κλινικής πορείας ενός ασθενούς με καρκίνο του μαστού απέκτησε ιδιαίτερη βαρύτητα τα τελευταία χρόνια με την ευρεία εφαρμογή της





συστηματικής θεραπείας και των επιτυχημένων αποτελεσμάτων της στον έλεγχο της υποτροπής. Μετά από κάποιες μελέτες (Early breast cancer trialists collaborative group) υπήρξε η τάση να εφαρμόζεται σε όλους τους ασθενείς ανεξαρτήτως του επιπέδου των λεμφαδενικών μεταστάσεων. Οι θεραπείες όμως αυτές εμφανίζουν αυξημένη τοξικότητα και επιπλέον μόνο ένα 15% των ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες θα επωφεληθούν τελικά από αυτές αφού η πενταετής επιβίωση ακόμη και σε μεγάλους όγκους φτάνει το 85%. Μένει λοιπόν να προσδιοριστεί το μεταστατικό και το αναπτυξιακό δυναμικό του πρωτογενούς όγκου το οποίο θα καθορίσει και την χορήγηση ή όχι θεραπείας. Οι παράμετροι των δυναμικών αυτών είναι κλινικοί, ιστοπαθολογικοί, δείκτες πολλαπλασιαστικής ικανότητας, ορμονικοί υποδοχείς και οι από αυτούς ρυθμιζόμενοι παράγοντες, αναπτυξιακοί παράγοντες, ογκοκατασταλτικά γονίδια και δείκτες διηθητικής και αγγειογενετικής ικανότητας. Εξ ορισμού, οι προγνωστικοί παράγοντες θα πρέπει να παρέχουν πληροφορίες για την πιθανή κλινική πορεία ενός ασθενούς χωρίς αυτός να λάβει συστηματική θεραπεία και περιλαμβάνουν πολλές φορές (χωρίς να είναι ταυτόσημοι) και τους παράγοντες εκείνους που προβλέπουν και την ανταπόκριση στην αγωγή (π.χ. ορμονικοί υποδοχείς).

### ***Κλινικοί παράγοντες***

***Ηλικία:*** Οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού που είναι μικρότεροι από 35 ετών εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση. Σε μελέτες έχει βρεθεί ότι οι κακοί προγνωστικοί χαρακτήρες (ιστολογικός βαθμός κακοήθειας 3, εκτεταμένο ενδοτορικό στοιχείο, νέκρωση, αγγειακή διήθηση, μέγεθος όγκου, φλεγμονώδης κυτταρική αντίδραση) ελαττώνονται με την αύξηση της ηλικίας. Πιστεύεται ότι ο καρκίνος του μαστού σε νεαρές ηλικίες είναι βιολογικά διαφορετική νόσος απ'ότι σε μεγαλύτερες. Από την άλλη οι ασθενείς μεγαλύτερων ηλικιών εμφανίζουν μεγαλύτερη ανταπόκριση στην ταμοξιφαίνη και μικρότερη στην χημειοθεραπευτική αγωγή.

***Εθνολογικές διαφορές:*** Πιστεύεται ότι οι ασθενείς της μαύρης φυλής εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση από αυτούς της λευκής, η άποψη αυτή όμως είναι δύσκολο να εδραιωθεί λόγω των διαφορών σε κοινωνικοοικονομικό και μορφωτικό επίπεδο, που αντανακλούν στον χρόνο της διάγνωσης, στην θεραπεία και στην παρακολούθηση.

### ***Ιστοπαθολογικοί παράγοντες***

Είναι αυτοί που κυρίως χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πράξη.

***Μέγεθος πρωτοπαθούς εστίας:*** καθορίζεται με μέτρηση σε τουλάχιστον δύο διαστάσεις λαμβανομένης υπ'όψη της μεγαλύτερης. Έχει βρεθεί ότι όσο αυξάνει το μέγεθος του όγκου, αυξάνει και η πιθανότητα λεμφαδενικών και συστηματικών μεταστάσεων. Μέχρι 1 εκ. η πιθανότητα είναι 12-14% αν ήταν συμπτωματικοί και 5% αν αποκαλύφθηκαν με μαστογραφία ελέγχου, ενώ στα 2 εκ. είναι 47%. Ειδικά στην κατηγορία των ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες είναι ο ισχυρότερος προγνωστικός δείκτης υποτροπής και επιβίωσης, οπότε (μαζί με τον ιστολογικό τύπο) χρησιμοποιείται σαν κριτήριο χορήγησης συμπληρωματικής θεραπείας όπως φαίνεται από τον παρακάτω πίνακα :

Μέγεθος όγκου (εκ.)	5-ετής επιβίωση	Πιθανότητα υποτροπής	Ασθενείς που θα χορηγηθεί συμπληρωματική θεραπεία
		<1 εκ. 1-10%	Λίγοι
1-2	79	1-3 εκ.	Σε συνεκτίμηση με άλλους παράγοντες
2-3	77	~30%	
3-4	72	>3 εκ.	Το μεγαλύτερο ποσοστό
4-5	74	>50%	
5-6	72		
>6	57		

Παρατηρούμε ότι η επιβίωση ελαττώνεται όσο αυξάνει το μέγεθος. Υπάρχουν όμως μελέτες που αναφέρουν ότι οι πολύ μεγάλοι όγκοι εμφανίζουν καλύτερα ποσοστά επιβίωσης από αυτούς με ενδιάμεσο μέγεθος. Μιά ερμηνεία βέβαια του φαινομένου αυτού είναι ότι όγκοι που αυξάνονται τόσο πολύ χωρίς να σκοτώσουν την ασθενή ή να δώσουν μεταστάσεις έχουν μικρό μεταστατικό δυναμικό, το οποίο θα πρέπει με κάποιο άλλο τρόπο να προσδιοριστεί. Ένα ακόμη ερώτημα που πρέπει να διερευνηθεί είναι αν ο όγκος του 1 εκ. ο ανιχνευόμενος μαστογραφικά έχει την ίδια φυσική ιστορία με έναν αντίστοιχο που εντοπίζεται κλινικά.

Ιστολογικός τύπος: οι πιάό συχνοί τύποι καρκινωμάτων του μαστού είναι τα διηθητικά, πορογενή και λοβιακά. Το διηθητικό πορογενές γενικά εμφανίζει υψηλότερο ποσοστό λεμφαδενικών μεταστάσεων και χειρότερη πρόγνωση από τα υπόλοιπα, με την εξαίρεση ορισμένων ειδικών τύπων (π.χ. ηθμοειδής, σωληνώδης και ίσως μυελοειδής) που χαρακτηρίζονται από καλύτερη πρόγνωση. Τα μη διηθητικά έχουν καλοηθέστερη κλινική πορεία και η αύξηση της ποσοστιαίας αναλογίας τους τα τελευταία χρόνια λόγω της πρωιμότερης μαστογραφικής τους διάγνωσης έθεσε το πρόβλημα της ανακάλυψης παραγόντων αυξημένης κακοήθειας που θα αναγνωρίζουν τους επιβαρυσμένους ασθενείς αυτής της κατηγορίας. Όταν ένας όγκος εμφανίζει κύτταρα δύο διαφορετικών ιστολογικών τύπων εκτιμάται με βάση τα χαρακτηριστικά του κακοηθέστερου, αν και η τακτική αυτή έχει αμφισβητηθεί από τον Fisher.

Ένα ιστοπαθολογικό πρόβλημα είναι το άλλοτε άλλου βαθμού μη διηθητικό καρκίνωμα (EIC) το οποίο συναντάται γύρω από την κύρια μάζα του πορογενούς διηθητικού καρκινώματος. Αν η έκτασή του είναι μεγάλη ( $\geq 10\%$ ), τότε η πιθανότητα πολυεστιακής αναπτύξεως ή τοπικής υποτροπής είναι πολύ υψηλή και η τοπική εκτομή του καρκίνου θα πρέπει να γίνεται με ευρύ όριο υγιούς ιστού.

Βαθμός διαφοροποίησης: Η προγνωστική σημασία του βαθμού διαφοροποίησης του όγκου έχει καταδειχτεί με διάφορες μελέτες (SEER program), με μόνα προβλήματα την φτωχή αναπαραγωγικότητα των κριτηρίων που χρησιμοποιούνται και την ελλιπή αναφορά στοιχείων από τους

παθολογοανατόμους που εμποδίζει την αξιολόγηση των όγκων. Τα συστήματα που εφαρμόζονται είναι τρία : α) Το SBR (Scarff-Bloom-Richardson). Απαρτίζεται από τρεις παράγοντες, την δυνατότητα διαφοροποίησης(η ικανότητα του όγκου να προσλαμβάνει σωληνώδεις, αδενικές ή θηλωματώδεις διαμορφώσεις), την έκταση του πλειομορφισμού(η μορφή του πυρήνα ιδιαίτερα σε ασυνήθιστα κύτταρα με ανώμαλο μέγεθος) και τον μιτωτικό δείκτη(αριθμός μιτώσεων στο δείγμα του όγκου) και βαθμολογείται από 1(καλή διαφοροποίηση) έως 3(κακή διαφοροποίηση). β) Το MSBR(modified SBR) εκτιμά την έκταση του πλειομορφισμού και τον μιτωτικό δείκτη σε πέντε διαφορετικές ταξινομήσεις του πλειομορφισμού του πυρήνα. γ) Το σύστημα του Fisher που περιλαμβάνει την διαμόρφωση σωληνωδών ή αδενικών σχηματισμών και τον βαθμό του πυρήνα όπως καθορίζεται από το μέγεθος, το σχήμα, το περιεχόμενό του, την κατανομή της χρωματίνης και τον μιτωτικό δείκτη.

Η προγνωστική σημασία του βαθμού διαφοροποίησης έχει καταδειχτεί από πολλές μελέτες. Παρ'όλα αυτά αφ'ενός δεν καθορίζεται πάντα και αφ'ετέρου τα συστήματα εκτίμησής του χαρακτηρίζονται από χαμηλό δείκτη αναπαραγωγιμότητας.

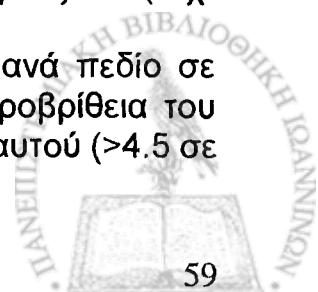
Μασχαλιαίοι λεμφαδένες: Η παρουσία ή απουσία μετάστασης στους μασχαλιαίους λεμφαδένες είναι μέχρι σήμερα ο ισχυρότερος προγνωστικός δείκτης στις ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Η βασική ταξινόμηση είναι σε τρεις αριθμητικές ομάδες ( 0, 1-3, >4 θετικοί λεμφαδένες), σε αρκετές μελέτες όμως υπάρχει ευθέως αντίστροφα αναλογική σχέση μεταξύ του αριθμού των λεμφαδένων και του ποσοστού επιβίωσης. Επίσης θεωρείται ότι η εκτομή των λεμφαδένων έχει θεραπευτική αξία συμβάλλοντας στον περιοχικό έλεγχο της νόσου. Η πιθανότητα μετάστασης στους λεμφαδένες γενικά δεν είναι προβλέψιμη, αυξάνει πάντως όσο αυξάνει το μέγεθος του όγκου και είναι μάλλον ανεξάρτητη από τους ορμονικούς υποδοχείς και τους δείκτες πολλαπλασιασμού.

Η σημερινή θεραπευτική πολιτική είναι να χορηγείται συστηματική θεραπεία στους N+ ασθενείς εκτός αν αυτό αντενδείκνυται. Παραμένει το πρόβλημα του καθορισμού δεικτών που να υποδεικνύουν την N- επιβαρυσμένης προγνωστικά ομάδα που συνεχώς διευρύνεται τα τελευταία χρόνια με την αυξανόμενη διάγνωση καρκίνων σε πρώιμο στάδιο, γεγονός που έχει θέσει υπό αμφισβήτηση και τη θεραπευτική αξία της λεμφαδενεκτομής. Ένα ακόμη πρόβλημα είναι η χορήγηση της συστηματικής θεραπείας πριν τη χειρουργική επέμβαση οπότε στην περίπτωση αυτή είναι άγνωστο το επίπεδο της λεμφαδενικής διήθησης. Οι γενετικές μελέτες πιστεύεται ότι στο μέλλον θα συμβάλλουν στη διαμόρφωση ενός πολυπαραγοντικού προγνωστικού συστήματος που θα χρησιμοποιεί παράγοντες άλλους από τον αριθμό των λεμφαδένων.

### **Δείκτες πολλαπλασιασμού**

Ο ρυθμός ανάπτυξης του όγκου μπορεί να εκτιμηθεί είτε με απ'ευθείας προσδιορισμό του κλάσματος των κυττάρων του που πολλαπλασιάζονται είτε με ανοσοϊστοχημική μέτρηση των παραγόντων που τον επηρεάζουν (π.χ. κινάσες, κυκλίνες, p21, p23, p16).

Μιτωτικός δείκτης: Συνήθως εκφράζεται σε αριθμό μιτώσεων ανά πεδίο σε εξέταση με το μικροσκόπιο ή σε αναλογία τους με την κυτταροβρίθεια του όγκου. Σε διάφορες μελέτες έχει βρεθεί ότι η αύξηση του δείκτη αυτού (>4.5 σε



10 HPF-high power fields) συνεπάγεται διπλασιασμό του κινδύνου υποτροπής και θανάτου. Κάποιοι σύγχρονοι προγνωστικοί δείκτες (NPI και MPI) συνδυάζουν τον μιτωτικό δείκτη με τους λεμφαδένες και το μέγεθος του όγκου.

TLI(Thymidine Labeling Index): Ορίζεται ως το ποσοστό των σεσημασμένων με θυμιδίνη πυρήνων σε δείγμα του όγκου. Είναι ανεξάρτητος της λεμφαδενικής διήθησης και του μεγέθους του όγκου, συνδέεται όμως με αντίστροφη αναλογία με τους στεροειδικούς υποδοχείς. Κάποιες μελέτες συνδέουν την αύξησή του με μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής. Παρ'όλα αυτά δεν φαίνεται τα χημειοθεραπευτικά σχήματα να είναι αποτελεσματικότερα σε ασθενείς με αυξημένο TLI όπως θα αναμενόταν και επιπλέον υπάρχουν τεχνικές δυσχέρειες εφαρμογής του.

SPF(S-phase fraction): Η κυτταρομετρία ροής(αναλύεται στο κεφάλαιο 5) είναι τεχνική που παρέχει ένα ιστόγραμμα του DNA από το οποίο μπορεί να εκτιμηθεί το περιεχόμενο των κυττάρων σε DNA(πλοειδία) και η αναλογία των φάσεων του κυτταρικού κύκλου οι οποίες είναι οι :G0-G1(κύτταρα μη διαιρούμενα ή κύτταρα σε ηρεμία), S(κύτταρα σε διαδικασία αντιγραφής ή σύνθεσης), G2(κύτταρα σε μετα-συνθετική φάση), M(μίτωση). Το υψηλό κλάσμα S φάσης έχει συσχετισθεί με πολλούς προγνωστικούς παράγοντες :

	<i>Διπλοειδικοί</i>	<i>Ανευπλοειδικοί</i>
<i>ER-/PR-</i>	↑	↑↑(χ2)
<i>Θετικοί λεμφαδένες</i>	↑	↑↑(χ3)
<i>Διάμετρος όγκου (&gt;5 εκ.)</i>	↑	↑↑(χ4)
<i>Ηλικία(&lt;35)</i>	↑	↑↑(χ1.5)

Οι περισσότερες μελέτες συσχετίζουν το υψηλό κλάσμα S φάσης με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής και θανάτου, ενώ κάποιες το συσχετίζουν με την ανταπόκριση του όγκου στην χημειοθεραπεία. Τα αποτελέσματα πάντως είναι αντικρουόμενα, ενώ παραμένει το πρόβλημα της συγκάλυψης των κυτταρικών πληθυσμών(φυσιολογικών και κακοήθων) σε διπλοειδικούς όγκους που αλλοιώνει τα αποτελέσματα.

Πλοειδία DNA : Αναλύεται στο κεφάλαιο 5.

Ki-67: Πρόκειται για μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για πυρηνικό αντιγόνο που εκφράζεται μόνο σε πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα. Συνδέεται με το μέγεθος του όγκου, τον ιστολογικό βαθμό, τους θετικούς λεμφαδένες, την αγγειακή διήθηση και το TLI και αντίστροφα με τους στεροειδικούς υποδοχείς. Συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής της νόσου. Μαζί με το ισοδύναμό του αντίσωμα MIB-1 και το SPF, θεωρούνται οι πιο αξιόπιστοι δείκτες πολλαπλασιασμού.

PCNA(Proliferating Cell Nuclear Antigen): Είναι επίσης πυρηνική πρωτεΐνη συνδεδεμένη με την DNA-πολυμεράση 6 που είναι παρούσα σε πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα. Υπάρχει ασθενής συσχέτιση με άλλους προγνωστικούς παράγοντες ιδιαίτερα στα N- καρκινώματα.

### **Ορμονικοί υποδοχείς-Ορμονικά ρυθμιζόμενοι παράγοντες**

Οιστρογονικοί(ER)-Προγεστερινικοί(PR) υποδοχείς: Η πρώτη αναφορά για την προγνωστική τους βαρύτητα έγινε πριν από 30 περίπου έτη και στο διάστημα αυτό χρησιμοποιήθηκαν σε μεγάλο βαθμό για τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων. Οι ER(+) όγκοι εμφανίζουν κατά τις περισσότερες μελέτες μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου από τους ER(-)(10% πλεονέκτημα στην 5ετία). Θεωρητικά η ύπαρξη του PR αποτελεί ένδειξη ότι η οδός ανταπόκρισης στα οιστρογόνα είναι άθικτη μιά και παράγεται με τη διέγερσή τους και εμφανίζει συνήθως ισχυρότερη συσχέτιση με την συνολική επιβίωση, ενώ πιστεύεται ότι καθορίζει και την ανταπόκριση στην ενδοκρινική θεραπεία. Οι συγκεντρώσεις του ER αυξάνουν γραμμικά σχεδόν με την ηλικία, ενώ του PR συσχετίζονται με την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση. Ιδιαίτερα πρέπει να αναφερθούμε σε μια Δανέζικη μελέτη του 1993 όπου διαπιστώθηκε μιά ασυνήθιστη σχέση μεταξύ του επιπέδου του ER και της κλινικής πορείας των ασθενών. Ασθενείς με υπερέκφραση του ER εμφάνιζαν την ίδια επιβαρυσμένη πρόγνωση όπως και οι ασθενείς με αρνητικούς υποδοχείς, ενώ η καλύτερη επιβίωση παρατηρήθηκε σε ασθενείς με ενδιάμεσες τιμές. Έτσι διατυπώθηκε η υπόθεση ότι η υπερέκφραση αυτή σηματοδοτεί την μετάβαση του όγκου από την ορμονοεξαρτώμενη στην ορμονοανεξάρτητη φάση.

Γονίδιο PS2: Πρόκειται για γονίδιο το οποίο έχει αναγνωρισθεί στο 21α χρωμόσωμα και είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιάς πρωτεΐνης άγνωστης λειτουργικότητας μετά από οιστρογονική διέγερση. Πιστεύεται ότι αντανάκλα το λειτουργικό επίπεδο του ER και τα υψηλά του επίπεδα συνδέονται με βελτιωμένη πρόγνωση και με καλή ανταπόκριση των ασθενών σε ορμονική θεραπεία μετά από υποτροπή.

Heat shock proteins(hsps) : Πρόκειται για ορμόνες που παράγονται σαν απάντηση σε περιβαλλοντικά ή φυσιολογικά στρές(π.χ. ισχαιμία, φλεγμονή, αντινεοπλασματικοί παράγοντες. Η έκφραση ή η ρύθμισή τους αλλάζει κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου κάτω από την επίδραση ορμονών σε διάφορα στάδια ανάπτυξης και διαφοροποίησης. Κάποιες από αυτές πιστεύεται ότι εμπλέκονται στην παθογένεια του καρκίνου του μαστού και μάλιστα ότι η hsp27, η 70 και η 90 αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες σχετικά με το χρόνο της υποτροπής σε N(-) όγκους. Έχει βρεθεί ότι η υπερέκφραση της hsp27 σχετίζεται με αυξημένο μέγεθος όγκου, λεμφαδενικές μεταστάσεις και αγγειακή και λεμφαγγειακή διήθηση. Η ίδια πρωτεΐνη θεωρείται ότι ευθύνεται για την κυτταρική αντίσταση σε φάρμακα και ιδιαίτερα την δοξορουβικίνη.

### **Αναπτυξιακοί παράγοντες και υποδοχείς**

EGFR(Epidermal growth factor) : Πρόκειται για μιά διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη η οποία ανιχνεύεται σε χαμηλά επίπεδα στο φυσιολογικό επιθήλιο του μαστού και άλλων ιστών όπως το ήπαρ, έχει βρεθεί όμως ότι υπερεκφράζεται στο 35-60% των καρκίνων του μαστού και ειδικά στις περιπτώσεις με αρνητικούς οιστρογονικούς υποδοχείς όπου η πιθανότητα θετικότητας διπλασιάζεται. Συνδέεται με υψηλό ιστολογικό βαθμό κακοήθειας και αυξημένους δείκτες πολλαπλασιασμού ενώ πρόσφατες μελέτες τη

σχετίζονται με υπερέκφραση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης p53 και αγγειογενετικών παραγόντων. Αν και θεωρείται ότι αποτελεί επιβαρυντικό προγνωστικό παράγοντα, τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα όσον αφορά την υποτροπή και επιβίωση. Από την άλλη πλευρά είναι πιο ξεκάθαρη η συσχέτιση της EGFR και της ανταπόκρισης στην ορμονοθεραπεία μιά και οι (+) όγκοι εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα να παρουσιάσουν αντίσταση, ενώ οι ER(-) ανταποκρίνονται σε υψηλό βαθμό.

**HER-2/neu** : Πρόκειται για γονίδιο που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17q21 και ευθύνεται για την παραγωγή μιάς πρωτεΐνης που ανιχνεύεται σε χαμηλά επίπεδα στο φυσιολογικό επιθήλιο του μαστικού αδένου καθώς και στα θηλωματώδη καρκινώματα, αλλά σε υψηλά στα πορογενή. Η προγνωστική του βαρύτητα είναι μικρή σχετικά με την συνολική επιβίωση στους N(-) ασθενείς, είναι όμως ισχυρή(και μάλιστα δόσοεξαρτώμενη) αναφορικά με την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία(CMF) και στην ορμονοθεραπεία (ταμοξιφαίνη), με τους HER-2/neu(+) να παρουσιάζουν περισσότερες και ταχύτερα εμφανιζόμενες υποτροπές και μικρότερη επιβίωση, παραδόξως όμως σε μεταστατική νόσο να ανταποκρίνονται καλά στην θεραπεία. Σήμερα η ταυτοποίηση ενός όγκου σαν HER-2/neu(+) αποτελεί ένδειξη για θεραπεία με Herceptin, ενώ πρόσθετα εμφανίζουν καλή ανταπόκριση σε υψηλές δόσεις χημειοθεραπείας με docetaxel ή paclitaxel.

#### **Ογκοκατασταλικά γονίδια**

**p53** : Αναλύεται στο κεφάλαιο 6.

**Nm23** : Λίγες μελέτες υπάρχουν για το γονίδιο αυτό που ευθύνεται για την παραγωγή της NDP κινάσης A και θεωρείται ότι αναστέλλει την μετάσταση του όγκου, με αποτέλεσμα η υπερέκφραση της πρωτεΐνης να συνδέεται με αυξημένο διάστημα ελεύθερο νόσου και παράταση της επιβίωσης.

#### **Δείκτες διηθητικής ικανότητας**

**Cathepsin D** : Πιστεύεται ότι η γλυκοπρωτεΐνη αυτή που έχει ενζυματική δράση μόνο σε όξινο pH, αποτελεί δείκτη οιστρογονικής δραστηριότητας, δρώντας σαν αναπτυξιακός παράγοντας μέσω του υποδοχέα II της ινσουλίνης, με αποτέλεσμα αποδόμηση της βασικής μεμβράνης και ενίσχυση της ενέργειας ή της έκκρισης άλλων αυξητικών παραγόντων. Δυνητικά λοιπόν θα μπορούσε να αποτελεί σημαντικό δείκτη διήθησης και μετάστασης του όγκου, η χρήση της όμως δυσχεραίνεται λόγω του εντοπισμού της σε υψηλά επίπεδα στα στρωματικά κύτταρα του όγκου(ιδιαίτερα αν συνυπάρχουν φλεγμονώδη στοιχεία) και των υψηλών ψευδώς αρνητικών ευρημάτων όταν ταυτοποιείται με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους.

**Ενεργοποιητές και αναστολείς πλασμινογόνου**: Η uPA είναι μία πρωτεάση η οποία καταλύει την μετατροπή του πλασμινογόνου στο ενεργές ένζυμο πλασμίνη, η οποία με την σειρά της ενεργοποιεί την κολλαγενάση τύπου 4 που προκαλεί αποδόμηση του κολλαγόνου και των πρωτεϊνών της βασικής μεμβράνης. Η uPA συνδέεται σε ειδικό υποδοχέα, τον uPAR και αναστέλλεται από δύο ειδικούς(που εμφανίζουν και in vitro δράση) αναστολείς, τους PAI 1 και 2, με τελικό αποτέλεσμα την αναστολή της διήθησης. Τα αποτελέσματα των μελετών δείχνουν ότι οι ενεργοποιητές σχετίζονται με ελαττωμένη συνολική επιβίωση και χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου. Μένει να εδραιωθεί η προγνωστική τους βαρύτητα, αλλά και η δυνατότητα των αναστολέων να μπορούν να παρέμβουν θεραπευτικά στην εξέλιξη της νόσου.



Υποδοχείς λαμινίνης: Πρόκειται για μία πρωτεΐνη κυτταρικής επιφάνειας που πιστεύεται ότι παίζει ρόλο στην διείσδυση των καρκινικών κυττάρων στην βασική μεμβράνη του ενδοθηλίου των αγγείων. Τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα, με άλλες μελέτες να υποστηρίζουν ότι στους θετικούς για λαμινίνη όγκους υπάρχει μικρότερη πιθανότητα υποτροπής, ενώ άλλες μιλάνε για αυξημένη πιθανότητα τοπικής διασποράς της νόσου και σε άλλες δεν εμφανίζεται καμμία συσχέτιση. Έτσι μέχρι σήμερα, ανεξάρτητα από τον ρόλο τους στην μεταστατική διαδικασία, μένει να καθοριστεί η κλινική τους βαρύτητα.

## **ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ**

### **Αγγειογένεση**

Η διαδικασία της ανάπτυξης νέων αγγείων από προϋπάρχοντα στον πρωτογενή όγκο και τη μεταστατική εστία είναι απαραίτητη για την αύξησή τους σε διάμετρο παραπάνω από μερικά χιλιοστά. Αποτελεί πολύπλοκο βιολογικό φαινόμενο που στοιχειοθετείται πολύπλοκη από τα ακόλουθα στάδια :

- Αποδόμηση της βασικής μεμβράνης συνήθως σε μετατριχοειδικό αγγείο.
- Μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων προς τον όγκο.
- Πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων στο τελικό σημείο της μετανάστευσης.
- Διαμόρφωση αγγειακών καναλιών.
- Σχηματισμός νέων βασικών μεμβρανών.

Τα τριχοειδικά κύτταρα ανταποκρίνονται στην διαδικασία αυτή σε εξωκυτταρικούς μεσολαβητές που την σηματοδοτούν. Επίσης αλλαγές στην κυτταρική αρχιτεκτονική που σχετίζονται με την ανάπτυξη του όγκου, περιλαμβάνουν μία προοδευτική αρτηριοποίηση στην οποία λεία μυϊκά κύτταρα πολλαπλασιάζονται για να επανδύσουν την αναπτυσσόμενη αρτηρία. Πολλές ανοσοϊστοχημικές μελέτες με χρήση ειδικού για τα ενδοθηλιακά κύτταρα αντισώματος, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυξημένη αγγειογένεση σχετίζεται με αυξημένο αριθμό λεμφαδενικών μεταστάσεων και ελαττωμένη επιβίωση και μάλιστα η προγνωστική σημασία ήταν ανεξάρτητη από μεταβλητές όπως το μέγεθος του όγκου, οι ορμονικοί υποδοχείς, η πλοειδία και η ηλικία.

Πολλοί αυξητικοί παράγοντες έχουν βρεθεί να προάγουν την αγγειογενετική διαδικασία (EGF, FGF, TGF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , VEGF), είτε με απ'ευθείας δράση στα ενδοθηλιακά κύτταρα, είτε με ενεργοποίηση των τοπικών φλεγμονωδών κυττάρων που με τη σειρά τους ευοδώνουν την αγγειογένεση. Υπάρχει ένα πολύπλοκο σύστημα ισορροπίας μεταξύ διεγερτικών και ανασταλτικών της αγγειογένεσης αυξητικών παραγόντων και η διαδικασία της αγγειογένεσης αυτή καθ'εαυτή μπορεί να αντανakλά διατάραξη αυτής της ισορροπίας. Έτσι η θρομβοσπονδίνη(TSP)είναι γλυκοπρωτεΐνη του εξωκυτταρικού διαμερίσματος που αναστέλλει την αγγειογένεση, πειράματα όμως έδειξαν ότι αλλαγές σε μοριακό επίπεδο που πιθανόν καθορίζονται από μεταλλάξεις στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53, τροποποιούν τη δράση της. Η TMP-1 αναστέλλει την αποδόμηση του μεσοκυττάρου υλικού που είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και μετανάστευση των τριχοειδών, ενώ η TMP-2 έχει άμεση αντι-αγγειογενετική επίδραση. Ο PF4 δεσμεύει μία κολλαγενάση, ενώ η

ιντερφερόνη-α αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό αλλά έχει επίσης την δυνατότητα να δεσμεύει απ'ευθείας τους αγγειογενετικούς παράγοντες. Τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί σαν δυνητικός προγνωστικός δείκτης η αγγειογενετική ικανότητα σε νεοπλασματικούς αλλά και προ-νεοπλασματικούς ιστούς, η οποία καθορίζεται από την δυνατότητα ενός συγκεκριμένου κυτταρικού υποπληθυσμού να παράγει κάποιους αυξητικούς παράγοντες και συγκεκριμένα τον VEGF (vascular endothelial GF) και bFGF (basic fibroblast GF), ο οποίος αναγνωρίζεται με την χρήση ειδικών αντισωμάτων και καθορίζει το μεταστατικό δυναμικό του όγκου. Προγνωστική βαρύτητα αποδίδεται και στην αγγειοβρίθεια του όγκου, η οποία μελετάται με την χρήση ανοσοϊστοχημικών παραμέτρων ειδικών για ενδοθηλιακά κύτταρα όπως οι VIII και CD 34 και 31. Ο πληθυσμός των αγγείων μετράται στο σημείο της μέγιστης αγγειακής πυκνότητας. Αναφέρεται ότι αριθμός μεγαλύτερος από 80 εντάσσει τον ασθενή στην κατηγορία της επιβαρυμένης πρόγνωσης αφού σχετίζεται με χαμηλό βαθμό ιστολογικής διαφοροποίησης και αυξημένο αριθμό λεμφαδενικών μεταστάσεων (από κάποιους και με μεγαλύτερο μέγεθος όγκου). Από τους περισσότερους ερευνητές (παρ'ότι άλλοι απέτυχαν να τεκμηριώσουν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις), έχει αναγνωρισθεί σαν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας τόσο σε ασθενείς με θετικούς όσο και σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες.

### **Αγγειακή διήθηση**

Η αγγειακή διήθηση ορίζεται σαν η είσοδος του όγκου μέσα στον αυλό μιάς αρτηρίας ή φλέβας. Η διαμόρφωση αυτή ταυτοποιείται από την παρουσία λείου μυϊκού τοιχώματος υποστηριζόμενου από ελαστικές ίνες με την κλασική μέθοδο αιματοξυλίνης-ηωσίνης. Μπορεί να απαιτηθούν ειδικές για την αναγνώριση του ελαστικού ιστού ιστοχημικές διαδικασίες (χρώση orcein ή Verhoeff van Gieson), για την ταυτοποίηση του αγγειακού τοιχώματος. Αυτό συμβαίνει γιατί ελαστικές ίνες εναποτίθενται συχνά γύρω από πόρους που περιέχουν διηθητικό καρκίνωμα μέσα στον όγκο, διάταξη που είναι δύσκολο να διακριθεί από αυτή της αγγειακής διήθησης. Έτσι μιά και τα μεγάλα αγγειακά στελέχη του μαστού απαρτίζονται από ζεύγη αρτηριών και φλεβών, η αγγειακή διήθηση μπορεί να διαγνωσθεί με βεβαιότητα μόνο όταν ο όγκος εμφανίζεται ανάμεσα στο ένα ή και στα δύο αγγεία όπως αυτά αναγνωρίζονται από την παρουσία του ελαστικού ιστού. Η ύπαρξη φλεγμονής, ίνωσης ή artifact συρρίκνωσης του ιστού οφειλόμενης στην μονιμοποίησή του (ψευδοέμβολα), δυσχεραίνουν περαιτέρω την αναγνώριση της αγγειακής διήθησης και την διαφοροδιάγνωσή της από την λεμφαδενική. Η χρησιμοποίηση ανοσοϊστοχημικών μεθόδων με τα ειδικά αντισώματα για τον παράγοντα VIII και για τα ισσαντιγόνα ABH, περιορίζει μεν τα artifact όχι όμως και την I.E.R.V (interobserver variation) που αποτελεί και ένα σημαντικό πρόβλημα της μεθόδου που περιορίζει την αναπαραγωγιμότητά της.

Η αναφερόμενη συχνότητα της αγγειακής διήθησης στις διάφορες σειρές κυμαίνεται από 4.7 μέχρι 47.2%. Οι διακυμάνσεις αυτές εκτός από την I.E.R.V, αντανακλούν τις μεγάλες διαφορές στον αριθμό των ασθενών, τις κλινικές και παθολογικές παραμέτρους και κυρίως των μεθόδων ταυτοποίησης της αγγειακής διήθησης. Το πρόβλημα είναι ότι έτσι εξάγονται και ποικίλα συμπεράσματα αναφορικά με την προγνωστική βαρύτητα του φαινομένου σε διαφορετικά στάδια της νόσου, δηλαδή αν σχετίζεται με επιβαρυμένη πρόγνωση σε ασθενείς με αρνητικούς ή με θετικούς λεμφαδένες και σε ποιόν



αριθμό. Σε όγκους πάντως μεγέθους μικρότερου από 2 εκ. η συχνότητα της αγγειακής διήθησης είναι μικρότερη από 8%. Στις περισσότερες μελέτες (αν και όχι πάντα σε βαθμό στατιστικά σημαντικό) η αγγειακή διήθηση φαίνεται να συνδέεται σε στάδιο T1N0M0 με αυξημένα ποσοστά υποτροπής, σπλαχνικών μεταστάσεων και θανάτων, ενώ έχει επίσης αναφερθεί ότι η απουσία αγγειακής διήθησης σχετίζεται με αυξημένο αριθμό οστικών μεταστάσεων.

### **Περιλεμφαδενική διήθηση**

Η παρουσία καρκινικών εμβόλων στα λεμφαγγεία του μαστού αποτελεί ένα επιβαρυντικό προγνωστικό σημείο. Τα λεμφαγγεία είναι αγγειακά κανάλια που διαθέτουν ενδοθήλιο όχι όμως στηρικτικό ιστό ελαστικό ή λείο μυϊκό και τα περισσότερα δεν περιέχουν ερυθροκύτταρα. Στην περίπτωση καρκίνου είναι δύσκολος ο διαχωρισμός των λεμφαγγειακών διαστημάτων από ψευδή διαστήματα που δημιουργούνται γύρω από φωλιές καρκινικών κυττάρων εξαιτίας της συρρίκνωσης του ιστού λόγω των τεχνικών μονιμοποίησης. Προσπάθειες να ταυτοποιηθεί η καρκινική διήθηση στα εντός του όγκου λεμφαγγειακά διαστήματα με διάφορες μεθόδους (ανοσοϊστοχημικές αναγνώρισης των ενδοθηλιακών κυττάρων, αντιγόνα ομάδων αίματος, αντιγόνα ομάδων αίματος, παράγοντας VIII, CD34) εμφάνισαν υψηλά ποσοστά λάθους λόγω χρώσης μυοεπιθηλιακών κυττάρων ή εντονότερης δραστηριότητας στρώματος στα περιθώρια του όγκου. Έτσι αξιόπιστη θεωρείται η εκτίμηση της περιλεμφαδενικής διήθησης στο μαζικό παρέγχυμα το άμεσα παρακείμενο στο διηθητικό όριο του όγκου.

Η συχνότητα του φαινομένου ανέρχεται στο 25% περίπου σε ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες, καρκινικά έμβολα στα λεμφαγγεία εμφανίζονται όμως και σε 10-15% των ασθενών με αρνητικούς για καρκινική διήθηση λεμφαδένες. Στην δεύτερη κατηγορία, η παρουσία λεμφαδενικής διήθησης επιβαρύνει την πρόγνωση, αυξάνοντας την πιθανότητα θανάτου στο τριπλάσιο στο στάδιο T1N0M0 και την πιθανότητα υποτροπής μόνο στο στάδιο T2N0M0, η οποία μάλιστα συμβαίνει συνήθως μετά την πενταετία και είναι συστηματική. Η υποτροπή αυτή αφορά κυρίως τις ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν όχι με μαστεκτομή αλλά με επέμβαση διατήρησης του μαστού. Τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα στην πρώτη κατηγορία, αυτή των ασθενών με διηθημένους λεμφαδένες, όπου άλλες υποστηρίζουν επιβάρυνση και άλλες όχι της επιβίωσης.

Σήμερα πάντως οι δύο παράγοντες της αγγειακής και περιλεμφαδενικής διήθησης έχουν αξιολογηθεί σαν βασικοί προγνωστικοί παράγοντες από τις σύγχρονες πολυπαραγοντικές μελέτες και η παρουσία τους αποτελεί ένδειξη εφαρμογής χημειοθεραπευτικής αγωγής ιδιαίτερα στην κατηγορία των ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες.

### **Περινευρική διήθηση**

Το φαινόμενο αυτό δεν είναι ιδιαίτερα συχνό στα διηθητικά καρκινώματα του μαστού κι αυτό μερικά οφείλεται στην απουσία νεύρων σημαντικού μεγέθους στον μαζικό αδένα. Η συχνότητά του ανέρχεται σε περίπου 10% κυρίως σε όγκους χαμηλής διαφοροποίησης και σε συνδυασμό συνήθως με παρουσία περιλεμφαδενικής διήθησης, η προγνωστική του σημασία δε είναι ακόμη υπό αμφισβήτηση.

### **Χαρακτήρας στρώματος**

Έχει περιγραφεί μεγάλη ποικιλία προτύπων διαμόρφωσης του στρώματος του συνδετικού ιστού εντός και γύρω από τα πορογενή διηθητικά καρκινώματα, με διαφορές τόσο ποσοτικές όσο και ποιοτικές. Τα δύο άκρα αντιπροσωπεύονται από το μυελοειδές καρκίνωμα όπου υπάρχει πρακτικά ελάχιστη ποσότητα στρώματος και από τον σκίρρο καρκίνο με εκσεσημασμένη κολλαγονοποίηση. Δεν είναι ξεκάθαρο το κατά πόσον ο χαρακτήρας του στρώματος αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα μιά και σχετίζεται και με άλλους χαρακτήρες διαμόρφωσης των καρκινωμάτων. Έτσι οι όγκοι που περιέχουν ελάχιστη στρωματική αντίδραση είναι καλά περιγεγραμμένοι, χαμηλής πυρηνικής και ιστολογικής διαφοροποίησης, με έντονη λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση, είναι δε αρνητικοί για ορμονικούς υποδοχείς. Αντίθετα οι όγκοι με πυκνό ινώδες στρώμα εμφανίζουν μέτρια διαφοροποίηση και μικρή λεμφοπλασματοκυτταρική αντίδραση και είναι συνήθως θετικοί για ορμονικούς υποδοχείς.

Ο φυσιολογικός μαζικός ιστός περιέχει μία ελάχιστη ποσότητα στρώματος, η οποία αυξάνεται τόσο σε καλοήθεις υπερπλαστικές νόσους όσο και σε καρκίνο, δεν μπορούμε λοιπόν να πούμε με βεβαιότητα ότι η ελάστωση αποτελεί προϊόν παραγωγής των καρκινωματοδών κυττάρων, είναι όμως πιθανό να οφείλεται σε κάποιους παράγοντες που εκκρίνονται στις παθήσεις αυτές.

Η προγνωστική βαρύτητα της ελάστωσης αποτελεί αντικείμενο διαφωνιών, με άλλους ερευνητές να της αποδίδουν ευνοϊκή και άλλους αρνητική σημασία.

### **Ενδοπορικό καρκίνωμα(EIC)**

Τα καρκινώματα του μαστού απαρτίζονται από ενδοπορικό και διηθητικό τμήμα με μεγάλες διακυμάνσεις στην ποσοτική τους κατανομή, από όγκους με μικροσκοπική διήθηση (εστία διαμέτρου μικρότερης του 1 χιλ.) πρακτικά μη προσδιορίσιμη μακροσκοπικά, μέχρι όγκους που αποτελούνται σχεδόν ολοκληρωτικά από διηθητικό καρκίνωμα. Ο Silverberg πρώτος διατύπωσε την άποψη ότι οι όγκοι με περισσότερο έκδηλο ενδοπορικό καρκίνωμα (>50% αναλογικά του όγκου) εμφανίζουν μικρότερο ποσοστό λεμφαδενικών μεταστάσεων και αυξημένα ποσοστά επιβίωσης. Παρατήρησε ακόμη ότι το αυξημένο εντός του όγκου ενδοπορικό στοιχείο συνοδεύεται συνήθως από διηθητικό καρκίνωμα σε άλλα τεταρτημόρια του μαστού, περιέργως όμως αυτό δεν φαίνεται να συνοδεύεται από αυξημένο κίνδυνο υποτροπής όπως θα αναμένονταν, δεδομένου ότι η πιθανότητα σχετίζεται με την κατανομή του διηθητικού καρκινώματος μέσα και γύρω από τον όγκο. Γενικά η υποτροπή μετά λεμφαδενικό καθαρισμό και ακτινοβολία είναι πιά συχνή σε καρκινώματα τύπου comedo ή όταν υπάρχει εκτεταμένο ενδοπορικό καρκίνωμα που υπερβαίνει το 25% του όγκου.

Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται οι συστάσεις για το 2003 των τριών πιά σημαντικών Αμερικανικών εταιρειών για τους προγνωστικούς δείκτες σε καρκινώματα του μαστού, οι οποίες ουσιαστικά συνοψίζουν την υπάρχουσα βιβλιογραφία σχετικά με το συγκεκριμένο αντικείμενο. Βλέπουμε ότι οι πιά ισχυροί είναι το μέγεθος, οι λεμφαδένες, ο ιστολογικός βαθμός, ο μιτωτικός δείκτης, η αγγειακή διήθηση και εν μέρει το ki-67/MIB-1 και το SPF, με την προϋπόθεση ότι χρησιμοποιούνται συγκεκριμένα όρια. Το ίδιο πρόβλημα υπάρχει και για το p53, όπου η εφαρμογή διαφορετικών ορίων θετικότητας,

δυσχεραίνει την συνολική ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Για την πλοειδία του DNA, εκτός από την απουσία ομόφωτου μοντέλου ερμηνείας των ιστογραμμάτων, υπάρχουν οι πρόσθετες δυσκολίες των ψευδών αποτελεσμάτων λόγω των συγκριμάτων των πυρήνων και της συγκάλυψης υπο- και υπερ- διπλοειδικών περιοχών. Απαιτούνται περισσότερες έρευνες με τη χρήση συγκεκριμένης διαδικασίας για την τεκμηρίωση ή μη της προγνωστικής του σημασίας. Οι άλλοι δύο δείκτες είναι ακόμη υπό διερεύνηση.

<b>ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΜΕΡΙΚΑΝΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΕΙΩΝ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΜΕΛΕΤΩΜΕΝΟΥΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ</b>			
<b>Δείκτες</b>	<b>CAP</b>	<b>ASCO</b>	<b>AJCC</b>
Διάμετρος όγκου	↑	-	↑
Ιστ. βαθμός	↑	-	↑
ER	↓	→	-
P53	→	↓	-
HER/neu	→	↓	-
Καθεψίνη D	↓	↓	-
Ki-67	→	-	↑
Πλοειδία DNA	↓	↓	↓
SPF	→	-	↑
Μιτωτικός δείκτης	↑	-	↑
Αγγειακή διήθηση	↑	-	↑
Λεμφαδένες	↑	↑	↑

**CAP:** College of American Pathologists

↑: Χρήσιμος πρ. παράγοντας

**ASCO:** American Society of Clinical Oncology

→ : Αντιφατικά αποτελέσματα

**AJCC:** American Joint Committee on Cancer

↓: Δεν συνιστάται σαν πρ. παρ.

- : Δεν αναφέρεται



### Nottigham Prognostic Index(NPI)

Το 1982 από τον Blamey θεσπίστηκε ένας προγνωστικός δείκτης βασιζόμενος σε ανεξάρτητους στατιστικά σημαντικούς παράγοντες( μέγεθος όγκου, ιστολογικός βαθμός και επίπεδο λεμφαδενικών μεταστάσεων), ο οποίος ονομάστηκε Nottigham Prognostic Index και φαίνεται να προβλέπει με αρκετή ακρίβεια την επιβίωση. Ο τύπος που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του είναι:

$$NPI = (0.17 \times \text{διάμετρος όγκου(εκ.)}) + (0.76 \times \text{στάδιο λεμφαδενικών μεταστάσεων}) + (0.82 \times \text{ιστολογικός βαθμός}).$$

Πρακτικά χρησιμοποιείται μία απλουστευμένη μορφή του τύπου αυτού:

$$NPI = 0.2 \times \text{διάμετρος όγκου} + \text{αριθμός λεμφαδενικών μεταστάσεων} + \text{ιστ.βαθμός}$$

Μία άλλη τροποποίηση της μεθόδου αντικαθιστά τον ιστολογικό βαθμό με το περιεχόμενο του όγκου σε οιστρογονικούς υποδοχείς(ER):

$$NPI = (0.18 \times \text{Διάμετρος όγκου}) + (0.68 \times \text{στάδιο λεμφαδένων}) - (0.52 \times ER)$$

Το στάδιο λεμφαδενικών μεταστάσεων σύμφωνα με τον πρώτο ορισμό του δείκτη από τον Blamey, καθορίζονταν μετά από τυχαία δειγματοληψία 3 λεμφαδένων, ένα από κάθε επίπεδο, περιλαμβάνοντας οπωσδήποτε και λεμφογάγγλιο της έσω μαστικής:

- Στάδιο A: απουσία μεταστατικής διήθησης και από τα τρία επίπεδα λεμφαδένων → Βαθμός 1.
- Στάδιο B: μετάσταση σε λεμφαδένες επιπέδου I → Βαθμοί 2.
- Στάδιο C: μετάσταση σε λεμφαδένες επιπέδου II ή III → Βαθμοί 3.

Στην απλουστευμένη διατύπωση του δείκτη που χρησιμοποιείται ευρέως σήμερα, υπολογίζεται ο αριθμός των προσβεβλημένων λεμφαδένων και όχι το επίπεδό τους:

- 0 λεμφαδένες → Βαθμός 1
- 1-3 λεμφαδένες → Βαθμός 2
- >3 λεμφαδένες → Βαθμός 3.

Ο ιστολογικός βαθμός υπολογίζεται σε αντιστοιχία(1 για βαθμό I, 2 για βαθμό II και 3 για βαθμό III).

Όσο μεγαλύτερο είναι το NPI τόσο χειρότερη είναι η πρόγνωση, ιδιαίτερα για την ομάδα με  $NPI > 5.4$ , σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

NPI	5-ετής επιβίωση	5-ετής επιβίωση	Θάνατοι
	χωρίς υποτροπή	με υποτροπή	
<2.4	94%	4%	2%
<3.4	83%	6%	11%
<4.4	70%	12%	18%

<5.4	51%	19%	30%
>5.4	19%	21%	60%

(Σημείωση:τα ανωτέρω ισχύουν για διάμετρο όγκου<5 εκ.)

Η ακρίβεια του NPI είναι αρκετά μεγάλη όπως έδειξαν κατοπινές μελέτες ιδιαίτερα στον καθορισμό της επιβαρυσμένης προγνωστικά ομάδας και η ευχέρεια χρησιμοποίησης του τον καθιστά σημαντικό εργαλείο στην καθημερινή κλινική πράξη και στις θεραπευτικές εφαρμογές.

### **Πληθυσμιακός έλεγχος(screening)**

#### **Οδηγίες**

Ο πληθυσμιακός έλεγχος για καρκίνο του μαστού πραγματοποιείται με τη μαστογράφηση γυναικών ορισμένης ηλικίας σε καθορισμένα διαστήματα. Υπάρχουν δύο βασικά στοιχεία που υποστηρίζουν αυτή την πρακτική: 1)μείωση της θνητότητας από καρκίνο του μαστού κατά 25-30% σε διάφορες μελέτες και 2)το ότι οι καρκίνοι που αποκαλύπτονται με τον πληθυσμιακό έλεγχο έχουν 50% μικρότερη πιθανότητα διηθημένων λεμφαδένων από καρκίνους ίδιου μεγέθους που έγιναν συμπτωματικοί. Η βασική σύσταση είναι γυναίκες ηλικίας 50-70 ετών να μαστογραφούνται ανά διετία, την πρώτη φορά με δύο λήψεις ανά μαστό και τις επόμενες με μία. Επίσης σημαντική είναι η αυτοεξέταση των μαστών της κάθε γυναίκας κάθε 1 με 2 μήνες( αν και στις μέχρι σήμερα μελέτες δεν έχει αποδειχτεί μείωση της θνητότητας με την αυτοεξέταση) και η επίσκεψή της πριν από την ηλικία των 40 ετών σε ειδικό ιατρείο μαστού, ώστε να καθοριστεί ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου και η συχνότητα παρακολούθησής της με σύγχρονη κλινική εξέταση των μαστών και μαστογραφία μιά και οι δύο μέθοδοι θεωρούνται συμπληρωματικές. Ανώτερο όριο πληθυσμιακού ελέγχου δεν υπάρχει. Δεδομένου ότι η συχνότητα του καρκίνου του μαστού αυξάνει με την ηλικία ενώ ταυτόχρονα αυξάνει και η ευαισθησία της μαστογραφίας(λόγω αύξησης της πυκνότητας των μαστών), ο έλεγχος πρέπει να συνεχίζεται εκτός αν υπάρχει αυξημένη νοσηρότητα από άλλη αιτία.

Τα τελευταία χρόνια έχει καθοριστεί και ομάδα υψηλού κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού στην οποία ο έλεγχος θα πρέπει να είναι πιο εντατικός ώστε να εξασφαλίζεται η δευτερογενής πρόληψη δηλ. η έγκαιρη διάγνωση. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει γυναίκες με:

- Ατομικό αναμνηστικό καρκίνου του μαστού: φυσική εξέταση κάθε 3-4 μήνες για τα πρώτα 2 χρόνια από τη διάγνωση της νόσου, 2 φορές το χρόνο από τα 2 μέχρι τα 5 χρόνια και μαστογραφία κάθε χρόνο.
- Ατομικό αναμνηστικό LCIS: 2 φορές το χρόνο φυσική εξέταση και μαστογραφία κάθε χρόνο
- Ατομικό αναμνηστικό ατυπίας: φυσική εξέταση και μαστογραφία μία φορά το χρόνο
- Ιστορικό έκθεσης σε ακτινοβολία, θετικό οικογενειακό ιστορικό, γενετικά σύνδρομα με αυτοσωματικό κυρίαρχο πρότυπο μεταβίβασης καρκίνου και γυναίκες με μετάλλαξη στα γονίδια BRCA1-2: φυσική εξέταση 2 φορές το χρόνο και μαστογραφία 1 ή 2 φορές το χρόνο ξεκινώντας όμως όχι αργότερα από τα 35 έτη.

### **Πρωτογενής πρόληψη**

Αφορά την αποτροπή εμφάνισης της νόσου, πράξη εξαιρετικά δυσχερή για τη συγκεκριμένη οντότητα, γιατί οι προδιαθεσικοί παράγοντες δεν είναι πλήρως διευκρινισμένοι και ο λανθάνων χρόνος επίδρασής τους στο μαστό είναι εξαιρετικά μακρύς. Η πιο κοινή πρακτική που ακολουθείται σήμερα σ' αυτή την κατεύθυνση είναι η χορήγηση ταμοξιφαίνης σε ομάδες υψηλού κινδύνου. Η μελέτη NSABP-P1 έδειξε 49% μείωση του κινδύνου, με το να ελαττώνει την συχνότητα ετερόπλευρου καρκίνου σε γυναίκες με πρόσφατο ιστορικό καρκίνου του μαστού, να παρατείνει την επιβίωση όταν χορηγείται συμπληρωματικά σε στάδιο νόσου 1 ή 2 και να αντιμετωπίζει αποτελεσματικά την προχωρημένη νόσο σε συνδυασμό ή όχι με χημειοθεραπεία. Μέχρι σήμερα πάντως δεν έχει αποδειχτεί να αναστέλλει την καρκινογένεση, ενώ επιπλέον σε ηλικίες άνω των 50 παρουσιάζει σημαντικές παρενέργειες (καρκίνος ενδομητρίου, εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση, πνευμονική εμβολή). Σήμερα δοκιμάζεται μία άλλη ουσία, η ραλοξιφαίνη, εκλεκτικός ρυθμιστής οιστρογονικών υποδοχέων, που θεωρείται ότι εμφανίζει ελαττωμένη τοξικότητα.

**Προφυλακτική μαστεκτομή:** Είναι πιθανό η πρακτική αυτή τα επόμενα χρόνια να κερδίσει έδαφος δεδομένης της εξέλιξης του γενετικού ελέγχου. Αν και σήμερα υπάρχουν αρκετές επιφυλάξεις μιά και είναι ανέφικτη η ολοκληρωτική αφαίρεση του μαζικού ιστού, η ένδειξη μπορεί να τεθεί στις ακόλουθες ομάδες: 1. γενετικά σύνδρομα 2. ισχυρό οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού 3. ατομικό αναμνηστικό LCIS ή ετερόπλευρου καρκίνου 4. ατομικό αναμνηστικό ατυπίας σε συνδυασμό με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού. Η εγχείρηση πρέπει να είναι απλή μαστεκτομή με σύγχρονη αφαίρεση της θηλής και όχι υποδόρια μαστεκτομή η οποία αφήνει μεγάλη ποσότητα ιστού πίσω από τη θηλή. Μπορεί να συνοδευτεί από άμεση πλαστική αποκατάσταση. Πρόσφατη μελέτη του 1999, αναφέρει μείωση κατά 90% στην επίπτωση και την πιθανότητα θανάτου από τη νόσο.

### **ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΑΔΙΟΥ 1 ΚΑΙ 2 ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**

#### **Χειρουργική θεραπεία**

Η πρώτη επέμβαση που εφαρμόστηκε για τον καρκίνο του μαστού ήταν η ριζική μαστεκτομή από τον Halsted το 1894, η οποία περιλάμβανε en block εκτομή του όγκου, των παρακείμενων ανατομικών κατασκευών του θωρακικού τοιχώματος και του περιεχομένου της μασχαλιαίας κοιλότητας και παρέμεινε για περίπου 75 χρόνια η βάση της θεραπείας του μαστού δεδομένης της αποτελεσματικότητάς της στον έλεγχο των τοπικών επιπλοκών (περίπου 6%). Το 1978 ο Urban πρότεινε την εκτεταμένη ριζική μαστεκτομή με συναφαίρεση και των έσω μαστικών λεμφαδένων. Οι σοβαρές όμως επιπλοκές αυτών των ριζικών επεμβάσεων (επηρεασμένη κινητικότητα και χρόνιο λεμφοίδημα στο 25 έως 53% των ασθενών) σε συνδυασμό με την αποτυχία τους να επιδείξουν στατιστικό πλεονέκτημα αναφορικά με την συνολική επιβίωση, κατέχυναν τις θεραπευτικές προσπάθειες σε συντηρητικότερες εκτομές. Η τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή κατά Patey με αφαίρεση μόνο της περιτονίας του ελάσσονος θωρακικού ήταν η μέθοδος επιλογής για πολλά χρόνια αφού επιτύγχανε τοπικό έλεγχο της νόσου χωρίς μείζονες επιπλοκές. Σήμερα από τις περισσότερες μελέτες έχει αποδειχτεί ότι κάτω από ορισμένες προϋποθέσεις και σε πρώιμο στάδιο καρκίνου του

μαστού η ογκεκτομή σε συνδυασμό με μασχαλιαίο λεμφαδενικό καθαρισμό και ακτινοβολήση είναι τόσο αποτελεσματική όσο και η τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή. Δύο μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες, η NCI-Milan και η NSABP-B06 απέδειξαν ότι οι επεμβάσεις διατήρησης του μαστού(ογκεκτομή: αφαίρεση πρωτοπαθούς εστίας περιβαλλόμενης από ικανό όριο μαζικού ιστού-τεταρτεκτομή:αφαίρεση πρωτοπαθούς εστίας με όλο το τεταρτημόριο του μαστού όπου αυτή εντοπίζεται) σε συνδυασμό με μασχαλιαίο λεμφαδενικό καθαρισμό, είναι απόλυτα ασφαλείς αν συνδυαστούν με χημειοθεραπεία και μετεγχειρητική ακτινοβολήση της περιοχής.

Οι ενδείξεις και αντενδείξεις των επεμβάσεων αυτών αναλύονται στους παρακάτω πίνακες:

<b>Ενδείξεις επεμβάσεων διατήρησης του μαστού</b>
Δυνατότητα «καθαρών»(αρνητικών) εγχειρητικών ορίων
Ικανοποιητική αναλογία του όγκου προς τον μαστό ώστε να επιτευχθεί καλό αισθητικό αποτέλεσμα
Μονοεστιακή κακοήθεια
Μικρές τροποποιήσεις στον υπολειπόμενο μαζικό αδένα που να επιτρέπουν ικανοποιητική παρακολούθηση με φυσική εξέταση και μαστογραφία

<b>Αντενδείξεις επεμβάσεων διατήρησης του μαστού</b>
Επιλογή της μαστεκτομής από την ασθενή
Όγκος διαμέτρου >5 εκ.
Οποιοδήποτε μεγέθους όγκος που δεν είναι δυνατόν να εξαιρεθεί χωρίς σημαντική παραμόρφωση
Πολυκεντρική νόσος
Επιμένοντα θετικά για καρκίνο εγχειρητικά όρια και μετά την 2 <sup>η</sup> προσπάθεια για ογκεκτομή
Θολή μαστογραφική εικόνα που επηρεάζει την μετεγχειρητική παρακολούθηση
Αδυναμία εφαρμογής μετεγχειρητικής ακτινοβολήσης



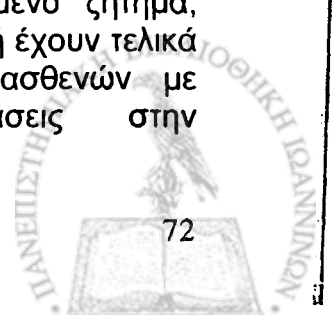
Αδυναμία συμμόρφωσης του ασθενούς προς την προτεινόμενη μετεγχειρητική αγωγή
Κύηση 1 <sup>ου</sup> ή 2 <sup>ου</sup> τριμήνου όπου η καθυστέρηση της ακτινοβολήσης για μετά τον τοκετό αντενδείκνυται
Ασθενής με νόσο του κολλαγόνου(π.χ.σκληρόδερμα ή ερυθηματώδη λύκο)
Ασθενής που ακτινοβολήθηκε πρόσφατα στο θωρακικό τοίχωμα(π.χ. για νόσο του Hodgkin)

Πρέπει να σημειωθεί ότι η ηλικία, οι λεμφαδενικές μεταστάσεις και η προβλεπόμενη συμπληρωματική θεραπεία είναι παράγοντες που δεν επηρεάζουν την επιλογή των επεμβάσεων αυτών. Το σημαντικό είναι να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος τοπικής υποτροπής σε συνδυασμό με ένα καλό κοσμητικό αποτέλεσμα. Ένα αμφιλεγόμενο θέμα είναι η ποσότητα του ιστού που θα αφαιρεθεί λόγω του κινδύνου της πολυκεντρικότητας(πολλαπλές ανεξάρτητες καρκινικές εστίες σε τεταρτημόριο άλλο από του πρωτογενούς όγκου -διάφορη από την πολυεστιακότητα: πολλαπλές καρκινικές εστίες στην γειτονία του πρωτογενούς όγκου), η οποία όμως όπως καταδείχτηκε από τον Holland είναι μάλλον σπάνια(σε αντίθεση με την πολυεστιακότητα που είναι σχετικά συχνό φαινόμενο). Ο πιο σημαντικός παράγοντας που σχετίζεται με αύξηση της πιθανότητας τοπικής υποτροπής μετά από επέμβαση διατήρησης του μαστού είναι το εκτεταμένο ενδοτορικό καρκίνωμα(EIC). Παρατηρείται όταν το μη διηθητικό τμήμα καταλαμβάνει περισσότερο από το 25% της καρκινικής μάζας και ευθύνεται για 20% περισσότερες υποτροπές σε σχέση με τις αρνητικές περιπτώσεις. Η παρουσία του αποτελεί ένδειξη για αφαίρεση μεγαλύτερης ποσότητας ιστού.

Στις περιπτώσεις που η μαστεκτομή είναι επιβεβλημένη, οι περισσότεροι συνιστούν να γίνει στον ίδιο χρόνο και η αποκατάσταση του μαστού, είτε με τοποθέτηση σιλικονούχων προθέσεων είτε με τη χρησιμοποίηση μυοδερματικών κρημών από τον πλατύ ραχιαίο ή τον ορθό κοιλιακό μυ.

*Λεμφαδενικός καθαρισμός* Το σκεπτικό της αφαίρεσης των μασχαλαίων λεμφαδένων σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού είναι η παροχή προγνωστικών πληροφοριών, η καθοδήγηση της ενδεικνυόμενης συμπληρωματικής θεραπείας και ο τοπικός έλεγχος της νόσου(το τελευταίο σύμφωνα με την NSABP-B04 μπορεί να εξασφαλιστεί και με την ακτινοβολήση της περιοχής). Αν η λεμφαδενεκτομή ή η ακτινοβολήση της μασχάλης παραληφθεί(η δεύτερη δεν χρησιμοποιείται συχνά λόγω του υψηλού ποσοστού επιπλοκών), το ποσοστό υποτροπής είναι πολύ υψηλό(16 έως 37% σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες και ακόμη υψηλότερο σε θετικούς).

Η έκταση της λεμφαδενεκτομής παραμένει ένα αντικρουόμενο ζήτημα, δεδομένου ότι το 30% των ασθενών με κλινική εξέταση αρνητική έχουν τελικά διηθημένους λεμφαδένες και αντίστροφα το 30% των ασθενών με ψηλαφητούς λεμφαδένες δεν εμφανίζουν μεταστάσεις στην





παθολογοανατομική εξέταση. Έχει αποδειχτεί ότι η σύγχρονη εξαίρεση των λεμφαδένων επιπέδου 1 και 2 εξασφαλίζει το μικρότερο ποσοστό ψευδώς αρνητικών ευρημάτων (2% έναντι 15-45% σε τυχαίο δειγματισμό και 10-12% λήψη μόνο του επιπέδου 1). Η επιβίωση εξαρτάται από την διήθηση και τον αριθμό των διηθημένων λεμφαδένων (10-ετής επιβίωση 65-76% σε N(-) και 28-48% σε N(+)) ασθενείς, αλλά όχι από το επίπεδο. Εκτομή λεμφαδένων επιπέδου 3 συνιστάται μόνο σε περιπτώσεις εξαιρετικά μεγεθυσμένων λεμφαδένων και μόνο για βελτίωση του τοπικού ελέγχου. Πρακτικά λοιπόν αφαιρείται μόνο ο ιστός κάτω από την μασχαλιαία φλέβα, χωρίς να διίνιζεται ο ελάσσονας θωρακικός μυς.

Αν και οι μείζονες επιπλοκές της λεμφαδενεκτομής (ρήξη-θρόμβωση μασχαλιαίων αγγείων, νευροπάθεια) είναι σπάνιες, οι ελάσσονες είναι συχνές και μπορεί να προκαλέσουν σημαντική νοσηρότητα. Περιλαμβάνουν τη φλεγμονή του τραύματος, σχηματισμό σερώματος, σύνδρομο διαθωρακικού βρογχιακού νεύρου (πόνος και παραισθησία στο άνω άκρο και το πρόσθιο θωρακικό τοίχωμα), επηρεασμένη κινητικότητα, χρόνιος πόνος και λεμφοίδημα. Η συχνότητα του λεμφοιδήματος ποικίλλει από 6 έως 17% στις διάφορες σειρές, με την συχνότητα να αυξάνει αναλογικά με την έκταση εκτομής, τις μετεγχειρητικές επιπλοκές από το τραύμα, την ακτινοβολήση, την παρουσία μεταστάσεων, την ηλικία και την παχυσαρκία.

Στην προσπάθεια να περιοριστούν οι επιπλοκές και δεδομένης και της ευρείας χρήσης της χημειοθεραπείας, επιχειρήθηκε να οριοθετηθεί μία ομάδα ασθενών με μικρή πιθανότητα λεμφαδενικών μεταστάσεων. Έτσι σε εκείνους που εμφανίζουν όγκους μικρότερους από 1 εκ., η πιθανότητα μετάστασης είναι 12%, ενώ σ'αυτούς με μικροδιήθηση (μονήρης εστία μικρότερη από 2 χιλ.) 5%. Για τις περιπτώσεις αυτές για την παροχή προγνωστικών πληροφοριών χωρίς λεμφαδενεκτομή, χρησιμοποιήθηκε η βιοψία του λεμφαδένα φρουρού που ορίζεται ως ο πρώτος λεμφαδένας που δέχεται την λεμφική αποχέτευση του όγκου και καθορίζεται με την ένεση μπλέ χρωστικής ή ραδιοϊσοτόπου ή και των δύο (μικρές διαφορές μεταξύ των μεθόδων) στην περιοχή του όγκου. Μετά την επισήμανσή του αφαιρείται και η ιστολογική του εξέταση είναι απόλυτα αντιπροσωπευτική για τους υπόλοιπους λεμφαδένες της μασχάλης. Αν ο λεμφαδένας αυτός δεν είναι διηθημένος δεν χρειάζεται να γίνει λεμφαδενικός καθαρισμός της μασχάλης παρά μόνο αν οι λεμφαδένες είναι κλινικά ψηλαφητοί. Αν είναι διηθημένος πρέπει να ακολουθήσει τυπικός λεμφαδενικός καθαρισμός. Τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα της μεθόδου κυμαίνονται ανάλογα με την εμπειρία του κέντρου από 0 έως 12%. Η μέθοδος αντενδίδνεται στις περιπτώσεις με μεγεθυσμένους λεμφαδένες, σε όγκους μεγαλύτερους από 5 εκ. και σε ασθενείς που έχουν λάβει προεγχειρητική χημειοθεραπεία, γιατί σε αυτές τις περιπτώσεις είναι δυνατόν τα καρκινικά κύτταρα να μπλοκάρουν τα λεμφαγγεία, καθώς και σε ασθενείς σταδίου 3. Η εδραίωση της τεχνικής αυτής στο μέλλον πιστεύεται ότι θα τροποποιήσει τους θεραπευτικούς χειρισμούς ώστε να εξασφαλίζεται το καλύτερο αποτέλεσμα με τις μικρότερες κατά το δυνατόν επιπλοκές.

*Συμπερασματικά* η προτεινόμενη χειρουργική θεραπεία καρκίνου του μαστού σταδίου 1 και 2 (όπως έχει καθοριστεί από το National Institute of Health Consensus Development Conference on the Treatment of Early Breast Cancer), περιλαμβάνει: 1) επέμβαση διατήρησης του μαστού 2) Μασχαλιαίο λεμφαδενικό καθαρισμό επιπέδων 1 και 2.

## Χημειοθεραπεία-Ορμονοθεραπεία

### α) Ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες

Παρά το μεγάλο αριθμό μελετών που αφορούν πληθώρα προγνωστικών παραγόντων στη συγκεκριμένη ομάδα, η βασική παράμετρος που καθορίζει την χορήγηση ή όχι συμπληρωματικής θεραπείας είναι το μέγεθος. Το κριτικό όριο είναι το 1 εκ. Όγκοι με διάμετρο  $\leq 1$  εκ., εμφανίζουν 10-ετή επιβίωση άνω του 90% και σπάνια θα λάβουν συμπληρωματική θεραπεία.

Σε δύο μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες εξετάστηκε η χορήγηση χημειοθεραπείας και ορμονοθεραπείας σε N(-) ασθενείς με όγκους  $>1$  εκ. Η πρώτη (NSABP-13), αφορούσε ασθενείς με αρνητικούς υποδοχείς. Στην ομάδα που δόθηκε μεθοτρεξάτη+5-φλοουρακίλη και λευκοβορίνη σε 12 κύκλους, παρατηρήθηκε βελτίωση του χρονικού διαστήματος ελεύθερου νόσου (74 έναντι 59% της ομάδας χωρίς αγωγή) και της επιβίωσης (89 έναντι 80%) και σε προ και σε μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς. Σε συνέχεια της μελέτης αυτής η NSABP-19, έδειξε την καλύτερη αποτελεσματικότητα του τριπλού σχήματος (κυκλοφωσφαμίδη-μεθοτρεξάτη-φλοουρακίλη (CMF)) έναντι του διπλού (MF) και στην αύξηση του χρονικού διαστήματος ελεύθερου νόσου (88 έναντι 73%) και στην συνολική επιβίωση (88 έναντι 85%).

Σε μία παράλληλη μελέτη, την NSABP-14 εξετάστηκε η χορήγηση ταμοξιφένης σε ασθενείς με θετικούς υποδοχείς και βρέθηκε ότι αυξάνει το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου από 77 σε 83%, το πλεονέκτημα όμως αφορούσε μόνο την πρώτη 5-ετία χορήγησης. Εκτός από την ταμοξιφένη που είναι αντιοιστρογόνο δηλ. δεσμεύει τους στεροειδείς υποδοχείς στο καρκινικό κύτταρο και αποτελεί το φάρμακο πρώτης επιλογής, μπορεί να χορηγηθούν και ορμονικά σκευάσματα που έχουν σαν στόχο την ελάττωση έως εξάλειψη των επιπέδων των οιστρογόνων (LHRH ανάλογα, αναστολείς της αρωματάσης, ωθηκεκτομή). Σε προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς στα πλαίσια ενός πολυδύναμου θεραπευτικού σχήματος, πρέπει πριν από την χορήγηση αντιοιστρογόνων να ανασταλεί η λειτουργία των ωθηκών με LHRH ανάλογα. Σε ανάπτυξη αντοχής στα αντιοιστρογόνα ή σε μη ανταπόκριση η θεραπεία δεύτερης γραμμής περιλαμβάνει την χορήγηση αναστολέων της αρωματάσης ή αντιοιστρογόνων 2<sup>ης</sup> ή 3<sup>ης</sup> γενιάς. Η θεραπευτική πρακτική χορήγησης ορμονοθεραπείας σε όγκους που δεν εκφράζουν υποδοχείς είναι αποδεκτή.

### β) Ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες

Μετα-ανάλυση 11000 ασθενών έδειξε ότι με την χορήγηση χημειοθεραπείας έχουμε ελάττωση των υποτροπών κατά 30% και των θανάτων κατά 18%, τα αποτελέσματα δε ήταν ακόμη καλύτερα στις προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα σχήματα είναι δοξορουβικίνη (αδριαμυκίνη) +κυκλοφωσφαμίδη (AC) ή CMF ή AC σε συνδυασμό με ταξάνες (Taxol). Σε ασθενείς με περισσότερους από 10 διηθημένους λεμφαδένες μία πιθανή αγωγή περιλαμβάνει υψηλή δόση χημειοθεραπείας σε συνδυασμό με μεταμόσχευση κυττάρων μυελού.

Τα τελευταία χρόνια δοκιμάζεται και ανοσοθεραπεία με μονοκλωνικό αντίσωμα (Herceptin) κατά της ογκοπρωτεΐνης HER2/neu στους (+) όγκους.

Συμπερασματικά σε ασθενείς με:

- Όγκους  $\leq 1$  εκ. και N(-) χορηγείται χημειοθεραπεία μόνο σε ειδικές περιπτώσεις (π.χ. όγκοι με αγγειακή διήθηση).



- Όγκους > 1 εκ. N(-)+ER/PR(-) χορηγείται CMF (ονομάζεται και χημειοθεραπεία πρώτης γραμμής) ή AC ειδικά σε HER2/neu(+).
- Όγκους > 1 εκ. N(-)+ER/PR(+) χορηγείται ένα από τα προηγούμενα χημειοθεραπευτικά σχήματα και ακολουθεί η χορήγηση αντιοιστρογόνου για μία 5ετία.
- Όγκους N(+) χορηγείται AC ή CMF ή AC+Taxol και αν είναι ER/PR(+) ακολουθεί η χορήγηση αντιοιστρογόνου για μία 5ετία.

### **Ακτινοβολία**

Θεωρείται απαραίτητο συμπλήρωμα των επεμβάσεων διατήρησης του μαστού. Σε σχετικές μελέτες διαπιστώθηκε ότι σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο συστηματικής υποτροπής (όπως είναι οι ασθενείς με διηθημένους λεμφαδένες), πρέπει να προηγείται η χημειοθεραπεία και να ακολουθεί η ακτινοβολία της περιοχής γιατί έτσι εξασφαλίζεται αύξηση της επιβίωσης και ελάττωση της υποτροπής περίπου κατά 10%. Σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες μπορεί να προηγηθεί η ακτινοβολία.

Η χορήγηση ακτινοβολίας μετά από μαστεκτομή αποτελεί ακόμη ένα αμφιλεγόμενο ζήτημα. Η πιθανότητα τοπικής υποτροπής μετά από μαστεκτομή εξαρτάται από τις λεμφαδενικές διηθήσεις: σε N(+) είναι 25% και μάλιστα 9% για 1-3 θετικούς λεμφαδένες και 36% για >4, ενώ για N(-) 5% και επιπλέον το πρόβλημα είναι ότι μόνο το 50% από τις υποτροπές αυτές απαντά στη θεραπεία. Μετά από ακτινοβολία οι μελέτες έδειξαν 30% ελάττωση στην υποτροπή και στην θνητότητα. Σήμερα η πρακτική είναι να ακτινοβολούνται μετά από μαστεκτομή οι ασθενείς με T3 ή T4 όγκους, με διηθημένα εγχειρητικά όρια και αυτές με περισσότερους από 4 διηθημένους λεμφαδένες, ενώ σε προεμμηνοπαυσιακές με 1-3 λεμφαδένες θα πρέπει να συνεκτιμώνται και άλλοι παράγοντες.

### **ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΑΔΙΟΥ 3**

Στη φάση αυτή ο καρκίνος θεωρείται τοπικά προχωρημένος και χρησιμοποιούνται πολυπαραγοντικά θεραπευτικά σχήματα ξεκινώντας με προεγχειρητική χημειοθεραπεία (neoadjuvant) και ακολουθεί η χειρουργική επέμβαση και η ακτινοβολία της περιοχής. Η ανταπόκριση στην αγωγή αυτή φτάνει το 60 με 80% και η 5-ετής επιβίωση των ασθενών αυτών που αν αντιμετωπιστούν μόνο με χειρουργική επέμβαση είναι 5%, φτάνει το 64% στο στάδιο 3<sup>A</sup> και το 33% σε στάδιο 3<sup>B</sup>, με συνολική επιβίωση 80-90%. Λόγω της εντυπωσιακής συνήθως ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία με μείωση του μεγέθους της πρωτοπαθούς εστίας είναι δυνατή και χειρουργική επέμβαση διατήρησης του μαστού εφόσον η μαστογραφία μετά την χημειοθεραπεία δείχνει περιορισμένη νόσο και με την προϋπόθεση τα εγχειρητικά όρια να είναι ελεύθερα νόσου.

Σε τοπικά πολύ προχωρημένη νόσο (ο μαστός είναι εξελκωμένος, ρυπαρός ή αιμορραγεί ή αν υπάρχουν εξελκωμένες μάζες στη μασχαλιαία κοιλότητα) η μαστεκτομή έχει μόνο συμπληρωματικό ρόλο με μόνη ελπίδα της ασθενούς την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία η οποία μπορεί να είναι και περιοχική με εκλεκτικό καθετηριασμό των τροφοφόρων αρτηριών, πρακτική η οποία δίνει παράλληλα τη δυνατότητα in vivo εκτίμησης της χημειοευαισθησίας του όγκου και επιλογή της καταλληλότερης συμπληρωματικής τοπικής ή συστηματικής θεραπείας.

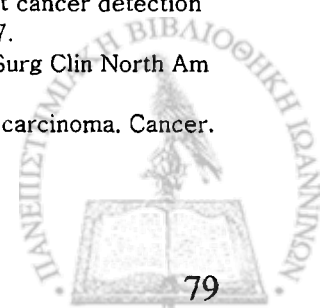
## ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ

Οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού καταλήγουν από τη συστηματική νόσο και όχι από την τοπική υποτροπή(αν και παραμένει αδιευκρίνηστο το αν η τοπική υποτροπή μπορεί να γίνει εστία συστηματικής διασποράς). Η μεταστατική νόσος πολύ σπάνια θεραπεύεται. Θεωρείται ότι αποτελεί δείκτη κάμψης της βιολογικής αντίστασης του ξενιστή, σηματοδοτώντας την μικροσκοπική έκφραση ενός γεγονότος που βρισκόταν ήδη εν εξελίξει σε κυτταρικό επίπεδο. Η μέση επιβίωση των ασθενών δεν υπερβαίνει τα 2 έτη και έτσι ο σκοπός της χορηγούμενης αγωγής είναι η ανακούφιση από τα συμπτώματα και η κατά το δυνατόν παράταση της ζωής με επιλογές που πρέπει να είναι χαμηλής τοξικότητας. Η πιο συχνή μεταστατική εστία είναι τα οστά και ακολουθούν οι πνεύμονες και οι μαλακοί ιστοί. Για τις οστικές μεταστάσεις χρησιμοποιούνται τα διφωσφονικά γιατί ελαττώνουν τον πόνο και τις επιπλοκές των μεταστάσεων αυτών. Σε ορμονοευαίσθητους όγκους ή σε ασθενείς ηλικιωμένους ή κακής γενικής γενικής κατάστασης μπορεί να προηγηθεί ορμονοθεραπεία. Σε ασθενείς με μεταστάσεις που απειλούν τη ζωή ή όγκους με αρνητικούς υποδοχείς, η χημειοθεραπεία είναι η μόνη επιλογή.

1. Aaltoma S, Lipponen P, Eskelinen M. Mitotic indexes as prognostic factors in female breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1992;118:75-81.
2. Adair FE, Berg J, Joubert L. Long-term follow-up of breast cancer patients: the 30-year report. *Cancer* 1974;33:1145-1150.
3. American Society of Clinical Oncology. Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1996;14:2843-2877.
4. American Society of Clinical Oncology. Update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:793-795.
5. American Joint Committee on Cancer. Breast. In: *AJCC Cancer Staging Manual* 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raven 1997.
6. American Joint Committee on Cancer. *AJCC cancer staging manual*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997:172.
7. Attiga N, Mirza MD, Nadeem Q. Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg* 2002;235:10-26.
8. Bade AA, Tio J, Petru E. T1 breast cancer: identification of patients at low risk of axillary lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat*. 2002 Nov;76(1):11-7.
9. Bajou K, Lewalle JM, Martinez CR. Human breast adenocarcinoma cell lines promote angiogenesis by providing cells with uPA-PAI-1 and by enhancing their expression. *Int J Cancer*. 2002 Aug 10;100(5):501-6.
10. Bai M, Agnantis NJ, Kamina S. In vivo cell kinetics in breast carcinogenesis. *Breast Cancer Res*. 2001;3(4):276-83.
11. Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol*. 2003 May 15;21(10):1973-9.
12. Baselga J, Mendelsohn J. The epidermal growth factor receptor as a target for therapy in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 1994;29:127.
13. Berchem G, Glondou M, Gleizes M. Cathepsin-D affects multiple tumor progression steps in vivo: proliferation, angiogenesis and apoptosis. *Oncogene*. 2002 Aug 29;21(38):5951-5.
14. Bettelheim R, Penman HG, Thornton-Jones H. Prognostic significance of peritumoral vascular invasion in breast cancer. *Br J Cancer* 1984;50:771.
15. Bilik R, Mor C, Haraz B. Characterization of T-lymphocyte subpopulations of infiltrative breast cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1989;28:143.
16. Booser DJ, Hortobagyi GN. Treatment of locally advanced breast cancer. *Semin Oncol* 1992;19:278-285.
17. Broet P, Spyrtos F, Romain S. Prognostic value of uPA and p53 accumulation measured by quantitative biochemical assays in 1245 primary breast cancer patients: A multicenter study. *Br J Cancer* 1999;80:536-545.
18. Carter C, Allen C, Henson D. Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181.
19. Chadha M, Chabon AB, Friedman P. Predictors of axillary lymph node metastases in patients with T1 breast cancer: a multivariate analysis. *Cancer* 1994;73:350.
20. Chen YY, Schnitt SJ. Prognostic factors for patients with breast cancers 1 cm and smaller. *Breast Cancer Res Treat* 1998;51:209-225.
21. Ciocca DR, Tandon AK, Fuqua SAW. Heat shock protein 70 with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:570.
22. Clahsen PC, Van de Velde CJ, Duval C. The utility of mitotic index, estrogen receptor and ki-67 measurements in the creation of novel prognostic indices for node-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 1999;25:356-363.
23. Cohen P, Guidi A, Harris J. Microvessel density and local recurrence in patients with early stage breast cancer treated by wide excision above (WEA). *Lab Invest* 1994;70:14A.
24. Dalton LW, Page DL, Dupont WD. Histologic grading of breast carcinoma. A reproducibility study. *Cancer* 1994;73:2765.
25. De La Rochefordiere A, Asselain B, Campana F. Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet* 1993;341:1039.
26. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic or immune therapy: 133 randomized trials involving 31,000 recurrences and 24,000 deaths among 75,000 women. *Lancet* 1992; 339:71-85.
27. Elledge RM, McGuire WL. Prognostic factors and therapeutic decisions in axillary node-negative breast cancer. *Annu Rev Med* 1993;44:201-220.
28. Elledge RM, Green S, Ciocca D. HER-2 expression and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer: a Southwest Oncology Group Study. *Clin Cancer Res* 1998;4:7-12.
29. Ferguson DJ, Meier P, Karrison T. Staging of breast cancer and survival rates. An assessment based on 50 years of experience with radical mastectomy. *JAMA* 1982;248:1337-1341.

30. Ferrandina G, Scambia G, Bardelli F. Relationship between cathepsin-D content and disease-free survival in node negative breast cancer patients. *Br J Cancer* 1997;76:661-666.
31. Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B. The pathology of invasive breast cancer: a syllabus derived from findings of the National Surgical Adjuvant Breast Project (protoc. 4). *Cancer* 1975;36:1.
32. Fisher B, Montague A, Redmond C. Comparison of radical mastectomy with alternatives for primary breast cancer: a first report of results from a prospective randomized clinical trial. *Cancer* 1977;39:2827.
33. Fisher B. A commentary on the role of the surgeon in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1981;1:17.
34. Fisher B, Redmond C, Fisher ER. Ten-year results of a randomized clinical trial comparing radical mastectomy and total mastectomy with or without radiation. *N Engl J Med* 1985;312:674.
35. Fisher B, Redmond C, Fisher ER. Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathological characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06. *J Clin Oncol* 1988;6:1076-1087.
36. Fisher B, Redmond C, Poisson R. 8-year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and lumpectomy with or without irradiation in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 1989;320:822.
37. Fisher B, Redmond C, Dimitrov NV. A randomized clinical trial evaluating sequential methotrexate and fluorouracil in the treatment of patients with node negative breast cancers who have estrogen-receptor-negative tumors. *N Engl J Med* 1989;320:473-478.
38. Fisher B, Constantino J, Redmond C. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors. *N Engl J Med* 1989;320:479-484.
39. Fisher B, Dignam J, Bryant J. Five versus more than five years of tamoxifen therapy for breast cancer patients with negative lymph nodes and estrogen-receptor-positive tumors. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1529-1542.
40. Fisher B, Dignam J, Mamounas EP. Sequential methotrexate and fluorouracil for the treatment of node negative breast cancer patients who estrogen-receptor-negative tumors: 8-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-13 and the first report of findings from NSABP B-19 comparing methotrexate and fluorouracil with conventional cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil. *J Clin Oncol* 1996;14:1982-1992.
41. Fisher B, Constantino JP, Wickerham L. Tamoxifen for the prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project PI study. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1371-1388.
42. Fitzgibbons PL, Page KL, Weaver D. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999; *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:966-975.
43. Fletcher S, Black W, Harris R. Special Article: Report on the International Workshop on Screening for Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1644.
44. Foekens JA, Look MP, Bolt-de-Vries J. Cathepsin D in primary breast cancer: prognostic evaluation involving 2810 patients. *Br J Cancer* 1999;79:300-307.
45. Fournier D, Weber E, Hoeffken W. Growth rate of 147 mammary carcinomas. *Cancer* 1980;45:2198.
46. Fox SB, Leek RD, Smith K. Tumor angiogenesis in node-negative breast carcinomas: relationship with epidermal growth factor receptor, estrogen receptor and survival. *Breast Cancer Res Treat* 1994;29:109.
47. Fox SB, Smith K, Hollyer J. The epidermal growth factor receptor as a prognostic marker: results of 370 patients and review of 3009 patients. *Breast Cancer Res Treat* 1994;29:41.
48. Fox SB, Gasparini G, Harris AL. Angiogenesis: pathological, prognostic, and growth-factor pathways and their link to trial design and anticancer drugs. *Lancet Oncol*. 2001 May;2(5):278-89.
49. Gasparini G, Pozza F, Harris AL. Evaluating the potential usefulness of new prognostic and predictive indicators in node negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1206.
50. Gasparini G, Toi M, Verderio P. Prognostic significance of p53, angiogenesis and other conventional features in operable breast cancer: Sub analysis in node-positive and node-negative patients. *Int J Oncol* 1998;12:1117-1125.
51. Gion M, Mione R, Pappagallo GL. PS2 in breast cancer: alternative or complementary tool to steroid receptor status? Evaluation of 446 cases. *Br J Cancer* 1993;68:374.
52. Giuliano AE. Intradermal blue dye to identify sentinel lymph node in breast cancer. *Lancet* 1997;350:958.
53. Haagensen CD, Bodian C. A personal experience with Halsted's radical mastectomy. *Ann Surg* 1984;199:143-150.
54. Harris AL, Horak E. Growth factors and angiogenesis in breast cancer: recent results. *Cancer Res* 1993;127:35.
55. Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, eds. *Diseases of the breast*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
56. Hartmann LC, Schaid DJ, Woods JE. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in women with a family history of breast cancer. *N Engl J Med* 1999;340:77-84.

57. Harvey JM, de Klerk NH, Sterrett GF. Histological grading in breast cancer: interobserver agreement, and relation to other prognostic factors including ploidy. *Pathology* 1992;24:63.
58. Hasebe T, Sasaki S, Imoto S. Histological characteristics of tumors in blood vessels play an important role in tumor progression of invasive ductal carcinoma of the breast. *Cancer Sci.* 2003Feb;94(2):158-65.
59. Hayes DF. Angiogenesis and breast cancer. *Breast Cancer* 1994;8:51
60. Hellman S, Harris J. The appropriate breast carcinoma paradigm. *Cancer Res* 1987;2:339.
61. Henderson IC, Patek AJ. The relationship between prognostic and predictive factors in the management of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998;52:261-288.
62. Hobar PC, Jones RC, Schouten J. Multimodality treatment of locally advanced breast carcinoma. *Arch Surg* 1988;123:951-955.
63. Holland R, Velig S, Mravunac M. Histologic multifocality of Tis, T1-2 breast carcinomas: implications for clinical trials of breast conserving surgery. *Cancer* 1985;56:979-990.
64. Horny HP, Horst HA. Lymphoreticular infiltrates in invasive ductal breast cancer: histological and immunohistological study. *Virchows Arch* 1986;409:275.
65. Hortobagyi GN, Ames FC, Budzar AU. Management of stage III primary breast cancer with primary chemotherapy, surgery and radiation therapy. *Cancer* 1988;62:2507-2516.
66. Hortobagyi GN, Theriault RL, Porter L. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal complications in patients with breast cancer and lytic bone metastases: protocol 19 Aredia Breast Cancer Study Group. *N Engl J Med* 1996;335:1785-1791.
67. Humeniuk V, Forrest APM, Hawkins RA. Elastosis and primary breast cancer. *Cancer* 1983;52:1448.
68. Hupperrets PS, Volovics L, Schouten LJ. The prognostic significance of steroid receptor activity in tumor tissues of patients with primary breast cancer. *Am J Oncol* 1997;36:369-374.
69. Kato T, Kameoka S, Kimura T. The combination of angiogenesis and blood vessel invasion as a prognostic indicator in primary breast cancer. *Br J Cancer*. 2003 Jun 16;88(12):1900-8
70. Kuru B, Camlibel M, Ali Gulcelik M. Prognostic factors affecting survival and disease-free survival in lymph node-negative breast carcinomas. *J Surg Oncol*. 2003 Jul;83(3):167-72.
71. Lai LC. Role of steroid hormones and growth factors in breast cancer. *Clin Chem Lab Med*. 2002 Oct;40(10):969-74. Review.
72. Lauria R, Perone F, Carlomagno C. The prognostic value of lymphatic and blood vessel invasion in operable breast cancer. *Cancer* 1995;76:1772-1778.
73. Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Friedman S, et al. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson (SBR): an improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas. *Cancer* 1989;64:1914.
74. Lee AKC, DeLellis RA, Silverman ML. Prognostic significance of peritumoral lymphatic and blood vessel invasion in node-negative carcinoma of the breast. *J Clin Oncol* 1990;8:1457-1465.
75. Lin PP, Allison DC, Wainstock J. Impact of axillary lymph node dissection on the therapy of breast cancer patients. *J Clin Oncol* 1993;11:1536-1544.
76. Lynch J, Pattekar R, Barnes DM. Mitotic counts provide additional prognostic information in grade II mammary carcinoma. *J Pathol*. 2002 Mar;196(3):275-9.
77. Maddox W, Carpenter J, Laws H. Does radical mastectomy still have a place in the treatment of primary operable breast cancer? *Arch Surg* 1987; 122:1320.
78. Manders P, Bult P, Sweep CG. The prognostic value of the mitotic activity index in patients with primary breast cancer who were not treated with adjuvant systemic therapy. *Breast Cancer Res Treat* 2003 Jan;77(1):77-84.
79. Mason BH, Holdaway IM, Mullins PR, et al. Progesterone and estrogen receptors as prognostic variables in breast cancer. *Cancer Res* 1983;43:2985.
80. Marques LA, Franco ELF, Torloni H. Independent prognostic factor of laminin receptor expression in breast cancer survival. *Cancer Res* 1990;50:1479.
81. Martinazzi M, Crivelli F, Zampatti C. Epidermal growth factor receptor immunohistochemistry in different histological types of infiltrating breast carcinoma. *J Clin Pathol*. 1993 Nov;46(11):1009-10.
82. McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 1992;326:1756.
83. Menard S, Valagussa P, Pilatti S. Response to cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil in lymph node positive breast cancer according to HER2 overexpression and other tumor biologic variables. *J Clin Oncol* 2001;19:329-335.
84. Mercurio AM, Bachelder RE, Chung J. Integrin laminin receptors and breast carcinoma progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2001 Jul;6(3):299-309.
85. Miller AB, Baines CJ, To T. Canadian National Breast Screening Study 2: breast cancer detection and death rates among women 50 to 59 years. *Can Med Assoc J* 1992;147:1477.
86. Morrow M. Surgery in the elderly patient, I: breast disease in elderly women. *Surg Clin North Am* 1994;74:145.
87. Nadji M, Nassiri M, Fresno M. Laminin receptor in lymph node negative breast carcinoma. *Cancer*. 1999 Jan 15;85(2):432-6.



88. Nahrig J, Richter T, Kowolik J. Comparison of different histopathological methods for the examination of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Anticancer Res.* 2000 May-Jun;20(3B):2209-12.
89. National Institutes of Health. Breast Cancer Screening for women ages 40-49. NIH Consensus Statement 1997;15:1-35.
90. Navolanic PM, Steelman LS, McCubrey JA. EGFR family signaling and its association with breast cancer development and resistance to chemotherapy. *Int J Oncol* 2003 Feb;22(2):237-52.
91. Neville AM, Bettelheim R, Gelber G. Factors predicting treatment responsiveness and prognosis in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1992;696-705.
92. Nicholson RI, McClelland RA, Gee JMW. Epidermal growth factor receptor expression in breast cancer: association with response to endocrine therapy. *Breast Cancer Res Treat* 1994;29:117.
93. NIH Consensus Development Conference Treatment of early stage breast cancer. NIH Consensus Statement 1990;8:1-19.
94. NIH Consensus Conference. Treatment of early stage breast cancer. *JAMA* 1991;265:391-395.
95. Overgaard M, Hansen PS, Overgaard J. Postoperative radiotherapy in high-risk premenopausal women with breast cancer who receive adjuvant chemotherapy: Danish Breast Cancer Cooperative Group 82b Trial. *N Engl J Med* 1997;337:949-955.
96. Pinder SE, Ellis IO, Galea M. Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion: relationship with recurrence and survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1994;24:41-47.
97. Quenel N, Wafflart J, Bonichon F. The prognostic value of c-erbB-2 in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1995;35:283-291.
98. Ravdin PM, Tandon AK, Allred DG. Cathepsin D by western blotting and immunohistochemistry: failure to confirm correlations with prognosis in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1994;12:467-474.
99. Recht A, Come SA, Henderson IC. The sequencing of chemotherapy and radiation after conservative surgery for early stage breast cancer. *N Engl J Med* 1996;334:1356-1361.
100. Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N. Prognostic significance of HER2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *Int J Cancer* 1991;49:44-49.
101. Roger V, Beito G, Jolly PC. Factors affecting the incidence of lymph node metastases in small cancers of the breast. *Am J Surg* 1989;157:501.
102. Rosen PP. Tumor emboli in intramammary lymphatics in breast carcinoma: pathologic criteria for diagnosis and clinical significance. *Pathol Annu* 1983;37:364
103. Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, et al. A long-term follow-up study of survival in stage I (T(1)N(0)M(0)) and stage II (T(1)N(1)M(0)) breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1989;7:355.
104. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol* 1993;11:2090-2100.
105. Rosen PP, Lesser ML, Arroyo GD. Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with axillary lymph node negative breast carcinoma: a study of epidemiologic risk factors, histologic features and prognosis. *Cancer* 1995;35:283-291.
106. Ross JS, Linette GP, Stec J. Breast cancer biomarkers and molecular medicine. *Expert Rev Mol Diagn.* 2003 Sep;3(5):573-85.
107. Saimyra M, Fukutomi T, Tsuda H. Prognosis of a series of 763 consecutive node negative invasive breast cancer patients without adjuvant therapy: Analysis of clinicopathological prognostic factors.
108. Sawan A, Lascu I, Veron M. NDP-K/nm23 expression in human breast cancer in relation to relapse, survival and other prognostic factors: an immunohistochemical study. *J Pathol* 1994;172:27.
109. Schoppmann SF, Horvat R, Birner P. Lymphatic vessels and lymphangiogenesis in female cancer: mechanisms, clinical impact and possible implications for anti-lymphangiogenic therapies. *Oncol Rep.* 2002 May-Jun;9(3):455-60.
110. Schuh ME, Nemoto T, Penetrante R, Rosner D, Dao TL. Intraductal carcinoma. Analysis of presentation, pathologic findings, and outcome of disease. *Arch Surg* 1986;121:1303.
111. Shapiro S. Determining the efficacy of breast cancer screening. *Cancer* 1989;63:1873.
112. Sjogren S, Inganas M, Lindgren A, et al. Prognostic and predictive value of c-erbB-2 overexpression in primary breast cancer, alone and in combination with other prognostic markers. *J Clin Oncol* 1998;16:462.
113. Silverberg SG, Chitale AR. Assessment of significance of proportions of intraductal and infiltrating tumor growth in ductal carcinoma of the breast. *Cancer* 1978;32:830.
114. Smith JA III, Gamez-Araujo JJ, Gallager HS. Carcinoma of the breast: analysis of total lymph node involvement versus level of metastasis. *Cancer* 1977;39:527-532.
115. Spanu A, Dettori G, Chessa F. 99mTc-Tetrofosmin pinhole-SPECT (P-SPECT) and radioguided sentinel node (SN) biopsy and in breast cancer axillary lymph node staging. *Cancer Biother Radiopharm.* 2001 Dec;16(6):501-13.





116. Tabar L, Chen H-H, Duffy SW, et al. A novel method for prediction of long-term outcome of women with T1a, T1b, and 10-14 mm invasive breast cancers: a prospective study. *Lancet* 2000;355:429.
117. Takahashi S, Mikami T, Watanabe Y. Correlation of heat shock protein 70 expression with estrogen receptor levels in invasive human breast cancer. *Am J Clin Pathol.* 1994 Apr;101(4):519-25. Erratum in: *Am J Clin Pathol* 1994 Dec;102(6):901.
118. Tartarone A, Romano G, Iodice G. The predictive role of HER2 overexpression in early breast cancer. *J Clin Oncol.* 2003 Aug 15;21(16):3179-80.
119. Tetu B, Brisson J, Cote C. Prognostic significance of cathepsin D expression in node-positive breast carcinoma: an immunohistochemical study. *Int J Cancer* 1993;55:429.
120. Thomas DB, Gao DL, Self SG. Randomized trial of breast self examination in Shanghai: methodology and preliminary results. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:355-365.
121. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S. Prognostic significance of the combination of biological parameters in breast cancer. *Surg Today.* 2003;33(2):151-4.
122. Turner L, Swindell R, Bell W. Radical versus modified radical mastectomy for breast cancer. *Ann R Coll Surg Engl* 1981;63:239-243.
123. Urban JA. Management of operable breast cancer: the surgeon's view. *Cancer* 1978;42:2066-2077.
124. Van Hoef M, Knox WF, Dhesi SS. Assessment of tumor vascularity as a prognostic factor in lymph node negative invasive breast cancer. *Eur J Cancer* 1993;29A:1141.
125. Veronesi U, Saccocozzi R, Del Vecchio M. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *N Engl J Med* 1981;305:6.
126. Veronesi U, Banfi A, Salvadori B. Breast conservation is the treatment of choice in small breast cancer: long-term results of a randomized clinical trial. *Eur J Cancer* 1990;26:668.
127. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V. Sentinel lymph node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically-negative lymph nodes. *Lancet* 1997;349:1864-1867.
128. Veronesi U, Maisonneuve P, Costa A. Prevention of breast cancer with tamoxifene: preliminary findings from the Italian Tamoxifen Prevention Study. *Lancet* 1998;352:93-97.
129. Vicini F, Eberlein T, Connolly J. The optimal extent of resection for patients with stages I or II breast cancer treated with conservative surgery and radiotherapy. *Ann Surg* 1991;214:200-205.
130. Wallgren A, Bonetti M, Gelber RD. Risk factors for locoregional recurrence among breast cancer patients: results from International Breast Cancer Study Group Trials I through VII. *J Clin Oncol.* 2003 Apr 1;21(7):1205-13.
131. Weidner N, Semple JP, Welch WR. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast cancer. *N Engl J Med* 1991;324:1.
132. Weigand RA, Isenberg WM, Russo J. Blood vessel invasion and axillary lymph node involvement as prognostic indicators for human breast cancer. *Cancer* 1982;50:962.
133. Winstanley J, Cooke T, Murray GD. The long term prognostic significance of c-erbB-2 in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1991;63:447.
134. Wong JH, Kopald KH, Morton DL. The impact of microinvasion on axillary node metastases and survival in patients with intraductal breast cancer. *Arch Surg* 1990;125:1298
135. World Health Organization. Histological typing of breast tumors. In: International histological classification of tumors, ed 2<sup>nd</sup>. Geneva, WHO, 1981:19.

#### **4. ΜΥΕΛΟΕΙΔΗ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ(ΜΚ)**



## Ιστορική αναδρομή

Το μυελοειδές καρκίνωμα είναι ένας όχι ιδιαίτερα συχνός τύπος καρκίνου του μαστού, που θεωρείται ότι έχει γενικά καλύτερη πρόγνωση από τα υπόλοιπα διηθητικά πορογενή. Ο πρώτος ιστοπαθολογικός ορισμός εμφανίστηκε στο WHO του 1968 : «ένας ειδικός τύπος καρκίνου με ελάχιστη ποσότητα ινώδους συνδετικού ιστού που μπορεί ή όχι να εμφανίζει λεμφοκυτταρική διήθηση. Τα κύτταρα γενικά διατάσσονται σε συγκυτιακές μάζες και δεν παρουσιάζουν ποικιλία στο μέγεθος του πυρήνα ή υπερχρωματισμό». Στο WHO του 1981 η περιγραφή του όγκου είναι περισσότερο λεπτομερειακή: «καλά περιγεγραμμένος καρκίνος αποτελούμενος από φτωχά διαφοροποιημένα κύτταρα με αδρό στρώμα και έκδηλη λεμφοκυτταρική διήθηση. Τα κύτταρα αυτά είναι μεγάλα με κυστικό πυρήνα, έντονα διαγραφόμενο πυρήνιο και μη διακριτά κυτταροπλασματικά όρια. Η συνήθης μορφή ανάπτυξης είναι συγκυτιακή, με ευρείες αναστομωτικές μάζες χωρίς αδενικούς σχηματισμούς. Τα όρια του όγκου πρέπει να είναι σαφώς διακριτά και « ωθούμενα».

Ο όρος «μυελοειδές» χρησιμοποιήθηκε αρχικά περίπου για έναν αιώνα για να περιγράψει γενικά τα καρκινώματα του μαστού και αφορούσε την μακροσκοπική περιγραφή ενός μεγάλου συμπαγούς όγκου με (συνήθως αλλά όχι πάντα) λεμφαδενικές μεταστάσεις. Πρώτος ο Ewing το 1940 χρησιμοποίησε τον χαρακτηρισμό για να περιγράψει κάποια ιδιαίτερα σε μορφολογία καρκινώματα τα οποία περιχαράκωνονται από μια εκσεσημασμένη φλέγμονώδη αντίδραση που υποδήλωνε κατά την γνώμη του μια διαδικασία άμυνας που δεν έχει πάντοτε αναγκαστικά επιτυχή κατάληξη.

Ήταν λίγο αργότερα το 1945 ο Geschichter που πρώτος τα περιέγραψε σαν μιά ξεχωριστή παθολογοανατομική οντότητα. Χαρακτήρισε σαν «μυελοειδή» τα καρκινώματα του μαστού που εμφανίζονται σαν συνήθως σαν συμπαγείς όγκοι (ακόμα κι όταν είναι κυστικά, αυτό είναι αποτέλεσμα νέκρωσης και όχι εκφύλισης όπως σε άλλες μορφές καρκίνου), αποτελούμενοι από μεγάλα κύτταρα διατεταγμένα σε σειρές πάνω σε λεμφοκυτταρικό στρώμα και παρ'όλο που δεν περιέγραψε την λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση σαν ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αυτού του όγκου, παρατήρησε ότι ο βαθμός κακοήθειας είναι μικρότερος από ότι θα περίμενε κανείς από το μέγεθος και την μικροσκοπική τους εμφάνιση. Περιέγραψε δε τα MK με τον όρο "neomammary" θεωρώντας ότι προέρχονται από την πρωτογενή μαζική ακρολοφία.

Οι Moore και Foote και οι Foote και Stewart το 1949, καθόρισαν την συγκεκριμένη παθολογοανατομική οντότητα μακροσκοπικά σαν ένα «μαλακό, ευμεγέθη, καλά περιγεγραμμένο όγκο με υγρή και ευένδοτη επιφάνεια, με αιμορραγικές και νεκρωτικές περιοχές». Σε μικροσκοπικό επίπεδο παρατήρησαν το χαρακτηριστικό πρότυπο ανάπτυξης με ευρείες αναστομωτικές κυτταρικές μάζες και μεγάλα κύτταρα με καθαρό κυτταρόπλασμα και πυρήνα χωρίς ιδιαίτερη ποικιλομορφία στο μέγεθος, στο σχήμα και στην ποσότητα της χρωματίνης. Οι ασθενείς με MK εμφάνιζαν σε μικρότερο ποσοστό λεμφαδενικές μεταστάσεις (43% σε σχέση με το 60% των πορογενών διηθητικών), λιγότερες τοπικές υποτροπές και αυξημένα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης σε σχέση με τα υπόλοιπα πορογενή διηθητικά (82,7%

έναντι του 50% των ΠΔ) . Σαν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά εντοπίστηκαν η αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα και η έκδηλη λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση, για την οποία οι Moore και Foote υπέθεσαν ότι ίσως αντανακλά μία «ανισορροπία μεταξύ του όγκου και του ξενιστή» και ότι το φαινόμενο αυτό μπορεί να είναι μερικά υπεύθυνο για την βελτιωμένη πενταετή επιβίωση.

Το 1956 ο Richardson σε μια μεγάλη μελέτη 117 περιστατικών ΜΚ επιβεβαίωσε τη μελέτη των Moore και Foote αναφορικά με τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά εκτός από αυτά του κυτταρικού και πυρηνικού πλειομορφισμού και της διάφορης ποσότητας χρωματίνης, ενώ επιπλέον κατέληξε στα ακόλουθα συμπεράσματα: α) Η συχνότητα εμφάνισης του μυελοειδούς ανέρχεται στο 7% β) Η πενταετής και δεκαετής επιβίωση ανέρχεται στο 77% και 55% αντίστοιχα, πολύ καλύτερη δηλαδή από των υπόλοιπων διηθητικών πορογενών καρκίνων γ) Από τις ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή το 64% παρέμενε εν ζωή χωρίς υποτροπή επί δεκαετία και από το υπόλοιπο 36% περίπου οι μισές πέθαναν από κάποια αιτία άλλη από καρκίνο του μαστού. Από τις εννιά ασθενείς που εφαρμόστηκε απλή μαστεκτομή ή ογκεκτομή μόνο μία επιβίωσε στη δεκαετία ενώ έξι πέθαναν από καρκίνο του μαστού. δ) Η πενταετής επιβίωση δεν επηρεάζεται ούτε από την πυκνότητα της λεμφοκυτταρικής διήθησης ούτε από την παρουσία ή απουσία νέκρωσης. ε) Το 70% των ασθενών που πέθαναν από καρκίνο απεβίωσαν μέσα στην πενταετία και κανένας άρρωστος με υποτροπή δεν επιβίωσε στην δεκαετία. στ) Παρ' όλο που η επιβίωση των ασθενών με λεμφαδενικές μεταστάσεις (72%) ήταν χειρότερη από αυτή των ασθενών με αρνητικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες (87%), παρέμενε πολύ καλύτερη από αυτή των ασθενών με μη μυελοειδές καρκίνωμα και θετικούς λεμφαδένες. ζ) ΜΚ μεγαλύτερα από μία ίντσα είχαν πρακτικά την ίδια επιβίωση (78%) με μικρότερου μεγέθους πορογενή (82%). Στο follow-up των ασθενών αυτών το 1970 οι Richardson και Bloom ανέφεραν συνολική 20-ετή επιβίωση 74% και 61% για την ομάδα με λεμφαδενικές μεταστάσεις, (τα αντίστοιχα ποσοστά για τα μη μυελοειδή ήταν 14% και 13%) με το 86% των ασθενών να αντιμετωπίζονται με ριζική μαστεκτομή.

Το 1961 ο Lane παρατήρησε ότι σε σύγκριση με τα πορογενή καρκινώματα με ανώμαλη διηθητική περιφέρεια, το ομαλό περίγραμμα του όγκου ανεξάρτητα από τον ειδικό ιστολογικό του τύπο, αποτελεί στοιχείο καλής πρόγνωσης. Στην μελέτη του περίπου το ένα τρίτο των ομαλά περιγεγραμμένων όγκων ήταν ΜΚ.

Το 1966 ο Sciodt με εκτεταμένη μελέτη κατέληξε στα ίδια περίπου ποσοστά επιβίωσης με την μελέτη του Richardson. Στον αντίποδα αυτών των διαπιστώσεων ήταν η μελέτη του Cutler και Bloom, στην οποία τα ΜΚ δεν φαίνονται να έχουν βελτιωμένη πρόγνωση. Σημειώνεται όμως ότι μόνο το 32% των όγκων που περιλήφθηκαν σαν ΜΚ στην μελέτη εμφάνιζαν έκδηλη λεμφοκυτταρική διήθηση. Έτσι λοιπόν θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι μόνο ένα μέρος των όγκων αυτών ανταποκρίνονταν στον κλασσικό ορισμό των ΜΚ όπως περιγράφηκε από τους Moore και Foote.

Το 1968 ο Gorski σε μελέτη 50 ασθενών με ΜΚ διαπίστωσε χαμηλό ποσοστό μεταστάσεων στους μασχαλιαίους λεμφαδένες (16%), η παρουσία των οποίων πάντως δεν φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά τα ποσοστά δεκαετούς επιβίωσης που ανέρχονταν στο 68% (60% σε ασθενείς με θετικούς και 70% σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες, με τα αντίστοιχα ποσοστά για τα



χαμηλής διαφοροποίησης μη μυελοειδή να κυμαίνονται σε 24% και 70% αντίστοιχα). Την ίδια χρονιά ο McDivitt επιβεβαίωσε την μικροσκοπική εικόνα των ΜΚ όπως αυτή παρουσιάστηκε από τους Foote και Stewart και καθόρισε την συχνότητα εμφάνισης στο 4.8%.

Το 1969 ο Schwartz χρησιμοποίησε τον όρο «στερεά περιγεγραμμένα» για να περιγράψει τα ΜΚ στα οποία παρατήρησε ότι οι λεμφαδενικές μεταστάσεις ήταν σχετικά σπάνιες, ενώ σε μικροσκοπικό επίπεδο παρουσίαζαν μια εξαιρετικά κακοήθη (πλειομορφική) ιστολογική εμφάνιση. Ο συγκεκριμένος όρος πάντως αποτέλεσε μια αιτία σύγχυσης, αφού η στερεή σύσταση και το περίγραμμα δεν αποτελούν ιδιαίτερα ιστολογικά χαρακτηριστικά του όγκου, ενώ αντίθετα μερικά ΜΚ μπορεί να είναι κυστικά. Όσον αφορά την δεκαετή επιβίωση, οι διαφορές μεταξύ των ΜΚ και των υπόλοιπων καρκινωμάτων του μαστού ήταν πολύ μικρές και στατιστικά όχι σημαντικές.

Το 1971 ο Haagensen προτίμησε να χαρακτηρίσει τα ΜΚ σαν «καλά περιγεγραμμένα» και τεκμηρίωσε την κακοήθη μακροσκοπική τους εικόνα με υπερχρωματικούς, πλειομορφικούς και κυμαινόμενους στο μέγεθος πυρήνες, περιγράφοντας επίσης και την ύπαρξη γιγάντιων μορφών και πολυάριθμων μιτώσεων. Επίσης τόνισε την τάση του όγκου να νεκρώνεται κατά περιοχές με επακόλουθη ανάπτυξη συνδετικού ιστού. Υπολόγισε την συχνότητά εμφάνισης σε περίπου 2.5%, με την πρόγνωση να μην διαφέρει από τα υπόλοιπα πορογενή καρκινώματα.

Το 1974 ο Flores και ο Hartveit κυκλοφόρησαν δύο μελέτες για τα ΜΚ όπου απλά επιβεβαιώθηκαν τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών σχετικά με την μορφολογία και την πρόγνωση. Τα πρώτα κριτήρια για την διάγνωση των ΜΚ καθορίστηκαν από την μελέτη του Fisher το 1975 και ήταν τα εξής: 1) Το πρότυπο ανάπτυξης πρέπει να είναι συγκυτιακό με ευρείες αναστομωτικές μάζες κυττάρων 2) Σε μικροσκοπικό τουλάχιστον επίπεδο ο όγκος πρέπει να είναι καλά περιγεγραμμένος 3) Τα κύτταρα πρέπει να είναι ευμεγέθη, με πλειομορφικό ίσως πυρήνα, ο οποίος να διαθέτει ευδιάκριτο πυρήνιο και συχνές μιτώσεις 4) Το στρώμα πρέπει να είναι αραιό με έντονη διήθηση από μονοπύρηννα κύτταρα 5) Αληθή θηλωματώδη στοιχεία πρέπει να απουσιάζουν (σε σπάνιες περιπτώσεις που εμφανίζονται διακρίνουμε και δημιουργούμενους αυλούς).

Το 1977 ο Ridolfi έθεσε τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα για την ιστολογική περιγραφή και την κατάταξη σε ομάδες των ΜΚ. Το 1997 ο Pedersen εισήγαγε έναν νέο ορισμό, που δεν έτυχε όμως ευρείας αποδοχής. (βλ. παρακάτω)

### **Συχνότητα**

Η αναφερόμενη σε διάφορες μελέτες συχνότητα του ΜΚ κυμαίνεται από 2.1% μέχρι 14.9%, οι περισσότερες πάντως μιλάνε για μιά αναλογία περίπου 7% σε όλα τα καρκινώματα του μαστού. Σίγουρα η μεγάλη αυτή διακύμανση οφείλεται, όπως παρατηρούν και ο Azzopardi και ο Pedersen στα διάφορα κριτήρια που κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση του ΜΚ, αλλά και στο ότι το υλικό από τον όγκο σε πολλές περιπτώσεις δεν περιγράφεται με σαφείς ιστοπαθολογικούς όρους αλλά αναφέρεται γενικά σαν «μυελοειδές». Είναι λοιπόν γεγονός ότι τα ΜΚ συχνά υπο- ή υπερ-διαγιγνώσκονται. Ποικίλει ακόμη και ο βαθμός συμφωνίας όχι μόνο μεταξύ δύο διαφορετικών παθολογοανατόμων, αλλά και στον ίδιο παθολογοανατόμο

αναφορικά με τη διάγνωση ενός ΜΚ ακόμη και όταν χρησιμοποιούνται κοινά ιστοπαθολογικά κριτήρια όπως αυτά του Ridolfi(μελέτες Pedersen 1989-1997, Rigaud-1993, Gaffey-1995), γεγονός που οδηγεί σε σύγχυση όχι μόνο όσον αφορά τη συχνότητα, αλλά και όσον αφορά την πρόγνωση.

Στους άντρες το ΜΚ είναι πολύ σπάνιο και λίγες μόνο περιπτώσεις έχουν περιγραφεί. Στις γυναίκες εμφανίζεται κυρίως στις ηλικίες από 40 μέχρι 55 έτη, ενώ τα περιστατικά κάτω από 30 έτη και πάνω από 80 είναι ελάχιστα.

Έχουν εντοπιστεί φυλετικές διαφορές στη συχνότητα των ΜΚ, με αυξημένη εμφάνιση τους στην μαύρη φυλή σε σχέση με την λευκή, καθώς και στην Ιαπωνία σε σύγκριση με την Ευρώπη( πιθανόν για το τελευταίο να ευθύνεται και η μεγαλύτερη αναλογία των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών με καρκίνο του μαστού στην Ιαπωνική φυλή ).

### **Μακροσκοπική παθολογία**

Τα ΜΚ αποτελούν συνήθως στρογγυλές, μαλακές μάζες που κόβονται με μικρή αντίσταση και παρ'όλο που συνήθως δεν παρουσιάζουν κάψα, είναι καλά περιγεγραμμένοι και με ομαλή περιφέρεια. Στο παρασκεύασμα φαίνεται να προεξέχει πάνω από τον περιβάλλοντα φυσιολογικό ιστό σαν μαλακό μεν αλλά συμπαγές μόρφωμα, μορφολογία διαφορετική από την «συρρικνωμένη» συνήθως επιφάνεια των σκίρρων καρκινωμάτων. Προσεκτική παρατήρηση της επιφάνειας αποκαλύπτει συνήθως λοβιώδη αρχιτεκτονική. Έτσι η κυρίως μάζα φαίνεται να αποτελείται από συγκολλημένα μεταξύ τους οζίδια, ενώ δευτερογενή οζίδια μπορεί να παρατηρηθούν στην περιφέρεια του όγκου. Το χρώμα είναι συνήθως ανοιχτό καφέ ή γκριζωπό. Περιοχές ασβεστοποίησης είναι πάρα πολύ σπάνιες . Αιμορραγία ή νέκρωση εμφανίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα όσο αυξάνει το μέγεθος του όγκου(χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν παρατηρείται και σε μικρότερους όγκους) και δίνει το χαρακτηριστικό γκριζωπό χρώμα στην καρκινική μάζα με εναλλασσόμενες κίτρινες ή ερυθρωπές ζώνες, ενώ πολλαπλές νεκρώσεις μπορεί να προσλάβουν και κοκκιώδη χαρακτήρα. Όσο η έκταση της νέκρωσης αυξάνει, είναι πιθανότερο στον όγκο να αναπτυχθούν εστιακά κύστεις· έκδηλη κυστική εκφύλιση εμφανίζεται συνήθως σε μάζες μεγαλύτερες από 5 εκ. Στις μάζες αυτές η περιφερική ίνωση που αναπτύσσεται δημιουργεί την εικόνα της ψευδοκάψας. Σε μικρούς όγκους σπάνια παρατηρείται το φαινόμενο της κεντρικής νέκρωσης με δημιουργία κύστης. Κατακερματισμένος όγκος σε ένα κυστικό ΜΚ δύσκολα διαφοροποιείται μακροσκοπικά από ένα κυστικό θηλωματώδες καρκίνωμα.

### **Μικροσκοπική παθολογία**

Οι όγκοι αποτελούνται από συσσωματώματα κυτάρων χωρίς όμως αυτά να διαπλέκονται μεταξύ τους. Η κυρίως καρκινική μάζα εμφανίζει ακανόνιστες ομάδες κυτάρων χωρίς να διαμορφώνονται οι κοινές στα πορογενή καρκινώματα διατάξεις δίκην «φωλιάς» ή «τσαμπιού» που μπορεί να περιορίζονται ή όχι εντός της βασικής μεμβράνης. Στην περιφέρεια πάντως περιστασιακά αναγνωρίζονται επιμήκη κύτταρα με χαρακτηριστικά έκδηλες δέσμες από κυτταροπλασματικά ινίδια, σχηματίζοντας εναλλασσόμενες ζώνες ανοιχτόχρωμες και σκοτεινόχρωμες όπως διακρίνονται λόγω των διαφορών στην κυτταροπλασματική πυκνότητα(τα σκοτεινόχρωμα διαθέτουν περισσό-

τερα οργανίδια και ιδιαίτερα αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο ενώ τα ανοιχτόχρωμα «χλωμό» κυτταρόπλασμα). Είναι συχνή επίσης η εμφάνιση φωτεινών ζωνών με πολυάριθμες μικρολάχνες που περικλείονται μεταξύ μεμονωμένων κυττάρων. Απομονωμένα λεμφοκύτταρα μπορεί να παρατηρηθούν και μεταξύ των καρκινικών κυττάρων. Το κυτταρόπλασμα είναι βασεόφιλο. Γενικά τα κύτταρα περιγράφονται να έχουν την τάση να αναπτύσσουν οργανίδια, αλλά συγχρόνως εμφανίζουν μηδενική εκκριτική δραστηριότητα και τα κενοτόπια εκκρίνοντας μουκίνη απουσιάζουν εντελώς. Παρ' όλο που η συχνότητα εμφάνισης των διαφόρων οργανιδίων (μιτοχόνδρια, Golgi, ενδοπλασματικό δίκτυο, πολυριβοσώματα) είναι διαφορετική, συνήθως εμφανίζονται ιδιαίτερα ανεπτυγμένα. Ορισμένα κύτταρα παρουσιάζουν δέσμες από κυτταροπλασματικά ινίδια χωρίς όμως αυτά να λαμβάνουν ζωνοειδή διαμόρφωση. Τα δεσμοσώματα είναι συχνά ορατά αλλά σαν έκδηλο χαρακτηριστικό είναι μάλλον σπάνιο. Ημιδεσμοσώματα διακρίνονται στην βασική επιφάνεια των κυττάρων της περιφέρειας που τοποθετούνται πάνω σε βασική μεμβράνη. Η τελευταία παρουσιάζει εστιακές ασυνέχειες, κυματοειδή κατά τόπους διαμόρφωση και αναδιπλασιασμούς. Το στρώμα περιέχει μικροϊνίδια, συγκρίματα και κάποια ποσότητα κολλαγόνου, ενώ μπορεί να παρατηρηθούν τριχοειδή με αναδιπλασιασμέν βασική μεμβράνη. Οι πυρήνες είναι μεγάλοι, στρογγυλοί ή οβάλ με ένα ή περισσότερα αναλογικά μικρά πυρήνια και παρατηρείται μεγάλος αριθμός μιτώσεων. Από κάποιους ερευνητές αναφέρεται ταχεία ανάπτυξη ενδοκυτταροπλασματικών σωληναρίων με μικρολάχνες, αληθείς αυλοί όμως με μικρολάχνες αναπτύσσονται τελικά σε πολύ μικρό αριθμό σε σχέση με άλλους τύπους καρκίνου. Κύτταρα περιέχοντα τονοϊνίδια μπορεί να είναι στοίχείο πλακώδους διαφοροποίησης.

Μετά από σύγκριση της μικροσκοπικής παθολογίας των ΜΚ με αυτή των ΠΔ μπορούν να γίνουν δύο ενδιαφέρουσες παρατηρήσεις : τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα και η έντονη βασική μεμβράνη γύρω από το νεοπλασματικό επιθήλιο που παρατηρούνται στα ΠΔ, απουσιάζουν σαν δομικά χαρακτηριστικά από την κυρίως καρκινική μάζα των ΜΚ και μπορεί να παρουσιαστούν περιστασιακά μόνο στην περιφέρεια έχοντας συνήθως ύποπτες ασυνέχειες. Έτσι παρουσιάζεται μιά κατ'αναλογία σύνδεση μεταξύ της παρουσίας των μυοεπιθηλιακών κυττάρων και της εναπόθεσης της βασικής μεμβράνης, στοιχείο που εμφανίζεται και σε δυσπλασίες των πόρων χωρίς να μπορεί να διευκρινιστεί ο ρόλος τους σ' αυτό το πρώιμο στάδιο. Καρκινικά κύτταρα με μορφολογικές ομοιότητες με το μυοεπιθήλιο έχουν αναγνωριστεί σε διάφορους τύπους ΠΔ. Η παρουσία απλά κυτταροπλασματικών νηματίων βέβαια δεν τεκμηριώνει την μυοεπιθηλιακή τους προέλευση όμως οι ομοιότητες επεκτείνονται και στην οργάνωσή τους, την ζωνοειδή τους διαμόρφωση και τις συνδέσεις τους. Έτσι αφού ενδιάμεσοι τύποι κυττάρων που παρουσιάζουν και μυοεπιθηλιακά και εκκριτικά χαρακτηριστικά έχουν απομονωθεί και από καλοήθεις και από κακοήθεις νεοπλασίες και δεδομένης της κοινής εξωδερμικής τους προέλευσης, είναι πιθανό ότι κύτταρα με δυναμικό διαφοροποίησης προς την μία ή την άλλη κατεύθυνση μπορεί να συμμετέχουν στην ανάπτυξη των νεοπλασμάτων.

Η παρουσία της βασικής μεμβράνης σε σχέση με το μυοεπιθήλιο σε φυσιολογικό και νεοπλασματικό μαζικό αδένια αποτέλεσε αντικείμενο αρκετών μελετών. Αρχικά θεωρήθηκε ότι τα ΜΚ προέρχονται από τα εκκριτικά κύτταρα ενώ οι σκίρροι καρκίνοι από το μυοεπιθήλιο. Πάντως είναι γεγονός ότι πολλά

νεοπλασματικά επιθήλια μπορούν να συνθέτουν βασική μεμβράνη απουσία μυοεπιθηλιακής διαφοροποίησης. Αναδιπλασιασμός της βασικής μεμβράνης με ή χωρίς παρέμβαση του μυοεπιθηλίου συναντάται σε καρκινώματα πολλών οργάνων, συμπεριλαμβανομένου και του μαστού, εικάζεται δε ότι αποτελεί ένα πρώιμο στάδιο της διαδικασίας της διήθησης και μετάστασης, χωρίς αυτό να είναι απόλυτο δεδομένου ότι εμφανίζεται και σε διαδικασίες «επιδιόρθωσης» σε περιπτώσεις ιστικής βλάβης.

Φαίνεται λοιπόν ότι τα καρκινώματα του μαστού διατάσσονται σε ένα ευρύ φάσμα μυοεπιθηλιακής και εκκριτικής διαφοροποίησης και εναπόθεσης βασικής μεμβράνης. Στην μία άκρη βρίσκονται τα πορογενή και αδενοκυστικά τα οποία παρουσιάζουν άφθονα και καθαρά διαφοροποιημένα μυοεπιθηλιακά κύτταρα που συνοδεύονται από έντονη και συχνά αναδιπλασιασμένη βασική μεμβράνη. Στην άλλη άκρη βρίσκονται τα μυελοειδή και τα σωληναριακά στα οποία υπάρχουν ελάχιστα ή καθόλου μυοεπιθηλιακά κύτταρα και παράλληλα ελάχιστη, ελαττωματική ή ανύπαρκτη βασική μεμβράνη. Κάπου στη μέση φαίνεται να τοποθετείται ο ειδικός τύπος των σκίρρων καρκινωμάτων με πολλαπλές παραλλαγές στα δύο αυτά στοιχεία. Μιά και τα μυοεπιθηλιακά χαρακτηριστικά σε συνδυασμό με πλούσια βασική μεμβράνη αποτελούν χαρακτηρηστικές καλής διαφοροποίησης, θα περίμενε κάποιος ότι συνδέονται και με καλύτερη πρόγνωση. Αυτό σε ένα βαθμό ισχύει για τα πορογενή και τα αδενοκυστικά. Στα μυελοειδή οι χαρακτηρηστικοί αυτοί απουσιάζουν δημιουργώντας ιστολογική εικόνα χαμηλής διαφοροποίησης, χωρίς αυτή να συνδυάζεται με επιβαρυνόμενη πρόγνωση.

Το ιδιαίτερο χαρακτηρηστικό του όγκου είναι η συγκυτιακή διάταξη των κυττάρων σε μεγάλες αναστομούμενες μάζες που διαχωρίζονται από ελάχιστες ποσότητες χαλαρού φιμπροβλαστικού ιστού. Το στρώμα περιέχει μακροφάγα, λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα και τα αγγεία του διαθέτουν υψηλά ενδοθηλιακά κύτταρα που πιστεύεται ότι διευκολύνουν την μετανάστευση των λεμφοκυττάρων μέσα από το ενδοθήλιο αυτών των καναλιών, ενώ μπορεί σπάνια να παρατηρηθεί κοκκιωματώδης αντίδραση. Νέκρωση μπορεί να υπάρχει στο κέντρο του όγκου ή μεταξύ των ζωνών συγκυτιακής ανάπτυξης σε μικροσκοπικές εστίες που μπορεί σταδιακά να διευρυνθούν σε μικρές σχισμές και τέλος σε κυστικές περιοχές. Η διαδικασία αυτή μοιάζει με το πρότυπο της κυστικής εκφύλισης που συναντάται μερικές φορές στα επιδερμοειδή καρκινώματα, πιθανόν επειδή η νέκρωση συνδυάζεται συχνά με πλακώδη μεταπλασία. Η ιστολογική εμφάνιση μερικές φορές προσομοιάζει με αυτήν ενός επιδερμοειδούς καρκινώματος χαμηλής διαφοροποίησης και γενικά πρέπει να σημειωθεί ότι στοιχεία επιδερμοειδούς διαφοροποίησης δεν είναι σπάνια στα ΜΚ.

Το δεύτερο σημαντικό χαρακτηρηστικό των ΜΚ που συναντάται βέβαια και σε άλλα καρκινώματα, είναι η λεμφοκυτταρική διήθηση στην περιφέρεια. Αυτό αναλύεται σε ιδιαίτερη παράγραφο μιά και αποτελεί ιδιαίτερο αντικείμενο μελέτης ιστολογικών και ανοσοϊστοχημικών μελετών μιά και αποτελεί ιδιαίτερο χαρακτηρηστικό της κατηγορίας αυτής και θεωρείται ότι ίσως ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για την ευνοϊκότερη πρόγνωση των όγκων αυτών.

Εκτός από το κοινά χαρακτηρηστικά της συγκυτιακής διάταξης των κυττάρων και της λεμφοκυτταρικής διήθησης, αλλά και τις βασικές ομοιότητες σε επίπεδο κυτταρικής μορφολογίας, τα χαρακτηρηστικά της μικροσκοπικής παθολογίας διαφοροποιούνται στις δύο επιμέρους ιστοπαθολογικές κατηγορίες που διακρίνονται τα ΜΚ : τα ΤΜΚ και τα ΑΜΚ που σχολιάζονται





αναλυτικά στη συνέχεια και που διαφέρουν όχι μόνο στους μορφολογικούς χαρακτήρες αλλά και στην βιολογική συμπεριφορά και στην πρόγνωση. Έτσι ενώ τα ΤΜΚ παρουσιάζουν απόλυτα ομαλά, «ωθούμενα» όρια που φαίνονται να παρεκτοπίζουν τον μαζικό αδένα μάλλον παρά να τον διηθούν, στα ΑΜΚ το περίγραμμα του όγκου παρουσιάζει εστιακή ανομοιογένεια προσλαμβάνοντας διηθητικό χαρακτήρα. Το εκτεταμένο ενδοπορικό στοιχείο(ΕΙC) στην περιφέρεια του όγκου, κατατάσει τον όγκο στην επιβαρυσμένη προγνωστικά κατηγορία των ΑΜΚ, κυρίως όταν συνυπάρχουν και άλλα άτυπα χαρακτηριστικά. Είναι τόσο συχνότερο όσο ο όγκος είναι μεγαλύτερου μεγέθους και συνοδεύεται από την ίδια έκδηλη μονοπυρηνική κυτταρική διήθηση όπως ο κυρίως όγκος, που μπορεί να είναι τόσο έντονη ώστε να υποκρύπτει την επέκταση του πορογενούς καρκινώματος στο παρακείμενο επιθήλιο. Τα κύτταρα εμφανίζουν χαμηλής διαφοροποίησης πυρήνα όπως ακριβώς και η διηθητική μάζα και το πρότυπο ανάπτυξής τους μπορεί να είναι comedo ή συμπαγές με σπάνιες ασβετώσεις. Η ανάπτυξη του in situ καρκινώματος σε παρακείμενους πόρους και λόβια οδηγεί σε διαμόρφωση δευτερογενών περιφερικών οζιδίων που έχουν την εμφάνιση μικρού «δορυφορικού» μυελοειδούς καρκινώματος. Λιπώδης και μαζικός ιστός μπορεί να παρεμβάλεται μεταξύ αυτών των οζιδίων. Η παρουσία αυτών των οριακών οζιδίων και του στρώματος ανάμεσά τους δεν πρέπει να ερμηνεύεται σαν στοιχείο διηθητικής επέκτασης. Ίσως η συγκόλληση των ανατομικών αυτών κατασκευών και η ενσωμάτωσή τους μέσα στην διηθητική καρκινική μάζα είναι ίσως μία ακόμη αιτία της ταχείας ανάπτυξής της μαζί με τον υψηλό μιτωτικό δείκτη και στην διαδικασία αυτή οφείλεται και η λοβιώδης μακροσκοπική εμφάνιση του ΜΚ. Σπάνια μπορεί να εμφανίζεται ένα μονήρες ενδοπορικό καρκίνωμα με αδρούς χαρακτήρες in situ βλάβης στην περιφέρεια του ΜΚ με κυτταρολογικούς χαρακτήρες χαμηλής διαφοροποίησης, comedo πρότυπο ανάπτυξης και έντονη λεμφοκυτταρική διήθηση που ασαφτοποιεί τα όρια, αλλά δεν υπάρχουν συγκεκριμένες ενδείξεις ότι μιλάμε για in situ μορφή ΜΚ ή απλά για μιά ασυνήθη μορφή με ελάχιστο διηθητικό στοιχείο.

Το επιθηλιακό στοιχείο είναι εξαιρετικά περιορισμένο. Αν υπάρξει πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης του όγκου από σάρκωμα εκ δικτυωτών κυττάρων ή νόσο του Hodgkin απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός blocks για να ξεκαθαριστεί ένα συγκεκριμένο επιθηλιακό πρότυπο, αυτό όμως είναι αρκετά σπάνιο.

Λόγω της ομοιότητας των μικροσκοπικών χαρακτήρων του ΜΚ με κάποια από τα λεμφοεπιθηλιακά καρκινώματα διατυπώθηκε η υπόθεση ότι ο ιός Epstein-Barr (EBV) μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην παθογένεση του ΜΚ, όμως ανοσοϊστοχημικές μελέτες, in situ υβριδισμός και αντίδραση αλυσίδας πολυμεράσης απέτυχαν να ανιχνεύσουν τον ιό.

Πρέπει πάντως να σημειωθεί ότι το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο δεν αποτελεί σημαντικό βοήθημα στα ΜΚ και αυτό οφείλεται είτε στην αποτυχία να ακολουθηθούν αυστηρά καθορισμένα διαγνωστικά κριτήρια είτε στην ενδογενή ποικιλομορφία των όγκων.

#### **\* Λεμφοκυτταρική διήθηση-Ταυτοποίηση των υποπληθυσμών και της σημασίας τους**

Εντοπίζεται στην περιφέρεια και στα ΤΜΚ παρουσιάζεται εκσεσημασμένη, ενώ στα ΑΜΚ είναι ηπιότερης μορφής (Βέβαια πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι η κάποιου βαθμού λεμφοκυτταρική διήθηση σε συνδυασμό με ομαλό

περίγραμμα δεν θέτουν αυτόματα έναν όγκο στην κατηγορία του μυελοειδούς. Πρέπει λοιπόν για να τεθεί η διάγνωση να πληρούνται όλα τα ιστολογικά κριτήρια). Γενικά πρέπει να περιλαμβάνει την περιφέρεια και να είναι διάχυτα παρούσα στην κυρίως καρκινική μάζα. Στις περισσότερες περιπτώσεις τείνει να περιοριστεί στο ινοαγγειακό στρώμα μεταξύ των συγκυτιακών ζωνών των καρκινικών κυττάρων. Σε μία μικρή αναλογία ΜΚ που εμφανίζουν ελάχιστη ποσότητα στρώματος, η λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση παρουσιάζεται αναμεμιγμένη με τα καρκινικά κύτταρα και είναι οι περιπτώσεις που είναι δυσχερής η διαφορική διάγνωση από μεταστατικό σε λεμφαδένα καρκίνωμα. Παρ'ότι γενικά μπορεί να ποικίλει ποσοτικά, οφείλει σε ένα ΜΚ να είναι τουλάχιστον μέτριας έντασης στην εφαιπτομένη μεταξύ του καρκινώματος και του παρακείμενου μαζικού παρεγχύματος. Είναι σύνηθες να περικλείει πόρους και λόβια που καταλαμβάνονται από *in situ* καρκίνωμα. Ιδιαίτερα τείνει να καταλάβει απομακρυσμένους πόρους και λόβια που δεν περιέχουν αναγνωρίσιμα καρκινικά κύτταρα, στοιχείο τόσο συνηθισμένο που η απουσία του θέτει την διάγνωση του ΜΚ υπό αμφισβήτηση.

Ποιοτικά η λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση μπορεί να αποτελείται αποκλειστικά είτε από λεμφοκύτταρα είτε από πλασματοκύτταρα, συχνότερα όμως είναι ανάμιξη αυτών των κυττάρων με τα λεμφοκύτταρα να υπερτερούν αριθμητικά στην περιφέρεια ενώ τα πλασματοκύτταρα καταλαμβάνουν σε μεγαλύτερη αναλογία κεντρικά το στρώμα. Η παρουσία πάντως μεγαλύτερου αναλογικά αριθμού πλασματοκυττάρων, χαρακτηρίζει κυρίως τα ΤΜΚ. Η διήθηση αυτή μπορεί να παρατηρηθεί και σε μη μυελοειδή καρκινώματα (βλ. παρακάτω), αλλά όταν κυριαρχούν τα πλασματοκύτταρα ο όγκος είναι πιθανότερο να είναι ΜΚ. Μπορεί επίσης να ανευρίσκονται λίγα ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και μονοκύτταρα, ιδιαίτερα όταν υπάρχει νέκρωση ή κυστική εκφύλιση, δεν είναι ποτέ όμως κυρίαρχες κυτταρικές μορφές σε ΜΚ. Η λεμφοκυτταρική διήθηση μπορεί να δίνει γένεση και σε βλαστικά κέντρα μέσα ή και γύρω από τον όγκο δημιουργώντας ξανά πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης από μεταστατικό καρκίνωμα σε λεμφαδένα.

Τι είναι όμως αυτή η διήθηση? Δεν μπορεί να χαρακτηριστεί σαν αντίδραση σε εκφύλιση του όγκου γιατί εμφανίζεται και σε πολύ μικρούς όγκους χωρίς περιοχές εστιακής νέκρωσης. Αποτελεί μια αντίδραση του ξενιστή στην παρουσία του ΜΚ η οποία διεγείρεται από κάποιο ιδιαίτερο, αδιευκρίνηστο ακόμη στοιχείο του όγκου ή είναι δομικό στοιχείο του όγκου αυτού καθ'εαυτού αποτέλεσμα κάποιας διαφορετικής ίσως εμβρυολογικής καταβολής; Στο ερώτημα αυτό επιχείρησαν να δώσουν απάντηση αρκετές ανοσοϊστοχημικές μελέτες. Μία πιθανή ερμηνεία είναι ότι τα καρκινικά κύτταρα εκφράζουν κατά ανώμαλο τρόπο νεοαντιγονικούς επιθηλιακούς παράγοντες ικανούς να προάγουν ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή. Διαφέρει λοιπόν ο αντιγονικός φαινότυπος και η κατανομή των μονοπυρηνικών καρκινικών φλεγμονωδών κυττάρων (ΜΚΦΚ) στα ΜΚ σε σχέση με τα υπόλοιπα πορογενή διηθητικά(ΠΔ)? Εκτός από μια πρώτη μελέτη το 1987(Ben-Ezra-Sheibani) που δεν εντόπισε διαφορές, βασιζόμενη όμως σε πολύ μικρό αριθμό περιστατικών, το 1993 ο Gaffey και κατοπινές μελέτες στην διεθνή βιβλιογραφία, κατέληξαν στα ακόλουθα συμπεράσματα :

1. Αναφορικά με τον τύπο, είναι καθ'υπεροχήν λεμφοκυτταρικός με πλειοψηφία συνήθως των CD3+ δηλ. των Τ-βοηθητικών λεμφοκυττάρων, πιθανόν λόγω σύγχρονης μειωμένης παραγωγής των Τ-κατασταλτικών. Σε λίγες περιπτώσεις διαπιστώνεται υπεροχή των Τ-

κατασταλτικών κυττάρων, γεγονός που πιθανόν σχετίζεται με κακοθέςτερη κλινική πορεία. Υπάρχει ομοιομορφία στην κατανομή των λεμφοκυτταρικών πληθυσμών ανεξάρτητα από την έκτασή τους, με διάχυτη τοποθέτηση γύρω από το καρκινικό όριο και μεταξύ του ινώδους στρώματος με επιφανειακή μόνο διήθηση των «φωλεών» των καρκινικών κυττάρων. Τα Τ-βοηθητικά περιορίζονται στον εντός του όγκου ινώδη ιστό. Είναι πιθανό ότι η παραγωγή των Τ-κατασταλτικών στα ΜΚ είναι μειωμένη.

2. Οι κατανομές των CD4+ και CD8+ δεν διαφέρουν από αυτές των ΠΔ, υπάρχει όμως μία τάση μικρότερων αριθμητικά πληθυσμών των CD4+. Τα μακροφάγα/ιστιοκύτταρα CD58+ που συνήθως ταυτοποιούνται σε <2% σε περιοχές νέκρωσης, στα ΜΚ ανιχνεύονται σε μεγαλύτερη συχνότητα. Τα CD57+ (περισσότερο) και τα CD56+ (λιγότερο)τα οποία ανιχνεύονται σπάνια σε ΠΔ, στα ΜΚ εντοπίζονται στις καρκινικές κυτταρικές «φωλιές» σε μεγαλύτερους αριθμούς και περιφερικά σε μικρότερους αριθμούς. Επίσης τα CD16+ βρίσκονται(σπάνια) σε θυλακιώδεις κατασκευές γύρω από τα συσσωματώματα καρκινικών κυττάρων, ενώ στα ΠΔ απουσιάζουν.
3. Τα φλεγμονώδη κύτταρα έρχονται μόνο περιστασιακά σε στενή επαφή με τα κύτταρα του όγκου, οπότε δεν φαίνεται να εμπλέκονται σημαντικά στην κυτταρικά μεσολαβούμενη τοξικότητα, έναν μηχανισμό άμυνας του ξενιστή που προϋποθέτει την διακυτταρική επαφή με άμεσο επακόλουθο την κυτταρική απόπτωση.
4. Τα ΜΚΦΚ δεν φάνηκε να συνδέονται με την παρουσία νέκρωσης, αιμορραγίας ή άλλων εκφυλιστικών φαινομένων, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι αντιπροσωπεύουν ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή.
5. Παρ'όλο που άλλοι ερευνητές ανέφεραν ότι το αυξημένο ποσοστό των κυττάρων αυτών συνδέεται με παράταση της επιβίωσης, στην συγκεκριμένη μελέτη δεν καταδείχτηκε κάποια σύνδεση με την συνολική επιβίωση ή το επίπεδο των λεμφαδενικών μεταστάσεων. Διαπιστώθηκε όμως ότι αυξημένα ΜΚΦΚ συνεπάγονται μικρότερο μέγεθος όγκου(Hurlimann, Saraga). Αυτό είναι λογικό, αφού αν κάποιος αποδεχτεί την υπόθεση ότι η πρόγνωση είναι αποτέλεσμα της ανταγωνιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ του καρκινικού δυναμικού και της άμυνας του ξενιστή, οι όγκοι με περισσότερα ΜΚΦΚ έχουν να αντιμετωπίσουν αυξημένους περιορισμούς ανάπτυξης σε σχέση με αυτούς με σποραδική φλεγμονώδη διήθηση. Έτσι οι όγκοι με σημαντική φλεγμονή αναμένεται να έχουν μικρότερο μέγεθος.
6. Τα λεμφοκύτταρα στα ΜΚ εκφράζουν το σύστημα HLA-DR πίο συχνά από ότι άλλοι τύποι καρκίνου του μαστού.
7. Τα λεμφοκύτταρα στα ΠΔ δεν είναι ενεργοποιημένα, ούτε φαίνεται να αποτελούν ενδιάμεσα ενεργή κύτταρα με τη δυνατότητα να φονεύουν τα καρκινικά κύτταρα. Από την άλλη πολυάριθμα λεμφοκύτταρα εντοπιζόμενα στις «φωλιές» της καρκινικής μάζας στα ΜΚ βρέθηκε ότι παράγουν υποδοχείς ιντερλευκίνης-2 και πιστεύεται ότι είναι ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα. Έχουν γίνει προσπάθειες να ενεργοποιηθούν τα διηθητικά λεμφοκύτταρα με ιντερλευκίνη-2 και να παραχθούν ενεργά κύτταρα (TIL) που να κατευθύνονται εναντίον των καρκινικών. Τα TIL αναφέρεται ότι είναι πιο αποτελεσματικά από τα κύτταρα φονείς τα διεγείρομενα από λεμφοκίνες στο να εξοντώνουν τα

καρκινικά κύτταρα in vivo. Η υψηλή συχνότητα των ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων στα ΜΚ ίσως αποτελεί ένδειξη ότι διαφέρουν λειτουργικά από τα λεμφοκύτταρα των υπολοίπων ΠΔ και έχουν την ικανότητα να φονεύουν τα καρκινικά κύτταρα συμβάλλοντας στην καλύτερη πρόγνωση των ΜΚ. Τα λεμφοκύτταρα αυτά είναι γενικά μεγαλύτερου μεγέθους απ'ότι στα ΠΔ, διαθέτουν άφθονο κυτταρόπλασμα με καλά ανεπτυγμένα οργανίδια και μερικές φορές κοκκία και συχνά βρίσκονται σε επαφή με κάποιο μακροφάγο ή άλλο κύτταρο δημιουργώντας διαπλεκόμενες μικρολάχνες μεταξύ των δύο, ενώ σε ένα μικρό αριθμό, οι μικρολάχνες ή μέρος από το λεμφοκύτταρο εγκολπώνεται μέσα στον όγκο. Η διαδικασία αυτή δεν συνδέεται με παραβίαση της μεμβράνης του καρκινικού κυττάρου και οι μεμβράνες και των δύο κυττάρων διατηρούνται στην πλευρά της λεμφοκυτταρικής εγκόλπωσης. Συχνά στα καρκινικά αυτά κύτταρα διπιστώνεται εκφυλισμός ή νέκρωση. Στα ΠΔ που μελετήθηκαν παρ'όλο που μέσω μεγέθους λεμφοκύτταρα έρχονταν περιστασιακά σε επαφή με την καρκινική κυτταρική μεμβράνη δεν διαπιστώθηκε κανένα φαινόμενο εγκόλπωσης. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διαπιστώθηκαν επίσης υψηλά ενδοθηλιακά φλεβίδια θετικά για τον παράγοντα VIII (HEV-like vessels factor-VIII-positive), τα οποία εντοπίζονται στις καρκινικές κυτταρικές φωλιές των ΜΚ και σε ΠΔ με πυκνή λεμφοκυτταρική διήθηση. Πιστεύεται ότι εφόσον η διέγερση με αντιγόνα, ιντερφερόνη, TNF, IL-1 αναφέρεται ότι προάγει την δημιουργία των HEV, είναι πιθανό ότι το ενδοθήλιο του μετατριχοειδικού φλεβιδίου σε κάποια περιοχή του όγκου λαμβάνει το ερέθισμα, με αποτέλεσμα την παραγωγή HEV που επιτρέπουν την μετανάστευση των λεμφοκυττάρων στην καρκινική μάζα. Η διαδικασία αυτή διευκολύνεται από τα μακροφάγα τα οποία εντοπίζονται και σε άλλους τύπους καρκίνου του μαστού. Βλέπουμε λοιπόν ότι οι προϋποθέσεις για την ανάπτυξη HEV συναντώνται και σε άλλους ιστολογικούς τύπους οι αντιδράσεις όμως του ενδοθηλίου στο ερέθισμα είναι ειδικού τύπου. Η υψηλή πυκνότητα στη οποία ταυτοποιείται ο υποδοχέας της ιντερλευκίνης-2 συνηγορεί στην θεωρία της μετανάστευσης των λεμφοκυττάρων διά μέσου των αγγειακών καναλιών, της ενεργοποίησής τους και της δημιουργίας κυττάρων-φονέων των καρκινικών. Τα κοκκία που ανιχνεύονται στα TIL πιστεύεται ότι συμμετέχουν στη κυτταροτοξική δράση. Στα ΜΚ υπάρχουν επίσης κοκκία στα μεγάλα λεμφοκύτταρα, η έλλειψη όμως έκφρασης MHC τύπου I στις μεμβράνες των καρκινικών κυττάρων μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο κυτταροτοξικός μηχανισμός είναι διαφορετικός με πιθανή την συμμετοχή και των NK-λεμφοκυττάρων ή ενεργοποιημένων κυττάρων με παρόμοια λειτουργικότητα. Για να ερμηνευτεί πάντως πλήρως το φαινόμενο αυτό απαιτούνται περισσότερες έρευνες για το μικροπεριβάλλον των καρκινικών κυττάρων στα ΜΚ το οποίο προάγει αυτές τις ειδικές ανοσολογικές αντιδράσεις.

### ***Ιστοπαθολογικές κατηγορίες (κατά Ridolfi-Wargotz-Tavassoli-Pedersen)***

Είναι γεγονός ότι τα ιστολογικά χαρακτηριστικά του ΜΚ όχι μόνο δεν ερμηνεύουν την καλή του πρόγνωση, αλλά μάλλον το αντίθετο αφού



δηλώνουν επιθετική συμπεριφορά και αυξημένο βαθμό κακοήθειας. Ο πρώτος που θέσπισε αυστηρά κριτήρια για την περιγραφή των ΜΚ ήταν ο Fisher και αυτά ήταν το συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης, η πλήρης μικροσκοπική περιγραφή του όγκου, μεγάλα κύτταρα με πλειομορφικό πυρήνα, διακριτό πυρήνιο και συχνές μιτώσεις, αραιό ινώδες στρώμα με έντονη διήθηση από μονοκύτταρα και απουσία αληθούς θηλωματώδους στοιχείου. Επίσης πρώτος εισήγαγε την έννοια του «άτυπου μυελοειδούς» σαν είδος όγκου που πληρεί μερικά αλλά όχι όλα από τα ανωτέρω κριτήρια. Η πλήρης περιγραφή και κατάταξη των ΜΚ σε δύο ιστοπαθολογικές κατηγορίες με διαφορετικούς μικροσκοπικούς και κλινικούς χαρακτήρες, διαφορετική πορεία, πρόγνωση και ποσοστά επιβίωσης, έγινε από τον Ridolfi το 1977. Αυτός επίσης χαρακτήρισε σαν ΜΜΚ τα διηθητικά πορογενή που εμφανίζουν κάποια χαρακτηριστικά μυελοειδών καρκινωμάτων. Ο διαχωρισμός μεταξύ ΤΜΚ και ΑΜΚ είναι πολύ αυστηρός και για την κατάταξη ενός ασθενούς στην κατηγορία του ΤΜΚ πρέπει να πληρούνται όλα τα ιστοπαθολογικά κριτήρια που έχουν θεσπιστεί, μια και μόνο αυτή η κατηγορία εμφανίζει πρόγνωση καλύτερη από τα υπόλοιπα πορογενή διηθητικά καρκινώματα του μαστού. Οποιαδήποτε παρέκλιση αυτόματα εντάσσει έναν όγκο στην κατηγορία του ΑΜΚ.

### **ΤΜΚ**

- Συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης τουλάχιστον στο 75% της καρκινικής μάζας το οποίο ορίζεται σαν: «ευρείες μεταξύ τους αναστομούμενες σειρές καρκινικών κυττάρων χωρίς να μπορούν να διακριθούν συγκεκριμένα όρια». Οι ομάδες αυτές έχουν πάχος περισσότερο από πέντε κύτταρα. Σημειώνεται ότι απαιτείται πολύ προσεκτική προετοιμασία των παθολογοανατομικών δειγμάτων για να ελαχιστοποιηθούν τα artifacts που δυσχεραίνουν την αναγνώριση του συγκυτιακού προτύπου. Προσοχή επίσης απαιτείται όταν με το πρότυπο αυτό συνυπάρχει πλακώδης διαφοροποίηση (η συχνότητά της σε κάποιες σειρές ανέρχεται στο 40%).

Δύο άλλες αναπτυξιακές μορφές που μπορεί να παρατηρηθούν είναι: 1) *Trabecular growth*: «Ρηχές» σειρές κυττάρων (συνήθως με εύρος μικρότερο από τέσσερα κύτταρα), με διακριτά κυτταρικά όρια και δυσδιάκριτες ή ανύπαρκτες αναστομωτικές περιοχές μεταξύ των κυττάρων και σύγχρονη ίνωση του στρώματος. 2) *Aggregated growth*: Τα γενικά τους χαρακτηριστικά είναι κοινά με το προηγούμενο πρότυπο, τα κύτταρα όμως διατάσσονται σε ευρείες κυκλικές μάζες ή «φωλιές» στις οποίες συχνά είναι παρόντες και αδενικοί σχηματισμοί. Τα δύο αυτά αναπτυξιακά πρότυπα ονομάζονται «κατασκευές δίκην χορδής» και προσομοιάζουν με το πρότυπο του πορογενούς διηθητικού καρκινώματος. Από τους περισσότερους συγγραφείς (Ridolfi, Fisher, Jensen, Rapin) είναι αποδεκτά σε έκταση μέχρι 25%.

Ο Tavassoli στην μελέτη του διατυπώνει μια επιφύλαξη για τα δύο άλλα «πορογενή» πρότυπα στις περιπτώσεις μεγάλων όγκων της τάξης των 5-6 εκ. γιατί αν καταλαμβάνουν το 25% δημιουργείται το ερώτημα αν πρόκειται για ΜΚ ή για ένα πορογενές διηθητικό καρκίνωμα υψηλής διαφοροποίησης. Ίσως λοιπόν το ποσοστό αυτό να πρέπει να διαφοροποιείται ελαφρά σε ευμεγέθεις νεοπλασίες.

- Καλά περιγεγραμμένος όγκος με τα χαρακτηριστικά ωθούμενα όρια λόγω της λεμφοκυτταρικής διήθησης στην περιφέρεια. Μικροσκοπικά

αυστηρά διακριτό όριο του όγκου κάτω από χαμηλή ισχύ (Χ40). Είναι σπάνιο η εντύπωση του ομαλού περιγράμματος που δίνεται μακροσκοπικά να μην επαληθεύεται με την μικροσκοπική εξέταση. Όταν υπάρχει εισβολή λιπώδους ιστού με νησίδια κυττάρων μέσα στην περιοχή του όγκου, χρειάζεται προσοχή για να μην εκληφθεί σαν περιοχή διήθησης. Οι περιπτώσεις αυτές θεωρούνται ότι εμφανίζουν ομαλό περίγραμμα. Υπάρχουν μελέτες (Haagensen) στις οποίες ο παράγοντας αυτός προσλαμβάνει και προγνωστική σημασία, καθώς η συχνότητα των λεμφαδενικών μεταστάσεων στους όγκους με ομαλό περίγραμμα βρίσκεται 10.7%, ενώ στους υπόλοιπους ανέρχεται στο 30.8%. Ο Jensen όμως καθώς και ο Fisher αναφέρουν ότι αποτελεί ένα πρόβλημα ο καθορισμός της οριοθέτησης του όγκου ιδιαίτερα σε μεγάλους όγκους όπου για να μελετηθεί απαιτούνται αρκετά παθολογοανατομικά blocks.

- Λεμφοπλασματοκυτταρική διάχυτη διήθηση στρώματος. Για να ταυτοποιηθεί ο όγκος σαν ΜΚ πρέπει η διήθηση αυτή να περιλαμβάνει τουλάχιστον το 75% της περιφέρειας του όγκου και να είναι διάχυτα παρούσα στην κυρίως μάζα. Χαρακτηρίζεται σαν: α) μέτρια αν είναι ορατή κάτω από χαμηλή ισχύ β) εκσεσημασμένη αν είναι ισοδύναμη των καρκινικών κυττάρων. Μπορεί να είναι εστιακή αν είναι ορατή σε ένα χαμηλής ισχύος πεδίο στην περιφέρεια του όγκου ή να εμφανίζεται σε πολλαπλά πεδία, να είναι περιορισμένη στα όρια ή διάχυτη. Η σύνθεση μπορεί να είναι λεμφοκυτταρική, πλασματοκυτταρική ή μικτή. Το στρώμα παρουσιάζεται αραιό. Είναι σύνηθες να παρατηρείται «εξάπλωση» κατά κάποιο τρόπο της αντίδρασης αυτής στα παρακείμενα λόβια και πόρους δίνοντας μια μεγεθυσμένη εικόνα του όγκου που είναι ψευδής αφού δεν περιέχονται αναγνωρίσιμα καρκινικά κύτταρα στις περιοχές αυτές. Για το φαινόμενο αυτό ευθύνεται πιθανόν η προσκόλληση των αναπτυσσόμενων λοβίων του μυελοειδούς καρκινώματος στα περιφερικότερα από αυτό ανατομικά στοιχεία. Ο σταδιακός πολλαπλασιασμός των κυττάρων στις περιοχές αυτές οδηγεί σε διάταση των πόρων και των λοβίων και η συνένωση των ανατομικών αυτών διαμορφώσεων στην εμφάνιση ενός κατά κάποιο τρόπο «δορυφορικού» μυελοειδούς.

Ποσοτικά η διήθηση αξιολογείται σε βαθμούς από το 0 μέχρι το 4 (ή από το 0 μέχρι το 3) με τον βαθμό 1 να αντιστοιχεί σε σποραδική διήθηση ενώ ο βαθμός 3 ή 4 σε διάχυτη έντονη διήθηση. Στα ΤΜΚ είναι πάντοτε εκσεσημασμένη με βαθμό 3 ή 4. Ποιοτικά χαρακτηρίζεται σαν λεμφοκυτταρική ή πλασματοκυτταρική ή μικτή.

- Μέτρια ή εκσεσημασμένη πυρηνική πλειομορφία και αυξημένος αριθμός μιτώσεων. Ο Ridolfi χρησιμοποίησε τρεις βαθμούς για να αξιολογήσει την κατάσταση του πυρήνα: 1 αν υπάρχει εκσεσημασμένη πλειομορφία, 2 αν η πλειομορφία είναι μέτρια και 3 αν ο πυρήνας είναι καλά διαφοροποιημένος και παρουσιάζεται ομοιογενής. Τυπικά το πυρήνιο διαγράφεται έντονα στον βαθμό 1 ενώ το χαρακτηριστικό αυτό απουσιάζει στον βαθμό 3. Τα ΤΜΚ εμφανίζουν πυρήνες βαθμού 1 ή 2. Οι Bloom και Wargotz χρησιμοποίησαν ένα τελείως αντίθετο σύστημα αξιολόγησης του πυρήνα όπου ο βαθμός 1 αντιπροσωπεύει έναν καλά διαφοροποιημένο σχετικά ομοιογενή πυρήνα, ο βαθμός 2 μέτριο βαθμό πυρηνικής πλειομορφίας και ο βαθμός 3 εκσεσημασμένη πλειομορφία

και παρουσία έντονα διαγραφόμενων πυρηνίων. Έτσι με την βαθμολόγηση αυτή τα ΤΜΚ βαθμολογούνται με 2 ή 3. Όγκοι με καλά διαφοροποιημένο πυρήνα είναι σπάνιοι και εμφανίζουν νευροενδοκρινικούς χαρακτήρες με θετική αντίδραση χρωμογρανίνης Α και ισχυρά θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς.

- Απόλυτη απουσία μικροαδενικών (microglandular features), σωληνωτών ή δίκην χορδής σχηματισμών. Η παρουσία τέτοιων μορφών ή άλλων που χαρακτηρίζουν τα χαμηλής διαφοροποίησης πορογενή διηθητικά καρκινώματα αποκλείουν κατηγορηματικά την διάγνωση του ΤΜΚ, όπως επίσης και η παρουσία πυκνού κολλαγονικού στρώματος. Βέβαια δεν είναι πάντα εύκολη η διάκριση των αληθών αδενικών σχηματισμών με κυλινδρικά κύτταρα που οριοθετούν ένα κεντρικό καθαρό διάστημα από τους ψευδο-αδενικούς που σχηματίζονται από την κυτταρική νέκρωση.
- Απών ή μικρής έκτασης ΙC (intraductal component). Χρειάζεται προσοχή στη διάκριση μεταξύ ενδοτορικού καρκινώματος στην περιφέρεια του καρκινώματος και της εικόνας του «δορυφορικού μυελοειδούς» που δημιουργείται από την επέκταση της λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης που αποτελεί πολύ συχνό φαινόμενο. Είναι ερώτημα πάντως το κατά πόσο το ενδοτορικό καρκίνωμα από μόνο του εξαιρεί τον όγκο από την κατηγορία των ΤΜΚ. Ο Tavassoli αναφέρει ότι η παρουσία του απομακρύνει την διάγνωση του ΤΜΚ, αφού συνδέεται με άμεση επιβάρυνση της πρόγνωσης.
- Διάχυτη νέκρωση, συχνότερα >25% της περιοχής του όγκου. Αποτελεί εξαιρετικά σπάνιο χαρακτηριστικό η παρουσία ελάστωσης

#### **AMK**

Ο όρος χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Fisher το 1975 για να περιγράψει τους «κυτταροβριθείς όγκους που αν και εμφανίζουν την αδρή μακροσκοπική εμφάνιση του μυελοειδούς είτε στερούνται λεμφοειδούς στρώματος είτε παρουσιάζουν διηθητικά όρια». Σύμφωνα με τον Ridolfi σαν άτυπα χαρακτηρίζονται τα ΜΚ που διαθέτουν :

- Κυρίαρχο πρότυπο ανάπτυξης το συγκυτιακό όπως περιγράφηκε προηγουμένως σε παραπάνω από το 75% του πεδίου. Και τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά:
- Περιοχές των ορίων του όγκου που δείχνουν εστιακή ή έκδηλη διήθηση. Σαν εστιακή ή ελάχιστη χαρακτηρίζεται η διήθηση που παρουσιάζεται μόνο σε ένα χαμηλής ισχύος πεδίο (x10) στο όριο του όγκου, ενώ σαν έντονη όταν είναι παρούσα σε πολλαπλά πεδία. Η συγκριτική μελέτη των ομάδων με ελάχιστη και έντονη διήθηση, έδειξε μικρή διαφορά στην επιβίωση.
- Ύπαρξη ενδοτορικού καρκινώματος στην περιφέρεια ή εκτός του όγκου. Είναι συχνά το μόνο χαρακτηριστικό που διαφοροποιεί ένα ΤΜΚ από ένα AMK, διάκριση δύσκολη αν λάβει κανείς υπ' όψη ότι συχνά εμφανίζεται σε ένα μόνο μικροσκοπικό πεδίο. Είναι ενδιαφέρον ότι το στοιχείο αυτό εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα όσο αυξάνει το μέγεθος του όγκου, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει στα μεγάλα διηθητικά πορογενή όπου το ενδοτορικό στοιχείο είναι λιγότερο συχνό. Η μέση συχνότητα εμφάνισης είναι 46%, πολύ υψηλή, συχνά με συμμετοχή του επιθηλίου των παρακείμενων λοβίων.

- Μέτρια ή αμελητέα μονοπυρηνική διήθηση ή περιοριζόμενη μόνο στην περιφέρεια του όγκου.
- Εκσεσημασμένη πυρηνική πλειομορφία.
- Παρουσία μικροαδενικών σχηματισμών.

Τα κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ΤΜΚ και των ΑΜΚ, είναι το συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης και η (διαφορετικού βαθμού) λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση. Σε περιπτώσεις διαφοροδιαγνωστικών προβλημάτων (Wargotz), όπου εκτός από τα δύο αυτά χαρακτηριστικά συνυπάρχει μόνο ενδοτορικό καρκίνωμα ή μόνο εστιακή στα όρια διήθηση, ο όγκος χαρακτηρίζεται σαν ΤΜΚ. Σημειώνεται ότι κάποιοι ερευνητές (Jensen, Tavassoli) θεωρούν περιττή την διατήρηση της κατηγορίας των ΑΜΚ λόγω του ότι στις μελέτες τους εμφάνισαν παρόμοια επιβίωση με τα πορογενή διηθητικά.

### **ΜΜΚ**

Στην κατηγορία αυτή ο Ridolfi περιέλαβε τα πορογενή διηθητικά καρκινώματα που εμφανίζουν μεν συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης σε ποσοστό όμως μικρότερο από 75% και/ή τρία τουλάχιστον χαρακτηριστικά ΑΜΚ ή συνδυασμό και των δύο αυτών. Έτσι πρόκειται για καρκινώματα καλά περιγεγραμμένα με περιοχές συγκυτιακής ανάπτυξης ή μονοπυρηνικής διήθησης. Η επιβίωση των ΜΜΚ είναι παρόμοια με των πορογενών διηθητικών και των ΜΜΚ και πρέπει απλά να περιλαμβάνονται σαν ομάδα ελέγχου στο υλικό της μελέτης, αν αυτό απαιτείται.

Μυελοειδή χαρακτηριστικά(συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης, χαμηλή διαφοροποίηση πυρήνα, εκσεσημασμένη λεμφοκυτταρική διήθηση με υπεροχή των πλασματοκυττάρων),εμφανίζονται σε άλλοτε άλλο βαθμό σε αρκετά πορογενή διηθητικά, χωρίς να τα εντάσσουν υποχρεωτικά στην κατηγορία των ΜΜΚ. Έχουν όμως προγνωστική βαρύτητα?

Ειδικότερα, μελετήθηκαν οι παράμετροι του ομαλού περιγράμματος και της πλασματοκυτταρικής διήθησης σε πορογενή διηθητικά καρκινώματα. Το μέγεθος διαπιστώθηκε ότι ήταν κατά 1.5 εκ. μεγαλύτερο από τα υπόλοιπα πορογενή. Τα ποσοστά επιβίωσης και η κατανομή των λεμφαδενικών μεταστάσεων ήταν παρόμοια με τα πορογενή(αν και μικρότερα από ότι θα περίμενε κανείς με βάση το μέγεθος του όγκου), αν όμως η σύγκριση γίνει με όγκους παρόμοιας δυσπλασίας χωρίς τα χαρακτηριστικά του ομαλού περιγράμματος και της πλασματοκυτταρικής διήθησης τα ποσοστά αυτά είναι χαμηλότερα. Ενδεικτικά, ο μέσος όρος επιβίωσης σε αποτυχία της θεραπείας ήταν περίπου 3 έτη, δηλ. 1 έτος περισσότερο από τα πορογενή διηθητικά. Σε περαιτέρω ανάλυση διακρίθηκαν δύο υποομάδες: η πρώτη (α)με πλασματοκυτταρική διήθηση που περιχαράκωνε τελείως τον όγκο και η δεύτερη (β)με μικρότερο βαθμό διήθησης. Στην ομάδα (α) η πρόγνωση ήταν καλύτερη και η θνησιμότητα των ασθενών με λεμφαδενικές μεταστάσεις η μισή από την αναμενόμενη. Στην ομάδα (β) οι παράγοντες αυτοί ήταν παρόμοιοι με τα δυσπλαστικά πορογενή. Ίσως λοιπόν ο βαθμός της πλασματοκυτταρικής διήθησης να έχει ποσοτική επίδραση στην επιβίωση και να συνδέεται με ελλειψωμένη ικανότητα του όγκου να μεθίσταται υποδεικνύοντας μία ανοσολογικής φύσης αντίδραση. Στην μελέτη του Rosen διατυπώθηκε η αντίθετη άποψη, ότι η ένταση της πλασματοκυτταρικής διήθησης στα ΜΜΚ συνδέεται με αυξημένη πιθανότητα τοπικής υποτροπής, ίσως όμως το φαινόμενο αυτό να οφείλεται κυρίως στην τοπική επέκταση των καρκινικών



κυττάρων στον υπόλοιπο υγιή μαστό που συναντάται σε μεγάλη αναλογία στα ΜΚ.

Ο ορισμός του Ridolfi και η κατάταξη σε τρεις ιστοπαθολογικές κατηγορίες έχουν επικρατήσει και χρησιμοποιούνται σε ευρεία κλίμακα. Μια τροποποίηση του ορισμού διατυπώθηκε το 1988 από τους Wargotz & Silverberg όπου η ομάδα των ΑΜΚ εξαιρείται και τα χαρακτηριστικά της (ενδοτοπικό στοιχείο, εστιακή διήθηση των ορίων ή διάχυτη μονοπυρηνική διήθηση) περιλαμβάνονται στην ενιαία κατηγορία του ΜΚ.

Το 1991 ο Pedersen πρότεινε έναν νέο ορισμό του ΜΚ καθώς στην μελέτη του διατύπωσε την άποψη ότι τα κριτήρια του Ridolfi δεν είναι αναπαραγώγιμα όχι μόνο μεταξύ δύο, αλλά και στον ίδιο παθολογοανατόμο, οδηγώντας σε διαφορετικές διαγνώσεις για την ίδια ιστοπαθολογική εικόνα. Έτσι διατύπωσε έναν καινούργιο ορισμό, περιλαμβάνοντας τις ακόλουθες παραμέτρους οι οποίες στις στατιστικές αναλύσεις παρουσίαζαν και προγνωστική βαρύτητα:

1)συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης με σύγχρονη απουσία σωληναριακού στοιχείου

2)διάχυτη, μέτρια ή εκσεσημασμένη στρωματική μονοπυρηνική διήθηση

3)διάχυτη νέκρωση <25%

Ο ορισμός αυτός, παρά την απλότητά του, δεν βρέθηκε να είναι περισσότερο αναπαραγώγιμος από αυτόν του Ridolfi, που επιπλέον παρέχει το πλεονέκτημα της σαφέστερης διάκρισης των ΤΜΚ από τα ΑΜΚ.

Ο Tavassoli όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, χρησιμοποίησε στον ορισμό του τα ίδια κριτήρια με του Ridolfi, με τη διαφορά ότι θεωρεί ότι δεδομένου του συγκυτιακού πρότυπου ανάπτυξης, η υπολειπόμενη περιοχή με έκταση < 25% πρέπει να καταλαμβάνεται από μέτρια έως εκσεσημασμένη μονοπυρηνική διήθηση κατανεμημένη σε χαλαρό στρώμα. Έτσι ένα πυκνό κολλαγενικό στρώμα ή κατασκευές δίκην χορδής σύμφωνα με τον Tavassoli εξαιρούν έναν όγκο από την κατηγορία του ΤΜΚ.

Η ιστολογική αναπαραγωγικότητα είναι πολύ σημαντική λόγω της κλινικής της βαρύτητας που συνίσταται στο κατά πόσον μπορεί να αναγνωρίζει τις ομάδες των ασθενών με βελτιωμένη πρόγνωση. Πάντως οι περισσότεροι ερευνητές καταλήγουν στο ότι ο διαχωρισμός σε τρεις ομάδες στερείται διαγνωστικής και προγνωστικής σημασίας. Η βασική διάκριση είναι αν ένας όγκος ανήκει στην κατηγορία του ΤΜΚ ή του πορογενούς διηθητικού. Η κατηγορία των ΑΜΚ φαίνεται να εγκαταλείπεται αφού εκτός από τα διαγνωστικά προβλήματα που δημιουργεί, δεν φαίνεται να διαφοροποιείται προγνωστικά ή θεραπευτικά από την κατηγορία του πορογενούς διηθητικού. Άλλωστε έχει γενικά παρατηρηθεί ότι κατά την εφαρμογή συστημάτων ταξινόμησης που περιλαμβάνουν πολλαπλές κατηγορίες με ελάχιστες μεταξύ τους διαφοροποιήσεις, ακόμη και μικρά επίπεδα ασυμφωνίας οδηγούν σε μεγάλες διαγνωστικές αποκλίσεις μεταξύ των παθολογοανατόμων από ότι τα πιο απλουστευμένα συστήματα.

Άλλα ιστολογικά χαρακτηριστικά που πρέπει να αναφέρονται και να αξιολογούνται στην περιγραφή ενός ΜΚ είναι διάφορες μεταπλαστικές αλλαγές. Η πιο συχνή είναι η πλακώδης, αλλά και μπορεί να παρατηρηθούν και οστεοχόνδρινη ή οστεώδης ή μεταπλασία με ατρακτοειδή κύτταρα. Ένα άλλο στοιχείο είναι η διαμόρφωση γιγαντιαίων κυττάρων που σημειώνεται ότι χαρακτηρίζει συχνά την εμφάνιση καρκίνου του μαστού σε εγκύους και δεν έχει διευκρινιστεί αν αποτελούν μια μεταπλαστική επιδερμοειδή



ποικιλομορφία ή μια εκφυλιστική διαφοροποίηση. Τα χαρακτηριστικά αυτά θεωρείται ότι επιβαρύνουν ιδιαίτερα την πρόγνωση.

### **Το πρόβλημα της υπερ- αλλά και υπο-διάγνωσης**

Η ραγδαία ανάπτυξη στον καρκίνο του μαστού εναλλακτικών θεραπευτικών επιλογών, έδωσε ιδιαίτερη βαρύτητα στις προσπάθειες εκτίμησης της πρόγνωσης των διαφόρων ιστολογικών τύπων. Έτσι όγκοι που δείχνουν να συμπεριφέρονται με χαρακτηριστικούς τρόπους, αποκτούν ερευνητικό ενδιαφέρον και πρέπει να διαγιγνώσκονται με αξιόπιστα και αναπαραγώγιμα κριτήρια. Σύμφωνα με αρκετά άρθρα στην σύγχρονη βιβλιογραφία, η ταυτοποίηση ενός όγκου σαν ΤΜΚ, πράξη που απαιτεί εμπειρία και ιδιαίτερη προσοχή, τίθεται ακόμη και σε όγκους που δεν πληρούν πλήρως τα αυστηρά ιστολογικά κριτήρια που έχουν θεσπιστεί, υπάρχει δηλαδή πρόβλημα υπερ-διάγνωσης μια σχετικά σπάνιας παθολογοανατομικής οντότητας. Εκτιμούνται συνήθως οι παράγοντες της πυρηνικής δυσπλασίας και της μονοπυρηνικής κυτταρικής διήθησης, ενώ η ίδια βαρύτητα πρέπει να δίνεται και στο συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης και στα καλά περιγεγραμμένα όρια. Έτσι ενώ το ΤΜΚ λόγω της πολύ καλής του πρόγνωσης είναι επιδεκτικό μιας δικαιολογημένα πιο συντηρητικής αντιμετώπισης, η κατάσταση ενός πορογενούς διηθητικού στην κατηγορία αυτή ενέχει τον μεγάλο κίνδυνο της πλημμελούς αντιμετώπισης του. Από την άλλη πλευρά ένα ΤΜΚ μπορεί να διαγνωσθεί σαν πορογενές διηθητικό (McDivitt), με αποτέλεσμα επιθετικότερη θεραπευτική αγωγή με όλες τις παρενέργειες που αυτή συνεπάγεται και λανθασμένα ερευνητικά συμπεράσματα. Θα πρέπει λοιπόν ο ιστοπαθολογικός ορισμός του να είναι απλός και κυρίως αναπαραγώγιμος.

Η αναπαραγωγιμότητα ενός ιστοπαθολογικού ορισμού μπορεί να μελετηθεί με τον βαθμό συμφωνίας μεταξύ δύο διαφορετικών παθολογοανατόμων δηλ. κατά πόσο δίνουν την ίδια ή διαφορετική διάγνωση στην εκτίμηση ενός ιστοπαθολογικού δείγματος του όγκου (interobserver variability- I.E.R.V.) αλλά και με τον βαθμό συμφωνίας του ίδιου παθολογοανατόμου δηλ. αν η εκτίμησή του για ένα δείγμα είναι διαφορετική σε δύο χρονικές φάσεις (intraobserver variability- I.R.A.V.).

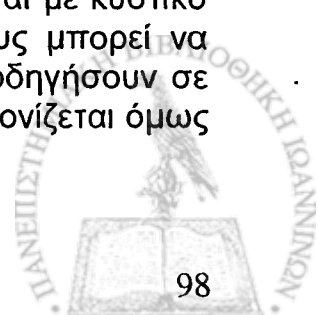
Οι μελέτες για το ζήτημα αυτό αφορούσαν την χρήση των κριτηρίων του Ridolfi και την επιμέρους μελέτη διαφορετικών παθολογοανατομικών παραμέτρων: 1)πρότυπο ανάπτυξης 2)περίγραμμα 3)στρώμα 4)βαθμός μονοπυρηνικής διήθησης 5)κατανομή μονοπυρηνικής διήθησης 6)ενδοπορικό στοιχείο 7)σωληναριακό στοιχείο 8)αριθμός μιτώσεων 9)πυρηνικός πλειομορφισμός 10) ιστολογικός βαθμός 11) νέκρωση. Η πρώτη εκτίμηση του θέματος αυτού έγινε από τον Pedersen το 1989 σε μελέτη που ολοκληρώθηκε το 1997 και τα συνολικά αποτελέσματα της οποίας αναφέρονται πιο κάτω. Η δεύτερη έγινε από τον Rigaud το 1993 όπου διαπιστώθηκε ότι η I.E.R.V. για δύο διαφορετικές εκτιμήσεις ήταν 50% και 38%, ενώ η I.R.A.V ήταν 57% κατά μέσο όρο. Από 7 παραμέτρους οι χαμηλότεροι βαθμοί συμφωνίας αφορούσαν τον βαθμό πυρηνικής πλειομορφίας και το περίγραμμα (λογικό γιατί η μεν πρώτη παράμετρος περιλαμβάνει κλίμακα βαθμολόγησης και συνεπώς υψηλό ποσοστό υποκειμενικότητας, η μεν δεύτερη εξαρτάται από την διαφορετική αξιολόγηση μιάς ελάχιστης διήθησης στην περιφέρεια), ενώ οι υψηλότεροι το ενδοπορικό στοιχείο, την παρουσία ή απουσία νέκρωσης, την μονοπυρηνική διήθηση και το συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης. Ιδιαίτερα το ενδοπορικό

καρκίνωμα(IC) φαίνεται να είναι ένα αρκετά «καθαρό» κριτήριο. Ο Gaffey το 1995 σε μελέτη με 6 παθολογοανατόμους βρήκε συμφωνία και των 6 σε 11%, των 5 σε 38% και των 4 σε 70%. Με χρήση των κριτηρίων κατά Wargotz&Silverberg οι αντίστοιχοι αριθμοί ήταν 29%, 58% και 87%. Από τις 11 ιστολογικές παραμέτρους τον υψηλότερο βαθμό συμφωνίας (και συνεπώς την υψηλότερη αναπαραγωγιμότητα) είχαν η διαφοροποίηση του πυρήνα, η μονοπυρηνική διήθηση, το πρότυπο ανάπτυξης, η παρουσία ή απουσία μικροαδενικών σχηματισμών και το IC, ενώ το χαμηλότερο βαθμό συμφωνίας το περίγραμμα του όγκου, δηλαδή το αν οι όγκοι ήταν περιχαρακωμένοι ή διηθητικοί, περαιτέρω διαχωρισμός δε των διηθητικών σαν εστιακά ή διάχυτα διηθητικοί μεγάλωνε ακόμη περισσότερο το ποσοστό ασυμφωνίας.

Η επίπτωση των διαφοροποιήσεων αυτών στον υπολογισμό του χρονικού ελεύθερου υποτροπής διαστήματος και της επιβίωσης, παραγόντων με μεγάλη κλινική βαρύτητα, μελετήθηκε από τον Pedersen ο οποίος διαπίστωσε ότι με τα κριτήρια του Ridolfi τα ποσοστά I.E.R.V. ήταν 72% και 68%, ενώ τα ποσοστά I.R.A.V. 77% και 63%. Τα ποσοστά συμφωνίας αφορούσαν, τα χαμηλότερα το περίγραμμα και το βαθμό πυρηνικής πλειομορφίας και τα υψηλότερα το βαθμό της νέκρωσης, το βαθμό της μονοπυρηνικής διήθησης και το συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης. Τα δεδομένα αυτά οδήγησαν τον Pedersen στην διατύπωση όπως αναφέρθηκε προηγουμένως ενός καινούργιου ορισμού για τα MK.

Βέβαια είναι δεδομένο και γνωστό από παλιά το πρόβλημα της υποκειμενικότητας στην εκτίμηση των παθολογοανατομικών δειγμάτων (Langley 1978) και οι διακυμάνσεις που προαναφέρθηκαν δεν είναι πολύ διαφορετικές από αυτές που αναφέρονται γενικά στην εκτίμηση των παθολογοανατομικών δειγμάτων του καρκίνου του μαστού. Αν όμως πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ένας ιστοπαθολογικός παράγοντας στον θεραπευτικό χειρισμό των ασθενών με καρκίνο του μαστού, οι διαφοροποιήσεις αυτές πρέπει να είναι ασήμαντες ώστε να μην οδηγούν σε παραπλανητικές προγνωστικές πληροφορίες. Επειδή δε η πρόγνωση του ΤΜΚ είναι άριστη, θα ήταν πολύ σημαντική η ύπαρξη ενός διαγνωστικού μοντέλου με 100% αναπαραγωγιμότητα, ώστε οι ασθενείς με ΤΜΚ να αντιμετωπίζονται με συντηρητικότερα θεραπευτικά σχήματα, οι δε ασθενείς με ΑΜΚ να μην υπόκεινται σε πλημμελή θεραπευτική αντιμετώπιση.

Θα πρέπει πάντα ο παθολογοανατόμος να έχει υπόψη του ότι τα χαρακτηριστικά του ΜΚ είναι παρόντα και σε άλλες μορφές καρκίνου του μαστού και να είναι ιδιαίτερα προσεκτικός στην επιβεβαίωση ή τον αποκλεισμό ενός ΤΜΚ. Επιπλέον είναι αυτονόητο ότι για την ορθή διάγνωση είναι απαραίτητη η εξ'ολοκλήρου αφαίρεση της βλάβης και η εκτίμηση του όγκου σαν σύνολο. Η βιοψία δια λεπτής βελόνης μπορεί να θέσει την υποψία αλλά όχι την διάγνωση του ΤΜΚ, μιά και η εικόνα του δε'λιγματος είναι αρκετά χαρακτηριστική. Είναι συνήθως κυτταροβριθές, με μεγάλα κύτταρα χαμηλής διαφοροποίησης με πλειομορφικό πυρήνα και έκδηλο πυρήνιο που είναι διατεταγμένα σε σειρές. Παρατηρούνται αρκετά λεμφοκύτταρα αναμεμιγμένα με πλασματοκύτταρα. Η αιμορραγία και η νέκρωση είναι συχνά εμφανιζόμενα στοιχεία στο δείγμα και είναι ιδιαίτερα ύποπτα όταν συνδυάζονται με κυστικό όγκο. Φλεγμονώδη συγκρίματα από τέτοιους κυστικούς όγκους μπορεί να αποκρύψουν τα εκφυλισμένα καρκινωματώδη κύτταρα και να οδηγήσουν σε εσφαλμένη διάγνωση αποστήματος ή επιμολυνθείσας κύστης. Τονίζεται όμως



πάλι ότι το δείγμα που λαμβάνεται με την μέθοδο αυτή δεν είναι αρκετό για να διακρίνει ένα ΜΚ από ένα διηθητικό πορογενές με μυελοειδείς χαρακτήρες. Σαν γενικό συμπέρασμα πάντως είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται με μεγάλη αυστηρότητα τα κριτήρια για τη διάγνωση του ΤΜΚ. Μπορεί ίσως μια μερίδα ασθενών να «υπερθεραπεύεται», αποφεύγεται όμως η πιθανότητα πλημμελούς θεραπείας ενός ΠΔ καρκινώματος.

### **Κλινική εμφάνιση-επιδημιολογικοί παράγοντες**

Οι πρώτες κλινικές περιγραφές των ΜΚ έδιναν έμφαση στο μεγάλο μέγεθος του όγκου, το ομαλό περίγραμμα και μία τάση για κυστική εκφύλιση. Εξέλκωση ή διήθηση του δέρματος ή του θωρακικού τοιχώματος δεν παρατηρούνταν γενικά, παρά μόνο σε μεγάλους όγκους, οι οποίοι ορισμένες φορές εκλαμβάνονταν λανθασμένα ιδιαίτερα σε νεαρές γυναίκες για φιμπροαδενώματα. Συνήθως εμφανίζεται σαν ανώδυνος στρογγυλός ή υποστρογγυλός κινητός όγκος στο βάθος του μαστού και έχει συχνά κλινική υφή καλοήθους εξεργασίας. Το υπερκείμενο δέρμα μπορεί να εμφανίζει μικρή ερυθρότητα.

#### Εντόπιση

Η εμφάνισή του στα διάφορα τμήματα του μαστού γίνεται με συχνότητα παρόμοια με αυτή των υπολοίπων καρκινωμάτων του μαστού. Ειδικότερα: (Δ) μαστός: 52% (Αρ) μαστός: 48% Τεταρτημόρια: Άνω Έξω: 36%, Κάτω Έξω: 9%, Άνω Έσω: 6%, Κάτω Έσω: 20%, Κέντρο: 9% ( υπάρχουν πάντως μελέτες που αναφέρουν ότι είναι μηδενική η πιθανότητα εμφάνισης κάτω από τη θηλή του μαστού ). Σε ποσοστό 20% μπορεί να αφορά το σημείο σύζευξης δύο τεταρτημορίων. Ο Wargotz αναφέρει ότι στην μελέτη του υπήρξε αυξημένη εμφάνιση των ΤΜΚ στον (Δ) μαστό, ενώ των ΑΜΚ στον (Αρ) μαστό. Πολυκεντρική εμφάνιση του καρκινώματος και εκτός του κύριου τεταρτημορίου εμφανίζεται σε 8% έως 10%. Προσοχή χρειάζεται στην περίπτωση του ΜΚ της ουράς του μαστού γιατί μπορεί λόγω των ιστολογικών και κλινικών του χαρακτηριστικών να θεωρηθεί μεταστατικό καρκίνωμα σε λεμφαδένα.

#### Μέγεθος

Η μέση διάμετρος του όγκου περιγράφεται από 2.9cm(Ridolfi) μέχρι 3.4cm (McDivitt) και δεν διαφέρει σημαντικά από την μέση διάμετρο των πορογενών διηθητικών. Ο Ridolfi αναφέρει ότι η διάμετρος είναι μεγαλύτερη στην κατηγορία των ΜΜΚ(4 cm ). Είναι πάντως γεγονός ότι μπορεί να φτάσουν σε διάμετρο ακόμη και τα 6 εκ. χωρίς να έχουν δώσει μεταστάσεις στους λεμφαδένες. Μεταξύ των τριών ιστοπαθολογικών κατηγοριών δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές αναλογικά με το μέγεθος.

Το μέγεθος αποτελεί έναν από τους καθοριστικούς προγνωστικούς παράγοντες.

#### Ηλικία

Οι ασθενείς με ΜΚ τείνουν γενικά να είναι νεότεροι από ασθενείς με άλλους τύπους καρκινώματος του μαστού. Οι Moore και Foote αναφέρουν ότι 59% των ασθενών είναι κάτω από 50 έτη. Η μέση ηλικία εμφάνισης στις περισσότερες σειρές είναι από 46 μέχρι 54 έτη. Το ΜΚ ευθύνεται για το 11% (Rosen) των καρκίνων μαστού που εμφανίζονται σε γυναίκες ηλικίας 35 ετών ή μικρότερες (ποσοστό με το οποίο διαφωνεί στην μελέτη του ο Tavassoli, αναφέροντας ότι δεν υπήρχε ούτε ένα περιστατικό με ηλικία μικρότερη από 39 έτη), ενώ είναι σχετικά σπάνιο σε μεγάλες ηλικίες. Στα ΤΜΚ συνήθως είναι μικρότερη η μέση ηλικία των ασθενών και παρόλο που η κρατούσα

άποψη είναι ότι μικρότερη ηλικία εμφάνισης του καρκίνου ακολουθείται από φτωχή πρόγνωση, αυτή δεν επαληθεύεται στη περίπτωση του ΤΜΚ.

#### Ρυθμός ανάπτυξης

Ο ρυθμός ανάπτυξης όπως μπορεί να μετρηθεί με σήμανση με θυμιδίνη είναι από τους γρηγορότερους που έχουν καταγραφεί σε καρκίνους του μαστού, παρατήρηση που είναι σε συμφωνία με την ραγδαία εμφάνιση του όγκου όπως αυτή περιγράφεται από τους ασθενείς.

#### Εμμηνοσιακή κατάσταση

Οι περισσότεροι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η πλειοψηφία των ασθενών με ΜΚ είναι προεμμηνοπαυσιακοί, υπάρχουν όμως και αρκετές μελέτες με επικράτηση των μετεμμηνοπαυσιακών. Σύμφωνα με τον Fisher η αναλογία των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών αντιστοιχεί στο ένα τρίτο των ασθενών με ΜΚ, ενώ ο Maier πρόσθεσε ότι η πενταετής και δεκαετής επιβίωση ήταν καλύτερη στην ομάδα αυτή (χωρίς να υπάρχει σημαντική διαφορά στις λεμφαδενικές μεταστάσεις). Ο Ridolfi μίλησε για διαφορετική κατανομή ανάλογα με την ιστοπαθολογική κατηγορία, με τις ασθενείς με ΤΜΚ να είναι μόνο κατά το ένα τρίτο προεμμηνοπαυσιακές, με ΜΜΚ κατά το ένα δεύτερο και με ΑΜΚ να είναι κατά μέσο όρο σε εμμηνόπαυση, χωρίς να υποδεικνύει κάποια προγνωστική σημασία του παράγοντα αυτού. Ο Pedersen ενώ στην μελέτη του 1988 συμφώνησε αρχικά με τις απόψεις των Fisher και Maier, στην μελέτη του 1997 και σύμφωνα με τον καινούργιο ορισμό του ΜΚ γράφει ότι οι περισσότεροι ασθενείς είναι προεμμηνοπαυσιακοί (60%) και εμφανίζουν καλύτερη πρόγνωση.

#### Λεμφαδένες

Το ποσοστό των λεμφαδενικών μεταστάσεων εξαρτάται από την ιστοπαθολογική κατηγορία, με τους περισσότερους μεταστατικούς λεμφαδένες στα ΜΜΚ, ενδιάμεσους στα ΑΜΚ και τους λιγότερους στα ΤΜΚ (το ποσοστό των αρνητικών λεμφαδένων στις διάφορες μελέτες κυμαίνεται από 81% το υψηλότερο έως 54% το χαμηλότερο).

Ο Ridolfi κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι μεταστάσεις είναι λιγότερο συχνές στην κατηγορία των ΤΜΚ η διαφορά όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική. Στους ασθενείς με λεμφαδενικές μεταστάσεις οι ποσοστιαίες αναλογίες αυτών που απεβίωσαν μέσα στην δεκαετία ήταν 16% στα ΤΜΚ, 26% στα ΑΜΚ, 33% στα ΜΜΚ. Οι καμπύλες επιβίωσης δεν ήταν σημαντικά διαφορετικές στους ασθενείς με ή χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις στις ομάδες των ΤΜΚ και ΑΜΚ, ενώ στα ΜΜΚ εμφάνιζαν απόκλιση. Ο Ridolfi έκανε όμως μια σημαντική παρατήρηση: δεν υπήρχε κανένας θάνατος στην ομάδα των ΤΜΚ με λεμφαδενικές μεταστάσεις όταν οι διηθημένοι λεμφαδένες ήταν λιγότεροι από 3.

Οι μεταστάσεις στους μασχαλιαίους λεμφαδένες είναι σε ποσοστό χαμηλότερο από το αναμενόμενο. Οι Maier και Fisher σημειώνουν επίσης ότι όταν μεθίστανται στους λεμφαδένες εμφανίζουν την τάση να «αυτοπεριορίζονται» μέσα στην κάψα του αδένα.

Ένα ιδιαίτερο φαινόμενο που έχει αναφερθεί σε ασθενείς με ΜΚ, είναι ότι εμφανίζουν μία τάση μεγέθυνσης των μασχαλιαίων λεμφαδένων ή αντιδραστική φλεγμονώδους αιτιολογίας λεμφαδενίτιδα, ακόμη κι όταν αυτοί δεν είναι διηθημένοι. Η μικροσκοπική εξέταση αποκαλύπτει λεμφοπλασματοκυτταρική αντίδραση, υπερπλασία βλαστικών κέντρων και θυλακιώδη υπερπλασία με διαφορετικού βαθμού ιστοκύτωση. Έτσι επειδή αυτοί οι υπερπλαστικοί λεμφαδένες κρίνονται ιδιαίτερα ύποπτοι, ο μέσος

αριθμός των λεμφαδένων που εξαιρούνται είναι μεγαλύτερος από ότι για άλλους τύπους καρκίνου του μαστού.

#### Οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς

Είναι γνωστό ότι η εμφάνιση οιστρογονικών υποδοχέων σε κακοήθεις όγκους του μαστού αποτελεί θετικό προγνωστικό σημείο που πιθανολογεί μεγαλύτερο ελεύθερο νόσου διάστημα και επιβίωση, σε σχέση με τους αρνητικούς για υποδοχείς όγκους. Αν υπάρχουν δε και θετικοί προγεστερονικοί υποδοχείς, η κλινική πορεία προμηνύεται ακόμη καλύτερη.

Για τα ΜΚ όμως τα πράγματα είναι διαφορετικά. Η μεγαλύτερη μελέτη έχει γίνει από τον Pansky όπου διπιστώθηκε ότι παραπάνω από το 75% των ΜΚ ήταν αρνητικοί για οιστρογονικούς υποδοχείς και 90% αρνητικοί για προγεστερονικούς υποδοχείς(τα αντίστοιχα ποσοστά στην μελέτη του Pedersen το 1997 είναι 67% και 64% αντίστοιχα). Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για την θεραπευτική αντιμετώπιση των ΜΚ μια και θέτει υπό αμφισβήτηση την χρησιμοποίηση ενδοκρινικής θεραπείας. Αυτό επιβεβαιώθηκε από την μελέτη του Patel το 1983 όπου σε σύνολο 22 ασθενών με ΜΚ και μεταστατική νόσο, με άγνωστο επίπεδο υποδοχέων, υπήρξε ανταπόκριση ενός μόνο ασθενούς στην θεραπεία και αυτή πολύ μικρής διάρκειας(μόνο 4 μήνες).

Η έλλειψη οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων σε συνδυασμό με την καλύτερη πρόγνωση των ΜΚ συμπληρώνει την εικόνα της βιολογικής παραδοξότητας των όγκων αυτών. Πάντως η απουσία υποδοχέων είναι σε συμφωνία με τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά του όγκου, μια και η πυκνότητα της στρωματικής μονοκυτταρικής διήθησης έχει σχέση αντιστρόφως ανάλογη με την πυκνότητα των υποδοχέων. Από την άλλη, η περιεκτικότητα ενός όγκου σε υποδοχείς είναι ανάλογη με την ιστολογική και πυρηνική του διαφοροποίηση, με τους αναπλαστικούς όγκους να περιέχουν το χαμηλότερο ποσοστό υποδοχέων.

#### Κληρονομικό ιστορικό

Ο μικρός σχετικά αριθμός ασθενών με ΜΚ είναι ένας παράγοντας που δυσχεραίνει τις γενετικές μελέτες και την εξαγωγή στατιστικά σημαντικών συμπερασμάτων. Είναι πάντως πιθανή η εμφάνισή του στα πλαίσια γενετικών συνδρόμων. Ο Rosen παρατήρησε ότι σε παραπάνω από 15% των περιπτώσεων ΜΚ υπάρχει κληρονομική επιβάρυνση από την πλευρά της μητέρας, αυξημένη δηλαδή συχνότητα σε σχέση με τα υπόλοιπα πορογενή, ενώ αντίθετα είχαν την μικρότερη συχνότητα από τα υπόλοιπα σε σχέση με την κληρονομική επιβάρυνση από την πλευρά της αδερφής. Ο Cleton προσθέτει ότι σε αυτές τις περιπτώσεις υπήρχε και τάση αμφοτερόπλευρης εντόπισης του όγκου. Ο Ridolfi στην μελέτη του αναφέρει ότι δεν διαπίστωσε κάποια ιδιαίτερη συσχέτιση με οικογενειακή επιβάρυνση και ότι στις μελέτες που αναφέρεται αυτό ενώ θα περίμενε κανείς εμφάνιση της νόσου σε μικρή ηλικία, οι ασθενείς είναι συνήθως πάνω από 45 ετών. Παρ'όλα αυτά σε κληρονομικό ιστορικό θετικό, αναφέρει 40-50% πιθανότητα αμφοτερόπλευρης εντόπισης καρκίνου του μαστού, με το ΜΚ να είναι μάλλον ο δεύτερος παρά ο πρώτος όγκος.

Ο κίνδυνος ανάπτυξης νεοπλασιών εκτός του μαστού σε συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με ΜΚ αναφέρεται ότι είναι μικρότερος απ'ότι στα υπόλοιπα πορογενή. Αυτές κατανέμονται σε τρεις κατηγορίες :

α) Όγκοι του γεννητικού συστήματος σε γυναίκες που δυνατόν να επηρεάζονται από παράγοντες όπως : ορμόνες, ρυθμιστές ορμονών, τεκνοποίηση.



β) Όγκοι του γαστρεντερικού σωλήνα που πιθανόν να επισυμβαίνουν στα πλαίσια μιάς γενετικά καθοριζόμενης οντότητας (π.χ. οικογενής αδενοκαρκινωμάτωση).

γ) Κακοήθειες υπαγόμενες στο σύνδρομο Li-Fraumeni δηλ. σαρκώματα μαλακών ιστών, όγκοι εγκεφάλου, λευχαιμίες, όγκοι του λάρυγγα ή του πνεύμονα και αδρενοκορτικοειδείς νεοπλασίες.

Έχει διαπιστωθεί αυξημένη εμφάνιση των ΜΚ, τυπικών και άτυπων και μάλιστα σε νεαρές ηλικίες κάτω των 35 ετών σε οικογένειες με κληρονομικό καρκίνο οφειλόμενο σε μετάλλαξη του γονιδίου BRCA1. Είναι συνήθως όγκοι ιστολογικού βαθμού 3, με υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού. Τα αποτελέσματα των μελετών σχετικά με την πρόγνωση των όγκων αυτών είναι αντιφατικά, με τις περισσότερες πάντως έρευνες να αναφέρουν ότι παρά τα επιθετικά μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, αν διαγνωσθούν πριν δώσουν λεμφαδενικές μεταστάσεις εμφανίζουν καλή κλινική πορεία με μικρό αριθμό υποτροπών σε σχέση με τους καρκίνους τους εμφανιζόμενους στα πλαίσια των γενετικά μεταβιβαζόμενων συνδρόμων.

#### Καρκίνωμα στον άλλο μαστό

Το ΜΚ δεν είναι ιδιαίτερα συχνό μεταξύ των ασθενών με αμφοτερόπλευρο καρκίνο του μαστού. Η συχνότητα εμφάνισης αμφοτερόπλευρου καρκινώματος όταν υπάρχει ΜΚ στον ένα μαστό κυμαίνεται στις διάφορες μελέτες από 3% μέχρι 18%. Είναι πάντως πολύ σπάνιο και το άλλο καρκίνωμα να είναι μυελοειδές-συνήθως πρόκειται για πορογενές διηθητικό. Οι Richardson και Bloom στις μελέτες τους δεν αναφέρουν ούτε ένα περιστατικό με αμφοτερόπλευρη εντόπιση, οι Moore και Foote αναφέρουν μόνο μια περίπτωση μετάχρονου πορογενούς ενώ ο Haagensen αναφέρει ποσοστό 13.4% αμφοτερόπλευρης εντόπισης, με τα μισά περίπου καρκινώματα να είναι επίσης ΜΚ. Ο Swartz μιλάει για συχνότητα 12.5% στα περιστατικά με περιγεγραμμένους όγκους, με το δεύτερο όγκο να είναι στις μισές περιπτώσεις επίσης καλά περιγεγραμμένο καρκίνωμα και στις άλλες μισές πορογενές διηθητικό. Ο Flores αναφέρει 9 περιστατικά μετάχρονων καρκινωμάτων, από τα οποία 6 πορογενή διηθητικά και 3 ΜΚ χωρίς όμως περισσότερες πληροφορίες και ένα σύγχρονο άγνωστης ιστολογικής ταξινόμησης. Ο Khatagy σε μελέτη μιας ομάδας αμφοτερόπλευρων καρκίνων του μαστού με διάστημα ελεύθερο νόσου τουλάχιστον πέντε ετών μεταξύ του πρώτου και του δεύτερου όγκου και follow-up πέντε ετών μετά τη διάγνωση του δεύτερου, διαπίστωσε ότι η συχνότητα ενός ΜΚ σαν πρώτος όγκος είναι 12.2%, ενώ σαν δεύτερος όγκος είναι 8.5%.

Η συχνότητα του ετερόπλευρου καρκίνου μεταξύ των τριών κατηγοριών, μελετήθηκε από τον Ridolfi. Τα ΜΚ διακρίθηκαν σε σχέση με τον πρώτο καρκίνο σε προηγούμενα, επόμενα (με διάστημα ελεύθερο νόσου τουλάχιστον μία πενταετία) και σύγχρονα. Οι ασθενείς με ΤΜΚ εμφάνιζαν χαμηλότερη συχνότητα επόμενου και υψηλότερη προηγούμενου ετερόπλευρου καρκίνου (συχνότερο είναι δηλαδή το πορογενές διηθητικό καρκίνωμα να είναι ο όγκος που χρονολογικά εμφανίζεται πρώτος πριν το ΤΜΚ), από τις άλλες δύο κατηγορίες. Στις περιπτώσεις που το ΜΚ παρουσιάστηκε πριν από την ηλικία των 45 ετών υπήρχε μεγαλύτερη συχνότητα ετερόπλευρου καρκινώματος και η διαφορά ήταν τετραπλάσια στα ΤΜΚ από τα ΑΜΚ.

Πολυκεντρικότητα, δηλαδή μικροσκοπικά διαπιστούμενη εστία καρκινώματος σε περιοχή άλλη από αυτή που ανιχνεύτηκε το πρωτογενές είναι ασυνήθης

και η συχνότητα εμφάνισής της στις διάφορες μελέτες κυμαίνεται από 8 εως 10%.

### Συνοδές νεοπλασίες

Περίπου το μισό των αναφερόμενων από το ατομικό αναμνηστικό των ασθενών νεοπλασιών αφορά τις ωοθήκες. Άλλες νεοπλασίες περιλαμβάνουν όγκους του τραχήλου της μήτρας(ενώ είναι πολύ σπάνιο ιστορικό καρκίνου του ενδομητρίου), του εντέρου, της ουροδόχου κύστης, σάρκωμα μαλακών μορίων και λέμφωμα. Στα MMK αναφέρεται ότι ατομικό αναμνηστικό καρκίνου των ωοθηκών συναντάται σε διπλάσια συχνότητα από τα TMK και τα AMK.

### **Τοπική υποτροπή**

Είναι η εμφάνιση νέας εστίας στον ίδιο μαστό ανεξάρτητα αν είναι στο ίδιο ή σε άλλο τεταρτημόριο. Αποτελεί ένδειξη, είτε ατελούς θεραπείας, είτε κακής βιολογικής συμπεριφοράς του όγκου. Έχει αποδειχτεί ότι η εμφάνιση τοπικής υποτροπής δεν επηρεάζει την επιβίωση της γυναίκας παρά μόνο βραχύνει το διάστημα ελεύθερο νόσου. Η αντιμετώπισή της γίνεται με τα ίδια ακριβώς κριτήρια που γίνεται και η αντιμετώπιση μίας πρωτοπαθούς εστίας. Έτσι αν έχει προηγηθεί εγχείρηση διατήρησης του μαστού, η αντιμετώπιση μπορεί να γίνει είτε με ογκεκτομή είτε με μαστεκτομή.

Στα MK έχει αναφερθεί αυξημένη συχνότητα τοπικής υποτροπής, η οποία μάλιστα συνήθως εμφανίζεται πρώιμα μέσα στην πρώτη πενταετία. Στην μελέτη του Wargotz στους ασθενείς με TMK το ποσοστό της τοπικής υποτροπής στην 5ετία ήταν 17% από τους οποίους το 25% είχε θετικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες, ενώ στους ασθενείς με AMK το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 40% από τους οποίους το 67% είχε θετικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες κατά την αρχική χειρουργική επέμβαση.

Η αρχική υποτροπή συμβαίνει τοπικά(θωρακικό τοίχωμα, λεμφαδένες μασχαλιαίοι ή υπερκλειδίοι) σε περίπου 25% των ασθενών με υποτροπή.

### **Συστηματική νόσος**

Γενικά οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού καταλήγουν από την συστηματική νόσο και όχι από την τοπική υποτροπή. Δεν έχει βέβαια διευκρινιστεί κατά πόσον η τοπική υποτροπή μπορεί να γίνει εστία συστηματικής διασποράς της νόσου. Πιστεύεται πως αποτελεί δείκτη κάμψης της βιολογικής αντίστασης του ξενιστή. Η εμφάνιση συστηματικής νόσου σηματοδοτεί την μακροσκοπική έκφραση ενός γεγονότος που ήδη βρισκόταν εν εξελίξει σε κυτταρικό επίπεδο. Δεν έχει αναφερθεί διαφορά στις ανατομικές περιοχές των μεταστάσεων ανάμεσα στις δύο ιστοπαθολογικές κατηγορίες.

Κατά την φάση της διάγνωσης πάντως ακόμη και σε όγκους με θετικούς λεμφαδένες, συνήθως δεν διαπιστώνονται απομακρυσμένες μεταστάσεις.

### **Πρόγνωση**

Δεν υπάρχει συμφωνία μεταξύ των ερευνητών για το αν η πρόγνωση του MK είναι ή όχι καλύτερη από αυτή των υπόλοιπων διηθητικών πορογενών καρκινωμάτων του μαστού. Η σύγχυση αυτή οφείλεται εν μέρει είτε σε χρησιμοποίηση διαφορετικών κριτηρίων για την διάγνωση τους είτε σε λανθασμένη εφαρμογή τους, με αποτέλεσμα MK να μπαίνουν στην κατηγορία των



ΠΔ αλλά και αντίθετα. Είναι χαρακτηριστικό ότι στην μελέτη του Jensen χρησιμοποιώντας τα κλασσικά κριτήρια του Ridolfi στο 53% των περιπτώσεων υπήρξε διαφωνία μεταξύ των πέντε παθολογοανατόμων στην κατάταξη ενός όγκου στην κατηγορία του ΜΚ ή του ΠΔ. Επίσης σε διάφορες αναδρομικές μελέτες με επανεξέταση όγκων που είχαν χαρακτηριστεί αρχικά σαν ΜΚ, χρησιμοποιώντας αυστηρά διαγνωστικά κριτήρια η διάγνωση επιβεβαιώθηκε σε λιγότερο από το 50% των όγκων. Ένα δεύτερο μεγάλο πρόβλημα που οδηγεί σε αντικρουόμενα συμπεράσματα είναι η δυσκολία διάκρισης των ΤΜΚ από τα ΑΜΚ, εμφανίζουν όμως πραγματικά βελτιωμένη πρόγνωση ή πρόκειται για μιά διάκριση με τυπική μάλλον παρά ουσιαστική σημασία που ενέχει επιπλέον και τον κίνδυνο ατελών θεραπευτικών σχημάτων?

Ο Ellis, Fisher και ο Black στις μελέτες τους δεν διαπίστωσαν καμιά απολύτως υπεροχή ακόμη και των ΤΜΚ έναντι των ΠΔ ενώ στον αντίποδα βρίσκεται ο Rabin που αναφέρει πενταετή και δεκαετή επιβίωση για τα ΤΜΚ 92% που είναι και η υψηλότερα αναφερόμενη στην βιβλιογραφία, ανεξάρτητη από το μεγάλο μέγεθος και τον αριθμό των λεμφαδενικών μεταστάσεων και υποδεικνύει σαν μόνη θεραπεία στην κατηγορία αυτή την ογκεκτομή.

Η αλήθεια πιθανόν βρίσκεται κάπου στο ενδιάμεσο αυτών των ακραίων αναφορών. Οι Moore και Foote στην μελέτη τους αναφέρουν ότι 82,7% από τους 52 ασθενείς με ΜΚ ήταν εν ζωή και ελεύθεροι νόσου μετά από ριζική μαστεκτομή. Μόνο 11,5% πέθαναν από καρκίνο του μαστού και αυτό συνέβη μέσα στην πρώτη πενταετία. Λεμφαδενικές μεταστάσεις υπήρχαν στο 42% και παρατήρησαν ότι στις περιπτώσεις αυτές η πενταετής επιβίωση έπεφτε στο 50%, οι 9 όμως ασθενείς οι οποίοι είχαν μία και μόνη μετάσταση σε λεμφαδένα, παρέμειναν ελεύθεροι νόσου στην πενταετία. Ο Richardson σε 99 ασθενείς αναφέρει πενταετή επιβίωση 78% με το ΜΚ να ευθύνεται για το 10% των θανάτων της σειράς. Η δεκαετής επιβίωση ήταν 64% με 17% ποσοστό θνησιμότητας από ΜΚ και 19% από άλλες αιτίες. Επίσης επιβεβαίωσε την παρατήρηση των Moore και Foote ότι το ποσοστό των λεμφαδενικών μεταστάσεων είναι μάλλον χαμηλό(45%) και ότι η πρόγνωση είναι σχετικά καλύτερη από άλλα πορογενή διηθητικά του ίδιου σταδίου. Έτσι η δεκαετής επιβίωση της ομάδας υψηλού κινδύνου των ΜΚ(διάμετρος>5εκ., θετικοί λεμφαδένες>4 και διήθηση δέρματος ή περιτονίας), είναι ισοδύναμη με αυτήν της ομάδας χαμηλού κινδύνου των ΠΔ.

Στην μελέτη του Pedersen το 1997 η επιβίωση των ΜΚ βρίσκεται ανάλογη με αυτήν των ΠΔ βαθμού κακοήθειας 1, με την καμπύλη της επιβίωσης να παραμένει σταθερή μετά την πενταετία σε αντίθεση με τα ΠΔ όπου εμφανίζει πτώση. Έτσι όσοι ασθενείς πέθαναν από τη νόσο, αυτό έγινε μέσα στην πρώτη πενταετία. Από την άλλη πλευρά τα ΜΚ σε ποσοστό πάνω από 96% είναι βαθμού κακοήθειας 2 ή 3 με εκσεσημασμένη πυρηνική πλειομορφία και αν η σύγκριση γίνει με τα αντίστοιχου βαθμού ΠΔ η πρόγνωση είναι πολύ βελτιωμένη. Και πάλι εμφανίζεται η παράδοξη ιδιότητα του ΜΚ, ένας όγκος με στοιχεία χαμηλής διαφοροποίησης να εμφανίζει καλή πρόγνωση ιδιαίτερα μετά την πρώτη πενταετία, ακόμη και με εφαρμογή κοινών θεραπευτικών σχημάτων στις δύο κατηγορίες.

Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά τους, ενισχύουν την πιθανότητα τα ΜΚ να αποτελούν μιά ιδιαίτερη, διαφορετικής βιολογικής συμπεριφοράς οντότητα, καρκίνου του μαστού. Σήμερα είναι γενικά παραδεκτό ότι με τη χρησιμοποίηση αυστηρών και

αναπαραγωγίμων ιστολογικών κριτηρίων, φαίνεται τα ΤΜΚ να έχουν βελτιωμένη πρόγνωση, ενώ για τα ΑΜΚ πιστεύεται ότι ελάχιστα διαφοροποιούνται προγνωστικά από τα πορογενή διηθητικά μη ειδικού τύπου.

Οι καθοριστικοί για την πρόγνωση παράγοντες, σύμφωνα με τις περισσότερες στατιστικά τεκμηριωμένες μελέτες είναι η ιστοπαθολογική κατηγορία, το μέγεθος του όγκου και το επίπεδο των λεμφαδενικών μεταστάσεων. Κάποια προγνωστική σημασία φαίνεται να έχουν και μικροσκοπικά χαρακτηριστικά του όγκου, η εμμηνοπαυσιακή κατάσταση, οι υποδοχείς, καθώς και κάποιοι άλλοι μοριακοί και γενετικοί παράγοντες που έχουν μελετηθεί τα τελευταία χρόνια. Ιδιαίτερα επιβαρυντικό στοιχείο θεωρείται η επέκταση του όγκου στην επιπολής περιτονία ή και στο θωρακικό τοίχωμα.

Είναι ενδιαφέρον ότι δεν έχει διαπιστωθεί στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ΤΜΚ και των ΑΜΚ όσον αφορά το επίπεδο των λεμφαδενικών μεταστάσεων που είναι και ο πιο σημαντικός προγνωστικός παράγοντας.

#### *Προγνωστικοί παράγοντες*

##### *1. Ιστοπαθολογική κατηγορία*

Από τους περισσότερους ερευνητές, έχει αναφερθεί μιά διαφορά στην δεκαετή επιβίωση μεταξύ των ΤΜΚ και των ΑΜΚ της τάξης του 10% (ΤΜΚ~82%, ΑΜΚ~72%). Δεδομένου ότι στα ΠΔ ανάλογης διαφοροποίησης, η δεκαετής επιβίωση περιγράφεται περίπου στο 65%, βλέπουμε ότι προγνωστικό προβάδισμα ανήκει μόνο στα ΤΜΚ. Σε κάποιες μελέτες όμως που γίνεται και πρόσθετη κατηγοριοποίηση ανάλογα με τον αριθμό των λεμφαδενικών μεταστάσεων, φαίνεται ότι βελτιωμένη πρόγνωση ισχύει στους όγκους με αρνητικές λεμφαδενικές μεταστάσεις, ΤΜΚ ή ΑΜΚ. ΤΜΚ με περισσότερους από 3 διηθημένους λεμφαδένες, φέρονται να έχουν επιβίωση παρόμοια με τα ΑΜΚ.

##### *2. Μέγεθος*

Η διάμετρος του όγκου κατ'αρχήν υπολογίζεται σαν η μεγαλύτερη διάμετρος του όγκου όπως αυτή μετράται στο φρέσκο παρασκεύασμα.

Ο Ridolfi εντόπισε σημαντική βελτίωση στην επιβίωση όταν ο όγκος είναι μικρότερος από 3 εκ. και σημαντική επιβάρυνση αν είναι μεγαλύτερος. Σε άλλες μελέτες το όριο ανέβαινε στα 5 εκ. Ο Pedersen αναφέρει, ότι για όγκους μικρότερους από 2 εκ. τα ποσοστά πενταετούς και δεκαετούς επιβίωσης είναι 90% και 88% αντίστοιχα, ενώ για όγκους μεγαλύτερους από 2 εκ. ισχύουν τα προγνωστικά δεδομένα των ΠΔ με διάμετρο μικρότερη των 2 εκ. Σήμερα είναι αποδεκτό ότι ασθενείς με όγκους μεγαλύτερους από 3 εκ. και περισσότερους από τρεις διηθημένους λεμφαδένες έχουν ποσοστά υποτροπής τοπικής ή συστηματικής, μετά από ριζική ή τροποποιημένη μαστεκτομή, που δεν διαφέρουν από αυτά των ασθενών με άλλους τύπους καρκίνου του μαστού.

##### *3. Λεμφαδενικές μεταστάσεις*

Η πρόγνωση του ΜΚ είναι πολύ καλύτερη αν ο όγκος δεν έχει δώσει μεταστάσεις στους λεμφαδένες. Σαν κριτικό όριο πέρα από το οποίο δεν υπάρχει διαφορά στην πρόγνωση των πορογενών διηθητικών καρκινωμάτων του μαστού ιδιαίτερα σε όγκους μεγέθους μεγαλύτερου από 3 εκ. θεωρούνται οι τρεις διηθημένοι λεμφαδένες. Με βάση τον αριθμό των προσβεβλημένων λεμφαδένων, αν αυτοί είναι περισσότεροι από τρεις, η πρόγνωση μέχρι τα 5 έτη είναι παρόμοια με τα υπόλοιπα πορογενή, ενώ μετά από την πενταετία είναι πολύ καλύτερη.

Με τις παρατηρήσεις αυτές συμφωνεί και η μελέτη του Pedersen σύμφωνα με την οποία δεν διαπιστώνεται μεν κάποια διαφορά στην πρόγνωση αν οι όγκοι



χωριστούν σε δύο κατηγορίες με διηθημένους ή όχι λεμφαδένες, αν όμως διαφοροποιηθούν τρεις επιμέρους ομάδες με αρνητικούς, 1-3 θετικούς και περισσότερους από 4 θετικούς λεμφαδένες, υπάρχει σημαντική επιβάρυνση στην συνολική επιβίωση στην τελευταία ομάδα. Παρ'όλα αυτά σημειώνεται ότι στην ομάδα μελέτης οι περισσότεροι όγκοι υπάγονταν στην πρώτη κατηγορία με αρνητικούς λεμφαδένες.

Τέλος φαίνεται να έχει προγνωστική σημασία ο αριθμός των αφαιρεθέντων λεμφαδένων ιδιαίτερα σε όγκους αρνητικούς για λεμφαδενικές μεταστάσεις (Axelsson).

#### 4.Ειδικά μικροσκοπικά χαρακτηριστικά

Συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης Από τον πρώτο ορισμό του ΜΚ το 1940 το συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης θεωρείται το καθοριστικό στοιχείο που θέτει την διάγνωση του ΜΚ. Ο Ridolfi όρισε σχετικά αυθαίρετα ότι πρέπει να αφορά το 75% ή περισσότερο του όγκου, κατοπινές μελέτες όμως επιβεβαίωσαν, όχι μόνο ότι το όριο αυτό είναι σωστό, αλλά και ότι έχει προγνωστική σημασία η έκταση της συγκυτιακής ανάπτυξης, με θετικό αντίκτυπο και όσον αφορά το χρονικό διάστημα ελεύθερο υποτροπής αλλά και όσον αφορά τη συνολική επιβίωση. Ο Rosen αναφέρει σημαντική επιβάρυνση της επιβίωσης όταν το συγκυτιακό πρότυπο καταλαμβάνει λιγότερο από 50%. Ο Pedersen μελέτησε την πρόγνωση σε ΜΚ διαχωρίζοντάς τα σε δύο κατηγορίες με το συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης να καταλαμβάνει έκταση μεγαλύτερη ή μικρότερη από 90%. Επιβεβαίωσε και πάλι την προγνωστική σημασία του συγκεκριμένου παράγοντα, με τους όγκους με έκταση συγκυτιακού προτύπου >90% να έχουν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ελεύθερο υποτροπής και συνολική επιβίωση, χωρίς όμως τα αποτελέσματα αυτά να είναι διαφορετικά από ότι αν χρησιμοποιείται το κριτικό όριο του 75%, το οποίο επιπλέον χαρακτηρίζεται και από μεγαλύτερη αναπαραγωγικότητα σε σχέση με το προηγούμενο πρότυπο. Έτσι η προγνωστική σημασία της έκτασης της συγκυτιακής ανάπτυξης έχει τεκμηριωθεί παραμένει όμως το όριο του 75% γιατί παρά του ότι έχει αυθαίρετα οριστεί εξασφαλίζει υψηλότερο βαθμό συμφωνίας μεταξύ των παθολογοανατόμων.

Περίγραμμα Ο Lane σε ανάλυση 200 περιπτώσεων καρκίνου του μαστού, διέκρινε τους όγκους σε δύο κατηγορίες ανάλογα με το αν είχαν ομαλό ή ανώμαλο περίγραμμα. Οι όγκοι με καλά διαγραφόμενο περίγραμμα (από τους οποίους το ένα τρίτο περίπου αντιστοιχούσαν σε ΜΚ) εμφάνιζαν στην ίδια αναλογία λεμφαδενικές μεταστάσεις όπως και αυτοί με ανώμαλο περίγραμμα, ο αριθμός όμως των λεμφαδένων ήταν σημαντικά μικρότερος και τα ποσοστά πενταετούς και δεκαετούς επιβίωσης αυξημένα. Αυτό έρχονταν σε μεγάλη αντίθεση με την ομάδα των όγκων με ανώμαλο περίγραμμα, όπου η επιβίωση ελαττώνονταν σημαντικά, ιδιαίτερα όταν ο όγκος είχε μέγεθος μεγαλύτερο από 2.5 εκ.. Παρόμοια επιδείνωση της επιβίωσης παρουσιάζονταν στην πρώτη ομάδα όταν η καθυστέρηση στην προσέλευση του ασθενούς ξεπερνούσε τους έξι μήνες. Ο Ridolfi δεν βρήκε διαφορά στην επιβίωση μεταξύ των περιπτώσεων με μικρή και αυτών με πολυεστιακή διήθηση στο περίγραμμα, παρατήρηση με την οποία συμφωνεί και ο Pedersen.

Μονοπυρηνική διήθηση Βαθμολογείται ανάλογα με την πυκνότητα σε κλίμακα από το 1 μέχρι το 3 ή 4. Ο Mitze και ο Fisher στις μελέτες τους δεν διαπίστωσαν προγνωστική σημασία του παράγοντα αυτού. Η πυκνότητα της μονοπυρηνικής στρωματικής διήθησης φαίνεται να συνδέεται σημαντικά με την επιβίωση στις δύο κατηγορίες. Έτσι όγκοι όπου η διήθηση ήταν βαθμού 3

ή 4 είχαν μεγαλύτερη δεκαετή επιβίωση σε σχέση με αυτούς όπου η διήθηση ήταν βαθμού 1 ή 2, διαφορά που ήταν ακόμη μεγαλύτερη στην κατηγορία των ΤΜΚ. Ο Pedersen σε πολυπαραγοντικές αναλύσεις διατύπωσε την άποψη ότι μόνο η κατανομή και όχι ο βαθμός της μονοπυρηνικής διήθησης έχει προγνωστική βαρύτητα. Έτσι οι όγκοι με διάχυτη στρωματική διήθηση εμφανίζουν μεγαλύτερο διάστημα ελεύθερο υποτροπής καθώς και επιβίωση από αυτούς με εστιακή ή περιορισμένη μόνο στα όρια διήθηση.

Η μονοπυρηνική διήθηση πιστεύεται ότι αποτελεί μία έκφραση είτε του όγκου είτε του ξενιστή και όχι ένα φαινόμενο που ξεκινά από μία τοπική αντίδραση όπως π.χ. τη νέκρωση, με τα μονοπυρηνικά κύτταρα τα προερχόμενα από τον όγκο να ευθύνονται για την ευνοϊκότερη στις περιπτώσεις αυτές πρόγνωση. Η αριθμητική υπεροχή των πλασματοκυττάρων ενώ δεν φαινόταν να επηρεάζει την επιβίωση στα ΤΜΚ, στις άλλες δύο κατηγορίες (και ιδιαίτερα στα ΑΜΚ) αποτελούσε ευνοϊκό προγνωστικό παράγοντα. Αναφέρεται ότι κανένας ασθενής με ποσοστό πλασματοκυττάρων μεγαλύτερο του 75% δεν πέθανε από την νόσο. Σε συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων (π.χ. ΤΜΚ με πολλά πλασματοκύτταρα-ΑΜΚ με λίγα πλασματοκύτταρα) δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές. Είναι εξαιρετικά σπάνιο σε ένα ΜΚ να πληρούνται όλα τα άλλα ιστολογικά κριτήρια και να λείπει μόνο αυτό της μονοπυρηνικής διήθησης. Φαίνεται πάντως ότι όταν αυτό συμβαίνει η πρόγνωση τείνει να εξισωθεί με αυτή του πορογενούς διηθητικού.

Στρωματικό στοιχείο Το στρωματικό στοιχείο είναι πάντοτε διάχυτο όταν το πρότυπο ανάπτυξης είναι συγκυτιακό όπως στα ΜΚ. Ο Pedersen στη μελέτη του 1991 αναφέρει ότι πιθανόν το εκσεσημασμένο στρωματικό στοιχείο να συνδέεται με κακή πρόγνωση.

Νέκρωση Η νέκρωση έχει γενικά παρατηρηθεί ότι αποτελεί κακό προγνωστικό σημείο στον καρκίνο του μαστού. Ειδικά για τα ΜΚ (παρά τις αντίθετες απόψεις των Fisher, Mitze) ο Pedersen έδειξε ότι όχι μόνο η ύπαρξη, αλλά και ο βαθμός της παρατηρούμενης νέκρωσης έχει προγνωστική σημασία. Έτσι διάχυτη νέκρωση σε ποσοστό μικρότερο του 25%, συνδυάζεται με μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ελεύθερο υποτροπής αλλά και με αυξημένη συνολική επιβίωση. Η εκσεσημασμένη νέκρωση έχει επίσης συνδεθεί με έντονη στρωματική αντίδραση που αποτελεί αρνητικό προγνωστικό παράγοντα. Αυτό είναι σε συμφωνία με την προηγουμένως αναφερθείσα παρατήρηση ότι η κατανομή μάλλον παρά ο βαθμός της μονοπυρηνικής διήθησης συνδέεται με την πρόγνωση.

Σωληναριακό στοιχείο Το σωληναριακό στοιχείο αποτελούσε μέρος του συστήματος αξιολόγησης της ιστολογικής διαφοροποίησης στον ορισμό του WHO το 1968. Λογικά ο υψηλός βαθμός σωληναριακού στοιχείου υποδεικνύει έναν καλά διαφοροποιημένο όγκο και συνεπώς καλύτερη πρόγνωση. Αυτό όμως δεν υπάρχει στα ΜΚ όπου η απουσία σωληναριακού στοιχείου έχει ευνοϊκή επίδραση στο χρονικό διάστημα ελεύθερο υποτροπής αλλά και στη συνολική επιβίωση και επιπλέον παρατηρήθηκε και κάποιος βαθμός αλληλεπίδρασης με το συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης. Έτσι όταν οι ασθενείς με συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης δεν εμφανίζουν σωληναριακό στοιχείο η πρόγνωση είναι καλύτερη, ενώ παρατηρείται το αντίθετο σε όγκους με μη συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης όπου η παρουσία του σωληναριακού στοιχείου φαίνεται να υποδεικνύει καλύτερη πρόγνωση, γεγονός που είναι σε συμφωνία με το ότι στα πορογενή διηθητικά καρκινώματα, υψηλός βαθμός σωληναριακού στοιχείου σημαίνει και υψηλό βαθμό διαφοροποίησης. Η

αλληλεπίδραση των δύο αυτών παραμέτρων οδήγησε τον Pedersen και στην διαμόρφωση ενός ορισμού που να τις περιλαμβάνει.

Ενδοπορικό στοιχείο Η απουσία ενδοπορικού καρκινώματος αποτελεί μέρος του ιστολογικού ορισμού κατά Ridolfi, ο οποίος όμως επισημαίνει ότι η παρουσία του δεν φαίνεται να επιβαρύνει την πρόγνωση και επομένως δεν πρέπει να εξαιρεί έναν όγκο από την κατηγορία του ΜΚ. Σε μελέτες της τελευταίας δεκαετίας, η περιορισμένη έκτασή του φάνηκε να σχετίζεται με μικρότερο διάστημα ελεύθερο υποτροπής.

Βαθμός διαφοροποίησης Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, παρ'όλο που γενικά για τα καρκινώματα του μαστού η καλύτερη πενταετής και δεκαετής επιβίωση παρατηρείται όταν αυτά είναι βαθμού διαφοροποίησης 1 και 2, τα ΜΚ που στην πλειοψηφία τους είναι βαθμού 3 εμφανίζουν καλύτερη επιβίωση παρόμοια με αυτή των τύπου 1 πορογενών (Scioldt, Gorski). Τα ποσοστά των θανάτων πάντως διαφοροποιούνται αλλά όχι σε βαθμό στατιστικά σημαντικό μεταξύ των όγκων βαθμού διαφοροποίησης 2 ή 3 (που αποτελούν και την μεγάλη πλειοψηφία των ΜΚ) και αυτών βαθμού 1 (ΤΜΚ 16%-ΑΜΚ 26% και ΤΜΚ 19%-ΑΜΚ 31% αντίστοιχα).

Μεταπλαστικές αλλαγές και διαμόρφωση γιγαντιαίων κυττάρων

#### 5. Υποδοχείς

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως τα ΜΚ εμφανίζουν αρνητικούς οιστρογονικούς και προγεστερινικούς υποδοχείς σε πολύ υψηλά ποσοστά. Χωρίς ιδιαίτερα σημαντικές διαφορές, υπάρχει μια τάση τα ΜΚ με θετικούς υποδοχείς να εμφανίζουν βελτιωμένη πρόγνωση. Έτσι όταν οι οιστρογονικοί υποδοχείς είναι θετικοί η πενταετής επιβίωση φτάνει το 92%, ενώ όταν είναι αρνητικοί το 71% δηλαδή ίση με την επιβίωση των ΠΔ βαθμού 1 και 2 με θετικούς υποδοχείς, ενώ παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν γίνει και για τους προγεστερινικούς υποδοχείς.

#### 6. Εμμηνοπαυσιακή κατάσταση

Από τον Pedersen καθώς και από τον Maier διαπιστώθηκε ότι οι προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς εμφανίζουν καλύτερη συνολική επιβίωση.

7. Διήθηση του δέρματος ή της περιτονίας Αποτελεί ιδιαίτερα επιβαρυντικό παράγοντα πρόγνωσης είναι όμως σπάνιο χαρακτηριστικό που παρατηρείται σε ποσοστό μικρότερο από 7% των όγκων.

#### 8. Άλλοι παράγοντες σχετιζόμενοι με την πρόγνωση του ΜΚ

Πλοειδία του DNA Η προγνωστική σημασία του DNA αναλύεται σε επόμενο κεφάλαιο

Βιμεντίνη Η βιμεντίνη είναι ένα κυτταροσκελετικό διάμεσο ινίδιο που συνήθως χαρακτηρίζει μεσεγχυματικούς ιστούς. Το 1990 και το 1994 από τον Domagala παρουσιάστηκαν στοιχεία που δείχνουν ότι αποτελεί έναν ισχυρό προγνωστικό δείκτη στον καρκίνο του μαστού και ιδιαίτερα στην ομάδα των ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες. Στα ΜΚ διαπιστώθηκε σε πολύ υψηλό ποσοστό (άνω του 70%) έκφραση της βιμεντίνης, σε σύγκριση με τα πορογενή και τα λοβιώδη καρκινώματα του μαστού. Στην ίδια μελέτη διπιστώθηκε ότι η θετική έκφραση της βιμεντίνης συνδέεται με υψηλό βαθμό της ιστολογικής διαφοροποίησης.

Ο Holck το 1993 με μεγαλύτερο αριθμό ΜΚ και ταξινόμησή τους σε ιστολογικές υποκατηγορίες, διαπίστωσε έκφραση βιμεντίνης σε ποσοστό 15% με υψηλά ποσοστά στα τυπικά (22%) και άτυπα (21%) μυελοειδή και χαμηλά στα μη μυελοειδή (4%). Σε αντίθεση όμως με ότι έχει γενικά αποδειχθεί για τα καρκινώματα του μαστού, δεν βρέθηκε καμιά προγνωστική σημασία του

συγκεκριμένου δείκτη, με αποτέλεσμα να έχει μικρή αξία στην κατηγορία των ΜΚ.

Πυρηνική πρωτεΐνη P53 - HER2/neuH προγνωστική σημασία του δείκτη αυτού αναλύεται σε επόμενο κεφάλαιο

Καθεψίνη D Η καθεψίνη D είναι μια ενδολυσosomalική ασπαρτυλ-πρωτεάση με μιτογενετικές και πρωτεολυτικές λειτουργίες in vitro που υποδεικνύουν πιθανή εμπλοκή της σε μηχανισμούς διασποράς και μετάστασης του όγκου σύμφωνα με μελέτες που συνδέουν τα αυξημένα κυτταρικά της επίπεδα με κακή πρόγνωση. Ανοσοϊστοχημική μελέτη της καθεψίνης D στα ΜΚ έγινε το 1994 από τον Armas όπου παρ'όλο που τα ΜΚ εμφάνισαν πολύ υψηλά επίπεδα χρώσης του στρώματος, ήταν κατά πολύ μεγάλη πλειοψηφία αρνητικά, ιδιαίτερα τα ΤΜΚ και τα ΑΜΚ, δηλ. διαπιστώνεται αδυναμία του όγκου να εκκρίνει καθεψίνη D.

Κερατίνη 19 Η κερατίνη 19 είναι ένα επιθηλιακό αντιγόνο που στην μελέτη του Bartek το 1985 φάνηκε να είναι θετικό σε όλους τους κακοήθεις όγκους του μαστού. Ο Larsimonτ όμως το 1994 στην μελέτη του αναφέρει ότι παρ'όλο που όλα τα χαμηλής διαφοροποίησης και το 80% των υψηλής διαφοροποίησης πορογενών καρκινωμάτων μαστού ήταν θετικά για την Κ19, όλα τα ΤΜΚ και τα ΑΤΚ που περιλαμβάνονταν στην μελέτη ήταν αρνητικά. Αυτό οδήγησε τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι το Κ19 μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διαφορική διάγνωση μεταξύ των πορογενών και των μυελοειδών καρκίνων, αλλά και στην πιθανότητα τα ΜΚ κύτταρα να συνδέονται με τα κύτταρα των τελικών πόρων των λοβιακών μονάδων. Στον αντίποδα των διαπιστώσεων αυτών βρίσκεται η μελέτη του Jensen ο οποίος χρησιμοποιώντας δύο διαφορετικά αντισώματα για την CK19 βρήκε θετικά τόσο τα ΠΔ όσο και τα ΜΚ που εξετάστηκαν.

ICAM-1-LFA-1 Στην μελέτη του Bacus το 1994 βρέθηκε ότι το μακρομόριο διακυττάριας προσκόλλησης ICAM-1 και το αντιγόνο ιντεγκρίνη, το συνδεδεμένο με την λεμφοκυτταρική λειτουργία, που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική απάντηση, ανιχνεύονται σε ΜΚ αλλά σε μικρό μόνο μέρος των πορογενών καρκινωμάτων του μαστού. Παρ'όλο που στην εργασία αυτή δεν έγινε κάποια συσχέτιση με την επιβίωση, ήταν σημαντική στα πλαίσια της διερεύνησης της ανοσολογίας των ΜΚ που μπορεί να ερμηνεύει την περιορισμένη ικανότητα των όγκων αυτών να μεθίστανται.

Στο μέλλον πιστεύεται ότι η πρόγνωση του ΜΚ θα βασίζεται τόσο στα μορφολογικά του χαρακτηριστικά όσο και στις βιολογικές και μοριακές παραμέτρους του.

### **Ανοσοϊστοχημεία των πλασματοκυττάρων στα ΜΚ**

Διακυμάνσεις στα επίπεδα των ανοσοσφαιρινών του πλάσματος αναφέρονται σε πολλές μη αιμοποιητικές κακοήθειες. Έτσι αυξημένα επίπεδα IgA και IgG έχουν αναφερθεί σε νεοπλασίες δέρματος και πνευμόνων, ενώ μόνο της IgA σε κακοήθειες του γαστρεντερικού σωλήνα και της μήτρας.

Στον φυσιολογικό μαζικό αδένα που αποτελεί εκκριτικό όργανο, τα πλασματοκύτταρα είναι τύπου IgA διατεταγμένα κοντά στο επιθήλιο των πόρων και είναι ικανά να εκκρίνουν ανοσοσφαιρίνη στα επιθηλιακά κύτταρα, με τον εκκριτικό παράγοντα να δρα σαν υποδοχέας που διευκολύνει την διαεπιθηλιακή μεταφορά της. Έτσι οι εκκρίσεις εντός του αυλού είναι θετικές για IgA και εκκριτικό παράγοντα, ενώ οι χρώσεις για IgM και IgG είναι πολύ

ασθενείς και το πρότυπο αυτό ισχύει γενικά για όλα τα εκκριτικά ανοσοποιητικά όργανα(σιελογόνοι αδένες, έντερο).

Αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Αυτό είναι κατανοητό αφού η συγκεκριμένη νόσος αποτελεί μιά εξαιρετικά ετερογενή οντότητα και πολλαπλοί παράγοντες προφανώς επηρεάζουν τις παρατηρούμενες ανοσολογικές παραλλαγές. Στα πορογενή διηθητικά καρκινώματα, παρ'όλο που εμφανίζεται σημαντική ποικιλομορφία στις χρώσεις και την κατανομή, φαίνεται να προεξάρχουν αριθμητικά τα IgG πλασματοκύτταρα. Οι χρώσεις για IgA και εκκριτικό παράγοντα ήταν ασθενείς IgM συνήθως αρνητικές, ενώ εντός των πόρων δεν ανιχνεύονται ανοσοσφαιρίνες. Έχει διαπιστωθεί μάλιστα αντίστροφη σχέση μεταξύ της IgG ανοσοσφαιρίνης και των οιστρογονικών υποδοχέων. Ασθενείς με αυξημένα επίπεδα IgA πριν τη θεραπεία αναφέρεται ότι έχουν καλύτερη ανταπόκριση, ενώ τα χαμηλά επίπεδα έχουν συνδεθεί με πρόωρη εμφάνιση όγκων σε μικρές ηλικίες και είναι πίο συχνά σε γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνο του μαστού και στην επιβαρυσμένη προγνωστικά ομάδα.

Στα ΜΚ τα καρκινικά κύτταρα ειδικά στην περιφέρεια της συγκυτιακής ανάπτυξης φαίνεται να εμφανίζουν ανοσοϊστοχημεία παρόμοια με του φυσιολογικού μαζικού αδένα. Έτσι(εκτός από μία μελέτη του Ito), έχουν βρεθεί έντονα θετικά για IgA και εκκριτικό παράγοντα, περιστασιακά για IgM, αλλά σχεδόν στο σύνολο αρνητικά για IgG, με αριθμητική υπεροχή των IgA πλασματοκυττάρων. Στις σπάνιες περιπτώσεις της αριθμητικής υπεροχής των IgG πλασματοκυττάρων στο στρώμα εξακολουθεί η χρώση να είναι θετική μόνο για IgA και εκκριτικό παράγοντα και αυτό συμβαίνει συνήθως στις περιπτώσεις που παρουσιάζουν πυκνό κολλαγονικό ιστό στο στρώμα και νέκρωση του όγκου.

Η απουσία χρώσης για IgG όπως και για αλβουμίνη δείχνει ότι η παρουσία της ανοσοσφαιρίνης στα καρκινικά κύτταρα, δεν μπορεί να αποδοθεί σε διαδικασία μη ειδικής πρόσληψης η οποία συμβαίνει σε όχι καλά διατηρημένους ιστούς ή εκφυλισμένα καρκινικά κύτταρα. Η πρόσληψη της IgA από τα περιβάλλοντα πλασματοκύτταρα φαίνεται να είναι ειδική και ενδεικτική της διατήρησης μιάς συγκεκριμένης κυτταρικής λειτουργίας κάποιου επιπέδου διαφοροποίησης. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν γίνει και σε καρκινώματα του γαστρεντερικό σωλήνα με το βαθμό χρώσης να είναι ανάλογος του βαθμού διαφοροποίησης του όγκου.

Η αριθμητική υπεροχή των IgA πλασματοκυττάρων μπορεί να αποδοθεί εν μέρει και σε βελτιωμένη λειτουργικότητα του όγκου. Έχει αποδειχτεί ότι μετά από αντιγονικό ερεθισμό πρόδρομα IgA κύτταρα μεταναστεύουν από τις Παυέριες πλάκες μέσω των μεσεντερίων λεμφαδένων και εισέρχονται στην κυκλοφορία φτάνοντας και στον μαζικό αδένα επειδή το μικροπεριβάλλον του έχει την ικανότητα να τα προσελκύει, ικανότητα που διατηρείται (και πιθανόν αυξάνεται) στα ΜΚ. Στα υπόλοιπα πορογενή διηθητικά η αρνητική χρώση για IgA δεν οφείλεται σε έλλειψη των εν λόγω κυττάρων(αποτελούν το 20% περίπου του πληθυσμού των πλασματοκυττάρων), αλλά στην απώλεια της ικανότητάς τους να προσλαμβάνουν την ανοσοσφαιρίνη από τα τοπικά πλασματοκύτταρα και κυρίως να την εκκρίνουν, αφού βρίσκεται να απουσιάζει εντελώς από τον αυλό. Δεν είναι απόλυτα βέβαιο αν τα ΜΚ με υπεροχή των IgG πλασματοκυττάρων έχουν διαφορετική κλινική πορεία ή πρόγνωση. Ίσως η αιτία του φαινομένου αυτού να είναι μη ειδικές φλεγμονώδεις αντιδράσεις.

Η μελέτη λοιπόν της IgA και του εκκριτικού παράγοντα μπορεί να συμβάλλει στην κατανόηση του επιπέδου διαφοροποίησης των όγκων αυτών και μαζί με άλλους δείκτες όπως σερουλοπλασμίνη, τρανσφερίνη καζείνη, λακτοαλβουμίνη, λακτοφερρίτινη, hCG, να παρέχουν στο μέλλον πληροφορίες για την κλινική πορεία, την πρόγνωση και να υποδεικνύουν την καταλληλότερη θεραπευτική αγωγή.

## **ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ**

### **Μαστογραφία**

Παρά τις κάποιες διαφορές που μπορεί να παρατηρηθούν, είναι κατ'αρχήν αδύνατη μαστογραφικά η διάκριση μεταξύ των διαφόρων ιστοπαθολογικών κατηγοριών του ΜΚ, αλλά και δύσκολη η διαφορική του διάγνωση από τα υπόλοιπα προγενή. Συνήθως εμφανίζεται σαν καλά περιγεγραμμένος όγκος(χαρακτηριστικό που μπορεί να παρατηρηθεί και σε άλλα διηθητικά πορογενή καρκινώματα του μαστού), στρογγυλού ή οβάλ σχήματος, χωρίς ασβεστώσεις και με λόβια που ποικίλουν σε διάμετρο από μερικά χιλιοστά μέχρι 1 εκατοστό. Ένα χαρακτηριστικό εύρημα που μπορεί να εμφανίζεται είναι το «σημείο του φωτοστέφανου»(halo sign). Οι περισσότερες καλά περιγεγραμμένες μαστογραφικά μάζες είναι καλοήθειες, ενώ στην περίπτωση που είναι καρκινώματα το πιο συνηθισμένο ιστολογικό εύρημα είναι πορογενές διηθητικό καρκίνωμα «μη άλλως καθοριζόμενο»(NOS). Παρ'όλο που σε μικροσκοπικό επίπεδο το ομαλό περίγραμμα είναι από τα απαραίτητα στοιχεία για να τεθεί η διάγνωση, στη μαστογραφία τα όρια είναι μη διακριτά σε ποσοστό 50%. Αυτό μπορεί να αντανακλά το ότι το περίγραμμα καθορίζεται από το όριο του πορογενούς καρκινώματος και όχι από την λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση που το περιβάλλει και η οποία επεκτείνεται στον παρακείμενο φυσιολογικό ιστό, που δεν φαίνεται να παραβιάζεται από το καρκίνωμα. Σε πολλές περιπτώσεις υπάρχει πλήρης απουσία μικροασβεστώσεων, που μπορεί να είναι διακριτές μόνο σε εκτεταμένο ενδοπορικό στοιχείο(EIC) στην περιφέρεια του ΜΚ.

Ο κίνδυνος της υπερ-διάγνωσης του ΜΚ υπάρχει και στην μαστογραφική του απεικόνιση λόγω της έλλειψης χαρακτηριστικών παθολογικών στοιχείων για τη διάκρισή του από τα υπόλοιπα πορογενή διηθητικά καρκινώματα του μαστού.

### **Υπερηχογράφημα**

Υπερηχογραφικά τα ΜΚ απεικονίζονται συνήθως στρογγυλά, με ομαλά όρια ενώ το ηχητικό σήμα είναι αδύνατο ή απουσιάζει, πληροφορία ενδιαφέρουσα αλλά όχι ειδική μια και αυτό εμφανίζεται σε 25% των καρκίνων του μαστού.



## **Θεραπεία**

### **Χειρουργική**

Τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή κατά Patey ή επέμβαση διατήρησης του μαστού σε συνδυασμό με λεμφαδενικό καθαρισμό. Οι ενδείξεις και οι αντενδείξεις τους είναι οι ίδιες με αυτές των υπόλοιπων καρκινωμάτων του μαστού.

### **Ακτινοθεραπεία**

Υπάρχουν δύο μελέτες που αφορούν την χορήγηση πρωτογενούς ακτινοθεραπείας σε συνδυασμό με επέμβαση διατήρησης του μαστού στην αντιμετώπιση του ΜΚ. Σ'αυτές χορηγήθηκε μετεγχειρητικά ακτινοθεραπεία με δόση 5000Gy σε 25 συνεδρείες για περισσότερο από 5 εβδομάδες στους περιοχικούς λεμφαδένες, ενώ όταν ο όγκος ήταν μεγαλύτερος από 4 εκ. δόθηκε συμπληρωματική δόση και στο θωρακικό τοίχωμα.

Σε μία μελέτη που αφορούσε βέβαια μικρό δείγμα ασθενών (39 ασθενείς), επιχειρήθηκε συνδυασμός ακτινοθεραπείας με ογκεκτομή και λεμφαδενικό καθαρισμό μετά από διάγνωση του ΜΚ με FNA. Η σειρά βέβαια δεν ήταν γενικά αντιπροσωπευτική γιατί οι όγκοι ήταν μεγαλύτεροι από 3 εκ. και πάνω από το 50% είχαν κλινικά διαπιστωμένους μασχαλιαίους λεμφαδένες. Σε 15 ασθενείς χορηγήθηκε πρόσθετα και χημειοθεραπεία. Σε 96% παρατηρήθηκε πλήρης υποστροφή του όγκου. Υποτροπές αναφέρθηκαν σε 19% μετά από περίπου 30 μήνες που αντιμετωπίστηκαν με μαστεκτομή. Συνολικά 6 ασθενείς απεβίωσαν από μεταστατικό καρκίνωμα. Ανάλογα αποτελέσματα αναφέρθηκαν και σε μελέτη του 1989.

### **Ορμονοθεραπεία**

Τα ΜΚ δεν είναι ιδιαίτερα επιδεκτικά σε ορμονική θεραπεία λόγω της έλλειψης οιστρογονικών υποδοχέων. Για το θέμα αυτό υπάρχει μόνο μία μελέτη του Tavassoli στην οποία αναφέρεται ότι από 22 ασθενείς με ΜΚ, οι 16 υποβλήθηκαν σε επινεφριδεκτομή και μόνο μία παρουσίασε ανταπόκριση, ενώ 6 υπεβλήθησαν σε αμφοτερόπλευρη ωθηκεκτομή, χωρίς καμία από αυτές να ανταποκριθεί στη θεραπεία.

### **Χημειοθεραπεία**

Αποτελεί την κύρια θεραπεία σε γενικευμένη νόσο και τη συμπληρωματική των τοπικών θεραπειών στα αρχικά στάδια. Τα σχήματα που χορηγούνται και ο τρόπος εφαρμογής τους, είναι τα ίδια όπως για όλα τα πορογενή διηθητικά καρκινώματα.

1. Adeyinka A, Mertens F, Idvall I. Cytogenetic findings in invasive breast carcinomas with prognostically favourable histology: a less complex karyotypic pattern? *Int J Cancer*. 1998 Aug 21;79(4):361-4.
2. Ahmad S, Faruqi NA, Arif SH. Serum immunoglobulin levels in neoplastic disorder of breast. *J Indian Med Assoc*. 2002 Aug;100(8):495-6.
3. Ahmed A. The ultrastructure of medullary carcinoma of the breast. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1980;388(2):175-86.
4. Allen C, Cox EB, Manton KG, Cohen HJ. Breast cancer in the elderly. Current patterns of care. *J Am Geriatr Soc*. 1986 Sep;34(9):637-42.
5. Altinyollar H, Kapucuoglu N, Pak I, Berberoglu U. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy in early stage breast carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2000 Jun;19(2):141-4.
6. Anania G, Pasqual E, Uzzau A. Medullary carcinoma of the breast. A review of the literature and a report of the authors' own cases. *Minerva Chir*. 1994 Dec;49(12):1239-43.
7. Armas OA, Gerald WL, Lesser ML. Immunohistochemical detection of cathepsin D in T2N0M0 breast carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1994 Feb;18(2):158-66.
8. Armes JE, Egan AJ, Southey M. The histologic phenotypes of breast carcinoma occurring before age 40 years in women with and without BRCA1 or BRCA2 germline mutations: a population-based study. *Cancer*. 1998 Dec 1;83(11):2335-45. Comment in: *Cancer*. 1998 Dec 1;83(11):2251-4.
9. Armes JE, Venter DJ. The pathology of inherited breast cancer. *Pathology*. 2002 Aug;34(4):309-14.
10. Ashida A, Fukutomi T, Tsuda H. Atypical medullary carcinoma of the breast with cartilaginous metaplasia in a patient with a BRCA1 germline mutation. *Jpn J Clin Oncol*. 2000 Jan;30(1):30-2.
11. Bacus SS, Zelnick CR, Chin DM. Medullary carcinoma is associated with expression of intercellular adhesion molecule-1. Implication to its morphology and its clinical behavior. *Am J Pathol*. 1994 Dec;145(6):1337-48.
12. Baker RR. Unusual lesions and their management. *Surg Clin North Am*. 1990 Aug;70(4):963-75.
13. Bassler R, Dittmann AM, Dittrich M. Mononuclear stromal reactions in mammary carcinoma, with special reference to medullary carcinomas with a lymphoid infiltrate. Analysis of 108 cases. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1981;393(1):75-91.
14. Bedner E, Harezga B, Osborn M. Cathepsin D in invasive ductal NOS, medullary, lobular and mucinous breast carcinoma. An immunohistochemical study. *Pol J Pathol*. 1995;46(1):11-5.
15. Ben-Ezra J, Sheibani K. Antigenic phenotype of the lymphocytic component of medullary carcinoma of the breast. *Cancer*. 1987 Jun 15;59(12):2037-41.
16. Bernstein JL, Lapinski RH, Thakore SS, Thompson. The descriptive epidemiology of second primary breast cancer. *Epidemiology*. 2003 Sep;14(5):552-8.
17. Berg JW, Hutter RV. Breast cancer. *Cancer*. 1995 Jan 1;75(1 Suppl):257-69.
18. Black CL, Morris DM, Goldman LI. The significance of lymph node involvement in patients with medullary carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet*. 1983 Dec;157(6):497-9.
19. Bloom HJG, Richardson WW, Fields JR. Host resistance and survival in carcinoma of breast: a study of 104 cases of medullary carcinoma in a series of 1511 cases of breast cancer followed for 20 years. *Br Med J* 1970;3:181.
20. Bullerdiek J, Bonk U, Staats B. Trisomy 18 as the first chromosome abnormality in a medullary breast cancer. *Cancer Genet Cytogenet*. 1994 Mar;73(1):75-8.



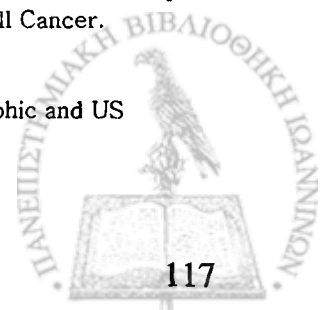
21. Burki N, Gencik A, Torhorst JK Familial and histological analyses of 138 breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 1987 Nov;10(2):159-67.
22. Burki N, Buser M, Emmons LR Malignancies in families of women with medullary, tubular and invasive ductal breast cancer. *Eur J Cancer.* 1990 Mar;26(3):295-303.
23. Chang J, Elledge RM. Clinical management of women with genomic BRCA1 and BRCA2 mutations. *Breast Cancer Res Treat.* 2001 Sep;69(2):101-13.
24. Charpin C, Bonnier P, Garcia S.E-cadherin and beta-catenin expression in breast medullary carcinomas. *Int J Oncol.* 1999 Aug;15(2):285-92.
25. Cheung YC, Chen SC, Lee KF. Sonographic and pathologic findings in typical and atypical medullary carcinomas of the breast. *J Clin Ultrasound.* 2000 Sep;28(7):325-31.
26. Choi SH, Barsky SH, Chang HR. Clinicopathologic analysis of sentinel lymph node mapping in early breast cancer. *Breast J.* 2003 May-Jun;9(3):153-62.
27. Claus EB, Risch N, Thompson WD Relationship between breast histopathology and family history of breast cancer. *Cancer.* 1993 Jan 1;71(1):147-53.
28. Contesso G, Rapin-Marion V, Mouriesse H. Medullary carcinoma of the breast. What remains of this entity today? *Arch Anat Cytol Pathol.* 1995;43(1-2):44-50.
29. Cutuli B, Dhermain F, Borel C. Breast cancer in patients treated for Hodgkin's disease: clinical and pathological analysis of 76 cases in 63 patients. *Eur J Cancer.* 1997 Dec;33(14):2315-20. Comment in: *Eur J Cancer.* 1997 Dec;33(14):2293-4.
30. Cutuli B, Velten M, Martin C. Assessment of axillary lymph node involvement in small breast cancer: analysis of 893 cases. *Clin Breast Cancer.* 2001 Apr;2(1):59-65; discussion 66.
31. Coronella JA, Telleman P, Kingsbury GA. Evidence for an antigen-driven humoral immune response in medullary ductal breast cancer. *Cancer Res.* 2001 Nov 1;61(21):7889-99.
32. Dadmanesh F, Petersen JL, Sapino A. Lymphoepithelioma-like carcinoma of the breast: lack of evidence of Epstein-Barr virus infection. *Histopathology.* 2001 Jan;38(1):54-61.
33. Dalal P, Shousha S. Keratin 19 in paraffin sections of medullary carcinoma and other benign and malignant breast lesions. *Mod Pathol.* 1995 May;8(4):413-6.
34. Daroca PJ Jr. Medullary carcinoma of the breast with granulomatous stroma. *Hum Pathol.* 1987 Jul;18(7):761-3.
35. Dees EC, Shulman LN, Souba WW. Does information from axillary dissection change treatment in clinically node-negative patients with breast cancer? An algorithm for assessment of impact of axillary dissection. *Ann Surg.* 1997 Sep;226(3):279-86; discussion 286-7.
36. De Iorio P, Midulla C, Pisani T. Implication of laminin and collagen type IV expression in the progression of breast carcinoma. *Anticancer Res.* 2001 Mar-Apr;21(2B):1395-9.
37. Dendale R, Vincent-Salomon A, Mouret-Fourme E. Medullary breast carcinoma: prognostic implications of p53 expression. *Int J Biol Markers.* 2003 Apr-Jun;18(2):99-105.
38. De Rubeis GP, Perri S, Tavone E. Non-palpable lesions of the breast: retrospective clinical study. *Chir Ital.* 2001 May-Jun;53(3):299-312.
39. Domagala W, Wozniak L, Lasota J. Vimentin is preferentially expressed in high-grade ductal and medullary, but not in lobular breast carcinomas. *Am J Pathol.* 1990 Nov;137(5):1059-64.
40. Eisinger F, Jacquemier J, Charpin C. Mutations at BRCA1: the medullary breast carcinoma revisited. *Cancer Res.* 1998 Apr 15;58(8):1588-92.
41. Eisinger F, Nogues C, Birnbaum D. BRCA1 and medullary breast cancer. *JAMA.* 1998 Oct 14;280(14):1227-8. Comment on: *JAMA.* 1998 Mar 25;279(12):915-21. *JAMA.* 1998 Mar 25;279(12):922-9.



42. Ellis IO, Galea M, Broughton N Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1992 Jun;20(6):479-89.
43. Erdreich LS, Asal NR, Hoge AF Morphologic types of breast cancer: age, bilaterality, and family history. *South Med J*. 1980 Jan;73(1):28-32.
44. Erhardt K, Auer G, Folin A Comparison between histologic type, estrogen receptor, and nuclear DNA content in mammary carcinoma. *Am J Clin Oncol*. 1986 Feb;9(1):83-9.
45. Feinmesser M, Sulkes A, Morgenstern S.HLA-DR and beta 2 microglobulin expression in medullary and atypical medullary carcinoma of the breast: histopathologically similar but biologically distinct entities. *J Clin Pathol*. 2000 Apr;53(4):286-91.
46. Fisher ER, Gregorio R, Redmond C Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast project (protocol no. 4). II. The significance of regional node histology other than sinus histiocytosis in invasive mammary cancer. *Am J Clin Pathol*. 1976 Jan;65(1):21-30.
47. Fisher ER, Osborne CK, McGuire WL Correlation of primary breast cancer histopathology and estrogen receptor content. *Breast Cancer Res Treat*. 1981;1(1):37-41.
48. Fisher ER, Kenny JP, Sass R Medullary cancer of the breast revisited. *Breast Cancer Res Treat*. 1990 Oct;16(3):215-29.
49. Fisher ER, Redmond C, Fisher B.Prognostic factors in NSABP studies of women with node-negative breast cancer. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1992;(11):151-8.
50. Fisher ER, Anderson S, Redmond C Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project protocol B-06. 10-year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer*. 1993 Apr 15;71(8):2507-14.
51. Fisher CJ, Egan MK, Smith P.Histopathology of breast cancer in relation to age. *Br J Cancer*. 1997;75(4):593-6.
52. Flores L, Arlen M, Elguezabal A Host tumor relationships in medullary carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet*. 1974 Nov;139(5):683-8.
53. Fourquet A, Vilcoq JR, Zafrani B Medullary breast carcinoma: the role of radiotherapy as primary treatment. *Radiother Oncol*. 1987 Sep;10(1):1-6.
54. Gaffey MJ, Frierson HF Jr, Mills SE Medullary carcinoma of the breast. Identification of lymphocyte subpopulations and their significance. *Mod Pathol*. 1993 Nov;6(6):721-8.
55. Gaffey MJ, Mills SE, Frierson HF .Medullary carcinoma of the breast: interobserver variability in histopathologic diagnosis. *Mod Pathol*. 1995 Jan;8(1):31-8.
56. Gallager HS Pathologic types of breast cancer: their prognoses. *Cancer*. 1984 Feb 1;53(3 Suppl):623-9.
57. Gamel JW, Meyer JS, Feuer E.The impact of stage and histology on the long-term clinical course of 163,808 patients with breast carcinoma. *Cancer*. 1996 Apr 15;77(8):1459-64.
58. Gao X, Fisher SG, Emami B. Risk of second primary cancer in the contralateral breast in women treated for early-stage breast cancer: a population-based study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2003 Jul 15;56(4):1038-45.
59. Geschickter CF. In: *Diseases of the breast: diagnosis, pathology, treatment*, ed 2<sup>nd</sup>. Philadelphia, JB Lippincott, 1945:565.
60. Gould VE, Miller J, Jao W Ultrastructure of medullary, intraductal, tubular and adenocystic breast carcinomas: comparative patterns of myoepithelial differentiation and basal lamina deposition. *Am J Pathol*. 1975 Mar;78(3):401-7.
61. Ito T, Saga S, Nagayoshi W. Class distribution of immunoglobulin-containing plasma cells in the stroma of medullary carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat* 1986;7:97.

62. Haagensen CD. Circumscribed carcinoma. In: Diseases of the breast, ed 2<sup>nd</sup>. Philadelphia, WB Saunders, 1971:570.
63. Hansen MH, Nielsen H, Ditzel HJ. The tumor-infiltrating B cell response in medullary breast cancer is oligoclonal and directed against the autoantigen actin exposed on the surface of apoptotic cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Oct 23;98(22):12659-64. Epub 2001 Oct 16.
64. Hansen MH, Nielsen HV, Ditzel HJ. Translocation of an intracellular antigen to the surface of medullary breast cancer cells early in apoptosis allows for an antigen-driven antibody response elicited by tumor-infiltrating B cells. J Immunol. 2002 Sep 1;169(5):2701-11.
65. Harris M, Lessells AM. The ultrastructure of medullary, atypical medullary and non-medullary carcinomas of the breast Histopathology. 1986 Apr;10(4):405-14.
66. Hartveit F. Medullary carcinoma of the breast. Type I and type 3 tumours. Acta Pathol Microbiol Scand [A]. 1974 Mar;82(2):319-25.
67. Hartveit F. Breast cancer: poor short-term prognosis in cases with moderate lymphocyte infiltration at the tumour edge: a preliminary report. Oncol Rep. 1998 Mar-Apr;5(2):423-6.
68. Helin HJ, Helle MJ, Kallioniemi OP. Immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptors in human breast carcinoma. Correlation with histopathology and DNA flow cytometry. Cancer. 1989 May 1;63(9):1761-7.
69. Hemminki K, Granstrom C. Familial breast carcinoma risks by morphology: a nationwide epidemiologic study from Sweden. Cancer. 2002 Jun 1;94(11):3063-70.
70. Hoge AF, Asal N, Owen W. Histologic and staging classification of breast cancer: implications for therapy. South Med J. 1982 Nov;75(11):1329-34.
71. Holck S, Pedersen L, Schiodt T. Vimentin expression in 98 breast cancers with medullary features and its prognostic significance. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1993;422(6):475-9
72. Holland R, van Haelst UJ. Mammary carcinoma with osteoclast-like giant cells. Additional observations on six cases. Cancer. 1984 May 1;53(9):1963-73.
73. Holm R, Florenes VA, Erikstein B. Expression of stromelysin-3 in medullary carcinoma of the breast. Anticancer Res. 1997 Sep-Oct;17(5B):3725-7.
74. Howell LP, Kline TS. Medullary carcinoma of the breast. An unusual cytologic finding in cyst fluid aspirates. Cancer. 1990 Jan 15;65(2):277-82.
75. Hsu SM, Raine L, Nayak RN. Medullary carcinoma of the breast: an immunohistochemical study of its lymphoid stroma. Cancer 1981;48:1368.
76. Hussain MA, Tyagi SP, Tyagi N. Stromal cellular response in breast tumours and allied lesions. J Indian Med Assoc. 1992 May;90(5):119-21.
77. Jeelani G, Beg MA, Hussain A. Simultaneous bilateral inflammatory medullary carcinoma of the male breast. Int Surg. 1977 Mar;62(3):147-8.
78. Jensen ML, Kiaer H, Melsen F. Medullary breast carcinoma vs. poorly differentiated ductal carcinoma: an immunohistochemical study with keratin 19 and oestrogen receptor staining. Histopathology. 1996 Sep;29(3):241-5.
79. Jensen ML, Kiaer H, Andersen J. Prognostic comparison of three classifications for medullary carcinomas of the breast. Histopathology. 1997 Jun;30(6):523-32. Comment in: Histopathology. 1999 Feb;34(2):175-8.
80. Iwaya K, Tsuda H, Fukutomi T. Histologic grade and p53 immunoreaction as indicators of early recurrence of node-negative breast cancer. Jpn J Clin Oncol. 1997 Feb;27(1):6-12.
81. Kajiwara M, Toyoshima S, Yao T. Apoptosis and cell proliferation in medullary carcinoma of the breast: a comparative study between medullary and non-medullary carcinoma using the TUNEL method and immunohistochemistry. J Surg Oncol. 1999 Apr;70(4):209-16.

82. Kleer CG, Michael CW. Fine-needle aspiration of breast carcinomas with prominent lymphocytic infiltrate. *Diagn Cytopathol.* 2000 Jul;23(1):39-42.
83. Kopans DB, Rubens J. Medullary carcinoma of the breast. *Radiology.* 1989 Jun;171(3):876.
84. Kotlan B, Gruel N, Zafrani B. Immunoglobulin variable regions usage by B-lymphocytes infiltrating a human breast medullary carcinoma. *Immunol Lett.* 1999 Feb;65(3):143-51.
85. Lakhani SR. The pathology of familial breast cancer: Morphological aspects. *Breast Cancer Res.* 1999;1(1):31-5. Epub 1999 Oct 27.
86. Lambie H, Miremadi A, Pinder SE. Prognostic significance of BRCA1 expression in sporadic breast carcinomas. *J Pathol.* 2003 Jun;200(2):207-13.
87. Larsimont D, Lespagnard L, Degeyter M. Medullary carcinoma of the breast: a tumour lacking keratin 19. *Histopathology.* 1994 Jun;24(6):549-52.
88. Lee YT, Terry R. Surgical treatment of carcinoma of the breast. I. Pathological finding and pattern of relapse. *J Surg Oncol.* 1983 May;23(1):11-15.
89. Lee YT. Surgical treatment of carcinoma of the breast: III. Pathological finding and probability of relapse. *J Surg Oncol.* 1984 Feb;25(2):109-15.
90. Lee YT, Chan LS. Surgical treatment of carcinoma of the breast: II. Prognostic factors influencing relapse rate. *J Surg Oncol.* 1984 Feb;25(2):102-8.
91. Lespagnard L, Cochaux P, Larsimont D. Absence of Epstein-Barr virus in medullary carcinoma of the breast as demonstrated by immunophenotyping, in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Am J Clin Pathol.* 1995 Apr;103(4):449-52.
92. Lesser ML, Rosen PP, Kinne DW. Multicentricity and bilaterality in invasive breast carcinoma. *Surgery.* 1982 Feb;91(2):234-40.
93. Liberman L, LaTrenta LR, Samli B. Overdiagnosis of medullary carcinoma: a mammographic-pathologic correlative study. *Radiology.* 1996 Nov;201(2):443-6.
94. Li Ci, Malone KE, Daling JR. Differences in breast cancer hormone receptor status and histology by race and ethnicity among women 50 years of age and older. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002 Jul;11(7):601-7.
95. Liefers GJ, Tollenaar RA, Nakamura Y. Genetic cancer syndromes and large-scale gene expression analysis: applications in surgical oncology. *Eur J Surg Oncol.* 2001 Jun;27(4):343-8.
96. Loreta J, Marinosa ML, Corominas JM. Medullary carcinoma of the breast: an ultrastructural morphometric study of nine cases. *Ultrastruct Pathol.* 1997 Nov-Dec;21(6):499-507.
97. Maier VP, Rosemond GP, Goldman LI. A ten-year study of medullary carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1977;144:695.
98. Markovits P, Contesso G, Sarrazin D. Medullary carcinoma of the breast. Clinical and anatomoradiological study apropos of 56 cases *Bull Cancer.* 1970 Oct-Dec;57(4):517-26.
99. Martinazzi M, Crivelli F, Zampatti C. Low, intermediate and high grade breast carcinomas as determined by histotyping, immunohistochemical prognosticators and histological grading. *Pathologica.* 1992 Jan-Feb;84(1089):33-47.
100. Martinez-Hernandez A, Francis DJ. Elastosis and other stromal reactions in benign and malignant breast tissue: an ultrastructural study. *Cancer.* 1977 Aug;40(2):600-6.
101. Meyer JS, Bauer WC, Rao BR. Subpopulations of breast carcinoma defined by S-phase fraction, morphology, and estrogen receptor content. *Lab Invest.* 1978 Sep;39(3):225-35.
102. Meyer JS, Bauer WC, Stevens SC, Rao BR. S-phase fractions of breast carcinomas. Relationships to morphology, estrogen and progesterone receptors, and early recurrence. *Bull Cancer.* 1978;65(4):449-54.
103. Meyer JE, Amin E, Lindfors KK. Medullary carcinoma of the breast: mammographic and US appearance. *Radiology.* 1989 Jan;170(1 Pt 1):79-82.



104. Middleton LP, Chen V, Perkins GH. Histopathology of breast cancer among African-American women. *Cancer*. 2003 Jan 1;97(1 Suppl):253-7.
105. Mitchell RE, Mitchell RM, Shugg D The prognosis of breast cancer based on histological assessment. *Aust N Z J Surg*. 1979 Jun;49(3):305-12.
106. Mitze M, Goepel E. Prognostic factors in medullary breast cancer. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 1989 Jul;49(7):635-41.
107. Mohammed RH, Lakatua DJ, Haus Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer. Correlation with histologic subtype and degree of differentiation. *Cancer*. 1986 Sep 1;58(5):1076-81.
108. Moore OS Jr, Foote FW Jr. The relatively favorable prognosis of medullary carcinoma of the breast. *Cancer* 1949;2:635.
109. Moran RE, Black MM, Alpert L Correlation of cell-cycle kinetics, hormone receptors, histopathology, and nodal status in human breast cancer. *Cancer*. 1984 Oct 15;54(8):1586-90.
110. Morabito A, Magnani E, Gion M. Prognostic and predictive indicators in operable breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2003 Feb;3(6):381-90.
111. Murad TM, Scharpelli DG The ultrastructure of medullary and scirrhous mammary duct carcinoma. *Am J Pathol*. 1967 Feb;50(2):335-60.
112. Murakami M, Kuroda Y, Sano A. Breast conservation for huge-sized locally advanced breast cancer: a case report. *Radiat Med*. 2001 May-Jun;19(3):155-9.
113. Nahon S, Brewer Y, Kirscher S. Axillary lymph node and bone marrow micrometastases of breast cancer. *Bull Cancer*. 2001 Nov;88(11):1095-104.
114. Naidu R, Wahab NA, Yadav MM. Expression and amplification of cyclin D1 in primary breast carcinomas: relationship with histopathological types and clinico-pathological parameters. *Oncol Rep*. 2002 Mar-Apr;9(2):409-16.
115. Niu Y, Fu X, Lv A. Potential markers predicting distant metastasis in axillary node-negative breast carcinoma. *Int J Cancer*. 2002 Apr 10;98(5):754-60.
116. Neuman ML, Homer MJ. Association of medullary carcinoma with reactive axillary adenopathy. *AJR Am J Roentgenol*. 1996 Jul;167(1):185-6.
117. Newman LA, Bunner S, Carolin K. Ethnicity related differences in the survival of young breast carcinoma patients. *Cancer*. 2002 Jul 1;95(1):21-7.
118. Olszewski W, Darzynkiewicz Z, Rosen PP Flow cytometry of breast carcinoma: II. Relation of tumor cell cycle distribution to histology and estrogen receptor. *Cancer*. 1981 Aug 15;48(4):985-8.
119. Page DL Special types of invasive breast cancer, with clinical implications. *Am J Surg Pathol*. 2003 Jun;27(6):832-5.
120. Parl FF, Wagner RK The histopathological evaluation of human breast cancers in correlation with estrogen receptor values. *Cancer*. 1980 Jul 15;46(2):362-7.
121. Patel JK, Nemoto T, Dao TL Is medullary carcinoma of the breast hormone dependent? *Surg Oncol*. 1983 Dec;24(4):290-1.
122. Pedersen L, Holck S, Schiodt T. Medullary carcinoma of the breast. *Cancer Treat Rev*. 1988 Mar;15(1):53-63.
123. Pedersen L, Holck S, Schiodt T Inter- and intraobserver variability in the histopathological diagnosis of medullary carcinoma of the breast, and its prognostic implications. *Breast Cancer Res Treat*. 1989 Oct;14(1):91-9.

124. Pedersen L, Schiødt T, Holck S The prognostic importance of syncytial growth pattern in medullary carcinoma of the breast. *APMIS*. 1990 Oct;98(10):921-6.
125. Pedersen L, Zedeler K, Holck S Medullary carcinoma of the breast, proposal for a new simplified histopathological definition. Based on prognostic observations and observations on inter- and intraobserver variability of 11 histopathological characteristics in 131 breast carcinomas with medullary features. *Br J Cancer*. 1991 Apr;63(4):591-5.
126. Pedersen L, Larsen JK, Christensen IJ DNA ploidy and S-phase fraction in medullary carcinoma of the breast--a flow cytometric analysis using archival material. *Breast Cancer Res Treat*. 1994;29(3):297-306.
127. Pedersen L, Holck S, Schiødt T Medullary carcinoma of the breast, prognostic importance of characteristic histopathological features evaluated in a multivariate Cox analysis. *Eur J Cancer*. 1994;30A(12):1792-7.
128. Pedersen L, Zedeler K, Holck S. Medullary carcinoma of the breast. Prevalence and prognostic importance of classical risk factors in breast cancer. *Eur J Cancer*. 1995 Dec;31A(13-14):2289-95.
129. Pedersen L. Medullary carcinoma of the breast. *APMIS Suppl*. 1997;75:1-31.
130. Pedersen L, Holck S, Mouridsen H. Prognostic comparison of three classifications for medullary carcinoma of the breast. *Histopathology*. 1999 Feb;34(2):175-8. Comment on: *Histopathology* 1997 Jun;30(6):523-32.
131. Peintinger F, Reitsamer R, Stranzl H. Comparison of quality of life and arm complaints after axillary lymph node dissection vs sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients. *Br J Cancer*. 2003 Aug 18;89(4):648-52.
132. Pericay C, Diez O, Campos B. Clinical and pathological characteristics and clinical course of patients with breast cancer and BRCA1/BRCA2 mutations. *Med Clin (Barc)*. 2001 Jul 7;117(5):161-6.
133. Pestereli HE, Erdogan O, Kaya R. Lymphoepithelioma-like carcinoma of the breast. *APMIS*. 2002 Jun;110(6):447-50.
134. Ponsky JL, Gliga L, Reynolds S Medullary carcinoma of the breast: an association with negative hormonal receptors. *J Surg Oncol*. 1984 Feb;25(2):76-8.
135. Puzzo L, Lanzafame S. Medullary carcinoma of the breast. Co-expression of keratin intermediate filaments and protein S-100 in tumor cells *Pathologica*. 1989 Jul-Aug;81(1074):433-9.
136. Rapin V, Contesso G, Mouriessé H Medullary breast carcinoma. A reevaluation of 95 cases of breast cancer with inflammatory stroma. *Cancer*. 1988 Jun 15;61(12):2503-10.
137. Reinfuss M, Stelmach A, Mitus J. Typical medullary carcinoma of the breast: a clinical and pathological analysis of 52 cases. *J Surg Oncol*. 1995 Oct;60(2):89-94.
138. Richardson WW. Medullary carcinoma of the breast: a distinctive tumor type with a relatively good prognosis following radical mastectomy. *Br J Cancer* 1956;10:415.
139. Ridolfi RL, Rosen PP, Port A Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with 10 year follow-up. *Cancer*. 1977 Oct;40(4):1365-85.
140. Rigaud C, Theobald S, Noel P Medullary carcinoma of the breast. A multicenter study of its diagnostic consistency. *Arch Pathol Lab Med*. 1993 Oct;117(10):1005-8. & Comment in: *Arch Pathol Lab Med*. 1994 Aug;118(8):776-7.
141. Rosen PP, Saigo PE, Braun DW Jr Predictors of recurrence in stage I (T1N0M0) breast carcinoma. *Ann Surg*. 1981 Jan;193(1):15-25.
142. Rosen PP, Saigo PE, Braun DW Prognosis in stage II (T1N1M0) breast cancer. *Ann Surg*. 1981 Nov;194(5):576-84.



143. Rosen PP, Lesser ML, Senie RT. Epidemiology of breast carcinoma IV: age and histologic tumor type. *J Surg Oncol.* 1982 Jan;19(1):44-51.  
Rosen PP, Lesser ML, Senie RT. Epidemiology of breast carcinoma III: relationship of family history to tumor type. *Cancer.* 1982 Jul 1;50(1):171-9.
144. Rosen PP, Lesser ML, Kinne DW. Breast carcinoma at the extremes of age: a comparison of patients younger than 35 years and older than 75 years. *J Surg Oncol.* 1985 Feb;28(2):90-6.
145. Rosen PP, Groshen S. Factors influencing survival and prognosis in early breast carcinoma (T1N0M0-T1N1M0). Assessment of 644 patients with median follow-up of 18 years. *Surg Clin North Am.* 1990 Aug;70(4):937-62.
146. Fisher ER, Redmond C, Fisher Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Projects (NSABP). Prognostic discriminants for 8-year survival for node-negative invasive breast cancer patients. *Cancer.* 1990 May 1;65(9 Suppl):2121-8.
147. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW. Prognosis in T2N0M0 stage I breast carcinoma: a 20-year follow-up study. *J Clin Oncol.* 1991 Sep;9(9):1650-61. Rosen DF, Bell DA, Flotte TJ. Pathologic predictors of recurrence in stage I (T1N0M0) breast cancer. *Am J Clin Pathol.* 1982 Dec;78(6):817-20.
148. Rubens JR, Lewandrowski KB, Kopans DB. Medullary carcinoma of the breast. Overdiagnosis of a prognostically favorable neoplasm. *Arch Surg.* 1990 May;125(5):601-4.
149. Scawn R, Shousha S. Morphologic spectrum of estrogen receptor-negative breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2002 Mar;126(3):325-30.
150. Schartz GF. Solid circumscribed carcinoma of the breast. *Ann Surg.* 1969;169:165.
151. Schmitt FC, Soares R, Gobbi H. Microsatellite instability in medullary breast carcinomas. *Int J Cancer.* 1999 Aug 27;82(5):644-7.
152. Sethi S, Cajulis RS, Gokaslan ST. Diagnostic significance of signet ring cells in fine-needle aspirates of the breast. *Diagn Cytopathol.* 1997 Feb;16(2):117-21.
153. Shi Y, He L, Chen Y, Li J. The correlations of clinicopathologic features, hormone receptor level with the prognosis of breast cancer: report of 308 cases in elderly women. *Chin Med Sci J.* 1997 Mar;12(1):60-2.
154. Shousha S. Medullary carcinoma of the breast and BRCA1 mutation. *Histopathology.* 2000 Aug;37(2):182-5. Comment in: *Histopathology.* 2001 Apr;38(4):378-9. *Histopathology.* 2000 Aug;37(2):175-81.
155. Sienski W. Immunohistological patterns of immunoglobulins in dysplasias, benign neoplasms and carcinomas of the breast. *Tumori.* 1980 Dec 31;66(6):699-711.
156. Silfversward C, Gustafsson JA, Gustafsson SA. Estrogen receptor concentrations in 269 cases of histologically classified human breast cancer. *Cancer.* 1980 Apr 15;45(8):2001-5.
157. Sinn HP, Anton HW, Magener A. Extensive and predominant in situ component in breast carcinoma: their influence on treatment results after breast-conserving therapy. *Eur J Cancer.* 1998 Apr;34(5):646-53.
158. Sloane JP, Amendoeira I, Apostolikas N. Consistency achieved by 23 European pathologists from 12 countries in diagnosing breast disease and reporting prognostic features of carcinomas. European Commission Working Group on Breast Screening Pathology. *Virchows Arch.* 1999 Jan;434(1):3-10.
159. Stalsberg H, Thomas DB. Age distribution of histologic types of breast carcinoma. *Int J Cancer.* 1993 Apr 22;54(1):1-7.
160. Tamiolakis D, Simopoulos C, Cheva A. Immunophenotypic profile of tumor infiltrating lymphocytes in medullary carcinoma of the breast. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2002;23(5):433-6.

161. Tanaka H, Hori M, Ohki T. High endothelial venule and immunocompetent cells in typical medullary carcinoma of the breast. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1992;420(3):253-61
162. Tot T. The cytokeratin profile of medullary carcinoma of the breast. *Histopathology.* 2000 Aug;37(2):175-81. Comment in: *Histopathology.* 2000 Aug;37(2):182-5. *Histopathology.* 2001 Apr;38(4):378-9.
163. Trock BJ. Breast cancer in African American women: epidemiology and tumor biology. *Breast Cancer Res Treat.* 1996;40(1):11-24.
164. Van Diest PJ, Belien JA, Baak JP. An expert system for histological typing and grading of invasive breast cancer. First set up. *Pathol Res Pract.* 1992 Jun;188(4-5):405-9.
165. Von Rosen A, Fallenius A, Sundelin B. Nuclear DNA content in mammary carcinomas in women aged 35 or younger. *Am J Clin Oncol.* 1986 Oct;9(5):382-6.
166. Voogd AC, Coebergh JW, Repelaer van Driel OJ. The risk of nodal metastases in breast cancer patients with clinically negative lymph nodes: a population-based analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2000 Jul;62(1):63-9.
167. Wargotz ES, Silverberg SG. Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with appraisal of current diagnostic criteria. *Hum Pathol.* 1988 Nov;19(11):1340-6.
168. Watson L. Breast cancer: diagnosis, treatment and prognosis. *Radiol Technol.* 2001 Sep-Oct;73(1):45-61; quiz 62-4, 67.
169. Wernicke M. Quantitative morphologic assessment of immunoreactivity in regional lymph nodes of patients with carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet.* 1975 Jun;140(6):919-24.
170. White RE, Vezeridis MP, Konstadoulakis M. Therapeutic options and results for the management of minimally invasive carcinoma of the breast: influence of axillary dissection for treatment of T1a and T1b lesions. *J Am Coll Surg.* 1996 Dec;183(6):575-82. Comment in: *J Am Coll Surg.* 1997 Jun;184(6):671-3.
171. Wong SL, Chao C, Edwards MJ. Frequency of sentinel lymph node metastases in patients with favorable breast cancer histologic subtypes. *Am J Surg.* 2002 Dec;184(6):492-8; discussion 498.
172. Yakirevich E, Izhak OB, Rennert G. Cytotoxic phenotype of tumor infiltrating lymphocytes in medullary carcinoma of the breast. *Mod Pathol.* 1999 Nov;12(11):1050-6.
173. Yazawa T, Kamma H, Ogata T. Frequent expression of HLA-DR antigen in medullary carcinoma of the breast: a possible reason for its prominent lymphocytic infiltration and favourable prognosis. *Appl Immunohistochem* 1993;1:289.
174. Young JS, Sterchi MJ, Hopkins M. Asynchronous bilateral medullary carcinoma of the breast. *South Med J.* 1997 Apr;90(4):423-5.
175. Yilmaz E, Lebe B, Balci P. Comparison of mammographic and sonographic findings in typical and atypical medullary carcinomas of the breast. *Clin Radiol.* 2002 Jul;57(7):640-5.
176. Zardawi IM, Hearnden F, Meyer P. Ultrasound-guided fine needle aspiration cytology of impalpable breast lesions in a rural setting. Comparison of cytology with imaging and final outcome. *Acta Cytol.* 1999 Mar-Apr;43(2):163-8.

## 5. ΠΛΟΕΙΔΙΑ DNA ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ



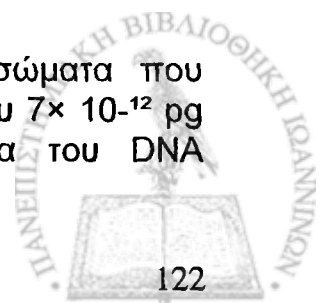
## Γενικά

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο καρκίνος του μαστού είναι ο πιο συχνός τύπος καρκίνου και αιτία θανάτου στις γυναίκες του Δυτικού κόσμου. Παρά την επιθετική χειρουργική αντιμετώπιση, περίπου το 40% των ασθενών πεθαίνουν μέσα στη πρώτη πενταετία. Η πρόσθετη χορήγηση χημειοθεραπείας και ορμονοθεραπείας βελτιώνουν την πρόγνωση, έχουν όμως σημαντικές παρενέργειες και συνεπάγονται και οικονομική επιβάρυνση. Έγιναν προσπάθειες να προσδιοριστεί μία ομάδα ασθενών υψηλού κινδύνου στην οποία θα χορηγούνταν αποκλειστικά χημειοθεραπεία και αυτή ταυτοποιήθηκε σαν η ομάδα με θετικούς λεμφαδένες. Το επίπεδο όμως των λεμφαδενικών μεταστάσεων παρέχει ακρίβεια της τάξης του 65%. Υπάρχουν ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες που πεθαίνουν από απομακρυσμένες μεταστάσεις και ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες που επιβιώνουν για αρκετά χρόνια. Τα θετικά αποτελέσματα της adjuvant θεραπείας στην ελάττωση της θνητότητας των ασθενών με θετικούς λεμφαδένες ενθάρρυνε την χρησιμοποίηση της και σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες. Δεδομένης όμως και της σταθμιζόμενης τοξικότητας των φαρμάκων σε σχέση με την πιθανή τους ωφέλεια, δεν είναι θεραπευτικά σωστή η χρήση της παρά μόνο σε μία ομάδα υψηλού κινδύνου με επιβαρυσμένη πρόγνωση. Η ωφέλεια αυτή δεν θα ήταν απλά υψηλότερη από την αντίστοιχη της ομάδας των ασθενών με θετικούς λεμφαδένες αλλά ακόμη υψηλότερη αφού το ποσοστό των αποτυχημένων θεραπειών θα μειώνονταν ακόμη περισσότερο εφόσον η διάγνωση γίνονταν σε πρωϊμότερο στάδιο.

Οι έρευνες λοιπόν κατευθύνονται στον εντοπισμό προγνωστικών παραγόντων με βάση τους οποίους θα γίνονταν η επιλογή της ομάδας υψηλού κινδύνου ανάμεσα στους ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες, στην οποία θα είχε απόλυτη ένδειξη η χημειοθεραπευτική αγωγή. Ανάμεσα στις παραμέτρους που έχουν διερευνηθεί είναι η πλοειδία του DNA, το κυτταρικό περιεχόμενο σε DNA (DNA-index ή DI) και το ποσοστό των κυττάρων που βρίσκονται στην S φάση του κυτταρικού κύκλου (SF), που μπορούν να προσδιοριστούν με κυτταρομετρία ροής. Η λογική με βάση την οποία μελετήθηκαν είναι ότι μπορούν να εντοπίσουν κυτταρικούς πληθυσμούς με αυξημένο δυναμικό κακοήθειας, ακόμη και πριν την εφαρμογή χειρουργικής θεραπείας (με τη χρήση FNA). Πολλές μελέτες έδειξαν ότι παρέχουν προγνωστικές πληροφορίες και εμφανίζουν ισχυρές συσχετίσεις με διάφορες κλινικές και παθολογικές παραμέτρους, τα αποτελέσματα όμως είναι σε μεγάλο βαθμό αντικρουόμενα, γεγονός που είναι δυνατόν να οφείλεται είτε σε μικρό αριθμό των υπό μελέτη περιπτώσεων είτε σε έλλειψη δεδομένης χρησιμοποιούμενης μεθοδολογίας ανάλυσης. Η ακρίβεια της ανάλυσης της κυτταρομετρίας ροής βελτιώθηκε από την ικανότητα να μετρώνται μεγάλοι αριθμοί πυρήνων χρησιμοποιώντας στοιχειομετρικές ειδικές για DNA χρώσεις. Η χρήση των μεθόδων αυτών αφορούσε αρχικά μόνο φρέσκο υλικό από τον όγκο, στη συνέχεια όμως επεκτάθηκε και σε παραφιντοποιημένο υλικό.

## ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΟΥ DNA-ΙΣΤΟΓΡΑΜΜΑΤΑ

Τα φυσιολογικά ανθρώπινα κύτταρα διαθέτουν 46 χρωμοσώματα που αντιστοιχούν σε ποσότητα DNA κατά πυρήνα κυττάρου περίπου  $7 \times 10^{-12}$  pg DNA. Κατά τη φάση του πολλαπλασιασμού η ποσότητα του DNA



διπλασιάζεται. Τα κύτταρα που αντιγράφουν το DNA και βρίσκονται στην S φάση του κυτταρικού κύκλου, θα περιέχουν ενδιάμεση ποσότητα DNA. Σε κακοήθεια οι δομικές και χρωμοσωμικές παρεκκλίσεις είναι συνηθισμένες. Μόνο όταν ο τελικός αριθμός χρωμοσωμάτων τροποποιείται, μπορούν να παρατηρηθούν παρεκκλίσεις του περιεχομένου του DNA από το φυσιολογικό, δημιουργώντας τη λεγόμενη ανευπλοειδία του DNA. Έτσι η μη αναγνώριση ανωμαλίας στο περιεχόμενο σε DNA δεν αποκλείει την κακοήθεια ή την ύπαρξη δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Επίσης σημειώνεται ότι η πολυπλοειδία των φυσιολογικών κυττάρων κατά τις διαδικασίες ανάπτυξης ή γήρανσης ή μετά από αντικαρκινική θεραπεία συνεπάγονται αύξηση του περιεχομένου DNA, ενώ αντίθετα η διαδικασία της απόπτωσης ή της νέκρωσης οδηγεί σε απώλεια και ελάττωση του συνολικού DNA.

Η μέτρηση του DNA με την κυτταρομετρία ροής παρέχει το ιστόγραμμα του DNA. Διακρίνουμε δύο κατηγορίες ιστογραμμάτων : α) το διπλοειδικό, το οποίο χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός μόνο κυτταρικού κύκλου και β) το μη διπλοειδικό, το οποίο εμφανίζει περισσότερους από ένα κυτταρικούς κύκλους. Αυτοματοποιημένες μέθοδοι ανάλυσης μπορούν να διαχωρίσουν τις G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>/M φάσεις μέχρι και τριών κυτταρικών κύκλων. Από το ιστόγραμμα μπορούμε να έχουμε γνώση της πλοειδίας και των επιμέρους φάσεων του κυτταρικού κύκλου, συμπεριλαμβανομένης και της S φάσης. Αυτό μπορεί να γίνει, είτε σε επιλεγμένους πυρήνες με την ICM (image cytometry) είτε μη επιλεκτικά σε διάλυμα κυττάρων ή πυρήνων με την κυτταρομετρία ροής-FCM(flow cytometry).

**ICM** : Χρησιμοποιείται ένα πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα ανάλυσης που επιτρέπει την πολυπαραγοντική ταξινόμηση των κυττάρων χρησιμοποιώντας μία βάση αναφοράς. Ο προσδιορισμός της διπλοειδικής κορυφής γίνεται συνήθως με δείγμα φυσιολογικού μαζικού αδένου(αν και δεν υπάρχει πάντοτε επαρκής ποσότητα κυττάρων για να σταθμιστεί η κορυφή), το οποίο επεξεργάζεται και αναλύεται συγχρόνως με τα καρκινικά δείγματα και ρυθμό περίπου 1 κύτταρο αναφοράς με 11 καρκινικά. Για την ορθότερη επεξεργασία των καρκινικών δειγμάτων μπορεί να γίνεται αυτόματη επιλογή των κυττάρων ώστε να περιορίζεται το ποσοστό των συγκριμάτων και των ανεπιθύμητων στρωματικών και φλεγμονωδών κυττάρων. Η επεξεργασία γίνεται με ρυθμό περίπου 100 γεγονότα/δευτερόλεπτο και χρησιμοποιείται argon laser με μήκος κύματος 488 nm. Το περιεχόμενο σε DNA απεικονίζεται με έγχρωμο σήμα (κόκκινο) το οποίο περνά από φίλτρο 630 nm. Η μετρήσιμη πλοειδία απεικονίζεται σε κλίμακα 1024 καναλιών και η πρώτη κορυφή που θεωρείται διπλοειδική αντιστοιχεί περίπου στο κανάλι 200. Μία ανευπλοειδική περιοχή ταυτοποιείται αν περιλαμβάνει περισσότερο από το 10% των γεγονότων. Ο δείκτης πολλαπλασιασμού υπολογίζεται με αυτόματη εκτίμηση του ποσοστού των πυρήνων με περιεχόμενο υψηλότερο της G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> διπλοειδικής ή ανευπλοειδικής κορυφής (θέση S+G<sub>2</sub>M).

Το μεγάλο μειονέκτημα της μεθόδου παραμένει η μικρή της ταχύτητα. Οι μελλοντικές της προοπτικές αφορούν την βελτίωση της ταχύτητας και της ακρίβειάς της, την αυτοματοποιημένη επιλογή κυττάρων με δυνατότητες οπτικής επιλογής για μεγαλύτερα μεγέθη δειγμάτων και καλύτερη ανάλυση ιστογραμματος. Υπάρχει επίσης η πιθανότητα της ανίχνευσης κυττάρων με υψηλό περιεχόμενο σε DNA έξω από την περιοχή G<sub>2</sub>M των κυττάρων του όγκου για την μέτρηση πολύ μικρών δειγμάτων και την ανίχνευση μικρών ανευπλοειδικών υποπληθυσμών.

**FCM** : Τα αποτελέσματα απεικονίζονται σε ιστόγραμμα 256 καναλιών. Οι κατατετημημένοι πυρήνες περιορίζονται βάσει ενός αυτοματοποιημένου μαθηματικού μοντέλου. Μία ανευπλοειδική κορυφή αναλύεται αν περιλαμβάνει περισσότερο από το 10% των γεγονότων. Τα ιστογράμματα με μία μεμονωμένη κορυφή αναγνωρίζονται σαν διπλοειδικά, ανεξάρτητα από τη θέση τους, σε σχέση με την 2c βαθμονόμηση όπως αυτή γίνεται από το software. Ανάλογα με την κατανομή των δεδομένων τα ιστογράμματα ταξινομούνται σαν μονοφασικά, διφασικά ή πολυφασικά σε κορυφές αντίστοιχα διπλοειδικές, ανευπλοειδικές και πολυπλοειδικές.

**S φάση** : Ορθογώνια ανάλυση του ιστογράμματος χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του SPF (S phase fraction). Υπολογίζεται το ολικό ποσοστό των κυττάρων σε S φάση όλων των κυτταρικών κύκλων και το ολικό μη διπλοειδικό ποσοστό των κυττάρων S φάσης που αντιστοιχεί σε αυτά του δεύτερου και τρίτου (αν υπάρχει) κυτταρικού κύκλου. Σημειώνεται ότι διπλοειδικοί όγκοι με G2/M κλάσμα δύο φορές μεγαλύτερο από το SPF και σε ποσότητα που αντιστοιχεί στο 15% του κυτταρικού πληθυσμού, θεωρούνται σαν ανευπλοειδικοί. Στην εκτίμηση των ιστογραμμάτων της S φάσης, τηρούνται ορισμένες προϋποθέσεις προκειμένου να περιορίζεται η λανθασμένη ερμηνεία τους. Έτσι δεν λαμβάνονται υπ' όψη τα ιστογράμματα με CV υψηλότερο από 8, οι κυτταρικοί κύκλοι που περιλαμβάνουν λιγότερα από 5000 γεγονότα μετά την εξαίρεση των συγκριμάτων και οι πολυπλοειδικές κορυφές DNA.

Οι τρεις συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι όροι στην κυτταρομετρία ροής είναι οι ακόλουθοι:

- **Συντελεστής απόκλισης από τον μέσο όρο (coefficient of variation-CV)**: μετριέται σε μία κορυφή του ιστογράμματος και αναφέρεται στην εκατοστιαία παρέκκλιση από το μέσο κανάλι.
- **DI (DNA index)**: είναι το κλάσμα του μέσου καναλιού της G1 κορυφής του όγκου προς το μέσο κανάλι της G1 κορυφής των φυσιολογικών κυττάρων ή αλλιώς το κλάσμα του περιεχομένου σε DNA των πυρήνων του όγκου προς αυτό των πυρήνων των φυσιολογικών διπλοειδικών κυττάρων. DNA index ίσο με 1 σε ένα κυτταρικό κύκλο ανταποκρίνεται σε διπλοειδία.  
Το DI μπορεί να διακριθεί σε: α) Πρώτο, που αντιπροσωπεύει το κλάσμα του καναλιού της κορυφής G0/G1 του δεύτερου προς τον πρώτο κυτταρικό κύκλο και β) Δεύτερο, που αντιπροσωπεύει το αντίστοιχο κλάσμα του τρίτου κυτταρικού κύκλου.
- **Πλοειδία**: αναφέρονταν αρχικά σε αριθμό χρωμοσωμάτων. Στην κυτταρομετρία χρησιμοποιείται για να περιγράψει το συνολικό DNA των κυττάρων. Τα διπλοειδικά κύτταρα έχουν περιεχόμενο σε DNA φυσιολογικό(=1) παρά την πιθανή ύπαρξη δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Κύτταρα με DNA μεταξύ 1.90 και 2.10 ταξινομούνται σαν τετραπλοειδικά. Κορυφές έξω από τη διπλοειδική ή την τετραπλοειδική περιοχή χαρακτηρίζονται σαν ανευπλοειδικές. Αν η G2/M φάση του κυτταρικού κύκλου περιέχει περισσότερο από το 10% του κυτταρικού πληθυσμού, το ιστόγραμμα επανααναλύεται σε δύο κυτταρικούς κύκλους, με την δεύτερη G0/G1 κορυφή να αντιστοιχεί στη τετραπλοειδική περιοχή.

## **Προετοιμασία και μονιμοποίηση των δειγμάτων**

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν παθολογοανατομικά υλικά από βιοψίες (χειρουργικές και core biopsies). Μέχρι το 1983 δεν υπήρχε μεθοδολογία ανάλυσης σε παραφिनτοποιημένα δείγματα, σήμερα όμως χάρη στην μελέτη του Hedley είναι δυνατή η χρησιμοποίηση τόσο φρέσκου ή φρεσκοκατεψυγμένου υλικού, όσο και παραφιντοποιημένων σύμφωνα με την παθολογοανατομική εξέταση ρουτίνας, δειγμάτων. Το πλεονέκτημα του να χρησιμοποιείται ιστοπαθολογικό υλικό είναι ότι η περιοχή που μας ενδιαφέρει μπορεί να αναγνωριστεί με επισκόπηση του δείγματος που έχει χρωματιστεί και μετά να επιλεγεί. Ένα μειονέκτημα είναι ότι το αντίσωμα που χρησιμοποιείται για την χρώση και αναγνώριση των καρκινικών κυττάρων (σε αντίθεση με τα φυσιολογικά στρωματικά κύτταρα) δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί. Όποτε πάντως είναι δυνατό τα καρκινικά κύτταρα πρέπει να αναγνωρίζονται με χρήση ειδικού αντιγόνου.

Η μονιμοποίηση μπορεί να γίνει είτε με αιθανόλη, είτε με ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλδεΰδης. Άλλα υλικά μονιμοποίησης που χρησιμοποιούνται στις ιστοπαθολογικές εξετάσεις ρουτίνας θα πρέπει να αποφεύγονται. Αν χρησιμοποιηθεί χρώση με αντίσωμα θα πρέπει να επιλεγεί υλικό που να το διατηρεί. Για πολλά αντιγόνα κυτταρικής επιφάνειας η μονιμοποίηση είναι εφικτή μόνο μετά τη σήμανση με το ειδικό αντίσωμα. Ο σωλήνας που τοποθετούνται τα δείγματα θα πρέπει να γεμίζεται με το υλικό μονιμοποίησης ώστε τα δείγματα να παραμένουν εμβαπτισμένα ακόμη και με ανακίνηση του δείγματος.

Στη φάση της προετοιμασίας είναι σημαντική η παρασκευή μεμονωμένων κυττάρων ή πυρήνων ελεύθερων από συσσωματώματα με το ελάχιστο δυνατό ποσοστό συγκριμάτων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες μέθοδοι ανάλογα με το είδος των ιστοπαθολογικών δειγμάτων :

1. *Φρέσκο ή φρεσκοκατεψυγμένο υλικό* : Για υλικό αναρρόφησης δια λεπτής βελόνης(ή σε λευχαιμίες), μπορεί να παρασκευαστεί διάλυμα μεμονωμένων κυττάρων. Συμπαγείς όγκοι μπορούν να αποδομηθούν μηχανικά σε ρυθμιστικό διάλυμα που να περιέχει καθαριστικό (όπως π.χ. 0.1% nonidet-P40) που απελευθερώνει τους πυρήνες μέσα στο διάλυμα. Πολλές φορές μπορεί να προστεθεί θρυψίνη για να ενισχύσει την αποδόμηση του διαλύματος. Ο Vindelov δημοσίευσε μελέτες για την χρησιμοποίηση διαλύματος με σπερμιδίνη που σταθεροποιεί τους πυρήνες. Η παρασκευή καθαρού διαλύματος με πυρήνες αποκλείει την χρήση αντισώματος για αντιγόνο επιφάνειας ή κυτταροπλασματικό αντιγόνο αναφορικά με την διάκριση καρκινικών από φυσιολογικά κύτταρα.
2. *Πρόσφατα μονιμοποιημένο υλικό* : α) Τα δείγματα μονιμοποιούνται σε αιθανόλη β) Υλικό που έχει ήδη μονιμοποιηθεί σε φορμαλίνη, κόβεται σε μικρά κομμάτια μεγέθους 1-2 κ.εκ. και διαμορφώνονται σε κύβους είτε με πεψίνη σε 0.1 M HCL είτε με θρυψίνη ώστε να απελευθερωθεί ο πυρήνας.
3. *Υλικό μονιμοποιημένο σε φορμαλίνη και παραφιντοποιημένο* : Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι παραλλαγές της μεθόδου που αρχικά διατυπώθηκε από τον Hedley το 1983. Ένα τμήμα κόβεται από ένα κύβο παραφιντοποιημένου ιστού. Πρέπει να είναι πάχους

τουλάχιστον 50μm γιατί διαφορετικά ένα λεπτότερο τμήμα θα περιέχει πολλούς διατετμημένους πυρήνες αυξάνοντας την καμπύλη που αντιστοιχεί στα συγκρίματα στο ιστόγραμμα του DNA. Αφού το τμήμα αποκηροποιηθεί και περαστεί από αιθανόλη στο νερό, προστίθεται ένα πρωτεολυτικό ένζυμο ( πεψίνη ή πρωτεάση ) ώστε να απελευθερωθούν οι πυρήνες.

## Χρώση

Η επιλογή της χρώσης καθορίζεται από τον τύπο του κυτταροοδόμετρου που χρησιμοποιείται. Αν η συσκευή είναι εφοδιασμένη με πηγή φωτός UV και η μέτρηση αφορά αυστηρά το DNA, χρησιμοποιείται 4,6 διαμιδινο-2-φαινυλινδόλη (DAPI). Ο φθορισμός της χρωστικής αυτής είναι 200 φορές ισχυρότερος για το DNA. Αν η συσκευή διαθέτει argon laser που παράγει φως στα 200 nm, χρησιμοποιείται ιωδιούχο προπίδιο (PI). Η χρωστική αυτή συνδέεται και με το RNA διπλής έλικας, γι αυτό το δείγμα πρέπει να επεξεργαστεί και με RNAάση πριν από την ανάλυση. Τα δείγματα με DAPI μπορούν να αναλυθούν αμέσως μετά τη χρώση. Η μελέτη τους είναι καλύτερα να γίνεται μετά από αποθήκευσή τους στους 4ο C για μερικές ώρες. Είναι σημαντικό να υπάρχει να υπάρχει αρκετή χρωστική ώστε να είναι αξιόπιστη η στοιχειομετρία. Για το ιωδιούχο προπίδιο συνιστάται ποσότητα τουλάχιστον 20 μg για κάθε εκατομμύριο κυτάρων, ενώ για το DAPI η συγκέντρωση πρέπει να είναι τουλάχιστον 5μM.

Η τελική συγκέντρωση των κυτάρων ή των πυρήνων πρέπει να είναι περίπου 10(6)/ml. Σε μικρότερη συγκέντρωση, ο ρυθμός ροής του δείγματος μέσα από το κυτταροόμετρο πρέπει να ελαττωθεί, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε υποβιβασμό του CV. Αν η συγκέντρωση είναι υψηλότερη μπορεί η χρώση να είναι ανεπαρκής για την στοιχειομετρική μελέτη του DNA.

Είναι χρήσιμη η εκτίμηση της προετοιμασίας στην τελική φάση κάτω από μικροσκόπιο(κατά προτίμηση φθορίζον). Τα σημεία που πρέπει να ελέγχονται είναι τα ακόλουθα :

- Συγκέντρωση των σωματιδίων
- Συσσωματώματα ή αυξημένη ποσότητα συγκριμάτων
- Η πλειοψηφία των πυρήνων να εμφανίζουν μορφολογία παρόμοια με αυτή των πυρήνων του όγκου(να μην προέρχονται π.χ. από κοκκιοκύτταρα)
- Απουσία κυτταροπλασματικών υπολλειμάτων προσκολλημένων στον πυρήνα

## Υλικό αναφοράς

Η εκτίμηση της πλοειδίας ενός δείγματος γίνεται με αναφορά στην κορυφή των διπλοειδικών κυτάρων. Σε ένα κλινικό δείγμα (με την εξαίρεση κάποιων λεμφωμάτων και λευχαιμιών) υπάρχουν σχεδόν πάντα κάποιοι φυσιολογικοί, διπλοειδικοί πυρήνες είναι δύσκολο όμως να καθοριστεί ποιά κορυφή προέρχεται από τα διπλοειδικά κύτταρα. Η ταυτοποίηση γίνεται με ένα καθορισμένο κύτταρο αναφοράς το οποίο προστίθεται στο δείγμα (ερυθροκύτταρα κότας ή πέστροφας ή και τα δύο) ή με μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο αναγνωρίζει ειδικούς κυτταρικούς τύπους. Τα κύτταρα αναφοράς πρέπει να προστίθενται στο δείγμα σε όσο το δυνατόν προωιμότερη



φάση ώστε να επεξεργάζονται ταυτόχρονα με το δείγμα. Η χρήση τους δεν είναι δυνατή σε παραφιντοποιημένο υλικό όπου μπορεί να διαχωριστούν οι φυσιολογικοί από τους κακοήθεις πυρήνες με light scatter. Σε παραφιντοποιημένο υλικό μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν υλικό αναφοράς στην ταυτοποίηση των διπλοειδικών κορυφών, παραφιντοποιημένα δείγματα από φυσιολογικό μαζικό αδένα.

### **Αρχές μέτρησης του DNA**

- Ένας γραμμικός ενισχυτής χρησιμοποιείται για τη μέτρηση του DNA. Η γραμμικότητα πρέπει να ελέγχεται χρησιμοποιώντας τεχνικές φθορισμού, λεμφοκύτταρα, πολυπλοειδή κύτταρα ήπατος, ερυθροκύτταρα κότας ή πέστροφας.
- Η ευθυγράμμιση του μηχανήματος πρέπει να ελέγχεται καθημερινά με μέτρηση του CV δεδομένων αποικιών λεμφοκυττάρων. Το επιθυμητό CV πρέπει να είναι  $\leq 2\%$ .
- Ο αριθμός των καναλιών του ιστογράμματος πρέπει να είναι τουλάχιστον 512. Η PMT διαφορά δυναμικού πρέπει να προσαρμόζεται έτσι ώστε η G1 κορυφή των φυσιολογικών, διπλοειδικών κυττάρων να μην πέφτει κάτω από ένα κανάλι ισοδύναμο με το ένα πέμπτο του μέγιστου αριθμού καναλιών (π.χ. 200 σε 1024 κανάλια ιστογράμματος).
- Όλα τα σήματα πρέπει να συλλέγονται, συμπεριλαμβανομένων αυτών από τα συγκρίματα σε αριθμό καναλιού ισοδύναμο με το 1/10 του καναλιού της G1 διπλοειδικής κορυφής.
- Το υλικό που επεξεργάζεται πρέπει να είναι αρκετό ώστε να συλλέγονται 10-20,000 πυρήνες στο ιστόγραμμα (εξαιρώντας τα συγκρίματα). Όσο πιο πολύπλοκο είναι το ιστόγραμμα, τόσο μεγαλύτερος πρέπει να είναι ο αριθμός των πυρήνων που συλλέγονται. Αν καταγράφεται και S φάση πρέπει να υπάρχουν τουλάχιστον 100 κύτταρα στην περιοχή της.
- Για να διατηρηθεί το καλύτερο δυνατό CV πρέπει ο ρυθμός ροής να διατηρείται χαμηλός (τυπικά 100-300 γεγονότα/sec).

### **Έλεγχος ποιότητας του ιστογράμματος**

- **CV**: Όσο χαμηλότερο είναι το CV των κορυφών στο ιστόγραμμα, τόσο καλύτερη η ποιότητα και μεγαλύτερος ο αριθμός των πληροφοριών που μπορεί να εξαχθούν. Γενικά το φρέσκο υλικό παρέχει καλύτερο CV (3%) από το παραφιντοποιημένο (πρέπει να είναι λιγότερο από 5%). Δεν πρέπει να επιχειρήται εκτίμηση της S φάσης αν το CV της G1 κορυφής είναι  $\leq 8\%$ .
- **Γραμμικότητα**: Αν το κλάσμα G1 προς G2/M δεν πέφτει μεταξύ 1.95 και 2.05, η γραμμικότητα του ενισχυτή πρέπει να ελεχθεί και αν χρειάζεται να γίνουν οι απαιτούμενες προσαρμογές.
- **Συγκρίματα**: Η μεγάλη ποσότητα συγκρίματος μπορεί να επηρεάσει την μέτρηση της S φάσης και επίσης να δημιουργήσει μία μικρή υποδιπλοειδική κορυφή. Ίσως απαιτηθεί η επανάληψη της συλλογής και προετοιμασίας του δείγματος. Σε μικρό αριθμό περιπτώσεων

μπορεί να οφείλεται σε αυξημένο αριθμό νεκρωτικών ή αποπτωτικών κυττάρων.

- **Συσσωματώματα:** Αυξημένος αριθμός είναι δείγμα κακής προετοιμασίας του δείγματος. Είναι εμφανή στο ιστογράμμα και αντιστοιχούν σε μιά κορυφή που ανήκει σε αριθμό καναλιού τρεις φορές το κανάλι της διπλοειδικής G1 κορυφής. Μπορούν επίσης να αναγνωριστούν και να αποκλειστούν με ανάλυση παλμού.

### **Πολυπαραγοντική ανάλυση**

Ο στόχος της πολυπαραγοντικής ανάλυσης είναι να βελτιώσει την ποιότητα του ιστογράμματος, δηλαδή να εξαιρέσει το μεγαλύτερο μέρος συγκριμάτων ή συσσωματωμάτων. Αν αυτό δεν μπορεί να γίνει χρησιμοποιείται για την διόρθωση των artefacts πρόγραμμα ηλεκτρονικού υπολογιστή.

Αν χρησιμοποιείται laser είναι δυνατή η ανάλυση του σήματος η οποία θα αποκαλύψει συσσωματώματα και πυρήνες ανώμαλου σχήματος. Επίσης όποτε αυτό είναι εφικτό πρέπει να πραγματοποιείται ένα κυτταρογράφημα δεξιάς γωνίας με ευθύ light scatter. Αυτό αποκαλύπτει τα συγκρίματα και τα εξαιρεί από την ανάλυση και συγχρόνως σε ένα καλά απροετοιμασμένο δείγμα μπορεί να αναγνωριστούν και τα φλεγμονώδη κύτταρα του όγκου.

Αντίσωμα σεσημασμένο με φλουροσκεΐνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να διαχωρίσει τα φυσιολογικά κύτταρα από τα καρκινωματώδη. Σε επιθηλιακούς όγκους τα επιθηλιακά κύτταρα ταυτοποιούνται με χρώση για κυτοκερατίνη. Σε μη λεμφοειδείς νεοπλασίες διαχωρίζονται τα φυσιολογικά φλεγμονώδη κύτταρα με αντίσωμα εναντίον του CD45 (κοινό λευκοκυτταρικό αντιγόνο), ενώ σε λεμφοειδείς επιλέγεται ένα αντίσωμα προς το κατάλληλο κυτταρικό αντιγόνο επιφανείας ανάλογα με την ταξινόμηση του όγκου.

### **Εκτίμηση και ερμηνεία του ιστογράμματος**

#### **Μέτρηση πλοειδίας**

1) Μια απλή κορυφή του ιστογράμματος που ανταποκρίνεται στο κανάλι των φυσιολογικών κυττάρων καθορίζεται σαν DNA διπλοειδική. Πρέπει να είναι επίσης παρούσα κορυφή από G2/M κύτταρα.

2) Σε λεμφώματα και λευχαιμίες όπου το δείγμα κανονικά περιέχει λίγα φυσιολογικά κύτταρα, σε μιά μεμονωμένη κορυφή που παρεκκλίνει περισσότερο από +/-5% από την αναμενόμενη θέση των διπλοειδικών κυττάρων πρέπει να σκεφτόμαστε την πιθανότητα να είναι ανευπλοειδική. Σε παρουσία προστιθέμενων κυττάρων αναφοράς ή επιλογή των κυττάρων του όγκου με αντίσωμα, η ανευπλοειδία μπορεί να επιβεβαιωθεί.

3) Αν μιά κορυφή παρατηρείται σε θέση που ανταποκρίνεται στην 4c μαζί με κορυφή στην θέση 8c και κύτταρα S φάσης μεταξύ των δύο κορυφών, ο όγκος πρέπει να χαρακτηρίζεται τετραπλοειδικός. Σε απουσία των δύο τελευταίων παραγόντων (8c και κύτταρα S φάσης) και αν η αναλογία των κυττάρων στο 4c υπερβαίνει το τριπλάσιο του ποσοστού των κυττάρων φάσης G2/M σε φυσιολογικούς ιστούς, πρέπει να χαρακτηρίζεται σαν τετραπλοειδία αλλά με επιφύλαξη. Πρέπει να λαμβάνονται προφυλάξεις ώστε η περίσσεια των κυττάρων στη φάση G2/M να μην είναι artifact οφειλόμενο σε συσσωματώματα. Μία τετραπλοειδική κορυφή πρέπει να έχει DI κυμαινόμενο

μεταξύ 1.90-2.10. Μία κορυφή έξω από αυτό το φάσμα αναφέρεται σαν ανευπλοειδική.

5) Η ακρίβεια στο να χαρακτηριστεί ένας όγκος σαν διπλοειδικός εξαρτάται από το CV της κορυφής G1. Όσο μικρότερο είναι τόσο μικρότερη η απόκλιση από την ταυτοποιηθείσα διπλοειδία. Ο διαχωρισμός των φυσιολογικών από τα καρκινωματώδη κύτταρα, βελτιώνει κατά πολύ την μέτρηση των μικρών αποκλίσεων από την διπλοειδία.

(I) Για να είναι ένα ιστόγραμμα αναπαραγωγίμο πρέπει να πληρούνται οι ακόλουθοι παράγοντες : 1) Όλα τα CV να είναι <6% 2) Αν το CV της διπλοειδικής κορυφής είναι >4% τότε το διπλοειδικό διάστημα επεκτείνεται σε  $0.92 < DI < 1.08$  ώστε να αποφευχθούν τα artifacts που οφείλονται σε σχεδόν διπλοειδικές κορυφές (Alanen-1989) 3) Μία κορυφή πρέπει να περικλείει το >2,5% των γεγονότων 4) Ένας ανεξάρτητος υποπληθυσμός με διπλό κυτταρικό περιεχόμενο καθορίζεται αν το G2/M κλάσμα του αρχικού πληθυσμού είναι >5% και μεγαλύτερο από το SPF και αν ο αρχικός πληθυσμός περιλαμβάνει >20% των κυττάρων 5) Σαν SPF ιστόγραμμα ορίζεται το διπλοειδικό SPF.

Σε κάποιες μελέτες χρησιμοποιούνται και οι ακόλουθοι παράγοντες πλοειδίας του DNA στην ICM (από την ESACP) ώστε να επιτυγχάνεται η μεγαλύτερη δυνατή συμβατότητα μεταξύ των διαγνωστικών αποτελεσμάτων : 1) 2cDI (2c deviation index) ο οποίος καθορίζεται σαν η απόκλιση του περιεχομένου σε DNA μεμονωμένων κυττάρων γύρω από την φυσιολογική-διπλοειδική κορυφή 2) 5CER (5c exceeding rate) δηλαδή το ποσοστό των ανευπλοειδικών κυττάρων με περιεχόμενο σε DNA περισσότερο από 5c 3) Το MI (malignancy index) εξάγεται από το 1 και το 2 και ο βαθμός κακοήθειας αποτελεί την λογαριθμική έκφραση του MI βαθμολογείται δε σε μιά κλίμακα από το 0.0 μέχρι το 3.0.

### **Εκτίμηση των παραμέτρων του κυτταρικού κύκλου**

Μία ποικιλία αλγορίθμων έχει αναπτυχθεί για τον υπολογισμό του ποσοστού των κυττάρων στις φάσεις G1-, S- και G2/M- από το ιστόγραμμα του DNA. Σήμερα χρησιμοποιείται ένας τρόπος ανάλυσης που βασίζεται σε μια διαδικασία εναρμόνισης των καμπυλών που μπορεί να διαχωρίσει τις G0/G1-, S- και G2/M- φάσεις από μέχρι και τρεις κυτταρικούς κύκλους σε ένα ιστόγραμμα του DNA. Η πρώτη κορυφή του ιστογράμματος μετά από αυτή που αντιστοιχεί στους διατετημένους πυρήνες καθορίστηκε σαν η φάση G0/G1 του διπλοειδικού κυτταρικού κύκλου. Αν η φάση G2/M περιλάμβανε περισσότερο από το 10% του πληθυσμού, το ιστόγραμμα επανααναλύονταν με την δεύτερη κορυφή G0/G1 να αντιστοιχεί στη τετραπλοειδική φάση.

Ιδιαίτερα σημαντικά είναι το χαμηλό CV, απουσία συσσωματωμάτων και μικρό ποσοστό συγκριμάτων. Η διαδικασία αυτή είναι πίο εύκολη σε ιστόγραμμα με αποκλειστικά διπλοειδικά κύτταρα ή με μιά ξεκάθαρη ανευπλοειδική κορυφή (χρήση ορθογώνιου μοντέλου του Baisch). Υπάρχουν επίσης προγράμματα ηλεκτρονικών υπολογιστών με δυνατότητα «διόρθωσης» των συσσωματωμάτων των πυρήνων και υπολογισμού της S φάσης ακόμη και στην παρουσία αλληλοεπικαλυπτόμενων πολυπλοειδικών κορυφών.

### **Αναφερόμενα αποτελέσματα**



Οι ελάχιστες πληροφορίες που πρέπει να παρέχονται από το ιστογράμμα είναι οι ακόλουθες :

- (1) Πλοειδία και DI όλων των πληθυσμών
- (2) CV της κύριας G1 κορυφής
- (3) Ποσοστό κυττάρων στην S φάση (βασικό στοιχείο της διαγνωστικής ποιότητας του ιστογράματος).
- (4) Συμπληρωματικά σχόλια για τυχόν ανεπαρκή αριθμό κυττάρων ή υψηλό ή μεγάλο αριθμό συγκριμάτων.

Μέχρι το 1983 η μελέτη του κυτταρικού περιεχομένου σε DNA ήταν δυνατή μόνο σε φρέσκο ή φρεσκοκατεψυγμένο υλικό. Υπήρχε βέβαια η μέθοδος της μικροπυκνομετρίας σε δείγματα επεξεργασμένα με χρώση Feulgen, η μέθοδος αυτή όμως ήταν εργαστηριακά δυσχερής και δαπανηρή και τα αποτελέσματά της δεν ήταν τόσο αξιόπιστα όσο της κυτταρομετρίας ροής. Με την μελέτη όμως του Hedley το 1983 τα αποτελέσματα της οποίας επιβεβαιώθηκαν και από κατοπινές μελέτες, η εκτίμηση του κυτταρικού περιεχομένου σε DNA καθώς του SF μπορεί να γίνει και σε παραφιντοποιημένα δείγματα ιστών. Πρακτικά η μόνη περίπτωση που δεν μπορούμε να διαμορφώσουμε ιστογράμμα είναι όταν το δείγμα αποτελείται από μη κυτταρικό υλικό.

Γενικά αν συγκρίνουμε το φρεσκοκατεψυγμένο με το παραφιντοποιημένο υλικό, καταλήγουμε στο ότι το πρώτο δίνει καλύτερη ποιότητα ιστογραμάτων όσον αφορά το CV και την ποσότητα του συγκρίματος και επιτρέπει επίσης πιο αξιόπιστη ταυτοποίηση της κορυφής G1 που ανταποκρίνεται στα φυσιολογικά διπλοειδικά κύτταρα. Πέρα όμως από το είδος του δείγματος αυτό που καθορίζει την αξιοπιστία της μεθόδου, είναι το κατά πόσον το πρὸς ανάλυση δείγμα ιστού είναι αντιπροσωπευτικό και περιέχει ικανό αριθμό κακοήθων κυττάρων που πρέπει να αποτελεί τουλάχιστον το 20% των κυττάρων του δείγματος.

### **Μέθοδος Hedley**

Χρησιμοποιούνται δείγματα παραφιντοποιημένων ιστών πάχους τουλάχιστον 30μ που κόβονται από τους αντίστοιχους κύβους με μικροτόμο και αποπαραφιντοποιούνται με επεξεργασία με ξυλένη και επανυδατώνονται με διαλύματα αιθανόλης 100, 95, 70 και 50% πρὶν τελικά πλυθούν σε απεσταγμένο νερό. Διαλύματα μεμονωμένων κυττάρων παρασκευάζονται μετά από επεξεργασία με πεψίνη και χρησιμοποιώντας αιματοκυττόμετρο επιβεβαιώνεται η ύπαρξη κυτταρικών πληθυσμών σε αριθμούς μεγαλύτερους από 10x5. Η χρώση γίνεται με DAPI (σε δόση 1μg/ml) και το DI μετριέται με το κυτόμετρο ροής, ενώ η ερμηνεία των ιστογραμμάτων γίνεται ακριβώς με τον ίδιο τρόπο όπως και με το φρέσκο υλικό. Όταν τα κύτταρα αυτά εξετάζονται κάτω από μικροσκόπιο φάσεως η μορφολογία τους βρέθηκε να προσομοιάζει με αυτά που παράγονταν από μηχανική αποδόμηση των μη παραφιντοποιημένων δειγμάτων από τους ίδιους ιστούς. Όταν μελετήθηκε το κυτταρικό περιεχόμενο με χρήση και παραφιντοποιημένου και φρέσκου υλικού, υπήρξε στενή σχέση μεταξύ των ιστογραμμάτων, με όλες τις ανευπλοειδικές κορυφές που εντοπίστηκαν στους φρέσκους ιστούς να αντιπροσωπεύονται στα μίγματα μετά από επεξεργασία με πεψίνη. Το CV της διπλοειδικής κορυφής του παραφιντοποιημένου ιστού είναι συνήθως μεγαλύτερο από την

παρατηρούμενη σε φρέσκο υλικό (φρέσκο:  $2.73 \pm 0.88$  SD, παραφιντοποιημένο:  $3.59 \pm 1.05$  SD). Η επεξεργασία με πεψίνη εξυπηρετεί λοιπόν διπλό σκοπό, παράγοντας από τη μιά διαλύματα αποτελούμενα από ένα είδος κυττάρων και βελτιώνοντας από την άλλη το CV. Συγχρόνως η επεξεργασία με φορμαλίνη οδηγεί στην δημιουργία διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ των νουκλεοπρωτεϊνών και του DNA. Είναι πιθανό ότι οι δεσμοί αυτοί είναι που σπάνε στην συνέχεια από την πεψίνη επιτρέποντας πύο ομοιόμορφη χρώση του DNA. Οι μικρές διακυμάνσεις του DI στα υλικά που επεξεργάζονται με φορμαλίνη και υποβάλλονται ακολούθως σε αποδόμηση με πεψίνη, οφείλονται μάλλον σε κλωνικές διαφοροποιήσεις στην δομή της χρωματίνης που καθορίζουν και την έκταση στην οποία αυτοί οι διασταυρούμενοι δεσμοί διαμορφώνονται και μετά καταστρέφονται, οι αλλαγές όμως αυτές αναλογούν μόνο σε μικρό ποσοστό. Σε φρέσκους ιστούς η εκτίμηση της πλοειδίας του όγκου γίνεται με χρήση ερυθροκυττάρων κότας (chicken red blood cells-CRBC) σαν κύτταρα αναφοράς με αναλογία  $G1:CRBC=2.87 \pm 0.12$ . Όμως ούτε τα CRBC ούτε τα φυσιολογικά ανθρώπινα περιφερικά λεμφοκύτταρα (είτε φρέσκα είτε επεξεργασμένα με φορμαλίνη) έδωσαν σταθερές αναλογίες με τις διπλοειδικές G1 κορυφές όταν προστίθενται στα διαλύματα πεψίνης και απόπειρες να χρησιμοποιηθούν παραφιντοποιημένοι φυσιολογικοί ιστοί σαν βιολογικό υλικό αναφοράς δεν ήταν πάντα επιτυχείς. Αυτό οφείλεται εν μέρει και στο διαφορετικό βαθμό χρώσης του DNA όταν χρησιμοποιείται υλικό από διαφορετικά ιστικά blocks που αντανακλά και διαφοροποιήσεις στην επεξεργασία τους. Από τον Perez το 1981 και κατόπιν από τους Friedlander και Taylor το 1983 διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν σχεδόν πάντα σε έναν πληθυσμό κύτταρα με διπλοειδικό περιεχόμενο. Αυτοί οι πληθυσμοί που αντιπροσωπεύουν είτε φυσιολογικά κύτταρα ξενιστή είτε κύτταρα διπλοειδικών όγκων επαληθεύτηκαν και σε κατοπινές μελέτες. Διαπιστώθηκε εξαιρετική αντιστοιχία μεταξύ των DI όταν από τον ίδιο ιστό όγκου λαμβάνονταν είτε φρέσκο είτε παραφιντοποιημένο δείγμα γεγονός που επιβεβαίωσε το ότι η σύνδεση του DAPI με τα προϊόντα αποδόμησης της πεψίνης είναι στοιχειομετρική. Έτσι μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η παρουσία μίας μοναδικής διπλοειδικής G1 κορυφής υποδεικνύει έναν διπλοειδικό ή σχεδόν διπλοειδικό όγκο, ενώ η παρουσία πολλαπλών ένα ανευπλοειδικό. Έτσι με την εξαίρεση της υποδιπλοειδίας που αντιστοιχεί περίπου στο 2% των περισσότερων συμπαγών όγκων, οι ανευπλοειδικοί κλώνοι μπορούν να αναγνωριστούν από το υψηλότερο περιεχόμενό τους σε DNA. Σημειώνεται ότι στο ιστογράμμα το κυτταρικό περιεχόμενο σε DNA είναι ευθέως ανάλογο προς τον αριθμό του καναλιού.

Επειδή η πυκνότητα χρώσης των πυρήνων ποικίλει από ένα δείγμα σε ένα άλλο δεν μπορεί πάντα να χρησιμοποιηθεί εσωτερική εργαστηριακή σταθερά. Στις περιπτώσεις αυτές δίνεται στην χαμηλότερη κορυφή του ιστογράμματος η τιμή DI 1 και οι τιμές των άλλων κορυφών υπολογίζεται με την πρώτη σαν τιμή αναφοράς. Έτσι στα ιστογράμματα αυτού του τύπου δεν αναγνωρίζονται υποδιπλοειδικοί όγκοι και το γεγονός αυτό αποτελεί και το βασικό μειονέκτημα της μεθόδου. Όγκοι με DI 1-1.049 ταυτοποιούνται σαν διπλοειδικοί, με DI 1.05-1.75 σαν υπερδιπλοειδικοί και με DI 1.76-2.00 σαν τετραπλοειδικοί και με DI >2.0 σαν υπερτετραπλοειδικοί. Το όριο του 1.75 ορίζεται κάπως αυθαίρετα και μπορεί να θεωρηθεί σχετικά χαμηλό, αντιστοιχεί όμως εμπειρικά στην τοπογραφία του κυτταρικού πληθυσμού G2. Σαν ανευπλοειδικοί ορίζονται οι όγκοι με DI έξω από το διπλοειδικό φάσμα.

## **Συσχέτιση της πλοειδίας των όγκων και του DI με διάφορες προγνωστικές παραμέτρους**

Οι ασθενείς που υποβάλλονται στη διαδικασία διερεύνησης πιθανών προγνωστικών παραγόντων, δεν θα πρέπει να έχουν πάρει συστηματική θεραπεία αφού για έναν προγνωστικό παράγοντα που συνδέεται π.χ. με ανταπόκριση στην θεραπεία μπορεί να υπάρξει υπερ- ή υπο- εκτίμηση της προγνωστικής του αξίας. Έτσι ασθενείς με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς που δεν έχουν λάβει θεραπεία έχουν βελτιωμένη πρόγνωση αλλά και υψηλή πιθανότητα θετικής ανταπόκρισης στην ενδοκρινική θεραπεία. Όμοια η αυξημένη ικανότητα πολλαπλασιασμού, μπορεί από μόνη της να συνεπάγεται επιβαρυνμένη πρόγνωση αλλά μπορεί επίσης να περιλαμβάνει και υψηλή ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία, γεγονός που οδηγεί στην υποτίμηση της προγνωστικής αξίας της αυξημένης πολλαπλασιαστικής ικανότητας στους ασθενείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία.

Η προγνωστική αξία της μέτρησης του DI και του SF αποτελεί αντικείμενο διαφωνίας μεταξύ των ερευνητών, με τους περισσότερους πάντως να καταλήγουν στο ότι αυξημένο ποσοστό ανευπλοειδίας καθώς και αυξημένο SF στον κυτταρικό πληθυσμό συνιστούν παράγοντες κακής πρόγνωσης. Σύμφωνα με κάποιες μελέτες, η παρουσία ανευπλοειδίας στον καρκίνο του μαστού αυξάνει την πιθανότητα θανάτου κατά τρεις φορές περισσότερο (δεν συμπεριλαμβάνεται η τετραπλοειδία η οποία θεωρείται ότι εμφανίζει σχετικά μικρό δυναμικό κακοήθειας). Οι διπλοειδικοί όγκοι (DI=1) έχουν συσχετιστεί κατά κύριο λόγο με καλύτερη πρόγνωση (αν και το μέγεθος του πλεονεκτήματος σε σχέση με τους ανευπλοειδικούς δεν είναι πάντα μεγάλο). Οι ανευπλοειδικοί όγκοι στην άμεση υπερδιπλοειδική περιοχή (DI=1.3) επίσης εμφανίζουν βελτιωμένη σε σχέση με άλλους βαθμούς ανευπλοειδίας πρόγνωση, όπως και οι υπερτετραπλοειδικοί (DI >2.1), οι τελευταίοι όμως είναι μάλλον ασυνήθεις αφού αντιπροσωπεύουν το 4-7% των ιστογραμάτων. Οι υποδιπλοειδικοί όγκοι (DI<1.0) είναι ακόμη σπανιότεροι (αποτελούν περίπου το 2%) και συνδέονται με κακή πρόγνωση και επιβαρυντικές παραμέτρους όπως μεγάλο μέγεθος και αρνητικοί οιστρογονικοί υποδοχείς. Οι πολυπλοειδείς όγκοι που περιέχουν πολλαπλές μη διπλοειδικές κυτταρικές σειρές, δεν φαίνεται να εμφανίζουν χειρότερη πρόγνωση απ'ότι αυτοί που περιέχουν μία μοναδική μη διπλοειδική κυτταρική σειρά.

Γενικά η ανευπλοειδία από τις περισσότερες μελέτες έχει συσχετισθεί με τις ακόλουθες κλινικοπαθολογικές ομάδες: ασθενείς από 50 έως 65 ετών, εκτεταμένες λεμφαδενικές μεταστάσεις, αυξημένη διάμετρος όγκου, υψηλός ιστολογικός βαθμός κακοήθειας, αρνητικοί οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς. Σημειώνεται ότι η πολυκλωνικότητα ενός όγκου συνδέεται με παρόμοια πρόγνωση με την ανευπλοειδία. Επίσης το ποσοστό των ανευπλοειδικών κυττάρων σε ένα όγκο δεν έχει κάποια ιδιαίτερη προγνωστική βαρύτητα ούτε έχει αποδειχτεί ότι η ετερογένεια αποτελεί πρόβλημα για την εκτίμηση της S φάσης. Αναλυτικά έχουν διαπιστωθεί οι ακόλουθες συσχετίσεις με συγκεκριμένες προγνωστικές παραμέτρους:

### Κλασσικές ιστοπαθολογικές παράμετροι :

- **Διάμετρος όγκου** (η μεγαλύτερη, όπως προσδιορίζεται στο παρασκεύασμα): Οι διπλοειδείς όγκοι εμφανίζουν μικρότερο μέγεθος όγκου. Η διαφορά αυτή σε 9 μελέτες είναι σημαντική και σε 18 δεν είναι, αλλά

πάντως σε όλες σχεδόν τις μελέτες οι ανευπλοειδικοί όγκοι φαίνονται μεγαλύτεροι. Το μέγεθος του όγκου εξαρτάται από την ηλικία και τον ρυθμό ανάπτυξής του. Άμεσες μετρήσεις του χρόνου διπλασιασμού είναι δύσκολο να γίνουν και απαιτούν φρέσκο υλικό. Μία έμμεση εκτίμηση μπορεί να γίνει, είτε με τον αριθμό των μιτώσεων όπως αυτός εκτιμάται με το μικροσκόπιο, είτε με τον προσδιορισμό του SPF με την κυτταρομετρία ροής. Ο μιτωτικός δείκτης θεωρείται σημαντική προγνωστική παράμετρος και επειδή ποικίλει στα διάφορα μέρη του όγκου μετρείται συνήθως εκεί όπου είναι υψηλότερος δηλ. στην περιφέρεια. Το SPF αναλύεται παρακάτω.

- *Ιστολογικός βαθμός κακοήθειας:* Από πολλούς ερευνητές έγινε η παρατήρηση ότι όγκοι με κύτταρα που εμφανίζουν αναπλαστικό πυρήνα έχουν και υψηλό DI όχι μόνο στον καρκίνο του μαστού αλλά και σε αρκετούς συμπαγείς όγκους (Με την εξαίρεση του Dobrena ο οποίος ανέφερε πολυφασική κατανομή του DNA στα φιμπροαδενώματα, χωρίς να υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ του ιστολογικού τύπου και του DI). Είναι λογικό ο παράγοντας αυτός να είναι ισχυρά συνδεδόμενος με την πλοειδία του DNA και το SPF αφού τα δύο τελευταία αντανακλούν την πλειομορφία του πυρήνα και τον αριθμό των μιτώσεων. Τα αποτελέσματα όμως των μελετών είναι αντικρουόμενα. Κάποιες περιλαμβάνουν τον ιστολογικό βαθμό στις πολυπαραγοντικές αναλύσεις, ενώ κάποιες άλλες θεωρούν την πλοειδία ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα που υπερέχει έναντι του ιστολογικού βαθμού. Οι διπλοειδικοί όγκοι είναι συνήθως καλύτερης διαφοροποίησης, ενώ οι ανευπλοειδικοί στο μεγαλύτερο ποσοστό είναι χαμηλής διαφοροποίησης. Οι λιγότερο διαφοροποιημένοι όγκοι φαίνεται να εμφανίζουν υψηλότερο DI .
- *Λεμφαδενικές μεταστάσεις:* Διαπιστώνεται από τους περισσότερους ερευνητές σχέση μεταξύ του επιπέδου των λεμφαδενικών μεταστάσεων και της πλοειδίας (6 μελέτες), χωρίς όμως αυτή να βρίσκεται πάντα στατιστικά σημαντική (18 μελέτες). Γενικά οι ανευπλοειδικοί όγκοι εμφανίζουν στο μεγαλύτερο ποσοστό θετικές λεμφαδενικές μεταστάσεις . Είναι επίσης μεγαλύτερο το ποσοστό των ασθενών που κατά τη διάγνωση αλλά και κατά τη διάρκεια του follow-up εμφανίζουν απομακρυσμένες μεταστάσεις μεταξύ των ανευπλοειδικών όγκων. Στις μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς ο αριθμός των αφαιρούμενων κατά την επέμβαση λεμφαδένων, στον βαθμό που ο παράγοντας αυτός αποτελεί μέτρο σωστής σταδιοποίησης, αποτελεί σύμφωνα με μελέτες τον πιο σημαντικό ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για το διάστημα ελεύθερο υποτροπής και την συνολική επιβίωση.
- *Ορμονικοί Υποδοχείς :* Οι ορμονικοί υποδοχείς αποτελούν δείκτη διαφοροποίησης του πυρήνα. Στις περισσότερες μελέτες υπάρχει μία τάση για τους διπλοειδικούς καρκίνους και γενικά αυτούς με χαμηλό περιεχόμενο σε DNA να είναι θετικοί για ορμονικούς υποδοχείς ενώ οι ανευπλοειδικοί βρίσκονται συνήθως αρνητικοί. Η διαφορά αυτή βρίσκεται στατιστικά σημαντική συνήθως σε μελέτες με μεγάλο αριθμό περιπτώσεων (>300), ενώ δεν τεκμηριώνεται σε μικρότερες μελέτες.
- *Τύπος καρκίνου :* Σε 10 μελέτες βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ενώ σε 2 όχι. Τα πορογενή διηθητικά και τα μυελοειδή βρίσκονται πιο συχνά ανευπλοειδικά απ'ότι τα λοβιακά.

### Κλινικές παράμετροι :

- *Εμμηνορυσιακή κατάσταση :* Εφ'όσον η προγνωστική σημασία των οιστρογονικών υποδοχέων και του ιστολογικού βαθμού ποικίλει ανάλογα με την εμμηνορυσιακή κατάσταση, πρέπει οι ασθενείς να κατηγοριοποιούνται σε δύο ομάδες. Οι προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν διπλοειδικό παρά ανευπλοειδικό όγκο σε σύγκριση με τις μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς. Κάποιες μελέτες αναφέρουν διπλάσιο αριθμό ανευπλοειδικών από διπλοειδικούς όγκους στις μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς, ενώ σε προεμμηνοπαυσιακές αναφέρεται ίση αναλογία των διπλοειδικών με τους ανευπλοειδικούς, γενικά όμως υπάρχει αυξημένη ανίχνευση των διπλοειδικών όγκων σε νεαρότερες ηλικίες από ότι σε μεγαλύτερες. Αναφέρεται ότι στις προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς η υποπλοειδία αποτελεί τον πιο σημαντικό ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα τόσο για το διάστημα ελεύθερο υποτροπής όσο και για την συνολική επιβίωση. Υπάρχει πάντως και ένας σημαντικός αριθμός μελετών που δεν τεκμηριώνεται κάποια συσχέτιση με την ορμονική κατάσταση των ασθενών.
- *Ηλικία :* Εκτός από 6 μελέτες, στις περισσότερες δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση πλοειδίας όγκων και ηλικίας του ασθενούς.

### Ποσοτικές παθολογικές παράμετροι

Αφορούν μετρήσεις των μιτώσεων και της περιοχής των πυρήνων που προσδιορίζονται στην πιο κυτταροβριθή διηθητική περιοχή της περιφέρειας του όγκου.

- *MAI (mitotic activity index) :* καθορίζεται με μέτρηση του αριθμού των μιτώσεων. Αν είναι μεγαλύτερο του 7 συνδέεται συνήθως με χαμηλό DI.
- *MNA (mean nuclear area ) :* όταν είναι υψηλή συνδέεται συχνά με χαμηλό DI. Αποτελεί δείκτη πυρηνικής διαφοροποίησης αφού σχετίζεται με την παρουσία ελάστωσης και το επίπεδο των ορμονικών υποδοχέων. Πιθανόν μιά μεγάλη πυρηνική περιοχή οφείλεται κατά ένα μέρος στην αυξημένη επίπτωση πυρήνων με μη φυσιολογικό περιεχόμενο σε DNA.

### **Συσχέτιση της πλοειδίας των όγκων με την επιβίωση**

Στους 30 μήνες μετά την μαστεκτομή φαίνεται ένα ολοφάνερο προβάδισμα όσον αφορά την επιβίωση στους διπλοειδικούς όγκους. Με περαιτέρω ανάλυση όμως για ένα χρονικό διάστημα γύρω στους 85 μήνες δεν διαπιστώνεται κάποια αξιοσημείωτη διαφορά στην επιβίωση μεταξύ διπλοειδικών και ανευπλοειδικών όγκων. Η βελτιωμένη λοιπόν επιβίωση των διπλοειδικών όγκων όπως αυτή διαπιστώνεται σε διάφορες μελέτες είναι ίσως απλώς θέμα μικρής διάρκειας follow-up των ασθενών, αυτό όμως δεν έχει απόλυτα επιβεβαιωθεί μιά και υπάρχουν μελέτες με διάρκεια follow-up μέχρι 7 έτη όπου βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ανευπλοειδικών και ευπλοειδικών όγκων . Γενικά, όταν το DI κυμαίνεται μεταξύ του 1.05 και 1.2 ή >1.9 η επιβίωση είναι παρόμοια με αυτή των διπλοειδικών (DI=1.00), η ομάδα όμως αυτή των ασθενών είναι αριθμητικά μικρότερη, αφού η πλειοψηφία των ασθενών με ανευπλοειδικούς όγκους έχει DI μεταξύ 1.21 και 1.90 και η επιβίωση είναι σημαντικά χαμηλότερη από αυτή των ασθενών με



διπλοειδικούς όγκους. Η διαφορά αυτή στην επιβίωση είναι ιδιαίτερα σημαντική όταν οι διπλοειδικοί καρκίνοι διαγνώστηκαν όταν το μέγεθος ήταν <2 εκ. ή όταν οι ασθενείς ήταν προεμμηνοπαυσιακοί. Παρ'όλα αυτά αν το DI εξεταστεί σαν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας στις διάφορες ομάδες δεν φαίνεται να είναι στατιστικά σημαντικότερος σε σχέση με άλλους.

*Διάστημα ελεύθερο νόσου :* Το χρονικό διάστημα μέχρι την εμφάνιση υποτροπής βρέθηκε σημαντικά μικρότερο στους ανευπλοειδικούς όγκους και η πιθανότητα μεγαλύτερη στους ασθενείς με DI μεταξύ του 1.21 και 1.90. Το πρόβλημα είναι ότι τα δεδομένα αυτά δεν είναι συγκρίσιμα αφού σε άλλες μελέτες οι ασθενείς λαμβάνουν συμπληρωματική θεραπεία και σε άλλες όχι. Ίσως πάντως οι διπλοειδικοί όγκοι να εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες.

Βλέπουμε λοιπόν ότι η πιο επιβαρυμένη προγνωστικά ομάδα τόσο όσον αφορά την επιβίωση όσο και το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου είναι αυτή με DI μεταξύ του 1.21 και 1.90. Πάντως όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως οι περισσότερες μελέτες απέτυχαν να τεκμηριώσουν το DI σαν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα σε πολυπαραγοντικές αναλύσεις λόγω των συσχετίσεων του με πιο ισχυρούς προγνωστικούς παράγοντες.

Συμπερασματικά η πλοειδία σαν δείκτης γενετικής αστάθειας κυρίως σχετίζεται με δείκτες πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης. Παρέχει επίσης σε κάποιο βαθμό ενδείξεις μεταστατικού δυναμικού (όπως αυτό καθορίζεται κυρίως από τις λεμφαδενικές μεταστάσεις) και διάρκειας της ασθένειας ή διηθητικής δυναμικότητας (μέγεθος όγκου).

#### **ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΗΝ S-ΦΑΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ (SPF)**

Τα τελευταία χρόνια έχει καταδειχτεί η αξία του ποσοστού των κυττάρων στην S φάση του κυτταρικού κύκλου(SPF), σαν μέτρο εκτίμησης του δυναμικού ανάπτυξης και (πιθανής)κακοήθειας ενός όγκου. Παρ'όλο που το κλάσμα G2/M και ο δείκτης πολλαπλασιασμού (G2/M+SPF) έχουν σημαντική προγνωστική αξία στον καρκίνο του μαστού, η επίδρασή τους δεν είναι τόσο μεγάλη όσο αυτή του SPF. Το SPF αποτελεί μία συνεχώς μεταβαλλόμενη βιολογική παράμετρο και ιδανικά το κάθε εργαστήριο θα πρέπει να έχει τις δικές του τιμές σε σχέση με την κλινική εξέλιξη ή κατά ελάχιστο μία κατανομή για ανευπλοειδικούς και διπλοειδικούς όγκους αφού οι διπλοειδικοί εμφανίζουν σταθερά χαμηλές τιμές. Είναι ορθότερη η εκτίμηση του SPF στα πλαίσια αυτών των κατανομών παρά η σύγκρισή του με κάποιες δεδομένες οριακές τιμές. Μέχρι πρόσφατα η μελέτη του παράγοντα αυτού βασίζονταν στην χρήση κάποιων μοντέλων αρχέγονων κυτταρικών κύκλων σε ιστογράμματα όπως αυτά διαμορφώνονταν απουσία συγκριμάτων. Η εφαρμογή αυτοματοποιημένων μεθόδων πιστεύεται ότι θα συμβάλει στην βελτίωση των αποτελεσμάτων. Το SPF σε αντίθεση με τον μιτωτικό δείκτη δεν μπορεί να προσδιοριστεί στα επι μέρους τμήματα του όγκου (κέντρο ή περιφέρεια), γι αυτό και όταν προσδιορίζονται τα SPF σε πολλαπλά δείγματα από τον ίδιο όγκο προκύπτουν σημαντικές αποκλίσεις. Είναι πάντως υψηλότερο σε ανευπλοειδικούς απ'ότι σε διπλοειδικούς όγκους.

## Συσχέτιση με προγνωστικές παραμέτρους

- *Ιστολογικός βαθμός* : Γενικά το αυξημένο SPF εκτός από την ανευπλοειδία έχει συνδεθεί με αυξημένο ιστολογικό βαθμό κακοήθειας, δίνοντας έτσι μία αντικειμενική διάσταση στην κατά τα άλλα υποκειμενική αυτή εκτίμηση και σε ανευπλοειδικούς(μόνο βέβαια για το ανευπλοειδικό τους κλάσμα) και σε διπλοειδικούς όγκους(γεγονός που υπογραμμίζει και την προγνωστική του εγκυρότητα).
- *Λεμφαδενικές μεταστάσεις* : Οι όγκοι με χαμηλό SPF, εμφανίζουν σε μικρότερο ποσοστό λεμφαδενικές αλλά και απομακρυσμένες μεταστάσεις απ'ότι αυτοί με υψηλό σύμφωνα με κάποιες μελέτες, γεγονός που συνδέει μερικά τις διαδικασίες ανάπτυξης σε κυτταρικό επίπεδο με την βιολογική συμπεριφορά, οι συσχετίσεις όμως αυτές δεν έχουν τεκμηριωθεί σε βαθμό στατιστικά σημαντικό.
- *MAI* : Τεκμηριώνονται σημαντικές συσχετίσεις του συνολικού ποσοστού των κυττάρων σε S φάση και της μιτωτικής δραστηριότητας, με το χαμηλό MAI να συνδέεται σε ποσοστό πάνω από 60% με SPF μικρότερο του 8%. Η απουσία όμως απόλυτης ταύτισης των δύο παραμέτρων, υποδεικνύει ότι αντανακλούν διαφορετικές αναπτυξιακές ιδιότητες, γεγονός κατανοητό αφού αντιπροσωπεύουν διαφορετικές φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Το MAI και οι ορμονικοί υποδοχείς παρουσιάζονται σαν οι μόνοι ανεξάρτητοι στατιστικά σημαντικοί παράμετροι μεταξύ όγκων με χαμηλό και υψηλό ποσοστό κυττάρων S φάσης.
- *MNA* : Η παράμετρος αυτή συνδέεται ισχυρά με το ποσοστό κυττάρων σε S φάση. Παρ'όλο λοιπόν που το MNA είναι δείκτης διαφοροποίησης πυρήνα, φαίνεται ότι οι δείκτες διαφοροποίησης και πολλαπλασιασμού δεν είναι απόλυτα ανεξάρτητοι.
- *Ορμονικοί υποδοχείς* : Αρνητικοί οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς συνδέονται σε βαθμό στατιστικά σημαντικό με υψηλό συνολικό αλλά και μη διπλοειδικό ποσοστό κυττάρων σε S φάση. Σε πολυπαραγοντικές αναλύσεις αποδείχτηκε η μόνη ανεξάρτητη στατιστικά σημαντική παράμετρος μεταξύ όγκων με υψηλό και χαμηλό ποσοστό μη διπλοειδικών κυττάρων σε S φάση.
- *Μέγεθος όγκου* : Όγκοι με SPF κάτω από το μέσο όρο(διαφοροποιείται ελαφρά ανάλογα με την μελέτη, είναι πάντως γύρω στο 7% για τους διπλοειδικούς και 12% για τους ανευπλοειδικούς όγκους, ενώ τα πολύ υψηλά ή τα πολύ χαμηλά επίπεδα απορρίπτονται από τις μελέτες ως μη έχοντα προγνωστική αξία), είναι μικρότεροι από αυτούς με SPF πάνω από το μέσο όρο(διαφορά στατιστικά σημαντική), γεγονός που συνδέεται με τον ρυθμό πολλαπλασιασμού ο οποίος σε μικρότερους όγκους (συνήθως διπλοειδικούς) είναι μικρότερος απ'ότι σε μεγάλους (συνήθως ανευπλοειδικούς).
- *Τύπος όγκου* : Τα μυελοειδή καρκινώματα εμφανίζουν υψηλό συνολικό ποσοστό κυττάρων σε S φάση, ενώ τα βλεννώδη χαμηλό.
- *Ηλικία και εμμηνορρυσιακή κατάσταση* : Δεν διαπιστώθηκαν κάποιες συσχετίσεις.

Συμπερασματικά το ποσοστό των κυττάρων σε S φάση σαν δείκτης πολλαπλασιασμού δεν είναι ανεξάρτητος από τους δείκτες διαφοροποίησης (ορμονικοί υποδοχείς, τύπος όγκου, MNA). Ιδιαίτερα η συσχέτιση του

επιπέδου των ορμονικών υποδοχέων είναι πολύ ισχυρή, γεγονός που οδηγεί σε δύο υποθέσεις : είτε οι υποδοχείς είναι αρνητικοί σαν αποτέλεσμα κάποιων ανωμαλιών πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης, είτε ο αυξημένος πολλαπλασιασμός και η ανευπλοειδία οφείλονται σε απώλεια της ορμονικής ρύθμισης.

Είναι σημαντικό ότι το SPF που υπολογίζεται από παραφινωποιημένους ιστούς δεν διαφέρει κατά πολύ από αυτό που υπολογίζεται από φρεσκοκατεψυγμένα δείγματα ιστών. Πρέπει πάντως να σημειωθεί ότι δεν αντανakλά μόνο την πολλαπλασιαστική ικανότητα του όγκου, αλλά κατά ένα μέρος και την αναλογία των μη πολλαπλασιαζόμενων φλεγμονωδών και στρωματικών κυττάρων σε ένα όγκο, ενώ επίσης αλληλοκαλυπτόμενοι κυτταρικοί κύκλοι και πυρηνικά συγκρίματα παρεμβάλλονται στην ανάλυση του SPF, συνεπώς απαιτείται προσοχή στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Είδος ιστογραμμάτων : Ο Auer ταξινόμησε τους όγκους ασθενών που πέθαναν 2 χρόνια μετά την διάγνωση και αυτών που παρέμεναν ζωντανοί 15 χρόνια μετά ανάλογα με το περιεχόμενο σε DNA και την πολλαπλασιαστική τους ικανότητα και προέκυψαν τέσσερις κατηγορίες με διαφορετική πρόγνωση : ο τύπος 1 ανταποκρίνεται σε διπλοειδικό ή σχεδόν πληθυσμό με χαμηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού, ο τύπος 2 σε τετραπλοειδικό χωρίς πολλαπλασιασμό, ο τύπος 3 είτε σε διπλοειδικό με υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού είτε σε ανευπλοειδικό με χαμηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού και ο τύπος 4 είτε σε ανευπλοειδικό με υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού μεταξύ 2c και 4c είτε τετραπλοειδικό ανεξάρτητα από την αναπτυξιακή του κατάσταση. Ο τύπος 4 διαιρείται λοιπόν σε δύο κατηγορίες τους μη διαιρούμενους όγκους (δείκτης πολλαπλασιασμού < 12%) και τους διαιρούμενους (δείκτης πολλαπλασιασμού  $\geq$  12%). Με έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού από το SPF και με βάση την πρόγνωση των τύπων αυτών, προέκυψαν τρεις κατηγορίες ιστογραμμάτων:

♣ Τύπος I : Όγκοι με διπλοειδικό περιεχόμενο και χαμηλό (<7%) SPF. Εμφανίζουν σε ποσοστό περίπου 90% 8-ετή επιβίωση.

♣ Τύπος II : α) Όγκοι με διπλοειδικό περιεχόμενο και υψηλό (>12%) SPF και β) όγκοι με ανευπλοειδικό περιεχόμενο και χαμηλό ή αμελητέο SPF. Η πρόγνωση της κατηγορίας αυτής είναι ενδιάμεση μεταξύ του τύπου I και III.

♣ Τύπος III : α) Όγκοι ανευπλοειδικοί με υψηλό (>12%) SPF β) Όγκοι με υψηλό DI (>2.20)-υπερτετραπλοειδικοί και υψηλό (>12%) SPF. Η 8-ετής επιβίωση στον τύπο αυτό κυμαίνεται γύρω στο 50%. Ο κίνδυνος θανάτου υπολογίζεται ότι είναι 8 φορές περισσότερο απ'ότι στον τύπο I.

Ο τύπος του ιστογράμματος συνδέεται ισχυρά με την ηλικία, την ύπαρξη οιστρογονικών και προγεστερινικών υποδοχέων και τον ιστολογικό βαθμό, έχει δε σημαντική προγνωστική αξία τόσο σε ασθενείς με αρνητικούς (ειδικά στο στάδιο I(T1N0)), όσο και σε ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες και θεωρείται στατιστικά ισχυρότερος από κάθε μία από τις προγνωστικές παραμέτρους που περιλαμβάνει (πλοειδία, DI, SPF). Επίσης για το στάδιο II (T2N1) σε συνδυασμό με τους οιστρογονικούς υποδοχείς (π.χ. όγκος σταδίου II με αρνητικούς προγεστερινικούς υποδοχείς και ιστόγραμμα τύπου III, θεωρείται ότι η πιθανότητα θανάτου 48 φορές σε σχέση με στάδιο I με θετικούς υποδοχείς και ιστόγραμμα τύπου I). Βλέπουμε λοιπόν ότι όγκοι του ίδιου σταδίου TNM κατατάσσονται με τον τρόπο αυτό σε διαφορετικές προγνωστικές κατηγορίες. Σε

πολυπαραγοντικές αναλύσεις αποδεικνύεται ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας, ανώτερος από τους κλασσικούς όπως το μέγεθος του όγκου, οι λεμφαδενικές μεταστάσεις ή οι ορμονικοί υποδοχείς και πιστεύεται ότι στο μέλλον, αν πρόσθετες μελέτες τεκμηριώσουν την αξία του, θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν κριτήριο για θεραπευτικές επιλογές στον καρκίνο του μαστού.

### **Προγνωστική σημασία της πλοειδίας του DNA σε πορογενή διηθητικά καρκινώματα του μαστού με αρνητικούς λεμφαδένες**

Διακρίνουμε δύο ομάδες τις προ- και μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με διαφορετικά δεδομένα για την κάθε κατηγορία.

Στις προεμμηνοπαυσιακές οι υποδιπλοειδικοί ασθενείς που χαρακτηρίζονται συνήθως από υψηλό SPF και αρνητικούς οιστρογονικούς υποδοχείς, έχουν κακή πρόγνωση με πρώιμες υποτροπές και ραγδαία επιδείνωση μετά την πρώτη υποτροπή. Το σύντομο ελεύθερο νόσου χρονικό διάστημα δείχνει ότι αυτοί οι όγκοι χαρακτηρίζονται από υψηλό δυναμικό πολλαπλασιασμού, ενώ από την άλλη η μικρή επιβίωση μετά την πρώτη υποτροπή ότι οι υποτροπιάζοντες όγκοι είναι ανθεκτικοί στην θεραπεία που δίνεται για μεταστατική νόσο, στοιχεία ενδεικτικά αυξημένης κακοήθειας. Αντίθετα οι ευπλοειδικοί όγκοι, που συνήθως έχουν χαμηλό SPF και είναι θετικοί για οιστρογονικούς υποδοχείς, εμφανίζουν μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα ελεύθερα υποτροπής αλλά και επιβίωσης μετά την υποτροπή, αποτέλεσμα που υποδεικνύει χαμηλούς ρυθμούς πολλαπλασιασμού και ανταπόκριση στην μετά την υποτροπή χορηγούμενη θεραπεία. Βέβαια οι ταχέως πολλαπλασιαζόμενοι όγκοι μπορεί να είναι περισσότερο ευαίσθητοι στην συστηματική χημειοθεραπεία, ιδιαίτερα όταν αυτή χορηγείται σε φάση που το φορτίο του όγκου και η πιθανότητα ανάπτυξης φαρμακευτικής αντίστασης είναι χαμηλά, ενώ από την άλλη οι θετικοί για οιστρογονικούς υποδοχείς όγκοι να ανταποκρίνονται στην ενδοκρινική θεραπεία. Οι υπερ-διπλοειδικοί και τετραπλοειδικοί όγκοι έχουν παρόμοια προγνωστικά δεδομένα με τους ευπλοειδικούς σύμφωνα με κάποιες μελέτες ενώ άλλες περιλαμβάνουν τις κατηγορίες από την διπλοειδία μέχρι την τετραπλοειδία σε μία ανευπλοειδική ομάδα με διαφορετικά αποτελέσματα. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι ακόμη και οι μελέτες που εξετάζουν χωριστά την υπερτετραπλοειδική ομάδα συχνά δεν διευκρινίζουν αν αποτελείται μόνο από υπερτετραπλοειδικό πληθυσμό ή αν συνυπάρχει με υπερδιπλοειδικό πληθυσμό, γεγονός που υποδεικνύει βελτιωμένη πρόγνωση.

Από την EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) δημοσιεύτηκε μιά μελέτη το 2000 (trial 10854) που αφορούσε την προγνωστική αξία της μελέτης του DNA σε παραφιντοποιημένο υλικό σε προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με πορογενή διηθητικά καρκινώματα μαστού και αρνητικούς λεμφαδένες. Περιέλαβε 281 ασθενείς με διάρκεια follow-up 6 χρόνια και τα αποτελέσματα μελετήθηκαν με τυχαιοποιημένη πολυπαραγοντική ανάλυση. Τα συμπεράσματα στα οποία κατέληξαν ήταν τα ακόλουθα :

♣ Όταν το παραφιντοποιημένο υλικό είναι ανεπαρκές για την εκτέλεση ταυτόχρονης ICM και FCM ανάλυσης, προτιμάται η ICM. Στην FCM είναι πιά συχνή η ανεύρεση διπλοειδών όγκων και τα CV των κορυφών G0G1 είναι μεγαλύτερα. Επίσης δεν μπορούν πάντα να εξαιρεθούν τα ανεπιθύμητα

στρωματικά και φλεγμονώδη κύτταρα, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η ταυτοποίηση κάποιων ανευπλοειδικών ή σχεδόν διπλοειδικών πληθυσμών.

♣ Όταν η ποσότητα των συγκριμάτων στο ιστόγραμμα είναι μεγαλύτερη από 20%, τροποποιείται και η αξία μέτρησης των κυττάρων σε φάση S στην FCM. Παρ'όλα αυτά εκτιμάται σαν ιδιαίτερα σημαντική η προγνωστική σημασία του παράγοντα αυτού στην συνολική επιβίωση, στο χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου και στο χρονικό διάστημα ελεύθερο μετάστασης στην μονοπαραγοντική ανάλυση.

♣ Στην ICM σαν σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες επιβίωσης ταυτοποιήθηκαν το ιστόγραμμα και ο βαθμός κακοήθειας (όπως αυτός ορίστηκε προηγουμένως), αλλά όχι ο δείκτης πολλαπλασιασμού. Στην μονοπαραγοντική ανάλυση επιβεβαιώθηκε η σημασία των κλασσικών προγνωστικών παραμέτρων όπως το μέγεθος του όγκου, ο ιστολογικός βαθμός και οι ορμονικοί υποδοχείς.

♣ Παρά την υπεροχή της ICM, δεν χρησιμοποιείται σε πολυπαραγοντικές αναλύσεις που περιλαμβάνουν κλασσικούς παθολογικούς και βιολογικούς παράγοντες. Πραγματοποιείται σε περιορισμένες σειρές ασθενών με ετερογενή κλινικά στάδια, ή σε μεγάλες σειρές ασθενών με ετερογενή στάδια, βραχείας διάρκειας follow-up και ετερογενή θεραπεία. Αυτά βασικά οφείλονται στο ότι παρά το προφανές πλεονέκτημα της οπτικής επιλογής κυττάρων, υπάρχει το μεγάλο μειονέκτημα της μικρής ταχύτητας και αργής επεξεργασίας των μετρήσεων.

♣ Η μελέτη των διαφόρων δεικτών πολλαπλασιασμού έδειξε ότι ο μιτωτικός δείκτης, το Ki-67 (μέτρηση δηλαδή του MIB-1), τα μετρούμενα με FCM κύτταρα σε S φάση και ο με την ICM μετρήσιμος δείκτης πολλαπλασιασμού συνδέονται σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (Μεγαλύτερη προγνωστική βαρύτητα φαίνεται να έχει ο μιτωτικός δείκτης). Οι δείκτες αυτοί είναι πολύ σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες τόσο για την συνολική επιβίωση όσο και για το διάστημα το ελεύθερο μεταστατικής νόσου.

Στις μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς οι μελέτες δείχνουν ότι γενικά οι οιστρογονικοί υποδοχείς δεν έχουν ιδιαίτερη προγνωστική σημασία γιατί πιθανόν ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μία διαφορετική νοσολογική οντότητα απ'ότι στις προεμμηνοπαυσιακές αφού οι ορμονικές συνθήκες που πιστεύεται ότι είναι σημαντικές για την ανάπτυξη του όγκου, έχουν μεταβληθεί. Σημαντικός ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας που επηρεάζει τα χρονικά διαστήματα ελεύθερα νόσου και συνολικής επιβίωσης φαίνεται να είναι ο αριθμός των εγχειρητικά αφαιρούμενων λεμφαδένων, ίσως γιατί όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός τόσο μεγαλύτερη η πιθανότητα να ταυτοποιηθεί αν είναι πραγματικά αρνητικοί. Όσον αφορά την πλοειδία και το SPF τα αποτελέσματα είναι παρόμοια με την προηγούμενη κατηγορία με τους υποδιπλοειδικούς όγκους να εμφανίζουν γενικά επιβαρυσμένη πρόγνωση. Στις μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς φαίνεται η πλοειδία να είναι σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για το χρονικό διάστημα ελεύθερο υποτροπής μέσα στα δύο πρώτα έτη από την επέμβαση.

### **Πλοειδία του DNA στα μυελοειδή καρκινώματα του μαστού**

Τα τελευταία χρόνια υπήρξε αυξημένο ενδιαφέρον στην μελέτη της πλοειδίας του DNA στα ΜΚ στην προσπάθεια ερμηνείας της βιολογικής συμπεριφοράς

τους. Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα των ερευνών καταλήγουμε στις ακόλουθες παρατηρήσεις που αφορούν την πλοειδία του DNA στα μυελοειδή καρκινώματα του μαστού :

- Το DI και το ποσοστό ανευπλοειδίας στον τύπο αυτό είναι υψηλότερο από το υπολογιζόμενο γενικά στον καρκίνο του μαστού. Το υψηλότερο ποσοστό ανευπλοειδίας αναφέρεται στην κατηγορία των ΤΜΚ. Ο Pedersen προσδιόρισε το ποσοστό ανευπλοειδίας στον συνολικό πληθυσμό των ΜΚ (110 περιπτώσεις μυελοειδών καρκίνων μαστού) στο 51%, ενώ σε άλλες μελέτες το ποσοστό ανέρχεται σε 71%-Kallionemi ή και σε 81%-McDivitt.
- Σαν χαρακτηριστικό artifact της κυτταρομετρίας ροής στα παραφινωποιημένα δείγματα των μυελοειδών καρκινωμάτων μαστού εντοπίζεται συχνά μια χαρακτηριστική διαμόρφωση «ώμου» της διπλοειδικής κορυφής, οφειλόμενη πιθανόν σε κάποιο κυτταρικό υποπληθυσμό με DI μεγαλύτερο από 1, φαινόμενο το οποίο δεν συναντάται σε ιστογράμματα φρεσκοκατεψυγμένων δειγμάτων. Ένα artifact το οποίο επίσης αναφέρεται, είναι μία επιπλέον G1 κορυφή, η οποία δεν περιλαμβάνεται στις αναλύσεις.
- Ειδικά για τα ΜΚ ο καρκινικός ιστός περιλαμβάνει και κυτταρικούς υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων, πλασματοκυττάρων και κυττάρων συνδετικού ιστού που είναι πάντα διπλοειδικοί και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν σταθερά αναφοράς διπλοειδικής κορυφής DNA.
- Παρατηρείται σημαντικά χαμηλότερη κορυφή καναλιού για τα τεταρτημόρια των δειγμάτων μαστεκτομής συγκρινόμενη με το βασικό πλάνο εκτομής δείχνοντας μιά παρέκκλιση της τάξης του 5%. Τα αποτελέσματα από τα τεταρτημόρια και την κοιλότητα του όγκου δεν είναι διαφορετικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό η απόκλιση όμως ήταν σχετικά μεγάλη (CV=9.3%). Αυτό μπορεί να ερμηνευτεί λόγω ενδοκαρκινικής κλωνικής ετερογένειας.
- Το υψηλό ποσοστό ανευπλοειδίας δεν φαίνεται να συνδυάζεται με κακή πρόγνωση, αν και οι υποπλοειδικοί όγκοι ιδιαίτερα στις προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες φαίνεται να εμφανίζουν χειρότερη κλινική πορεία.
- Στα ΜΚ διαπιστώθηκε γενικά αυξημένο SF·περίπου τα 2/3-3/4 των κυτταρικών πληθυσμών των μελετών, παρουσιάζουν SF>12% χωρίς να είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης είτε στους όγκους με θετικούς είτε στους όγκους με αρνητικούς λεμφαδένες που να υποδεικνύει αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και θνητότητας.
- Σίγουρα οι δείκτες της πλοειδίας και του SF δεν είναι αρκετοί από μόνοι τους να ερμηνεύσουν την συνήθως καλύτερη πρόγνωση των ΜΚ. Τα αποτελέσματα αυτά επαληθεύουν την υπόθεση ότι τα ΜΚ είναι τύπος καρκίνου του μαστού με ιδιαίτερη βιολογική συμπεριφορά, με χαρακτήρες που παρέχουν διαφορετικές πληροφορίες αναφορικά με την πρόγνωση απ'ότι άλλες μορφές καρκίνου. Αποτελεί μία αντίφαση το γεγονός ότι παρά το υψηλό ποσοστό ανευπλοειδίας και κυττάρων στην S φάση του κυτταρικού κύκλου που υποδεικνύουν έναν επιθετικό τύπο καρκίνου, φαίνεται να εμφανίζουν καλύτερη πρόγνωση από τα υπόλοιπα πορογενή καρκινώματα του μαστού. Παρ' όλα αυτά οι υπάρχουσες μελέτες είναι λίγες και με σχετικά μικρό αριθμό

περιστατικών γι αυτό δεν μπορούν να εξαχθούν με βεβαιότητα συμπεράσματα.



1. Aasmundstad TA, Haugen OA. DNA ploidy in intraductal breast carcinomas. *Eur J Cancer*. 1990;26(9):956-9.
2. Ahlgren J, Stal O, Westman G. Prediction of axillary lymph node metastases in a screened breast cancer population. South-East Sweden Breast Cancer Group. *Acta Oncol*. 1994;33(6):603-8.
3. Alanen KA, Lintu M, Joensuu H. Image cytometry of breast carcinomas that are DNA diploid by flow cytometry: time to revise the concept of DNA diploidy? *Anal Quant Cytol Histol*. 1998 Jun;20(3):178-86.
4. Andronas M, Dlay SS, Sherbet GV. Oestrogen and progesterone receptor expression influences DNA ploidy and the proliferation potential of breast cancer cells. *Anticancer Res*. 2003 May-Jun;23(3C):3029-39.
5. Arnerlov C, Emdin SO, Cajander S. Intratumoral variations in DNA ploidy and s-phase fraction in human breast cancer. *Anal Cell Pathol*. 2001;23(1):21-8.
6. Arnerlov C, Emdin SO, Lundgren B. Mammographic growth rate, DNA ploidy, and S-phase fraction analysis in breast carcinoma. A prognostic evaluation in a screened population. *Cancer*. 1992 Oct 1;70(7):1935-42.
7. Arnerlov C, Emdin SO, Roos G. Static and flow cytometric DNA analysis compared to histologic prognostic factors in a cohort of stage T2 breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 1990 Jun;16(3):200-8.
8. Arnesson LG, Smeds S, Hatschek T. Hormone receptors, ploidy and proliferation rate in breast cancers up to 10 mm. *Eur J Surg Oncol*. 1992 Jun;18(3):235-40.
9. Aubele M, Auer G, Hofler. Cytometric prognostic parameters in breast cancer. *Anticancer Res*. 1996 Sep-Oct;16(5B):3085-7.
10. Aubele M, Auer G, Falkmer U. Identification of a low-risk group of stage I breast cancer patients by cytometrically assessed DNA and nuclear texture parameters. *J Pathol*. 1995 Dec;177(4):377-84.
11. Aubele M, Auer G, Voss A. Disease-free survival of node-positive breast cancer patients. Improved prognostication by cytometrical parameters. *Pathol Res Pract*. 1995 Oct;191(10):982-90.
12. Auer GU, Fallenius AG, Erhardt KY. Progression of mammary adenocarcinomas as reflected by nuclear DNA content. *Cytometry*. 1984 Jul;5(4):420-5.
13. Aziz DC, Barathur RB. Quantitation and morphometric analysis of tumors by image analysis. *J Cell Biochem Suppl*. 1994;19:120-5.
14. Baak JP, van Diest PJ, Benraad T. The Multi-Center Morphometric Mammary Carcinoma Project (MMMCP) in The Netherlands: value of morphometrically assessed proliferation and differentiation. *J Cell Biochem Suppl*. 1993;17G:220-5.
15. Babiak J, Poppema S. Automated procedure for dewaxing and rehydration of paraffin-embedded tissue sections for DNA flow cytometric analysis of breast tumors. *Am J Clin Pathol*. 1991 Jul;96(1):64-9.
16. Bacus JW, Bacus JV. Quality control in image cytometry: DNA ploidy. *J Cell Biochem Suppl*. 1994;19:153-64.
17. Baccus SS, Ruby SG. Application of image analysis to the evaluation of cellular prognostic factors in breast carcinoma. *Pathol Annu*. 1993;28 Pt 1:179-204. Review.
18. Bade AA, Tio J, Petru E. T1 breast cancer: identification of patients at low risk of axillary lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat*. 2002 Nov;76(1):11-7.
19. Bagwell CB, Clark GM, Spyrtos F. DNA and cell cycle analysis as prognostic indicators in breast tumors revisited. *Clin Lab Med*. 2001 Dec;21(4):875-95.
20. Bagwell CB, Clark GM, Spyrtos F. Optimizing flow cytometric DNA ploidy and S-phase fraction as independent prognostic markers for node-negative breast cancer specimens. *Cytometry*. 2001 Jun 15;46(3):121-35.
21. Baildam AD, Zaloudik J, Howell A. DNA analysis by flow cytometry, response to endocrine treatment and prognosis in advanced carcinoma of the breast. *Br J Cancer*. 1987 May;55(5):553-9.
22. Baldetorp B, Bendahl PO, Ferno M. Reproducibility in DNA flow cytometric analysis of breast cancer: comparison of 12 laboratories' results for 67 sample homogenates. *Cytometry*. 1995 Jun 15;22(2):115-27.
23. Baldetorp B, Ferno M, Fallenius A. Image cytometric DNA analysis in human breast cancer analysis may add prognostic information in diploid cases with low S-phase fraction by flow cytometry. *Cytometry*. 1992;13(6):577-85.
24. Balslev L, Christensen IJ, Rasmussen BB. Flow cytometric DNA ploidy defines patients with poor prognosis in node-negative breast cancer. *Int J Cancer*. 1994 Jan 2;56(1):16-25.
25. Barlogie B, Johnston DA, Smallwood L. Prognostic implications of ploidy and proliferative activity in human solid tumors. *Cancer Genet Cytogenet*. 1982 May;6(1):17-28.
26. Barth A, Graig PH, Silverstein MJ. Predictors of axillary lymph node metastases in patients with T1 breast carcinoma. *Cancer*. 1997 May 15;79(10):1918-22.
27. Batsakis JG, Sneige N, el-Naggar AK. Flow cytometric (DNA content and S-phase fraction) analysis of breast cancer. *Cancer*. 1993 Mar 15;71(6 Suppl):2151-3. Review.
28. Bedrossian CW, Raber M, Barlogie B. Flow cytometry and cytomorphology in primary resectable breast cancer. *Anal Quant Cytol*. 1981 Jun;3(2):112-6.





29. Beerman H, Bosing BA, van de Vijver MJ. DNA ploidy of primary breast cancer and local recurrence after breast-conserving therapy. *Br J Cancer*. 1991 Jul;64(1):139-43.
30. Beerman H, Smit VT, Kluin PM. Flow cytometric analysis of DNA stemline heterogeneity in primary and metastatic breast cancer. *Cytometry*. 1991;12(2):147-54.
31. Beerman H, Kluin PM, Hermans J. Prognostic significance of DNA-ploidy in a series of 690 primary breast cancer patients. *Int J Cancer*. 1990 Jan 15;45(1):34-9.
32. Betta PG, Robutti F, Spinoglio G. The influence of perimenopausal age on estrogen receptor status and estradiol and DNA content in human breast cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*. 1989;10(2):157-61.
33. Bergers E, Baak JP, Van Dienst PJ. Prognostic value of DNA ploidy using flow cytometry in 1301 breast cancer patients: results of the prospective Multicenter Morphometric Mammary Carcinoma Project. *Mod Pathol* 1997 Aug;10(8):762-8.
34. Bergers E, Baak JP, Van Dienst PJ. Reliable DNA histogram interpretation. Number of nuclei requiring measurement with flow cytometry. *Anal Quant Cytol Histol*. 1997 Aug;19(4):277-84.
35. Bergers E, Van Dienst PJ, Baak JP. Cell cycle analysis of 932 flow cytometric DNA histograms of fresh frozen breast carcinoma material. Correlations between flow cytometric, clinical, and pathologic variables. MMMCP Collaborative Group. Multicenter Morphometric Mammary Carcinoma Project Collaborative Group. *Cancer*. 1996 Jun 1;77(11):2258-66.
36. Bergers E, Van Dienst PJ, Baak JP. Tumour heterogeneity of DNA cell cycle variables in breast cancer measured by flow cytometry. *J Clin Pathol*. 1996 Nov;49(11):931-7.
37. Berryman IL, Harvey JM, Sterrett GF. The nuclear DNA content of human breast carcinoma. Associations with clinical stage, axillary lymph node status, estrogen receptor status and outcome. *Anal Quant Cytol Histol*. 1987 Oct;9(5):429-34.
38. Bollmann R, Torka R, Schmitz J. Determination of ploidy and steroid receptor status in breast cancer by laser scanning cytometry. *Cytometry*. 2002 Aug 15;50(4):210-5.
39. Borgiani L, Cogorno P, Buccaran G. Comparative DNA analysis of breast cancer by flow cytometry and image analysis. *Pathologica*. 1994 Aug;86(4):356-9.
40. Bosari S, Lee AK, Tahan SR. DNA flow cytometric analysis and prognosis of axillary lymph node-negative breast carcinoma. *Cancer*. 1992 Oct 1;70(7):1943-50.
41. Bosari S, Wiley BD, Hamilton WM. DNA measurement by image analysis of paraffin-embedded breast carcinoma tissue. A comparative investigation. *Am J Clin Pathol*. 1991 Dec;96(6):698-703.
42. Boudri C, Herlin P, Coster M. Influence of sample size on image cytometry of DNA ploidy measurements. *Anal Quant Cytol Histol*. 1999 Jun;21(3):209-15.
43. Bozzetti C, Nizzoli R, Naldi N. Nuclear grading and flow cytometric DNA pattern in fine-needle aspirates of primary breast cancer. *Diagn Cytopathol*. 1996 Aug;15(2):116-20.
44. Bloyet D, Herlin P, Masson E. Image analysis software for automatic DNA ploidy assessment of archival solid tumours. *Cytometry*. 1999 Dec 1;37(4):267-74.
45. Bracko M, Us-Krasovec M, Cufer T. Prognostic significance of DNA ploidy determined by high-resolution flow cytometry in breast carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol*. 2001 Feb;23(1):56-66.
46. Bucci B, Carico E, Rinaldi A. Biological indicators of aggressiveness in T1 ductal invasive breast cancer. *Anticancer Res*. 2001 Jul-Aug;21(4B):2949-55.
47. Budel V, Merle S, Gasperin P. Introduction of the cytological grading, the nuclear area, the DNA index and the DNA histogram type in the setting up of a score for ductal breast carcinoma. *Anticancer Res*. 1994 Nov-Dec;14(6B):2845-51.
48. Camplejohn RS, Ash CM, Gillet CE. The prognostic significance of DNA flow cytometry in breast cancer: results from 881 patients treated in a single centre. *Br J Cancer*. 1995 Jan;71(1):140-5.
49. Carpenter R, Gibbs N, Matthews J. Importance of cellular DNA content in pre-malignant breast disease and pre-invasive carcinoma of the female breast. *Br J Surg*. 1987 Oct;74(10):905-6.
50. Chadha M, Chabon AB, Friedmann P. Predictors of axillary lymph node metastases in patients with T1 breast cancer. A multivariate analysis. *Cancer*. 1994 Jan 15;73(2):350-3.
51. Chang J, Clark GM, Allred DC. Survival of patients with metastatic breast carcinoma: importance of prognostic markers of the primary tumor. *Cancer*. 2003 Feb 1;97(3):545-53.
52. Chang J, Ormerod M, Powles TJ. Apoptosis and proliferation as predictors of chemotherapy response in patients with breast carcinoma. *Cancer*. 2000 Dec 1;89(11):2145-52.
53. Chang J, Powles TJ, Allred DC. Predictors of axillary lymph node metastases in patients with invasive breast carcinoma by a combination of classical and biological prognostic factors. *Pathol Res Pract*. 1999;195(9):611-8.
54. Chassevent A, Jourdan ML, Romain S. S-phase fraction and DNA ploidy in 633 T1T2 breast cancers: a standardized flow cytometric study. *Clin Cancer Res*. 2001 Apr;7(4):909-17.
55. Chen TL, Luo I, Mikhail M. Comparison of flow and image cytometry for DNA content analysis of fresh and formalin-fixed, paraffin-embedded tissue in breast carcinoma. *Cytometry*. 1995 Sep 15;22(3):181-9.
56. Clark GM. Applicability of flow cytometry in breast cancer. *Ann N Y Acad Sci*. 1993 Mar 20;677:379-83. Review.
57. Clark GM, Mathieu MC, Owens MA. Prognostic significance of S-phase fraction in good-risk, node-negative breast cancer patients. *J Clin Oncol*. 1992 Mar;10(3):428-32.
58. Clark GM, Dressler LG, Owens MA. Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry. *N Engl J Med*. 1989 Mar 9;320(10):627-33.

59. Claud RD 3rd, Weinstein RS, Howedy A. Comparison of image analysis of imprints with flow cytometry for DNA analysis of solid tumors. *Mod Pathol.* 1989 Sep;2(5):463-7.
60. Collan YU, Eskelinen MJ, Nordling SA. Prognostic studies in breast cancer. Multivariate combination of nodal status, proliferation index, tumor size, and DNA ploidy. *Acta Oncol.* 1994;33(8):873-8.
61. Collan Y, Klemi P, Kallioniemi OP. Significance of variation in DNA flow cytometric analyses from paraffin-embedded breast cancers. Evaluation of the grading efficiency of ploidy determination, DNA index, and S-phase fraction. *Pathol Res Pract.* 1992 Jun;188(4-5):581-6.
62. Cook DL, Weaver DL. Comparison of DNA content, S-phase fraction, and survival between medullary and ductal carcinoma of the breast. *Am J Clin Pathol.* 1995 Jul;104(1):17-22.
63. Cornelisse CJ, van de Velde CJ, Caspers RJ. DNA ploidy and survival in breast cancer patients. *Cytometry.* 1987 Mar;8(2):225-34.
64. Cornelisse CJ, de Koning HR, Moolenaar AJ. Image and flow cytometric analysis of DNA content in breast cancer. Relation to estrogen receptor content and lymph node involvement. *Anal Quant Cytol.* 1984 Mar;6(1):9-18.
65. Costa G, Lascari G, Aragona M. Biological parameters in breast cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 1996 Apr 30;784:521-4.
66. Coulson PB, Thornthwaite JT, Woolley TW. Prognostic indicators including DNA histogram type, receptor content, and staging related to human breast cancer patient survival. *Cancer Res.* 1984 Sep;44(9):4187-96.
67. Christov K, Milev A, Todorov V. DNA aneuploidy and cell proliferation in breast tumors. *Cancer.* 1989 Aug 1;64(3):673-9.
68. Cufer T, Lamovec J, Bracko M. Prognostic value of DNA ploidy in breast cancer stage I-II. *Neoplasma.* 1997;44(2):127-32.
69. D'Agnano I, Bucci B, Mottolese M. DNA ploidy, cell kinetics, and epidermal growth factor receptor and HER2/neu oncoprotein expression in primary operable breast cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 1996 Apr 30;784:472-81.
70. D'Hautcourt JL, Spyrtos F, Chassevent A. Quality control study by the French Cytometry Association on flow cytometric DNA content and S-phase fraction (S%). The Association Francaise de Cytometrie. *Cytometry.* 1996 Mar 15;26(1):32-9. Erratum in: *Cytometry* 1996 Jun 15;26(2):183.
71. Daidone MC, Veneroni S, Berini E. Biological markers as indicators of response to primary and adjuvant chemotherapy in breast cancer. *Int J Cancer.* 1999 Dec 22;84(6):580-6.
72. Daidone MG, Silvestrini R, Luisi A. Changes in biological markers after primary chemotherapy for breast cancers. *Int J Cancer.* 1995 May 4;61(3):301-5.
73. Del Bino G, Silvestrini R, Zucconi MR. DNA ploidy of human breast cancer. *Anal Cell Pathol.* 1989 Aug;1(4):215-23.
74. De Lena M, Barletta A, Marzullo F. Nuclear grade and DNA ploidy in stage IV breast cancer with only visceral metastases at initial diagnosis. *Tumori.* 1996 Jul-Aug;82(4):386-9.
75. De Placido S, De Laurentiis M, Carlomagno C. Twenty-year results of the Naples GUN randomized trial: predictive factors of adjuvant tamoxifen efficacy in early breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2003 Mar;9(3):1039-46.
76. De Lena M, Romero A, Rabinovich M. Metastatic pattern and DNA ploidy in stage IV breast cancer at initial diagnosis. Relation to response and survival. *Am J Clin Oncol.* 1993 Jun;16(3):245-9.
77. De Vita R, Calugi A, Eleuteri P. Flow cytometric nuclear DNA content of fresh and paraffin-embedded tissues of breast carcinomas and fibroadenomas. *Eur J Basic Appl Histochem.* 1991;35(3):233-44.
78. Dettmar P, Harbeck N, Thomssen C. Prognostic impact of proliferation-associated factors MIB1 (Ki-67) and S-phase in node-negative breast cancer. *Br J Cancer.* 1997;75(10):1525-33.
79. Diab SG, Elledge RM, Clark GM. Tumor characteristics and clinical outcome of elderly women with breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Apr 5;92(7):550-6. Comment in: *J Natl Cancer Inst.* 2001 Sep 19;93(18):1420-1; discussion 1421-2.
80. Dietrich B, Albe X, Vassilakos P. The prognostic value of DNA ploidy and S-phase estimate in primary breast cancer: a prospective study. *Int J Cancer.* 1995 Sep 27;63(1):49-54.
81. Dillon DA. Molecular markers in the diagnosis and staging of breast cancer. *Semin Radiat Oncol.* 2002 Oct;12(4):305-18.
82. Dodd LJ, Kerns BJ, Dodge RK. Intratumoral heterogeneity in primary breast carcinoma: study of concurrent parameters. *J Surg Oncol.* 1997 Apr;64(4):280-7; discussion 287-8.
83. Donegan WL. Tumor-related prognostic factors for breast cancer. *CA Cancer J Clin.* 1997 Jan-Feb;47(1):28-51.
84. Dowle CS, Owainati A, Robins A. Prognostic significance of the DNA content of human breast cancer. *Br J Surg.* 1987 Feb;74(2):133-6.
85. Dressler LG. DNA flow cytometry measurements as surrogate endpoints in chemoprevention trials: clinical, biological, and quality control considerations. *J Cell Biochem Suppl.* 1993;17G:212-8. Review.

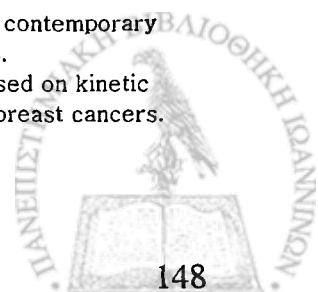


86. Dressler LG. Are DNA flow cytometry measurements providing useful information in the management of the node-negative breast cancer patient? *Cancer Invest.* 1992;10(5):477-86. Review.
87. Dressler LG, Bartow SA. DNA flow cytometry in solid tumors: practical aspects and clinical applications. *Semin Diagn Pathol.* 1989 Feb;6(1):55-82. Review.
88. Dressler LG, Seamer LC, Owens MA. DNA flow cytometry and prognostic factors in 1331 frozen breast cancer specimens. *Cancer.* 1988 Feb 1;61(3):420-7.
89. Duigou F, Herlin P, Marnay J. Variation of flow cytometric DNA measurement in 1,485 primary breast carcinomas according to guidelines for DNA histogram interpretation. *Cytometry.* 2000 Feb 15;42(1):35-42.
90. Eissa S, Khalifa A, El-Gharib A. Multivariate analysis of DNA ploidy, p53, c-erbB-2 proteins, EGFR, and steroid hormone receptors for short-term prognosis in breast cancer. *Anticancer Res.* 1997 Jul-Aug;17(4B):3091-7.
91. Eissa S, Khalifa A, El-Gharib A. Multivariate analysis of DNA ploidy, p53, c-erbB-2 proteins, EGFR, and steroid hormone receptors for prediction of poor short term prognosis in breast cancer. *Anticancer Res.* 1997 Mar-Apr;17(2B):1417-23.
92. Elledge RM, McGuire WL. Prognostic factors and therapeutic decisions in axillary node-negative breast cancer. *Annu Rev Med.* 1993;44:201-10. Review.
93. Elledge RM, McGuire WL. Prognostic factors in axillary node-negative breast cancer. *Cancer Treat Res.* 1992;61:3-19. Review.
94. Elledge RM, McGuire WL, Osborne CK. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Oncol.* 1992 Jun;19(3):244-53. Review.
95. Elzagheid A, Collan Y. Dependence of DNA-histograms on the sampling techniques in fine needle aspirates of the breast. *Anal Cell Pathol.* 2002;24(4-5):159-65.
96. Eskelinen M, Lipponen P, Papinaho S. DNA flow cytometry, nuclear morphometry, mitotic indices and steroid receptors as independent prognostic factors in female breast cancer. *Int J Cancer.* 1992 Jun 19;51(4):555-61.
97. Eskelinen MJ, Pajarinen P, Collan Y. Relationship between DNA ploidy and survival in patients with primary breast cancer. *Br J Surg.* 1989 Aug;76(8):830-4.
98. Eskelinen M, Nordling S, Puitinen J. The flow-cytometric analysis of DNA content and S-phase fraction (SPF) of human breast cancer. *Pathol Res Pract.* 1989 Nov;185(5):694-7.
99. Ewers SB, Attewell R, Baldetorp B. Prognostic significance of flow cytometric DNA analysis and estrogen receptor content in breast carcinomas--a 10 year survival study. *Breast Cancer Res Treat.* 1993;24(2):115-26.
100. Ewers SB, Attewell R, Baldetorp B. Flow cytometry DNA analysis and prediction of loco-regional recurrences after mastectomy in breast cancer. *Acta Oncol.* 1992;31(7):733-40.
101. Ewers SB, Attewell R, Baldetorp B. Prognostic potential of flow cytometric S-phase and ploidy prospectively determined in primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat.* 1992 Jan;20(2):93-108.
102. Ewers SB, Baldetorp B, Killander D. Flow cytometry DNA ploidy and number of cell populations in the primary breast cancer and their correlation to the prognosis. *Acta Oncol.* 1989;28(6):913-8.
103. Ewers SB, Langstrom E, Baldetorp B. Flow-cytometric DNA analysis in primary breast carcinomas and clinicopathological correlations. *Cytometry.* 1984 Jul;5(4):408-19.
104. Fabian CJ, Zalles C, Kamel S. Prevalence of aneuploidy, overexpressed ER, and overexpressed EGFR in random breast aspirates of women at high and low risk for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1994;30(3):263-74.
105. Fabian CJ, Zalles C, Kamel S. Biomarker and cytologic abnormalities in women at high and low risk for breast cancer. *J Cell Biochem Suppl.* 1993;17G:153-60.
106. Fallenius AG, Auer GU, Carstensen JM. Prognostic significance of DNA measurements in 409 consecutive breast cancer patients. *Cancer.* 1988 Jul 15;62(2):331-41.
107. Fallenius AG, Franzen SA, Auer GU. Predictive value of nuclear DNA content in breast cancer in relation to clinical and morphologic factors. A retrospective study of 227 consecutive cases. *Cancer.* 1988 Aug 1;62(3):521-30.
108. Faranda A, Costa A, Canova S. Image and flow cytometric analyses of DNA content in human solid tumors. A comparative study. *Anal Quant Cytol Histol.* 1997 Aug;19(4):338-44.
109. Fattorossi A, Battaglia A, Maggiano N. Laser scanning cytometry can complement the flow cytometric DNA analysis in paraffin-embedded cancer samples: a paradigmatic case. *Cytometry.* 2000 Apr 15;42(2):123-5.
110. Feichter GE, Kaufmann M, Muller A. DNA index and cell cycle analysis of primary breast cancer and synchronous axillary lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat.* 1989 Jan;13(1):17-22.
111. Feichter GE, Mueller A, Kaufmann M. Correlation of DNA flow cytometric results and other prognostic factors in primary breast cancer. *Int J Cancer.* 1988 Jun 15;41(6):823-8.
112. Fernandez Val JF, Losada J, Arregui Murua M. Cell proliferation, nuclear ploidy, and EGFR and HER2/neu tyrosine kinase oncoproteins in infiltrating ductal breast carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet.* 2002 Oct 1;138(1):69-72.

113. Fernandes J. Prognostic factors in breast cancer: pathologic features that reflect behavior. *Del Med J.* 1991 Mar;63(3):167-71. Review.
114. Ferno M, Baldetorp B, Ewers SB. One or multiple samplings for flow cytometric DNA analyses in breast cancer—prognostic implications? *Cytometry* 1992;13(3):241-9.
115. Figueroa JA, Yee D, McGuire WL. Prognostic indicators in early breast cancer. *Am J Med Sci.* 1993 Mar;305(3):176-82. Review.
116. Fisher B, Gunduz N, Costantino J. DNA flow cytometric analysis of primary operable breast cancer. Relation of ploidy and S-phase fraction to outcome of patients in NSABP B-04. *Cancer.* 1991 Oct 1;68(7):1465-75.
117. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Jul;124(7):966-78.
118. Fossa SD, Marton PF, Knudsen OS. Nuclear feulgen DNA content and nuclear size in human breast carcinoma. *Hum Pathol.* 1982 Jul;13(7):626-30.
119. Friedman NS, Freedman MD. Correlation of DNA flow cytometry and hormone receptors with axillary lymph node status in patients with carcinoma of the breast. *Md Med J.* 1994 Nov;43(11):963-5.
120. Friedrich K, Dimmer V, Haroske G. Correlation between p53 status, DNA ploidy, proliferation rate and nuclear morphology in breast cancer. An image cytometric study. *Anal Cell Pathol.* 1997;15(2):85-97.
121. Frierson HF Jr. Grade and flow cytometric analysis of ploidy for infiltrating ductal carcinomas. *Hum Pathol.* 1993 Jan;24(1):24-9.
122. Frierson HF Jr. Ploidy analysis and S-phase fraction determination by flow cytometry of invasive adenocarcinomas of the breast. *Am J Surg Pathol.* 1991 Apr;15(4):358-67. Review.
123. Gaffney EV, Halpin DP, Blakemore WS. Relationship between low estrogen receptor values and other prognostic factors in primary breast tumors. *Surgery.* 1995 Mar;117(3):241-6.
124. Galea MH, Blamey RW, Elston CW. The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1992;22:207.
125. Galea MH, Ellis IO, Elston CW. Node negative breast cancer prognosis and DNA ploidy. *Br J Surg.* 1992 Feb;79(2):181.
126. Gann PH, Collila Sa, Gapstur SM. Factors associated with axillary lymph node metastasis from breast carcinoma: descriptive and predictive analyses. *Cancer.* 1999 Oct 15;86(8):1511-9.
127. Gasparini G, Meli S, Panizzoni GA. Peritumoral lymphatic vessel invasion compared with DNA ploidy, proliferative activity, and other pathologic features as prognostic indicators in operable breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1992 Mar;20(3):195-204.
128. Geleick D, Muller H, Matter A. Cytogenetics of breast cancer. *Cancer Genet Cytogenet.* 1990 Jun;46(2):217-29.
129. Ghali VS, Liau S, Teplitz C. A comparative study of DNA ploidy in 115 fresh-frozen breast carcinomas by image analysis versus flow cytometry. *Cancer.* 1992 Dec 1;70(11):2668-72.
130. Gilchrist KW, Gray R, Van Driel-Kulker AM. High DNA content and prognosis in lymph node positive breast cancer. A case control study by the University of Leiden and ECOG. (Eastern Cooperative Oncology Group). *Breast Cancer Res Treat.* 1993 Oct;28(1):1-8.
131. Gonchoroff NJ, Ryan JJ, Kimlinger TK. Effect of sonication on paraffin-embedded tissue preparation for DNA flow cytometry. *Cytometry.* 1990;11(5):642-6.
132. Gonzalez-Vela MC, Garijo MF, Fernandez FA. Predictors of axillary lymph node metastases in patients with invasive breast carcinoma by a combination of classical and biological prognostic factors. *Pathol Res Pract.* 1999;195(9):611-8.
133. Goud TM, Dwarakanath BS, Augustus M. Flow cytometry of breast tumors. Relevance to clinicopathology and survival. *Anal Quant Cytol Histol.* 1995 Aug;17(4):265-71.
134. Guarnieri A, Neri A, Correale PP. Prediction of lymph node status by analysis of prognostic factors and possible indications for elective axillary dissection in T1 breast cancers. *Eur J Surg.* 2001 Apr;167(4):255-9.
135. Gunther T, Schneider-Stock R, Rys J. p53 gene mutations and expression of p53 and mdm2 proteins in invasive breast carcinoma. A comparative analysis with clinico-pathological factors. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1997;123(7):388-94.
136. Jager JJ, Volovics L, Schouthern LJ. Loco-regional recurrences after mastectomy in breast cancer: prognostic factors and implications for postoperative irradiation. *Radiother Oncol.* 1999 Mar;50(3):267-75.
137. Haffty BG, Toth M, Flynn S. Prognostic value of DNA flow cytometry in the locally recurrent, conservatively treated breast cancer patient. *J Clin Oncol.* 1992 Dec;10(12):1839-47.
138. Haghbin M, McCue PA, Mansfield CM. Correlation of flow cytometry to clinical factors, hormone receptors, and histopathological grade in stage I and II invasive breast carcinoma. *Am J Clin Oncol.* 1996 Feb;19(1):54-8.
139. Harbeck N, Schuren E, Yamamoto N. DNA flow cytometric analysis in primary breast cancer. S-phase and ploidy status as prognostic factors and their correlation to tumor-associated proteolytic factors. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch.* 1993;33 Suppl 1:303-4.
140. Haroske G, Dimmer V, Meyer W. DNA histogram interpretation based on statistical approaches. *Anal Cell Pathol.* 1997;15(3):157-73.

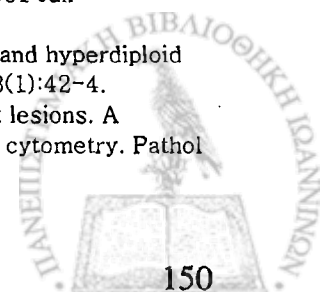
141. Harvey JM, Sterrett GF, Berryman IL. Nuclear DNA content of human breast carcinoma: a comparison of results obtained by microspectrophotometry and flow cytometry of paraffin embedded tissue. *Pathology*. 1993 Jul;25(3):261-7.
142. Harvey JM, de Klerk NH, Sterrett GF. Histological grading in breast cancer: interobserver agreement, and relation to other prognostic factors including ploidy. *Pathology*. 1992 Apr;24(2):63-8.
143. Harvey J, de Klerk N, Berryman I. Nuclear DNA content and prognosis in human breast cancer: a static cytophotometric study. *Breast Cancer Res Treat*. 1987;9(2):101-9.
144. Hedley DW, Clark GM, Cornelisse CJ. DNA Cytometry Consensus Conference. Consensus review of the clinical utility of DNA cytometry in carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat*. 1993 Oct;28(1):55-9.
145. Hedley DW, Clark GM, Cornelisse CJ. Consensus review of the clinical utility of DNA cytometry in carcinoma of the breast. Report of the DNA Cytometry Consensus Conference. *Cytometry*. 1993;14(5):482-5. Review.
146. Hedley DW, Rugg CA, Gelber RD. Association of DNA index and S-phase fraction with prognosis of nodes positive early breast cancer. *Cancer Res*. 1987 Sep 1;47(17):4729-35.
147. Hedley DW, Rugg CA, Ng AB. Influence of cellular DNA content on disease-free survival of Stage II breast cancer patients. *Cancer Res*. 1984 Nov;44(11):5395-8.
148. Hietanen P, Blomqvist C, Wasenius VM. Do DNA ploidy and S-phase fraction in primary tumour predict the response to chemotherapy in metastatic breast cancer? *Br J Cancer*. 1995 May;71(5):1029-32.
149. Hitchcock A, Ellis IO, Robertson JF. An observation of DNA ploidy, histological grade, and immunoreactivity for tumour-related antigens in primary and metastatic breast carcinoma. *J Pathol*. 1989 Oct;159(2):129-34
150. Honkoop AH, Pinedo HM, De Jong JS. Effects of chemotherapy on pathologic and biologic characteristics of locally advanced breast cancer. *Am J Clin Pathol*. 1997 Feb;107(2):211-8.
151. Horsfall DJ, Tilley WD, Orell SR. Relationship between ploidy and steroid hormone receptors in primary invasive breast cancer. *Br J Cancer*. 1986 Jan;53(1):23-8.
152. Hupperets PS, Schutte B, Van Assche C. Ploidy and S-phase fractions (SPF) of primary breast cancers and their nodal metastases. *Breast Cancer Res Treat*. 1994;32(2):197-202.
153. Hurwitz M, Sawicki M, Samara G. Diagnostic and prognostic molecular markers in cancer. *Am J Surg*. 1992 Sep;164(3):299-306. Review.
154. Jakobsen A, Poulsen HS, Madsen EL. Ploidy level of human breast carcinoma. Relation to histopathologic features and hormone receptor content. *Acta Radiol Oncol*. 1984;23(2-3):103-7.
155. Joensuu H, Alanen K, Falkmer UG. Effect of DNA ploidy classification on prognosis in breast cancer. *Int J Cancer*. 1992 Nov 11;52(5):701-6.
156. Johnson H Jr, Masood S, Belluco C. Prognostic factors in node-negative breast cancer. *Arch Surg*. 1992 Dec;127(12):1386-91.
157. Jotti GS. New prognostic indicators in resectable breast cancer (review). *Anticancer Res*. 1989 Jul-Aug;9(4):1227-32. Review.
158. Jourdan ML, Ferrero-Pous M, Spyrtos F. Flow cytometric S-phase fraction measurement in breast carcinoma: Influence of software and histogram resolution. *Cytometry*. 2002 Jun 1;48(2):66-70.
159. Ioakim-Liossi A, Karakitsos P, Markopoulos C. DNA content and p53 protein expression in ductal breast cancer. *Cytopathology* 1997 Oct;8(5):322-7.
160. Ioakim-Liossi A, Karakitsos P, Aroni K. DNA ploidy and pS2 protein expression in breast cancer. *Cytopathology*. 1997 Jun;8(3):171-6.
161. Ioakim-Liossi A, Karakitsos P, Markopoulos C. DNA ploidy and vimentin expression in primary breast cancer. *Cytopathology*. 1995 Oct;6(5):325-30.
162. Kallioniemi OP, Joensuu H, Klemi P. Inter-laboratory comparison of DNA flow cytometric results from paraffin-embedded breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat*. 1990 Nov;17(1):59-61.
163. Kallioniemi OP. Comparison of fresh and paraffin-embedded tissue as starting material for DNA flow cytometry and evaluation of intratumor heterogeneity. *Cytometry*. 1988 Mar;9(2):164-9.
164. Kallioniemi OP, Karkkainen A, Auvinen O. DNA flow cytometric analysis indicates that many breast cancers detected in the first round of mammographic screening have a low malignant potential. *Int J Cancer*. 1988 Nov 15;42(5):697-702.
165. Kallioniemi OP, Blanco G, Alavaikko M. Tumour DNA ploidy as an independent prognostic factor in breast cancer. *Br J Cancer*. 1987 Nov;56(5):637-42.
166. Kang HS, Youn YK, Oh SK. Flow cytometric analysis of primary tumors and their corresponding metastatic nodes in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2000 Sep;63(1):81-7.
167. Keyhani-Rofagha S, O'Toole RV, Farrar WB. Is DNA ploidy an independent prognostic indicator in infiltrative node-negative breast adenocarcinoma? *Cancer*. 1990 Apr 1;65(7):1577-82.
168. Klorin G, Keren R. Prognostic evaluation of breast cancer in cytologic specimens. *Anal Quant Cytol Histol*. 2002 Feb;24(1):49-53.
169. Kristen P, Kaesemann H, Rempen A. DNA image cytometry in breast cancer: comparison with other prognostic criteria *Gynakol Rundsch*. 1991;31 Suppl 2:302-4.

170. Kute TE, Muss HB, Hopkins M. Relationship of flow cytometry results to clinical and steroid receptor status in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1985;6(2):113-21.
171. Lawry J, Rogers K, Duncan JL. The identification of informative parameters in the flow cytometric analysis of breast carcinoma. *Eur J Cancer.* 1993;29A(5):719-23.
172. Lee AK, Wiley B, Dugan JM. Quantitative DNA analysis and proliferation in breast carcinomas. A comparison between image analysis and flow cytometry. *Pathol Res Pract.* 1992 Jun;188(4-5):428-32.
173. Lee AK, Dugan J, Hamilton WM. Quantitative DNA analysis in breast carcinomas: a comparison between image analysis and flow cytometry. *Mod Pathol.* 1991 Mar;4(2):178-82.
174. Leers MP, Nap M. Steroid receptor heterogeneity in relation to DNA index in breast cancer: a multiparameter flow cytometric approach on paraffin-embedded tumor samples *Breast J.* 2001 Jul-Aug;7(4):249-59. Comment in: *Breast J.* 2001 Jul-Aug;7(4):205-6.
175. Leers MP, Schutte B, Theunissen PH A novel flow cytometric steroid hormone receptor assay for paraffin-embedded breast carcinomas: an objective quantification of the steroid hormone receptors and direct correlation to ploidy status and proliferative capacity in a single-tube assay. *Hum Pathol.* 2000 May;31(5):584-92.
176. Leivonen M, Krogerous L, Nordling S. DNA analysis in advanced breast cancer. *Cancer Detect Prev.* 1994;18(2):87-96.
177. Leonardi E, Cristofori A, Caffo O. Cytometric DNA analysis and prognostic biomarkers in breast carcinoma. Expression of P53 product in the different ploidy classes. *Anal Cell Pathol.* 1997;15(1):31-45.
178. Lewis WE. Prognostic significance of flow cytometric DNA analysis in node-negative breast cancer patients. *Cancer.* 1990 May 15;65(10):2315-20.
179. Ljung BM, Mayall B, Lottich C. Cell dissociation techniques in human breast cancer--variations in tumor cell viability and DNA ploidy. *Breast Cancer Res Treat.* 1989 Mar;13(2):153-9.
180. Lipponen P, Papinaho S, Eskelinen M. DNA ploidy, S-phase fraction and mitotic indices as prognostic predictors of female breast cancer. *Anticancer Res.* 1992 Sep-Oct;12(5):1533-8.
181. Longin A, Fontaniere B, Pinzani V. An image cytometric DNA-analysis in breast neoplasms. Parameters of DNA-aneuploidy and their relationship with conventional prognostic factors. *Pathol Res Pract.* 1992 Jun;188(4-5):466-72.
182. Lo SS, Wang HC, Shyr YM. DNA flow cytometric analysis of primary breast cancer in Chinese women: the relationship of DNA aneuploidy to clinical characteristics. *Eur J Surg Oncol.* 1994 Oct;20(5):553-6.
183. Luzzi P, Burni A, Mangiacavchi P. Ploidy pattern and cell cycle in breast cancer as detected by image analysis and flow cytometry. *Cytometry.* 1994 Jun 15;18(2):79-87.
184. Lykkesfeldt AE, Balslev I, Christensen IJ. DNA ploidy and S-phase fraction in primary breast carcinomas in relation to prognostic factors and survival for premenopausal patients at high risk for recurrent disease. *Acta Oncol.* 1988;27(6A):749-56.
185. Machado-Santelli GM, Mori L, Pereira CA. Prediction of relapse in patients with breast cancer by DNA cytometry. *Anal Cell Pathol.* 1994 Dec;7(4):321-34.
186. Makris A, Powles TJ, Allred DC. Quantitative changes in cytological molecular markers during primary medical treatment of breast cancer: a pilot study. *Breast Cancer Res Treat.* 1999 Jan;53(1):51-9.
187. Makris A, Powles TJ, Dowsett M. Prediction of response to neoadjuvant chemoendocrine therapy in primary breast carcinomas. *Clin Cancer Res.* 1997 Apr;3(4):593-600.
188. Mandard AM, Denoux Y, Herlin P. Prognostic value of DNA cytometry in 281 premenopausal patients with lymph node negative breast carcinoma randomized in a control trial: multivariate analysis with Ki-67 index, mitotic count, and microvessel density. *Cancer.* 2000 Oct 15;89(8):1748-57.
189. Mansour EG. The value of prognostic factors in selecting node-negative breast cancer patients for adjuvant therapy. *J Surg Oncol.* 1992 Feb;49(2):73-5.
190. Masters JR, Camplejohn RS, Millis RR. Histological grade, elastosis, DNA ploidy and the response to chemotherapy of breast cancer. *Br J Cancer.* 1987 Apr;55(4):455-7.
191. Martinez-Arribas F, Nunez MJ, Piqueras V, Lucas AR, Sanchez J, Tejerina A, Schneider J. Flow cytometry vs. Ki67 labelling index in breast cancer: a prospective evaluation of 181 cases. *Anticancer Res.* 2002 Jan-Feb;22(1A):295-8.
192. Masood S. Assessment of prognostic factors in breast fine-needle aspirates. *Am J Clin Pathol.* 2000 May;113(5 Suppl 1):S84-96.
193. Masood S, Bui MM, Lu L. Comparison of proliferation activity in breast carcinoma by flow cytometry analysis of S-phase and quantitative analysis of MIB-1. *Ann Clin Lab Sci.* 1998 Nov-Dec;28(6):315-23.
194. Masood S. Prediction of recurrence for advanced breast cancer. Traditional and contemporary pathologic and molecular markers. *Surg Oncol Clin N Am.* 1995 Oct;4(4):601-32.
195. McDivitt RW, Stone KR, Craig RB. A proposed classification of breast cancer based on kinetic information: derived from a comparison of risk factors in 168 primary operable breast cancers. *Cancer.* 1986 Jan 15;57(2):269-76.



196. McGuire WL, Tandon AK, Allred DC. Prognosis and treatment decisions in patients with breast cancer without axillary node involvement. *Cancer*. 1992 Sep 15;70(6 Suppl):1775-81.
197. McGuire WL, Dressler LG. Emerging impact of flow cytometry in predicting recurrence and survival in breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*. 1985 Sep;75(3):405-10.
198. Megyesi J, Udvarhelyi N, Sugar J. DNA distribution pattern and comparison of quantitative data in breast tumours. *Arch Geschwulstforsch*. 1990;60(3):217-22.
199. Merkel DE, Winchester DJ, Goldschmidt RA. DNA flow cytometry and pathologic grading as prognostic guides in axillary lymph node-negative breast cancer. *Cancer*. 1993 Sep 15;72(6):1926-32.
200. Merkel DE. S-phase fraction in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 1991 Jun;9(6):1091-2.
201. Meyer JS, Province MA. S-phase fraction and nuclear size in long term prognosis of patients with breast cancer. *Cancer*. 1994 Oct 15;74(8):2287-99.
202. Meyer JS, Coplin MD. Thymidine labeling index, flow cytometric S-phase measurement, and DNA index in human tumors. Comparisons and correlations. *Am J Clin Pathol*. 1988 May;89(5):586-95.
203. Michels JJ, Duigou F, Marnay J. Flow cytometry in primary breast carcinomas. Prognostic impact of proliferative activity. *Breast Cancer Res Treat*. 2000 Jul;62(2):117-26.
204. Midulla C, Cencri M, De Iorio P. DNA ploidy and TLI in association with other prognostic parameters in breast cancer. *Anticancer Res*. 1999 Jan-Feb;19(1A):381-4.
205. Midulla C, De Iorio P, Nagar C. Immunohistochemical expression of p53, nm23-H1, Ki67 and DNA ploidy: correlation with lymph node status and other clinical pathologic parameters in breast cancer. *Anticancer Res*. 1999 Sep-Oct;19(5B):4033-7.
206. Miller WR. Prognostic factors in breast cancer. *Br J Cancer*. 1992 Nov;66(5):775-6.
207. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G. Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg*. 2002 Jan;235(1):10-26.
208. Mitra I, MacRae KD. A meta-analysis of reported correlations between prognostic factors in breast cancer: does axillary lymph node metastasis represent biology or chronology? *Eur J Cancer*. 1991;27(12):1574-83.
209. Moran RE, Black MM, Alpert L. Correlation of cell-cycle kinetics, hormone receptors, histopathology, and nodal status in human breast cancer. *Cancer*. 1984 Oct 15;54(8):1586-90.
210. Muss HB, Kute TE, Case LD. The relation of flow cytometry to clinical and biologic characteristics in women with node negative primary breast cancer. *Cancer*. 1989 Nov 1;64(9):1894-900.
211. Myc A, Traganos F, Lara J. DNA stainability in aneuploid breast tumors: comparison of four DNA fluorochromes differing in binding properties. *Cytometry*. 1992;13(4):389-94.
212. Naldi N, Bozzetti C, Nizzoli R. Ki67 index and S-phase fraction on fine-needle aspirates from breast carcinomas. *Eur J Histochem*. 1997;41 Suppl 2:79-80.
213. Narita M, Nakao K, Ogino N. Independent prognostic factors in breast cancer patients. *Am J Surg*. 1998 Jan;175(1):73-5.
214. Noguchi M, Ohta N, Thomas M. A retrospective study on the clinical and biological prediction of axillary lymph node metastasis in breast cancer. *Surg Today*. 1993;23(7):573-9.
215. Noguchi M, Ohta N, Thomas M. Clinical and biological prediction of axillary and internal mammary lymph node metastases in breast cancer. *Surg Oncol*. 1993;2(1):51-8.
216. Noguchi M, Ohta N, Koyasaki N. The relationship between lymph node metastases and DNA-ploidy status as prognostic factors in invasive breast cancer. *Surg Today*. 1992;22(3):213-20.
217. Noguchi M, Taniya T, Ohta N. Lymph node metastases versus DNA ploidy as prognostic factors for invasive ductal carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat*. 1991 Sep;19(1):23-31.
218. Norden T, Lindgren A, Bergstrom R. Defining a high mortality risk group among women with primary breast cancer. *Br J Cancer*. 1994 Mar;69(3):520-4. Erratum in: *Br J Cancer* 1995 Aug;72(2):519.
219. Olszewski W, Darzynkiewicz Z, Rosen PP. Flow cytometry of breast carcinoma: II. Relation of tumor cell cycle distribution to histology and estrogen receptor. *Cancer*. 1981 Aug 15;48(4):985-8.
220. Olszewski W, Darzynkiewicz Z, Rosen PP. Flow cytometry of breast carcinoma: I. Relation of DNA ploidy level to histology and estrogen receptor. *Cancer*. 1981 Aug 15;48(4):980-4.
221. Opfermann M, Brugal G, Vassilakos P. Cytometry of breast carcinoma: significance of ploidy balance and proliferation index. *Cytometry*. 1987 Mar;8(2):217-24.
222. O'Reilly SM, Camplejohn RS, Barnes DM. DNA index, S-phase fraction, histological grade and prognosis in breast cancer. *Br J Cancer*. 1990 May;61(5):671-4.
223. Osborne CK. Cell proliferative indices and DNA content as prognostic factors in primary breast cancer. *Horm Res*. 1989;32 Suppl 1:238-41.
224. Osborne CK. DNA flow cytometry in early breast cancer: a step in the right direction. *J Natl Cancer Inst*. 1989 Sep 20;81(18):1344-5.
225. Ostrowski ML, Pindur J, Laucirica R. Proliferative activity in invasive breast carcinoma: a comprehensive comparison of MIB-1 immunocytochemical staining in aspiration biopsies to image analytic, flow cytometric and histologic parameters. *Acta Cytol*. 2001 Nov-Dec;45(6):965-72.

226. Ottesen GL, Christensen IJ, Larsen J Carcinoma in situ of the breast: correlation of histopathology to immunohistochemical markers and DNA ploidy. *Breast Cancer Res Treat.* 2000 Apr;60(3):219-26.
227. Ottesen GL, Christensen IJ, Larsen JK. DNA ploidy analysis in breast carcinoma. Comparison of unfixed and fixed tissue analyzed by image and flow cytometry. *Anal Quant Cytol Histol.* 1997 Oct;19(5):413-22.
228. Ottesen GL, Christensen IJ, Larsen JK. Flow cytometric DNA analysis of breast cancers with predominance of carcinoma in situ: a comparison of the premalignant and malignant components. *Clin Cancer Res.* 1995 Aug;1(8):881-8.
229. Ottesen GL, Christensen IJ, Larsen JK. DNA aneuploidy in early breast cancer. *Br J Cancer.* 1995 Oct;72(4):832-9.
230. Pedersen L, Larsen JK, Christensen IJ. DNA ploidy and S-phase fraction in medullary carcinoma of the breast--a flow cytometric analysis using archival material. *Breast Cancer Res Treat.* 1994;29(3):297-306.
231. Ottestad L, Pettersen EO, Nesland JM. Flow cytometric DNA analysis as prognostic factor in human breast carcinoma. *Pathol Res Pract.* 1993 May;189(4):405-10.
232. Peiro G, Lerma E, Climent MA. Prognostic value of S-phase fraction in lymph-node-negative breast cancer by image and flow cytometric analysis. *Mod Pathol.* 1997 Mar;10(3):216-22.
233. Pfisterer J, Kommos F, Sauerbrei W. DNA flow cytometry in node-positive breast cancer. Prognostic value and correlation with morphologic and clinical factors. *Anal Quant Cytol Histol.* 1995 Dec;17(6):406-12.
234. Pinto AE, Andre S, Mendonca E Overall survival in advanced breast cancer: relevance of progesterone receptor expression and DNA ploidy in fine-needle aspirates of 392 patients. *Int J Biol Markers.* 2003 Jan-Mar;18(1):7-12.
235. Pinto AE, Mendonca E, Andre S Independent prognostic value of hormone receptor expression and S-phase fraction in advanced breast cancer. *Anal Quant Cytol Histol.* 2002 Dec;24(6):345-54.
236. Pinto AE, Andre S, Pereira T Prognostic comparative study of S-phase fraction and Ki-67 index in breast carcinoma. *J Clin Pathol.* 2001 Jul;54(7):543-9.
237. Pinto AE, Andre S, Nogueira M. Flow cytometric DNA hypertetraploidy is associated with unfavourable prognostic features in breast cancer. *J Clin Pathol.* 1997 Jul;50(7):591-5.
238. Querzoli P, Albonico G, Ferretti S. MIB-1 proliferative activity in invasive breast cancer measured by image analysis. *J Clin Pathol.* 1996 Nov;49(11):926-30.
239. Ravaoli A, Bagli L, Zucchini A. Prognosis and prediction of response in breast cancer: the current role of the main biological markers. *Cell Prolif.* 1998 Jun-Aug;31(3-4):113-26.
240. Railo M, Lundin J, Haglund C. Ki-67, p53, Er-receptors, ploidy and S-phase as prognostic factors in T1 node negative breast cancer. *Acta Oncol.* 1997;36(4):369-74.
241. Redkar AA, Balsara BR, Bhisey AN. DNA analysis of breast cancer by flow cytometry & correlation with other prognostic parameters. *Indian J Med Res.* 1992 Aug;96:223-9.
242. Remvikos Y, Magdalenat H, Dutrillaux B. Genetic evolution of breast cancers. III: Age-dependent variations in the correlations between biological indicators of prognosis. *Breast Cancer Res Treat.* 1995 Apr;34(1):25-33.
243. Remvikos Y, Gerbault-Seureau M, Magdalenat H. Proliferative activity of breast cancers increases in the course of genetic evolution as defined by cytogenetic analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 1992;23(1-2):43-9.
244. Remvikos Y, Beuzeboc P, Zajdela A. Correlation of pretreatment proliferative activity of breast cancer with the response to cytotoxic chemotherapy. *J Natl Cancer Inst.* 1989 Sep 20;81(18):1383-7.
245. Risberg B, Baldetorp B, Ferno M. Inter-institutional reproducibility of flow cytometric DNA-analysis in breast carcinomas. *Anal Cell Pathol.* 1994 Jan;6(1):23-36.
246. Robertson JF, Ellis IO, Pearson D. Biological factors of prognostic significance in locally advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1994;29(3):259-64.
247. Romero H, Schneider J, Burgos J. S-phase fraction identifies high-risk subgroups among DNA-diploid breast cancers. *Breast Cancer Res Treat.* 1996;38(3):265-75.
248. Rosner D, Lane WW. Should all patients with node-negative breast cancer receive adjuvant therapy? Identifying additional subsets of low-risk patients who are highly curable by surgery alone. *Cancer.* 1991 Oct 1;68(7):1482-94.
249. Rudolf P, Ollson H, Bonatz G. Correlation between p53, c-erbB-2, and topoisomerase II alpha expression, DNA ploidy, hormonal receptor status and proliferation in 356 node-negative breast carcinomas: prognostic implications. *J Pathol.* 1999 Jan;187(2):207-16.
250. Ruibal A, Arias JI, Del Rio MC, Lapena G Histological grade in breast cancer: association with clinical and biological features in a series of 229 patients. *Int J Biol Markers.* 2001 Jan-Mar;16(1):56-61.
251. Ruibal A, Nunez MI, Arias J. Clinical and biological differences between diploid and hyperdiploid infiltrating ductal carcinomas of the breast. *Int J Biol Markers.* 1998 Jan-Mar;13(1):42-4.
252. Ruiz A, Almenar S, Callaghan RC Benign, preinvasive and invasive ductal breast lesions. A comparative study with quantitative techniques: morphometry, image- and flow cytometry. *Pathol Res Pract.* 1999;195(11):741-6.





253. Rzymowska J, Skierski J, Kurylsio L. DNA index as prognostic factor in breast cancer. *Neoplasma*. 1995;42(5):239-42.
254. Sachouten LJ, Hupperets PS, Jager JJ. Prognostic significance of etiological risk factors in early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1997 May;43(3):217-23.
255. Saez RA, McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Surg Oncol*. 1989;5(2):102-10. Review.
256. Sarker SK, Mendiola R, Spigelman A. DNA ploidy on cytologic and tissue sections of breast lumps. A comparison using image analysis. *Anal Quant Cytol Histol*. 1996 Feb;18(1):19-22.
257. Schmidt H, Wei JP, Yeh KA. Predictive value of flow cytometry for metastatic potential in breast cancer. *Am Surg*. 1999 May;65(5):434-8.
258. Schimmelpenning H, Eriksson ET, Franzen B. Prognostic value of the combined assessment of proliferating cell nuclear antigen immunostaining and nuclear DNA content in invasive human mammary carcinomas. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1993;423(4):273-9.
259. Schvimer M, Lash RH, Katzin WE. Intratumoral heterogeneity of DNA ploidy in breast carcinomas: a flow cytometric assessment of sampling techniques. *Cytometry*. 1995 Dec 15;22(4):292-6.
260. Schultz DS, Zarbo RJ. Comparison of eight modifications of Hedley's method for flow cytometric DNA ploidy analysis of paraffin-embedded tissue. *Am J Clin Pathol*. 1992 Sep;98(3):291-5.
261. Seymour L, Bezwoda WR, Meyer K. Response to second-line hormone treatment for advanced breast cancer. Predictive value of ploidy determination. *Cancer*. 1990 Jun 15;65(12):2720-4.
262. Sharma S, Mishra MC, Kapur BM. The prognostic significance of ploidy analysis in operable breast cancer. *Cancer*. 1991 Dec 15;68(12):2612-6.
263. Sickie-Santanello BJ, Farrar WB, DeCenzo JF. Technical and statistical improvements for flow cytometric DNA analysis of paraffin-embedded tissue. *Cytometry*. 1988 Nov;9(6):594-9.
264. Sigurdsson H, Baldetorp B, Borg A. Indicators of prognosis in node-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 1990 Apr 12;322(15):1045-53.
265. Siitonen SM, Kallionemi OP, Helin HJ. Prognostic value of cells with more than 5c DNA content in node-negative breast cancer as determined by image cytometry from tissue sections. *Hum Pathol*. 1993 Dec;24(12):1348-53.
266. Silverstrini R. Quality control for evaluation of the S-phase fraction by flow cytometry: a multicentric study. The SICCAB Group for Quality Control of Cell Kinetic Determinations. *Cytometry*. 1994 Mar 15;18(1):11-6.
267. Silvestrini R, Daidone MG, Del Bino G. Prognostic significance of proliferative activity and ploidy in node-negative breast cancers. *Ann Oncol*. 1993 Mar;4(3):213-9.
268. Sinn HP, Haag D, Ehemann V. DNA cytometry in breast carcinoma. Review of method and value in assessing prognosis. *Pathologe*. 1997 Jan;18(1):19-26.
269. Smith CA, Pollice AA, Gu LP. Correlations among p53, Her-2/neu, and ras overexpression and aneuploidy by multiparameter flow cytometry in human breast cancer: evidence for a common phenotypic evolutionary pattern in infiltrating ductal carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2000 Jan;6(1):112-26.
270. Smith FB, Zappi ME. Relationships between image cytometric DNA index, proliferation fraction and multiploidy and conventional nuclear grade in breast carcinoma. *Mod Pathol*. 1993 Sep;6(5):606-11.
271. Spiethoff A, Schenck A, Bohrer M. Relationship of DNA ploidy to hormone receptor status and proliferation in invasive breast carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2000 Dec;126(12):707-10.
272. Spyrtos F, Briffod M. DNA ploidy and S-phase fraction by image and flow cytometry in breast cancer fine-needle cytopunctures. *Mod Pathol*. 1997 Jun;10(6):556-63.
273. Spyrtos F, Briffod M, Gentile A. Flow cytometric study of DNA distribution in cytopunctures of benign and malignant breast lesions. *Anal Quant Cytol Histol*. 1987 Dec;9(6):485-94.
274. Stal O, Skoog L, Rutqvist LE. S-phase fraction and survival benefit from adjuvant chemotherapy or radiotherapy of breast cancer. *Br J Cancer*. 1994 Dec;70(6):1258-62.
275. Stal O, Carstensen JM, Wingren S. Relationship of DNA ploidy and S-phase fraction to survival after first recurrence of breast cancer. *Acta Oncol*. 1994;33(4):423-9.
276. Stal O, Dufmats M, Hatschek T. S-phase fraction is a prognostic factor in stage I breast carcinoma. *J Clin Oncol*. 1993 Sep;11(9):1717-22.
277. Stal O, Brisfors A, Carstensen J. Relationships of DNA ploidy, S-phase fraction and hormone receptor status to tumor stage in breast cancers detected by population screening. The South-East Sweden Breast Cancer Group. *Int J Cancer*. 1992 Apr 22;51(1):28-33.
278. Stal O, Wingren S, Carstensen J. Prognostic value of DNA ploidy and S-phase fraction in relation to estrogen receptor content and clinicopathological variables in primary breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1989 Feb;25(2):301-9.
279. Stanton PD, Cooke TG, Oakes SJ. Lack of prognostic significance of DNA ploidy and S phase fraction in breast cancer. *Br J Cancer*. 1992 Nov;66(5):925-9.
280. Stenmark-Askmal M, Gentile M, Wingren. Protein accumulation and gene mutation of p53 in bilateral breast cancer. South-East Sweden Breast Cancer Group. *Acta Oncol*. 2001;40(1):56-62.
281. Stomper PC, DeBloom JR 2nd, Winston JS. Flow cytometric DNA analysis of specimen mammography-guided fine-needle aspirates of ductal carcinoma in situ. *Exp Clin Cancer Res*. 2000 Sep;19(3):309-15.

282. Stuart-Harris R, Hedley DW, Taylor IW. Tumour ploidy, response and survival in patients receiving endocrine therapy for advanced breast cancer. *Br J Cancer*. 1985 Apr;51(4):573-6
283. Suehiro S, Hamada Y, Toi M. Nuclear DNA content in breast carcinoma with special reference to the parameters of malignant potentiality. *Jpn J Surg*. 1990 Jan;20(1):115-8.
284. Sundquist M, Thorstenson S, Brudin L A comparison between flow cytometric assessment of S-phase fraction and Nottingham histologic grade as prognostic instruments in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2000 Sep;63(1):11-5.
285. Susnik B, Poulin N, Phillips D. Comparison of DNA measurement performed by flow and image cytometry of embedded breast tissue sections. *Anal Quant Cytol Histol*. 1995 Jun;17(3):163-71.
286. Suzuki M, Oshida M, Nagashima T Quantitative morphometric analysis of fine needle aspirates of breast carcinoma. *Breast Cancer*. 2001;8(2):138-45.
287. Suzuki H, Koike H. Prognostic significance of DNA ploidy and proliferative index in breast carcinoma. *Arch Surg*. 1988 Jun;123(6):783.
288. Tagawa Y, Nakazaki T, Yasutake T. Comparison of pepsin and trypsin digestion on paraffin-embedded tissue preparation for DNA flow cytometry. *Cytometry*. 1993;14(5):541-9.
289. Taylor SR, Zachariah S, Chakraborty S. Ploidy studies by image analysis on fine needle aspirates of the breast. *Acta Cytol*. 1993 Nov-Dec;37(6):923-8.
290. Taylor IW, Musgrove EA, Friedlander ML. The influence of age on the DNA ploidy levels of breast tumours. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1983 May;19(5):623-8.
291. Theissig F, Dimmer V, Haroske G. Use of nuclear image cytometry, histopathological grading and DNA cytometry to make breast cancer prognosis more objective. *Anal Cell Pathol*. 1991 Nov;3(6):351-60.
292. Thorud E, Fossa SD, Vaage S. Primary breast cancer. Flow cytometric DNA pattern in relation to clinical and histopathologic characteristics. *Cancer*. 1986 Feb 15;57(4):808-11.
293. Thunnissen FB, Ellis IO, Jutting U. Quality assurance in DNA image analysis on diploid cells. *Cytometry*. 1997 Jan 1;27(1):21-5.
294. Toikkanen SP, Kujari HP, Joensuu H. Factors predicting late mortality from breast cancer. *Eur J Cancer*. 1991;27(5):586-91.
295. Toikkanen S, Joensuu H, Klemi P. Nuclear DNA content as a prognostic factor in T1-2N0 breast cancer. *Am J Clin Pathol*. 1990 Apr;93(4):471-9.
296. Toikkanen S, Joensuu H, Klemi P. The prognostic significance of nuclear DNA content in invasive breast cancer--a study with long-term follow-up. *Br J Cancer*. 1989 Nov;60(5):693-700.
297. Tolentino RS, Ang SD, Cajacom CC The prognostic significance of the S-phase fraction and DNCA ploidy in node-negative estrogen receptor-positive breast cancer. *Philipp J Surg Spec*. 1998 Jan-Mar;53(1):25-30.
298. Troncoso P, Dytch HE, Bibbo M. The significance of DNA measurements in a histologically defined subset of infiltrating ductal carcinomas of the breast with long-term follow-up. *Anal Quant Cytol Histol*. 1989 Jun;11(3):166-72.
299. Truong K, Vielh P, Malfoy B. Fluorescence-based analysis of DNA ploidy and cell proliferation within fine-needle samplings of breast tumors: a new approach using automated image cytometry. *Cancer*. 1998 Oct 25;84(5):309-16.
300. Tsuchiya A, Nihei M, Ando Y. The relationship of estrogen receptor status to DNA ploidy in breast cancer. *Surg Today*. 1992;22(2):105-9.
301. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S Histological classification of invasive ductal carcinoma and the biological parameters in breast cancer. *Breast Cancer*. 2003;10(2):149-52.
302. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S Prognostic significance of the combination of biological parameters in breast cancer. *Surg Today*. 2003;33(2):151-4.
303. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S. DNA aneuploidy in relation to the combination of analysis of estrogen receptor, progesterone receptor, p53 protein and epidermal growth factor receptor in 498 breast cancers. *Oncology*. 2002;63(1):48-55.
304. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S Flow cytometric analysis of DNA ploidy in primary, metastatic and recurrent breast cancers. *Oncol Rep*. 2002 Jul-Aug;9(4):793-9.
305. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S Prognostic value of DNA ploidy in 653 Japanese women with node-negative breast cancer. *Int J Clin Oncol*. 2001 Aug;6(4):177-82.
306. Uytterlinde AM, Smeulders AW, Baak JP. Reproducibility and comparison of quantitative DNA histogram features obtained with a scanning microdensitometer and a flow cytometer in breast cancers. *Anal Quant Cytol Histol*. 1989 Oct;11(5):353-60.
307. Uytterlinde AM, Schipper NW, Baak JP. Comparison of extent of disease and morphometric and DNA flow cytometric prognostic factors in invasive ductal breast cancer. *J Clin Pathol*. 1987 Dec;40(12):1432-6.
308. Uzarevic B, Petroveckii M, Marusic M. Prognostic significance of cell cycle parameters in infiltrative ductal breast carcinoma. *J Clin Lab Anal*. 1998;12(3):131-6.
309. Van der Linden JC, Lindeman J, Baak JP. The Multivariate Prognostic Index and nuclear DNA content are independent prognostic factors in primary breast cancer patients. *Cytometry*. 1989 Jan;10(1):56-61.
310. Velanovich V. Biologic tumor markers, lymph node status, and decision about adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Am Surg*. 1997 Apr;63(4):330-3.

311. Verderio P, Corletto V, Boracchi B. Evaluation of the reproducibility of Auer's classification of DNA histogram in breast carcinoma. *Anal Cell Pathol.* 1996 Jul;11(2):97-106.
312. Visscher DW, Sochacki P, Ottosen S. Assessment and significance of diploid-range epithelial populations in DNA aneuploid breast carcinomas using multi-parametric flow cytometry. *Anal Cell Pathol.* 1995 Jun;8(4):267-77.
313. Visscher DW, Shaheen C, Drozdowicz S. Image cytophotometric DNA histogram heterogeneity in adenocarcinoma of the breast. *Anal Quant Cytol Histol.* 1993 Jun;15(3):206-12.
314. Visscher DW, Micale MA, Crissman JD. Pathological and biological relevance of cytophotometric DNA content to breast carcinoma genetic progression. *J Cell Biochem Suppl.* 1993;17G:114-22. Review.
315. Visscher DW, Zarbo RJ, Greenawald KA. Prognostic significance of morphological parameters and flow cytometric DNA analysis in carcinoma of the breast. *Pathol Annu.* 1990;25 Pt 1:171-210. Review.
316. Von Rosen A, Frisell J, Nilsson R. Histopathologic and cytochemical characteristics of interval breast carcinomas from the Stockholm Mammography Screening Project. *Acta Oncol.* 1992;31(4):399-402.
317. Von Rosen A. Aneuploidy as a prognostic factor in breast cancer. *Med Oncol Tumor Pharmacother.* 1989;6(2):117-20. Review.
318. Weiss H, Gorlich M, Frege J. Cytokinetic investigations in human breast cancer by flow cytometrically recorded DNA/protein distributions. *Anal Cell Pathol.* 1996 Jan;10(1):59-72.
319. Wenger CR, Clark GM. S-phase fraction and breast cancer: a decade of experience. *Breast Cancer Res* 1997;51:255.
320. Wenger SR, Beardslee S, Owens MA. DNA ploidy, S-phase, and steroid receptors in more than 127,000 breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 1993 Oct;28(1):9-20.
321. Wilbur DC, Zakowski MF, Kosciol CM. DNA ploidy in breast lesions. A comparative study using two commercial image analysis systems and flow cytometry. *Anal Quant Cytol Histol.* 1990 Feb;12(1):28-34.
322. Williams RA, Baak JP, Meijer GA. Testing the value of a measurement protocol for DNA image cytometry and comparing different cytologic preparations. *Anal Quant Cytol Histol.* 1996 Dec;18(6):429-37.
323. Williams RA, Baak JP, Meijer GA. Further testing of the value of a measurement protocol for DNA ploidy studies using image cytometry. Comparison of results obtained from cytologic and paraffin section preparations. *Anal Quant Cytol Histol.* 1996 Oct;18(5):345-50.
324. Williams RA, Charlton IG, Rode J. Comparative ploidy studies using cytological and paraffin section preparations. *Cytopathology.* 1991;2(1):29-37.
325. Williams NN, Daly JM. Flow cytometry and prognostic implications in patients with solid tumors. *Surg Gynecol Obstet.* 1990 Sep;171(3):257-66. Review.
326. Winchester DJ, Duda RB, August CZ. The importance of DNA flow cytometry in node-negative breast cancer. *Arch Surg.* 1990 Jul;125(7):886-9.
327. Wingren S, Stal O, Sullivan S. S-phase fraction after gating on epithelial cells predicts recurrence in node-negative breast cancer. *Int J Cancer.* 1994 Oct 1;59(1):7-10.
328. Winter K, Eidtmann H, Jonat W. Flow cytometry detected S-phase fraction and ploidy as prognostic parameters in primary, node-negative breast cancer. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 1994 May;54(5):291-4.
329. Wimberger P, Hillemanns P, Kapsner T. Evaluation of prognostic factors following flow-cytometric DNA analysis after cytokeratin labelling: I. Breast cancer. *Anal Cell Pathol.* 2002;24(4-5):135-4.
330. Witwig TE, Ingle JN, Cha SS. DNA ploidy and the percentage of cells in S-phase as prognostic factors for women with lymph node negative breast cancer. *Cancer.* 1994 Sep 15;74(6):1752-61.
331. Witzig TE, Ingle JN, Schaid DJ. DNA ploidy and percent S-phase as prognostic factors in node-positive breast cancer: results from patients enrolled in two prospective randomized trials. *J Clin Oncol.* 1993 Feb;11(2):351-9.
332. Witzig TE, Gonchoroff NJ, Therneau T. DNA content flow cytometry as a prognostic factor for node-positive breast cancer. The role of multiparameter ploidy analysis and specimen sonication. *Cancer.* 1991 Oct 15;68(8):1781-8.
333. Wyss-Desserich MT, Caduff-Joos R, Wyss P. Premenopausal node-negative breast cancer: may adjuvant chemotherapy be indicated by the analysis of nuclear DNA dynamics? *Breast Cancer Res Treat.* 1997 Feb;42(3):253-63.
334. Wolman SR, Pauley RJ, Mohamed AN. Genetic markers as prognostic indicators in breast cancer. *Cancer.* 1992 Sep 15;70(6 Suppl):1765-74.
335. Wong SW, Rangan AM, Bilous AM. The value of S-phase and DNA ploidy analysis as prognostic markers for node-negative breast cancer in the Australian setting. *Pathology.* 1999 May;31(2):90-4.
336. Yokoe T, Izuo M, Ishida T. DNA ploidy level and S-phase fraction as prognostic factors in breast cancer. *Jpn J Surg.* 1990 Sep;20(5):491-7.
337. Yuan J, Hennessy C, Givan AL. Predicting outcome for patients with node negative breast cancer: a comparative study of the value of flow cytometry and cell image analysis for determination of DNA ploidy. *Br J Cancer.* 1992 Mar;65(3):461-5.



338. Yuan J, Hennessy C, Corbett IP. Node negative breast cancer: the prognostic value of DNA ploidy for long-term survival. *Br J Surg.* 1991 Jul;78(7):844-8.



**6. P53 ΚΑΙ MIB-1 ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**



Η πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη p53, θεωρήθηκε αρχικά σαν προϊόν παραγωγής επικρατούντος ογκογονιδίου μετά από πειράματα σε ποντίκια και πέρασαν αρκετά χρόνια μέχρι να ταυτοποιηθεί το υπεύθυνο γονίδιο σαν ογκοκατασταλτικό. Η αντίφαση αυτή εξηγείται εν μέρει από το γεγονός να μην ότι το p53 στην αρχική του μορφή («άγριος τύπος») έχει ογκοκατασταλτικό ρόλο, οι μεταλλαγμένες μορφές του όμως προάγουν, σε σταδιακή συνεργασία με άλλα ογκογονίδια, την ογκογένεση.

Η σημασία του p53 για τις κυτταρικές λειτουργίες αποδίδεται πλήρως από τον χαρακτηρισμό «φύλακας του γενετικού υλικού». Έτσι :

1. Λειτουργεί σαν παράγοντας αντιγραφής που ενεργοποιεί την έκφραση ογκογονιδίων που ρυθμίζουν νευραλγικά σημεία του κυτταρικού κύκλου και σημαντικές λειτουργίες όπως την απόπτωση (BAX) , τη διόρθωση του DNA(GADD45)και την αγγειογένεση (θρομβοσπονδίνη).
2. Ενεργεί με αλληλεπίδραση πρωτεΐνης- πρωτεΐνης. Ευθύνεται για την παραγωγή μιάς συγκεκριμένης πρωτεΐνης, η οποία ρυθμίζει την μετάβαση από την G1 στην S και από την G2 στην M φάση του κυτταρικού κύκλου. Η μη μεταλλαγμένη μορφή του γονιδίου αναστέλλει την μετάβαση αυτή. Έτσι σε περίπτωση βλάβης του κυττάρου η οποία είναι πολύ σοβαρή για να επιδιορθωθεί, ξεκινά τη διαδικασία του κυτταρικού θανάτου(απόπτωση). Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι έχει την ικανότητα να αναστέλλει τον μετασχηματισμό των κυττάρων, τον πολλαπλασιασμό τους και in vivo την διαμόρφωση του όγκου (όπως διαπιστώθηκε από πειράματα με κύτταρα καρκινώματος του κόλου). Η οποιαδήποτε αλλαγή της έχει σαν αποτέλεσμα αυξημένη γενετική αστάθεια και από κάποιες μελέτες που έχουν γίνει σε καρκίνους του πνεύμονα βρέθηκε ότι επιπρόσθετα ενεργοποιείται ορμονική ανοσολογική απάντηση με αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων. Κάποιες πρωτεΐνες ιών παρ'όλο που δεν συνδέονται με τον καρκίνο του μαστού μπορούν να απενεργοποιήσουν το p53, μιά διαδικασία που ερμηνεύει την καρκινογένεση από ιούς.

Η φυσιολογική πρωτεΐνη υπάρχει σε πολύ μικρές(μη ανιχνεύσιμες) ποσότητες μέσα στο κύτταρο και χαρακτηρίζεται από μικρό χρόνο ημίσειας ζωής. Απώλεια ή απενεργοποίηση της πρωτεΐνης αυτής που οφείλεται σε ανώμαλη έκφραση του γονιδίου, αποτέλεσμα μετάλλαξης, διαγραφής ή άλλων μεταβολών, δημιουργεί απορύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης. Οι μεταλλάξεις αυτές, που είναι από τις πιο συχνά παρατηρούμενες γενετικές παραλλαγές, έχουν μελετηθεί σε διάφορες νεοπλασίες και ιδιαίτερα στον καρκίνο του μαστού , χαρακτηρίζονται δε από ένα σημαντικό ευρύ φάσμα. Έτσι υπάρχουν μεταλλάξεις του p53 που γίνονται σε μιά περιοχή του γονιδίου που αφορά τα exons 5-8 τα οποία περιέχουν συμπλέγματα από υψηλής αξίας αμινοξέα και ευθύνονται συνήθως για θετική ανοσοαντίδραση για p53 και δέσμευση της hsp 70, ενώ μεταλλάξεις στα exons 7 και 8 εμφανίζονται σε μη αντιδρώντες με τα ειδικά αντισώματα όγκους(«σιωπηλές μεταλλάξεις»). Οι περισσότερες μεταλλάξεις πάντως, έχουν σαν αποτέλεσμα την δημιουργία μιάς p53 πρωτεΐνης η οποία εκτός του ότι χάνει την ογκοκατασταλτική της ικανότητα, χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη σταθερότητα και εμφανίζει μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής από την μη μεταλλαγμένη. Έτσι συσσωρεύεται, η ενδοκυττάρια συγκέντρωσή της αυξάνει και μπορεί να ανιχνευτεί με ανοσοϊστοχημικές

μεθόδους. Δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί οι μηχανισμοί μέσω των οποίων επιτυγχάνεται η σταθεροποίηση της πρωτεΐνης. Είναι πάντως γνωστό ότι η ακτινοβολία UV και τα χάσματα στην διπλή έλικα του DNA, προάγουν τη σταθεροποίηση της p53 πρωτεΐνης μέσω της DNA-εξαρτώμενης κινάσης και της παραγόμενης από το ATM γονίδιο πρωτεΐνης. Η ATM είναι μιά πρωτεΐνη σηματοδότησης μορφομετατροπών με υψηλή ομολογία με την φωσφατιδυλ-ινσιτόλη-3-κινάση.

Η υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης φαίνεται να είναι ένα πρώιμο γεγονός στην φυσική ιστορία ανάπτυξης του όγκου το οποίο ακολουθεί σειρά από γενετικές αλλαγές, μέσω των οποίων προάγεται η ανάπτυξη του. Κατάργηση της λειτουργίας αναστολής της μετάβασης από την φάση G1 στην S που ελέγχεται από το p53, οδηγεί σε απώλεια της ικανότητας αυτής σαν απάντηση σε βλάβη του DNA ή εμπλοκή της διαδικασίας της απόπτωσης. Στην πρώτη περίπτωση, οι συνεχείς μιτώσεις χωρίς να υπάρχει δυνατότητα επιδιόρθωσης οδηγούν σε συσσώρευση γενετικών βλαβών, ενώ στη δεύτερη η απώλεια της λειτουργίας της απόπτωσης οδηγεί σε αριθμητική αύξηση των κυττάρων, ανάπτυξη του όγκου και μη ανταπόκριση στην θεραπεία. Επίσης η απώλεια της διαδικασίας του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου που ελέγχεται από το p53, σαν αποτέλεσμα φαρμάκων που καταστρέφουν το DNA ή ακτινοβολίας, είναι μιά πιθανή ερμηνεία της αντίστασης της εμφανιζόμενης σε τέτοιους τύπους θεραπείας (τα τελευταία χρόνια μελετάται η πιθανότητα εμφάνισης αντίστασης σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες και την ταμοξιφένη στις περιπτώσεις μετάλλαξης του p53). Σε κάποιες άλλες περιπτώσεις η μετάλλαξη έχει σαν αποτέλεσμα την διέγερση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, ακόμη και σε παρουσία του άγριου τύπου του γονιδίου επειδή οι μεταλλάξεις μπορεί να συμβαίνουν ανεξάρτητα στα δύο αλληλία του γονιδίου ή και να εντοπίζονται στο ίδιο αλληλίο. Σημειώνεται ότι επειδή κάποια επιτόπια του p53 καταστρέφονται μετά την μονιμοποίηση με φορμαλδεύδη χρειάζεται προσοχή στην επιλογή της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου.

### **Δράση της p53 σε μοριακό επίπεδο**

Η δράση της p53 πρωτεΐνης σε μοριακό επίπεδο είναι πολύπλοκη και δεν έχει ακόμη μελετηθεί πλήρως. Έτσι παραμένει αδιευκρίνηστη η παρατήρηση ότι κάποιες φωσφατάσες και το AMP μπορούν να παρεμποδίσουν την απάντηση του p53. Το p53 προκαλεί το σταμάτημα της ανάπτυξης σε πολλαπλά σημεία του κυτταρικού κύκλου και σε μοριακό επίπεδο αυτό προκαλείται μέσω της παραγωγής p21. Η p21 είναι ένας πολλαπλής δυναμικότητας αναστολέας των κυκλίνη-εξαρτώμενων κινάσεων που μπλοκάρει την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου. Επίσης παρεμποδίζει τη λειτουργία ενός καταλυτικού αναστολέα της αντιγραφής του DNA που ονομάζεται PCNA (proliferating cell nuclear antigen). Ένα πολύ σημαντικό ειδικό αποτέλεσμα της παραγωγής της p21, είναι η αναστολή της από την E-CDK2 καταλυόμενη φωσφορυλίωση της Rb πρωτεΐνης, η οποία ευοδώνει την λειτουργία της σαν πρόσθετου αναστολέα του κυτταρικού κύκλου. Η p53 επίσης με απευθείας δράση μπορεί να ρυθμίζει την μεταγραφή του Rb και να δεσμεύει έναν συνεργάτη του που ονομάζεται p107 σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Πρόσθετα το p53 προάγει την αντιγραφή γονιδίων που κωδικοποιούν τρεις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην επισκευή του DNA :

την κυκλίνη G, την ERCC(excision repair cross-complementing) και την Gadd 45(growth arrest DNA damage protein).

Η σημαντικότερη πάντως διαδικασία που ρυθμίζεται από το p53 είναι ο αποπτωτικός θάνατος, λειτουργία τελείως διαφορετική από τον νεκρωτικό θάνατο που απαιτεί ATP που περιλαμβάνει την συμπύκνωση της χρωματίνης του πυρήνα, τον κατακερματισμό του και την διατήρηση άθικτης της πλασματικής μεμβράνης μέχρι ένα τελικό στάδιο όπου το κύτταρο φαγοκυτταρώνεται από τα μακροφάγα. Οι αρνητικοί ρυθμιστές της p53 περιλαμβάνουν την φωσφορυλίωσή της από διάφορες κινάσες, τον πυρηνικό αποκλεισμό με διάφορους μηχανισμούς και την συμπλεγματοποίησή της με μία πρωτεΐνη που ονομάζεται MDM-2. Στην διαδικασία της απόπτωσης εμπλέκεται και μία πρωτεΐνη της οποίας η αντιγραφή παρεμποδίζεται κα'ευθείαν στην συγκεκριμένη οδό, η Bcl-2 και που η λειτουργία της είναι να προλαμβάνει την απόπτωση. Είναι συχνό εύρημα σε καρκίνο του μαστού και ιδιαίτερα σε p53 μεταλλαγμένα κύτταρα. Εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια, στην πυρηνική μεμβράνη και το ενδοπλασματικό δίκτυο. Μαζί με την ομόλογή της Bclx(L)(της οποίας υπάρχει και η αντίθετα δρώσα Bclx(S)), παρεμποδίζει την λειτουργία της Bax, πρωτεΐνη που προάγει τον πρωτεϊνικό θάνατο, εμποδίζοντας έτσι τον θάνατο του κυττάρου με ρύθμιση της μιτοχονδριακής διαπερατότητας και της απελευθέρωσης κυτοχρώματος C. Η bclx έχει χρησιμοποιηθεί πειραματικά τα τελευταία χρόνια στην προσπάθεια να φονευθούν τα καρκινικά κύτταρα ή να ευαισθητοποιηθούν στην ΧΜΘ. Παρ'ότι ιδιαίτερα περίπλοκη η ισορροπία ζωής/απόπτωσης είναι ιδιαίτερα κρίσιμη στην ανάπτυξη του όγκου αλλά και στην ανταπόκριση στη θεραπεία.

## **ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΩΝ ΤΟΥ P53**

### **Ανοσοϊστοχημεία του p53**

Όπως ήδη προαναφέρθηκε, η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της πρωτεΐνης p53 είναι πρακτικά συνώνυμη με μετάλλαξή της. Τα καρκινικά κύτταρα θεωρούνται θετικά για p53 αν υπάρχει ισχυρή χρώση μόνο του πυρήνα. Η έκταση της χρώσης μπορεί να εκτιμηθεί και σε ημιποσοτική κλίμακα από το - μέχρι το +3, με το - να αντιπροσωπεύει την αρνητική χρώση, το +1 χρώση <25%, το +2 25-75% και το +3 χρώση >75%.

Υπάρχει γενικά κάποια σύγχυση στα κριτήρια που χρησιμοποιούνται προκειμένου να χαρακτηριστεί ο όγκος σαν p53(+). Κάποιοι ερευνητές αναφέρουν σαν θετικούς τους όγκους που εμφανίζουν έντονη χρώση του πυρήνα καθ'όλον τον κακοήγη επιθηλιακό ιστό και αρνητικά αυτά που η θετική χρώση του πυρήνα εμφανίζεται σπάνια. Η διαπίστωση αυτή βέβαια είναι εξαιρετικά ασαφής. Ο Barbareschi πρώτος ανέφερε το όριο του 10% για να χαρακτηριστεί ο όγκος θετικός και διαπίστωσε θετικότητα στο 26% των καρκίνων του μαστού, ενώ ο Silvestrini θέτοντας σαν όριο το 5% βρήκε θετικούς το 44%. Δύο εργασίες βοήθησαν στον καθορισμό ενός πιο συγκεκριμένου ορίου : του Davidoff που έδειξε ότι σε περιπτώσεις ιστών που περιέχουν αραιά κύτταρα με θετική πυρηνική χρώση δεν διαπιστώνονται μεταλλάξεις του p53 και του Isoba ο οποίος διαπίστωσε ότι δεν υπάρχουν προγνωστικές συσχετίσεις αν η θετική χρώση αφορά ποσοστό μικρότερο του 20%. Τελικά από τους περισσότερους χρησιμοποιείται το όριο του 10% γιατί ουσιαστικά περιλαμβάνει όλα τα καρκινώματα με θετική πυρηνική χρώση και



αποκλείει μερικές μόνο περιπτώσεις με σποραδικά χρωματισμένο πυρήνα με αμφίβολη σημασία, ενώ από την άλλη φαίνεται ότι είναι και το μόνο που χαρακτηρίζεται από προγνωστική βαρύτητα.

Τα αντισώματα που έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση του p53 είναι τα ακόλουθα :

- *Αντίσωμα 1801* : Χρησιμοποιήθηκε αρχικά από τον Banks και αποκαλύπτει επιτόπια μεταξύ των αμινοξέων 32 και 79. Εφαρμόζεται σε ιστούς με φορμαλίνη. Θεωρείται σαν το αντίσωμα με την υψηλότερη αξιοπιστία στην ανίχνευση της p53 πρωτεΐνης.
- *Αντίσωμα CM1* : Προέρχεται από ορό κουνελιού, χρησιμοποιείται σε ιστούς με φορμαλίνη και ανιχνεύει και τις μεταλλαγμένες και τις μη μεταλλαγμένες μορφές του p53.
- *Αντίσωμα 240* : Χρησιμοποιείται σε φρεσκοκατεψυγμένους ιστούς και ανιχνεύει τις μεταλλαγμένες μορφές του p53 ταυτοποιώντας ένα επιτόπιο του p53 στο ποντίκι που εδράζεται μεταξύ των αμινοξέων 156 και 335.
- *Αντίσωμα 421* : Χρησιμοποιείται επίσης μόνο σε φρεσκοκατεψυγμένους ιστούς και σε ανθρώπινα και σε κύτταρα ποντι-κού και αναγνωρίζει επιτόπιο μεταξύ των αμινοξέων 370 και 378.

Τα αντισώματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο τους ή σε συνδυασμό για ορθότερη προσέγγιση της πραγματικότητας, μιά και οι μεταλλάξεις μπορούν να αφορούν διαφορετικά επιτόπια του γονιδίου. Οι περισσότεροι ερευνητές έχουν διαπιστώσει καλές συσχετίσεις μεταξύ των μεταλλάξεων και της ανίχνευσης της πρωτεΐνης, γεγονός που προσδίδει υψηλό ποσοστό αξιοπιστίας στην μέθοδο μαζί με το πρόσθετο μεγάλο πλεονέκτημα της δυνατότητας χρησιμοποίησης υλικού από αρχείο. Υπάρχουν βέβαια αρκετά ψευδώς αρνητικά και ψευδώς θετικά αποτελέσματα, ώστε από κάποιους να αμφισβητείται η αξία της ανοσοϊστοχημείας. Τα ψευδώς αρνητικά οφείλονται συνήθως σε ανεπαρκές υλικό, σε ιστούς διατηρημένους για μεγάλο χρονικό διάστημα ή σύμφωνα με κάποιους ερευνητές σε μεμονωμένη χρήση ενός αντισώματος. Μία ακόμη πιθανή αιτία ψευδώς αρνητικών μπορεί να είναι κάποιος τύπος μετάλλαξης που εμποδίζει την έκφραση της πρωτεΐνης με αποτέλεσμα αυτή να μην ανιχνεύεται. Τα ψευδώς θετικά έχουν επίσης περιγραφεί και φαίνεται ότι μπορεί να υπάρχουν και άλλες αιτίες που προάγουν την ανίχνευση της p53 πρωτεΐνης ή να οφείλονται στην για κάποιο λόγο σταθεροποίηση της πρωτεΐνης. Τέλος υπάρχουν κάποιες περιπτώσεις που καρκινικοί ιστοί από μαζικό αδένιο αντιδρούν με το ένα αντίσωμα αλλά όχι με το άλλο, γι αυτό και πρέπει πάντα να διευκρινίζεται ο τύπος του χρησιμοποιούμενου αντισώματος.

Ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της p53 πρωτεΐνης όπως αναφέρθηκε ήδη είναι πάντα ενδεικτική διαταραχής του υπεύθυνου γονιδίου ή της πρωτεΐνης, όμως δεν μπορεί η ανοσοϊστοχημεία να διευκρινήσει την ακριβή φύση της αλλαγής. Άλλα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ο επηρεασμός της από τις μεθόδους συντήρησης, απουσία αναπαραγωγίμου συστήματος εκτίμησης έντασης χρώσης και κυτταροβρίθειας και δυνατότητα εφαρμογής της μόνο σε παθολογοανατομικά εργαστήρια. Έτσι παρόλο που είναι ιδιαίτερα χρήσιμη μέθοδος στην ανίχνευση των μεταλλάξεων της p53, τα τελευταία χρόνια κερδίζει έδαφος η SSCP (single strand conformation polymorphism) ανάλυση των PCR προϊόντων (η οποία μπορεί να διευκρινήσει τον τύπο της μετάλλαξης) και η



μέθοδος LIA (που δίνει την δυνατότητα ποσοτικής εκτίμησης της παραγόμενης μεταλλαγμένης p53 πρωτεΐνης).

### **PCR-SSCP**

Σε σύγχρονες μελέτες των ανοσοϊστοχημικών αντιδράσεων και της PCR-SSCP βρέθηκε υψηλός βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων (δηλαδή θετικών ανοσοαντιδράσεων και διαπιστωμένων με PCR-SSCP ανωμαλιών). Σε κάποιες βέβαια περιπτώσεις, μεταλλαγμένα γονίδια εμφάνιζαν αρνητικές ανοσοαντιδράσεις, ίσως γιατί η μετάλλαξη προκαλούσε σήματα ικανά να σταματήσουν την διαδικασία της μετάφρασης. Έχουν επίσης περιγραφεί «σιωπηλές» μεταλλάξεις του p53, ενώ πιστεύεται ότι σημειακές μεταλλάξεις μπορεί να μην σταθεροποιούν την πρωτεΐνη αρκετά ώστε να προσεγγίζει τα επίπεδα ανίχνευσης με την ανοσοαντίδραση. Τέλος υπάρχουν κάποιες (σπάνιες) περιπτώσεις με θετική ανοσοαντίδραση σε απουσία κάποιας PCR-SSCP ανωμαλίας. Πιθανές ερμηνείες για το φαινόμενο αυτό είναι οι ακόλουθες :

1) Παρόλο που η PCR-SSCP είναι μία από τις πιο ευαίσθητες τεχνικές ανίχνευσης ακόμη και σημειακών μεταλλάξεων, η ευαισθησία της περιστασιακά μπορεί να μην επαρκεί όπως π.χ. στην περίπτωση χαμηλού κλάσματος p53 ανοσοαντιδρούντων κυττάρων.

2) Η μετάλλαξη να επισυμβαίνει έξω από τις «θερμές» υπό διερεύνηση περιοχές.

3) Η συσσώρευση της p53 πρωτεΐνης να οφείλεται σε άλλους μηχανισμούς, απουσία μίας κάποιας έστω και σιωπηρής μετάλλαξης.

Η θετικότητα για το p53 αφορά γενικά τον πυρήνα, έχει όμως περιγραφεί και κυταροπλασματική εντόπιση σε μερικά καρκινώματα που σχετίζεται πάντα με θετική αντίδραση του πυρήνα. Το φαινόμενο αυτό είναι πιθανόν δευτερογενές και οφείλεται σε κάποιο ιδιαίτερο τύπο μετάλλαξης και στη σύνδεση με κάποιες κυταροπλασματικές πρωτεΐνες όπως οι heat shock protein 72/73 και 70. Για την ανίχνευση των συμπλεγμάτων αυτών χρησιμοποιήθηκε ένα ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα, διαπιστώθηκε όμως ότι είναι δυνατή η ταυτοποίησή του μόνο σε παραφινολογημένους και όχι σε φρέσκους ιστούς, εξαρτάται λοιπόν από την συγκέντρωση του του αντισώματος και την ποιότητα του ιστού.

### **LIA (luminometric immunoassay)**

Η LIA είναι μία ποσοτική μέθοδος που αναπτύχθηκε για την ποσοτική μέτρηση τόσο της φυσιολογικής όσο και της μεταλλαγμένης p53 πρωτεΐνης. Εκτιμά την έκφραση της p53 στα δείγματα κυττοσολίων που προετοιμάζονται σαν ρουτίνα για τον προσδιορισμό των ορμονικών υποδοχέων. Σαν υλικό αναφοράς χρησιμοποιείται φυσιολογική ανθρώπινη p53 πρωτεΐνη που απομονώνεται από βακτήρια. Χρησιμοποιούνται δύο μονοκλωνικά αντισώματα για τα δύο διαφορετικά επιτόπια στο N-άκρο της p53 πρωτεΐνης. Οι όγκοι ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με την συγκέντρωση της πρωτεΐνης : χαμηλή (<0,1 ng mg<sup>-1</sup>), μέση (0,10-1,0 ng mg<sup>-1</sup>), υψηλή (>1,0 ng mg<sup>-1</sup>) και πολύ υψηλή (αν >10 ng mg<sup>-1</sup>). Σαν όριο υπερέκφρασης χρησιμοποιείται η τιμή 0,15 ng mg<sup>-1</sup>. Το όριο αυτό έχει καθοριστεί εμπειρικά σαν σημείο διαχωρισμού μεταξύ των ασθενών με καλή και κακή πρόγνωση. Η

ποσοτική μέτρηση της p53 πρωτεΐνης είναι σημαντική μιά και βρέθηκε από μελέτες ότι ένα ποσοστό p53(+) όγκων με αυξημένη θετικότητα για p53 (ισχυρή ένταση χρώσης ή υψηλό ποσοστό θετικών κυττάρων) συνδέεται με επιβαρυσμένη πρόγνωση. Πέρα από αυτό η μέθοδος διαθέτει τα πλεονεκτήματα του να είναι αντικειμενική, αναπαραγωγίμη και να μπορεί εύκολα να εφαρμοστεί ακόμη και σε μικρή ποσότητα υλικού βιοψίας. Τα μειονεκτηματά της είναι ότι απαιτεί ειδικό kit και πρόσφατα προετοιμασμένα κυτοσόλια μιά και σε παραμονή τους έχει διαπιστωθεί ότι ελαττώνεται η ποσότητα της πρωτεΐνης.

Η LIA έχει χρησιμοποιηθεί για να προβλέψει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με αντιοιστρογόνα ή την πιθανότητα υποτροπής.

### **Ιστολογικός τύπος των (+) για μετάλλαξη του p53 καρκίνων του μαστού**

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον όσον αφορά την πιθανή σχέση μεταξύ της συσσώρευσης της πρωτεΐνης p53 και διαφόρων ιστοπαθολογικών ιδιοτήτων του όγκου. Δεν έχει ταυτοποιηθεί κάποια συσχέτιση με συγκεκριμένο ιστολογικό τύπο, δεδομένου όμως ότι ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μιά ετερογενή ομάδα από διάφορες παθολογοανατομικές οντότητες, με κάποιους τύπους να εμφανίζουν βελτιωμένη πρόγνωση σε σχέση με άλλους, είναι σημαντικό να γνωρίζουμε τη διακύμανση της συσσώρευσης της p53 πρωτεΐνης σε διάφορους ιστολογικούς τύπους.

Πρακτικά στα N(-) καρκινώματα διαπιστώνεται διάχυτη ανοσοαντίδραση για το p53 που περιλαμβάνει στην πλειοψηφία των περιπτώσεων το 50% των καρκινικών κυττάρων. Η υψηλότερη συχνότητα θετικής χρώσης έχει παρατηρηθεί στα MK(βλ.παρακάτω). Ακολουθούν τα υπόλοιπα πορογενή διηθητικά με συχνότητα γύρω στο 30% (φάσμα από 17% μέχρι 62%)ιδιαίτερα στον τύπο comedo, τα λοβιακά με 12% ενώ τα βλεννώδη και θηλώδη είναι συνήθως p53(-). Σημειώνεται ότι εμφανίζεται υψηλή συχνότητα p53(+) στην κατηγορία των πορογενών διηθητικών με μη ειδικά χαρακτηριστικά (NOS-non otherwise specified). Στα λοβιακά καρκινώματα εμφανίζεται ισχυρή κυτταροπλασματική χρώση σε ποσοστό άνω του 30% των καρκινικών κυττάρων, αξιοσημείωτο δε είναι ότι στους όγκους αυτούς ενώ ο πυρήνας δεν εμφανίζει χρώση, εμφανίζει το κυτταρόπλασμα και μάλιστα ιδιαίτερα γύρω από τον πυρήνα, πιθανόν λόγω συσσώρευσης σε συγκεκριμένες περιοχές. Επειδή η hsp70 (heat shock protein 70) είναι μιά πρωτεΐνη εντοπιζόμενη ακριβώς στο κυτταρόπλασμα και γύρω από τον πυρήνα, είναι εύλογη η υπόθεση ότι πιθανόν να σχηματίζονται συμπλέγματα μεταξύ της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης p53 και συγκεκριμένων άλλων πρωτεϊνών.

Σημειώνεται ότι λόγω της διαφορετικής επίπτωσης της πρωτεΐνης p53 στους διάφορους ιστολογικούς τύπους πρέπει στο υλικό της μελέτης, εφ'όσον αυτή αφορά συσχέτιση με παθοβιολογικούς παράγοντες, να διευκρινίζονται οι επιμέρους κατηγορίες των πορογενών διηθητικών.

Ο τύπος του όγκου γενικά που εμφανίζει υψηλά επίπεδα p53 πρωτεΐνης είναι είτε μυελοειδές, είτε πορογενές διηθητικό καρκίνωμα, υψηλού βαθμού κακοήθειας με αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς, υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού, ανευπλοειδικό και με υψηλό SPF $\geq$ 22%.

Σημειώνεται ότι ο φυσιολογικός μαζικός αδένας ή τα στρωματικά κύτταρα δεν εμφανίζουν ποτέ αντίδραση για το p53.



## Συσχετίσεις p53 με προγνωστικές παραμέτρους

- *Ηλικία* : Τα θετικά για p53 καρκινώματα εμφανίζονται κυρίως σε ασθενείς ηλικίας 50-59 ετών. Έχουν αναφερθεί διάφορες συχνότητες ανάλογα με την ηλικία αλλά οι στατιστικές αναλύσεις δεν καταλήγουν σε αξιοσημείωτες διαφορές. Δεν έχει βρεθεί κάποια συσχέτιση με την εμμηνορυσιακή κατάσταση.
- *Οικογενειακό ιστορικό* : Το σύνδρομο Li-Fraumeni που οφείλεται σε μετάλλαξη του p53, αποτελεί μιά ετερογενή, μικρή αριθμητικά ομάδα (η συχνότητά του υπολογίζεται περίπου στο 1% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού), με κάθετη μεταβίβαση της νόσου στο γενεαλογικό δέντρο και πρώιμη εμφάνισή της, συνήθως πριν από την ηλικία των 40 ετών, σε συνδυασμό με άλλες νεοπλασίες. Εκτός όμως από το συγκεκριμένο σύνδρομο, δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες σχετικά με τον κίνδυνο να αναπτύξει ένα γενετικά επιβαρυσμένο άτομο τη νόσο. Έρευνες (Prosser) που έγιναν στους συγγενείς ασθενών με καρκίνο του μαστού που εμφάνιζαν απώλεια της ετεροζυγωτίας (LOH) στην περιοχή 17p, έδειξαν ότι δομικές ανωμαλίες στο p53 δεν συμβάλλουν σε κληρονομική προδιάθεση για καρκίνο του μαστού, ενώ μελέτες του DNA (Sidransky-Thompson) από περιφερικά λεμφοκύτταρα σε γυναίκες με διηθητικό καρκίνωμα μαστού διαγνωσμένο πριν τα 40 έτη, κατέληξαν στο ότι οι μεταλλάξεις του p53 δεν συνδέονται με πρώιμη εμφάνιση ή αυξημένη επίπτωση σε γυναίκες με επιβαρυσμένο ιστορικό.
- *Μέγεθος όγκου-Ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά* : Παρ'όλο που το p53 συνδέεται με αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού, δεν έχει βρεθεί καμμία συσχέτιση με το μέγεθος του όγκου. Έχει διαπιστωθεί επίσης αυξημένη έκφραση του p53 σε καρκινώματα με έντονη λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση απ'ότι σε αυτά με διάχυτη διήθηση. Δεν έχει βρεθεί κάποια ιδιαίτερη σχέση με την παρουσία ή απουσία λεμφαγγειακών εμβόλων γύρω από τον όγκο.
- *Λεμφαδενικές μεταστάσεις* : Το αναμενόμενο είναι ότι μεταβολές στο p53 που ενισχύουν το ρυθμό ανάπτυξης του όγκου συμβάλλουν στην ανάπτυξη καρκινωμάτων με επιθετικά βιολογικά χαρακτηριστικά δηλαδή μεγαλύτερο μέγεθος όγκου και πιο συχνές περιοχικές λεμφαδενικές μεταστάσεις, συνεπώς αυξημένου σταδίου TNM στο χρόνο της διάγνωσης. Τα στοιχεία όμως που υπάρχουν από μελέτες δεν είναι αρκετά για να υποστηρίξουν αυτή την υπόθεση. Σε κάποιες διαπιστώνεται πιο συχνή έκφραση p53 σε N(+) καρκινώματα ή σε όγκους  $\geq 10$  χιλ. (αύξηση της θετικότητας από 5% όταν η διάμετρος του όγκου  $\leq 10$  χιλ., σε 50% όταν οι όγκοι ήταν μεγαλύτεροι από 50 χιλ.) (Walker-Davidoff). Σε άλλες μελέτες δεν διαπιστώθηκαν συσχετίσεις. Ίσως λοιπόν αν η μεταλλαγμένη έκφραση του p53 επηρεάζει την πρόγνωση αυτό γίνεται με μηχανισμούς άλλους από αυτούς της τοπικής διηθητικότητας και περιοχικής ανάπτυξης (αυτό υποστηρίζεται και από την απουσία λεμφαγγειακών εμβόλων στον ιστό γύρω από τον όγκο).
- *Ιστολογικός βαθμός* : Διαπιστώνεται υψηλότερη συχνότητα σε καρκινώματα με χαμηλό βαθμό διαφοροποίησης πυρήνα. Επίσης τα

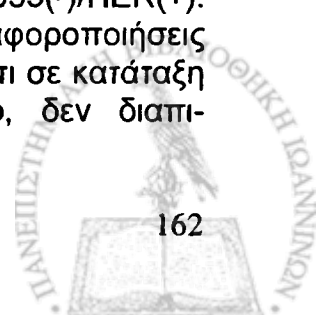
περισσότερα p53(+) καρκινώματα είναι βαθμού III. Η συσχέτιση αυτή σε συνδυασμό με την υψηλή επίπτωση της πυρηνικής υπερέκφρασης του p53 στα MK, στα NOS πορογενή διηθητικά βαθμού 3 και στα comedo, τα οποία στην μικροσκοπική εξέταση αποτελούνται από μεγάλα πλειομορφικά κακοήθη κύτταρα, υποδεικνύει ότι η πυρηνική συσσώρευση του p53 συνδέεται με υψηλό μορφολογικό βαθμό κακοήθειας αποφορτισμένο από την βιολογική του σημασία, αφού τα comedo έχουν άριστη πρόγνωση, τα MK σχετικά καλή και τα NOS πορογενή διηθητικά κακή. Επιπλέον επειδή και τα NOS βαθμού 3 και τα MK χαρακτηρίζονται από υψηλούς ρυθμούς πολλαπλασιασμού, φαίνεται ότι η πυρηνική υπερέκφραση του p53 συνδέεται συγκεκριμένα με αυξημένη αναπτυξιακή ικανότητα του όγκου όχι απαραίτητα συνδεδεμένη με βιολογική επιθετικότητα. Χρειάζονται περισσότερες μελέτες για να διευκρινηστεί ποιος τύπος μετάλλαξης ευθύνεται μόνο για τον υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού και τον επακόλουθο μορφολογικά κακοήθη φαινότυπο και ποιιά –ίσως-αποκλειστικά για διηθητική ικανότητα και μεταστατικό δυναμικό.

- *Ορμονικοί υποδοχείς* : Υπάρχει ισχυρή συσχέτιση του p53 και των οιστρογονικών υποδοχέων αφού περίπου το 60% των αρνητικών για υποδοχείς όγκων είναι p53(+), ενώ σε θετικούς το ποσοστό είναι 25%, η οποία διαπιστώνεται ανεξάρτητα από το αν για την ταυτοποίηση των υποδοχέων χρησιμοποιείται ανοσοϊστοχημική ή βιοχημική μέθοδος. Δεν έχει διαπιστωθεί συσχέτιση με τους προγεστερικούς υποδοχείς παρά μόνο στην εργασία του Isola που χρησιμοποιώντας το αντίσωμα Pab 250 διαπίστωσε αυξημένη έκφραση του p53 σε PR(-) όγκους.
- *Epidermal growth factor (EGFR)* : Έχει διαπιστωθεί θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο παραγόντων με την πρωτεΐνη p53 να ανιχνεύεται πιο συχνά σε EGFR(+) όγκους.
- *Κύτταρα στην S φάση* : Η έκφραση του p53 έχει σχετιστεί με αυξημένο αριθμό κυττάρων στην S φάση.

### **Συσχέτιση του p53 με την έκφραση του HER2/neu**

Για να μπορέσει να μελετηθεί η αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο ογκογονιδίων p53 και HER διακρίθηκαν τέσσερις υποκατηγορίες όγκων : p53(+)/HER(+), p53(-)/HER(-), p53(-)/HER(+) και p53(+)/HER(-). Έγιναν οι ακόλουθες διαπιστώσεις:

1. Οι συχνότητες για την κάθε κατηγορία είναι αντίστοιχα 9%, 41%, 35% και 15%. (Iwaya –Takikawa)
2. Τα καρκινώματα με εκσεσημασμένη λεμφοκυτταρική διήθηση είναι συνήθως p53(+)/HER(-) και κατατάσσονται στις κατηγορίες T1N0M0 και T2N0M0 σε ποσοστό άνω του 40%. Αυτά με μικρή διήθηση είναι p53(-)/HER(+) και υπάγονται μόνο κατά 10% στα στάδια T1N0M0 και T2N0M0.
3. Οι όγκοι με χαμηλή πυρηνική διαφοροποίηση(δηλ.ιστολογικού βαθμού 3) είναι συνήθως p53(+)/HER(+) ή p53(+)/HER(-) ενώ αυτοί με ενδιάμεση πυρηνική διαφοροποίηση είναι p53(-)/HER(-) ή p53(-)/HER(+). Οι διαφορές αυτές κατά ένα μέρος οφείλονται και στις διαφοροποιήσεις των επιμέρους ιστολογικών τύπων. Είναι ενδιαφέρον ότι σε κατάταξη των πορογενών διηθητικών κατά ιστολογικό βαθμό, δεν διαπι-



στώθηκαν ιδιαίτερες διαφορές στην κατανομή των p53/HER. Ιδιαίτερα στα MK η κατανομή κατά τα δύο τρίτα είναι p53(+)/HER(-) και η αναλογία αυτή υπερβαίνει κατά πολύ αυτή άλλων ιστολογικών τύπων, με μόλις 6% των MK να είναι p53(-)/HER(-) ενώ η αναλογία των p53(+)/HER(+) δεν εμφανίζει διαφορές μεταξύ των ιστολογικών τύπων και κυμαίνεται στο 3 με 11%.

4. Η κοινή κατανομή των p53/HER δεν φαίνεται να σχετίζεται ιδιαίτερα με την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση, το οικογενειακό ιστορικό, το μέγεθος του όγκου ή την παρουσία λεμφαγγειακής διήθησης.
5. Στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με το διάστημα ελεύθερο νόσου δεν διαπιστώθηκαν. Σε κατάταξη πάντως των ασθενών με το TNM, η καλύτερη πρόγνωση αφορούσε την κατηγορία p53(+)/HER(+) με το υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης, στην οποία ήταν επίσης και λιγότερο συχνή η υποτροπή. Το υψηλότερο ποσοστό υποτροπών αφορούσε την κατηγορία p53(+)/HER(-) (με την εξαίρεση των MK) ανεξαρτήτως TNM σταδίου.

Αφού το p53 και το HER θεωρούνται γενικά σαν βιολογικοί δείκτες επιβαρυσμένης πρόγνωσης, θα μπορούσε κανείς να υποθέσει ότι ο ανοσοφαινότυπος p53(+)/HER(+) θα έχει την χειρότερη πρόγνωση. Το παράδοξο είναι όμως ότι η ομάδα αυτή χαρακτηρίζεται από το χαμηλότερο ποσοστό υποτροπής και την υψηλότερη συνολική επιβίωση, τα ποσοστά αυτά δε είναι στατιστικά σημαντικά ιδιαίτερα για την ομάδα T1N0M0 και λιγότερο για την ομάδα T2N0M0. Οι περισσότερες μελέτες επικεντρώνονται στην έκφραση μεμονωμένων ογκογονιδίων στα καρκινώματα του μαστού και την επίδρασή τους στην πρόγνωση, οι συνδυασμένοι ανοσοφαινότυποι όμως οδηγούν σε μη αναμενόμενες προγνωστικές συσχετίσεις που παρέχουν στοιχεία για την αλληλεπίδραση των ογκογονιδίων στην βιολογία του καρκινώματος του μαστού.

### **Βιμεντίνη και έκφραση του p53 γονιδίου**

Η βιμεντίνη είναι όπως και το p53 ένας δείκτης που έχει συνδεθεί με το ρυθμό πολλαπλασιασμού. Πρόκειται (όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενο κεφάλαιο), για μία ενδιάμεση ινιδιακή πρωτεΐνη που φυσιολογικά υπάρχει σε ινοβλάστες και άλλα κύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης αλλά όχι στην πλειοψηφία των επιθηλιακών κυττάρων περιλαμβανομένων και αυτών του μαστού που φυσιολογικά περιέχουν κερατίνες. Έχει βρεθεί ότι παρ'όλο που όλα τα καρκινώματα του μαστού εξακολουθούν να περιέχουν κερατίνες, σε ένα ποσοστό περίπου 25% παράγεται αυξημένη ποσότητα βιμεντίνης από αναλογία άνω του 10% των καρκινικών κυττάρων. Οι όγκοι αυτοί εμφανίζουν χαμηλό επίπεδο οιστρογονικών υποδοχέων, αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού (χαρακτηριστικά δηλαδή που υπάρχουν και σε p53(+) όγκους) και αυξημένη διηθητική ικανότητα. Έχει βρεθεί ότι υπάρχει σημαντική ελάττωση στην πενταετή επιβίωση, που ενώ για τους αρνητικούς για βιμεντίνη όγκους είναι 75%, στους θετικούς κατεβαίνει στο 42%.

Υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της θετικότητας για p53 και της έκφρασης της βιμεντίνης, με περίπου το 40% των θετικών για p53 όγκων να είναι επίσης θετικοί για βιμεντίνη (σημειώνεται ότι η σχέση αυτή είναι πολύ λιγότερο ισχυρή στους ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες). Παρά τη συσχέτιση όμως αυτή και την ομοιότητα των βιολογικών χαρακτήρων των θετικών για βιμεντίνη και p53

όγκων, υπάρχουν αρκετές διαφορές. Έτσι η θετικότητα για βιμεντίνη είναι διπλάσια στους N(-) παρά στους N(+) ασθενείς ενώ για το p53 η διαφορά αυτή είναι μικρότερη (35-24%). Δεύτερον, η θετικότητα για βιμεντίνη συνδέεται με 3,5 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα σπλαχνικής μετάστασης στους N(-) ασθενείς, κάτι που δεν συμβαίνει με το p53 ανεξαρτήτως επιπέδου λεμφαδένων. Τρίτον, η διαφορά στην πενταετή επιβίωση μεταξύ των θετικών και αρνητικών για βιμεντίνη όγκων, είναι πολύ μεγαλύτερη από την αντίστοιχη για το p53. Οι διαφοροποιήσεις αυτές, οφείλονται πιθανόν σε διαφορετική δράση των παραμέτρων σε επίπεδο μοριακής βιολογίας.

### ***c-erb B-2 και p53***

Η υπερέκφραση της πρωτεΐνης c-erb B-2 έχει αναφερθεί σε ποσοστά 11-44% των καρκινωμάτων με αρνητικούς λεμφαδένες. Η ανίχνευση γίνεται από την ανοσοϊστοχημική χρώση των μεμβρανικών προϊόντων του ογκογονιδίου, μιά και η χρήση του αντισώματος NCL-CB11 έχει δείξει άμεση συσχέτιση της αντίδρασης του καρκινικού κυττάρου σε επίπεδο πλασματικής μεμβράνης και της έκφρασης του ογκογονιδίου. Η πρωτεΐνη αυτή απουσιάζει στα λοβιακά καρκινώματα ενώ υπερεκφράζεται σε καρκινώματα με EIC. Η παρουσία της έχει συνδεθεί με επιβαρυντικά προγνωστικά στοιχεία, αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς και υψηλό ιστολογικό βαθμό κακοήθειας όπως και η πρωτεΐνη p53. Δεν υπάρχει συμφωνία στις μελέτες αν επηρεάζει ή όχι την πρόγνωση. Σε κάποιες η σημαντικότητά της περιορίζεται στην ομάδα των N(-) ασθενών, ενώ σε άλλες η παρουσία της σε όλες τις ομάδες συνδέεται με επιβαρυνμένη πρόγνωση.

Η σύγχρονη έκφραση p53 και c-erb B-2 θεωρείται ότι επιβαρύνει την πρόγνωση.

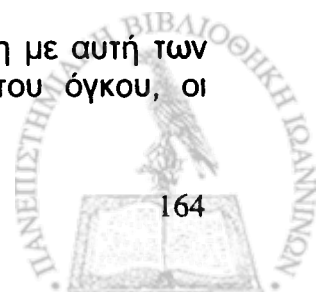
### ***p53 και bcl-2***

Πρόκειται για ογκογονίδιο που θεωρείται ότι έχει αντίθετη δράση από το p53 στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και του πολλαπλασιασμού του όγκου με το να αναστέλλει τη διαδικασία της απόπτωσης. Τα καρκινώματα που εμφανίζουν ισχυρή θετική χρώση για το p53 είναι συνήθως αρνητικά για το bcl-2 και πιστεύεται ότι τα αυξημένα επίπεδα p53 πρωτεΐνης μπορεί να παρεμποδίζουν την έκφραση του bcl-2 .

### ***Προγνωστική σημασία του p53 στον καρκίνο του μαστού***

Το p53 έχει μελετηθεί ιδιαίτερα στον καρκίνο του μαστού, όπου αναφορικά με την πρόγνωση και την κλινική του σημασία τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα πιθανότατα όμως αυτό οφείλεται, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, στις διαφορετικές διάρκειες των follow-up και στις ποικίλες μεθόδους στατιστικών αναλύσεων που χρησιμοποιήθηκαν. Έτσι σε κάποιες μελέτες δεν διαπιστώνεται κάποια ιδιαίτερη συσχέτιση, σε άλλες βρέθηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ της έκφρασης του p53 και της πρόγνωσης ή και για το διάστημα ελεύθερο υποτροπής και για την συνολική επιβίωση ή μόνο για το διάστημα ελεύθερο υποτροπής.

Η προγνωστική αξία του p53 βρέθηκε κατώτερη συγκρινόμενη με αυτή των κλασσικών προγνωστικών παραμέτρων όπως το μέγεθος του όγκου, οι



λεμφαδενικές μεταστάσεις ή οι ορμονικοί υποδοχείς, εκτός από μία μελέτη(Gasparini) όπου η έκφραση του p53 ταυτοποιήθηκε σαν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για το διάστημα ελεύθερο νόσου. Διαπιστώθηκε όμως ότι αν γίνει κατανομή σε υποομάδες θετικών ή αρνητικών λεμφαδενικών μεταστάσεων ή ορμονικών υποδοχέων, η παρουσία του p53 υποδεικνύει τις περιπτώσεις με επιβαρυσμένη πρόγνωση, περισσότερο στην ομάδα με αρνητικούς λεμφαδένες-η παρουσία μεταστάσεων φαίνεται να ελαττώνει την διακριτική του ικανότητα(Thor). Αν η υποδιαίρεση γίνει με βάση το μέγεθος ή τον ιστολογικό βαθμό, το p53 δεν φάνηκε να έχει προγνωστική αξία.

Γενικά στις περισσότερες μελέτες φαίνεται ότι η θετικότητα για p53 έχει αρνητική επίδραση στην συνολική επιβίωση στην ομάδα των ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες. Στους ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες δεν διαπιστώνεται επίδραση του p53 ή οι συσχετίσεις δεν είναι στατιστικά σημαντικές.

Σε μελέτες με ποσοτικές μετρήσεις διαπιστώνεται ότι ασθενείς με συγκέντρωση μεγαλύτερη από  $0,15 \text{ ng mg}^{-1}$ , χαρακτηρίζονται από μικρότερο διάστημα ελεύθερο νόσου και συνολική επιβίωση, σε περιπτώσεις δε πολύ αυξημένων συγκεντρώσεων  $>12 \text{ ng mg}^{-1}$  σε πορογενές διηθητικό καρκίνωμα ο φαινότυπος είναι επιθετικός και η κλινική πορεία επιβαρυσμένη, με πρώιμη υποτροπή και ελαττωμένη επιβίωση.

Υπάρχει μία μελέτη για την προγνωστική σημασία των χρησιμοποιούμενων στην ανοσοϊστοχημεία αντισωμάτων. Βρέθηκε ότι η θετικότητα για το M42 ή η αρνητικότητα για το M240 συνδέονται με κακή πρόγνωση. Αντίθετα η θετικότητα για το M240 συνδέεται με πρόγνωση παρόμοια αυτής των p53(-). Είναι πιθανό ότι κάποια μονοκλωνικά αντισώματα ταυτοποιούν αντιγονικά στοιχεία που συνδέονται με συγκεκριμένες μεταλλάξεις διάφορης προγνωστικής σημασίας. Η διαπίστωση αυτή πάντως θα πρέπει να τεκμηριωθεί με τεχνικές μοριακής βιολογίας.

Οι μεταλλάξεις του p53 και η εξαιτίας αυτών συσσώρευση της πρωτεΐνης στα καρκινώματα του μαστού έχουν συνδεθεί σε αρκετές μελέτες με παραμέτρους υψηλού δυναμικού κακοήθειας όπως αυξημένος ρυθμός πολλαπλασιασμού και SPF, ιστολογικός βαθμός III και αρνητικοί ορμονικοί υποδοχείς. Οι όγκοι που εμφανίζουν καλή διαφοροποίηση και βελτιωμένη πρόγνωση, συνδέονται με χαμηλή επίπτωση του p53.

Σε ταυτόχρονη ανοσοϊστοχημική μελέτη της κατανομής των μεταλλάξεων του p53 σε διάφορους ιστολογικούς τύπους καρκίνου του μαστού και της κατανομής της πρωτεΐνης Ki-67 σαν μέτρο της πολλαπλασιαστικής δραστηριότητας των όγκων με χρησιμοποίηση των ειδικών αντισωμάτων, βρέθηκε ότι (με την εξαίρεση των λοβιακών καρκινωμάτων), οι κατανομές είναι ταυτόσημες. Το φαινόμενο αυτό ήταν ιδιαίτερα έντονο στα MK, οδηγώντας τους μελετητές στο συμπέρασμα ότι η υψηλή συχνότητα μεταλλάξεων του p53 συνδέεται με την έντονη πολλαπλασιαστική δραστηριότητα που παρατηρείται στους όγκους αυτούς.

Όσον αφορά την πιθανότητα μεταστάσεων σε σχέση με την έκφραση του p53, υπάρχουν λίγες σχετικά μελέτες. Στις σπλαχνικές μεταστάσεις (ήπαρ, πνεύμονες, εγκέφαλος) το p53 δεν φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο, είτε στους ασθενείς με θετικούς, είτε σε αυτούς με αρνητικούς λεμφαδένες. Αναφορικά με τις οστικές μεταστάσεις όμως, στους ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες οι p53(+) όγκοι είχαν ελαττωμένη πιθανότητα μετάστασης στα οστά (8%) σε σχέση με τους p53(-), ενώ στους ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες η



διαφορά αυτή ήταν μικρότερη. Το γεγονός αυτό έρχεται σε αντίθεση με το ότι οι περισσότεροι p53(+) όγκοι είναι αρνητικοί για οιστρογονικούς υποδοχείς αφού οι τελευταίοι εμφανίζουν τάση να μεθίστανται στα σπλάχνα περισσότερο παρά στο σκελετό όπου μεθίστανται κυρίως οι θετικοί για οιστρογονικούς υποδοχείς όγκοι.

### **Το p53 στα μυελοειδή καρκινώματα του μαστού**

Έχει διαπιστωθεί ότι οι συχνότερα θετικοί για p53 όγκοι είναι τα ΜΚ, με συχνότητα που κυμαίνεται από 60% μέχρι και 94% σε κάποιες μελέτες. Η ταυτοποίηση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης παρατηρείται σε υψηλότερη συχνότητα στα ΤΜΚ σταδίου T1N0M0 και T2N0M0. Όσον αφορά τα ΑΜΚ, είναι p53(+) σε ποσοστό πάνω από 50%, όταν όμως γίνει κατάταξη σε TNM υποκατηγορίες, η υψηλότερη συχνότητα περιορίζεται στα T1N0M0. Η θετικότητα αυτή μπορεί να σημαίνει τρία πράγματα: είτε αυξημένη συχνότητα γονιδιακής μετάλλαξης, είτε απορρυθμισμένη έκφραση του γονιδίου, είτε λόγω κάποιων ιδιαίτερων τοπικών επιδράσεων σταθεροποίηση της p53 πρωτεΐνης ώστε να καθίσταται ανιχνεύσιμη. Αποτελεί ένα σημαντικό ερώτημα η υψηλή συχνότητα εμφάνισης του p53 στα μυελοειδή καρκινώματα σε συνδυασμό με την μάλλον καλύτερη κλινική τους πορεία, παρά τους επιθετικούς βιολογικούς τους χαρακτήρες (έκδηλα πυρήνια, πυρηνικός πλειομορφισμός, συχνές μιτώσεις). Αντίθετα τα πορογενή διηθητικά με μυελοειδείς χαρακτηριστικά (ΜΜΚ), παρά τις μορφολογικές ομοιότητες που εμφανίζουν με την προηγούμενη κατηγορία, τους υψηλούς ρυθμούς πολλαπλασιασμού και το αυξημένο ποσοστό p53(+)χρώσης, χαρακτηρίζονται από μάλλον επιβαρυσμένη πρόγνωση. Πιθανόν διαφορετικά αλληλία του p53 γονιδίου να εμφανίζουν διαφορετικές ιδιότητες και το φάσμα των μεταλλάξεων να είναι διαφορετικό στα μυελοειδή. Επειδή τα ΜΚ χαρακτηρίζονται συγχρόνως από διάχυτη λεμφοκυτταρική διήθηση θεωρούμενη σαν αντίδραση του ξενιστή σε κάποιο ειδικό αντιγόνο του όγκου, πιθανολογείται ότι οι μεταλλαγμένες p53 πρωτεΐνες αντιπροσωπεύουν κάποια από τα ειδικά αυτά αντιγόνα. Πρόσφατα έχει επίσης αναφερθεί ότι p53 γονίδια με μεταλλάξεις στα exons 5 και 6(που είναι και οι συχνότερες), παράγουν πρωτεΐνες που δεσμεύουν την heat shock πρωτεΐνη 70 και η σύνδεση αυτή συνδέεται με μιά ειδική ανοσοαντίδραση, ενώ συγχρόνως παρατηρείται ανοσολογική απάντηση στο p53. Οι ασθενείς με p53(+) όγκους που δεν έχουν αντισώματα έχουν μεταλλάξεις που αφορούν τα exons 7 και 8. Η διευκρίνηση του φάσματος των μεταλλάξεων διαφορετικών αλληλίων είναι σημαντική γιατί θα καθορίσει στο μέλλον αν η παρουσία ενός συγκεκριμένου τύπου μετάλλαξης συνδέεται με επιβαρυσμένη πρόγνωση.

Ανεξάρτητα πάντως από την αιτία, η ύπαρξη αυξημένου αποπτωτικού δείκτη στα ΜΚ, δείχνει ότι κατά κάποιον τρόπο προάγεται ο κυτταρικός θάνατος και η απόπτωση, είτε σαν αποτέλεσμα ενίσχυσης της φυσιολογικής δραστηριότητας της p53 πρωτεΐνης, είτε σαν πλήρης απορρύθμισή της. Η αυξημένη απόπτωση πιθανόν ενισχύεται και από το ότι τα ΜΚ (και ιδιαίτερα τα ΤΜΚ) είναι σε υψηλό ποσοστό bcl-2(-). Γεγονός πάντως είναι ότι όσον αφορά τον πρωτογενή όγκο ισοσκελίζεται από τον αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού που επίσης παρατηρείται στα ΜΚ, είναι άγνωστες όμως οι υπόλοιπες επιδράσεις μιά και η απόπτωση τροποποιεί και την ικανότητα των



καρκινωματοδών κυττάρων να επιβιώνουν στην κυκλοφορία και στις μεταστατικές εστίες.

## **MIB-1**

### **Γενικά**

Πρόκειται για μονοκλωνικό αντίσωμα ειδικό για πυρηνικό αντιγόνο που εκφράζεται μόνο στα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα(τέλος G1, S, M και G2 φάση του κυτταρικού κύκλου). Το πρώτο αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε για το αντιγόνο αυτό ήταν το μονοκλωνικό Ki-67 που μπορούσε να εφαρμοστεί μόνο σε φρέσκο παθολογοανατομικό υλικό και απαιτούσε την χρήση μιάς ταχείας ανοσοϊστοχημικής μεθόδου. Τα νεότερα αντισώματα ήταν τα πολυκλωνικά Ki-67 και το ομόλογό του μονοκλωνικό MIB-1, που αφορούν πεπτιδία συγκριμάτων του γονιδίου για το αντιγόνο Ki-67 και μπορούν να εφαρμοστούν και σε παραφिनτοποιημένο υλικό μετά από ακτινοβόλησή του, ακόμη και σε υλικό βιοψίας δια λεπτής βελόνης(σημαντικό για την επιλογή ασθενών που πιθανόν να ωφεληθούν περισσότερο από προεγχειρητική χημειοθεραπεία). Η θετική χρώση απεικονίζεται σαν διάχυτη πυρηνική χρώση με έντονη διαγραφή των πυρηνίων στα μιτωτικά κύτταρα. Τα δύο αντισώματα εμφανίζουν το ίδιο φάσμα κατανομής, το μονοκλωνικό MIB-1 όμως θεωρείται το πλέον αξιόπιστο ιδιαίτερα σε παραφιντοποιημένα δείγματα, το οποίο σε συνδυασμό με την ευκολία χρήσης, την καθιστούν μιά πολλά υποσχόμενη μέθοδο έκφρασης του αναπτυσσόμενου τμήματος μιάς ομάδας κυττάρων νεοπλασματικής ή μή (αφού κύτταρα σε φάση ηρεμίας δεν εκφράζουν το αντιγόνο Ki-67), που μπορεί να εφαρμόζεται ακόμη και σαν εξέταση ρουτίνας σε παθολογοανατομικό υλικό.

Ένα πρόβλημα της μεθόδου είναι η απουσία συγκεκριμένου ποσοστιαίου ορίου θετικότητας το οποίο αναφέρεται σαν MLI(MIB-1 labelling index). Σε κάποιες μελέτες η χρώση του δείγματος ανεξαρτήτως ποσοστού εκλαμβάνεται ως θετική, ενώ σε άλλες απαιτείται χρώση τουλάχιστον στο 20% για να χαρακτηριστεί θετικό. Το θέμα δεν είναι απλά η προβληματική συγκρισιμότητα μεταξύ των αποτελεσμάτων. Οι δείκτες πολλαπλασιασμού και ειδικότερα το MIB-1 πιστεύεται ότι μπορεί να έχουν θεραπευτική εφαρμογή στην επιλογή των N(-) ασθενών εκείνων με υψηλούς ρυθμούς αύξησης της καρκινικής μάζας που θα μπορούσαν να επωφεληθούν από την πρώιμη χορήγηση χημειοθεραπευτικής αγωγής και την εξαίρεση αυτών με αργή ανάπτυξη του όγκου όπου η χημειοθεραπεία θα ήταν πλεονεκτική και ίσως επιζήμια. Από την άλλη πλευρά έχει βρεθεί ότι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες ελαττώνουν το MIB-1 και θα πρέπει να μπορεί να μελετηθεί η επίδραση της τροποποίησης στην πρόγνωση. Πιστεύεται πάντως ότι οι ταχέως αναπτυσσόμενοι όγκοι έχουν δείκτη 20-25%(με αντίστοιχα μικρότερη πενταετή επιβίωση) και αυτό το όριο θα πρέπει να χρησιμοποιείται προκειμένου να αναγνωρίζεται η ομάδα εκείνη των ασθενών που θα είναι ευαίσθητη στα χημειοθεραπευτικά πρωτόκολλα. Αντίθετα το όριο του 10% θα ήταν χρήσιμο ώστε να αποκλεισθούν από τα πρωτόκολλα αυτά οι ασθενείς με αργά αναπτυσσόμενους όγκους που εμφανίζουν και καλύτερη πρόγνωση. Γενικά από τους περισσότερους μελετητές το 20% αποτελεί ένα κοινά παραδεκτό όριο πέρα από το οποίο οι όγκοι εκλαμβάνονται ως MIB-1(+), ενώ όγκοι με MIB-1<10% θεωρούνται αρνητικοί.

## **Συσχετίσεις με άλλες προγνωστικές παραμέτρους**

**Ιστοπαθολογικές παράμετροι:** Ευθεία αναλογική σχέση με τον ιστολογικό βαθμό, την αγγειακή διήθηση και τον αποπτωτικό δείκτη. Αντικρουόμενα αποτελέσματα για το μέγεθος του όγκου, τις λεμφαδενικές μεταστάσεις, την συσσώρευση p53 πρωτεΐνης και τους ορμονικούς υποδοχείς. Δεν έχει βρεθεί συσχέτιση με τον διεγχειρητικό εντοπισμό μετάστασης.

**Δείκτες πολλαπλασιασμού :** Συνδέεται ισχυρά με το TLI, το BrDu και το PCNA, καθώς και με την θυμιδίνη-κινάση(TK) των φρέσκων δειγμάτων.

**SPF :** Στις πρώτες συγκριτικές μελέτες που έγιναν δεν υπήρξε γραμμική συσχέτιση του MIB-1 με το SPF. Στις πιο πρόσφατες όμως, όπου μελετήθηκαν ξεχωριστά σε ομάδες διπλοειδικών και ανευπλοειδικών όγκων, φαίνεται οι δύο παράγοντες να συσχετίζονται σε ανευπλοειδικούς όγκους αλλά όχι σε διπλοειδικούς. Η μέση τιμή του SPF είναι σημαντικά υψηλότερη σε ανευπλοειδικούς όγκους σε σχέση με τους διπλοειδικούς. Για το MIB-1 ισχύει το ίδιο, η διαφορά όμως είναι οριακή. Το SPF συσχετίζεται θετικά με το MIB-1 και οι αναλυτικές καμπύλες δείχνουν ότι το MIB-1 μπορεί στους ανευπλοειδικούς όγκους να προβλέψει με 82% ειδικότητα και 80% ευαισθησία την υψηλή τιμή της SPF φάσης, αν οριστεί σαν όριο θετικότητας το 20-25%. Η διαπίστωση αυτή είναι σημαντική αφού σε περιπτώσεις με περιορισμένο παολογοανατομικό υλικό όπου δεν είναι δυνατή η κυτταρομετρία ροής μπορεί να εφαρμοστεί το MIB-1. Για τους διπλοειδικούς όγκους δεν είναι δυνατή ανάλογη πρόβλεψη με κανένα όριο θετικότητας του MIB-1. Σε πολυπαράγοντική ανάλυση, φαίνεται οι δύο παράμετροι να έχουν συμπληρωματική συνδρομή για τον καθορισμό της επιβαρυσμένης προγνωστικά ομάδας σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες.

**Άλλες παράμετροι :** Αναφέρεται αντίστροφη σχέση με το bcl-2, έλλειψη συσχέτισης με το c-erbB-2 και ασθενής συσχέτιση με την καθεψίνη D, αν και ο δείκτης MIB-1 είναι υψηλότερος στους όγκους με ισχυρή στρωματική χρώση καθεψίνης D χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική.

### **Προγνωστική σημασία του MIB-1 στον καρκίνο του μαστού**

Ο ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού ενός όγκου όπως εκτιμάται από τους αντίστοιχους δείκτες, θεωρείται ότι μπορεί σε κάποιο βαθμό να προβλέψει τις πιθανότητες επιβίωσης και υποτροπής ιδιαίτερα σε N(-) ασθενείς(οι συσχετίσεις είναι πιο ασθενείς στους N(+)) ασθενείς), γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό αν σκεφτεί κανείς ότι ο παράγοντας «διάμετρος του όγκου» που καθόριζε την πρόγνωση την προηγούμενη δεκαετία, σήμερα υποβαθμίζεται με την συνεχώς αυξανόμενη διάγνωση όλο και μικρότερων όγκων. Το MIB-1 σε σύγκριση με τους άλλους δείκτες πολλαπλασιασμού, έχει μεγαλύτερη ευαισθησία και αξιοπιστία από την μέτρηση των μιτώσεων κατά οπτικό πεδίο, ενώ σε σχέση με το PCNA που ο ρόλος του δεν περιορίζεται μόνο στην αντιγραφή αλλά και στην επιδιόρθωση του DNA, το Ki-67 είναι ένα καθαρά «πολλαπλασιαστικό αντιγόνο», γεγονός που το κάνει πιο ειδικό στην εκτίμηση της αναπτυξιακής κατάστασης ενός όγκου. Σε μελέτη του 1999 που έγινε σύγκρισή του με τη σήμανση με BrDu(bromodeoxyuridine) που επίσης χαρακτηρίζει κύτταρα που διέρχονται την S φάση του κυτταρικού κύκλου, βρέθηκε ότι έχουν την ίδια προγνωστική αξία.

Οι περισσότερες μελέτες που αφορούν την προγνωστική σημασία του MIB-1 παρουσιάζουν πολλά προβλήματα όπως μικρός αριθμός ασθενών, ποικιλία εφαρμοζόμενων θεραπευτικών αγωγών, ετερογενείς εξεταζόμενες ομάδες, ανομοιογενή ποσοστιαία όρια θετικότητας των εξεταζόμενων δειγμάτων και μικρή διάρκεια παρακολούθησης. Στις περισσότερες πάντως αναφέρεται αυξημένη πιθανότητα υποτροπής της νόσου και ελαττωμένη συνολική επιβίωση σε βαθμό στατιστικά σημαντικό σε ασθενείς MIB-1(+) και μάλιστα στο ίδιο φάσμα με τους ασθενείς με αυξημένο TLI και SPF. Οι MIB-1(+) ασθενείς εμφανίζουν ποσοστά 43% υποτροπής και 35% θανάτου στην πενταετία, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά για τους MIB-1(-) ασθενείς είναι 27% και 15%. Το σημαντικό είναι ότι η θετικότητα για MIB-1 μπορεί με πιθανότητα περίπου 80% να προβλέψει τα προγνωστικά επιβαρυμένα περιστατικά.

Σε κάποιες πολυπαραγοντικές μελέτες το MIB-1 εμφανίζεται σαν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου μαζί με το στάδιο λεμφαδενικής διήθησης.

Απαιτούνται πάντως περισσότερες πολυπαραγοντικές μελέτες προκειμένου να καθοριστεί πλήρως η προγνωστική του βαρύτητα.

### ***Το MIB-1 στα μυελοειδή καρκινώματα του μαστού***

Τα ΜΚ είναι μία κατηγορία καρκινωμάτων του μαστού που χαρακτηρίζονται από εξαιρετικά αυξημένο δείκτη MIB-1 λόγω του υψηλού ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων χωρίς αυτό να συνδυάζεται με την αναμενόμενη βιολογική επιθετικότητα, ίσως λόγω της αυξημένης κυτταρικής απώλειας μέσω της απόπτωσης. Η ανάπτυξη του όγκου εμφανίζεται πάντως ταχύτερη απ'ότι στα υπόλοιπα διηθητικά καρκινώματα. Ο δείκτης εμφανίζεται πίο αυξημένος στα ΤΜΚ(60±10%) απ'ότι στα ΑΜΚ(40±15%). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρείται και μεταξύ ρ53(+)(55%) και ρ53(-)(40%) ΜΚ. Σε σχέση με την ηλικία παρατηρείται ελάττωση του δείκτη με την αύξηση της ηλικίας, ενώ ο δείκτης σε ER(-)ΜΚ είναι σημαντικά αυξημένος σε σχέση με τα (+)(48%-20%).

1. Allred DC, Harvey JM, Berardo M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998 Feb;11(2):155-68. Review.
2. Amornmarn R, Bui MM, Prempre TB. Molecular predictive factors for local recurrence and distant metastasis of breast cancer after lumpectomy with postoperative radiation therapy. *Ann Clin Lab Sci.* 2000 Jan;30(1):33-40.
3. Bade AA, Tio J, Petru E. T1 breast cancer: identification of patients at low risk of axillary lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat.* 2002 Nov;76(1):11-7.
4. Beenken SW, Bland KI. Biomarkers for breast cancer. *Minerva Chir.* 2002 Aug;57(4):437-48.
5. Bhatavdekar JM, Patel DD, Shah NJ. Prognostic significance of immunohistochemically localized biomarkers in stage II and stage III breast cancer: a multivariate analysis. *Ann Surg Oncol.* 2000 May;7(4):305-11.
6. Bozcuk H, Uslu G, Pestereli E. Predictors of distant metastasis at presentation in breast cancer: a study also evaluating associations among common biological indicators. *Breast Cancer Res Treat.* 2001 Aug;68(3):239-48.
7. Chang J, Clark GM, Allred DC. Survival of patients with metastatic breast carcinoma: importance of prognostic markers of the primary tumor. *Cancer.* 2003 Feb 1;97(3):545-53.
8. Chang J, Powles TJ, Allred DC. Biologic markers as predictors of clinical outcome from systemic therapy for primary operable breast cancer. *J Clin Oncol.* 1999 Oct;17(10):3058-63.
9. Cocquyt VF, Schelfhout VR, Blondeel PN. The role of biological markers as predictors of response to preoperative chemotherapy in large primary breast cancer. *Med Oncol.* 2003;20(3):221-31.
10. Colleoni M, Orvieto E, Nole . Prediction of response to primary chemotherapy for operable breast cancer. *Eur J Cancer.* 1999 Apr;35(4):574-9.
11. Dahiya R, Deng G. Molecular prognostic markers in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;52(1-3):185-200. Review.
12. Daidone MG, Coradini D, Martelli G. Primary breast cancer in elderly women: biological profile and relation with clinical outcome. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2003 Mar;45(3):313-25.
13. Daidone MG, Veneroni S, Benini E. Biological markers as indicators of response to primary and adjuvant chemotherapy in breast cancer. *Int J Cancer.* 1999 Dec 22;84(6):580-6.
14. Diab SG, Elledge RM, Clark GM. Tumor characteristics and clinical outcome of elderly women with breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Apr 5;92(7):550-6.
15. Eppenberger-Castori S, Moore DH Jr, Thor AD. Age-associated biomarker profiles of human breast cancer. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002 Nov;34(11):1318-30.
16. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Jul;124(7):966-78. Review.
17. Harbeck N, Dettmar P, Thomssen C. Risk-group discrimination in node-negative breast cancer using invasion and proliferation markers: 6-year median follow-up. *Br J Cancer.* 1999 May;80(3-4):419-26.
18. Harbeck N, Dettmar P, Thomssen C. Prognostic impact of tumor biological factors on survival in node-negative breast cancer. *Anticancer Res.* 1998 May-Jun;18(3C):2187-97.
19. Honkoop AH, van Diest PJ, de Jong JS. Prognostic role of clinical, pathological and biological characteristics in patients with locally advanced breast cancer. *Br J Cancer.* 1998 Feb;77(4):621-6.
20. Keen JC, Davidson NE. The biology of breast carcinoma. *Cancer.* 2003 Feb 1;97(3 Suppl):825-33. Review.
21. Klorin G, Keren R. Prognostic evaluation of breast cancer in cytologic specimens. *Anal Quant Cytol Histol.* 2002 Feb;24(1):49-53.
22. Liu S, Edgerton SM, Moore DH. Measures of cell turnover (proliferation and apoptosis) and their association with survival in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2001 Jun;7(6):1716-23.
23. Makris A, Allred DC, Powles TJ. Cytological evaluation of biological prognostic markers from primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat.* 1997 May;44(1):65-74.
24. Masood S. The clinical significance of recognizing distinct morphologic and biologic features of hereditary breast cancer. *Breast J.* 2002 Mar-Apr;8(2):69.
25. Masood S. Assessment of prognostic factors in breast fine-needle aspirates. *Am J Clin Pathol.* 2000 May;113(5 Suppl 1):S84-96.
26. Mincey BA. Genetics and the management of women at high risk for breast cancer. *Oncologist.* 2003;8(5):466-73.
27. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G. Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg.* 2002 Jan;235(1):10-26.
28. Morabito A, Magnani E, Gion M. Prognostic and predictive indicators in operable breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 2003 Feb;3(6):381-90. Review.
29. Orucevic A, Reddy VB, Bloom KJ. Predictors of lymph node metastasis in T1 breast carcinoma, stratified by patient age. *Breast J.* 2002 Nov-Dec;8(6):349-55.

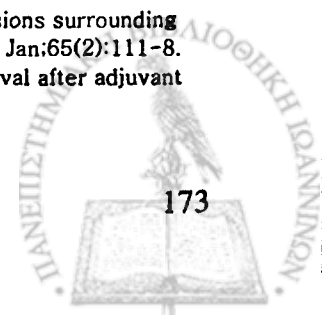
30. Ravaioli A, Bagli L, Zucchini A, Monti F. Prognosis and prediction of response in breast cancer: the current role of the main biological markers. *Cell Prolif.* 1998 Jun-Aug;31(3-4):113-26. Review.
31. Ring AE, Ellis PA. Predictors of response to systemic therapy in breast cancer. *Forum (Genova).* 2002;12(1):19-32. Review.
32. Rodrigues NA, Dillon D, Carter D. Differences in the pathologic and molecular features of intraductal breast carcinoma between younger and older women. *Cancer.* 2003 Mar 15;97(6):1393-403.
33. Silvestrini R. Proliferation markers in breast cancer. *Eur J Cancer.* 1993;29A(11):1501-2.
34. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S. Histological classification of invasive ductal carcinoma and the biological parameters in breast cancer. *Breast Cancer.* 2003;10(2):149-52.
35. Umemura S, Komaki K, Noguchi S. Prognostic Factors for Node-negative Breast Cancers: Results of a Study Program by the Japanese Breast Cancer Society. *Breast Cancer.* 1998 Jul 25;5(3):243-249.
36. Warnberg F, Nordgren H, Bergkvist L. Tumour markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. *Br J Cancer.* 2001 Sep 14;85(6):869-74.
37. Yang Q, Mori I, Sakurai T. Correlation between nuclear grade and biological prognostic variables in invasive breast cancer. *Breast Cancer.* 2001;8(2):105-10.

### P53

1. Adam D, Thompson AM. Correlation between p53 mutations and antibody staining in breast carcinoma. *Br J Surg.* 1994 Jul;81(7):1081.
2. Agarwal ML, Taylor WR, Chernov MV, Chernova OB, Stark GR. The p53 network. *J Biol Chem* 1998;273:1.
3. Aldaz CM, Hu Y, Daniel R. Serial analysis of gene expression in normal p53 null mammary epithelium. *Oncogene.* 2002 Sep 12;21(41):6366-76.
4. Albanell J, Bellmunt J, Molina R. Node-negative breast cancers with p53(-)/HER2-neu(-) status may identify women with very good prognosis. *Anticancer Res.* 1996 Mar-Apr;16(2):1027-32.
5. Alexiev BA, Bassarova AV, Popovska SL. Expression of c-erbB-2 oncogene and p53 tumor suppressor gene in benign and malignant breast tissue: correlation with proliferative activity and prognostic index. *Gen Diagn Pathol.* 1997 Jun;142(5-6):271-9.
6. Alexiev BA. Localization of p53 and proliferating cell nuclear antigen in fine-needle aspirates of benign and primary malignant tumors of the human breast: an immunocytochemical study using supersensitive monoclonal antibodies and the biotin-streptavidin-amplified method. *Diagn Cytopathol.* 1996 Nov;15(4):277-81.
7. Allred DC, Elledge R, Clark GM. The p53 tumor-suppressor gene in human breast cancer. *Cancer Treat Res.* 1994;71:63-77. Review
8. Allred DC, Clark GM, Elledge R. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1993 Feb 3;85(3):200-6.
9. Andersen TI, Holm R, Nesland JM, Heimdal KR. Prognostic significance of TP53 alterations in breast carcinoma. *Br J Cancer.* 1993 Sep;68(3):540-8.
10. Alsner J, Yilmaz M, Guldborg P. Heterogeneity in the clinical phenotype of TP53 mutations in breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2000 Oct;6(10):3923-31.
11. Atencio IA, Avanzini JB, Johnson D. Enhanced apoptotic activity of a p53 variant in tumors resistant to wild-type p53 treatment. *Mol Ther.* 2001 Jul;4(1):5-12.
12. Aziz SA, Pervez S, Khan S. Relationship of p53 expression with clinicopathological variables and disease outcome: a prospective study on 315 consecutive breast carcinoma patients. *Malays J Pathol.* 2001 Dec;23(2):65-71.
13. Barbareschi M, Pecciarini L, Cangi MG. p63, a p53 homologue, is a selective nuclear marker of myoepithelial cells of the human breast. *Am J Surg Pathol.* 2001 Aug;25(8):1054-60.
14. Barnes DM, Camplejohn RS. P53, apoptosis, and breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 1996 Apr;1(2):163-75. Review.
15. Bartley AN, Ross DW. Validation of p53 immunohistochemistry as a prognostic factor in breast cancer in clinical practice. *Arch Pathol Lab Med.* 2002 Apr;126(4):456-8.
16. Bautista S, Theillet C. p53 mutations in breast cancer: incidence and relations to tumor aggressiveness and evolution of the disease. *Pathol Biol (Paris).* 1997 Dec;45(10):882-92. Review.
17. Ben-Hur H, Mordechai E, Halperin R. Apoptosis-related proteins (Fas, Fas ligand, bcl-2 and p53) in different types of human breast tumors. *Oncol Rep.* 2002 Sep-Oct;9(5):977-80.
18. Berns EM, Foekens JA, Vossen R. Complete sequencing of TP53 predicts poor response to systemic therapy of advanced breast cancer. *Cancer Res.* 2000 Apr 15;60(8):2155-62.
19. Berns EM, De Witte HH, Klijn JG. Prognostic value of TP53 protein accumulation in human primary breast cancer: an analysis by luminometric immunoassay on 1491 tumor cytosols. *Anticancer Res.* 1997 Jul-Aug;17(4B):3003-6.

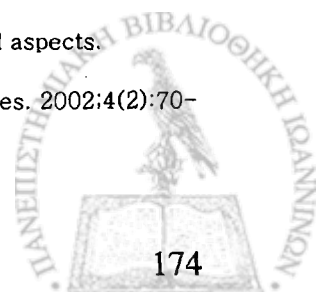
20. Beenken SW, Grizzle WE, Crowe DR. Molecular biomarkers for breast cancer prognosis: coexpression of c-erbB-2 and p53. *Ann Surg.* 2001 May;233(5):630-8.
21. Bellino R, Arisio R, D'Addato F. Metaplastic breast carcinoma: pathology and clinical outcome. *Anticancer Res.* 2003 Jan-Feb;23(1B):669-73.
22. Benini E, Silvestrini R, Daidone MG. Detection of P53 expression and S-phase cell fraction in paraffin-embedded tissue by a double-labeling technique. *J Histochem Cytochem.* 1995 Oct;43(10):999-1003.
23. Bergh J. Clinical studies of p53 in treatment and benefit of breast cancer patients. *Endocr Relat Cancer.* 1999 Mar;6(1):51-9. Review.
24. Bergh J, Norberg T, Sjogren S. Complete sequencing of the p53 gene provides prognostic information in breast cancer patients, particularly in relation to adjuvant systemic therapy and radiotherapy. *Nat Med.* 1995 Oct;1(10):1029-34.
25. Berns EM, Klijn JG, van Putten WL. p53 protein accumulation predicts poor response to tamoxifen therapy of patients with recurrent breast cancer. *J Clin Oncol.* 1998 Jan;16(1):121-7.
26. Bertheau P, Plassa F, Espie M. Effect of mutated TP53 on response of advanced breast cancers to high-dose chemotherapy. *Lancet.* 2002 Sep 14;360(9336):852-4.
27. Bhargava V, Thor A, Deng G. The association of p53 immunopositivity with tumor proliferation and other prognostic indicators in breast cancer. *Mod Pathol.* 1994 Apr;7(3):361-8.
28. Bonnefoi H, Ducraux A, Movarekhi S. p53 as a potential predictive factor of response to chemotherapy: feasibility of p53 assessment using a functional test in yeast from trucut biopsies in breast cancer patients. *Br J Cancer.* 2002 Mar 4;86(5):750-5.
29. Bonetti A, Zaninelli M, Leone R, et al. bcl-2 but not p53 expression is associated with resistance to chemotherapy in advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4:2331.
30. Borresen AL, Andersen TI, Eyfjord JE. TP53 mutations and breast cancer prognosis: particularly poor survival rates for cases with mutations in the zinc-binding domains. *Genes Chromosomes Cancer.* 1995 Sep;14(1):71-5.
31. Borg A, Lennerstrand J, Stenmark-Askmal M. Prognostic significance of p53 overexpression in primary breast cancer: a novel luminometric immunoassay applicable on steroid receptor cytosols. *Br J Cancer.* 1995 May;71(5):1013-7.
32. Borresen-Dale AL. TP53 and breast cancer. *Hum Mutat.* 2003 Mar;21(3):292-300. Review.
33. Bosari S, Lee AK, Viale G. Abnormal p53 immunoreactivity and prognosis in node-negative breast carcinomas with long-term follow-up. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1992;421(4):291-5.
34. Bottini A, Dogliotti L, Bersiga A, Brizzi MP. P53 Expression and disease outcome of breast cancer patients undergoing primary chemotherapy with anthracycline-containing regimens. *Ann Oncol.* 2003 Jul;14(7):1156.
35. Bottini A, Berruti A, Bersiga A. p53 but not bcl-2 immunostaining is predictive of poor clinical complete response to primary chemotherapy in breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2000 Jul;6(7):2751-8.
36. Brambilla E, Negoescu A. Analysis of Bax and Bcl-2 expression in p53-immunopositive breast cancers. *Clin Cancer Res.* 1997 Nov;3(11):2181-3.
37. Brodowicz T, Kandioler D, Tomek S. Anti-Her-2/neu antibody induces apoptosis in Her-2/neu overexpressing breast cancer cells independently from p53 status. *Br J Cancer.* 2001 Nov 30;85(11):1764-70.
38. Broet P, Spyrtos F, Romain S. Prognostic value of uPA and p53 accumulation measured by quantitative biochemical assays in 1245 primary breast cancer patients: a multicentre study. *Br J Cancer.* 1999 May;80(3-4):536-45.
39. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 1995 Sep;41(3):146-50.
40. Buchholz TA, Weil MM, Story MD. Tumor suppressor genes and breast cancer. *Radiat Oncol Investig.* 1999;7(2):55-65. Review.
41. Bukholm IK, Nesland JM, Karesen R. Expression of E-cadherin and its relation to the p53 protein status in human breast carcinomas. *Virchows Arch.* 1997 Nov;431(5):317-21.
42. Caffo O, Doglioni C, Veronese S. Prognostic value of p21(WAF1) and p53 expression in breast carcinoma: an immunohistochemical study in 261 patients with long-term follow-up. *Clin Cancer Res.* 1996 Sep;2(9):1591-9.
43. Caleffi M, Teague MW, Jensen RA. p53 gene mutations and steroid receptor status in breast cancer. Clinicopathologic correlations and prognostic assessment. *Cancer.* 1994 Apr 15;73(8):2147-56.
44. Castedo M, Perfettini JL, Roumier T. Cyclin-dependent kinase-1: linking apoptosis to cell cycle and mitotic catastrophe. *Cell Death Differ.* 2002 Dec;9(12):1287-93. Review.
45. Cattoretti G, Rilke F, Andreola S. P53 expression in breast cancer. *Int J Cancer.* 1988 Feb 15;41(2):178-83.

46. Chakravarty G, Redkar A, Mitra I. A comparative study of detection of p53 mutations in human breast cancer by flow cytometry, single-strand conformation polymorphism and genomic sequencing. *Br J Cancer*. 1996 Oct;74(8):1181-7.
47. Chang K, Ding I, Kern FG. Immunohistochemical analysis of p53 and HER-2/neu proteins in human tumors. *J Histochem Cytochem*. 1991 Sep;39(9):1281-7.
48. Chappuis PO, Estreicher A, Dieterich B. Prognostic significance of p53 mutation in breast cancer: frequent detection of non-missense mutations by yeast functional assay. *Int J Cancer*. 1999 Dec 22;84(6):587-93.
49. Charpin C, DeVicior B, Andrac L. p53 quantitative immunocytochemical analysis in breast carcinomas. *Hum Pathol*. 1995 Feb;26(2):159-66.
50. Chen SL, Wu YS, Shieh HY. P53 is a regulator of the metastasis suppressor gene Nm23-H1. *Mol Carcinog*. 2003 Apr;36(4):204-14.
51. Chen YH, Li CD, Yap EP. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCR-SSCP. *J Pathol*. 1995 Oct;177(2):129-34.
52. Chompret A. The Li-Fraumeni syndrome. *Biochimie*. 2002 Jan;84(1):75-82.
53. Ciesielski D, Dziewulska-Bokiniec A, Zoltowska A. p53 expression in breast cancer related to prognostic factors. *Neoplasma*. 1995;42(5):235-7.
54. Coles C, Condie A, Chetty U. p53 mutations in breast cancer. *Cancer Res*. 1992 Oct 1;52(19):5291-8.
55. Conway K, Edmiston SN, Cui L. Prevalence and spectrum of p53 mutations associated with smoking in breast cancer. *Cancer Res*. 2002 Apr 1;62(7):1987-95.
56. Cornelis RS, van Vliet M, van de Vijver MJ. Three germline mutations in the TP53 gene. *Hum Mutat*. 1997;9(2):157-63.
57. Cox LS, Lane DP. Tumor suppressors, kinases and clamps: how p53 regulates the cell cycle in response to DNA damage. *Bioessays* 1996;18:501.
58. Cullotta E, Koshland D. Molecules of the year: p53 sweeps through cancer research. *Science* 1993;262:1958.
59. Cunningham JM, Ingle JN, Jung SH. p53 gene expression in node-positive breast cancer: relationship to DNA ploidy and prognosis. *J Natl Cancer Inst*. 1994 Dec 21;86(24):1871-3.
60. Dalifard I, Daver A, Larra F. Cytosolic p53 protein and serum p53 autoantibody evaluation in breast cancer. Comparison with prognostic factors. *Anticancer Res*. 1999 Nov-Dec;19(6B):5015-22.
61. Davidoff AM, Iglehart JD, Marks JR. Immune response to p53 is dependent upon p53/HSP70 complexes in breast cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Apr 15;89(8):3439-42.
62. Davidoff AM, Herndon JE 2nd, Glover NS. Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. *Surgery*. 1991 Aug;110(2):259-64.
63. Davidoff AM, Kerns BJ, Pence JC. p53 alterations in all stages of breast cancer. *J Surg Oncol*. 1991 Dec;48(4):260-7.
64. De Cremoux P, Salomon AV, Liva S. p53 mutation as a genetic trait of typical medullary breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1999 Apr 7;91(7):641-3.
65. Degeorges A, de Roquancourt A, Extra JM. Is p53 a protein that predicts the response to chemotherapy in node negative breast cancer? *Breast Cancer Res Treat*. 1998 Jan;47(1):47-55.
66. De Jong JS, van Diest PJ, van der Valk P. Expression of growth factors, growth factor receptors and apoptosis related proteins in invasive breast cancer: relation to apoptotic rate. *Breast Cancer Res Treat*. 2001 Apr;66(3):201-8.
67. Dendale R, Vincent-Salomon A, Mouret-Fourme E. Medullary breast carcinoma: prognostic implications of p53 expression. *Int J Biol Markers*. 2003 Apr-Jun;18(2):99-105.
68. De Witte HH, Foekens JA, Lennerstrand J. Prognostic significance of TP53 accumulation in human primary breast cancer: comparison between a rapid quantitative immunoassay and SSCP analysis. *Int J Cancer*. 1996 Apr 22;69(2):125-30.
69. Diamandis EP, Levesque MA. Assessment of p53 overexpression by non-immunohistochemical methods. *J Pathol*. 1995 Jan;175(1):93-5.
70. Dillon DA, Hipolito E, Zheng K. p53 mutations as tumor markers in fine needle aspirates of palpable breast masses. *Acta Cytol*. 2002 Sep-Oct;46(5):841-7.
71. Dittadi R, Brazzale A, Mione R. Quantitative chemiluminescent immunoassay of p53: prognostic significance in 220 node-negative breast cancer tissue. *Anticancer Res*. 1997 Nov-Dec;17(6D):4691-6.
72. Domagala W, Striker G, Szadowska A, et al. p53 protein and vimentin in invasive ductal NOS breast carcinoma--relationship with survival and sites of metastases. *Eur J Cancer* 1994;30A:1527.
73. Domagala W, Harezga B, Szadowska A. Nuclear p53 protein accumulates preferentially in medullary and high-grade ductal but rarely in lobular breast carcinomas. *Am J Pathol*. 1993 Mar;142(3):669-74. Comment in: *Am J Pathol*. 1994 Jan;144(1):205.
74. Done SJ, Arneson CR, Ozcelik H. P53 protein accumulation in non-invasive lesions surrounding p53 mutation positive invasive breast cancers. *Breast Cancer Res Treat*. 2001 Jan;65(2):111-8.
75. Dublin EA, Miles DW, Rubens RD. p53 immunohistochemical staining and survival after adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Int J Cancer*. 1997 Dec 19;74(6):605-8.





76. Eeles RA, Warren W, Knee G. Constitutional mutation in exon 8 of the p53 gene in a patient with multiple primary tumours: molecular and immunohistochemical findings. *Oncogene*. 1993 May;8(5):1269-76.
77. El-Ahmady O, el-Salahy E, Mahmoud M. Multivariate analysis of bcl-2, apoptosis, P53 and HER-2/neu in breast cancer: a short-term follow-up. *Anticancer Res*. 2002 Jul-Aug;22(4):2493-9.
78. Bisinger F, Jacquemier J, Guinebretiere JM. p53 involvement in BRCA1-associated breast cancer. *Lancet*. 1997 Oct 11;350(9084):1101.
79. Eissa S, Labib R, Khalifa A. Regulators of apoptosis in human breast cancer. *Clin Biochem*. 1999 Jul;32(5):321-6.
80. Eissa S, Khalifa A, el-Gharib A. Multivariate analysis of DNA ploidy, p53, c-erbB-2 proteins, EGFR, and steroid hormone receptors for prediction of poor short term prognosis in breast cancer. *Anticancer Res*. 1997 Mar-Apr;17(2B):1417-23.
81. Elledge RM, Allred DC. Prognostic and predictive value of p53 and p21 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998;52(1-3):79-98. Review.
82. Elledge RM, Lock-Lim S, Allred DC. p53 mutation and tamoxifen resistance in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 1995 Oct;1(10):1203-8.
83. Elledge RM, Clark GM, Fuqua SA. p53 protein accumulation detected by five different antibodies: relationship to prognosis and heat shock protein 70 in breast cancer. *Cancer Res*. 1994 Jul 15;54(14):3752-7.
84. Elledge RM, Fuqua SA, Clark GM. Prognostic significance of p53 gene alterations in node-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1993;26(3):225-35.
85. Elledge RM, Lee W. Life and death of p53. *Bioessays* 1995;17:923.
86. Elledge RM, Allred DC. The p53 tumor suppressor gene in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1994;32(1):39-47. Review.
87. Eyfjord JE, Thorlacius S, Steinarsdottir M. p53 abnormalities and genomic instability in primary human breast carcinomas. *Cancer Res*. 1995 Feb 1;55(3):646-51.
88. Eyfjord JE, Thorlacius S, Valgardsdottir R. TP53 abnormalities and genetic instability in breast cancer. *Acta Oncol*. 1995;34(5):663-7.
89. Falette N, Paperin MP, Treilleux I. Prognostic value of P53 gene mutations in a large series of node-negative breast cancer patients. *Cancer Res*. 1998 Apr 1;58(7):1451-5.
90. Fan LZ, Cherman MG. Potential role of p53 on metallothionein induction in human epithelial breast cancer cells. *Br J Cancer*. 2002 Oct 21;87(9):1019-26.
91. Fernandez Acenero MJ, Farina Gonzalez J, Arangoncillo Ballesteros P. Immunohistochemical expression of p53 and c-erbB-2 in breast carcinoma: relation with epidemiologic factors, histologic features and prognosis. *Gen Diagn Pathol*. 1997 Jun;142(5-6):289-96.
92. Fernando SS, Wu X, McKenzie P. Immunohistochemical detection of p53 protein expression in mammary carcinoma: a study of 80 cases. *Pathology*. 1995 Oct;27(4):365-9.
93. Ferreira CG, Tolis C, Giaccone G. p53 and chemosensitivity. *Ann Oncol*. 1999 Sep;10(9):1011-21. Review.
94. Ferrero JM, Ramaioli A, Formento JL. P53 determination alongside classical prognostic factors in node-negative breast cancer: an evaluation at more than 10-year follow-up. *Ann Oncol*. 2000 Apr;11(4):393-7.
95. Fisher CJ, Gillett CE, Vojtesek B. Problems with p53 immunohistochemical staining: the effect of fixation and variation in the methods of evaluation. *Br J Cancer*. 1994 Jan;69(1):26-31.
96. Fresno M, Molina R, Perez del Rio MJ. p53 expression is of independent predictive value in lymph node-negative breast carcinoma. *Eur J Cancer*. 1997 Jul;33(8):1268-74.
97. Friedrich K, Dimmer V, Haroske G. Correlation between p53 status, DNA ploidy, proliferation rate and nuclear morphology in breast cancer. An image cytometric study. *Anal Cell Pathol*. 1997;15(2):85-97.
98. Friedrich K, Dimmer V, Haroske G. Morphological heterogeneity of p53 positive and p53 negative nuclei in breast cancers stratified by clinicopathological variables. *Anal Cell Pathol*. 1997;14(2):111-23.
99. Friedrichs K, Gluba S, Eidtmann H. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. *Cancer*. 1993 Dec 15;72(12):3641-7.
100. Furberg H, Millikan RC, Geradts J. Environmental factors in relation to breast cancer characterized by p53 protein expression. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Sep;11(9):829-35.
101. Galmarini CM, Kamath K, Vanier-Viorner A. Drug resistance associated with loss of p53 involves extensive alterations in microtubule composition and dynamics. *Br J Cancer*. 2003 Jun 2;88(11):1793-9.
102. Gartel AL, Feliciano C, Tyner AL. A new method for determining the status of p53 in tumor cell lines of different origin. *Oncol Res*. 2003;13(6-10):405-8.
103. Gasco M, Yulug IG, Crook T. TP53 mutations in familial breast cancer: functional aspects. *Hum Mutat*. 2003 Mar;21(3):301-6. Review.
104. Gasco M, Shami S, Crook T. The p53 pathway in breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2002;4(2):70-6. Epub 2002 Feb 12.

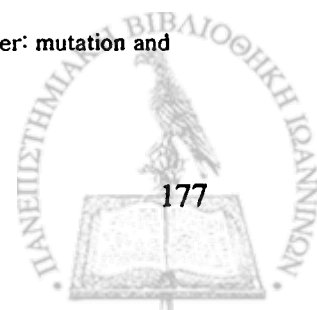


105. Gasparini G, Toi M, Verderio P. Prognostic significance of p53, angiogenesis, and other conventional features in operable breast cancer: subanalysis in node-positive and node-negative patients. *Int J Oncol.* 1998 May;12(5):1117-25.
106. Gasparini G, Weidner N, Bevilacqua P. Tumor microvessel density, p53 expression, tumor size and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant prognostic markers in node negative breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1994;12:454.
107. Gentile M, Bergman Jungstrom M, Olsen KE. p53 and survival in early onset breast cancer: analysis of gene mutations, loss of heterozygosity and protein accumulation. *Eur J Cancer.* 1999 Aug;35(8):1202-7.
108. Geradts J, Ingram CD. Abnormal expression of cell cycle regulatory proteins in ductal and lobular carcinomas of the breast. *Mod Pathol.* 2000 Sep;13(9):945-53.
109. Giannikaki E, Kouvidou C, Tzardi M. p53 protein expression in breast carcinomas. Comparative study with the wild type p53 induced proteins mdm2 and p21/waf1. *Anticancer Res.* 1997 May-Jun;17(3C):2123-7.
110. Gonzalez-Campora R, Galera Ruiz MR, Vazquez Ramirez. Apoptosis in breast carcinoma. *Pathol Res Pract.* 2000;196(3):167-74.
111. Gonzalez-Palacios F, Sancho M, Martinez JC. Microvessel density, p53 overexpression, and apoptosis in invasive breast carcinoma. *Mol Pathol.* 1997 Dec;50(6):304-9.
112. Gorczyca W, Markiewski M, Kram A. Immunohistochemical analysis of bcl-2 and p53 expression in breast carcinomas: their correlation with Ki-67 growth fraction. *Virchows Arch.* 1995;426(3):229-33.
113. Gretarsdottir S, Tryggvadottir L, Jonasson JG. TP53 mutation analyses on breast carcinomas: a study of paraffin-embedded archival material. *Br J Cancer.* 1996 Aug;74(4):555-61.
114. Gunther T, Schneider-Stock R, Rys J. p53 gene mutations and expression of p53 and mdm2 proteins in invasive breast carcinoma. A comparative analysis with clinico-pathological factors. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1997;123(7):388-94.
115. Gursan N, Karakok M, Sari I. The relationship between expression of p53/Bcl-2 and histopathological criteria in breast invasive ductal carcinomas. *Int J Clin Pract.* 2001 Nov;55(9):589-90.
116. Haerslev T, Jacobsen GK. An immunohistochemical study of p53 with correlations to histopathological parameters, c-erbB-2, proliferating cell nuclear antigen, and prognosis. *Hum Pathol.* 1995 Mar;26(3):295-301.
117. Hartmann A, Blaszyk H, McGovern RM. p53 gene mutations inside and outside of exons 5-8: the patterns differ in breast and other cancers. *Oncogene.* 1995 Feb 16;10(4):681-8.
118. Hensel M, Schneeweiss A, Sinn HP, Egerer G, Solomayer E, Haas R, Bastert G, Ho AD. P53 is the strongest predictor of survival in high-risk primary breast cancer patients undergoing high-dose chemotherapy with autologous blood stem cell support. *Int J Cancer.* 2002 Jul 20;100(3):290-6.
119. Henson DE. Loss of p53-immunostaining intensity in breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1996 Aug 7;88(15):1015-6.
120. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. *Br J Cancer.* 1996 Jan;73(1):29-35.
121. Hurlimann J. Prognostic value of p53 protein expression in breast carcinomas. *Pathol Res Pract.* 1993 Nov;189(9):996-1003.
122. Inga A, Storici F, Darden TA. Differential transactivation by the p53 transcription factor is highly dependent on p53 level and promoter target sequence. *Mol Cell Biol.* 2002 Dec;22(24):8612-25.
123. Ioakim-Liossi A, Karakitsos P, Markopoulos C. p53 protein expression and oestrogen and progesterone receptor status in invasive ductal breast carcinomas. *Cytopathology.* 2001 Jun;12(3):197-202.
124. Ioakim-Liossi A, Safioleas M, Karakitsos P. p53 protein expression and proliferative activity in ductal breast carcinomas. *Cytopathology.* 2000 Aug;11(4):255-61.
125. Ioakim-Liossi A, Karakitsos P, Markopoulos C. DNA content and p53 protein expression in ductal breast cancer. *Cytopathology.* 1997 Oct;8(5):322-7.
126. Itaya M, Yoshimoto J, Kojima K. Usefulness of p53 protein, Bcl-2 protein and Ki-67 as predictors of chemosensitivity of malignant tumors. *Oncol Rep.* 1999 May-Jun;6(3):675-82.
127. Jacquemier J, Moles JP, Penault-Llorca F. p53 immunohistochemical analysis in breast cancer with four monoclonal antibodies: comparison of staining and PCR-SSCP results. *Br J Cancer.* 1994 May;69(5):846-52.
128. Jensen RA, Page DL. p53: the promising story continues to unfold. *Hum Pathol.* 1993 May;24(5):455-6
129. Jerry DJ, Minter LM, Becker KA, Blackburn AC. Hormonal control of p53 and chemoprevention. *Breast Cancer Res.* 2002;4(3):91-4. Epub 2002 Mar 26.
130. Jerry DJ, Pinkas J, Kuperwasser C. Regulation of p53 and its targets during involution of the mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 1999 Apr;4(2):177-81. Review.
131. Johnson SM, Shaw JA, Walker RA. Sporadic breast cancer in young women: prevalence of loss of heterozygosity at p53, BRCA1 and BRCA2. *Int J Cancer.* 2002 Mar 10;98(2):205-9.



132. Kajiwaru M, Toyoshima S, Yao T. Apoptosis and cell proliferation in medullary carcinoma of the breast: a comparative study between medullary and non-medullary carcinoma using the TUNEL method and immunohistochemistry. *J Surg Oncol.* 1999 Apr;70(4):209-16.
133. Kalogeraki A, Garbagnati F, Santinami M, Zoras O. Proliferative activity (Ki-67), WT p53, Bcl-2 expression and their relationship to the tumor grade, in invasive ductal breast carcinomas. *In Vivo.* 2002 Mar-Apr;16(2):141-4.
134. Kalfon B, Fineberg S, Gu Y. Microvessel density and p53 overexpression in young women with breast cancer: a case-control study. *Clin Breast Cancer.* 2001 Apr;2(1):67-72.
135. Karameris AM, Worthy E, Gorgoulis VG. p53 gene alterations in special types of breast carcinoma: a molecular and immunohistochemical study in archival material. *J Pathol.* 1995 Aug;176(4):361-72.
136. Kastan MB, Zambetti GP. Paracrine p53 in the cytoplasm. *Cell.* 2003 Jan 10;112(1):1-2.
137. Kato T, Kameoka S, Kimura T. p53, mitosis, apoptosis and necrosis as prognostic indicators of long-term survival in breast cancer. *Anticancer Res.* 2002 Mar-Apr;22(2B):1105-12.
138. Kato T, Kameoka S, Kimura T. Angiogenesis and blood vessel invasion as prognostic indicators for node-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2001 Feb;65(3):203-15.
139. Katoh A, Breier S, Stemmler N. p53 protein expression in human breast carcinoma: lack of prognostic potential for recurrence of the disease. *Anticancer Res.* 1996 May-Jun;16(3A):1301-4.
140. Kerns BJ, Jordan PA, Moore MB. p53 overexpression in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue detected by immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem.* 1992 Jul;40(7):1047-51.
141. Kesari AL, Chellam VG, Nair PP. p53 tumor suppressor protein and tissue proliferative fraction in infiltrating duct carcinoma. *J Surg Oncol.* 1997 Jul;65(3):159-63.
142. Keshava C, Frye BL, Wolff MS. Waf-1 (p21) and p53 polymorphisms in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002 Jan;11(1):127-30.
143. Khaliq T, Afghan S, Naqi A. P53 mutations in carcinoma breast--a clinicopathological study. *J Pak Med Assoc.* 2001 Jun;51(6):210-3.
144. Kim MK, Park YG, Gong G. Breast cancer, serum antioxidant vitamins, and p53 protein overexpression. *Nutr Cancer.* 2002;43(2):159-66.
145. Kleihues P, Schauble B, zur Hausen A. Tumors associated with p53 germline mutations: a synopsis of 91 families. *Am J Pathol.* 1997 Jan;150(1):1-13. Review.
146. Kristen P, Muller JG, Caffier H. Prognostic relevance of p53 in node negative breast cancer. *Anticancer Res.* 1997 Jul-Aug;17(4B):2869-71.
147. Lai H, Lin L, Nadji M. Mutations in the p53 tumor suppressor gene and early onset breast cancer. *Cancer Biol Ther.* 2002 Jan-Feb;1(1):31-6.
148. Lampe B, Hantschmann P, Dimpfl T. Prognostic relevance of immunohistology, tumor size and vascular space involvement in axillary node negative breast cancer. *Arch Gynecol Obstet.* 1998;261(3):139-46.
149. Landberg G, Roos G. The cell cycle in breast cancer. *APMIS.* 1997 Aug;105(8):575-89. Review.
150. Lee JS, Kim HS, Jung JJ. Expression of vascular endothelial growth factor in invasive ductal carcinoma of the breast and the relation to angiogenesis and p53 and HER-2/neu protein expression. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2002 Dec;10(4):289-95.
151. Legros Y, Lacabanne V, d'Agay MF. Production of human p53 specific monoclonal antibodies and their use in immunohistochemical studies of tumor cells. *Bull Cancer.* 1993 Feb;80(2):102-10.
152. Lenner P, Wiklund F, Emdin SO. Serum antibodies against p53 in relation to cancer risk and prognosis in breast cancer: a population-based epidemiological study. *Br J Cancer.* 1999 Feb;79(5-6):927-32.
153. Leonard CJ, Canman CE, Kastan MB. The role of p53 in cell-cycle control and apoptosis: implications for cancer. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Important advances in oncology 1995.* Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1995:33.
154. Leonardi E, Cristofori A, Caffo O. Cytometric DNA analysis and prognostic biomarkers in breast carcinoma. Expression of P53 product in the different ploidy classes. *Anal Cell Pathol.* 1997;15(1):31-45.
155. Leong AC, Hanby AM, Potts HW. Cell cycle proteins do not predict outcome in grade I infiltrating ductal carcinoma of the breast. *Int J Cancer.* 2000 Jan 20;89(1):26-31.
156. Levesque MA, Diamandis EP, Yu H. Quantitative analysis of mutant p53 protein in breast tumor cytosols and study of its association with other biochemical prognostic indicators in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1994;30(2):179-95.
157. Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997;88:323.
158. Ljungman M. Individual variation in p53 responsiveness. *J Natl Cancer Inst.* 2001 Jan 17;93(2):82-3.
159. Lilling G, Elena N, Sidi Y. p53-associated 3'-->5' exonuclease activity in nuclear and cytoplasmic compartments of cells. *Oncogene.* 2003 Jan 16;22(2):233-45.
160. Lipponen P. Apoptosis in breast cancer: relationship with other pathological parameters. *Endocr Relat Cancer.* 1999 Mar;6(1):13-6. Review.
161. Lipponen P, Aaltomaa S, Kosma VM. Apoptosis in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. *Eur J Cancer.* 1994;30A(14):2068-73.

162. Liu MC, Gelmann EP. P53 gene mutations: case study of a clinical marker for solid tumors. *Semin Oncol.* 2002 Jun;29(3):246-57.
163. Lohmann D, Ruhri C, Schmitt M. Accumulation of p53 protein as an indicator for p53 gene mutation in breast cancer. Occurrence of false-positives and false-negatives. *Diagn Mol Pathol.* 1993 Mar;2(1):36-41.
164. Longley DB, Latif T, Boyer J. The interaction of thymidylate synthase expression with p53-regulated signaling pathways in tumor cells. *Semin Oncol.* 2003 Jun;30(3 Suppl 6):3-9.
165. Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, Housman DE. p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell* 1993;74:957.
166. Lowe SW, Bodis S, McClatchey A, et al. p53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo. *Science* 1994;266:807.
167. MacGeoch C, Barnes DM, Newton JA. p53 protein detected by immunohistochemical staining is not always mutant. *Dis Markers.* 1993 Dec;11(5-6):239-50.
168. Makris A, Powles TJ, Allred DC. Quantitative changes in cytological molecular markers during primary medical treatment of breast cancer: a pilot study. *Breast Cancer Res Treat.* 1999 Jan;53(1):51-9.
169. Malkin D, Li FP, Strong LC, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 1990;250:1233.
170. Marchetti A, Buttitta F, Pellegrini S p53 mutations and histological type of invasive breast carcinoma. *Cancer Res.* 1993 Oct 1;53(19):4665-9. Marchetti A, Buttitta F, Pellegrini S. p53 mutations and histologic type of invasive breast carcinoma. A polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism and immunohistochemical analysis. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 Nov 30;698:114-9
171. Marsigliante S, Leo G, Mottaghi A. p53 associated with cathepsin D in primary breast cancer. *Int J Clin Lab Res.* 1993;23(2):102-8.
172. Martin AM, Kanetsky PA, Amirmani B. Germline TP53 mutations in breast cancer families with multiple primary cancers: is TP53 a modifier of BRCA1? *J Med Genet.* 2003 Apr;40(4):e34.
173. Martinazzi M. Expression of p53 oncoprotein in different histological types of breast carcinoma. *Am J Pathol.* 1994 Jan;144(1):205.
174. Martinazzi M, Crivelli F, Zampatti C Relationship between p53 expression and other prognostic factors in human breast carcinoma. An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol.* 1993 Sep;100(3):213-7.
175. Martinazzi M, Crivelli F, Zampatti C. Relationship between p53 expression and other prognostic factors in human breast carcinoma. An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol.* 1993 Sep;100(3):213-7.
176. Mazars R, Spinardi L, BenCheikh M. p53 mutations occur in aggressive breast cancer. *Cancer Res.* 1992 Jul 15;52(14):3918-23.
177. McCarthy NJ, Yang X, Linnoila IR. Microvessel density, expression of estrogen receptor alpha, MIB-1, p53, and c-erbB-2 in inflammatory breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2002 Dec;8(12):3857-62.
178. McGill G, Fisher DE. p53 and cancer therapy: a double-edged sword. *J Clin Invest* 1999;104:223.
179. MacGrogan G, Bonichon F, de Mascarel I. Prognostic value of p53 in breast invasive ductal carcinoma: an immunohistochemical study on 942 cases. *Breast Cancer Res Treat.* 1995;36(1):71-81.
180. McLaughlin R, O'Hanlon D, McHale T. Prognostic implications of p53 and bcl-2 expression in 108 women with stage two breast cancer. *Ir J Med Sci.* 2001 Jan-Mar;170(1):11-3.
181. Meenakshi A, Manoharan V. Studies on p53 immunolocalisation in breast cancer and its prognostic significance. *Hum Antibodies.* 1999;9(3):171-6.
182. Meng L, Lin L, Zhang H, Nassiri M Multiple mutations of the p53 gene in human mammary carcinoma. *Mutat Res.* 1999 Dec 7;435(3):263-9.
183. Merlo GR, Basolo F, Fiore L, Duboc L, Hynes NE. p53-dependent and p53-independent activation of apoptosis in mammary epithelial cells reveals a survival function of EGF and insulin. *J Cell Biol* 1995;128:1185.
184. Merlo GR, Venesio T, Taverna D. Growth suppression of normal mammary epithelial cells by wild-type p53. *Oncogene.* 1994 Feb;9(2):443-53.
185. Merlo GR, Bernardi A, Diella F. In primary human breast carcinomas mutations in exons 5 and 6 of the p53 gene are associated with a high S-phase index. *Int J Cancer.* 1993 Jun 19;54(4):531-5.
186. Metcalfe S, Wheeler TK, Picken S. P53 autoantibodies in 1006 patients followed up for breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2000;2(6):438-43. Epub 2000 Aug 21.
187. Michels JJ, Duigou F, Marnay J. Flow cytometry and quantitative immunohistochemical study of cell cycle regulation proteins in invasive breast carcinoma: prognostic significance. *Cancer.* 2003 Mar 15;97(6):1376-86.
188. Molina R, Segui MA, Climent MA. p53 oncoprotein as a prognostic indicator in patients with breast cancer. *Anticancer Res.* 1998 Jan-Feb;18(1B):507-11.
189. Moll UM, Riou G, Levine AJ. Two distinct mechanisms alter p53 in breast cancer: mutation and nuclear exclusion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Aug 1;89(15):7262-6.



190. Montero S, Guzman C, Vargas C. Prognostic value of cytosolic p53 protein in breast cancer. *Tumour Biol.* 2001 Sep-Oct;22(5):337-44.
191. Moudgil VK, Dinda S, Khattree N. Hormonal regulation of tumor suppressor proteins in breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2001 Jan-Mar;76(1-5):105-17.
192. Muller M, Wilder S, Bannasch D. p53 activates the CD95 (APO-1/Fas) gene in response to DNA damage by anticancer drugs. *J Exp Med.* 1998 Dec 7;188(11):2033-45.
193. Naidu R, Yadav M, Nair S. Immunohistochemical analysis of p53 expression in primary breast carcinomas. *Anticancer Res.* 1998 Jan-Feb;18(1A):65-70.
194. Nagai MA, Schaer Barbosa H, Zago MA. TP53 mutations in primary breast carcinomas from white and African-Brazilian patients. *Int J Oncol.* 2003 Jul;23(1):189-96.
195. Nayak BK, Baral RN, Das BR. p53 gene mutation in relation to p53 protein accumulation in male and female breast cancer. *Neoplasma.* 1996;43(5):305-10.
196. Niewiadomska H, Jeriorski A, Olborski B. The expression of the proliferating antigen Ki67, PCNA and products of suppressor gene p53 in primary invasive ductal breast carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 1998 Dec;17(4):503-10.
197. Nishimura R, Nagao K, Miyayama H. Higher plasma vascular endothelial growth factor levels correlate with menopause, overexpression of p53, and recurrence of breast cancer. *Breast Cancer.* 2003;10(2):120-8.
198. Nishimura R, Nagao K, Miyayama H. Apoptosis in breast cancer and its relationship to clinicopathological characteristics and prognosis. *J Surg Oncol.* 1999 Aug;71(4):226-34.
199. Noguchi S, Koyama H, Kasugai T. The possible prognostic significance of p53 immunostaining status of the primary tumor in patients developing local recurrence after breast-conserving surgery. *Oncology.* 1998 Sep-Oct;55(5):450-5.
200. Noguchi M. Overexpression of p53 and HER-2/neu proteins as prognostic markers in early stage breast cancer. *Ann Surg.* 1995 Apr;221(4):433-5.
201. Noguchi M, Kitagawa H, Kinoshita K. The relationship of p53 protein and lymph node metastases in invasive breast cancer. *Surg Today.* 1994;24(6):512-7.
202. Norberg T, Klaar S, Karf G. Increased p53 mutation frequency during tumor progression--results from a breast cancer cohort. *Cancer Res.* 2001 Nov 15;61(22):8317-21.
203. Norberg T, Lennerstrand J, Inganas M. Comparison between p53 protein measurements using the luminometric immunoassay and immunohistochemistry with detection of p53 gene mutations using cDNA sequencing in human breast tumors. *Int J Cancer.* 1998 Aug 21;79(4):376-83.
204. Norberg T, Jansson T, Sjogren S. Overview on human breast cancer with focus on prognostic and predictive factors with special attention on the tumour suppressor gene p53. *Acta Oncol.* 1996;35 Suppl 5:96-102. Review.
205. Oesterreich S, Fuqua SA. Tumor suppressor genes in breast cancer. *Endocr Relat Cancer.* 1999 Sep;6(3):405-19. Review.
206. Oh SJ, Jung JY, Shim SS. Identification of p53 gene mutations in breast cancers and their effects on transcriptional activation function. *Mol Cells.* 2000 Jun 30;10(3):275-80.
207. O'Hanlon DM, Kiely M, MacConmara M. An immunohistochemical study of p21 and p53 expression in primary node-positive breast carcinoma. *Eur J Surg Oncol.* 2002 Mar;28(2):103-7.
208. Orucevic A, Reddy VB, Bloom KJ. Predictors of lymph node metastasis in T1 breast carcinoma, stratified by patient age. *Breast J.* 2002 Nov-Dec;8(6):349-55.
209. Oshiro MM, Watts GS, Wozniak RJ. Mutant p53 and aberrant cytosine methylation cooperate to silence gene expression. *Oncogene.* 2003 Jun 5;22(23):3624-34.
210. Ostrowski JL, Sawan A, Henry L. p53 expression in human breast cancer related to survival and prognostic factors: an immunohistochemical study. *J Pathol.* 1991 May;164(1):75-81.
211. Overgaard J, Yilmaz M, Guldborg P. TP53 mutation is an independent prognostic marker for poor outcome in both node-negative and node-positive breast cancer. *Acta Oncol.* 2000;39(3):327-33.
212. Ozburn MA, Butel JS. Tumor suppressor p53 mutations and breast cancer: a critical analysis. *Adv Cancer Res.* 1995;66:71-141. Review.
213. Ozer E, Canda T, Kuyucuodlu F. p53 mutations in bilateral breast carcinoma. Correlation with Ki-67 expression and the mean nuclear volume. *Cancer Lett.* 1998 Jan 9;122(1-2):101-6.
214. Pal S, Datta K, Mukhopadhyay D. Central role of p53 on regulation of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) expression in mammary carcinoma. *Cancer Res.* 2001 Sep 15;61(18):6952-7.
215. Paradiso A, Tommasi S, Barletta A. Metastatic site and p53 primary tumor expression in previously untreated stage IV breast cancer patients. *Anticancer Res.* 1999 Sep-Oct;19(5C):4523-8.
216. Patel DD, Bhatavdekar JM, Chikhlikar PR. Node negative breast carcinoma: hyperprolactinemia and/or overexpression of p53 as an independent predictor of poor prognosis compared to newer and established prognosticators. *J Surg Oncol.* 1996 Jun;62(2):86-92.
217. Pellikainen MJ, Pekola TT, Ropponen KM. p21WAF1 expression in invasive breast cancer and its association with p53, AP-2, cell proliferation, and prognosis. *J Clin Pathol.* 2003 Mar;56(3):214-20.

218. Peyrat JP, Vanlemmens L, Fournier J. Prognostic value of p53 and urokinase-type plasminogen activator in node-negative human breast cancers. *Clin Cancer Res*. 1998 Jan;4(1):189-96.
219. Phillips HA. The role of the p53 tumour suppressor gene in human breast cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 1999;11(3):148-55. Review
220. Pietilainen T, Lipponen P, Aaltomaa S. Expression of p53 protein has no independent prognostic value in breast cancer. *J Pathol*. 1995 Nov;177(3):225-32.
221. Pizzi C, Panico L, De Marchis L. p53 expression is decreased in primary breast carcinomas with microsatellite instability. *Breast Cancer Res Treat*. 2002 Jun;73(3):257-66.
222. Pohl G, Rudas M, Taucher S. Expression of cell cycle regulatory proteins in breast carcinomas before and after preoperative chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2003 Mar;78(1):97-103.
223. Polyak K. Is p53 a breast cancer gene? *Cancer Biol Ther*. 2002 Jan-Feb;1(1):37-8.
224. Polyak K, Xia Y, Zweier JL, et al. A model for p53-induced apoptosis. *Nature* 1997;389:300.
225. Potzsch C, Voigtlander T, Lubbert M. P53 Germline mutation in a patient with Li-Fraumeni Syndrome and three metachronous malignancies. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2002 Aug;128(8):456-60. Epub 2002 Aug 10.
226. Powell BL, van Staveren IL, Roosken. Associations between common polymorphisms in TP53 and p21WAF1/Cip1 and phenotypic features of breast cancer. *Carcinogenesis*. 2002 Feb;23(2):311-5.
227. Powell BL, Bydder S, Grieu F. Prognostic value of TP53 gene mutation in adjuvant treated breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2001 Sep;69(1):65-8.
228. Powel B, Soong R, Iacopetta B. Prognostic significance of mutations to different structural and functional regions of the p53 gene in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2000 Feb;6(2):443-51.
229. Pratt MA, Niu MY. Bcl-2 controls caspase activation following a p53-dependent cyclin D1-induced death signal. *J Biol Chem*. 2003 Apr 18;278(16):14219-29. Epub 2002 Dec 11.
230. Prioleau J, Schnitt SJ. p53 antigen loss in stored paraffin slides. *N Engl J Med*. 1995 Jun 1;332(22):1521-2.
231. Rahko E, Blanco G, Soini Y. A mutant TP53 gene status is associated with a poor prognosis and anthracycline-resistance in breast cancer patients. *Eur J Cancer*. 2003 Mar;39(4):447-53.
232. Redondo M, Garcia J, Rodrigo I. Expression of bax and p53 proteins in the tumorigenesis and progression of breast carcinomas. *Tumour Biol*. 2003 Jan-Feb;24(1):23-31.
233. Regele S, Vogl FD, Kohler T. p53 autoantibodies can be indicative of the development of breast cancer relapse. *Anticancer Res*. 2003 Jan-Feb;23(1B):761-4.
234. Ribeiro-Silva A, Zambelli Ramalho LN, Britto Garcia S. The relationship between p63 and p53 expression in normal and neoplastic breast tissue. *Arch Pathol Lab Med*. 2003 Mar;127(3):336-40.
235. Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD. p53 in node-negative breast carcinoma: an immunohistochemical study of epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis. *J Clin Oncol*. 1995 Apr;13(4):821-30.
236. Rudolph P, Olsson H, Bonatz G. Correlation between p53, c-erbB-2, and topoisomerase II alpha expression, DNA ploidy, hormonal receptor status and proliferation in 356 node-negative breast carcinomas: prognostic implications. *J Pathol*. 1999 Jan;187(2):207-16.
237. Runnebaum IB, Yee JK, Kieback DG. Wild-type p53 suppresses the malignant phenotype in breast cancer cells containing mutant p53 alleles. *Anticancer Res*. 1994 May-Jun;14(3A):1137-44.
238. Runnenbaum IB, Nagarajan M, Bowman M. Mutations in p53 as potential molecular markers for human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Dec 1;88(23):10657-61.
239. Sangrajrang S, Arpornwirat W, Cheirsilpa A. Serum p53 antibodies in correlation to other biological parameters of breast cancer. *Cancer Detect Prev*. 2003;27(3):182-6.
240. Sasa M, Kondo K, Komaki K. p53 alteration correlates with negative ER, negative PgR, and high histologic grade in breast cancer. *J Surg Oncol*. 1994 May;56(1):46-50.
241. Schimmelpenninck H, Eriksson ET, Zetterberg A. Association of immunohistochemical p53 tumor suppressor gene protein overexpression with prognosis in highly proliferative human mammary adenocarcinomas. *World J Surg*. 1994 Nov-Dec;18(6):827-32; discussion 832-3.
242. Schmidt M, Bachhuber A, Victor A. p53 expression and resistance against paclitaxel in patients with metastatic breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2003 May;129(5):295-302. Epub 2003 Apr 25.
243. Schmitt FC, Soares R, Gobbi H. Microsatellite instability in medullary breast carcinomas. *Int J Cancer*. 1999 Aug 27;82(5):644-7.
244. Schulte-Hermann R, Bursch W, Marian B. Active cell death (apoptosis) and cellular proliferation as indicators of exposure to carcinogens. *IARC Sci Publ*. 1999;(146):273-85. Review.
245. Seewaldt VL, Mrozek K, Sigle R. Suppression of p53 function in normal human mammary epithelial cells increases sensitivity to extracellular matrix-induced apoptosis. *J Cell Biol*. 2001 Oct 29;155(3):471-86. Epub 2001 Oct 22.
246. Seitz S, Poppe K, Fischer J. Detailed deletion mapping in sporadic breast cancer at chromosomal region 17p13 distal to the TP53 gene: association with clinicopathological parameters. *Pathol*. 2001 Jul;194(3):318-26.

247. Selkirk JK, He C, Patterson R. Tumor suppressor p53 gene forms multiple isoforms: evidence for single locus origin and cytoplasmic complex formation with heat shock proteins. *Electrophoresis*. 1996 Nov;17(11):1764-71.
248. Seshadri R, Leong AS, McCaul K. Relationship between p53 gene abnormalities and other tumour characteristics in breast-cancer prognosis. *Int J Cancer*. 1996 Apr 22;69(2):135-41 Erratum in: *Int J Cancer* 1996 Aug 22;69(4):354.
249. Seth P, Katayose D, Li Z, Kim M. A recombinant adenovirus expressing wild type p53 induces apoptosis in drug-resistant human breast cancer cells: a gene therapy approach for drug-resistant cancers. *Cancer Gene Ther*. 1997 Nov-Dec;4(6):383-90.
250. Sjogren S, Ingnas M, Norberg T. The p53 gene in breast cancer: prognostic value of complementary DNA sequencing versus immunohistochemistry. *J Natl Cancer Inst*. 1996 Feb 21;88(3-4):173-82.
251. Silvestrini R, Daidone MG, Benini E. Validation of p53 accumulation as a predictor of distant metastasis at 10 years of follow-up in 1400 node-negative breast cancers. *Clin Cancer Res*. 1996 Dec;2(12):2007-13.
252. Silvestrini R, Rao S, Benini E. Immunohistochemical detection of p53 in clinical breast cancers: a look at methodologic approaches. *J Natl Cancer Inst*. 1995 Jul 5;87(13):1020.
253. Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, et al. The bcl-2 protein: a prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:499.
254. Silvestrini R, Benini E, Daidone MG. p53 as an independent prognostic marker in lymph node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*. 1993 Jun 16;85(12):965-70.
255. Simpson JF, Page DL. The p53 tumor suppressor gene in ductal carcinoma in situ of the breast. *Am J Pathol*. 2000 Jan;156(1):5-6. Review.
256. Sirvent JJ, Fortuno-Mar A, Olona M. Prognostic value of p53 protein expression and clinicopathological factors in infiltrating ductal carcinoma of the breast. A study of 192 patients. *Histol Histopathol*. 2001 Jan;16(1):99-106.
257. Sirvent JJ, Salvado MT, Santafe M. p53 in breast cancer. Its relation to histological grade, lymph node status, hormone receptors, cell-proliferation fraction (ki-67) and c-erbB-2. Immunohistochemical study of 153 cases. *Histol Histopathol*. 1995 Jul;10(3):531-9.
258. Smith PD, Crossland S, Parker G. Novel p53 mutants selected in BRCA-associated tumours which dissociate transformation suppression from other wild-type p53 functions. *Oncogene*. 1999 Apr 15;18(15):2451-9.
259. Srinivas P, Madhavan M, Ahamed I. Nm23H1 and p53 proteins are differentially correlated to metastasis in breast carcinoma. *Neoplasma*. 2002;49(4):225-30.
260. Stenmark-Askmal M, Gentile M, Wingren S. Protein accumulation and gene mutation of p53 in bilateral breast cancer. South-East Sweden Breast Cancer Group. *Acta Oncol*. 2001;40(1):56-62.
261. Stenmark-Askmal M, Stal O, Sullivan S. Cellular accumulation of p53 protein: an independent prognostic factor in stage II breast cancer. *Eur J Cancer*. 1994;30A(2):175-80.
262. Sullivan A, Yuille M, Repellin C. Concomitant inactivation of p53 and Chk2 in breast cancer. *Oncogene*. 2002 Feb 21;21(9):1316-24.
263. Susptsin EN, Buslov KG, Grigoriev MY. Evidence against involvement of p53 polymorphism in breast cancer predisposition. *Int J Cancer*. 2003 Jan 20;103(3):431-3. Review.
264. Takahashi M, Tonoki H, Tada M. Distinct prognostic values of p53 mutations and loss of estrogen receptor and their cumulative effect in primary breast cancers. *Int J Cancer*. 2000 Jan 20;89(1):92-9.
265. Takashima T, Onoda N, Ishikawa T. Proliferating cell nuclear antigen labeling index and p53 expression predict outcome for breast cancer patients with four or more lymph node metastases. *Int J Mol Med*. 2001 Aug;8(2):159-63.
266. Takikawa Y, Noguchi M, Kitagawa H. Immunohistochemical Detection of p53 and c-erbB-2 Proteins: Prognostic Significance in Operable Breast Cancer. *Breast Cancer*. 1994 Jul 30;P(P):17-23.
267. Tan P, Ho G, Ji C. Immunohistochemical expression of p53 protein in invasive breast carcinoma: clinicopathologic correlations. *Oncol Rep*. 1999 Sep-Oct;6(5):1159-63.
268. Tanyi J, Tory K, Bankfalvi A. Analysis of p53 mutation and cyclin D1 expression in breast tumors. *Pathol Oncol Res*. 1999;5(2):90-4.
269. Tas F, Yavuz E, Aydinler A. Angiogenesis and p53 protein expression in breast cancer: prognostic roles and interrelationships. *Am J Clin Oncol*. 2000 Dec;23(6):546-53.
270. Taylor HW. Correlation between p53 mutations and antibody staining in breast carcinoma. *Br J Surg*. 1994 Jul;81(7):1080-1.
271. Tessitore A, Di Rocco ZC, Cannita K. High sensitivity of detection of TP53 somatic mutations by fluorescence-assisted mismatch analysis. *Genes Chromosomes Cancer*. 2002 Sep;35(1):86-91.
272. Terry MB, Gammon MD, Ng-Mak D. p53 protein overexpression in relation to risk factors for breast cancer". *Am J Epidemiol*. 1998 Mar 1;147(5):511-2.
273. Thirion A, Rouanet P, Thezenas S. Interest of investigating p53 status in breast cancer by four different methods. *Oncol Rep*. 2002 Nov-Dec;9(6):1167-72.

274. Thomas MD, McIntosh GG, Anderson JJ. A novel quantitative immunoassay system for p53 using antibodies selected for optimum designation of p53 status. *J Clin Pathol.* 1997 Feb;50(2):143-7.
275. Thor AD, Yandell DW. Prognostic significance of p53 overexpression in node-negative breast carcinoma: preliminary studies support cautious optimism. *J Natl Cancer Inst.* 1993 Feb 3;85(3):176-7.
276. Thor AD, Moore DH II, Edgerton SM. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst.* 1992 Jun 3;84(11):845-55.
277. Thorlacius S, Thorgilsson B, Bjornsson J. TP53 mutations and abnormal p53 protein staining in breast carcinomas related to prognosis. *Eur J Cancer.* 1995 Oct;31A(11):1856-61.
278. Toillon RA, Chopin V, Jouy N. Normal breast epithelial cells induce p53-dependent apoptosis and p53-independent cell cycle arrest of breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2002 Feb;71(3):269-80.
279. Tsuda H, Hirohashi S. Association among p53 gene mutation, nuclear accumulation of the p53 protein and aggressive phenotypes in breast cancer. *Int J Cancer.* 1994 May 15;57(4):498-503.
280. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S. Prognostic significance of the coexpression of p53 protein and c-erbB2 in breast cancer. *Am J Surg.* 2003 Feb;185(2):165-7.
281. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, Kataoka A, Kinoshita J, Hachitanda Y. EGFR, c-erbB2 and p53 protein in the primary lesions and paired metastatic regional lymph nodes in breast cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2002 Jun;28(4):383-7.
282. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S. DNA aneuploidy in relation to the combination of analysis of estrogen receptor, progesterone receptor, p53 protein and epidermal growth factor receptor in 498 breast cancers. *Oncology.* 2002;63(1):48-55.
283. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S. Comparison of the immunohistochemical expression of EGFR, c-erbB2 and p53 protein between primary and recurrent breast cancer. *Breast Cancer.* 2002;9(2):111-7.
284. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S. Prognostic value of p53 protein expression in breast cancer: an immunohistochemical analysis of frozen sections in 514 Japanese women. *Breast Cancer.* 2001;8(3):194-201.
285. Umekita Y, Kobayashi K, Saheki T. Nuclear accumulation of p53 protein correlates with mutations in the p53 gene on archival paraffin-embedded tissues of human breast cancer. *Jpn J Cancer Res.* 1994 Aug;85(8):825-30.
286. Valgardsdottir R, Tryggvadottir L, Steinarsdottir M. Genomic instability and poor prognosis associated with abnormal TP53 in breast carcinomas. Molecular and immunohistochemical analysis. *APMIS.* 1997 Feb;105(2):121-30.
287. Van der Kooy K, Rookus MA, Peterse HL. p53 protein overexpression in relation to risk factors for breast cancer. *Am J Epidemiol.* 1996 Nov 15;144(10):924-33.
288. Vojtesek B, Kovarik J, Nenutil R. p53 protein overexpression associates with growth patterns rather than with metastasizing in operable breast cancer. *Neoplasma.* 1995;42(6):331-6.
289. Vojtesek B, Lane DP. Regulation of p53 protein expression in human breast cancer cell lines. *J Cell Sci.* 1993 Jul;105 ( Pt 3):607-12.
290. Vinyals A, Peinado MA, Gonzalez-Garrigues . Failure of wild-type p53 gene therapy in human cancer cells expressing a mutant p53 protein. *Gene Ther.* 1999 Jan;6(1):22-33.
291. Visscher DW, Sarkar FH, Shimoyama RK. Correlation between p53 immunostaining patterns and gene sequence mutations in breast carcinoma. *Diagn Mol Pathol.* 1996 Sep;5(3):187-93.
292. Visscher DW, Sarkar FH, Wykes S. Clinicopathologic significance of p53 immunostaining in adenocarcinoma of the breast. *Arch Pathol Lab Med.* 1993 Oct;117(10):973-6.
293. Wakasugi E, Kobayashi T, Tamaki Y. p21(Waf1/Cip1) and p53 protein expression in breast cancer. *Am J Clin Pathol.* 1997 Jun;107(6):684-91.
294. Wang T, Phang J. Effects of estrogen on apoptotic pathways in human breast cancer cell line MCF-7. *Cancer Res* 1995;55:2487.
295. Weston A, Wolff MS, Morabia A. True extended haplotypes of p53: indicators of breast cancer risk. *Cancer Genet Cytogenet.* 1998 Apr 15;102(2):153-4.
296. Wu K, Jiang SW, Couch FJ. p53 mediates repression of the BRCA2 promoter and down-regulation of BRCA2 mRNA and protein levels in response to DNA damage. *J Biol Chem.* 2003 May 2;278(18):15652-60. Epub 2003 Feb 18.
297. Wu GS, El-Deiry WS. p53 and chemosensitivity. *Nature Med* 1996;2:255.
298. Zaika AL, Kovalev S, Marchenko ND. Overexpression of the wild type p73 gene in breast cancer tissues and cell lines. *Cancer Res.* 1999 Jul 1;59(13):3257-63.
299. Zapata JM, Krajewska M, Krajewski S. Expression of multiple apoptosis-regulatory genes in human breast cancer cell lines and primary tumors. *Breast Cancer Res Treat.* 1998 Jan;47(2):129-40.
300. Zellars RC, Hilsenbeck SG, Clark GM. Prognostic value of p53 for local failure in mastectomy-treated breast cancer patients. *J Clin Oncol.* 2000 May;18(9):1906-13.
301. Zhang GJ, Kimijima I, Abe R. Apoptotic index correlates to bcl-2 and p53 protein expression, histological grade and prognosis in invasive breast cancers. *Anticancer Res.* 1998 May-Jun;18(3B):1989-98.



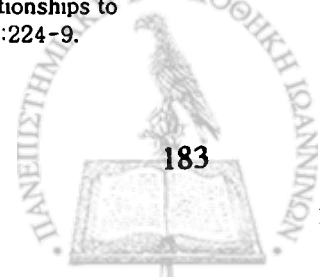


302. Zheng WQ, Zhan RZ. Quantitative comparison of apoptosis to cell proliferation and p53 protein in breast carcinomas. *Anal Quant Cytol Histol.* 1998 Feb;20(1):1-6.
303. Zhou Q, McCracken MA, Strobl JS. Control of mammary tumor cell growth in vitro by novel cell differentiation and apoptosis agents. *Breast Cancer Res Treat.* 2002 Sep;75(2):107-17.

### *MIB-1*

1. Aas T, Geisler S, Eide GE. Predictive value of tumour cell proliferation in locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Cancer.* 2003 Mar;39(4):438-46.
2. Amadori D, Silvestrini R. Prognostic and predictive value of thymidine labelling index in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;51(3):267-81. Review.
3. Aranda FI, Laforga JB. Cellular proliferation in breast ductal infiltrating carcinoma. Correlation with clinical and histopathological variables. *Pathol Res Pract.* 1997;193(10):683-8.
4. Barbareschi M, Caffo O, Doglioni C. p21WAF1 immunohistochemical expression in breast carcinoma: correlations with clinicopathological data, oestrogen receptor status, MIB1 expression, p53 gene and protein alterations and relapse-free survival. *Br J Cancer.* 1996 Jul;74(2):208-15.
5. Barbareschi M, Girlando S, Mauri FM. Quantitative growth fraction evaluation with MIB1 and Ki67 antibodies in breast carcinomas. *Am J Clin Pathol.* 1994 Aug;102(2):171-5.
6. Barzanti F, Dal Susino M, Volpi A. Comparison between different cell kinetic variables in human breast cancer. *Cell Prolif.* 2000 Apr;33(2):75-89.
7. Beck T, Weller EE, Weikel W. Usefulness of immunohistochemical staining for p53 in the prognosis of breast carcinomas: correlations with established prognosis parameters and with the proliferation marker, MIB-1. *Gynecol Oncol.* 1995 Apr;57(1):96-104.
8. Benini E, Rao S, Daidone MG. Immunoreactivity to MIB-1 in breast cancer: methodological assessment and comparison with other proliferation indices. *Cell Prolif.* 1997 Mar-Apr;30(3-4):107-15.
9. Biesterfeld S, Farokhzad F, Kluppel D. Improvement of breast cancer prognostication using cell kinetic-based silver-stainable nucleolar organizer region quantification of the MIB-1 positive tumor cell compartment. *Virchows Arch.* 2001 May;438(5):478-84.
10. Billgren AM, Tani E, Liedberg A. Prognostic significance of tumor cell proliferation analyzed in fine needle aspirates from primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2002 Jan;71(2):161-70.
11. Bottini A, Berruti A, Bersiga A. Relationship between tumour shrinkage and reduction in Ki67 expression after primary chemotherapy in human breast cancer. *Br J Cancer.* 2001 Oct 19;85(8):1106-12.
12. Brown RW, Allred CD, Clark GM. Prognostic value of Ki-67 compared to S-phase fraction in axillary node-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 1996 Mar;2(3):585-92.
13. Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology.* 1990 Dec;17(6):489-503. Review.
14. Buxant F, Anaf V, Simon P. Ki-67 immunostaining activity is higher in positive axillary lymph nodes than in the primary breast tumor. *Breast Cancer Res Treat.* 2002 Sep;75(1):1-3.
15. Castagnaro M, De Maria R, Bozzetta E. Ki-67 index as indicator of the post-surgical prognosis in feline mammary carcinomas. *Res Vet Sci.* 1998 Nov-Dec;65(3):223-6.
16. Chang J, Ormerod M, Powles TJ. Apoptosis and proliferation as predictors of chemotherapy response in patients with breast carcinoma. *Cancer.* 2000 Dec 1;89(11):2145-52.
17. Clahsen PC, van de Velde CJ, Duval C. The utility of mitotic index, oestrogen receptor and Ki-67 measurements in the creation of novel prognostic indices for node-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol.* 1999 Aug;25(4):356-63.
18. Clarke RB, Howell A, Potten CS. Dissociation between steroid receptor expression and cell proliferation in the human breast. *Cancer Res.* 1997 Nov 15;57(22):4987-91.
19. Cutrone JA, Yospur LS, Khalkhali I. Immunohistologic assessment of technetium-99m-MIBI uptake in benign and malignant breast lesions. *J Nucl Med.* 1998 Mar;39(3):449-53.
20. Dalquen P, Baschiera B, Chaffard R. MIB-1 (Ki-67) immunostaining of breast cancer cells in cytologic smears. *Acta Cytol.* 1997 Mar-Apr;41(2):229-37. Review.
21. Dettmar P, Harbeck N, Thomssen C. Prognostic impact of proliferation-associated factors MIB1 (Ki-67) and S-phase in node-negative breast cancer. *Br J Cancer.* 1997;75(10):1525-33.
22. Domagala W, Markiewski M, Harezga B. Prognostic significance of tumor cell proliferation rate as determined by the MIB-1 antibody in breast carcinoma: its relationship with vimentin and p53 protein. *Clin Cancer Res.* 1996 Jan;2(1):147-54.
23. El All HA, Ismail E, Abbas M. MIB-1 index, S-phase fraction, mitotic figure count, and SBR histologic grading in invasive breast carcinoma: a comparative study. *Breast J.* 2001 Mar-Apr;7(2):106-10.
24. Ellis PA, Makris A, Burton SA. Comparison of MIB-1 proliferation index with S-phase fraction in human breast carcinomas. *Br J Cancer.* 1996 Mar;73(5):640-3.
25. Gaglia P, Bernardi A, Venesio T. Cell proliferation of breast cancer evaluated by anti-BrdU and anti-Ki-67 antibodies: its prognostic value on short-term recurrences. *Eur J Cancer.* 1993;29A(11):1509-13.

26. Gee JM, Douglas-Jones A, Hepburn P. A cautionary note regarding the application of Ki-67 antibodies to paraffin-embedded breast cancers. *J Pathol.* 1995 Nov;177(3):285-93.
27. Gonzalez-Vela MC, Garijo MF, Fernandez F. MIB1 proliferation index in breast infiltrating carcinoma: comparison with other proliferative markers and association with new biological prognostic factors. *Histol Histopathol.* 2001 Apr;16(2):399-406.
28. Gonzalez-Vela MC, Garijo MF, Fernandez FA. Predictors of axillary lymph node metastases in patients with invasive breast carcinoma by a combination of classical and biological prognostic factors. *Pathol Res Pract.* 1999;195(9):611-8.
29. Goodson WH 3rd, Moore DH 2nd, Ljung BM. The prognostic value of proliferation indices: a study with in vivo bromodeoxyuridine and Ki-67. *Breast Cancer Res Treat.* 2000 Jan;59(2):113-23.
30. Gorisse MC, Venteo L, Pluot M. A method for simultaneous quantification of monoclonal antibody Ki-67 and DNA content by flow cytometry. Application to breast carcinomas. *Anal Quant Cytol Histol.* 1999 Feb;21(1):8-16.
31. Harbeck N, Dettmar P, Thomssen C. Prognostic impact of tumor biological factors on survival in node-negative breast cancer. *Anticancer Res.* 1998 May-Jun;18(3C):2187-97.
32. Harbeck N, Dettmar P, Thomssen Ch. Prognostic significance of the S-phase and MIB1 (Ki-67) proliferation parameters in node-negative breast carcinoma. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch.* 1995;35 Suppl 1:142-7.
33. Haerslev T, Jacobsen GK, Zedeler K.. Correlation of growth fraction by Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistochemistry with histopathological parameters and prognosis in primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat.* 1996;37(2):101-13.
34. Jansen RL, Hupperets PS, Arends JW. MIB-1 labelling index is an independent prognostic marker in primary breast cancer. *Br J Cancer.* 1998 Aug;78(4):460-5.
35. Jensen EV, Cheng G, Palmieri C. Estrogen receptors and proliferation markers in primary and recurrent breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Dec 18;98(26):15197-202. Epub 2001 Dec 04.
36. Jensen V, Jensen ML, Kiaer H. MIB-1 expression in breast carcinomas with medullary features. An immunohistological study including correlations with p53 and bcl-2. *Virchows Arch.* 1997 Aug;431(2):125-30.
37. Jeziorski A, Blonski JZ, Niewiadomska H. The expression of products of oncogenes c-erbB2 and EGFR and proliferating antigens Ki67 and PCNA in primary invasive ductal cancer of female breast. *J Exp Clin Cancer Res.* 2000 Mar;19(1):61-7.
38. Jones S, Clark G, Koleszar S. Low proliferative rate of invasive node-negative breast cancer predicts for a favorable outcome: a prospective evaluation of 669 patients. *Clin Breast Cancer.* 2001 Jan;1(4):310-4; discussion 315-7.
39. Ioachim E, Kamina S, Athanassiadou S. The prognostic significance of epidermal growth factor receptor (EGFR), C-erbB-2, Ki-67 and PCNA expression in breast cancer. *Anticancer Res.* 1996 Sep-Oct;16(5B):3141-7.
40. Itaya M, Yoshimoto J, Kojima K. Usefulness of p53 protein, Bcl-2 protein and Ki-67 as predictors of chemosensitivity of malignant tumors. *Oncol Rep.* 1999 May-Jun;6(3):675-82.
41. Kausch I, Lingnau A, Endl E. Antisense treatment against Ki-67 mRNA inhibits proliferation and tumor growth in vitro and in vivo. *Int J Cancer.* 2003 Jul 10;105(5):710-6.
42. Khanna AK, Tokuda Y, Shibuya M. Clinical and Histological Prognostic Factors in Axillary Node-Negative Breast Cancer: Univariate and Multivariate Analysis with Relation to 5-Year Recurrence. *Breast Cancer.* 1995 Apr 30;2(1):51-58.
43. Kajiwara M, Toyoshima S, Yao T. Apoptosis and cell proliferation in medullary carcinoma of the breast: a comparative study between medullary and non-medullary carcinoma using the TUNEL method and immunohistochemistry. *J Surg Oncol.* 1999 Apr;70(4):209-16.
44. Kennedy JC, el-Badawy N, DeRose PB. Comparison of cell proliferation in breast carcinoma using image analysis (Ki-67) and flow cytometric systems. *Anal Quant Cytol Histol.* 1992 Aug;14(4):304-11.
45. Keshgegian AA, Cnaan A. Proliferation markers in breast carcinoma. Mitotic figure count, S-phase fraction, proliferating cell nuclear antigen, Ki-67 and MIB-1. *Am J Clin Pathol.* 1995 Jul;104(1):42-9.
46. Lampe B, Hantschmann P, Dimpfl T. Prognostic relevance of immunohistology, tumor size and vascular space involvement in axillary node negative breast cancer. *Arch Gynecol Obstet.* 1998;261(3):139-46.
47. Leonardi E, Giraldo S, Serio G. PCNA and Ki67 expression in breast carcinoma: correlations with clinical and biological variables. *J Clin Pathol.* 1992 May;45(5):416-9.
48. Leers MP, Theunissen PH, Ramaekers FC. Multi-parameter flow cytometric analysis with detection of the Ki67-Ag in paraffin embedded mammary carcinomas. *Cytometry.* 1997 Mar 1;27(3):283-9.
49. Lehr HA, Hansen DA, Kussick S. Assessment of proliferative activity in breast cancer: MIB-1 immunohistochemistry versus mitotic figure count. *Hum Pathol.* 1999 Nov;30(11):1314-20.
50. Locker AP, Birrell K, Bell JA. Ki67 immunoreactivity in breast carcinoma: relationships to prognostic variables and short term survival. *Eur J Surg Oncol.* 1992 Jun;18(3):224-9.



51. MacGrogan G, Jollet I, Huet S. Comparison of quantitative and semiquantitative methods of assessing MIB-1 with the S-phase fraction in breast carcinoma. *Mod Pathol.* 1997 Aug;10(8):769-76.
52. Mack L, Kerkvliet N, Doig G. Relationship of a new histological categorization of ductal carcinoma in situ of the breast with size and the immunohistochemical expression of p53, c-erb B2, bcl-2, and ki-67. *Hum Pathol.* 1997 Aug;28(8):974-9.
53. Magno WB, Hirschfield L, Bhuiya T. Correlation of proliferative index (PCNA reactivity and Ki-67 reactivity) in primary breast carcinoma with hormone status, lymph node status, and disease-free survival. *Conn Med.* 1992 Dec;56(12):667-9.
54. Mandard AM, Denoux Y, Herlin P. Prognostic value of DNA cytometry in 281 premenopausal patients with lymph node negative breast carcinoma randomized in a control trial: multivariate analysis with Ki-67 index, mitotic count, and microvessel density. *Cancer.* 2000 Oct 15;89(8):1748-57.
55. Markiewski M, Domagala W. Immunohistochemical assessment of proliferation rate of breast carcinoma cells using Ki-67, MIB-1 and anti-PCNA monoclonal antibodies. *Pol J Pathol.* 1996;47(4):189-94.
56. Mir R, Johnson H Jr, Mathur R. Ki-67 reactivity in breast carcinoma analyzed by a computer-assisted image system: preliminary results. *J Natl Med Assoc.* 1995 Aug;87(8):554-9.
57. Mokbel K, Parris CN, Ghilchik M. The association between telomerase, histopathological parameters, and Ki-67 expression in breast cancer. *Am J Surg.* 1999 Jul;178(1):69-72.
58. Molino A, Micciolo R, Turazza M. Ki-67 immunostaining in 322 primary breast cancers: associations with clinical and pathological variables and prognosis. *Int J Cancer.* 1997 Aug 22;74(4):433-7.
59. Moriki T, Takahashi T, Kataoka H. Proliferation marker MIB-1 correlates well with proliferative activity evaluated by BrdU in breast cancer: an immunohistochemical study including correlation with PCNA, p53, c-erbB-2 and estrogen receptor status. *Pathol Int.* 1996 Dec;46(12):953-61.
60. Marchetti E, Querzoli P, Marzola A. Assessment of proliferative rate of breast cancer by Ki-67 monoclonal antibody. *Mod Pathol.* 1990 Jan;3(1):31-5.
61. Mandard AM, Denoux Y, Herlin P. Prognostic value of DNA cytometry in 281 premenopausal patients with lymph node negative breast carcinoma randomized in a control trial: multivariate analysis with Ki-67 index, mitotic count, and microvessel density. *Cancer.* 2000 Oct 15;89(8):1748-57.
62. Martinez-Arribas F, Nunez MJ, Piqueras V. Flow cytometry vs. Ki67 labelling index in breast cancer: a prospective evaluation of 181 cases. *Anticancer Res.* 2002 Jan-Feb;22(1A):295-8.
63. Molino A, Pedersini R, Micciolo R. Relationship between the thymidine labeling and Ki-67 proliferative indices in 126 breast cancer patients. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2002 Dec;10(4):304-9.
64. Monschke F, Muller WU, Winkler U. Cell proliferation and vascularization in human breast carcinomas. *Int J Cancer.* 1991 Dec 2;49(6):812-5.
65. Moriki T, Takahashi T, Kataoka H. Proliferation marker MIB-1 correlates well with proliferative activity evaluated by BrdU in breast cancer: an immunohistochemical study including correlation with PCNA, p53, c-erbB-2 and estrogen receptor status. *Pathol Int.* 1996 Dec;46(12):953-61.
66. Nakagomi H, Miyake T, Hada M. Prognostic and Therapeutic Implications of the MIB-1 Labeling Index in Breast Cancer. *Breast Cancer.* 1998 Jul 25;5(3):255-259.
67. Naldi N, Bozzetti C, Nizzoli R. Ki67 index and S-phase fraction on fine-needle aspirates from breast carcinomas. *Eur J Histochem.* 1997;41 Suppl 2:79-80.
68. Niezabitowski A, Lackowska B, Rys J. Flow cytometric evaluation of Ki67 proliferative antigen in primary breast cancer. *Pol J Pathol.* 1995;46(1):17-22.
69. Oda K, Yokoi S, Kanda H. Determination of growth fraction index in mammary carcinoma using MIB-1 monoclonal antibody: estimation of whole tumor proliferative potential using biopsy specimens. *Tokai J Exp Clin Med.* 1995 Jul;20(2):81-8.
70. Ostrowski ML, Chakraborty S, Laucirica R. Quantitative image analysis of MIB-1 immunoreactivity. A comparison with flow cytometric assessment of proliferative activity in invasive carcinoma of the breast. *Anal Quant Cytol Histol.* 1995 Feb;17(1):15-24.
71. Pence JC, Kizilbash AM, Kerns BJ. Proliferation index in various stages of breast cancer determined by Ki-67 immunostaining. *J Surg Oncol.* 1991 Sep;48(1):11-20.
72. Pierra JY, Leroyer A, Viehl P. Long term prognostic value of growth fraction determination by Ki-67 immunostaining in primary operable breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1996;37(1):57-64.
73. Pietilainen T, Lipponen P, Aaltomaa S. The important prognostic value of Ki-67 expression as determined by image analysis in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1996;122(11):687-92.
74. Pinto AE, Andre S, Pereira T. Prognostic comparative study of S-phase fraction and Ki-67 index in breast carcinoma. *J Clin Pathol.* 2001 Jul;54(7):543-9.
75. Pinder SE, Elston CW, Ellis IO. Proliferative activity in invasive breast carcinoma. *J Clin Pathol.* 1996 Nov;49(11):868-9.

76. Pinder SE, Wencyk P, Sibbering DM. Assessment of the new proliferation marker MIB1 in breast carcinoma using image analysis: associations with other prognostic factors and survival. *Br J Cancer*. 1995 Jan;71(1):146-9.
77. Querzoli P, Albonico G, Ferretti S. MIB-1 proliferative activity in invasive breast cancer measured by image analysis. *J Clin Pathol*. 1996 Nov;49(11):926-30. Comment in: *J Clin Pathol*. 1996 Nov;49(11):868-9.
78. Railo M. Prognostic factors in breast cancer--with special reference to Ki-67 immunohistochemistry. *Ann Chir Gynaecol*. 1998;87(3):243-4.
79. Railo M, Lundin J, Haglund C. Ki-67, p53, Er-receptors, ploidy and S-phase as prognostic factors in T1 node negative breast cancer. *Acta Oncol*. 1997;36(4):369-74.
80. Railo M, Nordling S, von Boguslawsky K. Prognostic value of Ki-67 immunolabelling in primary operable breast cancer. *Br J Cancer*. 1993 Sep;68(3):579-83.
81. Rudas M, Gnant MF, Mittlbock M. Thymidine labeling index and Ki-67 growth fraction in breast cancer: comparison and correlation with prognosis. *Breast Cancer Res Treat*. 1994;32(2):165-75.
82. Rudolph P, MacGrogan G, Bonichon F. Prognostic significance of Ki-67 and topoisomerase IIalpha expression in infiltrating ductal carcinoma of the breast. A multivariate analysis of 863 cases. *Breast Cancer Res Treat*. 1999 May;55(1):61-71.
83. Remmele W, Muhlfait V, Keul HG. Estimation of the proliferative activity of human breast cancer tissue by means of the Ki-67 and MIB-1 antibodies--comparative studies on frozen and paraffin sections. *Virchows Arch*. 1995;426(5):435-9.
84. Sahin AA, Ro J, Ro JY. Ki-67 immunostaining in node-negative stage I/II breast carcinoma. Significant correlation with prognosis. *Cancer*. 1991 Aug 1;68(3):549-57.
85. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*. 2000 Mar;182(3):311-22. Review.
86. Sikora J, Dworacki G, Trybus M. Correlation between DNA content, expression of Ki-67 antigen of tumor cells and immunophenotype of lymphocytes from malignant pleural effusions. *Tumour Biol*. 1998;19(3):196-204.
87. Singh Y, Nambu H, Yoshizawa K. Factors related to axillary lymph node metastasis in T1 breast carcinoma. *Oncol Rep*. 1998 Mar-Apr;5(2):459-62.
88. Spiethoff A, Schenck A, Bohrer M. Relationship of DNA ploidy to hormone receptor status and proliferation in invasive breast carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2000 Dec;126(12):707-10.
89. Spyrtos F, Ferrero-Pous M, Trassard M. Correlation between MIB-1 and other proliferation markers: clinical implications of the MIB-1 cutoff value. *Cancer*. 2002 Apr 15;94(8):2151-9. Review.
90. Steck K, Hunt K, Tucker S. Flow cytometric analysis of Ki-67 in invasive ductal carcinoma of the breast: correlation with tumor and patient characteristics. *Oncol Rep*. 1999 Jul-Aug;6(4):835-8.
91. Suthipintawong C, Leong AS, Chan KW. Immunostaining of estrogen receptor, progesterone receptor, MIB1 antigen, and c-erbB-2 oncoprotein in cytologic specimens: a simplified method with formalin fixation. *Diagn Cytopathol*. 1997 Aug;17(2):127-33.
92. Talley LI, Grizzle WE, Waterbor JW. Hormone receptors and proliferation in breast carcinomas of equivalent histologic grades in pre- and postmenopausal women. *Int J Cancer*. 2002 Mar 1;98(1):118-27.
93. Thor AD, Liu S, Moore DH 2nd. Comparison of mitotic index, in vitro bromodeoxyuridine labeling, and MIB-1 assays to quantitate proliferation in breast cancer. *J Clin Oncol*. 1999 Feb;17(2):470-7.
94. Trihia H, Murray S, Price K. Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors--a surrogate marker? *Cancer*. 2003 Mar 1;97(5):1321-31.
95. Tynninen O, von Boguslawski K, Aronen HJ. Prognostic value of vascular density and cell proliferation in breast cancer patients. *Pathol Res Pract*. 1999;195(1):31-7.
96. Van Dierendonck JH, Keijzer R, van de Velde CJ. Nuclear distribution of the Ki-67 antigen during the cell cycle: comparison with growth fraction in human breast cancer cells. *Cancer Res*. 1989 Jun 1;49(11):2999-3006.
97. Veronese SM, Maisano C, Scibilia J. Comparative prognostic value of Ki-67 and MIB-1 proliferation indices in breast cancer. *Anticancer Res*. 1995 Nov-Dec;15(6B):2717-22.
98. Veronese SM, Gambacorta M, Gottardi O. Proliferation index as a prognostic marker in breast cancer. *Cancer*. 1993 Jun 15;71(12):3926-31.
99. Veronese SM, Gambacorta M. Detection of Ki-67 proliferation rate in breast cancer. Correlation with clinical and pathologic features. *Am J Clin Pathol*. 1991 Jan;95(1):30-4.
100. Vielh P, Chevillard S, Mosseri V. Ki67 index and S-phase fraction in human breast carcinomas. Comparison and correlations with prognostic factors. *Am J Clin Pathol*. 1990 Dec;94(6):681-6.
101. Warnberg F, Nordgren H, Bergkvist L. Tumour markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. *Br J Cancer*. 2001 Sep 14;85(6):869-74.
102. Weidner N, Moore DH 2nd, Vartanian R. Correlation of Ki-67 antigen expression with mitotic figure index and tumor grade in breast carcinomas using the novel "paraffin"-reactive MIB1 antibody. *Hum Pathol*. 1994 Apr;25(4):337-42.
103. Weinstein MH. Assessment of proliferative activity in breast cancer: MIB-1 immunohistochemistry versus mitotic figure count. *Hum Pathol*. 2000 Apr;31(4):520-1.



104. Weikel W, Brumm C, Wilkens C. Growth fractions (Ki-67) in primary breast cancers, with particular reference to node-negative tumors. *Cancer Detect Prev.* 1995;19(5):446-50.
105. Wintzer HO, Zipfel I, Schulte-Monting J. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer.* 1991 Jan 15;67(2):421-8.
106. Wrba F, Chott A, Reiner A. Ki-67 immunoreactivity in breast carcinomas in relation to transferrin receptor expression, estrogen receptor status and morphological criteria. An immunohistochemical study. *Oncology.* 1989;46(4):255-9.
107. Yu CC, Dublin EA, Camplejohn RS. Optimization of immunohistochemical staining of proliferating cells in paraffin sections of breast carcinoma using antibodies to proliferating cell nuclear antigen and the Ki-67 antigen. *Anal Cell Pathol.* 1995 Jul;9(1):45-52.

# ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το παρόν βιβλίο αποτελεί μια συλλογή κειμένων που έχουν συγγραφεί από διάφορους συγγραφείς. Η συλλογή αυτή έχει ως σκοπό να προσφέρει στον αναγνώστη μια ολοκληρωμένη εικόνα των θεμάτων που αφορούν...

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Το ειδικό μέρος του βιβλίου περιλαμβάνει κείμενα που αναφέρονται σε συγκεκριμένα θέματα. Τα κείμενα αυτά έχουν συγγραφεί από τους συγγραφείς με στόχο να προσφέρουν στον αναγνώστη μια πιο βαθιά κατανόηση των θεμάτων που αφορούν...



## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Το υλικό της μελέτης περιλαμβάνει ιστολογικά παρασκευάσματα μυελοειδών καρκινωμάτων μαστού από 48 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν οι 40 από αυτές στο Νοσοκομείο-Μαιευτήριο «Έλενα Βενιζέλου» και οι 8 στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων στο χρονικό διάστημα από το 1985 μέχρι το 1999.

Τα περιστατικά που μελετήθηκαν προέρχονταν από το Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Νοσοκομείου-Μαιευτηρίου «Έλενα Βενιζέλου» (Διευθύντρια: Ε.Μπαϊρακτάρη-Κουρή) και από το Παθολογοανατομικό Τμήμα του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων (Διευθύντρια: Ν.Αγνάντη). Οι αναλύσεις της πλοειδίας του DNA έγιναν στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο-Τμήμα Μοριακής Βιολογίας του Γενικού Νοσοκομείου «Αμαλία Φλέμινγκ» (Διευθύντρια: Ε. Κόκκα). Οι ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις έγιναν στο Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του του Νοσοκομείου-Μαιευτηρίου «Έλενα Βενιζέλου».

Τα κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για να τεθεί η διάγνωση του μυελοειδούς καρκινώματος ήταν τα κριτήρια του Ridolfi. Παρόλο που κατά καιρούς έχουν διατυπωθεί διάφορες τροποποιήσεις τους, εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται από τα περισσότερα παθολογοανατομικά εργαστήρια, μιά και θεωρούνται τα πιο εύχρηστα και αναπαραγωγίμα. Τα κριτήρια αυτά για τις δύο βασικές ομάδες των ΜΚ, τα ΤΜΚ και τα ΑΜΚ είναι :

ΤΜΚ	ΑΜΚ
Συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης σε ποσοστό $\geq 75\%$ της καρκινικής μάζας	Συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης σε ποσοστό μεγαλύτερο από 75%
Λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση βαθμού 3 ή 4	Λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση βαθμού 1 ή 2 ή περιοριζόμενη στα όρια
Ομαλό περίγραμμα όγκου με τα χαρακτηριστικά «ωθούμενα» όρια	Περίγραμμα όγκου με εστιακή ή εκσεσημασμένη διήθηση
Μέτρια/αυξημένη (βαθμού 1 ή 2) πυρηνική πλειομορφία Μεγάλος αριθμός μιτώσεων	Πυρηνική πλειομορφία βαθμού 3
Απόλυτη απουσία μικροαδενικών σχηματισμών	Παρουσία μικροαδενικών σχηματισμών
Απουσία ενδοπορικού in situ καρκινώματος στην περιφέρεια	Παρουσία ενδοπορικού in situ καρκινώματος στην περιφέρεια
(Διάχυτη νέκρωση $>25\%$ της καρκινικής μάζας)	

Η απουσία του ενδοπορικού in situ καρκινώματος στην περιφέρεια δεν εξαιρεί έναν όγκο από την κατηγορία του ΑΜΚ αν πληρούνται τα υπόλοιπα κριτήρια. Επίσης το κριτήριο της νέκρωσης δεν ανήκει στα αρχικά κριτήρια του Ridolfi αλλά αποτελεί προσθήκη του Pedersen που συνήθως συνεκτιμάται λόγω της συχνής του εμφάνισης στα ΜΚ.

Στα παρασκευάσματα αυτά πραγματοποιήθηκαν :

- Εκτίμηση της πλοειδίας του DNA
- Ανοσοϊστοχημική ανίχνευση του ογκογονιδίου p53

- Ανοσοϊστοχημική εκτίμηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων με χρήση του αντισώματος MIB-1.

## ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΛΟΕΙΔΙΑΣ DNA

### Απομόνωση πυρήνων από κύβο παραφίνης

Η ανάλυση της πλοειδίας DNA έγινε σε πυρήνες καρκινωματοδών κυττάρων που αφαιρέθηκαν από ιστό μονιμοποιημένο σε φορμόλη και εμπεδωμένο σε παραφίνη. Οι πυρήνες απομονώθηκαν από τομές πάχους 20  $\mu\text{m}$  που είχαν τοποθετηθεί σε φιαλίδιο erpendorf 2 ml με το παρακάτω πρωτόκολλο:

- Αποπαραφίνωση των ιστών σε test tube heater 65° C
- Ξυλόλη, Οινόπνευμα 100 X2, Οινόπνευμα 96 X2
- Απεσταγμένο νερό 5 min
- Πεψίνη 0,1% σε 0,2 N HCl σε 37° C για 20 min
- Μηχανικός αποχωρισμός των κυττάρων με επεξεργασία του ιστού με το σύστημα medimachine (DAKO, Glostrup, Denmark) χρησιμοποιώντας τα κατάλληλα φίλτρα κατακράτησης πυρήνων
- Λήψη των πυρήνων με ειδική σύριγγα και άπλωμα σε πλακίδια θετικά φορτισμένα (Superfrost plus)
- Στέγνωμα των πλακιδίων στον αέρα.

### Χρώση Feulgen

Για την καταμέτρηση του πυρηνικού DNA με το σύστημα ανάλυσης εικόνας είναι απαραίτητη η χρώση αυτών με τη χρώση κατά Feulgen. Η χρώση αυτή βάφει επιλεκτικά τη χρωματίνη του πυρήνα και έτσι επιτρέπει τη φωτομετρική ποσοτικοποίηση του DNA με το σύστημα ανάλυσης εικόνας. Η τεχνική Feulgen που ακολουθήσαμε έχει ως εξής:

1. Τοποθέτηση των πλακιδίων σε διάλυμα HCL 5N για 60 min.
2. Διάλυμα χρώσης (thionin) για 60 min.
3. Εκπλυση πλακιδίων 3 φορές: 1X30 sec, 1X5 min και 1X10 min.
4. Εκπλυση πλακιδίων με απεσταγμένο νερό για 5 min.
5. Διάλυμα 1 % όξινης αλκοόλης για 5 min.
6. Απόλυτο οινόπνευμα 2X3 min.
7. Ξυλόλη 2X3 min.
8. Επικάλυψη με συνθετική ρεζίνη (permount).

### DNA Image analysis

Ο ποσοτικός φωτομετρικός προσδιορισμός του πυρηνικού DNA έγινε ακολούθως με το σύστημα ανάλυσης εικόνας CAS 200 (Cell Analysis Systems Inc., Elmhurst, IL, USA). Από κάθε περίπτωση μετρήθηκαν τουλάχιστον 150 κύτταρα. Από την καταμέτρηση αποκλείσθηκαν κύτταρα με αλληλοεπικαλυπτόμενους πυρήνες. Το σύστημα διαβαθμίσθηκε με τη βοήθεια τετραπλοειδικών κυττάρων ήπατος ποντικού (προσφέρεται από την εταιρεία CAS μαζί με το Kit χρώσης Feulgen) ώστε να ορισθεί η οπτική πυκνότητας των διπλοειδών κυττάρων που αντιστοιχεί σε 7,18  $\mu\text{g}$  DNA. Για τη μέτρηση της πλοειδίας DNA και τη δημιουργία ιστογραμμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Quantitative DNA Analysis software, version 3.0 (CAS). Τα καρκινώματα θεωρήθηκαν διπλοειδή εφ' όσον παρουσίαζαν δείκτη DNA (DNA index -DI) 0,9 - 1,1 και ανευπλοειδή εφ' όσον παρουσίαζαν οποιαδήποτε άλλη τιμή δείκτη DNA.



## ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ P53 ΚΑΙ MIB-1

Από κάθε δείγμα ιστού μονιμοποιημένου σε φορμόλη και εμπεδωμένου σε παραφίνη, χρησιμοποιήθηκαν επτά τομές στις οποίες έγινε χρώση για ανοσοαντίδραση με τα αντίστοιχα αντισώματα στο P53(DO7, Dako, Glostrup, Denmark) και στο MIB-1(Immunotec, Marseille, France) χρησιμοποιώντας την κλασική μέθοδο αβιτίνης-βιοτίνης(ABC). Το αντίσωμα LCA(leycocyte common antigen) που ταυτοποιεί τα λευκοκύτταρα, χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση για τον έλεγχο της ανοσοαντιδραστικότητας του ιστού.

Οι ιστοί αποπαραφινώθηκαν σε ξυλένη και επανυδατώθηκαν μέσα από αλκοολούχα διαλύματα. Κατόπιν επωάστηκαν για 2x5 λεπτά σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού άλατος(pH=6.0) εντός φούρνου μικροκυμάτων στα 800 Watt και αφέθηκαν να κρυώσουν σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια πλύθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα ορού TRIS(pH=7.4) και επωάστηκαν για 20 λεπτά σε διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό. Το αντίσωμα p53 χρησιμοποιήθηκε σε διάλυση 1:200 και το MIB-1 σε 1:100 με επώαση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ σαν συνδετικό μόριο χρησιμοποιήθηκε το αντίσωμα βιοτίνης της Dako σε διάλυση 1:100. Τελικά μετά από ξέπλυμα προστέθηκε το σύμπλεγμα αβιντίνης-βιοτίνης της Dako και χρησιμοποιήθηκε aminoethyl carbazole για οπτικοποίηση. Εξετάστηκαν κατά μέσο όρο 10-15 οπτικά πεδία με μετρήσιμο μέσο όρο 250 κυττάρων και παράλειψη των περιοχών νέκρωσης.

Η καταγραφή των ιστολογικών χαρακτήρων των όγκων και των χειρουργικών επεμβάσεων που εφαρμόστηκαν έγιναν από τις παθολογοανατομικές εκθέσεις. Η συλλογή των κλινικών χαρακτήρων καθώς και των στοιχείων της θεραπευτικής αγωγής, της εξέλιξης της νόσου και της κατάστασης των ασθενών στην πενταετία έγιναν από τα φύλλα νοσηλείας, τους φακέλους των ασθενών και από πληροφορίες που παρείχαν οι ίδιοι ή συγγενικά τους πρόσωπα.

### Στατιστικές αναλύσεις

Η αρχική στατιστική ανάλυση έχει βασισθεί σε πίνακες κατανομής συχνοτήτων των κατηγορικών μεταβλητών καθώς και σε δείκτες περιγραφικής στατιστικής (μέσος όρος, σταθερή απόκλιση, τυπικό σφάλμα, εκατοστη μόρια, εύρος τιμών) για τις συνεχείς παραμέτρους.

Η αξιολόγηση των MIB-1 και P53 μεταξύ των κατηγορικών παραμέτρων έχει βασισθεί στην  $\chi^2$  κατανομή, ενώ σε σχέση με τις συνεχείς παραμέτρους στην t-κατανομή.

Για την συνέκφραση των MIB-1 και P53 χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Mc Nemar.

Για την γραφική αναπαράσταση των παραπάνω παραμέτρων και συσχετίσεων χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα κυκλικά διαγράμματα καθώς και ραβδογράμματα.

Η κατανομή της καμπύλης επιβίωσης καθώς και η κατανομή της καμπύλης ελεύθερης νόσου επιβίωσης αξιολογήθηκαν αρχικά με μονοπαραγοντική στατιστική (log-rank test) και στην συνέχεια με το μοντέλο αναλογικού

κινδύνου κατά Cox, ενώ η γραφική αναπαράσταση των αντίστοιχων καμπυλών έγινε με βάση την μέθοδο κατά Kaplan-Meier. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας έχει τεθεί το 5%.

## **ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ**

### **Συχνότητα εμφάνισης μυελοειδών καρκινωμάτων μαστού**

Η συχνότητα εμφάνισης των μυελοειδών στο σύνολο των καρκινωμάτων του μαστού κυμαίνονταν στα έτη από 1985 μέχρι 1999 από 3,5% μέχρι 0,2%.

### **Τύπος καρκινώματος**

Από τα 48 συνολικά περιστατικά τα 26 ήταν ΤΜΚ(54,2%) και τα 22 ΑΜΚ (45,8%).

### **Ηλικία ασθενών**

Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα 52,4 έτη. Η ελάχιστη ηλικία που καταγράφηκε ήταν 29 έτη και η μέγιστη 79.

Στις δύο επιμέρους ομάδες των ΤΜΚ και ΑΜΚ διαπιστώθηκαν τα εξής : Στην ομάδα των ΤΜΚ η μέση ηλικία ήταν τα 53,1 έτη με ελάχιστη τιμή τα 29 έτη και μέγιστη τα 77. Στα ΑΜΚ η μέση ηλικία ήταν τα 51.6 έτη με εύρος από 33 μέχρι 79 έτη. Τα ΑΜΚ λοιπόν της μελέτης εμφανίστηκαν σε λίγο μικρότερες ηλικίες από τα ΤΜΚ.

### **Στοιχεία ατομικού αναμνηστικού των ασθενών**

Πλήρη στοιχεία από το ιστορικό συλλέχθηκαν σε 43 ασθενείς. Σε 5 ασθενείς τα στοιχεία ήταν ελλιπή.

#### **Στοιχεία εμμηνορυσιακής κατάστασης**

Οι 18 ασθενείς ήταν προεμμηνοπαυσιακές (40%) και οι 27 μετεμμηνοπαυσιακές (60%). Οι ηλικίες εμφάνισης εμμήνου ρύσεως ήταν τα 14 έτη σε 15 ασθενείς ( 33,3%), τα 13 έτη σε 11( 24,4%), τα 15 έτη σε 9( 20%), τα 16 σε 5(11,1%), τα 12 σε 3( 6,7%) και τέλος τα 17 έτη σε 2 ( 4,4%) ασθενείς.

#### **Τέκνα**

Σε 1 ασθενή δεν υπήρχαν στοιχεία. Από τις υπόλοιπες 47, οι 10 δεν είχαν παιδιά (21,3%), οι 6 1 παιδί (12,8%), οι 22 2 παιδιά (46,8%), οι 6 3 (12,8%) και τέλος 3 ασθενείς είχαν 4 παιδιά (6,4%).

#### **Κάπνισμα**

Από τις 48 ασθενείς, οι 18 ήταν καπνίστριες (39,1%), ενώ οι 28 όχι (60,9%).

#### **Αλκοόλ**

Από τις 48 ασθενείς, οι 9 ανέφεραν αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ (19,6%) και οι 37 όχι (80,4%).

#### **Ιστορικό λήψης οιστρογόνων**

Οι 12 ασθενείς (27,9%) είχαν στο ιστορικό τους λήψη οιστρογόνων, είτε με τη μορφή αντισυλληπτικών, είτε με την μορφή θεραπείας για πρόκληση ωορρηξίας. Οι 31 ασθενείς (72,1%) δεν ανέφεραν λήψη οιστρογόνων.

#### **Ιστορικό ινοκυστικής μαστοπάθειας**

Οι 13 ασθενείς είχαν θετικό ιστορικό για ινοκυστική μαστοπάθεια (27,1%), ενώ οι 35 ασθενείς αρνητικό (72,9%).

### **Οικογενειακό ιστορικό**

Θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο σε συγγενή (μητέρα-πατέρα-αδέρφια-παππούδες-γιαγιάδες) υπήρχε σε 17 ασθενείς (37%) : 8 περιστατικά με καρκίνο του μαστού, 3 περιστατικά με καρκίνο ωοθηκών, 3 περιστατικά με καρκίνο μήτρας, 2 με καρκίνο εντέρου και 1 περιστατικό με μελάνωμα άκρας χειρός.

### **Φάρμακα/Συνοδές παθήσεις**

Σε 8 ασθενείς δεν υπήρχαν πληροφορίες για συνοδές παθολογικές καταστάσεις και λήψη φαρμάκων. 4 ασθενείς ανέφεραν λήψη αντιυπερτασικών φαρμάκων, 1 ασθενής ιστορικό αρρυθμιών και λήψη αντιαρρυθμικών φαρμάκων, 1 ασθενής έπασχε από καρδιακή ανεπάρκεια, 2 από αλλεργικής αιτιολογίας βρογχικό άσθμα και τέλος 2 ασθενείς έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη ο οποίος στην 1 ασθενή ρυθμίζονταν με δίαιτα ενώ η άλλη έκανε χρήση ινσουλίνης.

### **Τύπος μαστού**

Σύμφωνα με τις παθολογοανατομικές εκθέσεις, 28 ασθενείς εμφάνιζαν λιπώδη μαστό, 13 ασθενείς παρεγχυματώδη, 2 ατροφικό ινώδη και 2 ασθενείς διάμεσο. Σε 3 ασθενείς δεν αναφέρονταν στην έκθεση ο τύπος του μαστού.

### **Κλινικοί χαρακτήρες του όγκου**

#### **Διάμετρος**

Η μέση διάμετρος των όγκων που εξετάστηκαν ήταν 3,01 εκ. Η ελάχιστη διάμετρος που σημειώθηκε ήταν 1 εκ. και η μέγιστη 11,5 εκ.

Όταν τα μυελοειδή διαχωρίστηκαν στις δύο επιμέρους ομάδες των τυπικών και άτυπων μυελοειδών διαπιστώθηκαν τα εξής : Στα μόν τυπικά μυελοειδή η μέση διάμετρος των όγκων ήταν 2,55 εκ. με ελάχιστη τιμή 1 εκ. και μέγιστη 5,5 εκ., ενώ στα άτυπα μυελοειδή η μέση διάμετρος ήταν 3,3 εκ. με την ελάχιστη που καταγράφηκε να είναι 1 εκ. και τη μέγιστη 11,5 εκ. Τα άτυπα μυελοειδή καρκινώματα της μελέτης ήταν μεγαλύτερα από τα τυπικά.

#### **Εντόπιση κατά τεταρτημόριο**

Στην πλειονότητα των περιπτώσεων ο όγκος εντοπίζονταν στο άνω-έξω τεταρτημόριο του μαστού (25 περιστατικά-52,1%). Ακολουθούν το κάτω-έξω τεταρτημόριο (8 περιστατικά-16,7%), το άνω-έσω (7-14,6%), το το κάτω-έσω τεταρτημόριο (6-12,5%) και η υποθηλαία περιοχή (2 περιστατικά-ποσοστό 4,2%).

#### **Αριθμός και επίπεδο διηθημένων λεμφαδένων**

Από τα 48 περιστατικά διηθημένους λεμφαδένες είχαμε σε 21 ασθενείς (43,8%) από τους οποίους οι 11 είχαν 1-3 θετικούς λεμφαδένες ενώ 10 ασθενείς είχαν περισσότερους από 3 διηθημένους λεμφαδένες. Σε 26 ασθενείς οι λεμφαδένες ήταν αρνητικοί (56,3%).

Σχετικά με το επίπεδο των λεμφαδενικών μεταστάσεων διαπιστώθηκαν τα εξής :

- Επίπεδο I : Λεμφαδένες επιπέδου I απομονώθηκαν σε 23 συνολικά ασθενείς από τους 48. Νεοπλασματική διήθηση καταγράφηκε σε 11 περιπτώσεις, από τις οποίες 4 αφορούσαν ΤΜΚ και 7 ΑΜΚ. Ο αριθμός των διηθημένων λεμφαδένων κυμαίνονταν από 1 μέχρι 3.
- Επίπεδο II : Λεμφαδένες επιπέδου II απομονώθηκαν και στους 48 ασθενείς. Διηθημένοι λεμφαδένες βρέθηκαν σε 20 περιπτώσεις, 10

από ΤΜΚ και 10 από ΑΜΚ και ο αριθμός τους ήταν από 1 μέχρι 9 λεμφαδένες.

- Επίπεδο III : Λεμφαδένες επιπέδου III παρασκευάστηκαν σε 22 ασθενείς. Διηθημένοι ήταν σε 10 περιπτώσεις, 5 ΤΜΚ και 5 ΑΜΚ. Ο αριθμός τους κυμαίνονταν από 1 μέχρι 3 λεμφαδένες.

Η κατανομή κατά επίπεδα είχε ως εξής :

- Μόνο επίπεδο I : Κανένα περιστατικό.
- Μόνο επίπεδο II : 7 συνολικά περιπτώσεις, 5 ΤΜΚ και 2 ΑΜΚ.
- Μόνο επίπεδο III : 1 ΤΜΚ.
- Επίπεδα I + II : 4 περιπτώσεις, 1 ΤΜΚ και 3 ΑΜΚ.
- Επίπεδα I + III : Κανένα περιστατικό.
- Επίπεδα II + III : 2 περιπτώσεις, 1 ΤΜΚ και 1 ΑΜΚ.
- Επίπεδα I + II + III : 7 περιπτώσεις, 3 ΤΜΚ και 4 ΑΜΚ.

### Ιστολογικοί χαρακτήρες του όγκου

#### **Περιφέρεια**

Η περιφέρεια ήταν ομαλή σε 37 περιστατικά από τα οποία τα 21 ήταν ΤΜΚ και τα 16 ΑΜΚ. Σε 4 περιπτώσεις ήταν ανώμαλη, 2 ΤΜΚ και 2 ΑΜΚ, διάμεση σε 6 περιστατικά, 2 ΤΜΚ και 4 ΑΜΚ, ενώ σε 1 περιστατικό δεν καταγράφηκε καμμία πληροφορία σχετικά με την περιφέρεια.

#### **Βαθμός κακοήθειας**

Ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας είναι 3 σε 38 περιστατικά (79,2%) από τα οποία τα 23 είναι ΤΜΚ και τα 15 είναι ΑΜΚ και 2 σε 10 περιστατικά (20,8%) από τα οποία τα 4 είναι ΤΜΚ και τα 6 ΑΜΚ.

#### **Λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση**

Διακρίναμε τρεις ομάδες αναφορικά με την λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση:

- Μέτρια διήθηση στην περιφέρεια : 17 ασθενείς (35,4%).
- Μέτρια διήθηση και στο κέντρο και στην περιφέρεια : 9 ασθενείς (18,8%).
- Εκσεσημασμένη διήθηση και στο κέντρο και στην περιφέρεια : 22 ασθενείς (45,8%).

#### **Νέκρωση**

Σε 16 περιπτώσεις διαπιστώθηκε νέκρωση εντός της καρκινικής μάζας (33,3%), στις υπόλοιπες 32 περιπτώσεις όχι (66,7%).

#### **Συνδετικός ιστός**

Σε 18 περιστατικά είχαμε ανάπτυξη συνδετικού ιστού στο στρώμα (38,3%) και σε 29 όχι (61,7%).

#### **Αγγειακή διήθηση**

Σε 20 από τα 48 περιστατικά διαπιστώθηκε διήθηση αγγείων από καρκινικά κύτταρα (42,6%). Σε 27 περιστατικά δεν υπήρχε τέτοιο εύρημα (57,4%), ενώ σε 1 περιστατικό δεν υπήρχε καμμία σχετική πληροφορία.

#### **Περικαρκινική λεμφαγγειακή διήθηση**

Σε 15 παρασκευάσματα είχαμε λεμφαγγειακή διήθηση από νεοπλασματικά κύτταρα (31,3%), ενώ σε 33 όχι (68,8%).

#### **EIC**

Σε 5 περιστατικά ταυτοποιήθηκε EIC (10,4%). Τα υπόλοιπα 43 παρασκευάσματα ήταν αρνητικά για τέτοιο εύρημα (89,6%).

### Ιστολογικά ευρήματα λεμφαδένων

Σε 28 περιπτώσεις υπήρχε λεμφαδενική υπερπλασία μετά βλαστικών κέντρων (58,3%). Σε 22 περιστατικά διαπιστώθηκε ιστοκυττάρωση (45,8%) και σε 4 περιστατικά υποκυττάρωση (8,3%).

### Ταξινόμηση κατά TNM

#### ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΤΑ ΣΤΑΔΙΟ TNM

T1N0M0 7	T2N0M0 18	T2N1M0 6	T2N2M0 5	T2N3M0 4	T2N3M1 1
T3N0M0 1	T3N2M0 1	T3N2M1 1	T3N3M0 1	T3N3M1 1	T4N3M1 2

ΣΤΑΔΙΑ	TNM	ΑΣΘΕΝΕΙΣ
1	T1N0M0	7
2A	T2N0M0	18
2B	T2N1M0 6 T3N0M0 1	7
3A	T2N2M0 5 T3N2M0 1	6
3B	T2N3M0 4 T3N3M0 1	5
4	T2N3M1 1 T3N2M1 1 T3N3M1 1 T4N3M1 2	5

### Προγνωστικός δείκτης NPI

Η κατάταξη των περιστατικών με βάση το NPI έχει ως εξής :

NPI		
	Αρ. Περιστατικών	Ποσοστό (%)
<3.4	3	6.3
3.4-4.39	10	20.8
4.4-5.39	14	29.2
>=5.4	21	43.8
Σύνολο	48	100.0

### Θεραπευτική αντιμετώπιση

#### Χειρουργική επέμβαση

Στους 48 ασθενείς εφαρμόστηκαν τρία είδη χειρουργικών επεμβάσεων :

- Μαστεκτομή : σε 22 ασθενείς (45,8%).
- Τμηματεκτομή-Λεμφαδενικός καθαρισμός μασχάλης: 20 ασθενείς (41,7%).
- Ογκεκτομή-Λεμφαδενικός καθαρισμός μασχάλης : 6 ασθενείς (12,5%).

Σε 2 ασθενείς (4,2%) τα όρια εκτομής βρέθηκαν διηθημένα. Στους υπόλοιπους 46 ασθενείς (95,8%) τα όρια εκτομής ήταν ελεύθερα καρκινικής διήθησης.

#### **Ακτινοθεραπεία**

18 συνολικά ασθενείς έλαβαν μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία (40%), 27 ασθενείς όχι (60%) και δεν είχαμε πληροφορίες σε 3 ασθενείς.

#### **Χημειοθεραπεία**

25 ασθενείς έλαβαν μετεγχειρητική χημειοθεραπεία (56,8%), 19 ασθενείς όχι (43,2%) και δεν είχαμε πληροφορίες σε 4 ασθενείς.

#### **Ορμονική θεραπεία**

Μετεγχειρητική θεραπεία με αντιοιστρογόνα έλαβαν 13 ασθενείς (28,3%). Σε 2 ασθενείς δεν υπήρχε σχετική πληροφορία και 33 ασθενείς δεν πήραν ορμονική θεραπεία (71,7%). Μπορούμε να υποθέσουμε (αν και αυτό δεν είναι απόλυτο) ότι τα ποσοστά αυτά αντιπροσωπεύουν και τους όγκους με θετικούς (28,3%) και αρνητικούς (71,7%) ορμονικούς υποδοχείς.

#### **Πλοειδία DNA**

Από τα 48 δείγματα μέτρηση του DNA index και προσδιορισμός της πλοειδίας ήταν εφικτός σε 40 περιπτώσεις. Σε 8 δείγματα δεν μπόρεσε να γίνει λόγω ανεπαρκούς υλικού. Αναλυτικά τα αποτελέσματα είχαν ως εξής :

- Ανευπλοειδικοί όγκοι =1 (ποσοστό 2.5%)
- Διπλοειδικοί όγκοι =4 (ποσοστό 9.5%)
- Υπερδιπλοειδικοί όγκοι =25 (ποσοστό 59.5%)
- Τετραπλοειδικοί όγκοι =6 (ποσοστό 14.3%)
- Υπερτετραπλοειδικοί όγκοι =7(ποσοστό 16.7%).

Το DNA index κατά μέσο όρο υπολογίστηκε στο 1.56 για τις 40 περιπτώσεις.

#### **P53**

Θετική ανοσοϊστοχημική ανίχνευση για p53 υπήρξε σε 31 παρασκευάσματα (75,6%), από τα οποία σε 21 περιπτώσεις η θετικότητα αφορούσε ποσοστό >50% της καρκινικής μάζας (51,2%) και σε 10 ποσοστό <50% (24,4%) αλλά πάντα >10% (αποτελέσε στην μελέτη το κριτικό όριο προκειμένου να χαρακτηριστεί ένα παρασκεύασμα σαν θετικό). Αρνητικά ήταν 10 από τα 48 παρασκευάσματα (24,4%), ενώ σε 7 περιπτώσεις δεν ήταν δυνατή η ταυτοποίηση λόγω ακατάλληλου δείγματος ή ανεπαρκούς υλικού.

#### **MIB-1**

Θετικότητα για το αντίσωμα MIB-1 αναγνωρίστηκε σε 24 παρασκευάσματα (58,5%). Σε 16 περιπτώσεις αφορούσε ποσοστό >20% της καρκινικής μάζας (19,5%) και σε 8 περιπτώσεις ποσοστό <20% (). 17 παρασκευάσματα ήταν αρνητικά (41,5%) ενώ σε 7 περιπτώσεις το υλικό χαρακτηρίστηκε σαν ακατάλληλο ή ανεπαρκές.

#### **Παρακολούθηση και έκβαση των ασθενών** **ΥΠΟΤΡΟΠΕΣ**

Σε 13 ασθενείς (27.0 %) σημειώθηκαν υποτροπές της νόσου. Αυτές ήταν είτε τοπικές δηλαδή επανεμφάνιση καρκίνου στον χειρουργημένο μαστό, είτε συστηματικές δηλαδή μεταστάσεις ηπατικές, οστικές και πνευμονικές.

### **Τοπικές**

Επανεμφάνιση καρκίνου στον ίδιο μαστό είχαμε σε 2 περιπτώσεις (4.1 %). Και στις δύο το δεύτερο καρκίνωμα ήταν του ίδιου τύπου με το πρώτο. Στην μία περίπτωση εμφανίστηκε 1.5 έτη μετά την αρχική επέμβαση (ογκεκτομή) και η ασθενής υποβλήθηκε σε συμπληρωματική επέμβαση (μαστεκτομή). Σημειώνεται ότι στην παθολογοανατομική έκθεση της αρχικής επέμβασης τα όρια εκτομής βρέθηκαν διηθημένα και η ασθενής είχε αντιμετωπιστεί μετεγχειρητικά με ακτινοβολήση της περιοχής. Στην δεύτερη περίπτωση η ασθενής εμφάνισε την νόσο 2.5 έτη μετά την αρχική επέμβαση (τμηματεκτομή) και αντιμετωπίστηκε όπως και η πρώτη ασθενής. Στην πενταετία και οι δύο παρέμεναν ελεύθερες νόσου.

### **Συστηματικές(μεταστάσεις)**

Μεταστάσεις παρουσιάστηκαν σε 11 συνολικά ασθενείς (22,9%). Αναλυτικά :

- Η ασθενής 4 εμφάνισε ηπατικές μεταστάσεις 2.5 έτη μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 3.5 έτη (1 έτος μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 5 εμφάνισε ηπατικές-πνευμονικές-οστικές μεταστάσεις 1.5 έτος μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 2 έτη (0.5 έτος μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 6 εμφάνισε οστικές μεταστάσεις 3 έτη μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 4.5 έτη (1.5 έτος μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 11 εμφάνισε πρώτα ηπατικές και 6 μήνες μετά οστικές μεταστάσεις 2 έτη μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 3 έτη (1 έτος μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 15 εμφάνισε πρώτα οστικές και 4 μήνες μετά πνευμονικές μεταστάσεις 3.5 έτη μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 4 έτη (0.5 έτη μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 24 εμφάνισε ηπατικές μεταστάσεις 1.5 έτος μετά την αρχική επέμβαση και απεβίωσε στα 2 έτη (3 μήνες μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 30 εμφάνισε ηπατικές πρώτα και 6 μήνες μετά πνευμονικές μεταστάσεις 2 έτη μετά την αρχική επέμβαση και απεβίωσε στα 2.8 έτη (8 μήνες μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 32 εμφάνισε πρώτα ηπατικές και 4 μήνες μετά οστικές μεταστάσεις 2.5 έτη μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 3 έτη (0.5 έτος μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 37 εμφάνισε πρώτα ηπατικές και 8 μήνες μετά οστικές μεταστάσεις 3 έτη μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 4.5 έτη (1.5 έτος μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 40 εμφάνισε πρώτα ηπατικές και 2 μήνες μετά οστικές μεταστάσεις 1.5 έτη μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 2 έτη (0.5 έτος μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).
- Η ασθενής 48 εμφάνισε πρώτα οστικές και 4 μήνες μετά πνευμονικές μεταστάσεις 2 έτη μετά την επέμβαση και απεβίωσε στα 2.5 έτη (0.5 έτος μετά την εμφάνιση των μεταστάσεων).

Συνολικά λοιπόν η τοπογραφική κατανομή των μεταστάσεων από τις οποίες απεβίωσαν οι ασθενείς έχει ως εξής :

- Ηπατικές : 2 ασθενείς

- Ηπατικές + Οστικές : 4
- Ηπατικές + Οστικές + πνευμονικές : 1
- Οστικές : 1
- Οστικές + Πνευμονικές : 2
- Ηπατικές + Πνευμονικές : 1

#### Θάνατοι

Στην πενταετία απεβίωσαν 11 ασθενείς από τη νόσο λόγω γενικευμένων μεταστάσεων (22.9%) και 1 ασθενής από καρδιακή ανεπάρκεια.

#### Πενταετής επιβίωση

37 ασθενείς παρέμεναν στην πενταετία ελεύθεροι νόσου (77.1%).

#### Καρκίνος στον ετερόπλευρο μαστό

2 ασθενείς εμφάνισαν πρωτοπαθές καρκίνωμα στον ετερόπλευρο μαστό, η μία 3.5 και η άλλη 4 έτη μετά την εμφάνιση μυελοειδούς καρκίνου στον άλλο μαστό.

### ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα βασικά συγκεντρωτικά δεδομένα που προκύπτουν από την ανάλυση των περιστατικών της μελέτης δίνονται στους παρακάτω πίνακες :

		DNA Index	Ηλικία (έτη)	Χρόνος έως Διάγνωση (μήνες)	Διάμετρος (cm)	NPI	Ηλικία Εναρξης Περιόδου
N		40	48	40	48	48	45
	Λείπουν	8	0	8	0	0	3
Mean		1.56	52.44	6.81	3.01	5.06	14.18
Std. Error of Mean		.08	1.84	.72	.25	.18	.19
Std. Deviation		.49	12.72	4.57	1.74	1.25	1.25
Minimum		.92	29.00	.50	1.00	3.20	12.00
Maximum		2.72	79.00	18.00	11.50	8.30	17.00
Percentiles	25	1.22	41.50	3.25	2.00	4.31	13.00
	50	1.37	51.50	6.00	2.75	4.68	14.00
	75	1.90	61.75	9.00	3.78	5.79	15.00

Πίνακας Α

Στον πίνακα Α φαίνεται ότι από τα στοιχεία της μελέτης οι ασθενείς κατά μέσο όρο ήταν ηλικίας 52.4 ετών με ηλικία εμμηναρχής τα 14.18 έτη. Οι όγκοι ήταν διαμέτρου 3.01 εκ., με NPI 5.06, DNA index 1.56 και η θεραπεία εφαρμόστηκε περίπου 6.8 μήνες μετά τη διάγνωση.

		ΧΡΟΝΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ (ΜΗΝΕΣ)
ΕΝ ΖΩΗ	N	37
	Mean	59.68
	Std. Error of Mean	.32
	Std. Deviation	1.97



	<b>Minimum</b>	48
	<b>Maximum</b>	60
	<b>Percentiles</b>	25 60.00
		50 60.00
		75 60.00
<b>ΘΑΝΑΤΟΣ</b>	<b>N</b>	11
	<b>Mean</b>	36.45
	<b>Std. Error of Mean</b>	3.56
	<b>Std. Deviation</b>	11.79
	<b>Minimum</b>	21
	<b>Maximum</b>	54
	<b>Percentiles</b>	25 24.00
		50 36.00
75 48.00		

Πίνακας Β

Στον πίνακα Β βλέπουμε ότι στο 75% των περιπτώσεων, οι ασθενείς παρέμεναν εν ζωή (και ελεύθεροι νόσου όπως φαίνεται από τον πίνακα Γ) στους 60 μήνες μετά την επέμβαση. Οι θάνατοι (11 τον αριθμό) συνέβησαν κατά μέσο όρο στους 36 μήνες μετά την επέμβαση, όπως επίσης και το 75% των υποτροπών (πίνακας Γ).

		<b>ΧΡΟΝΟΣ ΕΛ ΝΟΣΟΥ (ΜΗΝΕΣ)</b>
<b>ΥΠΟΤΡΟΠΗ</b>	<b>N</b>	14
	<b>Mean</b>	27.86
	<b>Std. Error of Mean</b>	2.32
	<b>Std. Deviation</b>	8.68
	<b>Minimum</b>	18
	<b>Maximum</b>	42
	<b>Percentiles</b>	25 18.00
		50 27.00
75 36.00		
<b>ΕΛ. ΝΟΣΟΥ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ</b>	<b>N</b>	34
	<b>Mean</b>	59.65
	<b>Std. Error of Mean</b>	.35
	<b>Std. Deviation</b>	2.06
	<b>Minimum</b>	48
	<b>Maximum</b>	60
	<b>Percentiles</b>	25 60.00
		50 60.00
75 60.00		

Πίνακας Γ

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Αφορούν παραμέτρους που σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετίζονται σε βαθμό στατιστικά σημαντικό με την κλινική πορεία και τη βιολογική συμπεριφορά των πορογενών διηθητικών καρκινωμάτων που καθορίζουν το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου (υποτροπές) και την επιβίωση. Στόχος της έρευνας είναι να διαπιστώσουμε αν οι παράγοντες αυτοί έχουν προγνωστική ισχύ και για την πορεία των μυελοειδών καρκινωμάτων.

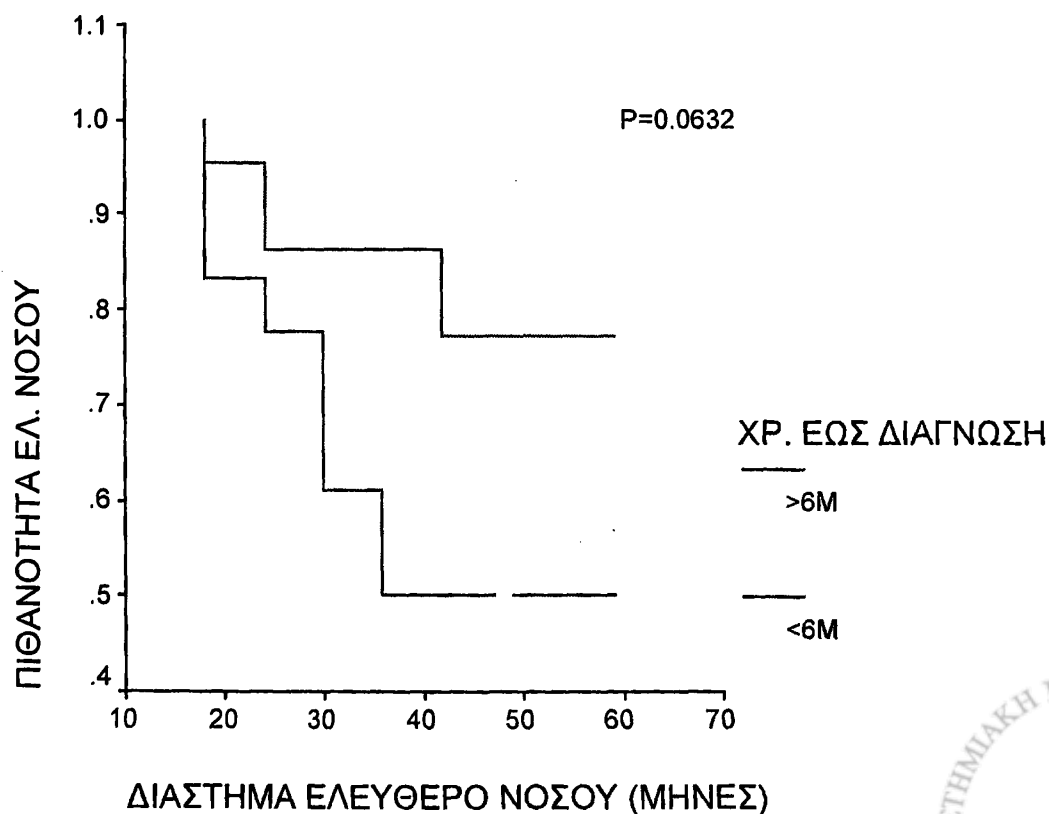
### Χρόνος μέχρι την διάγνωση της νόσου

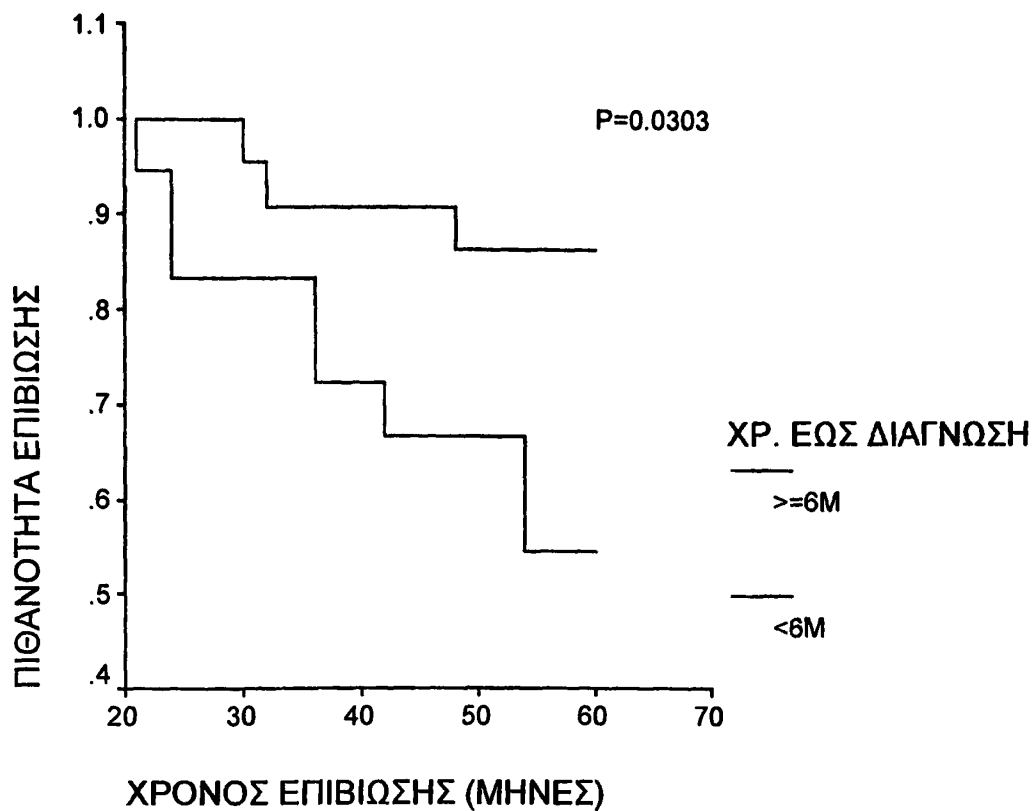
	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛ ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ
ΧΡ. ΜΕΧΡΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ $\leq 6$ ΜΗΝΕΣ	22	5	17	77.27
ΧΡ. ΜΕΧΡΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ $>6$ ΜΗΝΕΣ	18	9	9	50.00

Ο χρόνος μέχρι την διάγνωση της νόσου σχετίζεται με την πιθανότητα υποτροπής της νόσου ( $p=0.0632$ ). Οι περιπτώσεις με χρόνο διάγνωσης μικρότερο ή ίσο των έξι μηνών έχουν και μικρότερη πιθανότητα υποτροπής.

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
ΧΡ. ΜΕΧΡΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ $\leq 6$ ΜΗΝΕΣ	22	3	19	86.36
ΧΡ. ΜΕΧΡΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ $>6$ ΜΗΝΕΣ	18	8	10	55.56

Ο χρόνος μέχρι την διάγνωση της νόσου επηρεάζει την επιβίωση ( $p=0.0303$ ). Οι περιπτώσεις με χρόνο διάγνωσης μικρότερο ή ίσο των έξι μηνών έχουν καλύτερη επιβίωση.





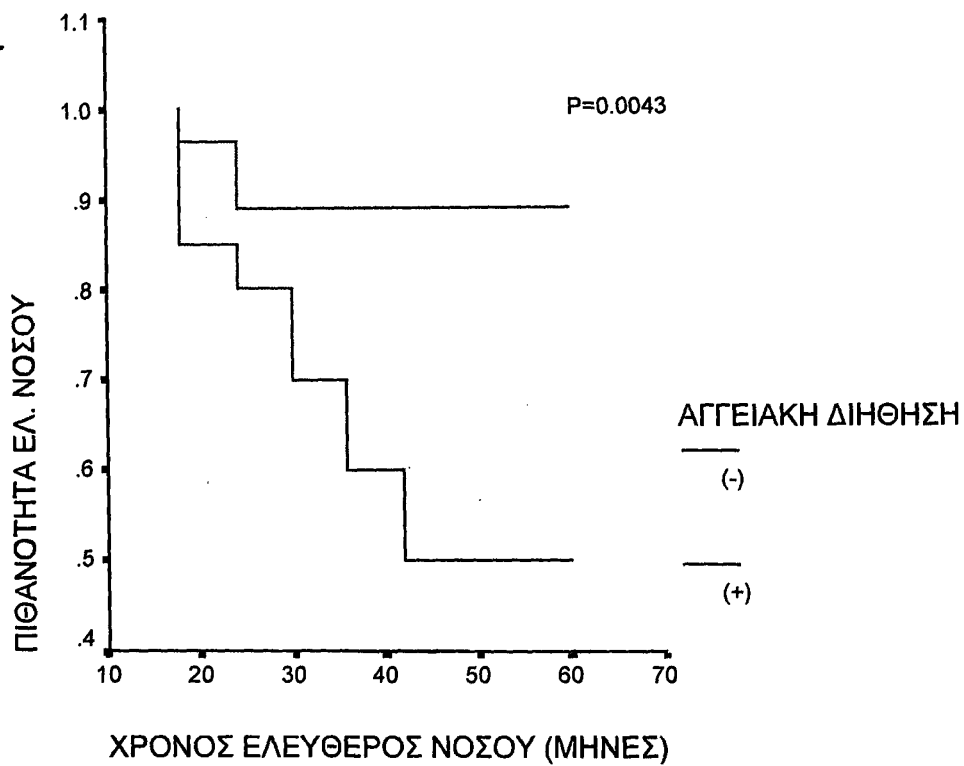
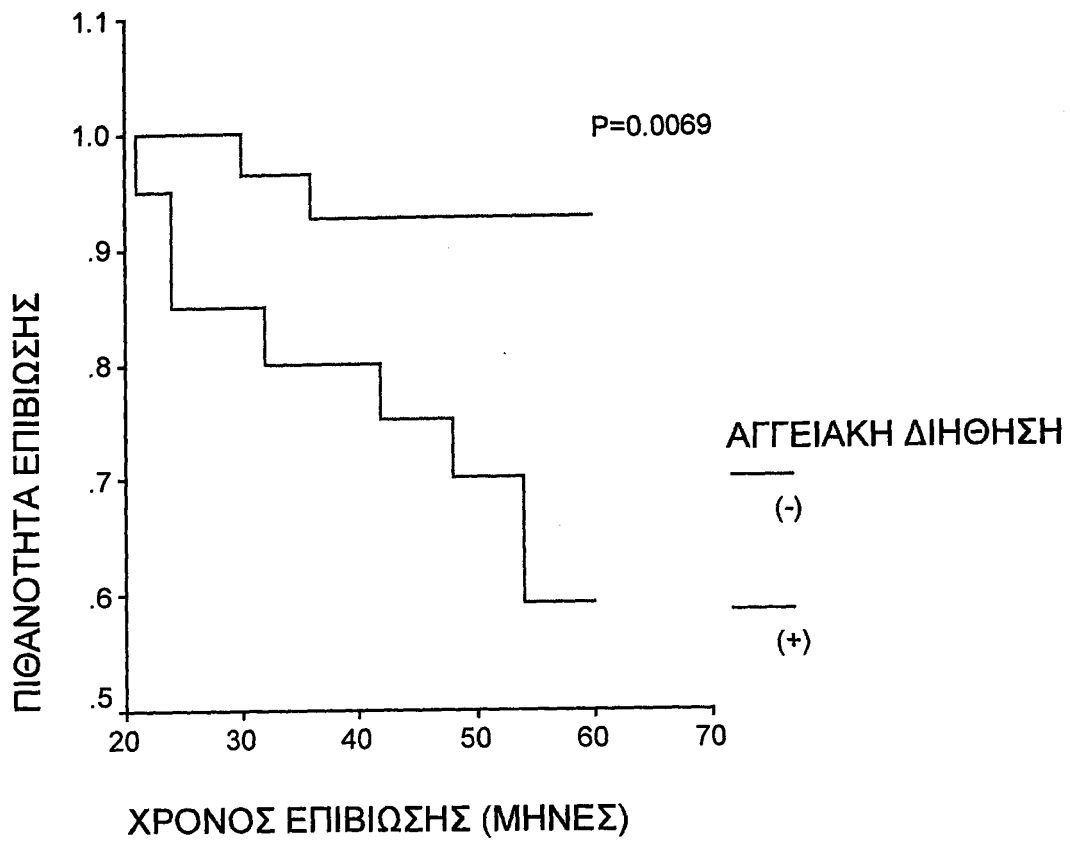
### Αγγειακή διήθηση

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ
ΑΓΓ. ΔΙΗΘΗΣΗ(+)	20	10	10	50.00
ΑΓΓ. ΔΙΗΘΗΣΗ(-)	27	3	24	88.89

Η επιβίωση ελεύθερης νόσου σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με την αγγειακή διήθηση,  $p=0.0043$ . Οι περιπτώσεις με αγγειακή διήθηση έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής από τις περιπτώσεις χωρίς αγγειακή διήθηση.

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
ΑΓΓ. ΔΙΗΘΗΣΗ (+)	20	8	12	60.00
ΑΓΓ. ΔΙΗΘΗΣΗ (-)	27	2	25	92.59

Η επιβίωση σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με την αγγειακή διήθηση,  $p=0.0069$ . Οι περιπτώσεις με αγγειακή διήθηση έχουν μικρότερη επιβίωση από τις περιπτώσεις χωρίς αγγειακή διήθηση.



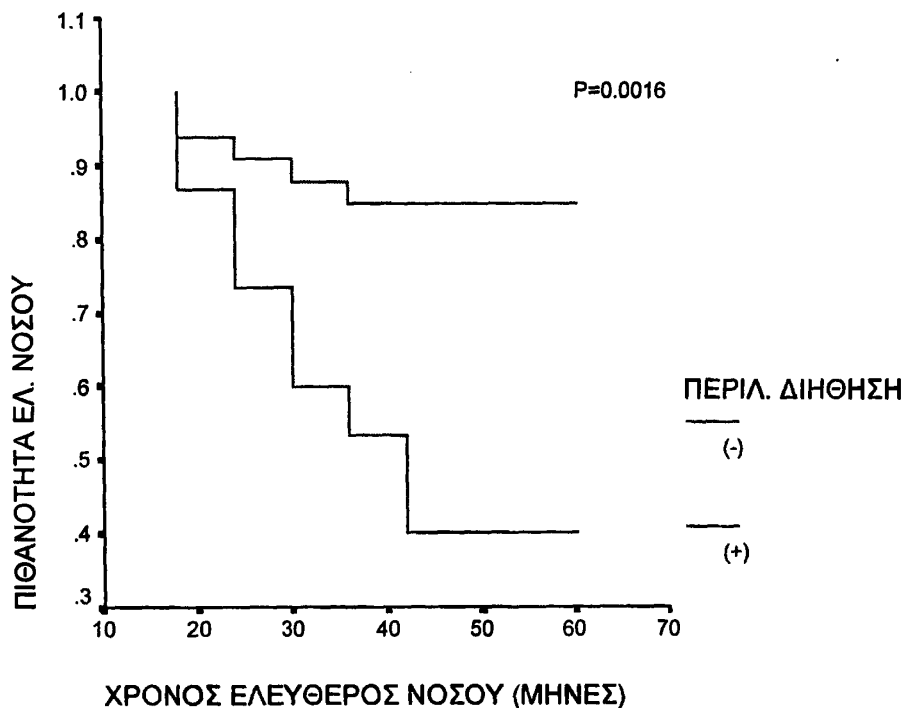
## Περικαρκινική λεμφαγγειακή διήθηση

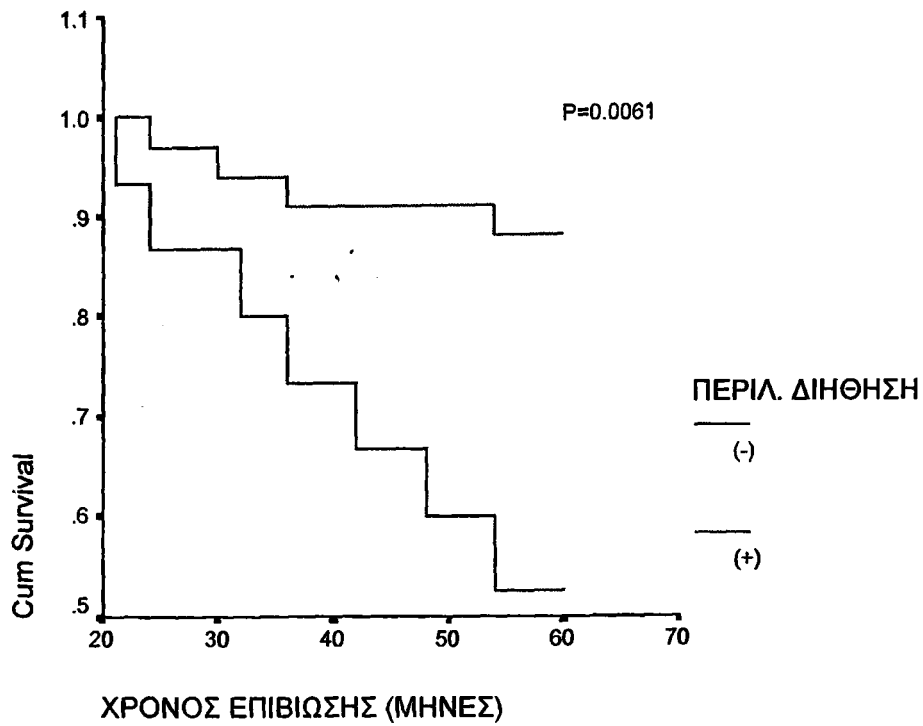
	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛ ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ
ΠΕΡΙ-ΛΕΜΦ. ΔΙΗΘΗΣΗ (+)	15	9	6	40.00
ΠΕΡΙ-ΛΕΜΦ. ΔΙΗΘΗΣΗ (-)	33	5	28	84.85

Τα περιστατικά με λεμφαγγειακή διήθηση έχουν μικρότερο διάστημα ελεύθερο νόσου (μέσος όρος=42μήνες) σε σχέση με τα υπόλοιπα περιστατικά (μέσος όρος=55 μήνες),  $p=0.0016$

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
ΠΕΡΙΛΕΜΦ. ΔΙΗΘΗΣΗ (+)	15	7	8	53.33
ΠΕΡΙΛΕΜΦ. ΔΙΗΘΗΣΗ (-)	33	4	29	87.88

Τα περιστατικά με λεμφαγγειακή διήθηση έχουν μικρότερη επιβίωση (μέσος όρος=49μήνες) σε σχέση με τα υπόλοιπα περιστατικά (μέση επιβίωση=57 μήνες),  $p=0.0061$

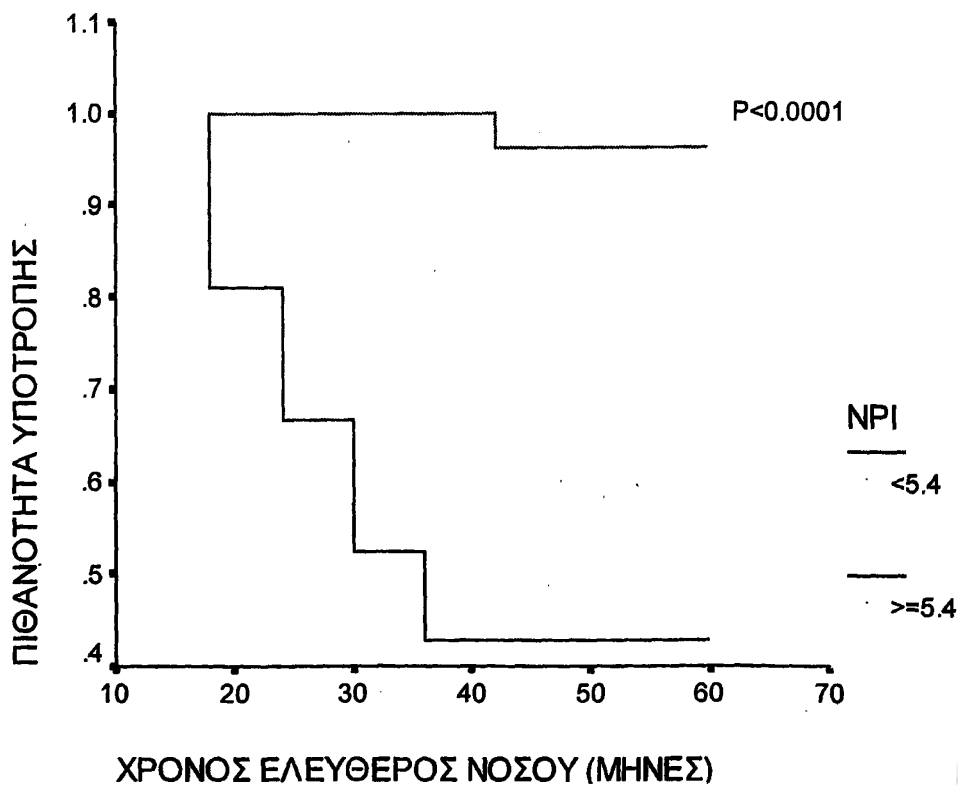




### NPI

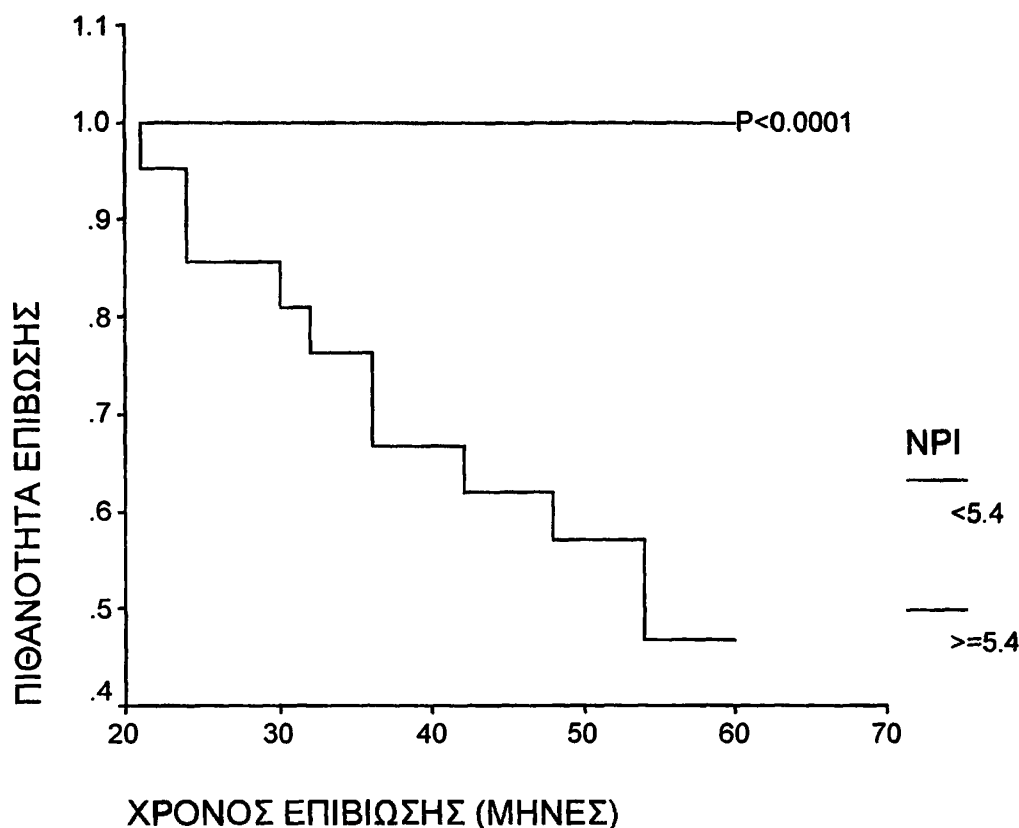
	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ
NPI $\geq$ 5.4	21	13	8	38.10
NPI $<$ 5.4	27	1	26	96.30

Η επιβίωση ελεύθερης νόσου σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με το NPI,  $p < 0.0001$ . Οι περιπτώσεις με  $NPI \geq 5.4$  έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής.



	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
NPI $\geq 5.4$	21	11	10	47.62
NPI $< 5.4$	27	0	27	100.00

Οι περιπτώσεις με NPI $<5.4$  δεν σχετίζονται με περιστατικά θανάτου σε αντίθεση με τις περιπτώσεις με NPI $\geq 5.4$  οι οποίες έχουν μέσο όρο επιβίωσης 48 μήνες (Τ.Σ.=3, 95%Δ.Ε.: [42-54]),  $p < 0.0001$ .



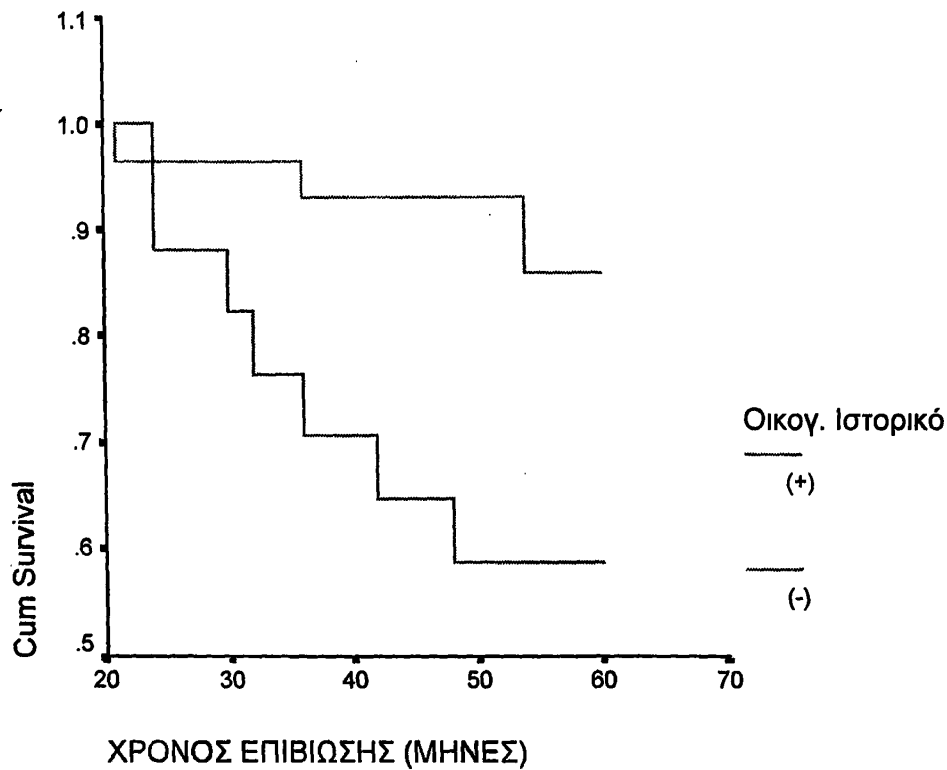
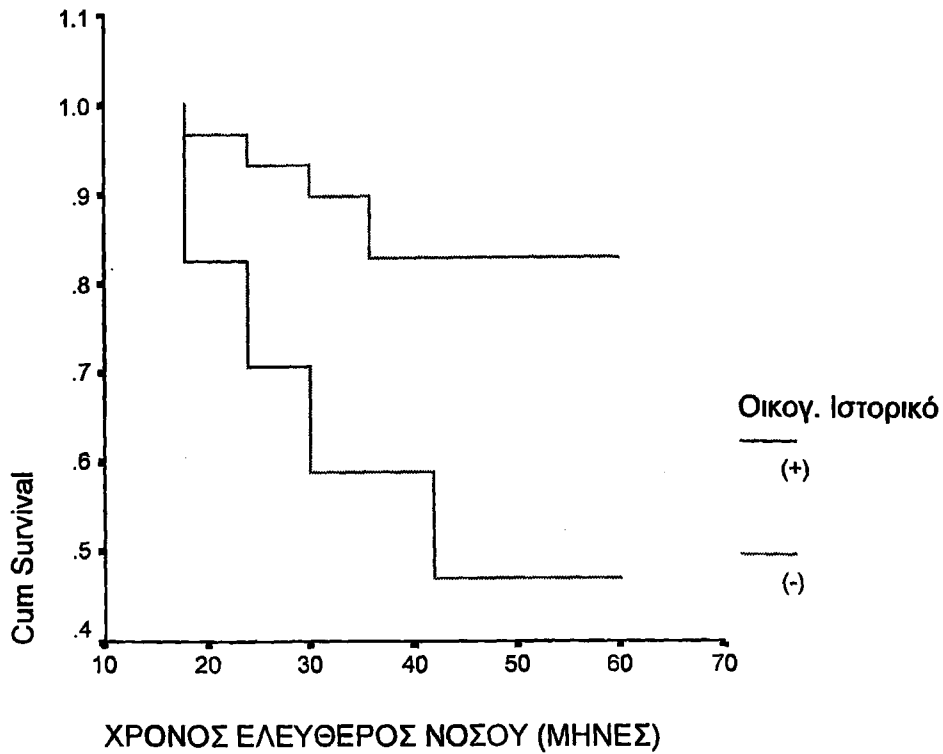
### Οικογενειακό ιστορικό

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛ ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΛ ΝΟΣΟΥ
Οικογ. Ιστορικό (-)	29	5	24	82.76
Οικογ. Ιστορικό(+)	17	9	8	47.06

Ο χρόνος ελεύθ. νόσου επηρεάζεται από το οικογενειακό ιστορικό,  $p = 0.0089$ . Μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής έχουν οι περιπτώσεις με θετικό οικογενειακό ιστορικό.

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
Οικογ. Ιστορικό (-)	29	4	25	86.21
Οικογ. Ιστορικό (+)	17	7	10	58.82

Το θετικό οικογενειακό ιστορικό επηρεάζει αρνητικά την επιβίωση,  $p = 0.270$

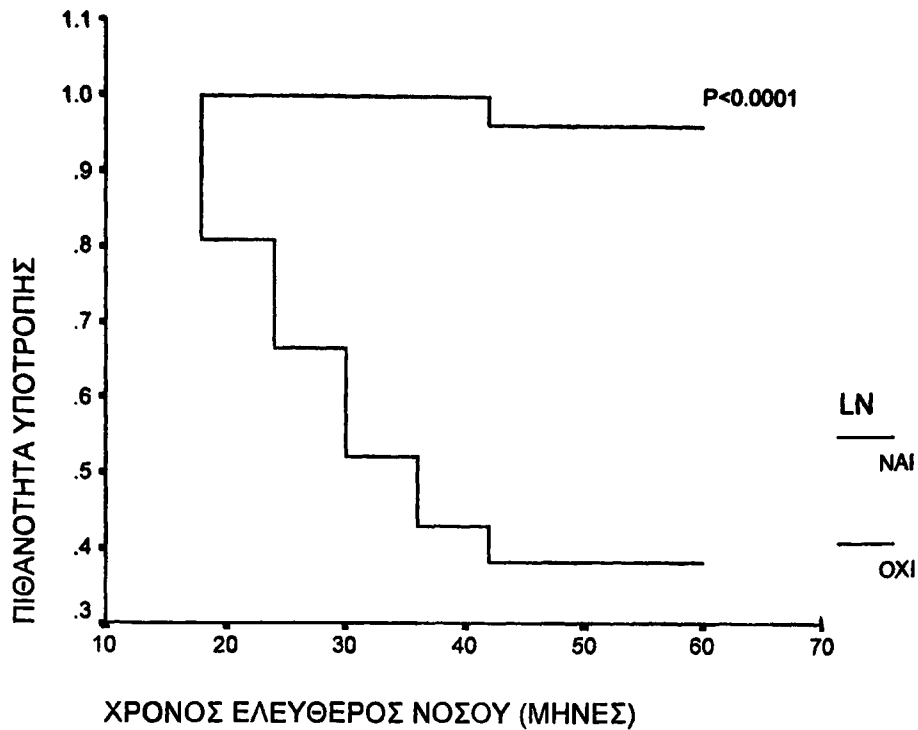


### Λεμφαδενικές μεταστάσεις

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛ ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ
LN ΟΧΙ	27	1	26	96.30
LN ΝΑΙ	21	13	8	38.10

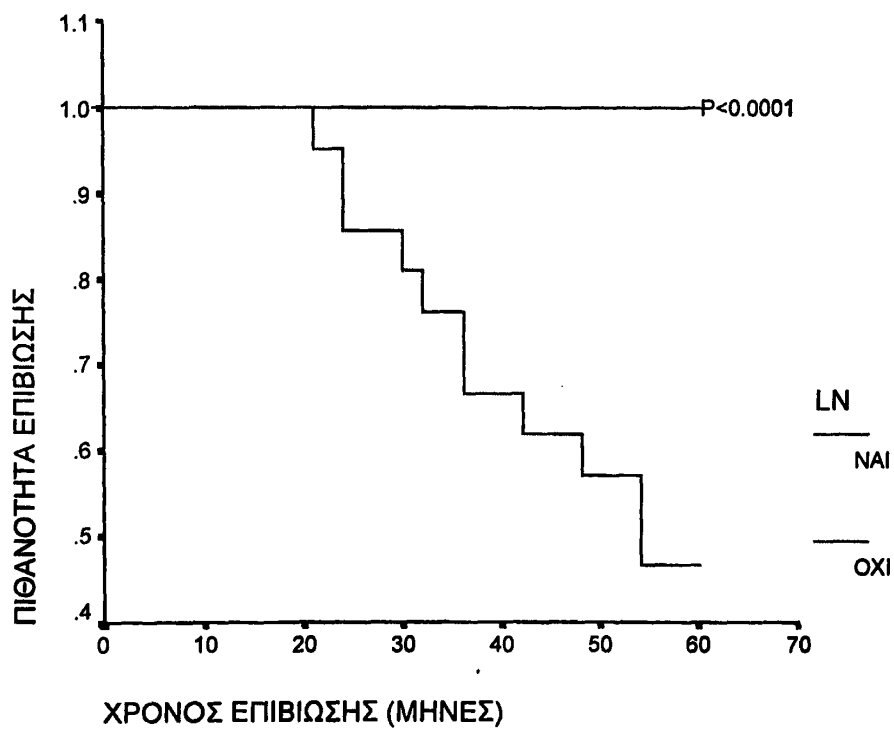
Η ύπαρξη διηθημένων λεμφαδένων επηρεάζει αρνητικά την ελ. νόσου επιβίωση,  $p < 0.0001$ .





		ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
LN	OXI	27	0	27	100.00
LN	NAI	21	11	10	47.62

Η ύπαρξη διηθημένων λεμφαδένων επηρεάζει αρνητικά την επιβίωση,  $p < 0.0001$



### EIC

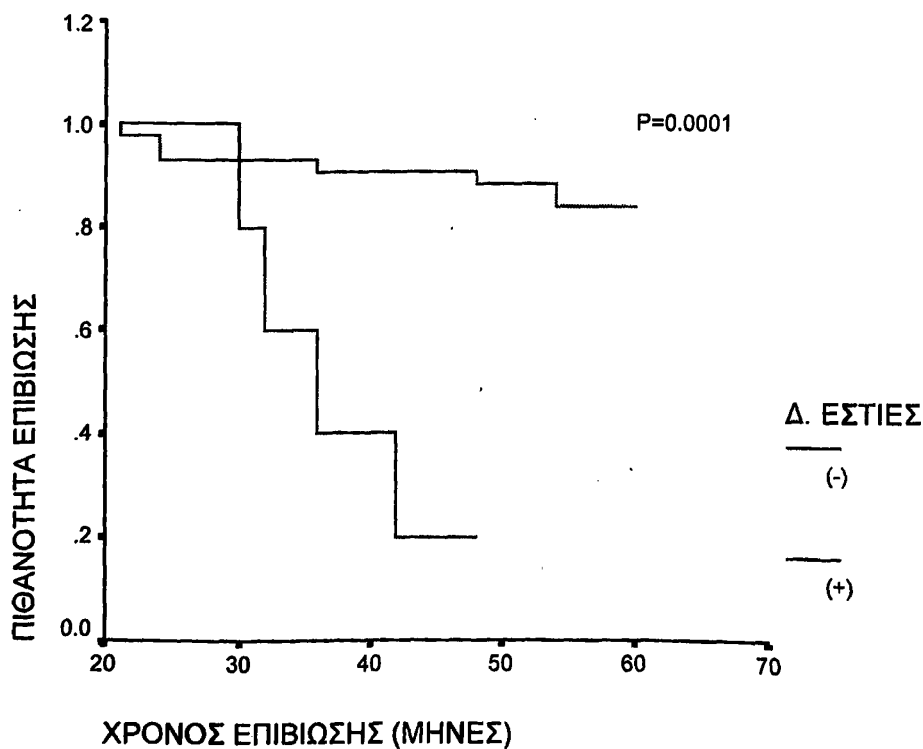
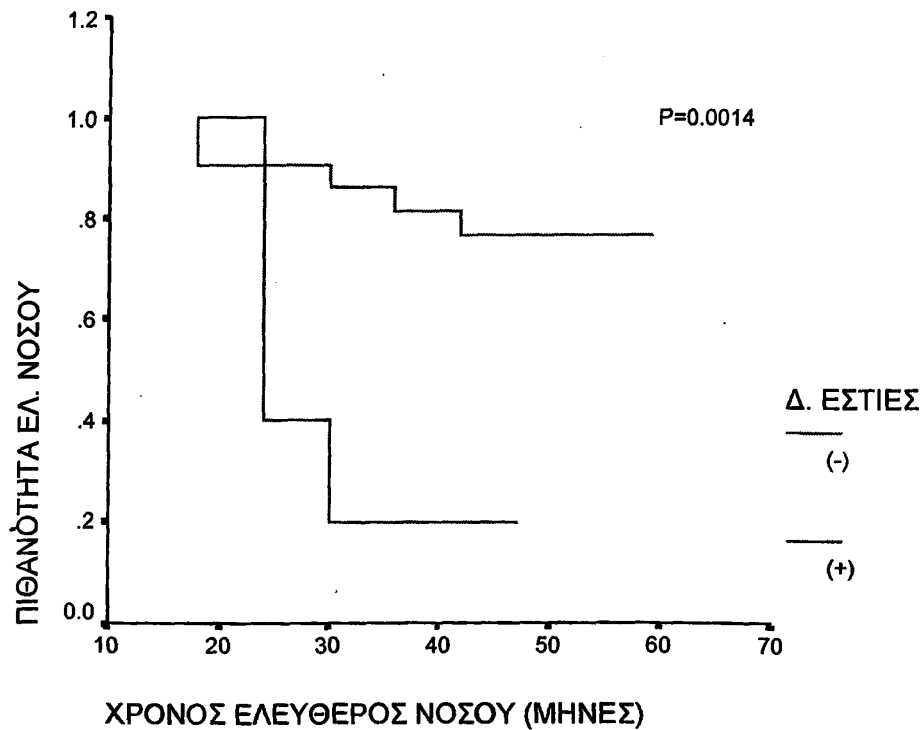
Η παρουσία EIC σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘ. ΕΛ ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΑΣΘ. ΕΛ. ΝΟΣΟΥ
EIC (+)	5	4	1	20.00
EIC (-)	43	10	33	76.74

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
EIC (+)	5	4	1	20.00
EIC (-)	43	7	36	83.72

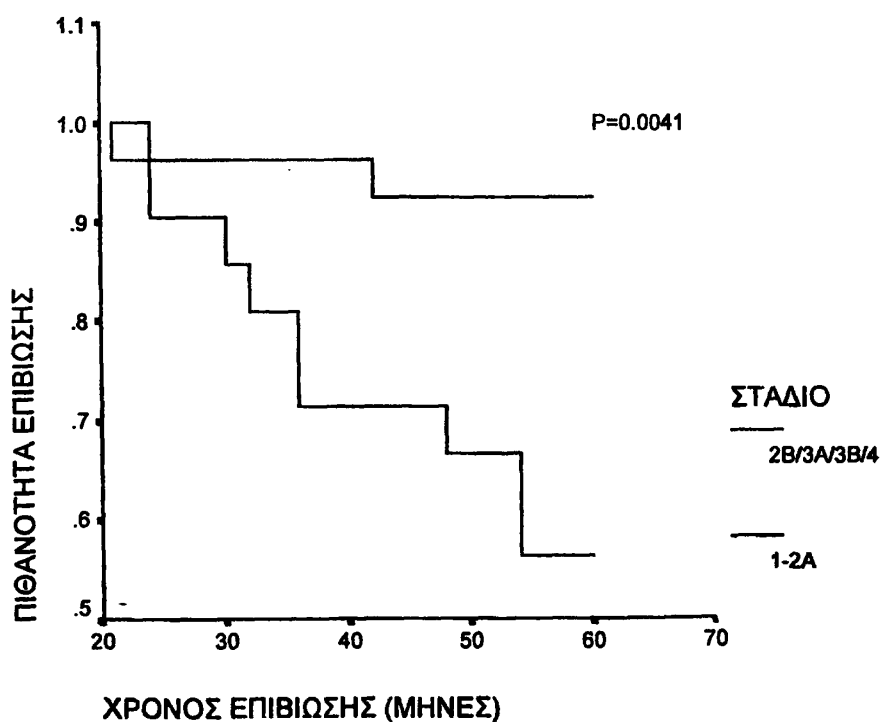
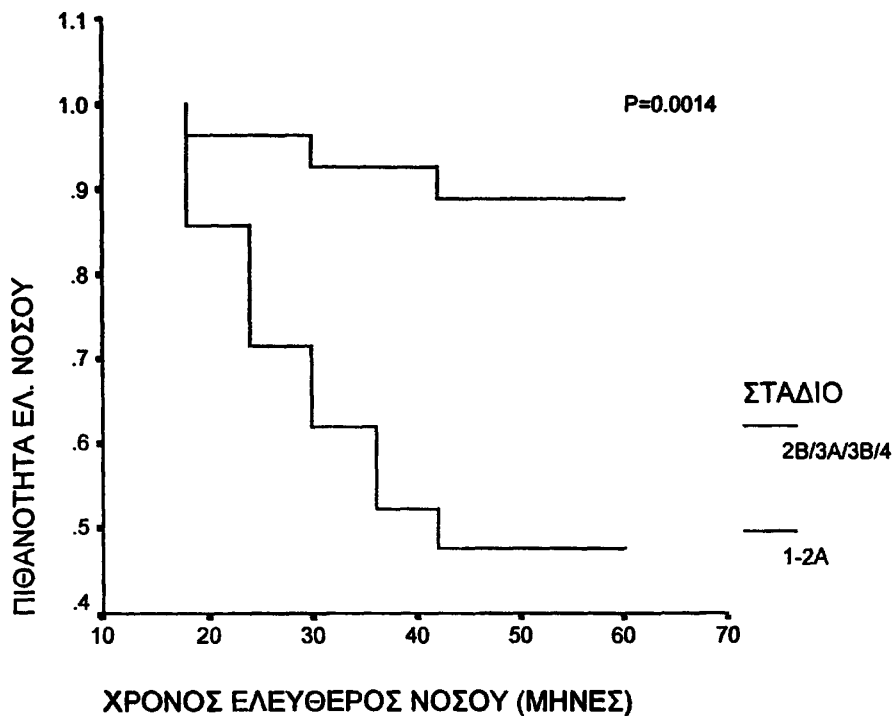
Τα περιστατικά με EIC έχουν μικρότερη επιβίωση (μέσος όρος=38μήνες) σε σχέση με τα υπόλοιπα περιστατικά,  $p=0.0001$



## Στάδιο νόσου

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛ ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ
STAGE 1-2A	27	3	24	88.89
STAGE 2B/3A/3B/4	21	11	10	47.62

Το αυξημένο στάδιο της νόσου επηρεάζει αρνητικά την ελεύθερης νόσου επιβίωση,  $p=0.0014$



	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
STAGE 1-2A	27	2	25	92.59
STAGE 2B/3A/3B/4	21	9	12	57.14

Το αυξημένο στάδιο της νόσου επηρεάζει αρνητικά την επιβίωση,  $p=0.0041$

### Τύπος μυελοειδούς καρκινώματος

#### **Μέγεθος**

Το υλικό της μελέτης περιλάμβανε 26 ΤΜΚ (53.1%) και 22 ΑΜΚ (51.6%). Τα ΑΜΚ εμφάνιζαν μεγαλύτερο μέγεθος (3.3 εκ.) από τα ΤΜΚ (2.5 εκ.) χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική.

#### **Τεταρτημόριο**

Η κατανομή κατά τεταρτημόριο φαίνεται στον πίνακα 1 :

			ΤΕΤΑΡΤΗΜΟΡΙΟ				
			Κάτω Έσω	Κάτω Έξω	Άνω Έσω	Άνω Έξω	Κέντρο
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	3	5	3	10	1
		%	13.6%	22.7%	13.6%	45.5%	4.5%
	ΤΜΚ	N	3	3	4	15	1
		%	11.5%	11.5%	15.4%	57.7%	3.8%
Σύνολο		N	6	8	7	25	2

Πίνακας 1

Η μέγιστη συχνότητα εμφάνισης παρατηρείται στο άνω έξω τεταρτημόριο του μαστού (γεγονός που είναι σε συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα για την τοπογραφική κατανομή του πορογενούς διηθητικού γενικά και του μυελοειδούς καρκινώματος του μαστού ειδικότερα) όπου εντοπίζονται το 57.7% των ΤΜΚ και το 45.5% των ΑΜΚ. Η δεύτερη σε συχνότητα περιοχή εμφάνισης είναι διαφορετική για τους δύο τύπους :για τα ΤΜΚ είναι το άνω έσω τεταρτημόριο ενώ για τα ΑΜΚ το κάτω έξω.

#### **Ηλικία εμφάνισης-Ηλικία εμμηναρχής-Αριθμός παιδιών**

Η κατανομή κατά ηλικία εμφάνισης του καρκίνου, ηλικία εμμηναρχής και αριθμό παιδιών αναλύεται στον πίνακα 2 :

Group Statistics

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
AGE	ΑΜΚ	22	51.64	12.07	2.57
	ΤΜΚ	26	53.12	13.45	2.64
ΑΡ. ΠΑΙΔΙΩΝ	ΑΜΚ	22	1.59	1.18	.25
	ΤΜΚ	25	1.80	1.12	.22
Age Period Started	ΑΜΚ	22	14.09	1.19	.25
	ΤΜΚ	23	14.26	1.32	.28

Πίνακας 2

Η μέση ηλικία εμφάνισης των ΤΜΚ (53.1 έτη) ήταν μεγαλύτερη από αυτή των ΑΜΚ(51.6 έτη) η διαφορά όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική( $p=0.693$ ).

Επίσης δεν διαπιστώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά τον αριθμό των παιδιών ( $p=0.536$ ) και την ηλικία εμμηναρχής (14 έτη- $p=0.653$ ) ανάμεσα στους δύο τύπους ΜΚ.

### Εμμηνορυσιακή κατάσταση

Αναφορικά με την εμμηνορυσιακή κατάσταση τα αποτελέσματα καταγράφονται στον πίνακα 3 :

			Εμμηνορυσιακή κατάσταση	
			Προ Εμμηνόπαυσης	Μετά Εμμηνόπαυσης
ΤΥΠΟΣ	AMK	N	9	13
		%	40.9%	59.1%
	TMK	N	9	14
		%	39.1%	60.9%
Σύνολο		N	18	27

Πίνακας 3

Και στους δύο τύπους η μεγάλη αναλογία των πασχόντων (περίπου το 60% και για τα ΤΜΚ και για τα ΑΜΚ) είναι μετεμμηνοπαυσιακές.

### Οικογενειακό ιστορικό

Τα δεδομένα για ιστορικό καρκίνου του μαστού ή άλλου καρκίνου (όπως αναφέρθηκαν και προηγουμένως) στις οικογένειες των πασχόντων καταγράφονται στον πίνακα 4. Το ποσοστό θετικού οικογενειακού ιστορικού είναι αρκετά υψηλό και για τους δύο τύπους (ΤΜΚ=37.5%-ΑΜΚ=36.4%) αλλά δεν διαπιστώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους ( $p=0.999$ ).

			Οικογενειακό Αναμνηστικό	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	AMK	N	8	14
		%	36.4%	63.6%
	TMK	N	9	15
		%	37.5%	62.5%
Σύνολο		N	17	29

Πίνακας 4

### Ατομικό αναμνηστικό

Άλλα δεδομένα σχετικά με το ατομικό αναμνηστικό των ασθενών της μελέτης καταγράφονται στον πίνακα 5 :

			Κάπνισμα	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	AMK	N	7	15
		%	31.8%	68.2%
	TMK	N	11	13
		%	45.8%	54.2%
Σύνολο		N	18	28

			Κατανάλωση Αλκοόλ	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	6	16
		%	27.3%	72.7%
	ΤΜΚ	N	3	21
		%	12.5%	87.5%
Σύνολο		N	9	37
			Οιστρογόνα	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	7	13
		%	35.0%	65.0%
	ΤΜΚ	N	5	18
		%	21.7%	78.3%
Σύνολο		N	12	31
			Ινοκυστική Μαστοπάθεια	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	7	15
		%	31.8%	68.2%
	ΤΜΚ	N	6	20
		%	23.1%	76.9%
Σύνολο		N	13	35

Πίνακας 5

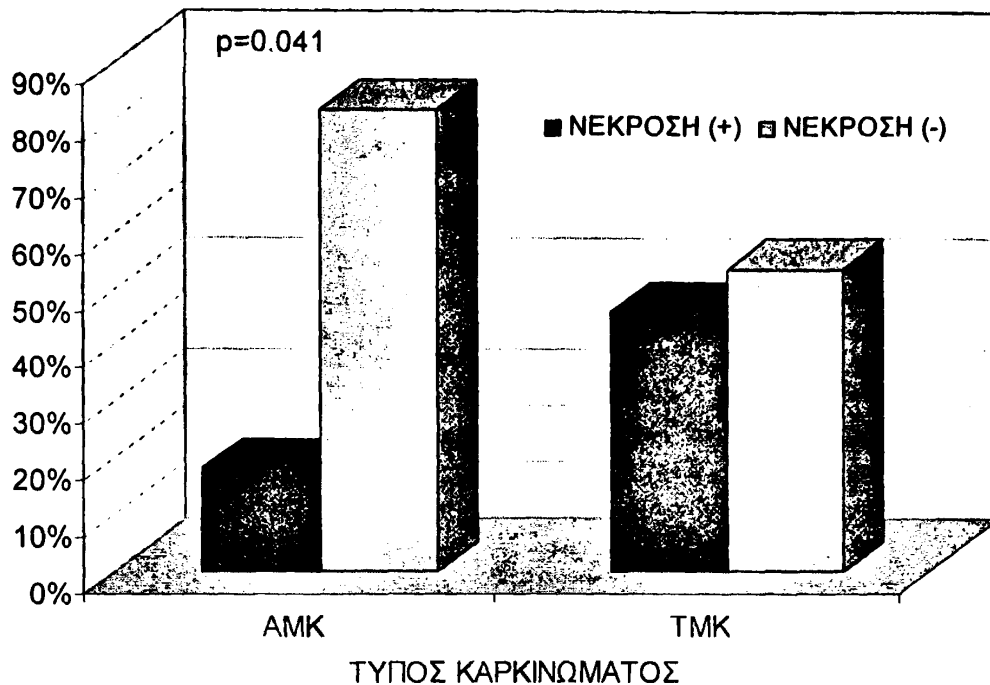
Έτσι στην κατηγορία των ΑΜΚ υπάρχουν περισσότερες γυναίκες με αναφερόμενο ιστορικό αυξημένης κατανάλωσης αλκοόλ (27.3%), λήψης οιστρογόνων (35%) και ινοκυστικής μαστοπάθειας (31.8%), αλλά λιγότερες καπνίστριες (31.8%) σε σχέση με τα ΤΜΚ (αντίστοιχες τιμές 12.5%-21.7%-23.1%-45.8%), χωρίς όμως οι διαφορές να είναι στατιστικά σημαντικές ( $p=0.187$ ,  $p=0.497$ ,  $p=0.532$  και  $p=0.450$  αντίστοιχα).

#### Νέκρωση

Τα ΑΜΚ εμφανίζουν νέκρωση σε μικρότερο ποσοστό (18.2%) σε σχέση με τα ΤΜΚ (46.2%) και η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική ( $p=0.041$ ).

			ΝΕΚΡΩΣΗ	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	4	18
		%	18.2%	81.8%
	ΤΜΚ	N	12	14
		%	46.2%	53.8%
Σύνολο			16	23

Πίνακας 6



### Λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση

Η κατανομή των τύπων της λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης στα TMK και τα AMK φαίνεται στον πίνακα 7. Όπως διαπιστώνουμε τα TMK χαρακτηρίζονται από εκσεσημασμένη λεμφοκυτταρική διήθηση και στο κέντρο και στην περιφέρεια του όγκου σε ποσοστό υψηλότερο από τα AMK, τα οποία χαρακτηρίζονται στο μεγαλύτερο μέρος από μέτρια διήθηση στην περιφέρεια, η διαφορά όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική ( $p=0.753$ ).

			Λεμφοπλασματοκυτταρική Διήθηση		
			K(-)/Π(+)	K(++)/Π(++)	K(+)/Π(+)
ΤΥΠΟΣ	AMK	N	8	9	5
		%	36.4%	40.9%	22.7%
	TMK	N	9	13	4
		%	34.6%	50.0%	15.4%
Σύνολο		N	17	22	9

Πίνακας 7

### Αγγειακή διήθηση

Όσον αφορά την διήθηση των αγγείων από νεοπλασματικά κύτταρα τα αποτελέσματα καταγράφονται στον πίνακα 8:

			Αγγειακή Διήθηση	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	AMK	N	10	12
		%	45.5%	54.5%
	TMK	N	10	15
		%	40.0%	60.0%
Σύνολο		N	20	27

Πίνακας 8

Και οι δύο τύποι είναι σε μεγάλη αναλογία αρνητικοί για αγγειακή διήθηση, τα ΤΜΚ σε μεγαλύτερη αναλογία (60%) απ'ότι τα ΑΜΚ(54.5%).

### Λεμφαγγειακή διήθηση

		Λεμφαγγειακή Διήθηση		
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	8	14
		%	36.4%	63.6%
	ΤΜΚ	N	7	19
		%	26.9%	73.1%
Σύνολο		N	15	33

Πίνακας 9

Τα ΑΜΚ εμφανίζουν σε υψηλότερο ποσοστό περικαρκινική λεμφαγγειακή καρκινωματώδη διήθηση σε σχέση με τα ΤΜΚ και πάλι όμως οι διαφορές δεν είναι στατιστικά σημαντικές ( $p=0.935$  και  $0.696$ ) αυτό όμως οφείλεται κατά ένα μέρος και στον μικρό αριθμό των περιστατικών που παρατηρείται η διήθηση.

### NPI

		NPI		
			$\geq 5.4$	$< 5.4$
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	10	12
		%	45.5%	54.5%
	ΤΜΚ	N	11	15
		%	42.3%	57.7%
Σύνολο		N	21	27

Πίνακας 10

Σε κατανομή των περιστατικών με βάση τον προγνωστικό δείκτη NPI όπως φαίνεται στον πίνακα 10, διαπιστώνουμε ότι ένα ποσοστό πάνω από 42% εμφανίζει τιμή πάνω από 5.4 και μάλιστα λίγο περισσότερα ΑΜΚ παρά ΤΜΚ.

### Λεμφαδενικές μεταστάσεις

Στους πίνακες 11 και 12 αναλύονται τα αποτελέσματα των λεμφαδενικών μεταστάσεων όσον αφορά κατ'αρχήν τη συχνότητά τους και κατά δεύτερο λόγο όσον αφορά τον αριθμό τους. Παρατηρούμε ότι τα ΤΜΚ και τα ΑΜΚ μεθίστανται με την ίδια περίπου συχνότητα στους μασχαλιαίους λεμφαδένες. Ο αριθμός των προσβεβλημένων λεμφαδένων είναι επίσης ανάλογος, με μία μικρή τάση των ΑΜΚ να μεθίστανται σε περισσότερους από 4 λεμφαδένες χωρίς όμως η διαφορά με τα ΤΜΚ να είναι στατιστικά σημαντική ( $p=0.542$ ).

		LN		
			0	$> 0$
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	12	10
		%	54.5%	45.5%
	ΤΜΚ	N	15	11
		%	57.7%	42.3%
Σύνολο		N	27	21

Πίνακας 11



			LN		
			(-)	1-3	≥4
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	12	4	6
		%	54.5%	18.2%	27.3%
	ΓΜΚ	N	15	7	4
		%	57.7%	26.9%	15.4%
Σύνολο		N	27	11	10

Πίνακας 12

### Συστηματικές μεταστάσεις

Όσον αφορά τις γενικευμένες μεταστάσεις τα αποτελέσματα απεικονίζονται στους πίνακες 13-16.

			Μεταστάσεις	
			Ναι	Όχι
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	6	16
		%	27.3%	72.7%
	ΓΜΚ	N	5	21
		%	19.2%	80.8%
Σύνολο		N	11	37

Πίνακας 13

			Ηπατικές Μεταστάσεις	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	3	19
		%	13.6%	86.4%
	ΓΜΚ	N	4	22
		%	15.4%	84.6%
Σύνολο		N	7	41

Πίνακας 14

			Οστικές Μεταστάσεις	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	5	17
		%	22.7%	77.3%
	ΓΜΚ	N	4	22
		%	15.4%	84.6%
Σύνολο		N	9	39

Πίνακας 15

			Πνευμονικές Μεταστάσεις	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	2	21
		%	8.7%	91.3%
	ΓΜΚ	N	2	24
		%	7.7%	92.3%
Σύνολο		N	4	45

Πίνακας 16

Τα ΑΜΚ εμφανίζουν μία τάση να μεθίστανται συχνότερα από τα ΤΜΚ (27.3 ΑΜΚ-19.2% ΤΜΚ) και ιδιαίτερα στα οστά (ΑΜΚ 22.7- ΤΜΚ15.4%) και πάλι όμως ο μικρός αριθμός περιστατικών δημιουργεί πρόβλημα στην εδραίωση στατιστικής σημαντικότητας. Η δεύτερη σε συχνότητα περιοχή μετάστασης και για τους δύο τύπους είναι το ήπαρ και μάλιστα περισσότερο για τα ΤΜΚ (ΑΜΚ 13.6%-ΤΜΚ 15.4%) και τελευταίοι οι πνεύμονες (ΑΜΚ 8.7%-ΤΜΚ 7.7%).

### Στάδιο της νόσου

Η κατανομή κατά στάδια των περιστατικών σύμφωνα με το TNM είναι η ίδια μεταξύ των δύο τύπων του μυελοειδούς καρκινώματος ( $p=0.981$ ) όπως φαίνεται και από τον πίνακα 16.

			Στάδιο	
			1-2A	2B/3A/3B/4
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	12	10
		%	54.5%	45.5%
	ΤΜΚ	N	13	13
		%	50.0%	50.0%
Σύνολο		N	25	23

Πίνακας 16

### DNA index

Το DNA index εμφανίζεται ελάχιστα αυξημένο στα ΑΜΚ σε σχέση με τα ΤΜΚ χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική(Πίνακας 17).

#### Group Statistics

ΤΥΠΟΣ		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index	ΑΜΚ	20	1.6495	.5145	.1151
	ΤΜΚ	20	1.4775	.4693	.1049

Πίνακας 17

### P53

Το p53 είναι σε μεγαλύτερο ποσοστό (+) στα ΑΜΚ (80%) και μάλιστα το ποσοστό θετικότητας σε περισσότερους από τους μισούς όγκους είναι >50%. Γενικά πάντως τα ΜΚ χαρακτηρίζονται από υψηλή συχνότητα μετάλλαξης του συγκεκριμένου γονιδίου.

			P53	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	16	4
		%	80.0%	20.0%
	ΤΜΚ	N	15	6
		%	71.4%	28.6%
Σύνολο		N	31	10

Πίνακας 18

			P53		
			(-)	<50%	>50%
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	4	5	11
		%	20.0%	25.0%	55.0%
	ΤΜΚ	N	6	5	10
		%	38.6%	23.8%	47.6%
Σύνολο		N	10	10	21

Πίνακας 19

### MIB-1

Όσον αφορά το MIB-1 παρουσιάζεται (+) σε υψηλότερο ποσοστό στα ΑΜΚ(68.4%) απ'ότι στα ΤΜΚ(50%), το ποσοστό θετικότητας και στις δύο ομάδες όμως είναι συχνότερα <20%.

			MIB 1	
			(+)	(-)
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	13	6
		%	68.4%	31.6%
	ΤΜΚ	N	11	11
		%	50.0%	50.0%
Σύνολο		N	24	17

Πίνακας 20

			MIB 1		
			(-)	<20%	>20%
ΤΥΠΟΣ	ΑΜΚ	N	6	9	4
		%	31.6%	47.4%	21.1%
	ΤΜΚ	N	11	7	4
		%	50.0%	31.8%	18.2%
Σύνολο		N	17	16	8

Πίνακας 21

### Υποτροπές-Χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου

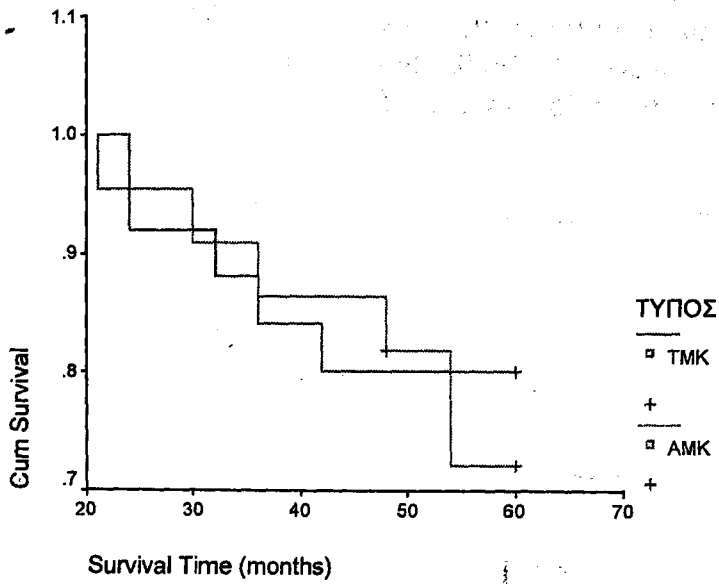
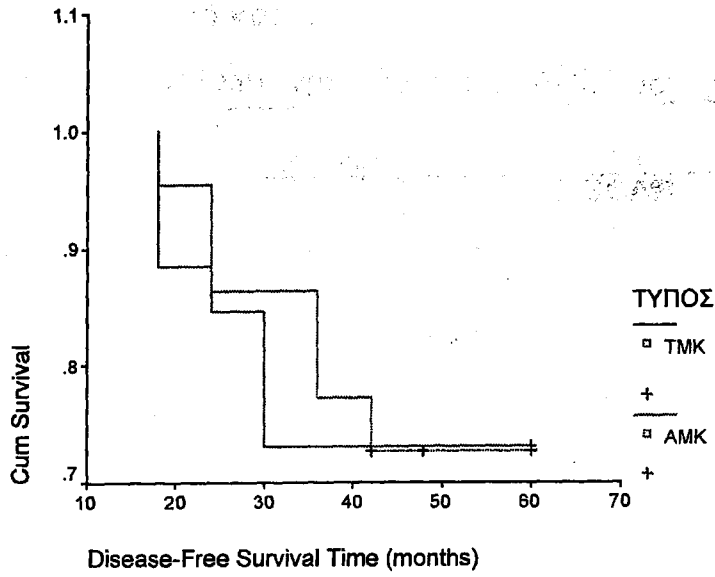
Το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου είναι μικρότερο στα ΑΜΚ δεν διαφέρει όμως ανάμεσα στους δύο τύπους καρκινώματος σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.9421$ ).

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
ΑΜΚ	22	6	16	72.73
ΤΜΚ	26	7	19	73.08

### Επιβίωση

Το ποσοστό επιβίωσης είναι αυξημένο στα ΤΜΚ (80.77%) σε σχέση με τα ΑΜΚ (72.7%) η διαφορά όμως σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας είναι μικρή ( $p=0.5572$ ).

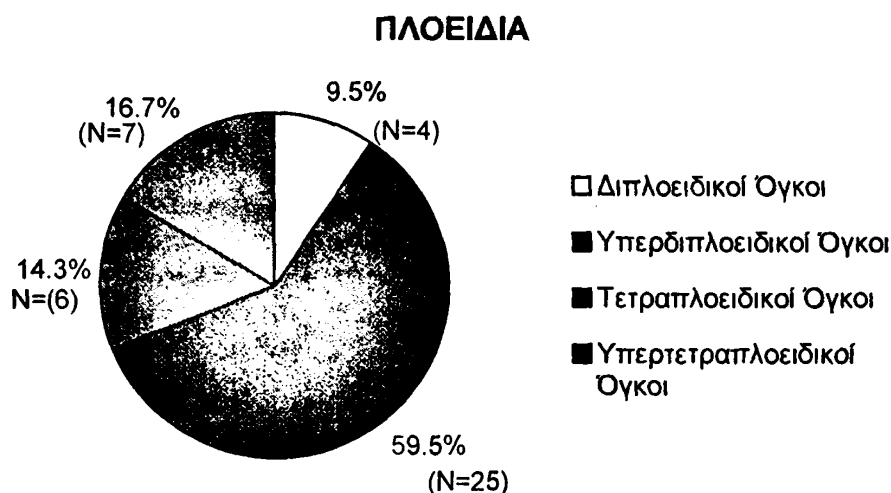
	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
ΑΜΚ	22	6	16	72.73
ΤΜΚ	26	5	21	80.77



## DNA INDEX

### Πλοειδία

Η κατανομή της πλοειδίας του DNA φαίνεται στην ακόλουθη γραφική παράσταση :



Όγκοι με DI 1-1.049 ταυτοποιούνται σαν διπλοειδικοί, με DI 1.05-1.75 σαν υπερδιπλοειδικοί και με DI 1.76-2.00 σαν τετραπλοειδικοί και με DI >2.0 σαν υπερτετραπλοειδικοί. Τα καρκινώματα θεωρήθηκαν διπλοειδή εφ' όσον παρουσίαζαν δείκτη DNA (DNA index -DI) 0,9 - 1,1 και ανευπλοειδή εφ' όσον παρουσίαζαν οποιαδήποτε άλλη τιμή δείκτη DNA.

Παρατηρούμε ότι τα ΜΚ σε ποσοστό 90% είναι ανευπλοειδικά και μάλιστα ανήκουν κατά το 60% στην κατηγορία των υπερδιπλοειδικών.

### Διάμετρος όγκου-Ηλικία

Με χρήση του συντελεστή διεύθυνσης του Pearson φαίνεται ότι δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση του DNA Index με τη μέγιστη διάμετρο του όγκου ακόμη και με κατηγοριοποίηση της διαμέτρου σε ομάδες ( $r=-0.126$ ,  $p=0.439$ ) (πίνακας 22). Επίσης δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση του DNA Index με την ηλικία ( $r=0.025$ ,  $p=0.879$ ) (Πίνακας 23).

#### Correlations

		Diameter
DNA Index	Pearson Correlation	-.126
	Sig. (2-tailed)	.439
	N	40

Πίνακας 22

#### Correlations

		AGE
DNA Index	Pearson Correlation	.025
	Sig. (2-tailed)	.879
	N	40

Πίνακας 23

## Εμμηνορυσιακή κατάσταση

Group Statistics

Menopausal Status		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index	Pro	15	1.4487	.4266	.1101
	Meta	23	1.6100	.5223	.1089

Πίνακας 24

Σε συσχέτιση με την εμμηνορυσιακή κατάσταση διαπιστώνουμε ότι οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εμφανίζουν αυξημένο DNA index σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές (πίνακας 24).

## Grade

Ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας 3 συνδυάζεται με αυξημένο DNA index σε σχέση με τον βαθμό 2 (πίνακας 25). Η στατιστική διαφορά όμως είναι μικρή και η μεγάλη αναλογία των ΜΚ είναι όγκοι βαθμού κακοήθειας 3.

Group Statistics

GRADE		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index	2	9	1.3878	.4675	.1558
	3	31	1.6145	.4967	8.922E-02

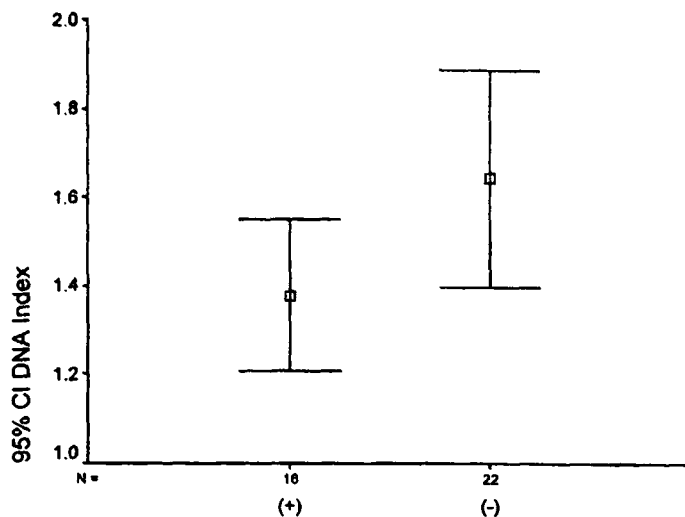
Πίνακας 25

## Οικογενειακό ιστορικό

Group Statistics

Family History		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index	(+)	16	1.3788	.3210	8.024E-02
	(-)	22	1.6450	.5553	.1184

Πίνακας 26



**ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ**

Είναι ενδιαφέρον ότι υπάρχει η τάση στις περιπτώσεις με θετικό οικογενειακό ιστορικό καρκίνου το DNA index να είναι χαμηλότερο σε σχέση με τις περιπτώσεις χωρίς ιστορικό(  $\rho=0.071$ ) και οι περισσότεροι όγκοι της (+) ομάδας να είναι ανευπλοειδικοί, ενώ της (-) ευπλοειδικοί.

**NPI**

Σε κατηγοριοποίηση με βάση το NPI δεν διαπιστώνεται καμιά διαφορά στο DNA index μεταξύ των όγκων με επιβαρυσμένη ή όχι πρόγνωση (πίνακας 27).

**Group Statistics**

	NPI	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA index	$\geq 5.4$	20	1.5805	.5367	.1200
	$< 5.4$	20	1.5465	.4603	.1029

**Πίνακας 27**

**Στάδιο**

Σχετικά με το στάδιο της νόσου σύμφωνα με την TNM κατάταξη (πίνακας 28), παρατηρούμε ότι τα στάδια 2B, 3<sup>A</sup>, 3B και 4 που εμφανίζουν και την χειρότερη πρόγνωση, χαρακτηρίζονται και από αυξημένο DNA index χωρίς όμως να υπάρχει διαφορά στατιστικής σημαντικότητας.

**Group Statistics**

	Stage	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index	1-2A	20	1.4730	.4244	9.490E-02
	2B/3A/3B/4	22	1.6318	.5422	.1156

**Πίνακας 28**

**Αγγειακή και λεμφαγγειακή διήθηση**

**Group Statistics**

ΑΓΓ. ΔΙΗΘΗΣΗ	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index (+)	17	1.5788	.5138	.1246
(-)	22	1.5714	.4925	.1050

Πίνακας 29

**Group Statistics**

ΠΕΡΙΛΕΜΦΑΔΕΝΙΚΗ ΔΙΗΘΗΣΗ	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index (+)	14	1.5200	.4220	.1128
(-)	26	1.5869	.5349	.1049

Πίνακας 30

Δεν διαπιστώνεται καμιά διαφοροποίηση του DNA index όσον αφορά τις δυνητικά κακοήθεις παραμέτρους αγγειακής και λεμφαγγειακής νεοπλασματικής διήθησης (πίνακες 29-30).

**Λεμφαδενικές μεταστάσεις**

Οι όγκοι που είναι θετικοί για λεμφαδενικές μεταστάσεις εμφανίζουν ελάχιστα αυξημένο DNA index σε σχέση με τους αρνητικούς (πίνακας 31). Σε κατάταξη ανάλογα με τον αριθμό των διηθημένων λεμφαδένων δεν διαπιστώνεται καμιά διαφορά.

**Group Statistics**

LN	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index ΟΧΙ	20	1.5160	.4558	.1019
ΝΑΙ	20	1.6110	.5367	.1200

Πίνακας 31

**Συστηματικές μεταστάσεις**

Ακόμη μικρότερη είναι η αύξηση του DNA index που διαπιστώνεται στους όγκους με γενικευμένες μεταστάσεις (πίνακας 32).

**Group Statistics**

Metastasis	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index Yes	10	1.5830	.4845	.1532
No	30	1.5570	.5049	9.218E-02

Πίνακας 32

**P53**

Σε συσχέτιση του DNA Index με το p53 διαπιστώνουμε τα ακόλουθα :Το DNA Index δεν σχετίζεται με το P53 όταν το τελευταίο είναι κατηγοριοποιημένο ως αρνητικό/θετικό(  $p=0.767$ -πίνακας 33), σχετίζεται όμως με την ένταση του P53(  $p=0.013$ ). Πιο συγκεκριμένα οι δύο ομάδες που διαφέρουν είναι οι δύο θετικές ομάδες(  $p=0.011$ -πίνακας 34). Το P53 αυξάνει και στην συνέχεια



μειώνεται, έτσι ώστε η ομάδα των p53(-) να έχει παρόμοιο DNA index με αυτή στην οποία το p53 είναι (+) σε >50%(DI=1.5), ενώ η ομάδα των p53(+) αλλά σε <50% να εμφανίζει DI>2.

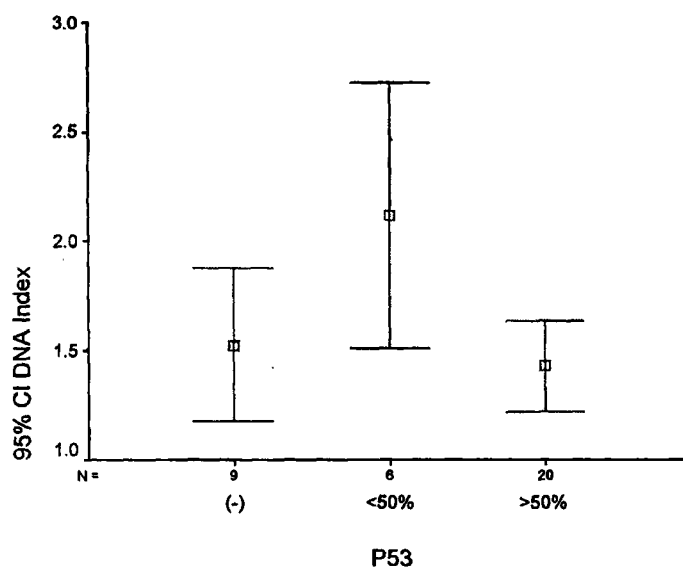
Group Statistics

P53	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index (+)	26	1.5865	.5496	.1078
(-)	9	1.5256	.4558	.1519

Πίνακας 33

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
DNA Index (-)	9	1.5256	.4558	.1519	1.13	2.39
<50%	6	2.1150	.5782	.2360	1.15	2.72
>50%	20	1.4280	.4415	9.871E-02	.92	2.58

Πίνακας 34



### MIB-1

Σχετικά με το MIB-1 δεν διαπιστώνεται καμιά διαφοροποίηση στην τιμή του DNA index(  $p=0.0786$ -πίνακας 35) ακόμη και με κατηγοριοποίηση του MIB-1 ανάλογα με το ποσοστό θετικότητας.

Group Statistics

MIB 1	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DNA Index (+)	21	1.5843	.5065	.1105
(-)	14	1.5350	.5473	.1463

Πίνακας 35

### Υποτροπή

ΣΥΝΟΛΟ      ΑΡΙΘΜΟΣ      ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘ.      ΠΟΣΟΣΤΟ  
ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ      ΕΛ ΝΟΣΟΥ      ΕΛ ΝΟΣΟΥ



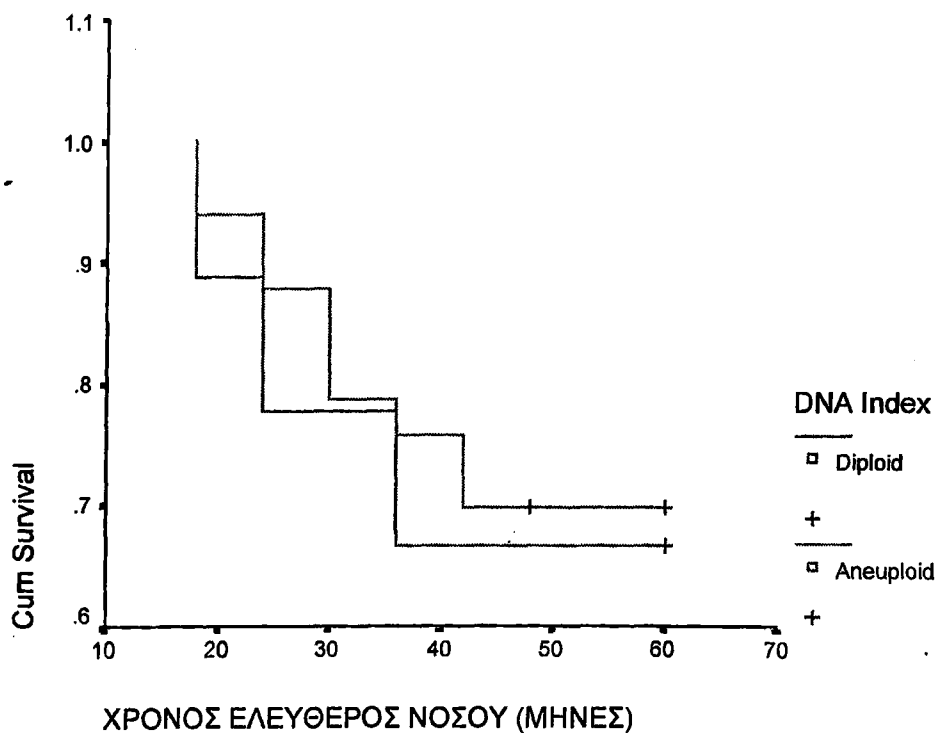
DNA Aneuploid	33	10	23	69.70
DNA Diploid	9	3	6	66.67

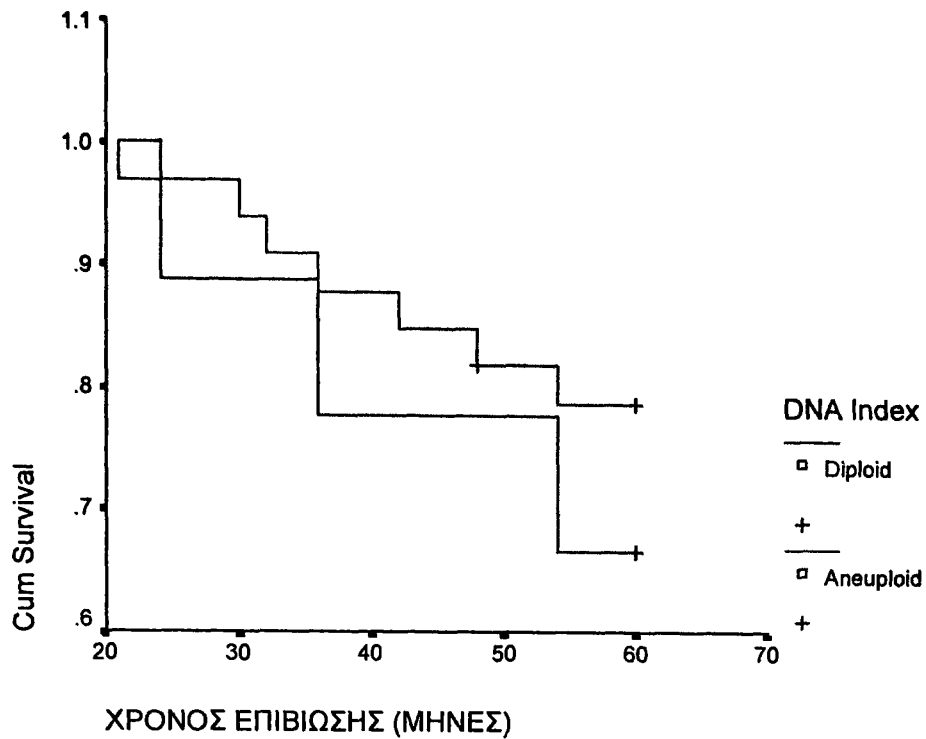
Οι υποτροπές και το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου δεν διαφέρει ανάμεσα στα διπλοειδικά και ανευπλοειδικά ( $p=0.8067$ ).

### Επιβίωση

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
DNA Aneuploid	33	7	26	78.79
DNA Diploid	9	3	6	66.67

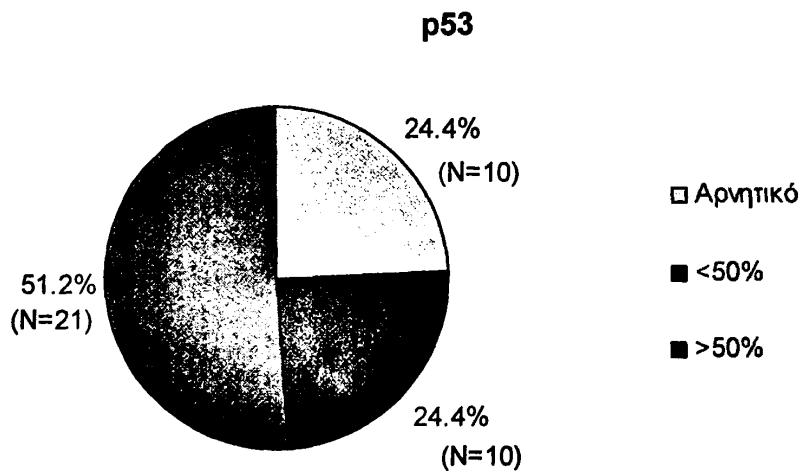
Η επιβίωση δεν διαφέρει στατιστικά ανάμεσα στα διπλοειδικά και ανευπλοειδικά ( $p=0.47010$ ). Παραδόξως όμως τα ανευπλοειδικά παρουσιάζουν υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης σε σχέση με τα διπλοειδικά.





**P53**

Στις παρακάτω γραφικές παραστάσεις απεικονίζονται τα ποσοστά των p53 (+) και (-) ΜΚ της μελέτης καθώς και η κατηγοριοποίησή τους σε ομάδες ανάλογα με τα ποσοστά θετικότητας. Οι p53(+) όγκοι πλειοψηφούν (75.6%).



**Ηλικία-Διάμετρος**

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 36 οι p53(+) και (-) όγκοι δεν διαφοροποιούνται ούτε όσον αφορά την ηλικία των ασθενών αλλά ούτε και στην διάμετρο του όγκου.

Group Statistics

	P53	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
AGE	(+)	31	52.00	13.12	2.36
	(-)	10	51.90	8.90	2.81
Diameter	(+)	31	3.039	1.252	.225
	(-)	10	3.570	2.969	.939

Πίνακας 36

### Οικογενειακό ιστορικό

Οι ασθενείς με θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο φαίνεται ότι εμφανίζουν σε μεγαλύτερη αναλογία p53(+) όγκους.

		P53		
			(+)	(-)
Οικογεν. Ιστορικό	(+)	N	12	3
		%	80.0%	20.0%
	(-)	N	19	6
		%	76.0%	24.0%
Σύνολο		N	31	9

Πίνακας 37

### NPI

Ο προγνωστικός δείκτης NPI δεν διαφοροποιείται σημαντικά στους p53(+) και (-) όγκους. Παρόλα αυτά διαπιστώνουμε μία τάση οι p53(+) να χαρακτηρίζονται στο μεγαλύτερό τους ποσοστό από  $NPI \geq 5.4$ , ενώ οι p53(-) από  $NPI < 5.4$ , ο μικρός όμως αριθμός τους (που αντιστοιχεί στο ένα τρίτο των p53(+)) δεν επιτρέπει την τεκμηρίωση στατιστικών συμπερασμάτων.

		P53		
			(+)	(-)
NPI	$\geq 5.4$	N	15	4
		%	78.9%	21.1%
	$< 5.4$	N	16	6
		%	72.7%	27.3%
Σύνολο		N	31	10

Πίνακας 38

### Λεμφαδενικές μεταστάσεις

		P53	

			(+)	(-)
LN	OXI	N	16	7
		%	69.6%	30.4%
	NAI	N	15	3
		%	83.3%	16.7%
Σύνολο		N	31	10

Πίνακας 39

Από τους όγκους που έχουν δώσει λεμφαδενικές μεταστάσεις η μεγαλύτερη αναλογία είναι p53(+) και μάλιστα η διαφορά με τους p53(-) είναι σημαντική.

### Αγγειακή και λεμφαγγειακή διήθηση

		P53		
			(+)	(-)
Αγγειακή Διήθηση	(+)	N	12	5
		%	70.6%	29.4%
	(-)	N	19	4
		%	82.6%	17.4%
Σύνολο		N	31	9

Πίνακας 40

Οι p53(+) όγκοι συνήθως δεν εμφανίζουν νεοπλασματική αγγειακή διήθηση η οποία είναι πιά συχνή στους p53(-) όγκους. Αναφορικά με την περιλεμφαδενική διήθηση παρατηρείται το ίδιο φαινόμενο

		P53		
			(+)	(-)
Λεμφαγγειακή Διήθηση	(+)	N	10	4
		%	71.4%	28.6%
	(-)	N	21	6
		%	77.8%	22.2%
ΣΥΝΟΛΟ		N	31	10

Πίνακας 41

### Συστηματικές μεταστάσεις

Οι p53 (+) όγκοι εμφανίζουν σε μικρότερο ποσοστό συστηματικές μεταστάσεις απ'ότι οι p53 (-).

		Μεταστάσεις		
			NAI	OXI
P53	(+)	N	7	24
		%	22.6%	77.4%
	(-)	N	3	7
		%	30.0%	70.0%
Σύνολο		N	10	31

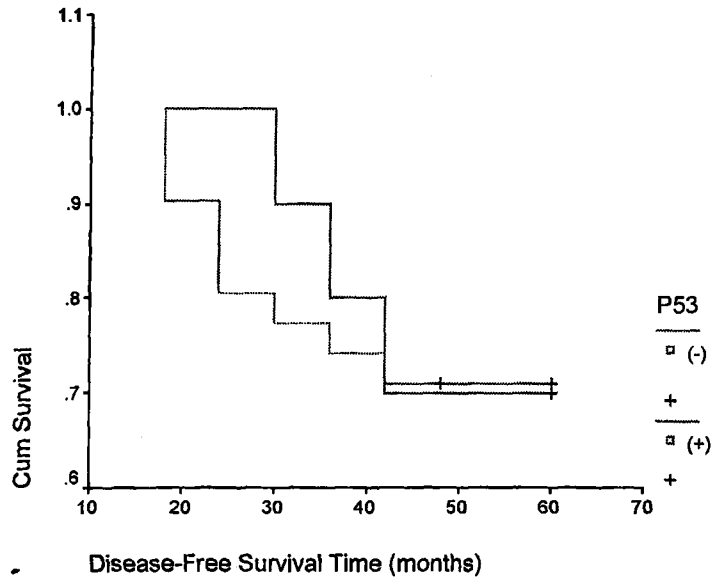
		%	24.4%	75.6%
--	--	---	-------	-------

Πίνακας 42

### Υποτροπές

Δεν υπάρχει διαφορά στην εμφάνιση υποτροπών μεταξύ των p53(+) και (-) όγκων.

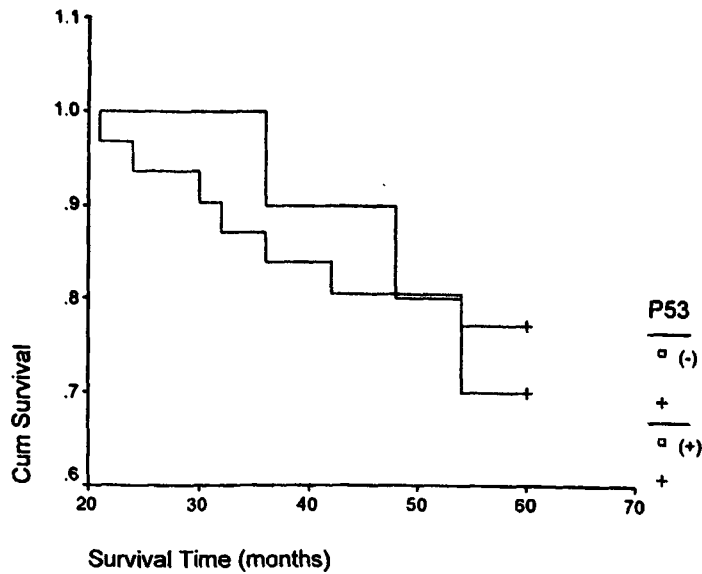
	Σύνολο	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒ.ΑΣΘ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΑΣΘ.ΕΛΕΥΘ.ΝΟΣΟΥ
P53 (+)	31	9	22	70.97
P53 (-)	10	3	7	70.00



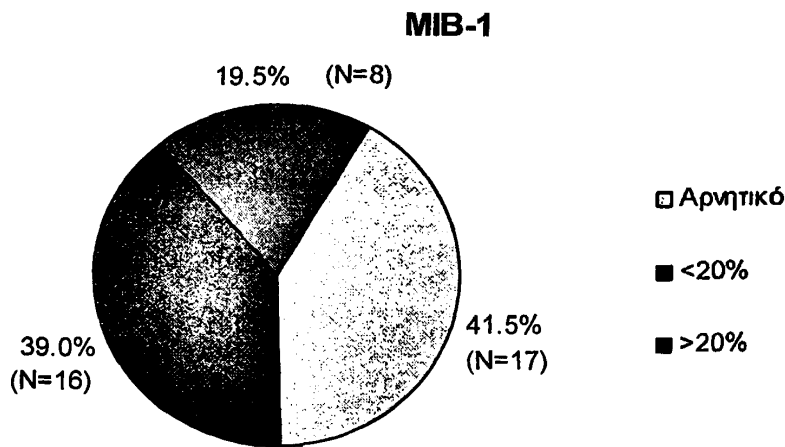
### Επιβίωση

Οι p53(+) όγκοι εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης από τους p53(-) χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική ( $p=0.7576$ ).

		ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
P53(+)	31	7	24	77.42
P53 (-)	10	3	7	70.00



### MIB-1



Τα ΜΚ είναι σε αναλογία 58.5% MIB-1(+). Στην παραπάνω γραφική παράσταση απεικονίζεται και η κατηγοριοποίηση σε ομάδες ανάλογα με το αν το ποσοστό θετικότητας είναι < (39.0%) ή > (19.5%) από 20%.

### **Ηλικία-Διάμετρος όγκου**

Όπως φαίνεται στον πίνακα η ηλικία είναι η ίδια μεταξύ των MIB(+) και (-) όγκων. Αναφορικά με το μέγεθος οι MIB-1(+) όγκοι είναι μεγαλύτερης διαμέτρου από τους (-)όπως αναμένεται άλλωστε λόγω του αυξημένου ρυθμού πολλαπλασιασμού.

**Group Statistics**

	MIB 1	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
AGE	(+)	24	52.21	11.98	2.45
	(-)	17	52.71	12.92	3.13
Diameter	(+)	24	3.408	2.010	.410
	(-)	17	2.788	1.448	.351

Πίνακας 43

**Οικογενειακό ιστορικό**

Παρατηρούμε ότι οι ασθενείς με θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο εμφανίζουν σε μεγάλη αναλογία MIB-1(+) ΜΚ ενώ στις περιπτώσεις με αρνητικό οικογενειακό ιστορικό τα ποσοστά εμφάνισης MIB-1(+) και (-) ΜΚ είναι περίπου τα ίδια.

		MIB 1		
			(+)	(-)
Οικογεν. Ιστορικό	(+) N	N	10	4
		%	71.4%	28.6%
	(-) N	N	13	12
		%	52.0%	48.0%
Σύνολο	N	23	16	

Πίνακας 44

**Αγγειακή και λεμφαγγειακή διήθηση**

Το φαινόμενο της λεμφαγγειακής νεοπλασματικής διήθησης εμφανίζεται συχνότερα σε MIB-1(+) παρά σε (-) όγκους και το ίδιο συμβαίνει και με την αγγειακή διήθηση.

		MIB 1		
			(+)	(-)
Λεμφαγγειακή Διήθηση	(+) N	N	7	6
		%	53.8%	46.2%
	(-) N	N	17	11
		%	60.7%	39.3%
Σύνολο	N	24	17	

Πίνακας 45

		MIB 1		
			(+)	(-)
Αγγειακή Διήθηση	(+) N	N	14	10
		%	58.3%	41.7%
	(-) N	N	10	6
		%	62.5%	37.5%
Σύνολο	N	24	16	

Πίνακας 46



### **NPI**

Το NPI εμφανίζεται υψηλότερο στην κατηγορία των MIB-1 (+) όγκων και μάλιστα το 66.7% έχουν τιμή >5.4 που συνδέεται και με επιβαρυνμένη πρόγνωση.

		MIB 1		
		(+)	(-)	
NPI	>=5.4	N	12	6
		%	66.7%	33.3%
	<5.4	N	12	11
		%	52.2%	47.8%
Σύνολο		N	24	17

Πίνακας 47

### **Λεμφαδενικές μεταστάσεις**

Η εμφάνιση λεμφαδενικών μεταστάσεων είναι συχνότερη στην ομάδα των MIB-1(+) MK και μάλιστα με σημαντική διαφορά σε σχέση με τα MIB-1(-).

		MIB 1		
		(+)	(-)	
LN	OXI	N	13	10
		%	56.5%	43.5%
	ΝΑΙ	N	11	7
		%	61.1%	38.9%
Σύνολο		N	24	17

Πίνακας 48

### **Συστηματικές μεταστάσεις**

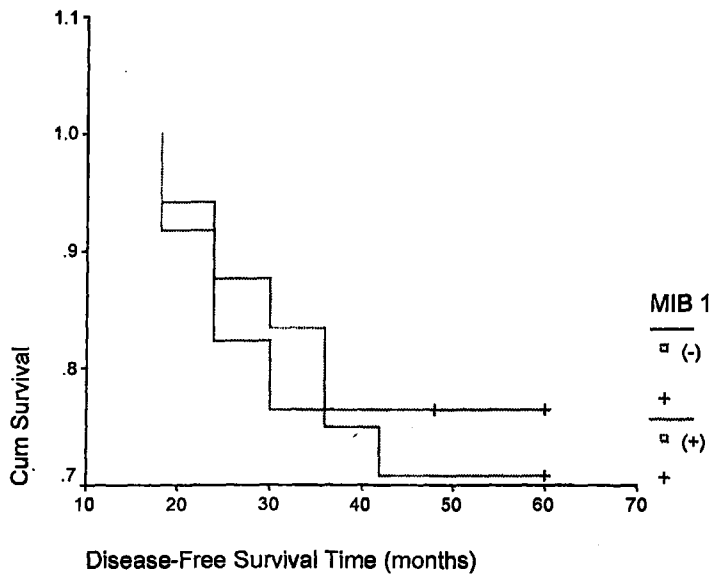
Δεν διαπιστώνεται καμιά διαφορά μεταξύ των MIB-1(+) και (-) όσον αφορά τις γενικευμένες μεταστάσεις.

		Μεταστάσεις		
		ΝΑΙ	OXI	
MIB 1	(+)	N	5	19
		%	20.8%	79.2%
	(-)	N	4	13
		%	23.5%	76.5%
Σύνολο		N	9	32

Πίνακας 49

### **Υποτροπές**

	Σύνολο	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒ.ΑΣΘ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
MIB1(+)	24	7	17	70.83
MIB1(-)	17	4	13	76.47

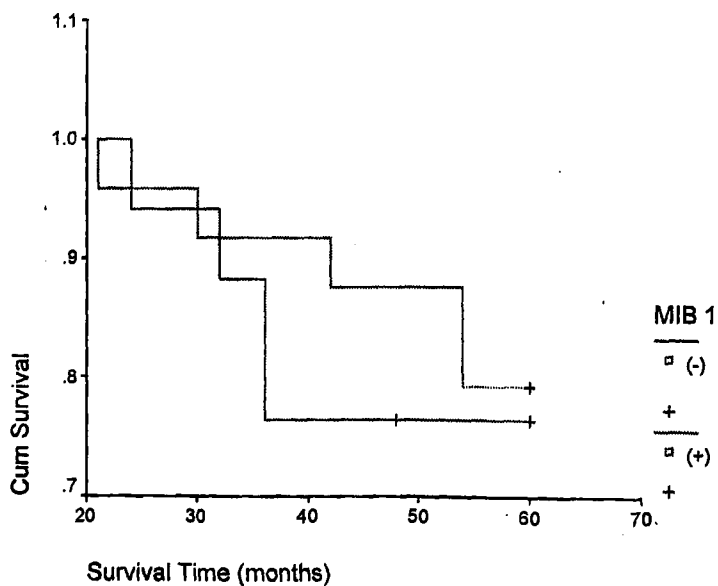


\*\*\*Τα περιστατικά που εμφάνισαν υποτροπή ήταν περισσότερα στην κατηγορία των MIB-1(+) όγκων, στατιστικά όμως δεν διαπιστώνεται κάποια διαφορά στο χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου μεταξύ των MIB-1(+) και (-) ( $p=0.747$ ).

### Επιβίωση

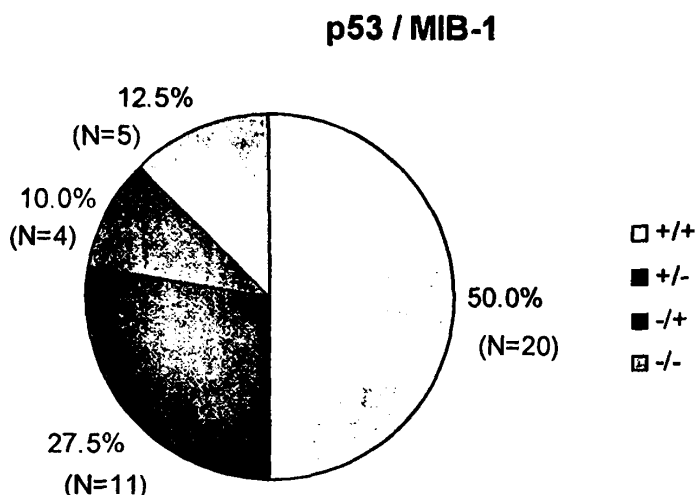
	Σύνολο	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
MIB-1 (+)	24	5	19	79.17
MIB-1 (-)	17	4	13	76.47

Η επιβίωση είναι αυξημένη στους MIB-1(+) όγκους (79.1%) χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά με τους MIB-1(-) ( $p=0.7734$ ).



## Συνδυασμός των παραμέτρων p53 και MIB-1

### Κατανομή



Στην παραπάνω γραφική παράσταση απεικονίζονται οι ομάδες μετά από συνδυασμένη κατηγοριοποίηση των ΜΚ σε p53 και MIB-1 (+) και (-) όγκους. Το 50% του υλικού αφορά p53(+)/MIB-1(+) ΜΚ, το 27.5% p53(+)/MIB-1(-), το 12.5% p53(-)/MIB-1(-) και το 10% p53(-)/MIB-1(+). Η πλειοψηφία λοιπόν των ΜΚ της μελέτης είναι όγκοι με μετάλλαξη του ογκογονιδίου p53 και αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού δηλαδή υψηλό δυναμικό κακοήθειας.

### Υποτροπές

	Σύνολο	ΑΡΙΘΜΟΣ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΛ. ΝΟΣΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΛ.ΝΟΣΟΥ
P53/MIB-1+/+	20	6	14	70.00
P53/MIB-1+/-	11	3	8	72.73
P53/MIB-1 -/+	4	1	3	75.00
P53/MIB-1 -/-	5	1	4	80.00

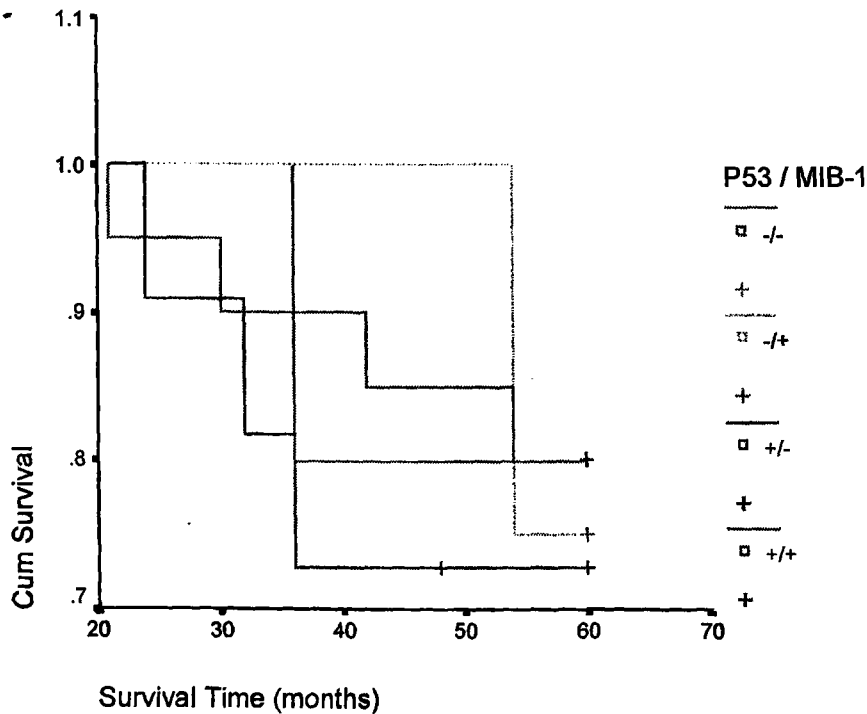
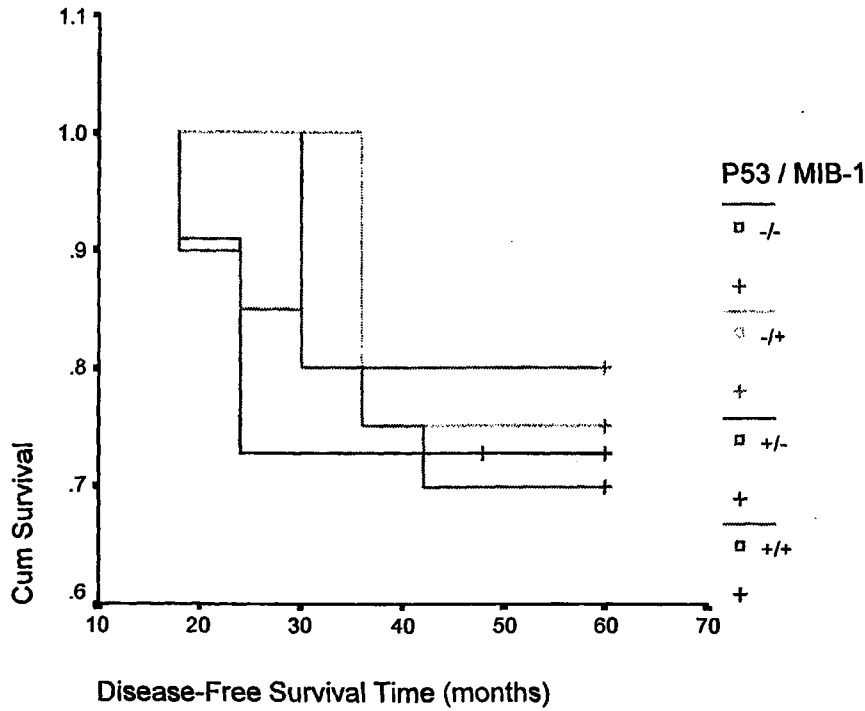
Οι περισσότερες υποτροπές εμφανίζονται στην κατηγορία p53(+)/MIB-1(+), με αμέσως επόμενη την κατηγορία p53(+)/MIB-1(-), ενώ η ομάδα με τις λιγότερες υποτροπές είναι η p53(-)/MIB-1(-). Παρόλα αυτά το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου δεν διαφοροποιείται στατιστικά ανάμεσα στις κατηγορίες εν μέρει λόγω του μικρού αριθμού περιστατικών.

### Επιβίωση

	Σύνολο	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΑΝΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΠΙΒΙΩΣ.	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ
P53/MIB-1 +/+	20	4	16	80.00
P53/MIB-1 +/-	11	3	8	72.73
P53/MIB-1 -/+	4	1	3	75.00
P53/MIB-1 -/-	5	1	4	80.00

Οι συνδυασμοί που χαρακτηρίζονται από την καλύτερη πρόγνωση είναι οι p53(+)/MIB-1(+) και οι p53(-)/MIB-1(-). Ενδιάμεσο είναι το ποσοστό επιβίωσης

στους p53(-)/MIB-1(+), ενώ την χειρότερη πρόγνωση παρουσιάζει ο συνδυασμός p53(+)/MIB-1(-) ( $\rho=0.9526$ ).



### Μοντέλο αναλογικού κινδύνου κατά Cox

Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου κατά Cox αποτελεί μία πολυπαραγοντική μέθοδο συνεκτίμησης παραμέτρων προκειμένου να συνεκτιμηθεί η σημαντικότητα του καθενός για την πιθανότητα εμφάνισης υποτροπής και για την εξασφάλιση πενταετούς επιβίωσης.

### Υποτροπή

		B	SE	df	Sig.	HR	95% CI for HR	
Νέκρωση	Ναι							
	Όχι	1.93	0.90	1	0.0324	6.874	1.175	40.197
Λεμφαδένες	Μη Διηθημένοι							
	Διηθημένοι	0.39	0.10	1	0.0002	1.478	1.207	1.809
Ηλικία		-0.06	0.03	1	0.0483	0.939	0.882	0.999

Ο πίνακας δηλώνει ότι από όλους τους παράγοντες για την πιθανότητα εμφάνισης υποτροπής στα ΜΚ τελικά οι πιο σημαντικοί είναι ο παράγοντας λεμφαδένες ( $p=0.0006$ ), ο παράγοντας νέκρωση ( $p=0.0324$ ) καθώς και ο παράγοντας ηλικία ( $p=0.0483$ ). Η ύπαρξη διηθημένων λεμφαδένων, η μικρή ηλικία και η παρουσία νέκρωσης προδιαθέτουν στην εμφάνιση υποτροπής. Αντίθετα η απουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων, η απουσία νέκρωσης στον όγκο και η μεγάλη ηλικία εμφανίζονται ως ευνοϊκοί παράγοντες που αποτρέπουν την εμφάνιση υποτροπής. Οι υπόλοιποι παράγοντες που συνεκτιμήθηκαν και δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικοί για την εμφάνιση υποτροπής είναι : ο τύπος, η διάμετρος, το οικογενειακό ιστορικό, το στάδιο της νόσου κατά TNM, το in situ ενδοτορικό καρκίνωμα, το DNA index, το p53, το MIB-1, η αγγειακή και η περιλεμφαδενική νεοπλασματική διήθηση.

#### Variables not in the Equation

	Score	df	Sig.
TYPE	.339	1	.560
DIAMETRO	1.024	1	.312
FAMHISTO	2.166	1	.141
N_STAGE	1.049	1	.306
D.ESTIES	.051	1	.821
dna	.422	1	.516
P53	.074	1	.785
MIB1	2.073	1	.150
INVASION	1.722	1	.189
PERILINV	.061	1	.804

### Πενταετής επιβίωση

		B	SE	df	p	HR	95% CI for HR	
Λεμφαδένες	Μη Διηθημένοι							
	Διηθημένοι	0.79	0.26	1	0.0026	2.202	1.317	-3.682
DNA Index	Διπλοειδικά							
	Ανευπλοειδικά	-2.48	1.36	1	0.0673	0.084		

Ο πίνακας δηλώνει ότι από όλους τους παράγοντες της πενταετούς επιβίωσης, τελικά ο πιο σημαντικός για τα ΜΚ είναι ο παράγοντας λεμφαδένες ( $p=0.0026$ ). Επίσης υπάρχει και η τάση τα ανευπλοειδικά να έχουν μικρότερο κίνδυνο σε σχέση με τα διπλοειδικά ( $p=0.0673$ ). Άρα οι ασθενείς με ΜΚ που έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης είναι αυτοί των οποίων οι εξαιρεθέντες κατά την χειρουργική επέμβαση λεμφαδένες είναι αρνητικοί για μεταστάσεις και (παραδόξως αφού για άλλα καρκινώματα συνδέονται

συνήθως με επιβαρυμένη πρόγνωση), οι ασθενείς με ανευπλοειδικούς όγκους. Οι υπόλοιποι παράγοντες που συνεκτιμήθηκαν και δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικοί ήταν : η διάμετρος, το οικογενειακό ιστορικό, το στάδιο της νόσου κατά TNM, το in situ ενδοτορικό καρκίνωμα, η νέκρωση, το p53, το MIB-1, η ηλικία, η αγγειακή και η περιλεμφαδενική νεοπλασματική διήθηση.

Variables not in the Equation

	Score	df	Sig.
FAMHISTO	2.361	1	.124
INVASION	.000	1	.990
DIAMETRO	.000	1	.985
STAGE	1.866	1	.172
NECROSIS	.001	1	.969
D.ESTIES	.157	1	.692
P53	.804	1	.370
MIB1	.039	1	.843
AGE	.082	1	.775
PERILINV	.019	1	.889

**Ένταση λεμφοκυτταρικής διήθησης και p53**

	p53(+)<50%	p53(+)>50%	p53(-)
K(++) <i>P</i> (++)	5	13	1
K(++) <i>P</i> (+)	4	6	2
K(-) <i>P</i> (+)	1	2	7

	<i>Bone Metastases</i>	<i>Visceral Metastases</i>
<i>P53</i> (+)	68.2%-5	31.8%%-2
<i>P53</i> (-)	45%-1	55%-2

## Συζήτηση

Από την πρώτη τους περιγραφή από το 1940 από τον Ewing μέχρι σήμερα τα μυελοειδή περιγράφονται σαν μία ιδιαίτερη κλινική οντότητα. Όλοι οι μέχρι σήμερα ορισμοί τους αναφέρουν α) την χαμηλή συχνότητα εμφάνισής τους β) την ιδιαίτερη ανοσολογικής φύσεως λεμφοπλασματοκυτταρική αντίδραση που τα περιβάλλει γ) την τάση του όγκου να εμφανίζει αιμορραγικές και νεκρωτικές περιοχές με επακόλουθη ανάπτυξη συνδετικού ιστού δ) το ομαλό περίγραμμα με περιφέρεια ιδιαίτερης μορφολογίας ε) τα αυξημένης κακοήθειας ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά και την σε πλήρη αντίθεση με αυτό στ) καλοηθέστερη κλινική συμπεριφορά που συνίσταται σε χαμηλότερη συχνότητα λεμφαδενικών και συστηματικών μεταστάσεων και σε αυξημένα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης.

Η πλήρης παθολογοανατομική περιγραφή τους έγινε το 1949 από τους Moore & Foote οι οποίοι περιέγραψαν πρώτοι το χαρακτηριστικό του όγκου συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης και την αυξημένη μιτωτική του δραστηριότητα, ενώ το 1956 ο Richardson υπογράμμισε την πυρηνική του πλειομορφία και έκανε δύο σημαντικές παρατηρήσεις: 1) ότι αν και η γενική πορεία των μυελοειδών είναι καλοηθέστερη η εμφάνιση των υποτροπών και των μεταστάσεων είναι πρώιμη και 2) ότι η πενταετής επιβίωση δεν επηρεάζεται ούτε από την πυκνότητα της λεμφοκυτταρικής διήθησης ούτε από την παρουσία ή απουσία νέκρωσης. Το 1968 ο Gorski παρατήρησε ότι τα μυελοειδή με λεμφαδενικές μεταστάσεις είχαν υψηλότερα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης από τα πορογενή διηθητικά με τον ίδιο αριθμό μεταστάσεων.

Το 1977 ο Ridolfi θέσπισε ιδιαίτερα κριτήρια και εδραίωσε το σαφή διαχωρισμό μεταξύ των δύο τύπων των μυελοειδών, των τυπικών και των άτυπων. Τα επιμέρους ιστολογικά χαρακτηριστικά των ΤΜΚ (όπως αυτά καθορίστηκαν από τον Ridolfi) είναι: α) Συγκυτιακό πρότυπο ανάπτυξης τουλάχιστον στο 75% της καρκινικής μάζας, β) καλά περιγεγραμμένος όγκος με τα χαρακτηριστικά ωθούμενα όρια λόγω της λεμφοκυτταρικής διήθησης στην περιφέρεια γ) λεμφοπλασματοκυτταρική διάχυτη διήθηση στρώματος σε τουλάχιστον το 75% της περιφέρειας του όγκου και διάχυτα παρούσα στην κυρίως μάζα δ) μέτρια ή εκσεσημασμένη πυρηνική πλειομορφία και αυξημένος αριθμός μιτώσεων ε) διάχυτη νέκρωση, συχνότερα >25% της περιοχής του όγκου. Σαν ΑΜΚ ορίζονται τα μυελοειδή καρκινώματα που εμφανίζουν κυρίως αρχο πρότυπο ανάπτυξης το συγκυτιακό σε παραπάνω από το 75% του πεδίου και τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά: α) περιοχές των ορίων του όγκου που δείχνουν εστιακή ή έκδηλη διήθηση β) ύπαρξη ενδοπορικού καρκινώματος στην περιφέρεια ή εκτός του όγκου γ) μέτρια μονοπυρηνική διήθηση που μπορεί να περιορίζεται μόνο στην περιφέρεια του όγκου δ) Βαθμός πυρηνικής πολυμορφίας 3 ε) Παρουσία μικροαδενικών σχηματισμών

Παρά τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ΜΚ είναι γεγονός ότι υπερ- ή υπο-διαγιγνώσκονται, γεγονός που δημιουργεί μεγάλη σύγχυση στον καθορισμό της συχνότητας αλλά κυρίως της πρόγνωσης τους, που ενέχει συγχρόνως και τον κίνδυνο εφαρμογής πλημμελούς θεραπευτικής αγωγής. Ο Pedersen το 1991 τροποποίησε τον ορισμό χρησιμοποιώντας μόνο τα κριτήρια της συγκυτιακής ανάπτυξης με σύγχρονη απουσία σωληναριακού στοιχείου, της μονοπυρηνικής διήθησης και της διάχυτης νέκρωσης  $\geq 25\%$ . Ούτε όμως και αυτός ο

ορισμός κατάφερε να μειώσει το ποσοστό των αποτυχημένων διαγνώσεων παρότι αρχικά θεωρήθηκε ο πλέον αναπαραγωγίμος. Στην μελέτη μας χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια του Ridolfi που είναι αποδεκτά από τους περισσότερους παθολογοανατόμους.

Η συχνότητα εμφάνισης των ΜΚ στην Ελλάδα φαίνεται να είναι ακόμη χαμηλότερη από την αναφερόμενη στην διεθνή βιβλιογραφία. Στα περιστατικά καρκίνου του μαστού στο Νοσοκομείο «Μαρίκα Ηλιάδη» από το 1985 μέχρι το 1999 αντιπροσώπευαν το 3,5% μέχρι 0,2%. Σε αντίθεση με τα διεθνή δεδομένα που περιγράφουν τις ασθενείς με ΜΚ κυρίως σαν προεμμηνοπαυσιακές, η πλειοψηφία των ασθενών ήταν μετεμμηνοπαυσιακές. Το ηλικιακό φάσμα ήταν, σε συμφωνία με την βιβλιογραφία, από τα 40 μέχρι τα 55 έτη με 59% των ασθενών να είναι κάτω από 50 έτη. Η μέση ηλικία εμφάνισης των ΤΜΚ (53.1 έτη) ήταν μεγαλύτερη από αυτή των ΑΜΚ(51.6 έτη) η διαφορά όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική. Από το ατομικό αναμνηστικό, η ηλικία εμμηναρχής ήταν στην πλειοψηφία μετά τα 13 έτη, ενώ περίπου οι μισές είχαν δύο παιδιά και το 1/3 δεν είχε καθόλου παιδιά. Δεν διαπιστώνεται κάποια συσχέτιση με το καπνισμα, την κατανάλωση αλκοόλ, ιστορικό ινοκυστικής μαστοπάθειας ή κατανάλωση οιστρογόνων. Μεταξύ των δύο τύπων δεν υπήρχε καμία διαφορά τον αριθμό των παιδιών και την ηλικία εμμηναρχής, στην κατηγορία των όμως των ΑΜΚ υπήρχαν περισσότερες γυναίκες με αναφερόμενο ιστορικό αυξημένης κατανάλωσης αλκοόλ, λήψης οιστρογόνων και ινοκυστικής μαστοπάθειας, αλλά λιγότερες καπνίστριες σε σχέση με τα ΤΜΚ.

Αναφορικά με την εντόπιση, η κατανομή ακολουθεί αυτή των πορογενών διηθητικών με την πλειοψηφία των όγκων στο άνω-έξω τεταρτημόριο του (αρ) μαστού και για τους δύο τύπους και δεύτερη σε συχνότητα περιοχή εμφάνισης για τα ΤΜΚ το άνω έσω τεταρτημόριο, ενώ για τα ΑΜΚ το κάτω έξω. Σημειώνεται ότι σε 2 περιστατικά (4,2%) είχαμε εμφάνιση του όγκου στην υποθηλαία περιοχή που αποτελεί εξαιρετικά σπάνια θέση ανάπτυξης ΜΚ.

Η μέση διάμετρος του όγκου, όπως και περιγράφεται, ήταν 3 εκ., με τα ΑΜΚ να είναι λίγο μεγαλύτερα (3.3 εκ.) από τα ΤΜΚ(2.5 εκ.). Πολυκεντρική εμφάνιση του όγκου είχαμε σε 2 περιστατικά(4.2%) από τις χαμηλότερα αναφερόμενες στη βιβλιογραφία(8% έως 10%). Επανεμφάνιση καρκίνου στον ίδιο μαστό είχαμε σε 2 περιπτώσεις (4.1 %). Και στις δύο, το δεύτερο καρκίνωμα ήταν του ίδιου τύπου με το πρώτο. Αμφοτερόπλευρη εντόπιση του όγκου δεν αναφέρθηκε σε κανένα περιστατικό(στη βιβλιογραφία αναφέρεται σαν πολύ σπάνια οντότητα για τα ΜΚ). Τα περισσότερα περιστατικά εμφανίστηκαν σε λιπώδεις μαστούς και σε ποσοστό πάνω από 50% η περιφέρεια του όγκου ήταν ομαλή.

Στα σχετικά άρθρα αναφέρεται ότι σε 15% των περιπτώσεων ΜΚ υπάρχει κληρονομική επιβάρυνση από την πλευρά της μητέρας με περίπου το μισό των αναφερόμενων από το ατομικό αναμνηστικό των ασθενών νεοπλασιών να αφορά τις ωσθήκες. Θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο σε συγγενή α΄ βαθμού καταγράφηκε στο 37% με τα 2/3 των περιπτώσεων να είναι καρκίνοι του μαστού και των ωσθηκών. Το ποσοστό θετικού οικογενειακού ιστορικού ήταν παρόμοιο για τους δύο τύπους. Είναι πιθανή λοιπόν η εμφάνιση του ΜΚ στα πλαίσια γενετικά μεταβιβαζόμενου συνδρόμου οφειλόμενου σε γονιδιακή μετάλλαξη.

Από τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά, είναι ενδιαφέρον ότι η νέκρωση που από τον Pedersen έχει περιγραφεί σαν τόσο συχνό εύρημα που να αποτελεί





κριτήριο διάγνωσης του όγκου, δεν διαπιστώνεται στο 66% των παρασκευασμάτων. Συγκρίνοντας όμως τους δύο τύπους παρατηρούμε ότι σε στατιστικά σημαντική διαφορά υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης νέκρωσης στα ΤΜΚ, η παρουσία της λοιπόν μπορεί να ενισχύσει σημαντικά τη διάγνωσή του.

Η λεμφοπλασματοκυτταρική διήθηση πιά έντονη στην περιφέρεια και διάχυτη στην κυρίως καρκινική μάζα, είναι το χαρακτηριστικό που έχει συγκεντρώσει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον των ερευνητών μιά και πιθανολογείται ότι ερμηνεύει την καλοηθέστερη κλινική τους πορεία. Η έντασή της είναι μεγαλύτερη στα ΤΜΚ και μικρότερη στα ΑΜΚ. Συναντάται και σε άλλα διηθητικά πορογενή καρκινώματα, παρ'όλο όμως που δεν διαφέρει σημαντικά στον αντιγονικό φαινότυπο (αν εξαιρέσουμε την παρουσία σε αυξημένους αριθμούς ιστοκυττάρων και υποπληθυσμών CD 16, 56, 57 στα ΜΚ), είναι μικρότερο ποσοτικά και δεν περιλαμβάνει ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα που κυριαρχούν χαρακτηριστικά στα ΜΚ και έχουν πιθανόν την ικανότητα να φονεύουν τα καρκινικά κύτταρα. Υπάρχουν δύο θεωρίες για το φαινόμενο αυτό :1) Αποτελεί δομικό χαρακτηριστικό, αποτέλεσμα διαφορετικής εμβρυολογικής καταβολής και 2)(επικρατέστερη)αποτελεί ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή σε νεοαντιγονικούς χαρακτήρες του καρκινώματος. Τα Τ-βοηθητικά υπερέρχουν σε αριθμό πιθανόν και λόγω μειωμένης παραγωγής Τ-κατασταλτικών. Είναι ενδιαφέρον ότι τα κύτταρα αυτά έρχονται περιστασιακά μόνο σε επαφή με τα κύτταρα του όγκου, αποκλείοντας έτσι την διακυτταρική τοξικότητα που θα είχε σαν αποτέλεσμα την απόπτωση. Δεν συνδέονται με την παρουσία εκφυλιστικών φαινομένων, οι όγκοι όμως με αυξημένη διήθηση τείνουν να έχουν μικρότερο μέγεθος πιθανόν λόγω περιορισμού της ανάπτυξής του από τον ξενιστή. Η ταυτοποίηση των υποδοχέων ιντερλευκίνης 2 και του ενδοθηλιακού παράγοντα VIII βοήθησε στην πληρέστερη κατανόηση του φαινομένου. Ίσως κάποιο αντιγονικό ερέθισμα από τα καρκινικά κύτταρα να λαμβάνεται από ένα σημείο των μετατριχοειδικών φλεβιδίων των ΜΚ, με αποτέλεσμα την δημιουργία αγγειακών καναλιών και την μετανάστευση των λεμφοκυττάρων με ταυτόχρονη ενεργοποίησή τους. Στην μελέτη μας εκσεσημασμένη διήθηση και στο κέντρο και στην περιφέρεια είχαμε στο 45,8% των περιστατικών, τα ΤΜΚ σε ποσοστό υψηλότερο από τα ΑΜΚ. Υπάρχει η άποψη ότι η κατανομή και ο βαθμός της μονοπυρηνικής διήθησης έχουν προγνωστική βαρύτητα, δεν διαπιστώθηκε όμως κάτι τέτοιο.

Ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας ήταν 3 στο 79,2%. Τα 2/3 των ΤΜΚ είναι βαθμού 3. Στο μεγαλύτερό τους ποσοστό πάντως τα ΜΚ είναι βαθμού 2 και 3 με μιτώσεις και πυρηνικούς πλειομορφισμούς χωρίς αυτό να συνεπάγεται αντίστοιχα επιβαρυνμένη πρόγνωση.

Αγγειακή και λεμφαγγειακή νεοπλασματική διήθηση διαπιστώθηκε περίπου στο 40% των περιστατικών, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά, πάντως τα ΤΜΚ σε μεγαλύτερη αναλογία αρνητικά απ'ότι τα ΑΜΚ. Δεδομένου ότι η αγγειακή διήθηση αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους προγνωστικούς παράγοντες, η τάση των ΤΜΚ να «αυτοπεριορίζεται» χωρίς να διασπείρεται στην συστηματική κυκλοφορία, αποτελεί πιθανόν και μία από τις αιτίες της βελτιωμένης κλινικής του πορείας.

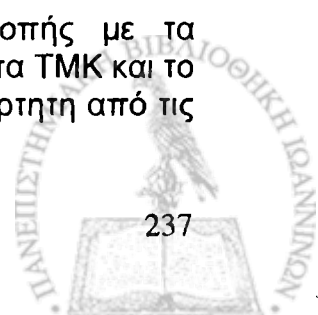
ΕΙC υπήρχε σε 10% των περιστατικών και δεν αποτέλεσε από μόνο του κριτήριο εξαίρεσης ενός όγκου από την κατηγορία των ΤΜΚ εφ'όσον πληρούσαν τα υπόλοιπα για τη διάγνωσή του.

Για τα μισά περίπου περιστατικά, σε ίδια αναλογία μεταξύ των δύο τύπων η διάγνωση έγινε νωρίς σε στάδια 1 και 2<sup>A</sup>. Ο μέσος χρόνος διάγνωσης ήταν 6.8 μήνες και αυτό είναι σε συμφωνία με τις παρατηρήσεις για ραγδαία εμφάνιση του όγκου που επιτρέπει και την πρωιμότερη διάγνωσή του. Η κατανομή κατά στάδια δεν διαφοροποιείται μεταξύ των ΤΜΚ και ΑΜΚ.

Η καθυστερημένη διάγνωση (>6 μήνες), η νεοπλασματική αγγειακή και λεμφαγγειακή διήθηση, το  $NPI \geq 5.4$ , η ύπαρξη διηθημένων λεμφαδένων, το αυξημένο στάδιο νόσου, η παρουσία in situ ενδοτορικού καρκινώματος και το θετικό οικογενειακό ιστορικό στην μελέτη συσχετίστηκαν με μικρότερο διάστημα ελεύθερο νόσου, αυξημένες υποτροπές και ελαττωμένη επιβίωση. Ειδικά για το NPI, η πλειοψηφία των ΑΜΚ εμφανίζουν τιμή >5.4 και είναι αυτά που συνδέονται με επιβαρυνόμενη πρόγνωση. Είναι ενδιαφέρον ότι τα ΤΜΚ που εμφανίζουν αυξημένη τιμή NPI, δεν συσχετίζονται πάντα και με κακή πρόγνωση.

Στις περισσότερες ασθενείς (με μικρή όμως διαφορά από τη μαστεκτομή) εφαρμόστηκε χειρουργική επέμβαση διατήρησης του μαστού (τμηματοεκτομή ή ογκεκτομή-λεμφαδενικός καθαρισμός μασχάλης), οι οποίες στην συνέχεια έλαβαν μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία. Λεμφαδένες επιπέδου II απομονώθηκαν και στους 48 ασθενείς, σημειώνουμε όμως ότι ταυτόχρονη εξαίρεση λεμφαδένων επιπέδων I και II που σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία εξασφαλίζει το μικρότερο ποσοστό ψευδώς αρνητικών ευρημάτων εφαρμόστηκε μόνο σε 4 ασθενείς. Οι εξαιρεθέντες λεμφαδένες ήταν σε κάθε περίπτωση περισσότεροι από 6 και στους περισσότερους ασθενείς πάνω από 14. Ο αριθμός των εξαιρεθέντων λεμφαδένων δεν φάνηκε να σχετίζεται με παράταση της επιβίωσης. Το ποσοστό των λεμφαδενικών μεταστάσεων όπως αναφέρεται και στην διεθνή βιβλιογραφία, είναι χαμηλότερο στα ΜΚ από ότι στα υπόλοιπα πορογενή διηθητικά. Στην δική μας μελέτη διηθημένους λεμφαδένες είχαμε σε 21 ασθενείς (43,8%) από τους οποίους οι 11 είχαν 1-3 θετικούς λεμφαδένες, ενώ 10 ασθενείς είχαν περισσότερους από 3 διηθημένους λεμφαδένες. Σε 27 ασθενείς οι λεμφαδένες ήταν αρνητικοί (56,2%). Τα ΤΜΚ και τα ΑΜΚ μεθίστανται με την ίδια περίπου συχνότητα στους μασχαλιαίους λεμφαδένες (11 και 10 περιπτώσεις αντίστοιχα). Υπάρχει μία μικρή τάση των ΑΜΚ να μεθίστανται σε περισσότερους από 4 λεμφαδένες χωρίς όμως η διαφορά με τα ΤΜΚ να είναι στατιστικά σημαντική. Από τους ασθενείς με ΤΜΚ και λεμφαδενικές μεταστάσεις, στο 50% περίπου αυτές αφορούσαν μόνο το επίπεδο II, ενώ το 40% των ΑΜΚ ήταν και στα τρία επίπεδα. Αυτή η ευρύτερη κατανομή των λεμφαδενικών μεταστάσεων στα ΑΜΚ υποδηλώνει και συμπεριφορά αυξημένης κακοήθειας. Σε ασθενείς με διηθημένους λεμφαδένες εφαρμόστηκε μετεγχειρητική χημειοθεραπεία, καθώς και σε κάποιους ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες αλλά συνυπάρχοντες χαρακτήρες αυξημένης κακοήθειας. Το 28,3% αναφέρει λήψη αντιοιστρογόνων πιθανόν οι ασθενείς με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς, χωρίς να είναι δεδομένο, αφού αποτελεί μία σπάνια αλλά αποδεκτή πρακτική η χορήγηση της θεραπείας αυτής και σε ασθενείς με αρνητικούς υποδοχείς. Πάντως η διαπίστωση αυτή είναι σε συμφωνία με τη σχετική βιβλιογραφία που αναφέρει πάνω από 70% αναλογία των όγκων με αρνητικούς υποδοχείς στα ΜΚ.

Το ΜΚ θεωρείται όγκος με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής με τα αναφερόμενα στην βιβλιογραφία ποσοστά να φτάνουν το 17% στα ΤΜΚ και το 40% στα ΑΜΚ. Στους ασθενείς με ΤΜΚ φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από τις



λεμφαδενικές μεταστάσεις(θετικές μόλις στο 25% των ασθενών με υποτροπή ενώ στο 75% αρνητικές), ενώ στους ασθενείς με AMK είναι σε άμεση συσχέτιση(θετικές μεταστάσεις στο 67% των ασθενών με υποτροπή). Σε ένα ποσοστό 25% η αρχική υποτροπή είναι τοπική(θωρακικό τοίχωμα, λεμφαδένες μασχαλιαίοι ή υπερκλειδίοι). Στα περιστατικά της μελέτης υποτροπές σημειώθηκαν σε 13 ασθενείς(27%). Στους 2 η υποτροπή ήταν τοπική(13.6%)(1 TMK και 1AMK) και στους 11 γενικευμένη(84.6%)(5 TMK και 6 AMK). Σε όλες τις ασθενείς με μεταστάσεις υπήρχαν διηθημένοι λεμφαδένες·στα TMK όμως στο 50% των περιπτώσεων ήταν 1-3, ενώ στα AMK στο 90% περισσότεροι από 3. Στα AMK λοιπόν φαίνεται(χωρίς να υπάρχει στατιστική σημαντικότητα), ότι η αύξηση του αριθμού των διηθημένων λεμφαδένων συνεπάγεται αυξημένη πιθανότητα μεταστάσεων. Είναι χαρακτηριστικό ότι οι υποτροπές εμφανίστηκαν πρώιμα μέσα στους πρώτους 36 μήνες. Τα οστά αποτέλεσαν την πρώτη σε συχνότητα εντόπιση συστηματικών μεταστάσεων και ακολουθούν το ήπαρ και οι πνεύμονες. Τα AMK εμφανίζουν μία τάση να μεθίστανται συχνότερα από τα TMK στα οστά. Όσον αφορά τις ηπατικές μεταστάσεις είναι πλιό συχνές στα TMK παρά στα AMK.

#### *Επιβίωση*

Τα αναφερόμενα στην βιβλιογραφία ποσοστά επιβίωσης για τα MK κυμαίνονται από 75 μέχρι 90%. Η κρατούσα άποψη είναι ότι τα TMK εμφανίζουν βελτιωμένη πενταετή επιβίωση σε σχέση με τα υπόλοιπα πορογενή διηθητικά καρκινώματα, μόνο όμως αν εφαρμοστούν αυστηρά κριτήρια για τη διάγνωσή τους από παθολογοανατόμο με αυξημένη εμπειρία και αν δεν έχουν διηθήσει τους μασχαλιαίους λεμφαδένες. Έτσι, ενώ σε λιγότερους από 3 διηθημένους λεμφαδένες η επιβίωση είναι πάνω από 98%, σε περισσότερους πέφτει κάτω από 80%. Για τα AMK οι απόψεις είναι αμφιλεγόμενες. Οι περισσότεροι πάντως συγκλίνουν στην γνώμη ότι η επιβίωσή τους είναι ελάχιστα καλύτερη από των πορογενών διηθητικών, ιδιαίτερα αν έχουν δώσει λεμφαδενικές μεταστάσεις, οπότε η επιβίωσή τους πέφτει από το 75 στο 50%. Η επιβίωση των MK βρίσκεται ανάλογη με αυτήν των ΠΔ βαθμού κακοήθειας 1, με την καμπύλη της επιβίωσης να παραμένει σταθερή μετά την πενταετία. Στην μελέτη μας 37 ασθενείς παρέμεναν στην πενταετία ελεύθεροι νόσου (77.1%). Το ποσοστό επιβίωσης είναι αυξημένο στα TMK (80.77%) σε σχέση με τα AMK (72.7%) όπως και το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου. Βέβαια το ποσοστό της πενταετούς επιβίωσης για τα TMK είναι από τα χαμηλότερα αναφερόμενα στην βιβλιογραφία, δικαιολογείται όμως από το υψηλό ποσοστό των λεμφαδενικών μεταστάσεων στα περιστατικά της μελέτης(42% για τα TMK με το 15% να αφορά περισσότερους από 4 διηθημένους λεμφαδένες), που φαίνεται να αποτελούν και τον καθοριστικό παράγοντα για την επιβίωση. Σε απουσία ή μικρό αριθμό λεμφαδενικών μεταστάσεων, ο τύπος του καρκινώματος φαίνεται να έχει προγνωστική βαρύτητα, με τα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης 92% για τα TMK και 79% για τα AMK.Αν και οι περισσότεροι όγκοι ήταν περίπου 3 εκ., φαίνεται ότι το αυξημένο μέγεθος σε συνδυασμό με αυξημένο αριθμό λεμφαδενικών μεταστάσεων (>3) συνεπάγεται αυξημένα ποσοστά υποτροπής τοπικής ή συστηματικής. Στο 75% των περιπτώσεων, οι ασθενείς παρέμεναν εν ζωή (και ελεύθεροι νόσου) στους 60 μήνες μετά την επέμβαση. Οι θάνατοι συνέβησαν κατά μέσο όρο στους 36 μήνες μετά την επέμβαση, όπως επίσης και το 75% των υποτροπών.

## Πλοειδία DNA

Η ταξινόμηση των όγκων σύμφωνα με το DNA index όπως αυτή έχει καθοριστεί από την ESACP (European Society for Analytical Cellular Pathology) είναι η ακόλουθη: Όγκοι με DI 1-1.049 ταυτοποιούνται σαν διπλοειδικοί, με DI 1.05-1.75 σαν υπερδιπλοειδικοί και με DI 1.76-2.00 σαν τετραπλοειδικοί και με DI >2.0 σαν υπερτετραπλοειδικοί. Τα καρκινώματα της μελέτης θεωρήθηκαν διπλοειδή εφ' όσον παρουσίαζαν δείκτη DNA (DNA index -DI) 0,9 - 1,1 και ανευπλοειδή εφ' όσον παρουσίαζαν οποιαδήποτε άλλη τιμή δείκτη DNA, επειδή το CV της διπλοειδικής κορυφής ήταν >4%, ώστε να αποφευχθούν τα artifact.

Από τη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι το SPF συσχετίζεται θετικά με το MIB-1 και οι αναλυτικές καμπύλες δείχνουν ότι το MIB-1 μπορεί στους ανευπλοειδικούς όγκους (όπως τα MK) να προβλέψει με 82% ειδικότητα και 80% ευαισθησία την υψηλή τιμή της SPF φάσης (>20%), αν οριστεί σαν όριο θετικότητας το 20-25%. Πραγματικά ο μέσος όρος του SPF στα ιστογράμματα της μελέτης είναι 22%.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, οι διπλοειδικοί όγκοι και γενικά αυτοί με χαμηλό περιεχόμενο σε DNA είναι συνήθως θετικοί για ορμονικούς υποδοχείς. Οι όγκοι με αρνητικούς υποδοχείς όπως τα MK χαρακτηρίζονται από υψηλό ποσοστό ανευπλοειδίας. Επίσης τα πορογενή διηθητικά και τα ιδιαίτερα τα μυελοειδή βρίσκονται πιά συχνά ανευπλοειδικά απ' ότι τα λοβιακά. Για τα MK αναφέρεται ότι το DI και το ποσοστό ανευπλοειδίας είναι υψηλότερο από το υπολογιζόμενο γενικά στον καρκίνο του μαστού. Τα MK της μελέτης σε ποσοστό 90% βρέθηκαν ανευπλοειδικά και μάλιστα να ανήκουν κατά το 60% στην κατηγορία των υπερδιπλοειδικών. Το μέσο DNA index υπολογίστηκε στο 1.56 και είναι ελάχιστα αυξημένο στα AMK σε σχέση με τα TMK.

Θεωρείται γενικά ότι οι διπλοειδείς όγκοι εμφανίζουν μικρότερο μέγεθος όγκου. Στα MK της μελέτης πάντως δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση του DNA index με τη μέγιστη διάμετρο του όγκου. Δεν διαπιστώνεται καμμία συσχέτιση του DNA index με την ηλικία.

Η διπλοειδία συνδυάζεται με αυξημένη διαφοροποίηση του όγκου. Οι ανευπλοειδικοί όγκοι στο μεγαλύτερο τους ποσοστό είναι χαμηλής διαφοροποίησης και εμφανίζουν υψηλότερο DI. Τα MK ακολουθούν το γενικό κανόνα: ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας 3 συνδυάζεται με αυξημένο DNA index σε σχέση με τον βαθμό 2, η στατιστική διαφορά όμως είναι μικρή και είναι δύσκολη η τεκμηρίωση της οποιασδήποτε συσχέτισης δεδομένου του μικρού αριθμού MK βαθμού 2.

Δεν διαπιστώνεται καμμία διαφοροποίηση του DNA index σε όγκους που χαρακτηρίζονται από τις δυνητικά κακοήθεις παραμέτρους της αγγειακής και λεμφαγγειακής νεοπλασματικής διήθησης

Στους ασθενείς με θετικό οικογενειακό ιστορικό, σχεδόν όλοι οι όγκοι είναι ανευπλοειδικοί και μάλιστα με το DI να κυμαίνεται στην άμεση υπερδιπλοειδική περιοχή και να είναι χαμηλότερο από το μέσο DI των MK.

Οι όγκοι σταδίων 2B, 3<sup>A</sup>, 3B και 4 που εμφανίζουν και την χειρότερη πρόγνωση, χαρακτηρίζονται και από αυξημένο DNA index χωρίς όμως να υπάρχει διαφορά στατιστικής σημαντικότητας. Δεδομένου πάντως ότι στις μισές τουλάχιστον περιπτώσεις η διάγνωση έγινε σε λιγότερο από 6 μήνες από την εμφάνιση των συμπτωμάτων, μπορούμε να υποθέσουμε ότι όγκοι με

αυξημένο DI διαθέτουν εν τω γεννάσθαι δυνατότητες ταχείας ανάπτυξης και επέκτασης στους επιχώριους λεμφαδένες.

Έχει αναφερθεί ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της διπλοειδίας και της βελτιωμένης πρόγνωσης όπως αυτή καθορίζεται από τον δείκτη NPI. Στην μελέτη και οι όγκοι με  $NPI < 5.4$  και αυτοί με  $NPI > 5.4$ , χαρακτηρίζονται από το ίδιο μέσο DI. Σχετικά με την εμμηνορυσιακή κατάσταση, θεωρείται ότι οι προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν διπλοειδικό παρά ανευπλοειδικό όγκο και ότι το αυξημένο DI αποτελεί σημαντικό επιβαρυντικό προγνωστικό παράγοντα ιδιαίτερα στις προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς. Στην μελέτη μας πραγματικά οι προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς χαρακτηρίζονται από χαμηλότερο μέσο DNA index που κυμαίνεται κοντά στην διπλοειδική περιοχή, εκτός από τις ασθενείς σταδίων 2B-3<sup>A</sup>-3B-4(που αριθμητικά είναι λιγότερες από τις ασθενείς σταδίων 1-2<sup>A</sup>) οι οποίες εμφανίζουν χαρακτηριστικά αυξημένο DI. Μπορούμε λοιπόν να αναγνωρίσουμε με βάση το DI μιά ομάδα επιβαρυνμένων προγνωστικά προεμμηνοπαυσιακών ασθενών.

Το DNA Index στα MK της μελέτης βρέθηκε να συσχετίζεται με την ένταση του P53. Πιο συγκεκριμένα οι δύο ομάδες που διαφέρουν είναι οι δύο θετικές ομάδες. Η ομάδα των p53(+) αλλά σε ποσοστό μικρότερο του 50% του όγκου εμφανίζει  $DI > 2$ . Έτσι το DI αυξάνει στην ομάδα αυτή και στη συνέχεια μειώνεται και πάλι, έτσι ώστε η ομάδα των p53(-) να έχει περίπου το ίδιο DNA index(1.5) με αυτή στην οποία το p53 είναι (+) σε >50% του όγκου( $DI = 1.5$ ). Οι όγκοι λοιπόν με θετική έκφραση του p53 σε έκταση όμως <50% του όγκου είναι υπερτετραπλοειδικοί.

Σχετικά με το MIB-1 δεν διαπιστώνεται καμμία διαφοροποίηση στην τιμή του DNA index.

Τα ανευπλοειδικά MK εμφανίζουν αυξημένη πιθανότητα μετάστασης στους λεμφαδένες σε σχέση με τα διπλοειδικά. Μεταξύ όμως όγκων θετικών και αρνητικών για λεμφαδενικές και γενικευμένες μεταστάσεις δεν διαπιστώνονται σημαντικές διαφορές στο DI.

Οι διπλοειδικοί όγκοι στη βιβλιογραφία έχουν συσχετιστεί κατά κύριο λόγο με καλύτερη πρόγνωση και όσον αφορά την επιβίωση και όσον αφορά το χρονικό διάστημα μέχρι την εμφάνιση υποτροπής (αν και το μέγεθος του πλεονεκτήματος σε σχέση με τους ανευπλοειδικούς δεν είναι πάντα μεγάλο). Οι ανευπλοειδικοί όγκοι στην άμεση υπερδιπλοειδική περιοχή ( $DI = 1.3$ ) επίσης εμφανίζουν βελτιωμένη σε σχέση με άλλους βαθμούς ανευπλοειδίας πρόγνωση, όπως και οι υπερτετραπλοειδικοί ( $DI > 2.1$ ), οι τελευταίοι όμως είναι μάλλον ασυνήθεις αφού αντιπροσωπεύουν το 4-7% των ιστογραμάτων. Οι υποδιπλοειδικοί όγκοι ( $DI < 1.0$ ) είναι ακόμη σπανιότεροι(αποτελούν περίπου το 2%) και συνδέονται με κακή πρόγνωση και επιβαρυντικές παραμέτρους όπως μεγάλο μέγεθος και αρνητικοί οιστρογονικοί υποδοχείς. Στα MK της μελέτης υπήρχε μεγάλη αναλογία υπερτετραπλοειδικών όγκων που αντιπροσώπευαν το 16% των περιστατικών. Οι όγκοι με DI 1.3 ήταν ελάχιστοι. Δεν διαπιστώθηκε καμμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις υποτροπές, το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου και την επιβίωση. Η πολύ υψηλή αναλογία των ανευπλοειδικών όγκων της μελέτης δεν φάνηκε να σχετίζεται με οποιαδήποτε προγνωστική επιβάρυνση όπως θα αναμένονταν. Αντίθετα οι ανευπλοειδικοί όγκοι εμφάνιζαν παραδόξως καλύτερη πρόγνωση από τους διπλοειδικούς, χωρίς βέβαια η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική. Στα MK λοιπόν, η ανευπλοειδία αποτελεί μάλλον τον κανόνα παρά την εξαίρεση και εκτός από την ομάδα των προεμμηνοπαυσιακών ασθενών,

παρά το ότι σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα λεμφαδενικών μεταστάσεων, δεν φαίνεται να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της πρόγνωσης.

### P53

Το p53 αποτελεί ογκοκατασταλτικό γονίδιο που ευθύνεται για την παραγωγή μιάς συγκεκριμένης πρωτεΐνης, η οποία ρυθμίζει την μετάβαση από την G1 στην S και από την G2 στην M φάση του κυτταρικού κύκλου ώστε σε περίπτωση βλάβης του κυττάρου η οποία είναι πολύ σοβαρή για να επιδιορθωθεί, ξεκινά τη διαδικασία του κυτταρικού θανάτου (απόπτωση).

Η μετάλλαξη του οδηγεί στην παραγωγή μιάς διαφορετικής, σταθερότερης σε σχέση με τη μη μεταλλαγμένη πρωτεΐνη, στην οποία επιπλέον μπορεί να δρά ανασταλτικά. Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη δεν μπορεί να ξεκινήσει την διαδικασία αποκατάστασης της βλάβης του DNA και να επιβραδύνει την κυτταρική ανάπτυξη, με τελικό αποτέλεσμα την αστάθεια του κυττάρου και την αυξημένη δυνητική κακοήθεια του όγκου. Επιπλέον η μετάλλαξη του p53 επηρεάζει και την ανταπόκριση στη θεραπευτική αγωγή αφού οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες απαιτούν άθικτο αποπτωτικό μηχανισμό.

Ο τύπος του όγκου γενικά που εμφανίζει υψηλά επίπεδα p53 πρωτεΐνης είναι είτε μυελοειδές είτε πορογενές διηθητικό καρκίνωμα ασθενούς ηλικίας 50-59 ετών, υψηλού βαθμού κακοήθειας (συνήθως III) με αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς (το 60% των αρνητικών για υποδοχείς όγκων είναι p53(+), ενώ σε θετικούς το ποσοστό είναι 25%), υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού, ανευπλοειδικό και με υψηλό SPF $\geq$ 22%. Για τα πορογενή διηθητικά πιστεύεται ότι σχετίζεται με αυξημένο μεταστατικό δυναμικό και επιβαρυσμένη πρόγνωση.

Οι συχνότερα θετικοί για p53 όγκοι είναι τα μυελοειδή καρκινώματα του μαστού, με συχνότητα που κυμαίνεται από 60% μέχρι και 94% σε κάποιες μελέτες. Η ταυτοποίηση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης παρατηρείται σε υψηλότερη συχνότητα στα TMK σταδίου T1N0M0 και T2N0M0. Όσον αφορά τα AMK, είναι p53(+) σε ποσοστό πάνω από 50%, όταν όμως γίνει κατάταξη σε TNM υποκατηγορίες, η υψηλότερη συχνότητα περιορίζεται στα T1N0M0. Η θετικότητα αυτή μπορεί να σημαίνει τρία πράγματα :είτε αυξημένη συχνότητα γονιδιακής μετάλλαξης είτε απορρυθμισμένη έκφραση του γονιδίου είτε λόγω κάποιων ιδιαίτερων τοπικών επιδράσεων σταθεροποίηση της p53 πρωτεΐνης ώστε να καθίσταται ανιχνεύσιμη. Ανεξάρτητα πάντως από την αιτία, η ύπαρξη αυξημένου αποπτωτικού δείκτη στα MK, δείχνει ότι κατά κάποιον τρόπο προάγεται ο κυτταρικός θάνατος και η απόπτωση

Θετική ανοσοϊστοχημική ανίχνευση για p53 υπήρξε σε 75,6%, από τα οποία σε 51,2% η θετικότητα αφορούσε ποσοστό >50% της καρκινικής μάζας και σε 24,4% ποσοστό <50% αλλά πάντα >10%. Το p53 είναι σε μεγαλύτερο ποσοστό (+) στα AMK (80%) και μάλιστα το ποσοστό θετικότητας σε περισσότερους από τους μισούς όγκους είναι >50%.

Δεδομένης της λειτουργίας της p53 πρωτεΐνης, η μετάλλαξη της θα έπρεπε να συνδυάζεται με αυξημένο μέγεθος όγκου. Κάποιες μελέτες μιλάνε για αύξηση της θετικότητας από 5% όταν η διάμετρος του όγκου  $\leq$  10 χιλ., σε 50% όταν οι όγκοι ήταν μεγαλύτεροι από 50 χιλ, σε άλλες όμως δεν διαπιστώνονται συσχετίσεις. Η ανίχνευση σε μεγάλη συχνότητα της μετάλλαξης του p53 στα MK, θα έπρεπε να συνεπάγεται αυξημένη τη μέση διάμετρό τους. Κάτι τέτοιο όμως δεν συμβαίνει. Στα MK της μελέτης οι p53(+) και (-) όγκοι δεν διαφοροποιούνται στην διάμετρο του όγκου. Πιθανόν στον πρωτογενή όγκο ο αυξημέ-

νος αποπτωτικός δείκτης να ισοσκελίζεται από τον αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού που επίσης παρατηρείται στα ΜΚ, είναι άγνωστες όμως οι υπόλοιπες επιδράσεις μιά και η απόπτωση εκτός από την ανάπτυξη του καρκίνου τροποποιεί και την ικανότητα των καρκινωματωδών κυττάρων να επιβιώνουν στην κυκλοφορία και στις μεταστατικές εστίες.

Καμμία διαφοροποίηση επίσης δεν διαπιστώνεται αναφορικά με την ηλικία των ασθενών.

Οι ασθενείς με ΜΚ και θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο φαίνεται ότι εμφανίζουν σε μεγαλύτερη αναλογία  $\rho 53(+)$  όγκους. Στην ομάδα αυτή ανήκαν και οι 5 ασθενείς της μελέτης με πρώιμη εμφάνιση του καρκίνου του μαστού πριν από τα 35 έτη. Πιθανόν λοιπόν οι όγκοι αυτοί εμφανίστηκαν στα πλαίσια οικογενούς συνδρόμου οφειλόμενου σε μετάλλαξη του ογκογονιδίου.

Η ένταση της λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης φαίνεται να συσχετίζεται με την μετάλλαξη του ογκογονιδίου αφού εμφανίζει αναλογική συσχέτιση με την έκφραση του  $\rho 53$ . Επειδή (όπως αναφέρθηκε προηγουμένως) η διήθηση αυτή αποτελεί ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή, υποθέτουμε ότι οι αντιγονικοί χαρακτήρες του όγκου που την προκαλούν ενισχύονται ή προκαλούνται από την μεταλλαγμένη  $\rho 53$  πρωτεΐνη.

Η αγγειακή και λεμφαγγειακή νεοπλασματική διήθηση δεν συσχετίζονται με την έκφραση του  $\rho 53$ . Παραδόξως τα φαινόμενα αυτά συναντώνται πιά συχνά στους  $\rho 53(-)$  όγκους παρά στους (+).

Ο προγνωστικός δείκτης NPI δεν διαφοροποιείται σημαντικά στους  $\rho 53(+)$  και (-) όγκους. Παρ'όλα αυτά διαπιστώνουμε μιά τάση οι  $\rho 53(+)$  να χαρακτηρίζονται στο μεγαλύτερό τους ποσοστό από  $NPI \geq 5.4$ , ενώ οι  $\rho 53(-)$  από  $NPI < 5.4$ , ο μικρός όμως αριθμός τους (που αντιστοιχεί στο ένα τρίτο των  $\rho 53(+)$ ) δεν επιτρέπει την τεκμηρίωση στατιστικών συμπερασμάτων.

Τα  $\rho 53(+)$  ΜΚ εμφάνισαν μεγαλύτερη πιθανότητα θετικών λεμφαδενικών μεταστάσεων από τα (-). Στις περισσότερες μελέτες φαίνεται ότι η θετικότητα για  $\rho 53$  έχει αρνητική επίδραση στην συνολική επιβίωση στην ομάδα των ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες. Στους ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες δεν διαπιστώνονται στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με τις παραμέτρους επιβίωσης. Στην μελέτη μας δεν υπάρχει διαφορά στην εμφάνιση υποτροπών μεταξύ των  $\rho 53(+)$  και (-) όγκων ούτε στους ασθενείς με θετικούς ούτε στους ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες. Κατά παράδοξο τρόπο όμως οι  $\rho 53(+)$  όγκοι εμφανίζουν χαμηλότερα ποσοστά συστηματικών μεταστάσεων και υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης από τους  $\rho 53(-)$  χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική αφού ο αριθμός των περιστατικών είναι πολύ μικρός. Όσον αφορά τις σπλαχνικές μεταστάσεις (ήπαρ, πνεύμονες, εγκέφαλος) το  $\rho 53$  δεν φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο. Διαπιστώνεται όμως ελαττωμένη πιθανότητα μετάστασης στα οστά των  $\rho 53(+)$  όγκων σε σχέση με τους  $\rho 53(-)$  στους ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες, ενώ στους ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες η διαφορά αυτή ήταν μικρότερη. Αυτό αν και αποτελεί αντίθεση αν σκεφτεί κανείς ότι οι περισσότεροι  $\rho 53(+)$  όγκοι είναι αρνητικοί για οιστρογονικούς υποδοχείς και οι τελευταίοι εμφανίζουν τάση να μεθίστανται στα σπλάχνα περισσότερο παρά στο σκελετό, η οποία όμως επιβεβαιώνεται από την βιβλιογραφία.

Από μελέτες αναφέρεται ταυτόσημη κατανομή των μεταλλάξεων του  $\rho 53$  σε διάφορους ιστολογικούς τύπους καρκίνου του μαστού και της πρωτεΐνης Ki-67 σαν μέτρο της πολλαπλασιαστικής δραστηριότητας των όγκων αυτών. Το φαινόμενο αυτό ήταν ιδιαίτερα έντονο στα ΜΚ, οδηγώντας τους μελετητές στο

συμπέρασμα ότι η υψηλή συχνότητα μεταλλάξεων του p53 συνδέεται με την έντονη πολλαπλασιαστική δραστηριότητα που παρατηρείται στους όγκους αυτούς. Στη μελέτη το 50% του υλικού αφορά p53(+)/MIB-1(+) MK, το 27.5% p53(+)/MIB-1(-), το 12.5% p53(-)/MIB-1(-) και το 10% p53(-)/MIB-1(+). Η πλειοψηφία λοιπόν των MK της μελέτης είναι όγκοι με μετάλλαξη του ογκογονιδίου p53 και αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού. Η ομάδα με τις λιγότερες υποτροπές είναι η p53(-)/MIB-1(-). Παρόλα αυτά το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου δεν διαφοροποιείται στατιστικά ανάμεσα στις κατηγορίες εν μέρει λόγω του μικρού αριθμού περιστατικών. Οι ομάδες p53(+)/MIB-1(+) και οι p53(-)/MIB-1(-) εμφανίζουν και τα υψηλότερα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης, ενώ την χειρότερη πρόγνωση παρουσιάζει ο συνδυασμός p53(+)/MIB-1(-), οι όγκοι δηλαδή με τον υψηλότερο βαθμό απόπτωσης και τον χαμηλότερο ρυθμό πολλαπλασιασμού. Πιθανόν λοιπόν οι δύο αυτοί παράγοντες βρίσκονται σε μιά ισορροπία, η διαταραχή της οποίας επιφέρει αύξηση του μεταστατικού δυναμικού και επιβάρυνση της πρόγνωσης.

### **MIB-1**

Πρόκειται για αντίσωμα ειδικό για πυρηνικό αντιγόνο που εκφράζεται μόνο στα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα(τέλος G1, S, M και G2 φάση του κυτταρικού κύκλου). Γενικά από τους περισσότερους μελετητές το 20% αποτελεί ένα κοινά παραδεκτό όριο πέρα από το οποίο οι όγκοι εκλαμβάνονται ως MIB-1(+), ενώ όγκοι με MIB-1<10% θεωρούνται αρνητικοί. Η πρακτική χρησιμότητα της κατάταξης αυτής είναι ότι οι ταχέως αναπτυσσόμενοι όγκοι έχουν δείκτη 20-25%(με αντίστοιχα μικρότερη πενταετή επιβίωση) και έτσι αναγνωρίζεται η ομάδα εκείνη των ασθενών που είναι ευαίσθητη στα χημειοθεραπευτικά πρωτόκολλα. Οι όγκοι με MIB-1<10% είναι αργά αναπτυσσόμενοι με μικρότερη πιθανότητα ανταπόκρισης στην χημειοθεραπεία.

Το μέσο MIB-1 των όγκων της μελέτης ήταν περίπου 21%, σχεδόν ταυτόσημο στα ΤΜΚ και τα ΑΜΚ. Σε αριθμητική εκτίμηση της θετικότητας, οι όγκοι με αυξημένη ταχύτητα ανάπτυξης(MIB-1>25%) είναι περισσότεροι στα ΑΜΚ(68.4%) απ'ότι στα ΤΜΚ(50%).

Η μέση ηλικία των ασθενών είναι η ίδια μεταξύ των MIB(+) και (-) όγκων. Αναφορικά με το μέγεθος οι MIB-1(+) όγκοι είναι μεγαλύτερης διαμέτρου από τους (-)όπως αναμένεται άλλωστε λόγω του αυξημένου ρυθμού πολλαπλασιασμού.

Οι ασθενείς με θετικό οικογενειακό ιστορικό για καρκίνο εμφανίζουν σε μεγάλη αναλογία MIB-1(+) MK ενώ στις περιπτώσεις με αρνητικό οικογενειακό ιστορικό τα ποσοστά εμφάνισης MIB-1(+) και (-) MK είναι περίπου τα ίδια.

Το φαινόμενο της αγγειακής και λεμφαγγειακής νεοπλασματικής διήθησης εμφανίζεται συχνότερα σε MIB-1(+) παρά σε (-) όγκους υποδηλώνοντας αυξημένο μεταστατικό δυναμικό.

Το NPI εμφανίζεται υψηλότερο στην κατηγορία των MIB-1 (+) όγκων και μάλιστα το 66.7% έχουν τιμή >5.4 χωρίς να διαπιστώνεται και επιβάρυνση της κλινικής πορείας.

Η εμφάνιση λεμφαδενικών μεταστάσεων είναι συχνότερη στην ομάδα των MIB-1(+) MK και μάλιστα με σημαντική διαφορά σε σχέση με τα MIB-1(-).



Δεν διαπιστώνεται καμμία διαφορά μεταξύ των MIB-1(+) και (-) όσον αφορά τις γενικευμένες μεταστάσεις.

Από τη βιβλιογραφία αναφέρεται αυξημένη πιθανότητα υποτροπής της νόσου και ελαττωμένη συνολική επιβίωση σε βαθμό στατιστικά σημαντικό σε ασθενείς MIB-1(+). Στην μελέτη μας δεν διαπιστώθηκε καμμία τέτοια συσχέτιση. Παρόλα αυτά πρέπει να σημειώσουμε ότι οι MIB-1(+) όγκοι και ιδιαίτερα αυτοί με αυξημένο δείκτη (>25%) εμφανίζουν επιθετικούς βιολογικούς χαρακτήρες (αυξημένο μέγεθος, αυξημένο ποσοστό λεμφαδενικών μεταστάσεων, NPI>5.4, αγγειακή και λεμφαγγειακή νεοπλασματική διήθηση). Ίσως λοιπόν η αποτυχία μας να τεκμηριώσουμε στατιστική σημαντικότητα να οφείλεται αποκλειστικά στον μικρό αριθμό περιστατικών και όχι στην έλλειψη συσχέτισης.

*Συμπερασματικά*, αν μπορούμε να σκιαγραφήσουμε ένα γενικό προφίλ για την ασθενή με MK, θα λέγαμε ότι είναι ηλικίας 52.4 ετών με ηλικία εμμηναρχής τα 14.18 έτη· η διάμετρος του όγκου είναι 3.01 εκ., το NPI 5.06, το DNA index 1.56 είναι p53(+)>20%/MIB-1(+)>25% και η θεραπεία εφαρμόζεται περίπου 6.8 μήνες μετά τη διάγνωση λόγω ταχείας εμφάνισης του όγκου. Το οικογενειακό ιστορικό αποτελεί επιβαρυντικό προγνωστικό παράγοντα και συνδέεται με πρώιμη εμφάνιση της νόσου· οι όγκοι παρουσιάζονται σε μεγάλο ποσοστό αυξημένης δυνητικής κακοήθειας, ανευπλοειδικοί, με βλάβη του αποπτωτικού μηχανισμού και ανεξέλεγκτο ρυθμό πολλαπλασιασμού.

Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου κατά Cox αποτελεί μία μέθοδο ανάλυσης που υποδεικνύει κατά πόσο ένας παράγοντας μπορεί να προβλέψει την επιβίωση ενός ασθενούς και αν σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας είναι περισσότερο επιβαρυντικός από έναν άλλο. Έτσι στον υπολογισμό για την πιθανότητα εμφάνισης υποτροπής στα MK τελικά οι πιο σημαντικοί παράγοντες βρίσκονται οι λεμφαδένες, η νέκρωση καθώς και η ηλικία. Η ύπαρξη διηθημένων λεμφαδένων, η μικρή ηλικία και η παρουσία νέκρωσης προδιαθέτουν στην εμφάνιση υποτροπής. Αντίθετα η απουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων, η απουσία νέκρωσης στον όγκο και η μεγάλη ηλικία εμφανίζονται ως ευνοϊκοί παράγοντες που αποτρέπουν την εμφάνιση υποτροπής. Αναφορικά με την πενταετή επιβίωση ο πιο σημαντικός για τα MK είναι ο παράγοντας λεμφαδένες. Επίσης υπάρχει και η τάση τα ανευπλοειδικά να έχουν μικρότερο κίνδυνο σε σχέση με τα διπλοειδικά. Άρα οι ασθενείς με MK που έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης είναι αυτοί των οποίων οι εξαιρεθέντες κατά την χειρουργική επέμβαση λεμφαδένες είναι αρνητικοί για μεταστάσεις και (παραδόξως αφού για άλλα καρκινώματα συνδέονται συνήθως με επιβαρυνμένη πρόγνωση), οι ασθενείς με ανευπλοειδικούς όγκους. Οι υπόλοιποι παράγοντες που συνεκτιμήθηκαν και δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικοί για την εμφάνιση υποτροπής και την επιβίωση είναι : ο τύπος, η διάμετρος, το οικογενειακό ιστορικό, το στάδιο της νόσου κατά TNM, το in situ ενδοτορικό καρκίνωμα, το DNA index, το p53, το MIB-1, η αγγειακή και η περιλεμφαδενική νεοπλασματική διήθηση.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Τα ΜΚ αποτελούν μια ιδιαίτερη, σχετικά σπάνια, ομάδα πορογενών διηθητικών καρκινωμάτων του μαστού που παρά τους κακοήθεις μορφολογικούς και βιολογικούς τους χαρακτήρες, εμφανίζουν παραδόξως καλοηθέστερη κλινική πορεία με την εξαίρεση της ομάδας των ασθενών με θετικό οικογενειακό ιστορικό καρκίνου.
2. Σε πολύ υψηλό ποσοστό, τα ΜΚ είναι ανευπλοειδικά. Η πλοειδία του DNA δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν προγνωστικός δείκτης στα ΜΚ παρά μόνο στην ομάδα των προεμμηνοπαυσιακών ασθενών.
3. Η πλειοψηφία των ΜΚ είναι ρ53(+) όγκοι και μάλιστα με ποσοστό θετικότητας >50%. Η ένταση της λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης εμφανίζει αναλογική συσχέτιση με την έκφραση του ρ53·πιθανολογούμε ότι αποτελεί ανοσολογικής φύσεως αντίδραση στην μεταλλαγμένη πρωτεΐνη. Τα ρ53(+)ΜΚ εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα μετάστασης στους λεμφαδένες και ελαττωμένη πιθανότητα μετάστασης στα οστά από τα (-). Δεν διαπιστώνεται συσχέτιση του ρ53 με την επιβίωση.
4. Το μέσο MIB-1 των ΜΚ της μελέτης είναι 21%. Το φαινόμενο της αγγειακής νεοπλασματικής διήθησης εμφανίζεται συχνότερα σε MIB-1(+). Η εμφάνιση λεμφαδενικών μεταστάσεων είναι συχνότερη στην ομάδα των MIB-1(+). Δεν διαπιστώνεται συσχέτιση του MIB-1 με την επιβίωση.
5. Τα ΜΚ είναι όγκοι με αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού και σύγχρονη αυξημένη απόπτωση. Το ρ53 και το MIB-1, φαίνεται να βρίσκονται σε μιά ισορροπία, η διαταραχή της οποίας επιφέρει αύξηση του μεταστατικού δυναμικού και επιβάρυνση της πρόγνωσης.
6. Η πιθανότητα εμφάνισης υποτροπής στα ΜΚ καθορίζεται από τους λεμφαδένες, τη νέκρωση καθώς και την ηλικία, ενώ η πενταετής επιβίωση από τους λεμφαδένες.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το υλικό της μελέτης περιλαμβάνει ιστολογικά παρασκευάσματα μυελοειδών καρκινωμάτων μαστού από 48 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν οι 40 από αυτές στο Νοσοκομείο «Έλενα Βενιζέλου» και οι 8 στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων στο χρονικό διάστημα από το 1985 μέχρι το 1999. Τα κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για να τεθεί η διάγνωση του μυελοειδούς καρκινώματος ήταν τα κριτήρια του Ridolfi όπως διατυπώθηκαν στην μελέτη του 1977 και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται από τα περισσότερα παθολογοανατομικά εργαστήρια, μιά και θεωρούνται τα πιά εύχρηστα και αναπαραγωγίμα· με βάση τα κριτήρια αυτά έγινε διάκριση των ΜΚ σε δύο κατηγορίες με διαφορετικούς μορφολογικούς χαρακτήρες: τα τυπικά μυελοειδή (ΤΜΚ) και τα άτυπα (ΑΜΚ). Η ανάλυση της πλοειδίας DNA έγινε σε πυρήνες καρκινωματοδών κυττάρων από ιστό μονιμοποιημένο σε φορμόλη και εμπεδωμένο σε παραφίνη σε τομές πάχους 20 μm· ο μηχανικός αποχωρισμός των κυττάρων έγινε με επεξεργασία του ιστού με το σύστημα medimachine (DAKO, Glostrup, Denmark) χρησιμοποιώντας τα κατάλληλα φίλτρα κατακράτησης πυρήνων. Για την καταμέτρηση του πυρηνικού DNA με το σύστημα ανάλυσης εικόνας εφαρμόστηκε χρώση κατά Feulgen. Ο ποσοτικός φωτομετρικός προσδιορισμός του πυρηνικού DNA έγινε ακολούθως με το σύστημα ανάλυσης εικόνας CAS 200 (Cell Analysis Systems Inc., Elmhurst, IL, USA). Από κάθε περίπτωση μετρήθηκαν τουλάχιστον 150 κύτταρα. Από την καταμέτρηση αποκλείστηκαν κύτταρα με αλληλοεπικαλυπτόμενους πυρήνες. Το σύστημα διαβαθμίσθηκε με τη βοήθεια τετραπλοειδικών κυττάρων ήπατος ποντικού. Τα καρκινώματα θεωρήθηκαν διπλοειδή εφ' όσον παρουσίαζαν δείκτη DNA (DNA index -DI) 0,9 - 1,1 και ανευπλοειδή εφ' όσον παρουσίαζαν οποιαδήποτε άλλη τιμή δείκτη DNA. Οι ανοσοϊστοχημικές μελέτες έγιναν με τα αντίστοιχα αντισώματα στο P53(DO7, Dako, Glostrup, Denmark) και στο MIB-1(Immunotec, Marseille, France) χρησιμοποιώντας την κλασική μέθοδο αβιτίνης-βιοτίνης(ABC). Σαν όριο θετικότητας τέθηκε για το p53 το 10%, ενώ για το MIB-1 μετρήθηκαν σε κάθε δείγμα οι ποσοστιαίες αναλογίες των θετικών για χρώση κυττάρων, με το ποσοστό άνω του 20% να χαρακτηρίζει τους ταχέως αναπτυσσόμενους όγκους. Η καταγραφή των ιστολογικών χαρακτήρων των όγκων και των χειρουργικών επεμβάσεων που εφαρμόστηκαν έγιναν από τις παθολογοανατομικές εκθέσεις, ενώ οι πληροφορίες του 5-ετούς follow-up συλλέχθηκαν από φύλλα νοσηλείας των ασθενών και από πληροφορίες των ίδιων ή συγγενικών τους προσώπων. Η συχνότητα του ΜΚ στην Ελλάδα υπολογίστηκε στο 2%. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα 53 έτη και οι περισσότερες περιπτώσεις εμφανίστηκαν στην δεκαετία 40-55. Το άνω-έξω τεταρτημόριο του αριστερού μαστού ήταν η πρώτη σε συχνότητα περιοχή εμφάνισης του ΜΚ και η μέση διάμετρος του όγκου ήταν περίπου 3 εκ. Ο μέσος χρόνος από την εμφάνιση των συμπτωμάτων μέχρι τη διάγνωση υπολογίστηκε στους 6.8 μήνες. Κύρια θεραπευτική επιλογή αποτέλεσε κάποια από τις επεμβάσεις διατήρησης του μαστού ακολουθούμενη από συμπληρωματική θεραπεία(ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία, ορμονοθεραπεία).



Δεν διαπιστώθηκε κάποια συσχέτιση με το καπνισμα, την κατανάλωση αλκοόλ, ιστορικό ινοκυστικής μαστοπάθειας ή κατανάλωση οιστρογόνων.

Η καθυστερημένη διάγνωση (>6 μήνες), η νεοπλασματική αγγειακή και λεμφαγγειακή διήθηση, το  $NPI \geq 5.4$ , η ύπαρξη διηθημένων λεμφαδένων, το αυξημένο στάδιο νόσου, το EIC και το θετικό οικο-γενειακό ιστορικό αποτέλεσαν επιβαρυντικούς παράγοντες αφού συνδέθηκαν με μικρότερο διάστημα ελεύθερο νόσου, αυξημένες υποτροπές και ελαττωμένη επιβίωση.

Διαπιστώθηκε υψηλή συχνότητα θετικού οικογενειακού ιστορικού για καρκίνο κυρίως του μαστού και των ωοθηκών, που συνδέεται με κακοηθέστερη βιολογική συμπεριφορά ( $NPI > 5.4$ , ανευπλοειδείς όγκοι,  $\uparrow p53(+)$   $\uparrow MIB-1$ ) και κλινική πορεία.

Μεταξύ των δύο τύπων δεν διπιστώνονται διαφορές αναλογικά με το μέγεθος, την ηλικία εμφάνισης, την εντόπιση, την εμμηνορυσιακή κατάσταση, το οικογενειακό ιστορικό. Αναφορικά με τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά, στα ΤΜΚ υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης νέκρωσης και εκσεσημασμένης λεμφοκυτταρικής διήθησης και στο κέντρο και στην περιφέρεια. Ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας είναι 3. Υπάρχει αυξημένη συχνότητα εμφάνισης αγγειακής και λεμφαγγειακής νεοπλασματικής διήθησης στα ΑΜΚ.

Πάνω από τα μισά περιστατικά εμφάνιζαν  $NPI \geq 5.4$  παρά την πρώιμη διάγνωση. Το  $NPI$  δεν φαίνεται να έχει διακριτική ικανότητα στην πρόγνωση της κλινικής πορείας των ΜΚ.

Το ποσοστό διήθησης των μασχαλιαίων λεμφαδένων ήταν 43,8%. Τα ΤΜΚ και τα ΑΜΚ μεθίστανται με την ίδια περίπου συχνότητα στους μασχαλιαίους λεμφαδένες, τα ΑΜΚ όμως συνηθέστερα σε περισσότερους από 4.

Το ποσοστό υποτροπής ήταν 27%, συστηματική στις περισσότερες περιπτώσεις και εμφανίστηκε μέσα στους πρώτους 36 μήνες. Στους ασθενείς με ΤΜΚ φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από τις λεμφαδενικές μεταστάσεις, ενώ στους ασθενείς με ΑΜΚ είναι σε άμεση συσχέτιση. Τα οστά αποτελούν την πρώτη σε συχνότητα εντόπιση συστηματικών μεταστάσεων και ακολουθούν το ήπαρ και οι πνεύμονες. Τα ΑΜΚ εμφανίζουν μία τάση να μεθίστανται συχνότερα από τα ΤΜΚ και ιδιαίτερα στα οστά.

Το ποσοστό επιβίωσης ήταν αυξημένο στα ΤΜΚ (80.77%) σε σχέση με τα ΑΜΚ (72.7%) όπως και το χρονικό διάστημα ελεύθερο νόσου. Η επιβίωση είναι καλύτερη από την αναφερόμενη για τα πορογενή διηθητικά, παρά τον αυξημένο ποσοστό θετικών λεμφαδενικών μεταστάσεων.

Σε ποσοστό 90% τα ΜΚ της μελέτης ήταν ανευπλοειδικά και μάλιστα κατά το 60% υπερδιπλοειδικά. Το μέσο DNA index υπολογίστηκε στο 1.56 και ήταν ελάχιστα αυξημένο στα ΑΜΚ σε σχέση με τα ΤΜΚ.

Οι όγκοι σταδίων 2B, 3<sup>A</sup>, 3B και 4 που εμφανίζουν και την χειρότερη πρόγνωση, χαρακτηρίζονται και από αυξημένο DNA index, ενώ δεν διαπιστώθηκε καμιά διαφορά στο DNA index μεταξύ των όγκων με προβλεπόμενη με βάση το  $NPI$  επιβαρυνμένη πρόγνωση. Οι προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς χαρακτηρίζονταν από χαμηλότερο DNA index, οι ασθενείς όμως σταδίων 2B-3<sup>A</sup>-3B-4 (που αριθμητικά ήταν λιγότερες από την ομάδα σταδίων 1-2<sup>A</sup>) εμφάνισαν αυξημένο DI, υποδεικνύοντας πιθανόν μία κατηγορία επιβαρυνμένης πρόγνωσης. Γενικά πάντως δεν φαίνεται το DI να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν προγνωστικός δείκτης στα ΜΚ.

Η πλειοψηφία των ΜΚ είναι όγκοι με μετάλλαξη του ογκογονιδίου p53. Η ένταση της λεμφοπλασματοκυτταρικής διήθησης εμφάνισε αναλογική

συσχέτιση με την έκφραση του p53. Αυτό μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι αποτελεί πιθανόν ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή στην μεταλλαγμένη πρωτεΐνη. Τα p53(+)ΜΚ εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα μετάστασης στους λεμφαδένες και ελαττωμένη πιθανότητα μετάστασης στα οστά από τα (-). Παρόλα αυτά δεν διαπιστώνεται κάποια συσχέτιση με την επιβίωση ή την εμφάνιση υποτροπών. Στην μελέτη το 50% του υλικού αφορούσε p53(+)/MIB-1(+)όγκους·οι δύο παράμετροι λοιπόν εμφανίζουν στα ΜΚ παρόμοια κατανομή.

Το μέσο MIB-1 των ΜΚ της μελέτης είναι 21%, σχεδόν ταυτόσημο στα ΤΜΚ και τα ΑΜΚ, τα ΑΜΚ όμως εμφανίζουν σε μεγαλύτερη αναλογία MIB-1>25% υποδηλώνοντας αυξημένη ταχύτητα ανάπτυξης του όγκου.

Το φαινόμενο της αγγειακής νεοπλασματικής διήθησης εμφανίζεται συχνότερα σε MIB-1(+). Η εμφάνιση λεμφαδενικών μεταστάσεων είναι συχνότερη στην ομάδα των MIB-1(+). Παρόλα αυτά δεν μπορέσαμε να τεκμηριώσουμε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του MIB-1 με την επιβίωση ή την εμφάνιση υποτροπών.

Η πιθανότητα εμφάνισης υποτροπής στα ΜΚ καθορίζεται από τους λεμφαδένες, τη νέκρωση καθώς και την ηλικία, ενώ η πενταετής επιβίωση από τους λεμφαδένες.

## **Study of the biological behavior of medullary breast carcinomas in relation with their DNA ploidy, P53 and MIB-1 expression.**

In this study we collected pathological material from 48 patients with tumors that had been diagnosed initially as medullary carcinoma of the breast(MC) during the period from 1985 to 1999. The patients were treated, 40 of them in the Hospital "Marika Iliadi" in Athens and 8 in the University Hospital of Ioannina. For the diagnosis we used the Ridolfi criteria, as first published in 1977 and still widely used by the majority of histopathological laboratories because of their accuracy and reproducibility. We performed DNA ploidy analysis and immunostaining for p53 and MIB-1. For the DNA ploidy analysis, we used formalin-fixed, paraffin embedded tumor samples in sections of 20 $\mu$ m thickness. The mechanical extraction of the cells was done by sample preparation with medimachine system(DAKO, Glostrup, Denmark) by using the proper filters for retaining the nuclei. For measuring the nuclear DNA content we used the image cytometry analysis CAS 200 after Feulgen staining. At least 150 cells were measured from each sample and we excluded cells with mixed nuclei. Tetraploid cells of mouse liver were the reference standard for DNA. We considered the tumors as diploid when the cancer cells had DNA index within the range 0.9 and 1.1. A tumor with a peak falling outside this range was reported as DNA aneuploid. The sections that were produced from each formalin-fixed, paraffin embedded tumor samples, were stained from immunoreactivity to p53(DO7, Dako, Glostrup, Denmark) and to MIB-1(Immunotec, Marseille, France) using the standard avidin-biotin method(ABC). The cases were considered to be p53 positive if over 10% of the tumor cells manifested a definite nuclear staining and MIB-1 positive if there was any staining of the nucleoplasm or nucleoli, regardless of staining intensity. The MIB-1 index was calculated as the fraction of positive tumor cells: if it was over 20% the tumor was characterized as having rapid growth. Clinical data was available from hospital and histopathological records. Follow-up information was obtained from cancer registry records and hospital charts and information given from the patients themselves or their relatives.

MC accounts for 2% of all breast carcinomas in Greece. The age of women ranges between 40 and 55, with a mean of around 53 years. We found an increased occurrence in the outer upper quadrant of the left breast. The mean diameter was calculated to 3 cm.

The median time for diagnosis was 6.8 months. The majority of the patients were treated with breast conservation surgery followed by adjuvant treatment(radiation, chemotherapy, hormonal therapy).

There was no relation with smoking, alcohol, benign breast disease or oral contraceptives or hormone therapy.

Delayed diagnosis, peritumoral lymphatic and blood vessel invasion, NPI(Nottigham Prognostic Index) $\geq$ 5.4, lymph node metastases, EIC(extensive intraductal component) and family history, were negative prognostic factors as they were related with shorter disease-free and overall survival and increase of recurrences.

There was a high prevalence of patients with family history, mainly for breast and ovary cancer which were characterized by aggressive biological

features( $NPI > 5.4$ , aneuploid tumors the most  $p53(+)/MIB-1(+)$ ) and clinical behavior.

No difference was found between typical and atypical MC regarding size, age, location, menopausal status and family history. Concerning the histopathological features, in TMC there was increased tumor necrosis and dense lymphocytic infiltrate. The morphological features indicated a grade 3 tumor. In AMC there was an increased presence of blood vessel and lymphatic invasion.

Despite the early diagnosis, over 50% of the patients had  $NPI > 5.4$ . There is little possibility for  $NPI$  to be used as a prognostic indicator for MC.

In 43.8 of patients we had positive lymph nodes. The frequency of axillary lymph node metastases is the same for TMC and AMC but a greater possibility for AMC to metastasize in more than 4 lymph nodes.

The incidence of recurrence, systemic in most cases, was 27% and time of recurrence was within the first 36 months after treatment. In AMC it is related with lymph node status but not in TMC. Bones were the most common site of metastasis, followed by the liver and lungs. There is a tendency for AMC to metastasize, especially to the bones.

The overall 5-year survival rate for TMC was 80.77% and for AMC 72.7% and there was also an increased disease-free survival for TMC, better than the rate reported for invasive ductal carcinomas, despite the increased lymph node status.

MC were aneuploid in 90%-overdiploid in 60%. The average DNA index was 1.56, slightly increased in AMC.

The patients staged in TNM 2b, 3a, 3b and 4 at the time of diagnosis which had the worse prognosis, had also increased DI. There was no difference in DI for patients with  $NPI > 5.4$ . Premenopausal women had lower DNA index except the ones staged 2b, 3a, 3b and 4 which had an increased DI and worse prognosis. We conclude that DI cannot be used generally as a prognostic index in MC but only in special categories.

The majority of MC had mutation of  $p53$  oncogene. There was a direct relationship between the degree of lymphoplasmacytic infiltration and the expression of  $p53$  suggesting a possible host immunoreaction in the mutated protein.  $P53(+)$  MC had a greater possibility of metastasis in axillary lymph nodes and bones, although we found no relationship with recurrences or 5-year survival. 50% of the tumors were  $p53(+)/MIB-1(+)$  suggesting same distribution pattern of the two parameters.

The MIB-1 index of the study group was 21%, almost the same in TMC and AMC: nevertheless AMC had mostly MIB-1 index over 25% suggesting rapidly growing tumors.

Blood vessel invasion and lymph node metastases were more often in MIB-1(+)MC but we failed to prove statistically significant relationship between MIB-1 index and 5-year survival or recurrence.

Using the Cox model, we found that important factors for recurrence were age, lymph node status and tumor necrosis and for 5-year survival only the lymph node status.

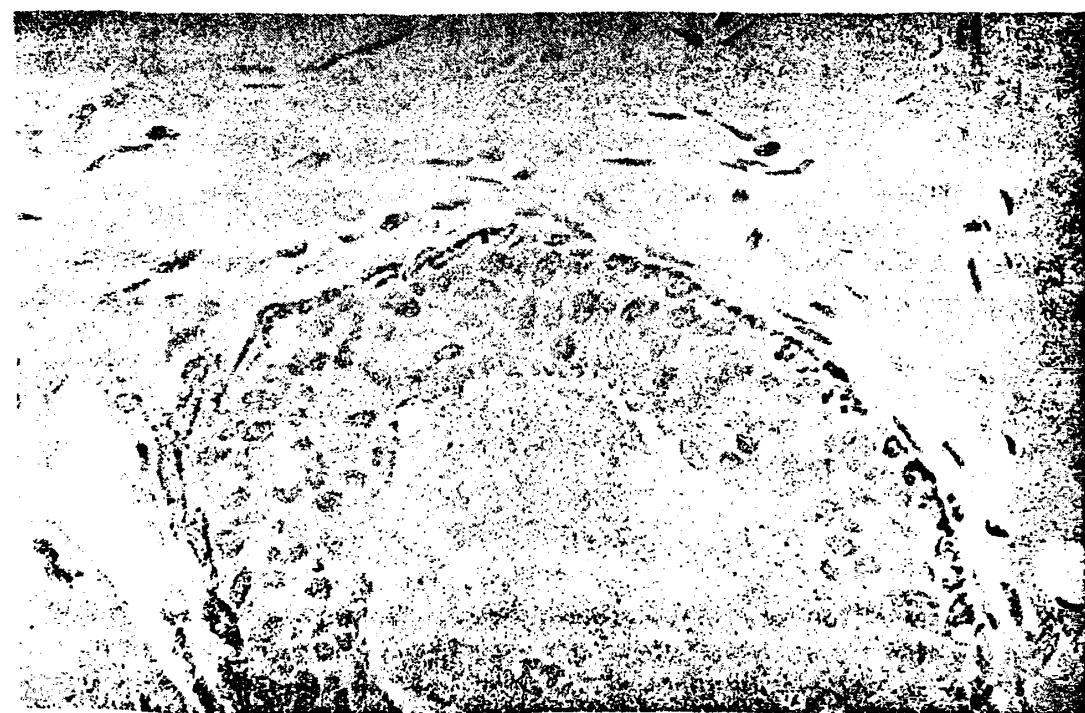
## IN CONCLUSION

1. MC consist a specific, although rare, entity of infiltrative ductal breast carcinomas, which inspite their aggressive morphologic and biologic features, have better prognosis with the exception of patients with family history of cancer.
2. Most of the MC are aneuploid. DNA ploidy can be used as a prognostic factor in MC, only in the group of premenopausal women.
3. The majority of MC, have p53 mutations: cancer cells are positive in more than 50% of the tumor sample. There was a direct relationship between the degree of lymphoplasmacytic infiltration and the expression of p53 suggesting a possible host immunoreaction in the mutated protein. P53(+) MC had a greater possibility of metastasis in axillary lymph nodes and bones, although we found no relationship with recurrences or 5-year survival.
4. The MIB-1 index of the study group was 21%. Blood vessel invasion and lymph node metastases were more often in MIB-1(+)MC but we failed to prove statistically significant relationship between MIB-1index and 5-year survival or recurrence.
5. MC are tumors with high proliferative rate and, in the same time, increased apoptosis. There seems to be a balance between the two factors which when is altered results in greater possibility of metastasis and worse prognosis.
6. The factors influencing recurrence are: age, tumor necrosis and lymph node status. The only statistically significant factor for 5-year survival was lymph node status.





Εικόνα 1. Φυσιολογικό λόβιο μαζικού αδένα. Τα επιθηλιακά κύτταρα που είναι σε επαφή με τον αυλό εμφανίζουν κορυφές αποκρινούς έκκρισης ή κυτταροπλασματικές προεξοχές εντός του αυλού. Είναι επίσης ορατή στιβάδα μυοεπιθηλιακών κυττάρων, μερικά με ελαφρά κενотоπιώδη εκφύλιση στο εξωτερικό του λοβίου.



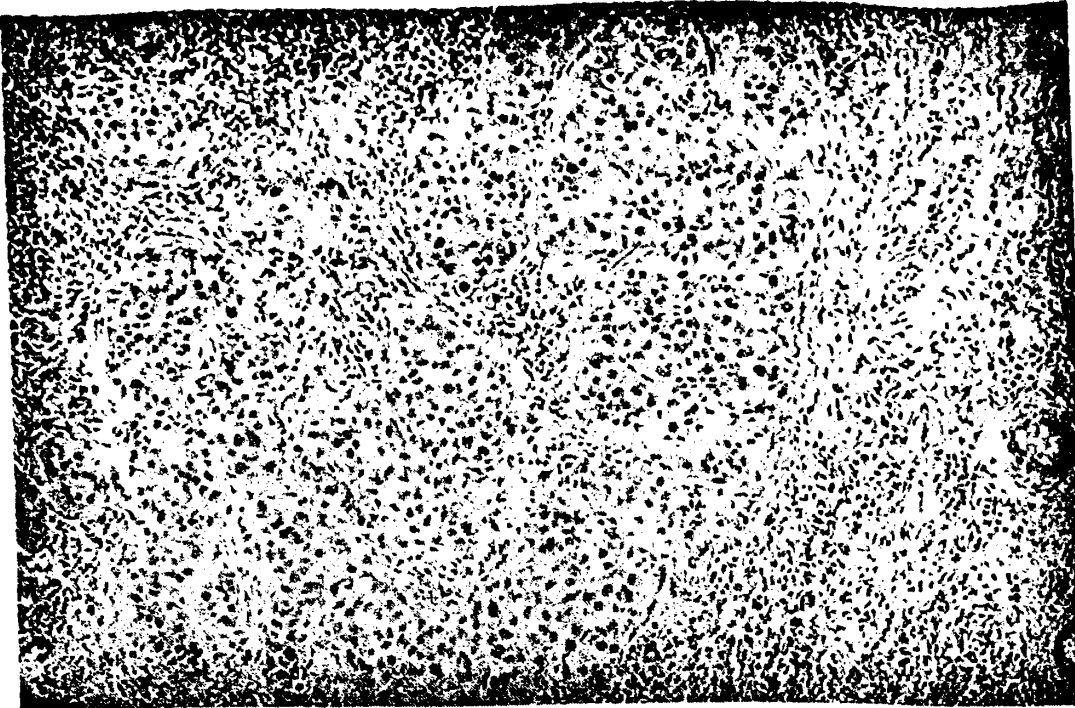
Εικόνα 2. Ανοσοϊστοχημική χρώση με αντίσωμα στην ακτίνη επιδεικνύει την στιβάδα των μυοεπιθηλιακών κυττάρων γύρω από το λόβιο του μαστού, τα οποία έχουν συσταλτική ικανότητα και είναι ευαίσθητα στην ωκυτοκίνη.



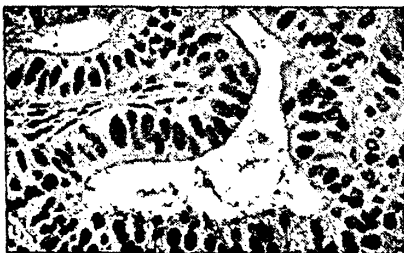
Εικόνα 3. Πορογενές διηθητικό καρκίνωμα του μαστού. Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν πλειομορφισμό και αυξημένη ποσότητα χρωματίνης.



Εικόνα 4. Μυελοειδές καρκίνωμα του μαστού. Τα καρκινικά κύτταρα εμφανίζουν πλειομορφικό πυρήνα με έντονα διαγραφόμενα πυρήνια.



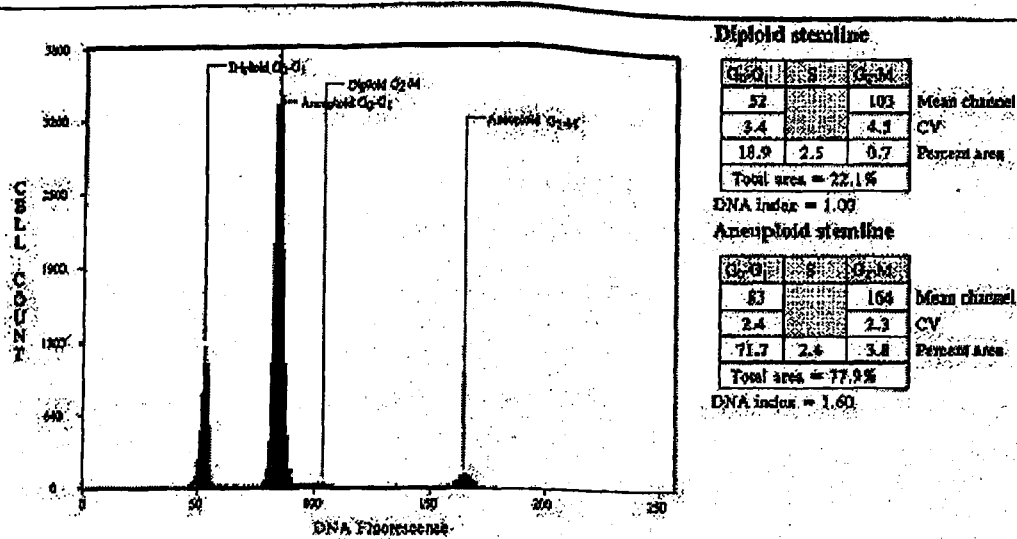
Εικόνα 5. Μυελοειδές καρκίνωμα του μαστού. Τα συσσωματώματα των καρκινικών κυττάρων περιβάλλονται από λεμφοειδές στρώμα με έντονη δεσμοπλασία.



Εικόνα 6.  
Θετική ανοσοϊστοχημική  
χρώση για p53.



Εικόνα 7.  
Θετική ανοσοϊστοχημική  
χρώση για MIB-1.



Interpretation: Aneuploid. Low S-phase.

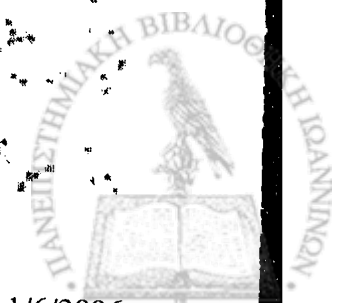
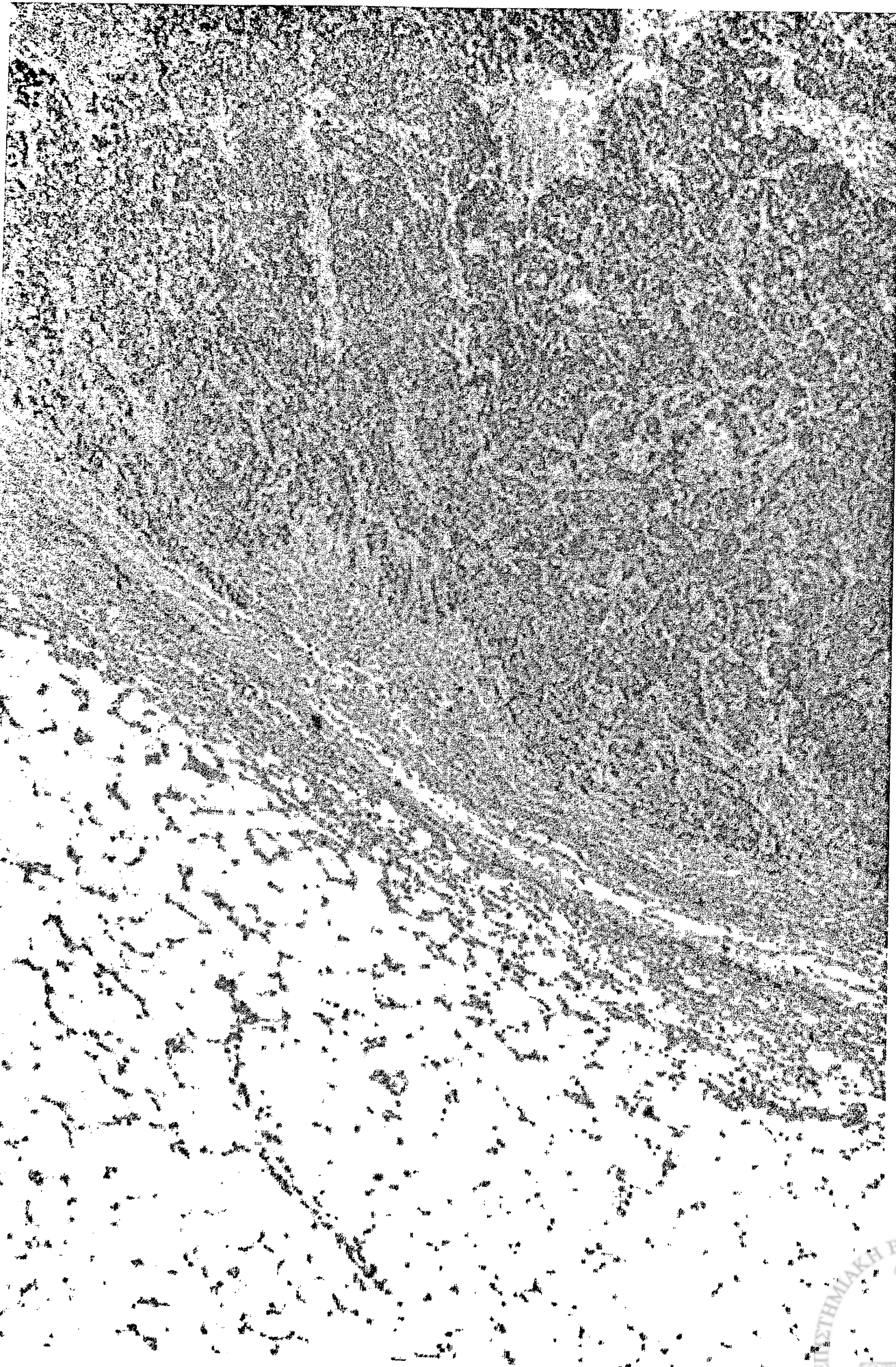
Εικόνα 8. Ιστόγραμμα DNA-ανευπλοειδία

---

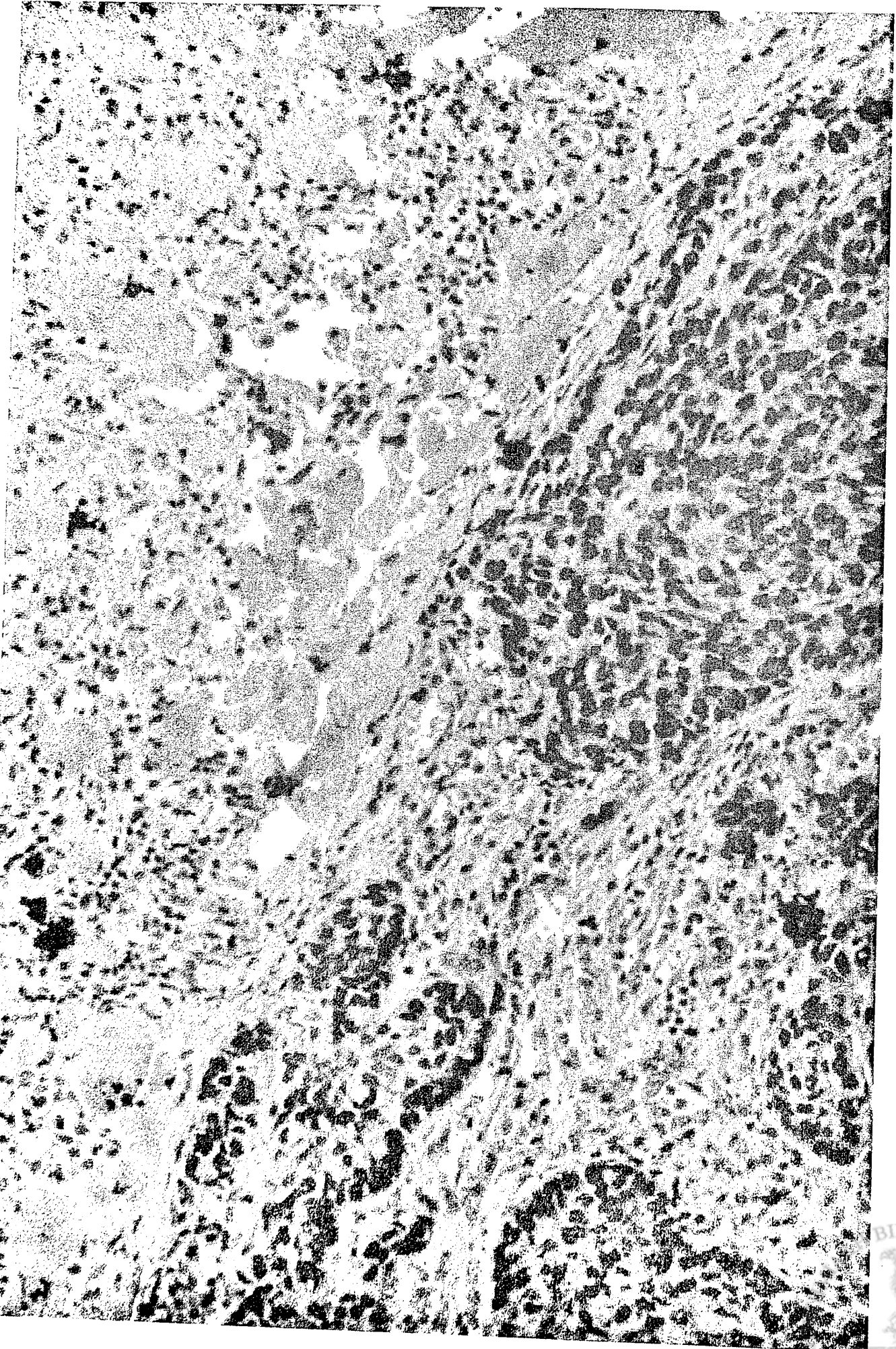
**Από:** "Pathology Dept. - H.Venizelou Hospital" <elenpath@otenet.gr>  
**Προς:** <papagoras@gre.forthnet.gr>  
**Αποστολή:** Δευτέρα, 9 Φεβρουαρίου 2004 4:50 μμ  
**Επισύναψη:** p53X2,5.jpg; p53 X40.jpg; p53X10 -2.jpg; p53 X10.jpg

---

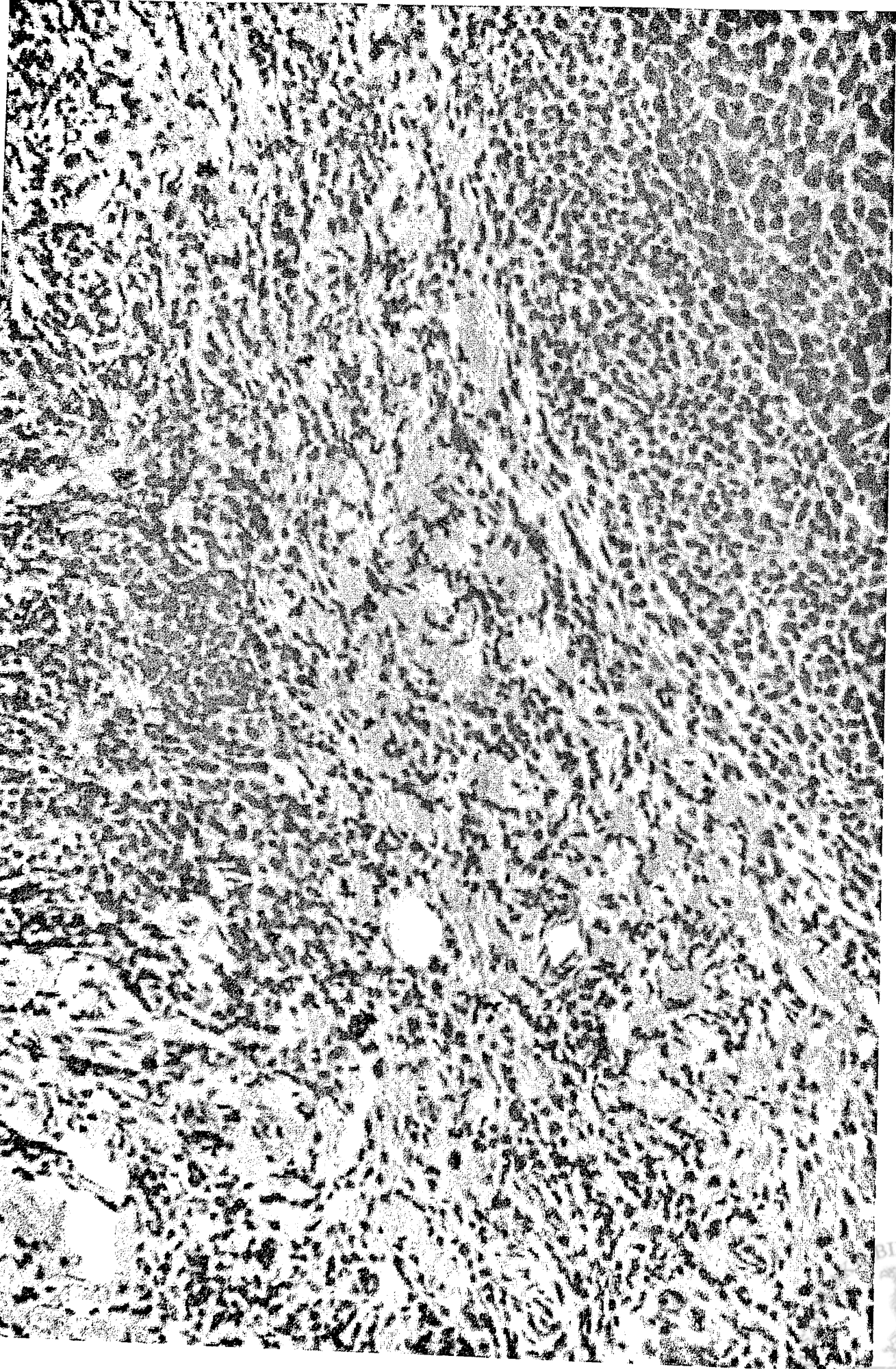










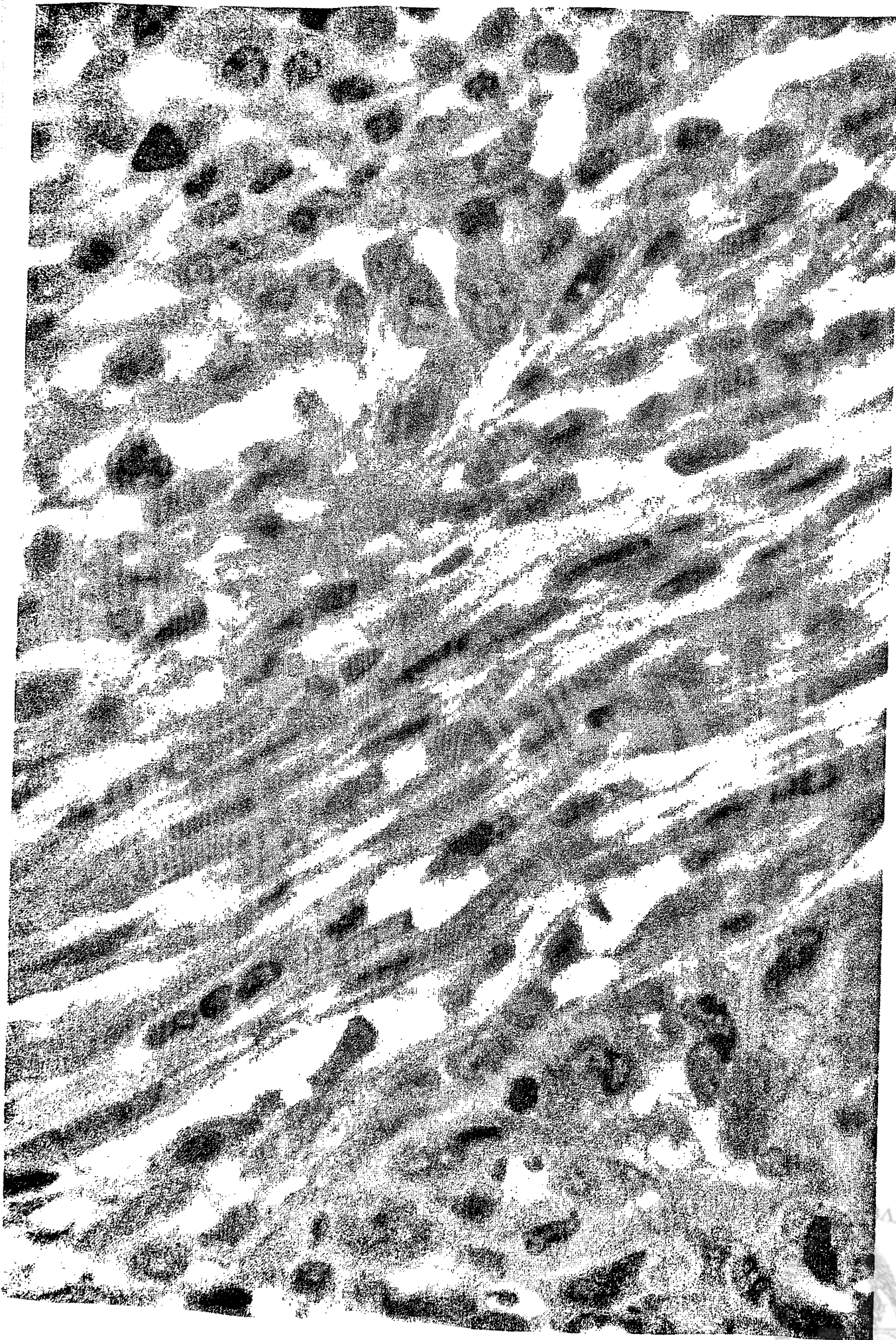


---

**Από:** "Pathology Dept. - H.Venizelou Hospital" <elenpath@otenet.gr>  
**Προς:** <rapagoras@gre.forthnet.gr>  
**Αποστολή:** Δευτέρα, 9 Φεβρουαρίου 2004 4:49 μμ  
**Επισύναψη:** Ki67X40.jpg; Ki67X2,5.jpg; Ki67 X10.jpg

---





ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ, ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ ΚΑΙ ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΔΙΔΑΚΤΙΚΩΝ ΒΙΒΛΙΩΝ (ΙΤΥΣΣΕ)

