



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ**

**Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ
ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ
ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ**

**ΘΩΜΑΣ ΤΣΟΥΚΑΛΑΣ
ΙΑΤΡΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ



ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2008





«Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα».

(Νόμος 5343/32, άρθρο 202, § 2)



Ημερομηνία αίτησης του κ. Τσουκαλά Θωμά: 2-4-1996

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 305^α/18-6-1996

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Αγνάντη Νίκη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας

Μέλη

Μπάη Μαρία Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής

Μπαλτογιάννης Γεώργιος Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 14-11-1996

«Μελέτη της προγνωστικής σημασίας της απόπτωσης στον καρκίνο του μαστού του ανθρώπου»

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 646^α/22-10-2008

Αγνάντη Νίκη	Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
Βουγιουκλάκης Θεόδωρος	Καθηγητής Ιατροδικαστικής-Τοξικολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
Μαρία Μπάη	Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
Στεφάνου Δημήτριος	Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
Μπαλτογιάννης Γεώργιος	Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
Γούσια Άννα	Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
Μπασιτάτου Άννα	Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 31-10-2008

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Γουδέβενος Ιωάννης

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας



Στη μητέρα μου, Ελένη

Στον πατέρα μου, Παύλο

*Στην κ. Νίκη Ι. Αγνάντη,
Καθηγήτριά Παθολογικής Ανατομικής*



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	15
----------------	----

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο	25
1. Εισαγωγή	25
2. Εμβρυολογική ανάπτυξη του μαστού	27
3. Στοιχεία ιστολογίας του μαζικού αδένου	28
4. Χειρουργική Ανατομική	30
4.α. Μαστός	30
4.β. Οι περιτονίες του θώρακα	31
4.γ. Μύες και νεύρα	31
4.δ. Αγγεία	32
4.ε. Λεμφικό δίκτυο	32
4.στ. Μασχάλη	35
5. Στοιχεία φυσιολογίας του μαστού	36
6. Επιδημιολογικά δεδομένα	38
7. Αιτιολογική συσχέτιση του καρκίνου του μαστού	40
7.α. Φύλο	40
7.β. Ηλικία	40
7.γ. Γενετικοί και οικογενειακοί παράγοντες κινδύνου – <i>BRCA1</i> και <i>BRCA2</i>	40
7.δ. Ιστολογικοί παράγοντες κινδύνου	41
7.ε. Ακτινοβολία – Ακτινοθεραπεία στο άνω μέρος του κορμού	41
7.στ. Άλλοι (ελάσσονες) παράγοντες κινδύνου	42
8. Αντιμετώπιση των γυναικών υψηλού κινδύνου	42
9. Φυσική ιστορία και βιολογική συμπεριφορά του καρκίνου του μαστού	44



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ	46
1. Διαγνωστική διερεύνηση – Ιστορικό – Κλινική εξέταση	46
2. Απεικονιστικές εξετάσεις	47
2.α. Η μαστογραφία	47
2.β. Η ψηφιακή μαστογραφία (FFDM)	50
2.γ. Το υπερηχογράφημα	51
2.δ. Η μαγνητική μαστογραφία	51
3. Μη ανοικτές-διαδερμικές βιοψίες	54
4. Ανοικτή βιοψία	55
5. Ιστολογικοί τύποι του καρκίνου του μαστού	55
6. Βαθμός κακοήθειας (Grade)	57
7. Σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού – TNM	58
8. Προγνωστικοί παράγοντες στον Καρκίνο του Μαστού	62
8.1. Το μέγεθος του όγκου	63
8.2. Η κατάσταση των μασχαλαίων λεμφαδένων	63
8.3. Ιστολογικός τύπος	64
8.4. Ο βαθμός κακοήθειας (Grade)	64
8.5. Η διήθηση αγγείων (αιμοφόρων και λεμφικών)	65
8.6. Οι ορμονικοί υποδοχείς – ERα, ERβ και PgR	65
8.7. Το ογκογονίδιο HER-2/neu (c-erb-B2)	68
8.8. Άλλοι βιολογικοί δείκτες	69
8.8.α. Το γονίδιο p53	70
8.8.β. Το γονίδιο Bcl2	70
8.8.γ. Ki-67	70
8.8.δ. Ογκογονίδια c-myc και c-ras	71
8.8.ε. Το γονίδιο Rb	71
8.8.στ. p27 και SKp2	71
8.8.ζ. Η p52 πρωτεΐνη	71
8.8.η. Καθεψίνη D	71
9. Μοριακή ταξινόμηση των καρκινωμάτων του μαστού	72
9.1. Αυλικού τύπου καρκινώματα του μαστού	73
9.2. HER2 υπότυπος	74
9.3. Βασικού τύπου καρκινώματα του μαστού	75

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	77
1. Χειρουργική θεραπεία του καρκίνου του μαστού	77



1.1. Ριζική μαστεκτομή κατά Halsted	77
1.2. Τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή	78
1.3. Ολική (απλή) μαστεκτομή	79
1.4. Υποδόρια μαστεκτομή	79
1.5. Συντηρητικές επεμβάσεις στη χειρουργική του καρκίνου του μαστού	79
2. Βασικές αρχές ακτινοθεραπείας του καρκίνου του μαστού	82
2.α. Προεγχειρητική ακτινοθεραπεία	82
2.β. Μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία	82
2.γ. Μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία στη συντηρητική χειρουργική θεραπεία	83
2.δ. Ακτινοθεραπεία στον τοπικά προχωρημένο καρκίνο του μαστού	83
2.ε. Ακτινοθεραπεία στις τοπικές υποτροπές και στη μεταστατική νόσο	83
3. Βασικές αρχές εφαρμογής συστηματικών επικουρικών θεραπειών. Χημειοθεραπεία – Ορμονοθεραπεία	84
3.1. Χημειοθεραπεία	84
3.2. Ορμονοθεραπεία – Ταμοξιφαίνη, Αναστολείς Αρωματάσεις, GnRH ανάλογα	85
3.3. Προεγχειρητική χημειοθεραπεία – ορμονοθεραπεία	88
3.4. Θεραπεία του καρκίνου του μαστού με μονοκλωνικά αντισώματα – Trastuzumab (Herceptin)	90

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο

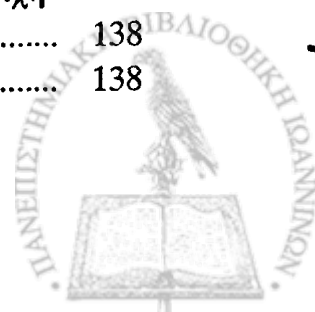
ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	91
1. Γενικά	91
2. Μορφολογία των αποπτωτικών κυττάρων	93
3. Βιοχημικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης	95
4. Διέγερση, μηχανισμός και ρύθμιση του αποπτωτικού θανάτου	97
4.1. Γενετική ρύθμιση της απόπτωσης	97
4.2. Αποπτωτικά μονοπάτια	98
4.2.1. Εξωγενές αποπτωτικό μονοπάτι (Extrinsic apoptotic pathway)	98
4.2.2. Ενδογενές αποπτωτικό μονοπάτι (Intrinsic apoptotic pathway)	100
4.3. Παράγοντες που συμμετέχουν στην απόπτωση	100
4.3.1. Οικογένεια Bcl2	100



4.3.2. Κυτταροκίνες (Cytokines)	101
4.3.3. Κασπάσες (Caspases)	102
4.3.4. Granzyme B	102
4.3.5. Οι υποδοχείς θανάτου και η οδός Fas/FasL	102
5. Ο ρόλος του p53 στην απόπτωση	104
6. Ο ρόλος της απόπτωσης στη θεραπεία του καρκίνου	105

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ	111
2. ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΙ	113
1. Ασθενείς	113
2. Παρακολούθηση των ασθενών (Follow-up)	114
3. Εκτίμηση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη	114
4. Ανοσοϊστοχημική μέθοδος	115
5. Στατιστική ανάλυση	115
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	117
1. Τιμές και συχνότητες των δεικτών που μελετήθηκαν	117
2. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με τους κλινικοπαθολογο- ανατομικούς παράγοντες που μελετήθηκαν	120
3. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με τους κλινικόπαθολογο- ανατομικούς παράγοντες που μελετήθηκαν	125
4. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με την ανοσο- ϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών p53 και Bcl2	129
5. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με την υποτροπή και τον χρόνο υποτροπής	130
6. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με τους ορμονικούς υποδοχείς και τον χρόνο υποτροπής	133
7. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με τη διαφοροποίηση του όγκου και τον χρόνο υποτροπής	135
8. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με το στάδιο της νόσου	136
9. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με το μέγεθος του όγκου και τον χρόνο υποτροπής	137
10. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με τη σύστοιχη μασχαλιαία λεμφαδενική διήθηση και τον χρόνο υποτροπής	138
11. Ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής (RFS)	138



11.1. Μονομεταβλητή ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής σε σχέση με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες	138
11.2. Μονομεταβλητή ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής σε σχέση με τον αποπτωτικό δείκτη (AI)	145
11.3. Πολυμεταβλητή ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής ...	146
• ΣΥΖΗΤΗΣΗ	153
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	163
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	165
SUMMARY	169
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	173



*«οἷη περ φύλλων γενεή, τοίη δέ καί ἀνδρῶν,
φύλλα τά μέν τ' ἄνεμος χαμάδις χέει, ἀλλά δέ θ' ὕλη
τηλεθόωσα φύει, ἔαρος δ' ἐπιγίγνεται ὄρη·
ὡς ἀνδρῶν γενεή ἢ μέν φύει ἢ δ' ἀπολήγει».*

Ομήρου Ιλιάς, Ζ' 146-149

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στις σύγχρονες κοινωνίες, καθώς και στην Ελλάδα, ο καρκίνος του μαστού είναι ο πιο συχνός τύπος καρκίνου στις γυναίκες και από τις πρώτες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας από καρκίνο. Όμως την τελευταία 15ετία έχει επιτευχθεί σημαντική πρόοδος σ' όλους τους τομείς αντιμετώπισης του καρκίνου του μαστού με αποτέλεσμα την μεγάλη ελάττωση της θνησιμότητας από τη νόσο.

Ουσιαστικό ρόλο στη θεραπευτική αντιμετώπιση της νεοπλασματικής αυτής ασθένειας κατέχει η χειρουργική επέμβαση. Μ' αυτήν επιτυγχάνεται, σε σημαντικό βαθμό, ο έλεγχος της τοπικής νόσου και η ελάττωση του «νεοπλασματικού φορτίου», ενώ εξασφαλίζεται ο απαραίτητος ιστός για να μελετηθούν η παθολογία και η κυτταρική βιολογία των καρκινικών κυττάρων. Ταυτόχρονα γίνεται η παθολογοανατομική σταδιοποίηση της νόσου και προσδιορίζεται η βιολογική συμπεριφορά της, εκτιμώντας τους διάφορους κλινικούς, παθολογοανατομικούς και μοριακούς δείκτες. Με τη ραγδαία εξέλιξη της βιοχημείας και της μοριακής βιολογίας, τα τελευταία χρόνια, δόθηκαν απαντήσεις σε πλήθος ερωτημάτων, ενώ καθορίστηκε πληθώρα νέων προγνωστικών δεικτών. Τα νέα αυτά δεδομένα τροποποίησαν το είδος της εφαρμοζόμενης θεραπείας και επηρέασαν σημαντικά την τελική έκβαση της νόσου.

Καθοριστικό ρόλο την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση του καρκί-



νου του μαστού έχει παίξει η προληπτική ευαισθητοποίηση και η πρωϊμότερη διάγνωση, η οποία έγινε πιο ακριβής με τις προόδους που έχουν επιτευχθεί στους απεικονιστικούς ελέγχους. Οι εξελίξεις στην ακτινοθεραπεία και η αναμφισβήτητη επανάσταση που έγινε στην συμπληρωματική χημειοθεραπεία και ορμονοθεραπεία είναι από τους βασικότερους παράγοντες που οδήγησαν στην ελάττωση της θνησιμότητας. Η μοριακή βιολογία, η γενετική, η φαρμακογενετική και η νανοτεχνολογία μας εφοδίασαν με καινούργια φάρμακα, περισσότερο αποτελεσματικά και λιγότερο τοξικά.

Παρ' όλα αυτά όμως, παραμένουν αναπάντητα παρά πολλά ερωτήματα και απέχουμε πολύ από το να θεωρήσουμε ότι ο καρκίνος του μαστού έχει τεθεί υπό έλεγχο. Τελικά φαίνεται ότι η δυνατότητα να προλάβουμε την εκδήλωση της νόσου, και να εξαλείψουμε τον θάνατο απ' αυτήν, θα εξαρτηθεί από την δυνατότητα να αντιμετωπίσουμε την κακοήθη αυτή νόσο σε μοριακό επίπεδο. Η έρευνα και η γνώση του γενετικού σχεδιαγράμματος (προφίλ) των ασθενών και του γενετικού σχεδιαγράμματος (προφίλ) του όγκου καθώς και η γνώση των περιβαλλοντικών παραγόντων μας οδηγούν σε νέα πεδία αντιμετώπισης της νόσου, όπου τον καθοριστικό ρόλο θα παίζει η «εξατομικευμένη θεραπεία».

Η απόπτωση είναι ο γενετικά προγραμματισμένος και γενετικά ελεγχόμενος κυτταρικός θάνατος και τελευταία συσσωρεύονται όλο και περισσότερο γνώσεις ότι το φαινόμενο της απόπτωσης παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην καρκινογένεση όσο και στην εξέλιξη και βιολογία του καρκίνου του μαστού. Η μεγάλη συχνότητα εμφάνισης της νόσου και η διαπίστωση ότι οι ασθενείς δεν εμφανίζουν την ίδια βιολογική συμπεριφορά και κλινική πορεία έχει οδηγήσει την έρευνα και τη μελέτη τόσο σε κυτταρικό/μοριακό επίπεδο όσο και σε κλινικό, στη διερεύνηση και ερμηνεία των μηχανισμών της καρκινογένεσης της κακοήθους αυτής νόσου και στην αναζήτηση προγνωστικών δεικτών.

Σκοπός αυτής της Διδακτορικής Διατριβής είναι να συμβάλει στη μελέτη του φαινομένου της απόπτωσης στον καρκίνο του μαστού και στη διερεύνηση της σημασίας της ποσοτικής έκφρασης της απόπτωσης, που είναι ο αποπτωτικός δείκτης (AI), στην πρόγνωση της νόσου. Ίσως τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της μελέτης αυτής να αποτελέσουν ένα μικρό εφόδιο στη φαρέτρα της Επιστήμης στη δύσκολη μάχη που δίνεται.

Η προσπάθεια αυτή δεν θα μπορούσε να θεωρηθεί ολοκληρωμένη αν δεν εξέφραζα την ευγνωμοσύνη μου και τις ευχαριστίες μου σε όλους όσους συνέβαλαν και βοήθησαν, ο καθένας με τον τρόπο του, στην όμορφη και επίπονη πορεία που κατάληξή τους ήταν η μελέτη αυτή.



Στην αρχή και πάνω απ' όλους θα 'θελα να εκφράσω την βαθιά μου ευγνωμοσύνη στην κ. Νίκη Ι. Αγκνάντη, Καθηγήτη Παθολογικής Ανατομίας και Διευθυντή του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Η εμπιστοσύνη και η αγάπη με την οποία με περιέβαλε από την πρώτη στιγμή που μου ανέθεσε την εκπόνηση αυτής της μελέτης στάθηκε η πιο δυνατή ασπίδα για να αντιμετωπίσω τις δυσκολίες που εμφανίστηκαν στην πορεία της. Η επιστημονική της κατάρτιση, η ακαδημαϊκή της συγκρότηση, το ήθος της και η ανθρωπιά της αποτέλεσαν για μένα τα σταθερά σημεία αναφοράς και τους οδηγούς που με κατεύθυναν μέχρι το τέλος. Ακράδαντα πιστεύω ότι τέτοιες μορφές διαμορφώνουν μια ξεχωριστή εικόνα στο Ελληνικό Πανεπιστήμιο και ανοίγουν νέους διαφορετικούς δρόμους στην επιστημονική κοινότητα. Θεωρώ ότι αυτό που μου προσέφερε αφείδωλα είναι εφόδιο ζωής και είναι τόσο μεγάλο που δεν υπάρχει δυνατότητα να το ανταποδώσω σε έναν άνθρωπο· στην ίδια! Μόνο η ανάλογη προσφορά στους συνανθρώπους μου και στο κοινωνικό σύνολο μπορεί να με ικανοποιήσει και να με ανακουφίσει.

Ευχαριστώ βαθύτατα τον χειρουργό-ογκολόγο κ. Μάρκο Πινακίδη που ως Διευθυντής του Γ' Χειρουργικού-Ογκολογικού τμήματος Μαστού του «Θεαγενείου» Α.Ν. Θεσσαλονίκης που εμπιστεύθηκε τα κλινικά στοιχεία της παρακολούθησης των ασθενών της μελέτης αυτής, πολλές από τις οποίες χειρουργήσαμε μαζί. Μου προκαλούσε ιδιαίτερη συγκίνηση η παρακολούθηση της κλινικής πορείας αυτών των ασθενών, στα 15 αυτά χρόνια που διήρκεσε η μελέτη. Τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη του και για όλα όσα μου δίδαξε, στη χειρουργική του μαστού και στην ηθική της αντιμετώπισης του ογκολογικού ασθενούς, κατά την 15ετή συνεργασία μας.

Επίσης ευχαριστώ τον κ. Γεώργιο Χατζηθεοχάρη, Αναπληρωτή Καθηγητή της Χειρουργικής του Α.Π.Θ. και Διευθυντή της Α' Χειρουργικής Κλινικής του Ιπποκράτειου Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης και τον κ. Γεώργιο Μπλάτζα, Αναπληρωτή Καθηγητή της Χειρουργικής Ογκολογίας του Α.Π.Θ. και τ. Διευθυντή του Α' Χειρουργικού-Ογκολογικού τμήματος του «Θεαγενείου» Α.Ν. Θεσσαλονίκης που με ενέπνευσαν την αγάπη για τη χειρουργική και με μύησαν στην τέχνη της.

Ευχαριστώ θερμά την συνάδελφο παθολογοανατόμο κ. Αλεξάνδρα Γραικού, τ. Επιμελήτρια Β' του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του «Θεαγενείου» Α.Ν. Θεσσαλονίκης που είχε την αρχική ιδέα αυτής της μελέτης και στη συνέχεια αφιέρωσε ατελείωτο χρόνο για την εκτίμηση των παθολογοανατομικών παραμέτρων. Οι ανάλογες εργασίες που εκπονήσαμε από



κοινού ήταν πρόδρομοι αυτής της μελέτης. Ο ενθουσιασμός της, η εμπειρία της και η συμπαράστασή της στάθηκαν πολύτιμοι βοηθοί.

Ευχαριστώ επίσης την κ. Άννα Γούσια, Επίκουρος Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την ηθική της συμπαράσταση, τις συμβουλές, τις παρατηρήσεις στο τελικό στάδιο της μελέτης, που ήταν και καθοριστικό. Την ευχαριστώ για τον χρόνο που αφιέρωσε παρά το μεγάλο πλήθος των επιστημονικών, ακαδημαϊκών και προσωπικών της καθηκόντων και υποχρεώσεων.

Θερμά ευχαριστώ τον παιδικό φίλο και μαθηματικό κ. Νίκο Βελή και τον φίλο κ. Άρη Περπέρογλου, Λέκτορα του τμήματος Στατιστικής και Ασφαλιστικής Επιστήμης του Πανεπιστημίου Αιγαίου για τη συμβολή τους στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ την κ. Θεανώ Τόλιου, τ. Διευθύντρια του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του «Θεαγένειου» Α.Ν. Θεσσαλονίκης που από την αρχή συμπαραστάθηκε σ' αυτό το πόνημα χορηγώντας την άδεια για την χρήση του παθολογοανατομικού υλικού των όγκων από το Αρχείο του Εργαστηρίου και την κ. Φρειδερίκη Πατακιούτα, Διευθύντρια του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του «Θεαγένειου» Α.Ν. Θεσσαλονίκης για το ενδιαφέρον που έδειξε από την αρχή σ' αυτή τη μελέτη και συμμερίστηκε τις ανάγκες μέχρι τέλος, όταν ανέλαβε τα καθήκοντα της διεύθυνσης του Εργαστηρίου. Ευχαριστώ επίσης την κ. Περσεφόνη Ξηρού, Επιμελήτρια Α' του ίδιου Εργαστηρίου για τη βοήθεια που προσέφερε.

Νοιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τον κ. Παναγιώτη Παρασκευόπουλο, Διευθυντή του Α' Παθολογικού-Ογκολογικού τμήματος του «Θεαγένειου» Α.Ν. Θεσσαλονίκης και την κ. Δέσποινα Μισαηλίδου, Διευθύντρια του Ακτινοθεραπευτικού τμήματος του Π.Γ. Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης «Παπαγεωργίου» για τις παρατηρήσεις τους στο γνωστικό τους αντικείμενο.

Ευχαριστώ τα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής κ. Μαρία Μπάη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής και τον κ. Γεώργιο Μπαλογιάννη, Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής για τη συνεργασία τους και τη συμπαράστασή τους και τα υπόλοιπα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής κ. Άννα Γούσια και κ. Άννα Μπατιστάτου, αμφότερες Επίκουροι Καθηγήτριες Παθολογικής Ανατομίας, τον κ. Δημήτριο Στεφάνου, Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογικής Ανατομίας και τον κ. Θεόδωρο Βουγιουκλάκη, Καθηγητή Ιατροδικαστικής για τη συνεργασία τους και το ενδιαφέρον τους.



Ευχαριστώ την κ. Αναστασία Τσουμάνη και την κ. Κωνσταντίνα Ευσταθοπούλου, γραμματείς του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για τον άψογο συντονισμό της συνεργασίας μου με το Εργαστήριο.

Ευχαριστώ την κ. Ευγενία Στράτου, συνεργάτη των εκδόσεων University Studio Press που με απaráμιλλο ενδιαφέρον και με τις άριστες γνώσεις της επεξεργάστηκε το κείμενο και επιμελήθηκε την καλαίσθητη εκτύπωση του.

Η συγκίνησή μου είναι ανείπωτη όταν σκέφτομαι το ενδιαφέρον και την ηθική συμπαράσταση όλων ανεξαιρέτως των φίλων μου. Τους ευχαριστώ όλους θερμά από τα βάθη της καρδιάς μου. Θα τελειώσω με την αναφορά στην οικογένειά μου, που έδειξε απεριόριστη υπομονή, ανοχή στις υπέρμετρες πολλές φορές ανάγκες μου και μου παρείχε ολόπλευρα ψυχική βοήθεια και συμπαράσταση, ενώ η παιδική αθωότητα και ο παιδικός δυναμισμός του ανηψιού Κωνσταντίνου αποτέλεσε για μένα, όχι λίγες φορές, πηγή δύναμης. Νοιώθω γι' αυτούς απέραντη ευγνωμοσύνη!

Ιωάννινα – Δουρούτη,
Σεπτέμβριος 2008

*«οὐ γάρ τις μ' ὑπέρ αἴσαν ἀνὴρ Ἄϊδι προΐαψεν
μοῖραν δ' οὐ τινά φημι πεφυγμένον ἔμμεναι ἀνδρῶν,
οὐ κακόν, οὐδέ μέν ἐσθλόν, ἐπὴν τά πρῶτα γένηται».*

Ομήρου Ιλιάς, Ζ' 487-489



... η απόπτωση

«Καθώς τῶν φύλλων, ἀπαράλλαχτη κι ἡ φύτρα τῶν ἀνθρώπων:
ἄλλα ἀπ' τὰ φύλλα ρίχνουν οἱ ἄνεμοι στό χῶμα, κι ἄλλα πάλε
τό δάσος ξεπετᾶ τ' ὀλόχλωρο τήν ἄνοιξη· παρόμοια
καί τῶν θνητῶν ἡ μία ξεπέταξε κι ἡ ἄλλη γενιά πεθαίνει».

... και το γενετικά προκαθορισμένο

«Κανείς, ἄν δέν τό στρέγει ἡ μοίρα του, στόν Ἄδη δέ μέ στέλνει
τό ξέρω, ἀπ' τό γραφτό κανένας μας, κιοτής γιά παλικάρι,
μιά καί στόν κόσμο αὐτό γεννήθηκε, δέ γλίτωσε ποτέ του».

Μετάφραση Ν. Καζαντζάκη
Ι.Θ. Κακριδῆ



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο

1. Εισαγωγή

Ο μαστός υπάρχει και στα δύο φύλα, τόσο στη γυναίκα όσο και στον άντρα και αποτελεί το χαρακτηριστικό γνώρισμα για την κατάταξη του ανθρώπου στην τάξη των θηλαστικών. Στη γυναίκα, ο μαστός υπόκειται σε πλήθος λειτουργικών και μορφολογικών μεταβολών, που σχετίζονται με την εμμηνορρυσία, την εγκυμοσύνη, τη γαλουχία και την εμμηνόπαυση· αναπτύσσεται κατά και μετά την ήβη και φτάνει στη μέγιστή του ανάπτυξη στους τελευταίους μήνες της κύησης και στη γαλουχία. Στον άντρα, φυσιολογικά, ο μαστός βρίσκεται σε κατάσταση υποστροφής (υποανάπτυκτος) και λειτουργικά παραμένει ανενεργός. Ο δυναμικός αυτός ρόλος του μαστού έχει σαν συνέπεια πλήθος κλινικών και δυσλειτουργικών εκδηλώσεων που καθιστούν τα νοσήματα του μαστού, με πρώτο τον καρκίνο του μαστού, συχνότατα κλινικά προβλήματα.

Αναφορές στον καρκίνο του μαστού υπάρχουν από την αρχαιότητα. Ο Ηρόδοτος στο έργο του «Ιστορίαι» (Βιβλ. Γ') γράφει για εξελκωμένο όγκο του μαστού που εμφάνισε η Ατόσσα, κόρη του Κύρου και γυναίκα του Δαρείου, ενώ ο πατέρας της Ιατρικής Ιπποκράτης είναι ο πρώτος που χρησιμοποιεί τον όρο «καρκίνωμα» για τον μαστό¹. Στην αρχαιότητα και στην ελληνιστική περίοδο πολλοί μεγάλοι γιατροί της εποχής όπως ο Ηρόφιλος (331-250 π.Χ.), ο Ερασίστρατος (310-250 π.Χ.), ο Ασκληπιάδης, 2ος αιώνας π.Χ., ο Κέλσος, 1ος αι. μ.Χ., ο Αρχιγένης, 1ος αι. μ.Χ., και φυσικά ο Γαληνός 2ος αι. μ.Χ. ασχολήθηκαν με τις εξελκώσεις-καρκινώματα του μαστού και εφαρμόσαν διάφορες θεραπείες όπως καταπλάσματα, καυτηριασμούς και χειρουργικές εκτομές. Στους μεσαιωνικούς χρόνους ο Αέτιος (6ος αι. μ.Χ.) και ο Παύλος ο Αιγινίτης (7ος αι. μ.Χ.) συνέγραψαν αξιόλογα ιατρικά συγγράμματα στα οποία γίνονται αναφορές στα καρκινώματα του μαστού και στις θεραπείες που ανέπτυξαν². Πολύ πριν κατανοηθεί η αληθής βιολογική



φύση του καρκίνου του μαστού, ο Galen (100 μ.Χ.) υπέθεσε ότι ο καρκίνος του μαστού είναι μία συστηματική νόσος από την αρχή και μη θεραπεύσιμη με χειρουργικές μεθόδους³. Γενικά η χειρουργική δεν αποτέλεσε τη θεραπεία επιλογής για τον καρκίνο του μαστού έως τον 16ο αι. όπου χειρουργοί όπως οι Andreas Vesalius, Ambroise Paré, Wilheelm von Hilden και τον 17ο-18ο αι. οι χειρουργοί Johanes Scultetus, Nicolas Tulp, Richard Wiseman καθώς και οι Morgagni, Valsava, Le Dran, Jan-Luis Petit, Adrian Helvetius, Hendrik Ulhoorn, Astley Cooper ανέπτυξαν χειρουργικές τεχνικές που οδήγησαν στη ριζική μαστεκτομή του Halsted το δεύτερο μισό του 19ου αιώνα⁴.

Στις μέρες μας, πέραν της καθαρά μηχανιστικής θεωρίας του Halsted που ρίχνει το βάρος της θεραπείας στην έκταση της χειρουργικής επέμβασης έχει κερδίσει έδαφος η σύγχρονη θεωρία του Fisher που ρίχνει το βάρος της εξάπλωσης στην αιματογενή διασπορά και θεωρεί ότι ο καρκίνος του μαστού είναι συστηματική νόσος από την αρχή⁵.

Ο 20ος αι. σηματοδεύτηκε από καθοριστικές εξελίξεις στη μελέτη, στη διάγνωση και στη θεραπεία του καρκίνου. Καθιερώθηκε η σταδιοποίηση της νόσου, με τη συμβολή της επιστήμης της Παθολογικής Ανατομικής και όπως αυτή εξελίσσονταν με τη βελτίωση των ιστολογικών εικόνων και την εφαρμογή στην καθημερινή κλινική πράξη των ογκογονιδίων και των ογκοπρωτεϊνών, υιοθετήθηκαν νέες κλινικές μέθοδοι, ενώ οι πρόοδοι στις απεικονιστικές εξετάσεις με πρώτη και κύρια τη μαστογραφία οδήγησαν σε μια επαναστατική αντιμετώπιση της νόσου που προς το τέλος του 20ου αι. επισφραγίστηκε με τις εξελίξεις στη μοριακή βιολογικά και τη γενετική. Ο Umberto Veronesi και οι συνεργάτες του της Ιατρικής Σχολής του Μιλάνου ήταν οι πρώτοι που πραγματοποίησαν τυχαιοποιημένες μελέτες προοπτικής και μέσα απ' αυτές οδηγήθηκαν σε συμπεράσματα υπέρ της συντηρητικής αντιμετώπισης ενώ ο Fisher εξέφρασε την άποψη ότι στον καρκίνο του μαστού υπάρχουν παράγοντες στον ξενιστή που επηρεάζουν τη μεταστατική εξέλιξη της νόσου και ότι οι λεμφαδένες αποτελούν μάλλον δείκτη της βιολογικής συμπεριφοράς της νόσου και της σχέσης του όγκου με τον ξενιστή παρά φραγμό στην επέκτασή της. Όλες αυτές οι διαπιστώσεις οδήγησαν στις συντηρητικές χειρουργικές επεμβάσεις, οι οποίες με τη σύγχρονη εφαρμογή εξελιγμένων χημειοθεραπευτικών σχημάτων και τις προόδους στην ακτινοθεραπεία έχουν κερδίσει έδαφος σε βάρος των ριζικών-ακρωτηριαστικών χειρουργικών θεραπειών.

Στο κατώφλι του 21ου αι., στις σύγχρονες δυτικές κοινωνίες οι περιβαλλοντικές και κοινωνικές μεταβολές καθώς και η ευαισθητοποίηση των



γυναικών απέναντι στη νόσο μαζί με τις επαναστατικές εξελίξεις στη διάγνωση έχουν συμβάλει στην αύξηση των καταγεγραμμένων περιστατικών ώστε ο καρκίνος του μαστού σήμερα να αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας. Σύγχρονες επιδημιολογικές μελέτες μας δείχνουν ότι μία στις οκτώ γυναίκες θα έρθει αντιμέτωπη με τη νόσο. Ταυτόχρονα όμως οι εξελίξεις στην έρευνα, στη διαγνωστική προσέγγιση και στη θεραπευτική αντιμετώπιση που επιτελούνται στα ερευνητικά ινστιτούτα και στα ιατρικά κέντρα παγκοσμίως από επιστήμονες διαφόρων ειδικοτήτων είναι αδύνατον να απαριθμηθούν. Η αποτελεσματικότερη πρόληψη, η πρόωπη διάγνωση, με βασικό παράγοντα τη γενικευμένη εφαρμογή της μαστογραφίας καθώς και της ψηφιακής και μαγνητική μαστογραφίας, οι εξελίξεις στη χειρουργική και την ακτινοθεραπεία και γενικότερα στην επιστήμη της ογκολογίας μας οδηγούν σε νέα πεδία αντιμετώπισης της νόσου. Η κατανόηση του ρόλου των ογκογονιδίων και των ειδικών μεταλλάξεων που είναι ικανές και αναγκαίες για την εμφάνιση και τη λειτουργία των καρκινικών κυττάρων έχουν σαν αποτέλεσμα οι στοχευμένες θεραπείες με στόχους τις μοριακές εκφράσεις των γονιδίων, όπως το Her 2/Neu κ.ά. να είναι καθημερινή κλινική πράξη. Με τη μελέτη του DNA και του γενετικού σχεδιαγράμματος (προφίλ) μπορούμε να ξεχωρίσουμε με μεγαλύτερη σαφήνεια τις γυναίκες υψηλού κινδύνου. Οι πρόοδοι στη νανοτεχνολογία μας εφοδιάζει με φάρμακα που είναι λιγότερο τοξικά και περισσότερο αποτελεσματικά.

Σήμερα γνωρίζουμε ότι ο καρκίνος του μαστού είναι ένα μεγάλο βιολογικό πρόβλημα αλλά ταυτόχρονα ελπίζουμε η θεραπεία του θα μας επιτρέψει να έχουμε θεαματικά αποτελέσματα χωρίς να καταφεύγουμε να «τραυματίζουμε» ένα όργανο τόσο σημαντικό για τη γυναικεία υπόσταση όπως είναι ο μαστός.

2. Εμβρυολογική ανάπτυξη του μαστού

Η πρώτη καταβολή των μαστών παρουσιάζεται την 6η εμβρυϊκή εβδομάδα σαν μία πάχυνση του έξω βλαστικού δέρματος, που εκτείνεται μεταξύ της καταβολής των άνω και κάτω άκρων. Η πάχυνση αυτή φέρεται τοξοειδώς από την μασχαλιαία κοιλότητα προς τη βουβωνική χώρα και ονομάζεται μαστική ακρολοφία (milk line). Μέχρι την 9η εμβρυϊκή εβδομάδα έχουν ατροφήσει τα 2/3 αυτής, ενώ από το υπόλοιπο τμήμα αυτής που βρίσκεται στη θωρακική περιοχή τη 10η εβδομάδα αναπτύσσονται 5-6 οζίδια, τα μαστικά λοφίδια, που αποτελούν τις καταβολές των μαστών. Κατά τον 5ο εμ-



βρυϊκό μήνα από κάθε καταβολή αναπτύσσονται 15-20 συμπαγείς δοκίδες που καταδύονται στο υποκείμενο χόριο, σχηματίζοντας έτσι τους γαλακτοφόρους εκφορητικούς πόρους. Αυτοί στη συνέχεια διευρύνονται και διακλαδιζόμενοι σχηματίζουν τους λοβούς. Κατά τον 7ο ή 8ο μήνα οι πόροι κοιλαινόμενοι αποκτούν αυλό και μεταξύ της 32ης-40ης εβδομάδας αναπτύσσονται οι διακλαδιζόμενες λοβιοκυψελιδικές δομές. Η θηλή του μαστού διαπλάσσεται από την ελεύθερη επιφάνεια της αρχικής καταβολής. Προς το τέλος της κύησης ο εμβρυϊκός μαστός με την επίδραση μητρικών και πλακουντιακών ορμονών εμφάνίζει υπερπλασία πόρων και εκκριτικούς χαρακτήρες^{7,8,9}.

Η Bcl2 πρωτεΐνη εκφράζεται έντονα στο επιθήλιο και στο στρώμα του εμβρυϊκού μαστού, ενώ δεν εκφράζεται μετά τη γέννηση ή στον ώριμο μαστό, ενισχύοντας τη σπουδαιότητα της αναστολής της απόπτωσης στη μορφογένεση του εμβρυϊκού μαστού⁹.

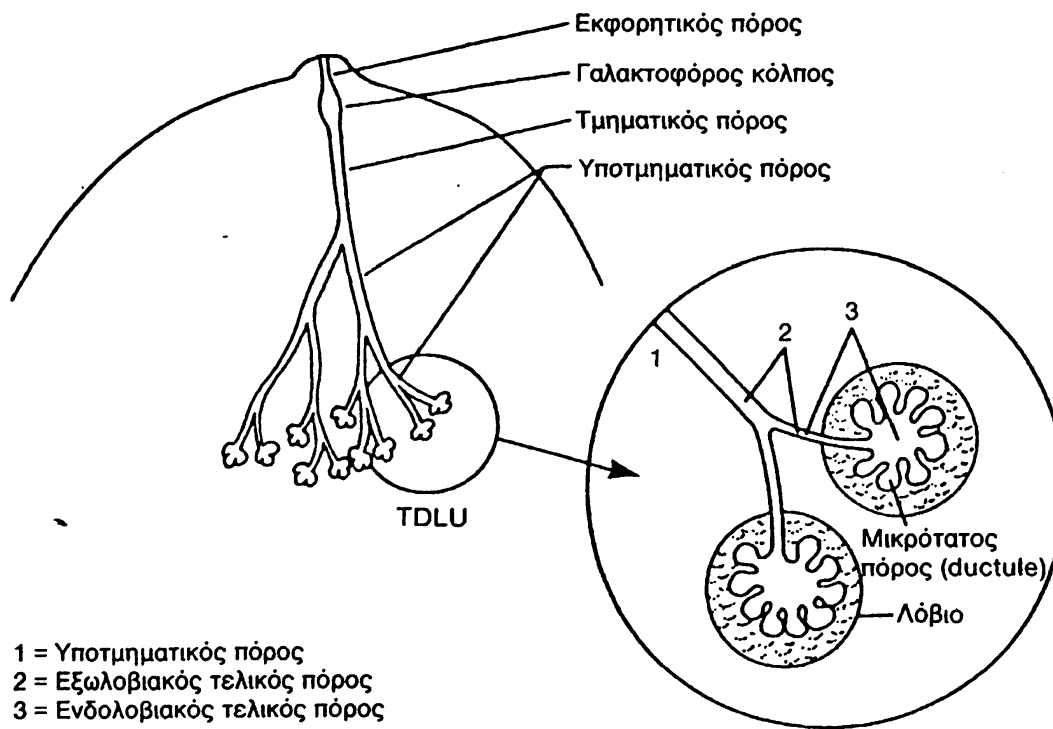
3. Στοιχεία ιστολογίας του μαζικού αδένου

Η ιστολογία του μαζικού αδένου δεν είναι σαφώς καθορισμένη και υπάρχει γενικότερα αδυναμία περιγραφής φυσιολογικού προτύπου του γυναικείου μαστού, κυρίως μετά την εφηβεία, γιατί με την επίδραση γενετικών, ορμονικών, μεταβολικών, αυξητικών, νευρογενών παραγόντων και κυτοκινών, ο μαστός υφίσταται συνεχείς μορφολογικές μεταβολές κατά τους καταμήνιους κύκλους, την εμμηνόπαυση, την κύηση και τη γαλουχία⁹.

Ο μαζικός αδένου αποτελείται από 15-20 λοβούς που δεν συνδέονται μεταξύ τους, εκβάλλουν στη θηλή με ξεχωριστό κυρίως πόρο και διαχωρίζονται μεταξύ τους από συνδετικό και λιπώδη ιστό. Κάθε λοβός χωρίζεται σε πολλά λοβία που αποτελούν τη βασική δομική μονάδα του μαστού, την τελική πορολοβιακή μονάδα – Terminal Duct-Lobular Unit: TDLU (Εικ. 1). Κάθε TDLU αποτελείται από τον τελικό λοβιακό πόρο, που διαιρείται σε εξωλοβιακό και ενδολοβιακό τμήμα και τα τυφλά πορίδια, που αποτελούν τις πολλαπλές τελικές-τυφλές διακλαδώσεις. Στον εκκρίνοντα (γαλουχούντα) μαστό σε κάθε λοβίο αναπτύσσονται 10-100 αδενοκυψέλες από υπερπλασία των κυττάρων του ενδολοβιακού πόρου. Στον ώριμο μαστό δεν υπάρχουν αδενοκυψέλες.

Το σύστημα των μεγάλων πόρων αποτελείται από 15-20 γαλακτοφόρους πόρους, έναν για κάθε λοβό, μήκους 2-4,5 εκ., που εκβάλλουν στη θηλή με ξεχωριστό στόμιο, διαμέτρου 0,2-0,5 εκ. Κάτω από την θηλή οι γαλακτοφόροι πόροι διευρύνονται και σχηματίζουν τις ληκύθους που κατά την γα-





Εικόνα 1. Μονάδα τελικού πόρου-λοβίου (TDLU: Terminal duct-lobular unit) ή τελική πορολοβιακή μονάδα.

λουχία χρησιμεύουν σαν αποθήκες γάλακτος. Οι λήκυθοι επενδύονται εν μέρει από πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο, το οποίο μεταπίπτει στο αδενικό επιθήλιο των πόρων.

Το στρώμα είναι εξειδικευμένο, ορμονοεξαρτώμενο πλούσιο σε λιπώδη ιστό. Γύρω από τους πόρους αποτελείται από πυκνό συνδετικό ιστό, πλούσιο σε κολλαγόνο και ελαστικές ίνες, ενώ μέσα στα λοβία αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό με λεπτές κολλαγόνες ίνες και πλούσιο σε όξινης βλεννοπολυσακχαρίτες.

Στην περιοχή της θηλής υπάρχουν λείες μυϊκές ίνες κατά μήκος των γαλακτοφόρων πόρων και γύρω από την θηλή. Στη θηλαία άλω υπάρχουν οι αδένες του Montgomery με υφή τροποποιημένων εκκρινών αδένων καθώς και άφθονοι σμηγματογόνοι αδένες. Η θηλή και η θηλαία άλω δεν εμφανίζουν τριχοθηλάκια. Ινώδεις ταινίες εκτείνονται από το χόριο του υπερκείμενου δέρματος στο μαστό, σχηματίζοντας τους συνδέσμους του Cooper, οι οποίοι συγκρατούν τον μαστό με το δέρμα και τη θηλή.

Στο επιθήλιο των TDLU και των άκρων αδενοκυψελών διακρίνονται δύο τύποι κυττάρων: 1) τα κυλινδρικά, εκκριτικά, αδενικά κύτταρα Α προς τον αυλό, 2) τα βασικά μυοεπιθηλιακά κύτταρα προς τη βασική μεμβρά-



νη. Σε πρόσφατες μελέτες διακρίνονται και 3) τα προγονικά κύτταρα, από τα οποία φαίνεται ότι προέρχονται τα αδενικά και τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα.

Τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα έχουν έντονη συσταλτική ικανότητα και παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων και στην πολυπλοκότητα αυτών. Είναι ελαττωμένα στις προκαρκινωματώδεις αλλοιώσεις και απουσιάζουν στα διηθητικά καρκινώματα. Έχουν ογκοκατασταλτικό χαρακτήρα αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό και την αγγειογένεση και αυξάνοντας την απόπτωση.

4. Χειρουργική Ανατομική

4.α. Μαστός

Ο μαστός^{10,13-16}, αμφοτερόπλευρο όργανο, βρίσκεται στην πρόσθια επιφάνεια του πρόσθιου θωρακικού τοιχώματος και εκτείνεται μεταξύ της 2ης και της 6ης-7ης πλευράς και από το έξω όριο του στέρνου μέχρι σχεδόν τη μέση μασχαλιαία γραμμή. Το άνω-έξω τμήμα επεκτείνεται προς τα άνω-έξω στην κατεύθυνση της μασχάλης σχηματίζοντας την ουρά του μαστού (Spence). Η εν τω βάθει επιφάνεια του μαστού βρίσκεται πάνω στον μείζονα θωρακικό, πρόσθιο οδοντωτό και έξω λοξό μυ και στην απονεύρωσή του καθώς αυτή σχηματίζει το πρόσθιο πέταλο της θήκης του ορθού κοιλιακού μυός. Μεταξύ του μαστού και της εν τω βάθει θωρακικής περιτονίας παρεμβάλλεται χαλαρός συνδετικός ιστός που αποτελεί τον λεγόμενο οπισθομαστικό χώρο και επιτρέπει στον μαστό να έχει κάποια δυνατότητα κίνησης πάνω στην εν τω βάθει θωρακική περιτονία. Το βάρος του μαστού κυμαίνεται από 150-200 gr, ενώ στη γαλουχία μπορεί να φτάσει 400-500 gr. Η πρόσθια επιφάνεια του μαστού καλύπτεται από δέρμα και φέρει στο κέντρο και λίγο πιο κάτω τη θηλή: κωνικό ή κυλινδρικό έπαρμα του δέρματος που εμφανίζει ρωγμές με τα στόμια των γαλακτοφόρων πόρων στον πυθμένα τους. Η θηλή περιβάλλεται από κυλινδρική περιοχή διαμέτρου 3-4 εκ. την θηλαία άλω. Και τα δύο μορφώματα είναι ροδόχροα, τουλάχιστον στα νέα άτομα. Από καθαρά πρακτική πλευρά ο μαστός διακρίνεται σε τέσσερα τεταρτημόρια (άνω έξω και έσω και κάτω έξω και έσω) και μία κεντρική περιοχή που εκτείνεται 1 εκ. από την θηλαία άλω. Το άνω-έξω τεταρτημόριο περιέχει τη μεγαλύτερη ποσότητα αδενικού ιστού, γεγονός που ενδεχομένως να ευθύνεται για τη συχνότερη εντόπιση του καρκίνου στη θέση αυτή.



4.β. Οι περιτονίες του θώρακα

Στη χειρουργική του μαστού διακρίνουμε τις εξής περιτονίες¹²:

- α) την υποδόρια περιτονία που είναι διπέταλη και περιβάλλει σαν έλυτρο τον μαζικό αδένα. Προς τα πάνω συνεχίζει με την υποδόρια περιτονία του τραχήλου και προς τα κάτω με την ομώνυμη περιτονία της κοιλιάς
- β) την περιτονία του μείζονα θωρακικού μυός που περιβάλλει τον ομώνυμο μυ, και
- γ) την περιτονία του ελάσσονα θωρακικού μυός που προς τα πάνω αποτελείται από παχύ ινώδες πέταλο (κλειδοθωρακική περιτονία) και σκεπάζει τα μασχάλια αγγεία και το βραχιόνιο πλέγμα ενώ προς το κάτω χείλος του ελάσσονα θωρακικού μυός τα δύο πέταλα της περιτονίας αυτής ενώνονται και προσφύονται στη μασχάλια περιτονία και στο δέρμα της μασχάλης.

4.γ. Μύες και νεύρα

Οι μύες που ενέχονται στη χειρουργική του μαστού είναι^{12,13}:

- α) Ο μείζονας θωρακικός μυς που εκφύεται από τα δύο έσω τριτημόρια της κλείδας (κλειδική μοίρα), την πρόσθια επιφάνεια του στέρνου και το 2ο-δο πλευρικό χόνδρο (στερνοπλευρική μοίρα) και από το πρόσθιο πέταλο της θήκης του ορθού κοιλιακού μυός (κοιλιακή μοίρα) και καταφύεται στην ακρολοφία του μείζονος βραχιονίου ογκώματος και νευρώνεται από τα έξω πρόσθια θωρακικά νεύρα. Οι προαναφερθείσες εκφυτικές μοίρες έχουν μεγάλη σημασία τόσο στην τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή όσο και στην αποκατάσταση του μαστού όταν χρησιμοποιούνται κρημνοί από τον μυ αυτό¹³.
- β) Ο ελάσσονας θωρακικός μυς. Βρίσκεται κάτω από τον μείζονα θωρακικό μυ, εκφύεται από την κορακοειδή απόφυση της ωμοπλάτης. Νευρώνεται από τα έσω πρόσθια θωρακικά νεύρα.
- γ) Ο πρόσθιος οδοντωτός μυς. Εκφύεται από τις 9 πρώτες πλευρές και καταφύεται στο σπονδυλικό χείλος της ωμοπλάτης. Νευρώνεται από το μακρύ θωρακικό νεύρο του Bell που η παράλυσή του καταλήγει στην «πτερυγοειδή ωμοπλάτη»¹³.
- δ) Ο πλατύς ραχιαίος μυς, εμφανίζει σπονδυλική, λαγόνια και πλευρική μοίρα, καταφύεται στον πυθμένα της αύλακας του δικέφαλου βραχιονίου μυός και νευρώνεται από το θωρακοραχιαίο νεύρο που συνοδεύει την ομώνυμο αρτηρία στο οπίσθιο τοίχωμα της μασχάλης. Ο μυς αυτός στη μαστεκτομή πρέπει να γίνεται προσπάθεια να διατηρείται τόσο για λόγους



λειτουργικότητας όσο και για λόγους μελλοντικής αποκατάστασης¹³.

ε) Τέλος είναι ο υποπλάτιος μυς που νευρώνεται από τα υποπλάτια νεύρα και καταφύεται στο έλασσον βραχιόνιο όγκωμα και ο έξω λοξός κοιλιακός μυς που σηματοδοτεί τα κάτω όρια της μαστεκτομής και έχει σημασία στην πλαστική αποκατάσταση.

Ο μαστός νευρώνεται από τον έξω και έσω μαστικούς κλάδους του 2ου του μεσοπλεύριου νεύρου.

4.δ. Αγγεία

Τρεις είναι οι κύριες αρτηρίες του μαστού^{12,13}: 1) οι διατιτραίνοντες κλάδοι της έσω μαστικής, που από το 1ο, 2ο, 3ο και 4ο μεσοπλεύριο διάστημα πλάγια του στέρνου διαπερνούν τον μείζονα θωρακικό μυ για να φτάσουν στο μαστό (50% της αιμάτωσης), 2) η πλάγια θωρακική αρτηρία, κλάδος της μασχαλιαίας αρτηρίας που πορεύεται μπροστά από το νεύρο του Bell και 3) ο έσω κλάδος της ακρωμιοθωρακικής αρτηρίας, κλάδου επίσης της μασχαλιαίας αρτηρίας που πορεύεται μεταξύ του μείζονα και ελάσσονα θωρακικού μυός. Διακρίνουμε επίσης τις οπίσθιες μεσοπλεύριες αρτηρίες (τοιχικοί κλάδοι της θωρακικής αορτής), τους πλάγιους διατιτραίνοντες κλάδους των μεσοπλεύριων αγγείων και κλάδους της υποπλάτιας αρτηρίας. Οι φλέβες του μαστού διακρίνονται στο επιπολής και το εν τω βάθει φλεβικό πλέγμα⁸. Οι επιπολής φλέβες διατείνονται στην εγκυμοσύνη και σε ευμεγέθη νεοπλάσματα. Οι εν τω βάθει φλέβες έχουν ανάλογη πορεία μ' αυτήν των αρτηριών. 1) Μέσω των πρόσθιων διατιτραίνουσων φλεβών εκβάλλουν στην έσω μαστική φλέβα, 2) με πολλαπλούς κλάδους εκβάλλουν στη μασχαλιαία φλέβα, 3) με τους οπίσθιους αναστομωτικούς κλάδους στις μεσοπλεύριες φλέβες οι οποίες επικοινωνούν με τις σπονδυλικές φλέβες.

Η πορεία του φλεβικού δικτύου έχει μεγάλη σημασία στην κατανόηση των διαφόρων μεταστατικών εντοπίσεων του καρκίνου του μαστού.

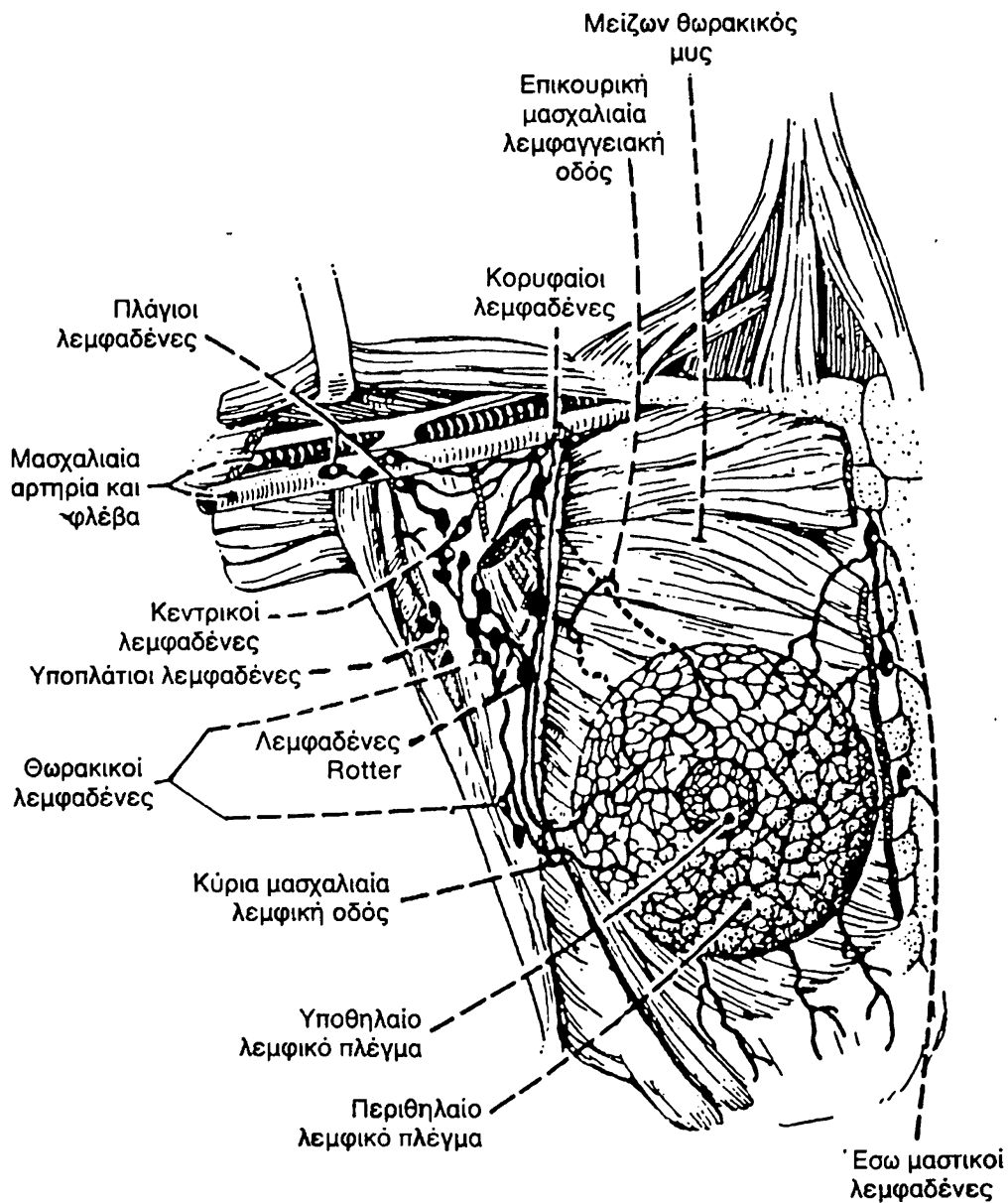
4.ε. Λεμφικό δίκτυο

Το 75% της λέμφου και περισσότερο παροχετεύεται στους μασχαλιαίους λεμφαδένες το 20-23% στους έσω μαστικούς και 21% στους οπίσθιους μεσοπλεύριους λεμφαδένες^{12,13} (Εικ. 2).

Το σύστημα της λεμφικής αποχέτευσης του μαστού παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της σχέσης του με τη διασπορά του καρκίνου.

Τα λεμφαγγεία του μαστού υποδέχονται κατ' αρχάς τη λέμφο από τους μεσοκυττάριους χώρους του αδένου διαμορφώνοντας το δίκτυο της λοβιακής μονάδας και του συστήματος των μεγάλων εκφορητικών πόρων. Το δίκτυο





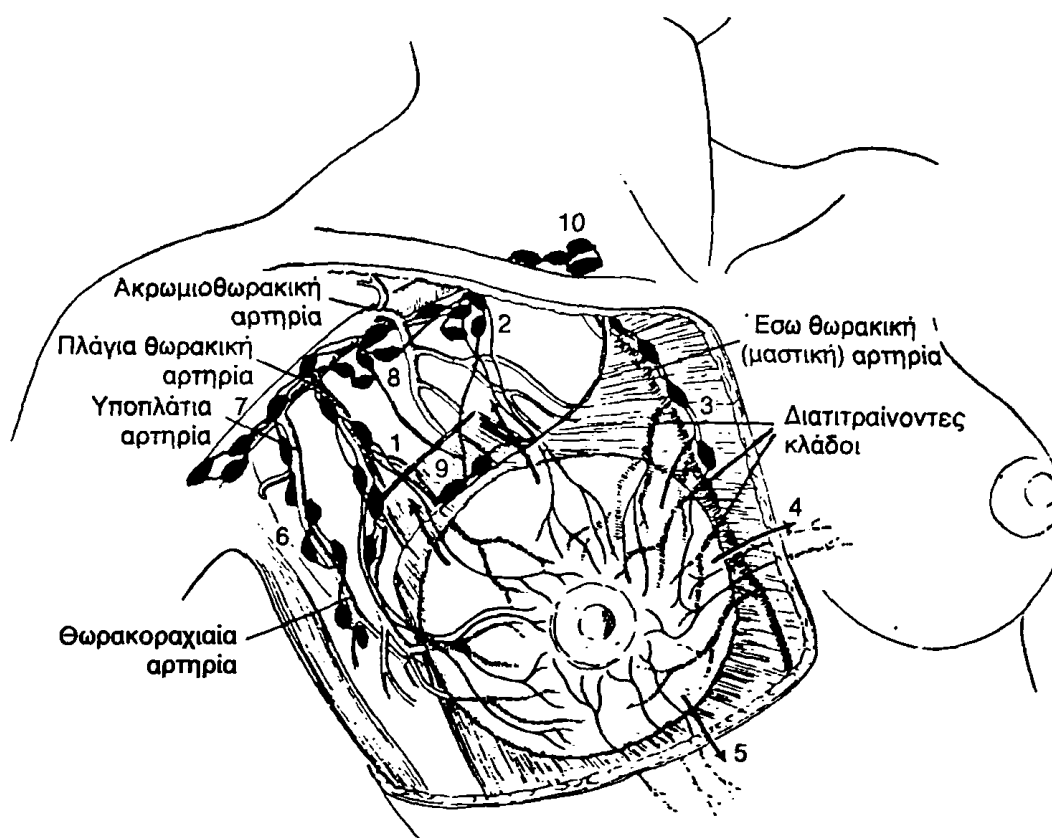
Εικόνα 2. Οι μασχαλιαίοι λεμφαδένες και η λεμφική παροχέτευση του μαστού.

αυτό απάγει τη λέμφο α) στα επιπολής λεμφαγγεία του δέρματος και β) στα εν τω βάθει λεμφαγγεία της περιτονίας και μέσω αυτών στους επιχώριους λεμφαδένες, μασχαλιαίους, έσω μαστικούς και οπίσθιους μεσοπλεύριους λεμφαδένες.

Οι μασχαλιαίοι λεμφαδένες 30-40 τον αριθμό διακρίνονται τοπογραφικά σε πέντε (5) ομάδες:

1. Πρόσθιοι θωρακικοί (4-5), 2. οπίσθιοι υποπλάτιοι, 3. κεντρικοί, 4. κορυφαιοί υποκλείδιοι λεμφαδένες, 5. πλάγιοι λεμφαδένες (Εικ. 3).



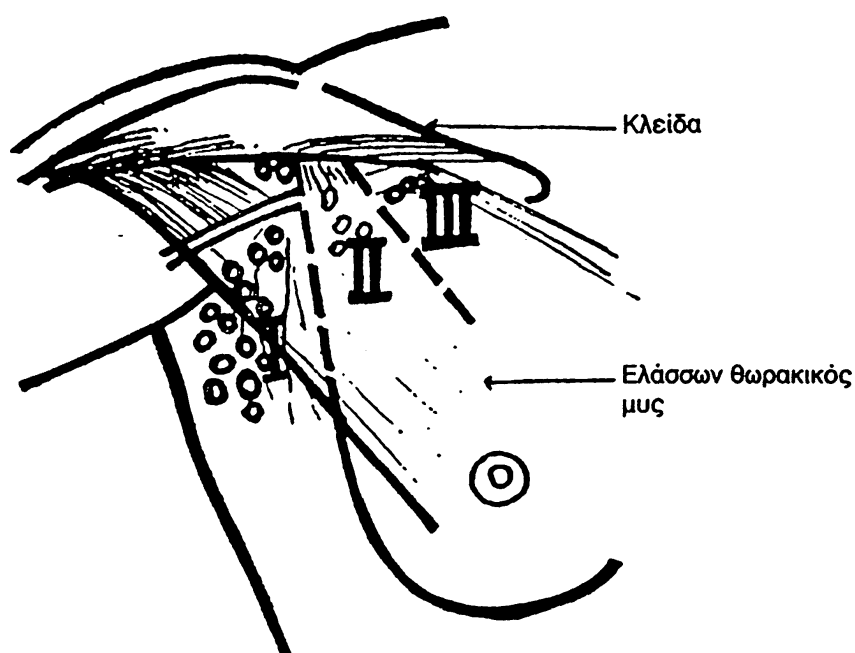


Εικόνα 3. Λεμφαγγειακή παροχέτευση (λεμφαδένες και λεμφαγγεία) και αρτηρίες του μαστού. 1. Θωρακικοί λεμφαδένες. 2. Κορυφαίοι λεμφαδένες. 3. Έσω μαστικοί λεμφαδένες. 4. Λεμφική ροή προς τον άλλο μαστό. 5. Λεμφική ροή προς το πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα. 6. Υποπλάτιοι λεμφαδένες. 7. Λεμφαδένες μασχαλιαίας φλέβας (πλάγιοι). 8. Κεντρικοί λεμφαδένες. 9. Αδένες Rotter. 10. Υπερκλειδίοι λεμφαδένες.

Οι κορυφαίοι λεμφαδένες βρίσκονται μεταξύ της κλείδας και του ελάσσονα θωρακικού μυός, οι κεντρικοί στη βάση της μασχάλης πίσω από τον ελάσσονα θωρακικό μυ, οι πρόσθιοι θωρακικοί κατά μήκος του κάτω ορίου του ελάσσονα θωρακικού μυός, οι οπίσθιοι στην πορεία των υποπλάτιων αγγείων και οι πλάγιοι κατά μήκος της μασχαλιαίας φλέβας.

Οι μασχαλίοι λεμφαδένες σε σχέση με το άνω-έσω και το κάτω-έξω χείλος του ελάσσονα θωρακικού μυός διακρίνονται σε τρία επίπεδα, που έχουν μεγάλη σημασία στη χειρουργική του μαστού και στην παθολογοανατομική εξέταση του χειρουργικού παρασκευάσματος. Το I επίπεδο βρίσκεται κάτω από το έξω χείλος του ελάσσονα θωρακικού μυός, μεταξύ του έξω και έσω χείλους βρίσκεται το II επίπεδο και πάνω από το έσω χείλος του ελάσσονα θωρακικού μυός βρίσκεται το III επίπεδο (Εικ. 4).





Εικόνα 4. Τα επίπεδα I, II και III των μασχαλιαίων λεμφαδένων.

Λεμφαδένες υπάρχουν μεταξύ του μείζονα και ελάσσονα θωρακικού μυός (λεμφαδένες του Rotter)¹⁶ που δέχονται λέμφο από διατιτραίνοντες κλάδους των θωρακικών μυών και απάγουν την λέμφο στους μασχαλιαίους λεμφαδένες.

4.στ. Μασχάλη

Η ανατομία της μασχάλης¹⁷ έχει μεγάλη σημασία στη χειρουργική του μαστού. Η μασχάλη ανατομικά είναι μια περιοχή πυραμοειδούς σχήματος που παρουσιάζει κορυφή, βάση και τέσσερις πλευρές. Η βάση είναι η μασχαλική κοιλότητα (αμφίκοιλη) και σχηματίζεται από την μασχαλιαία περιτονία. Το πρόσθιο τοίχωμα σχηματίζεται από τον μείζονα και ελάσσονα θωρακικό μυ και τις περιτονίες τους. Το οπίσθιο τοίχωμα σχηματίζεται από την ωμοπλάτη και το μυϊκό σύστημα της ωμοπλάτης. Το έσω τοίχωμα σχηματίζεται από το θωρακικό τοίχωμα και τον πρόσθιο οδοντωτό μυ και την περιτονία του. Το έξω τοίχωμα διαμορφώνεται από τη σύγκλιση των τενόντων των μυών που διαμορφώνουν την πρόσθια και οπίσθια μασχαλιαία πτυχή (μείζων θωρακικός και πλατύς ραχιαίος). Η κορυφή είναι τυφλή και σχηματίζεται από τη σύγκλιση της κλείδας, της πρώτης πλευράς και της ωμοπλάτης.

Το κύριο περιεχόμενο της μασχάλης είναι λεμφαδένες, λίπος και φυσικό μεγάλο ανατομικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν από χειρουργική άποψη



τα αγγειακά και νευρικά στελέχη. Πρόκειται για τη μασχαλιαία αρτηρία και τους κλάδους της, τη μασχαλιαία φλέβα και τους κλάδους της και τους κλάδους του βραχιονίου πλέγματος που βρίσκεται μπροστά και κάτω από τη μασχαλιαία αρτηρία.

5. Στοιχεία φυσιολογίας του μαστού

Ο γυναικείος μαστός, κυρίως μετά την εφηβεία, με την επίδραση ορμονικών, μεταβολικών, αυξητικών, γενετικών και νευρογενών παραγόντων υφίσταται λειτουργικές μεταβολές κατά τους καταμήνιους κύκλους, την κύηση, τη γαλουχία και την εμμηνόπαυση¹⁸⁻²⁰.

Με την **έναρξη της εφηβείας**, που είναι γενετικά προγραμματισμένη, εκκρίνεται κατά ώσεις από τον υποθάλαμο η ορμόνη GnRH (gonadotropin releasing hormone) που με τη σειρά της ρυθμίζει την έκκριση των γοναδοτροπινών που ελέγχουν την ωθητική λειτουργία και την απελευθέρωση των γοναδικών στεροειδών, η δράση των οποίων εκφράζεται και στον μαστό με την επαγωγή και ρύθμιση ειδικών υποδοχέων. Εκτός των γοναδικών στεροειδών η λειτουργία του μαστού ελέγχεται από την υπόφυση μέσω της προλακτίνης και της αυξητικής ορμόνης και από τον επινεφριδιακό φλοιό μέσω της κορτιζόλης και των επινεφριδιακών ανδρογόνων (του οποίου η λειτουργία επίσης ελέγχεται από την υπόφυση μέσω της φλοιοτρόπου ορμόνης ACTH).

Κατά τη **αναπαραγωγική περίοδο**, εκτός της εγκυμοσύνης, στη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου παρατηρούνται μεταβολές που αφορούν την αύξηση του μεγέθους των εκφορητικών πόρων και οι οποίες εξελίσσονται στη διάρκεια της θυλακικής και περιωορρηκτικής φάσης, μεγιστοποιούνται κατά την όψιμη ωχρινική φάση και υποστρέφουν με την έναρξη της εμμηνορρυσίας.

Κατά την **εγκυμοσύνη** ο μαστός υφίσταται σημαντικές αλλαγές. Στο α' τρίμηνο της κύησης οι κυψελίδες των λοβιδίων αναπτύσσονται και διαφοροποιούνται με αποτέλεσμα σταδιακά ο μαζικός αδένας να αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του μαστού σε βάρος του λιπώδους ιστού. Οι κυψελίδες περιβάλλονται από πυκνό δίκτυο μυοεπιθηλιακών κυττάρων και παρατηρείται αυξημένη αγγείωση, παράλληλη διήθηση του διάμεσου ιστού από λεμφοκύτταρα και πλασμοκύτταρα (πηγή ανοσφαιρινών του γάλακτος). Οι μεταβολές αυτές επιτυγχάνονται με τη δράση της προλακτίνης και του πλακουντιακού γαλακτογόνου, ενώ ο ρόλος των οιστρογόνων είναι λιγότερο σημαντικός. Η προγεστερόνη συμμετέχει στην ανάπτυξη και διαφοροποίηση των κυψελίδων, η



κύρια όμως δράση της έγκειται στον ανταγωνισμό της δράσης της προλακτίνης· η δε κορτιζόλη επαυξάνει τη δράση της προλακτίνης. Στο β' τρίμηνο της κύησης αρχίζει η εκκριτική δραστηριότητα των επιθηλιακών κυττάρων των κυψελίδων που επαυξάνεται ακόμη περισσότερο στο γ' τρίμηνο στα οποία εκτός των άλλων παρατηρείται αλλαγή στη σύσταση τους γάλακτος με αύξηση της παραγωγής λακτόζης, πρωτεϊνών και ανοσοσφαιρινών.

Κατά την **γαλουχία**, αμέσως μετά τον τοκετό παρατηρείται απότομη πτώση των επιπέδων του πλακουντιακού γαλακτογόνου, ενώ η προγεστερόνη μειώνεται στα προ της εγκυμοσύνης επίπεδα. Τα οιστρογόνα φτάνουν σε βασικά επίπεδα την 5η ημέρα μετά τον τοκετό και η προλακτίνη εμφανίζει σταδιακή πτώση μέχρι την 14η ημέρα. Η πτώση της προγεστερόνης είναι πιθανότατα το σημαντικότερο γεγονός για την έναρξη παραγωγής γάλακτος, ενώ η προλακτίνη του πλάσματος είναι επαρκής για την παραγωγή του γάλακτος. Τη δράση της προλακτίνης ενισχύει η κορτιζόνη, ενώ χορήγηση ανταγωνιστών της, όπως η βρωμοκρυσπίνη, μπορεί να καταστείλει τη γαλουχία. Επίσης η οξυτοκίνη, που εκκρίνεται από την υπόφυση προκαλεί σύσπαση των μυοεπιθηλιακών κυττάρων. Παραγωγή γάλακτος μπορεί να παρατηρηθεί και σε άτοκες γυναίκες καθώς και σε άνδρες με παρόμοια ερεθίσματα στη θηλή, ενώ γαλουχία έχει παρατηρηθεί σε γυναίκες με χαμηλά επίπεδα προλακτίνης. Στην παραγωγή του γάλακτος ενέχονται 4 μηχανισμοί: α) εξωκύττωση, β) απελευθέρωση λιπιδίων, γ) έκκριση μονοσθενών ιόντων και ύδατος στον αυλό, δ) μεταφορά ανοσοσφαιρινών (IgA) με ειδικούς υποδοχείς από την κυκλοφορία στο εσωτερικό του κυττάρου ατόπου στη συνέχεια εκκρίνονται στον αυλό.

Κατά την **εμμηνόπαυση**, από την έκπτωση της ωθητικής λειτουργίας και τη μείωση των επιπέδων των οιστρογόνων και της προγεστερόνης παρατηρείται μείωση του αριθμού και του μεγέθους των κυψελίδων και ατροφία των εκφορητικών πόρων και των λοβιδίων. Με την πάροδο του χρόνου ο όγκος του μαστού αντικαθίσταται με λιπώδη και συνδετικό ιστό και αλλοιώνεται το σχήμα και η δομή του.

Στον άνδρα ο μαστός δεν δέχεται τις ορμονικές επιδράσεις της γυναίκας και έτσι παραμένει ατροφικός. Κατά την εφηβεία μπορεί να παραμείνει μικρή ως μέτριου βαθμού γυναικομαστία, αμφοτερόπλευρη και μερικές φορές ετερόπλευρη.

Ορμονικές επιδράσεις στον μαστό

Τα ωθητικά στεροειδή είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που οδηγούν στην αύξηση του μαστού. Στα θυλάκια της ωθήκης παράγονται τα αν-



δρογόνα: τεστοστερόνη και ανδροστενδιόνη. Αυτά στη συνέχεια διαχέονται στη κυκλοφορία ή με την επίδραση του ενζύμου αρωματάση μετατρέπονται σε οιστρόνη και οιστραδιόλη. Στην ωχρινική φάση παρατηρείται η παραγωγή προγεστερόνης που στη συνέχεια μετατρέπεται (στα κύτταρα της θήκης) σε ανδροστενδιόνη. Οιστρογόνα και προγεστερόνη ασκούν τη δράση τους συνδεόμενα με ειδικούς υποδοχείς. Το σύμπλεγμα ορμόνης-υποδοχέας μεταναστεύει στον πυρήνα του κυττάρου-στόχου, όπου συνδέεται με ειδικές θέσεις στο DNA με αποτέλεσμα την έκφραση της ορμονικής δράσης.

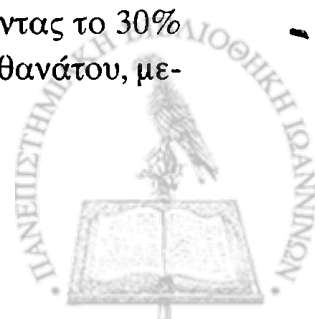
Η προλακτίνη, η αυξητική ορμόνη καθώς και το πλακουντιακό γαλακτογόνο εμφανίζουν σημαντικές ομοιότητες τόσο στη δομή όσο και στη δράση τους. Η έκκριση της προλακτίνης ελέγχεται από τον υποθάλαμο που μέσω της ντοπαμίνης ασκεί ανασταλτική δράση, ενώ τα οιστρογόνα αποτελούν διεγερτικούν ερέθισμα για την παραγωγή προλακτίνης. Η αυξητική ορμόνη (GH) ασκεί άμεσα αυξητική δράση στο μαστό (και έμμεση μέσω IGF-I) αλλά και αυξάνει την έκφραση των υποδοχέων των οιστρογόνων στον μαστό.

Η οξυτοκίνη, υποφυσιακή ορμόνη, δρα μέσω υποδοχέων που εντοπίζονται στη μήτρα και στον μαστό κατά και μετά τον τοκετό. Η δράση της διεγείρεται θετικά από την ντοπαμίνη και την επινεφρίνη ενώ αποκλειστές των α-αδρενεργικών και ντοπαμινεργικών υποδοχέων την καταστέλλουν. Η ρελαξίνη έχει σαν κύρια πηγή παραγωγής της το ωχρό σωματίο τόσο κατά την ωχρινική φάση του κύκλου όσο και καθ' όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Είναι μια ορμόνη που ανήκει στην οικογένεια των ορμονών ινσουλίνης/ρελαξίνης και περιλαμβάνει επίσης και τον IGF-I. Η ρελαξίνη μαζί με τα οιστρογόνα συμμετέχει στη διαφοροποίηση του μαστού. Το PTHrP (πεπτιδίο σχετιζόμενο με την παραθορμόνη) συνδέεται και ενεργοποιεί τον υποδοχέα της παραθορμόνης και προκαλεί υπερασβεστιαμία. Κατά τη γαλουχία προσαρμόζει τον μεταβολισμό του ασβεστίου και έτσι εξηγείται το γεγονός ότι γυναίκες με υποπαραθυρεοειδισμό άντεπεξέρχονται στις ανάγκες της γαλουχίας χωρίς να εμφανίσουν υποασβεστιαμία.

6. Επιδημιολογικά δεδομένα

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον συχνότερο τύπο κακοήθειας στις γυναίκες, με καταγεγραμμένες νέες περιπτώσεις, σε παγκόσμιο επίπεδο, 795.000 το 1990¹ και 1,15 εκτομύριο το 2002²².

Στις γυναίκες των αναπτυγμένων χωρών ο καρκίνος του μαστού είναι ο πρώτος σε συχνότητα εμφάνισης καρκίνος, αντιπροσωπεύοντας το 30% του συνόλου της κακοήθειας στις γυναίκες και η δεύτερη αιτία θανάτου, με-



τά τον καρκίνο του πνεύμονα, αντιπροσωπεύοντας το 15% του σύνολου των θανάτων από κακοήθεις νεοπλασίες^{23,24}.

Στην Ευρώπη το 2002 καταγράφησαν 361.000 νέα περιστατικά καρκίνου του μαστού (27,3% των κακοήθων νεοπλασιών στις γυναίκες), ενώ το 2004 τα νέα περιστατικά που καταγράφησαν ανήλθαν στις 370.000²⁵. Στις Η.Π.Α. το 2005 εμφανίστηκαν 211.240 νέες περιπτώσεις διηθητικού και 40.140 νέες περιπτώσεις μη διηθητικού καρκίνου του μαστού αντιπροσωπεύοντας το 31% του συνόλου των κακοήθων νεοπλασιών στον γυναικείο πληθυσμό. Την ίδια χρονιά από τη νόσο πέθαναν 40.140 γυναίκες (15% των θανάτων από καρκίνο στις γυναίκες)²⁶.

Οι υψηλότεροι δείκτες επίπτωσης της νόσου παρατηρούνται στην Ευρώπη και στη Β. Αμερική ενώ οι χαμηλότεροι παρατηρούνται στην Ασιατική ήπειρο²⁷. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε πληθυσμούς μεταναστών που μετακινήθηκαν από χώρες χαμηλού κινδύνου σε χώρες υψηλού κινδύνου και αντίστροφα, έδειξαν ότι οι δείκτες επίπτωσης της γενέτειρας χώρας προσεγγίζουν τους αντίστοιχους της χώρας υποδοχής μετά από 1-2 γενεές^{28,29}.

Στην Ελλάδα το 1978 καταγράφησαν 1.755 νέες περιπτώσεις με καρκίνο του μαστού (1.719 γυναίκες και 36 άντρες), αντιπροσωπεύοντας το 24,3% των καρκίνων στη γυναίκα και καταλαμβάνοντας την πρώτη θέση στους κακοήθεις όγκους της γυναίκας³⁰.

Σύμφωνα με στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας της Ελλάδας, την πενταετία 1981-85, η νόσος προκάλεσε τον θάνατο 5757 γυναικών, αριθμός που αντιστοιχεί στο 17% των θανάτων από καρκίνο στις γυναίκες³¹. Σήμερα, για την Ελλάδα, χρησιμοποιούνται οι εκτιμήσεις του I.A.R.C. (International Agency for Research on Cancer), στην Λυόν, το οποίο αξιοποιώντας δεδομένα του ελλαδικού χώρου και των γειτονικών χωρών, υπολογίζει κατά προσέγγιση τα νέα περιστατικά στις 4.500 και τους θανάτους στους 1.500 ετησίως.

Η επίπτωση του καρκίνου του μαστού αυξάνεται διαχρονικά στις περισσότερες χώρες και οι μεταβολές είναι συνήθως μεγαλύτερες εκεί όπου τα ποσοστά ήταν προηγουμένως μικρά³². Ετησίως τα ποσοστά της επίπτωσης αυξάνουν κατά 0,5%. Σύμφωνα μ' αυτόν τον αριθμό ανάπτυξης το 2010 αναμένεται να υπάρχουν περίπου 1,4-1,5 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις με καρκίνο του μαστού. Η αύξηση αυτή μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση των γνωστών παραγόντων κινδύνου και κατά ένα άλλο μέρος στην αύξηση του μέσου όρου ζωής και στην καλύτερη και προωμότερη διάγνωση³³. Η πρωι-



μότερη διάγνωση και οι βελτιωμένες θεραπευτικές παρεμβάσεις με τη σειρά τους οδηγούν στη μείωση της θνησιμότητας από καρκίνο¹⁴.

7. Αιτιολογική συσχέτιση του καρκίνου του μαστού

Ο καρκίνος του μαστού είναι μία πολυπαραγοντική νόσος. Οι περισσότεροι από τους παράγοντες κινδύνου που έχουν επισημανθεί δεν μπορούν να επηρεασθούν γι' αυτό και η πρωτογενής πρόληψη είναι δύσκολη έως αδύνατη ενώ το βάρος πέφτει στη δευτερογενή (έγκαιρη διάγνωση).

7.α. Φύλο

Είναι ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου, καθώς ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου στις γυναίκες είναι 100πλάσιος απ' ότι στους άνδρες. Πάντως η συχνότητα εμφάνισης του ΚΜ σε άνδρες με σύνδρομο Klinefelter (XXY) είναι 66 φορές μεγαλύτερη απ' αυτή του γενικού ανδρικού πληθυσμού³⁵.

7.β. Ηλικία

Υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ της επίπτωσης της νόσου και της ηλικίας στην οποία εμφανίζεται. Υπολογίζεται ότι το 80% των ΚΜ εμφανίζεται σε γυναίκες άνω των 45 ετών³⁶.

7.γ. Γενετικοί και οικογενειακοί παράγοντες κινδύνου – BRCA1 και BRCA2

Εκτιμάται ότι το 6-7% των περιπτώσεων του καρκίνου του μαστού οφείλεται σε κληρονομούμενες μεταλλάξεις γονιδίων³⁷. Τα μέχρι σήμερα γνωστά γονίδια που προδιαθέτουν για εμφάνιση καρκίνου του μαστού είναι:

- BRCA1-BRCA2: Οι μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 και BRCA2 ευθύνονται για το 85% περίπου των περιπτώσεων κληρονομικού καρκίνου του μαστού. Το γονίδιο BRCA1 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17 ενώ το γονίδιο BRCA2 στο χρωμόσωμα 13^{38,39}.
- p53: Μεταλλάξεις του p53, που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17, ευθύνονται για το σύνδρομο Li-Fraumeni (εμφάνιση σαρκώματος, λευχαιμίας/λεμφώματος, όγκου εγκεφάλου και επινεφριδίων, καρκίνος του μαστού).
- pTEN. Μεταλλάξεις του γονιδίου pTEN, που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 10, ευθύνονται για το σύνδρομο Cowden που χαρακτηρίζεται από εμφάνιση αμαρτωμάτων στο δέρμα και στους βλεννογόνους και καρκίνου στον μαστό, τον θυρεοειδή και στο ενδομήτριο.



- Το STK11 ευθύνεται για το σύνδρομο Petz-Jeugher που συνδυάζεται με εμφάνιση καρκίνου του μαστού σε μικρή ηλικία, το CHEK2 συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού όπως και το γονίδιο ATM (ataxia telangiectasia mutated).

Γενικά, γυναίκες υψηλού κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του μαστού με βάση το οικογενειακό ιστορικό είναι όσες αναφέρουν έναν ή περισσότερους πρώτου βαθμού συγγενείς με καρκίνο του μαστού πριν την εμμηνόπαυση, ή έναν πρώτου βαθμού συγγενή με αμφοτερόπλευρο καρκίνο του μαστού, ή πρώτου βαθμού άρρενα συγγενή με καρκίνο του μαστού και τέλος όσες αναφέρουν έναν ή περισσότερους πρώτου βαθμού συγγενείς με καρκίνο του μαστού και δεύτερο πρωτοπαθή καρκίνο, ιδιαίτερα των ωοθηκών⁴⁰.

7.δ. Ιστολογικοί παράγοντες κινδύνου

Αυξημένος κίνδυνος υφίσταται όταν σε προηγούμενη βιοψία του μαστού έχει τεθεί η διάγνωση διηθητικού ή μη διηθητικού καρκίνου ή άτυπη υπερπλασία, ή κυστικής νόσου^{41,42,43,44}.

Ο σχετικός κίνδυνος αυξάνει σημαντικά αν συνυπάρχουν άτυπη υπερπλασία με οικογενειακό ιστορικό και γίνεται ακόμη μεγαλύτερος στις περιπτώσεις προϋπάρχοντος καρκίνου⁴⁵.

Οι συνήθεις καλοήθεις μη υπερπλαστικές αλλοιώσεις, όπως οι ινοκυστικές αλλοιώσεις, το ινοαδένωμα, η απλή κύστη δεν συνδέονται με ιδιαίτερα αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού⁴⁶.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των πυκνών μαστογραφικών τύπων του μαστού και της αυξημένης συχνότητας εμφάνισης καρκίνου του μαστού⁴⁷.

7.ε. Ακτινοβολία – Ακτινοθεραπεία στο άνω μέρος του κορμού

Ο μαστός είναι ένα εξαιρετικά ακτινοευαίσθητο όργανο, ιδίως στη νεαρή ηλικία κατά την οποία και αναπτύσσεται. Ο κίνδυνος για την ανάπτυξη νεοπλασίας είναι συνάρτηση τόσο της δόσης όσο και του χρόνου έκθεσης στην ακτινοβολία. Δέκα με δεκαπέντε έτη, περίπου μετά από ακτινοθεραπεία στον κορμό νεαρών γυναικών (π.χ. για θεραπεία λεμφώματος Hodgkin) ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού αυξάνει σημαντικά. Σήμερα η κύρια αιτία έκθεσης του μαστού σε ακτινοβολία είναι η μαστογραφία. Όμως, η μικρή δόση ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται, η τεράστια βελτίωση των τεχνικών μέσων, η ακρίβεια στην στόχευση και η αναντίρρητη συμβολή της στη διάγνωση των παθήσεων του μαστού την καθιστούν πολύτιμο και σχετικά ασφαλές διαγνωστικό μέσο για τις γυναίκες άνω των 40 ετών. Στην ηλι-



κία μεταξύ 35-40 ετών η χρήση της θα πρέπει να περιορίζεται σε γυναίκες υψηλού κινδύνου⁴⁸. Επομένως, το ζήτημα δεν είναι αν η ακτινοβολία προκαλεί καρκινογένεση, αλλά το πως θα επιτευχθεί το μεγαλύτερο κλινικό όφελος από την εφαρμογή της για διαγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς, με μικρότερο κόστος για την υγεία της εξεταζόμενης.

7.στ. Άλλοι (ελάσσονες) παράγοντες κινδύνου

Ο κίνδυνος εμφάνισης του καρκίνου του μαστού αυξάνει όταν η εμμηναρχή^{49,50} είναι πρόωμη (πριν την ηλικία των 12 ετών) και όταν η εμμηνοπαυση είναι καθυστερημένη (μετά την ηλικία των 55 ετών)^{50,51}. Επίσης παράγοντας κινδύνου αποτελεί η ατεκνία και όταν η πρώτη τελειόμηνη τεκνοποίηση συμβαίνει μετά την ηλικία των 30 ετών^{50,52}.

Ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος και η παχυσαρκία εμφανίζουν θετική συσχέτιση με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού⁵³, όπως επίσης και η αυξημένη κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης. Η κατανάλωση περισσότερων των δύο αλκοολούχων ποτών ημερησίως αυξάνει κατά 40% τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου⁵⁴.

Ο κίνδυνος από τη χορήγηση συνδυασμού οιστρογόνου-προγεσταγόνου σαν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης καθώς και η χορήγηση μόνο οιστρογόνων δεν έχει τεκμηριωθεί και τα αποτελέσματα των πειραματικών και κλινικών μελετών είναι αντικρουόμενα⁵⁵.

Τέλος ο παρατεταμένος θηλασμός φαίνεται ότι ασκεί προστατευτική δράση έναντι της εμφάνισης της νόσου^{50,56}.

Παρότι δεκάδες χιλιάδες γυναικών έχουν συμμετάσχει για αρκετά χρόνια σε επιδημιολογικές μελέτες καρκίνου του μαστού, ακόμα και οι μεγάλες μελέτες πολλές φορές δίνουν διαφορετικά μεταξύ τους συμπεράσματα. Αυτό οφείλεται στις διαφορετικές μεθοδολογικές προσεγγίσεις, στις λανθασμένες επιλογές ομάδων ελέγχου, στα διαφορετικά επίπεδα στατιστικής σημαντικότητας που χρησιμοποιούνται. Έτσι, τα αποτελέσματα επιδημιολογικών αναλύσεων που αναφέρονται σε διάφορες ομάδες είναι καλύτερα να αντιμετωπίζονται ως υποθετικά, παρά ως οριστικά ευρήματα.

8. Αντιμετώπιση των γυναικών υψηλού κινδύνου

Τα έως σήμερα δεδομένα δεν είναι επαρκή για να καθοριστεί η στρατηγική διαδικασία α) για τον προσδιορισμό των γυναικών υψηλού κινδύνου και β) για την παρακολούθηση και αντιμετώπιση των γυναικών υψηλού κινδύνου.



Οι γενετικές εξετάσεις συνίσταται να πραγματοποιούνται μόνο σε γυναίκες που η ενδεδειγμένη μελέτη του οικογενειακού ιστορικού θέτει την υποψία κληρονομούμενου καρκίνου του μαστού, ενώ για τον προσδιορισμό της επικινδυνότητας χρησιμοποιούνται με σχετική εγκυρότητα διάφορα μοντέλα υπολογισμού όπως το μοντέλο του Gail, το μοντέλο του Claus και το μοντέλο BRCAPRO που χρησιμοποιείται σε ειδικές γενετικές κλινικές και δεν έχει εφαρμογή στην καθημερινή κλινική πράξη.

Οι γυναίκες υψηλού κινδύνου συνιστάται να ενημερώνονται πλήρως για την κατάστασή τους, να επιδεικνύουν αυξημένη επαγρύπνηση (αυτοεξέταση, τακτικός προληπτικός έλεγχος με κλινική εξέταση, απεικονιστικές εξετάσεις και κυτταρολογική εξέταση όταν υπάρχει έκπλυμα των πόρων) και να προσαρμόζουν τον τρόπο ζωής τους, αποφεύγοντας τους παράγοντες κινδύνου (π.χ. παχυσαρκία, οινόπνευμα, θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης, επιβαρυνμένο με ακτινοβολία περιβάλλον) και υιοθετώντας συνήθειες που μειώνουν τον κίνδυνο (π.χ. δίαιτα με λίγα λιπαρά, θηλασμός για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα). Τέλος συνιστάται να λάβουν χημειοπροφύλαξη με ταμοξιφαίνη ή ραλοξιφαίνη⁵⁷.

Σύμφωνα με το Cancer Genetics Studies Concortium Consensus Statement του 1997 για τον προληπτικό έλεγχο των γυναικών που είναι φορείς μεταλλάξεων των γονιδίων BRCA1 και BRCA2 συνιστάται η ακόλουθη στρατηγική:

- α) Αυτοεξέταση κάθε μήνα, μετά την ηλικία των 18 ετών.
- β) Κλινική εξέταση από την ηλικία των 25 ετών ή 10 έτη νωρίτερα από την ηλικία που διαγνώστηκε πρώτη φορά καρκίνος στην οικογένεια.
- γ) Απεικονιστικός έλεγχος μετά την ηλικία των 25 ετών (μαστογραφία μία φορά τον χρόνο και επικουρικά υπερηχογράφημα και μαγνητική τομογραφία).

Θεραπευτικά προτείνεται α) χημειοπροφύλαξη με χορήγηση ταμοξιφαίνης ή ραλοξιφαίνης, β) προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή (απλή ή υποδόρια μαστεκτομή). Η υποδόρια μαστεκτομή παρουσιάζει καλύτερο αισθητικό αποτέλεσμα καθώς διατηρείται το σύμπλεγμα της θηλής-θηλαίας άλω και το δέρμα του μαστού αλλά παρουσιάζει αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης μελλοντικής εστίας καρκίνου καθώς αφήνει υπόλειμμα μαζικού αδένου (5-10%). Σε κάθε περίπτωση όμως η μαστεκτομή ακολουθείται από πλαστική αποκατάσταση με προθέσεις σιλικόνης ή με χρήση ορθού κοιλιακού μυός με αισθητικά αποτελέσματα που αξιολογούνται πολύ καλά έως άριστα από το 80% των ασθενών⁵⁸.



Όμως οι προφυλακτικές χειρουργικές επεμβάσεις έχουν επιπτώσεις στην ποιότητα ζωής και τα μακροχρόνια ιατρικά και ψυχολογικά αποτελέσματα δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστά. Έτσι, οι σχετικές μ' αυτές αποφάσεις θα πρέπει να λαμβάνονται μετά από πλήρη, υπεύθυνη και λεπτομερή ανάλυση των πλεονεκτημάτων και των μειονεκτημάτων τους και να γίνονται με την συνειδητή συναίνεση των ασθενών.

9. Φυσική ιστορία και βιολογική συμπεριφορά του καρκίνου του μαστού

Η φυσική ιστορία του καρκίνου του μαστού είναι συνήθως πολύ παρατεταμένη και έτσι η νόσος θεωρείται χρόνια κακοήθεια. Από τη στιγμή της κακοήθους εξαλλαγής του πρώτου κυττάρου απαιτούνται 30 διαδοχικοί διπλασιασμοί και περίπου 7-8 χρόνια για να δημιουργηθεί όγκος διαμέτρου 1 cm. Η αύξηση αυτή ακολουθεί τη χαρακτηριστική καμπύλη του Compertz^{59,60} (Εικ. 5, σελ. 84).

Ο καρκίνος του μαστού επεκτείνεται δια μέσου των λεμφαγγείων και της αιματικής ροής. Η αιματική διασπορά δείχνει προτίμηση στους πνεύμονες, ήπαρ, οστά και εγκέφαλο⁶¹. Η ικανότητα για λεμφαδενικές μεταστάσεις αποκτάται νωρίτερα απ' αυτήν για αιματογενή διασπορά και εξαρτάται από την ταχύτητα αύξησης του πρωτοπαθούς όγκου⁶². Είναι γενικά παραδεκτό σήμερα, ότι συχνά κατά τη διάγνωσή του, ο καρκίνος του μαστού έχει επεκταθεί πέρα από τα τοπικά-επιχώρια όρια, άσχετα αν αυτό δεν μπορεί να εκτιμηθεί.

Σήμερα υπάρχουν διάφορες θεωρίες και αντικρουόμενες απόψεις όσον αφορά τη βιολογική συμπεριφορά του καρκίνου του μαστού. Δύο βασικές έχουν περιγραφεί⁶³. Η πρώτη αποτελεί την κλασική υπόθεση του Halsted, η κεντρική ιδέα της οποίας είναι καθαρά μηχανιστική και δέχεται ότι ο καρκίνος εξαπλώνεται φυγόκεντρα. Σύμφωνα μ' αυτήν η έκταση της εγχείρησης είναι ο κρίσιμος παράγοντας της θεραπείας. Η δεύτερη, του Fisher, είναι πιο σύγχρονη και θεωρεί ότι ο καρκίνος του μαστού είναι συστηματική νόσος από την αρχή. Έτσι οι λεμφαδένες δεν αποτελούν φραγμό, αλλά περισσότερο αποτελούν δείκτες της βιολογικής συμπεριφοράς και του μεταστατικού δυναμικού του όγκου. Αυτό ενισχύεται από το γεγονός πως 30% των μικρών και ψηλαφητών όγκων έχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις και ότι ο καρκίνος του μαστού μπορεί να υποτροπιάσει μεταστατικά και μετά από 20 χρόνια από την αρχική θεραπεία. Αυτός είναι κατά ένα μέρος και ο λόγος επιστροφής στις συντηρητικές χειρουργικές επεμβάσεις. Έτσι σήμε-



ρα, εκτός από το μέγεθος της πρωτοπαθούς εστίας και τον αριθμό των λεμφαδενικών μεταστάσεων που αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες για την πορεία της νόσου, υπολογίζουμε τον μεταστατικό κίνδυνο και καθορίζουμε τη θεραπεία εκτιμώντας τον ρυθμό ανάπτυξης του όγκου, το βαθμό ιστολογικής διαφοροποίησης, τους ορμονικούς υποδοχείς, τους γονιδιακούς δείκτες και την πλοειδικότητα του DNA⁵⁹.

Όμως, η στατιστικά σημαντική ελάττωση της θνητότητας του καρκίνου του μαστού με την screening μαστογραφία υποστηρίζει την εντύπωση ότι μπορεί να υπάρχει κάποια φάση μεταξύ ακτινολογικής και κλινικής εκδήλωσης της νόσου κατά την οποία αυτή γίνεται συστηματική. Έτσι ο Tabar⁶⁶ υποστηρίζει ότι το καρκίνωμα του μαστού δεν είναι συστηματική νόσος από την αρχή, αλλά μία νόσος προοδευτική που η ανάπτυξή της μπορεί να παρεμποδιστεί με την screening μαστογραφία. Το σημείο που θα σταματήσουμε την ανάπτυξη του όγκου είναι καθοριστικό. Αναγνώριση μικρών (≤ 15 mm) και με αρνητικούς λεμφαδένες όγκων μπορεί να σώσει ζωές και να προσφέρει την δυνατότητα για λιγότερο επιθετικές θεραπείες. Επίσης το γεγονός ότι όσο αυξάνει ο όγκος τόσο αυξάνει η πιθανότητα για μετάσταση και τόσο ελαττώνεται η επιβίωση δηλώνει ότι ο καρκίνος του μαστού δεν είναι αποκλειστικά συστηματική νόσος από την αρχή⁶⁷.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

1. Διαγνωστική διερεύνηση – Ιστορικό – Κλινική εξέταση

Ο καρκίνος του μαστού μπορεί να μιμηθεί όλες τις καλοήθεις παθήσεις του μαστού και καθώς αποτελεί την πλέον συχνή κακοήθη νόσο στη γυναίκα δεν πρέπει ποτέ να αγνοείται ή να υποτιμάται το ενδεχόμενο εμφάνισής της. Επειδή οι μαστοί είναι όργανα προσιτά στην επισκόπηση και την ψηλάφηση, η αυτοεξέταση δηλαδή ο τακτικός μηνιαίος έλεγχος των μαστών από την ίδια τη γυναίκα συμβάλει στην ευαισθητοποίηση και την επαγρύπνησή της έναντι της νόσο, ειδικά των γυναικών που ανήκουν σε ομάδα υψηλού κινδύνου⁶⁸.

Παρόλο που η διάγνωση του καρκίνου του μαστού επισφραγίζεται μόνο με την ιστολογική εξέταση, η διαγνωστική διερεύνηση στηρίζεται στην ακόλουθη **διαγνωστική τριάδα**^{69,70,71}.

- α) Ιστορικό και κλινική εξέταση.
- β) Απεικονιστικές εξετάσεις (μαστογραφία και/ή υπερηχογράφημα).
- γ) Μη ανοικτή-διαδερμική βιοψία.

Τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της διαγνωστικής διερεύνησης συνεκτιμώνται και αν έστω ένα απ' ατά είναι θετικό απαιτείται πρόσθετη διαγνωστική διερεύνηση (π.χ. ανοικτή βιοψία). Με το ιστορικό, που πρέπει να είναι πλήρες και λεπτομερές, διαπιστώνουμε αν η γυναίκα ανήκει σε ομάδα υψηλού κινδύνου και αν με την αυτοεξέταση διαπίστωσε κάποιο ύποπτο σημείο (ασυμμετρία μαστών, ογκίδιο, έλξη δέρματος, ρύση θηλής κ.λπ.) ή σύμπτωμα και τον χρόνο που το εμφάνισε ενώ με την κλινική εξέταση που πρέπει να γίνεται με κανόνες και προσοχή διαπιστώνουμε την ύπαρξη ύποπτων κλινικών σημείων. Λόγω των ορμονικών μεταβολών και των ανάλογων μορφολογικών και φυσιολογικών μεταβολών που υφίσταται



ο μαστός η καλύτερη χρονική περίοδος για την ψηλάφηση είναι μεταξύ 5ης-10ης ημέρας του καταμήνιου κύκλου. Τα ύποπτα για κακοήθεια κλινικά σημεία είναι:

- α) Ασυμμετρία μαστών και ανωμαλία στο περίγραμμά τους (διόγκωση ή επιπέδωση της φυσιολογικής κυρτότητας)
- β) Εισολκή, εξέλκωση, έκκριμα της θηλής
- γ) Διακριτή σκληρία (ευκίνητη ή καθηλωμένη στο θωρακικό τοίχωμα ή στο δέρμα)
- δ) Τοπική ευαισθησία ή/και ερυθρότητα
- ε) Ψηλαφητός μασχαλιαίος λεμφαδένας
- στ) Οίδημα δέρματος με εμφάνιση δίκην φλοιού πορτοκαλιού (peau d'orange).

Σε περίπτωση ανακάλυψης παθολογικού σημείου πρέπει να προσδιορίζεται η θέση του, το μέγεθός του, το σχήμα, τα όρια (ομαλά-ανώμαλα), η τοπογραφία του, η υφή του. Το γεγονός ότι η κλινική εξέταση είναι εύκολη δεν πρέπει να παραγνωρίζεται η σημασία της και στόχος της είναι η εντόπιση βλαβών, που χωρίς την κλινική εξέταση θα διέφευγαν^{72,73}.

2. Απεικονιστικές εξετάσεις

Παρόλον ότι τα αποτελέσματα των απεικονιστικών εξετάσεων μπορούν να προσφέρουν πολύτιμες πληροφορίες, δεν πρέπει να ερμηνεύονται απομονωμένα από τις άλλες εξετάσεις^{70,71}.

Η περιγραφή μίας αλλοίωσης ορατής σε απεικονιστική εξέταση πρέπει σε αδρές γραμμές να περιλαμβάνει την εντόπισή της, το μέγεθός της (σε χιλιοστά), τη σύστασή της, τη σχέση της με το παρέγχυμα που την περιβάλλει, τα αρχιτεκτονικά ή οποιαδήποτε άλλα χαρακτηριστικά της και, όποτε αυτό είναι δυνατό, μια πιθανή διάγνωση.

Η σύγκριση της πρόσφατης με τις προηγούμενες απεικονιστικές εξετάσεις συχνά διευκολύνει την ερμηνεία και αξιολόγηση των ευρημάτων, όπως συμβαίνει και με τη χρήση ενός ενιαίου (τυποποιημένου) τρόπου καταγραφής τους.

Οι απεικονιστικές εξετάσεις που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού είναι:

2.α. Η μαστογραφία

Αποτελεί τη βασική απεικονιστική εξέταση και πραγματοποιείται είτε στο πλαίσιο διερεύνησης ενός κλινικού ευρήματος ή συμπτώματος (δια-



γνωστική μαστογραφία) είτε στο πλαίσιο προληπτικού ελέγχου, πληθυσμιακού ή ατομικού (προληπτική μαστογραφία)^{74,75}.

Από μόνη της δεν μπορεί να αποκλείσει την ύπαρξη καρκίνου στο μαστό, γι' αυτό και πρέπει να πραγματοποιείται στο πλαίσιο των άλλων διαγνωστικών εξετάσεων⁷⁶.

Η μαστογραφία έχει υψηλή ευαισθησία στην ανακάλυψη καρκίνων που περιέχουν μικροαποτιτανώσεις^{77,78,79}. Είναι, επίσης, καλή σε μαστούς που δεν είναι ακτινοσκιεροί (λιπώδεις μαστοί). Ως εκ τούτου είναι η καλύτερη μέθοδος για την ανακάλυψη μικρών μη ψηλαφητών βλαβών στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Υστερεί σε ακτινοσκιερούς –πυκνούς– μαστούς, στη διάγνωση πυκνοτήτων (breast densities) και έχει δυσκολίες στην αναγνώριση συγκεκριμένων λοβιακών διηθητικών καρκινωμάτων, στη νόσο Paget της θηλής, στα φλεγμονώδη καρκινώματα και ιδιαίτερα, σε μερικά περιφερικά μικρά καρκινώματα.

Η μαστογραφία δεν συστήνεται για γυναίκες ηλικίας μικρότερης των 35 ετών, εκτός εάν υπάρχει ισχυρή κλινική υποψία καρκινώματος.

Η ταξινόμηση των ευρημάτων σε κατηγορίες, σύμφωνα με το σύστημα αξιολόγησης BIRADS (Breast Imaging Reporting and Data Systems) που έχει προταθεί από το Αμερικάνικο Κολέγιο Ακτινολογίας έχει τύχει ευρύτερης αποδοχής διεθνώς⁸⁰. Οι κατηγορίες της αξιολόγησης είναι:

Κατηγορία 0 = Απαιτείται πρόσθετη απεικονιστική αξιολόγηση και/ή άλλη μαστογραφία για σύγκριση. Αυτή η κατηγορία αποδίδεται σε αποτέλεσμα προληπτικής μαστογραφίας που χρειάζεται πρόσθετη απεικονιστική διερεύνηση (π.χ. εντοπιστική, μεγενθυτική, ειδική λήψη ή/και υπερηχογράφημα). Επίσης, έτσι μπορεί να χαρακτηριστεί μια μαστογραφία όταν για την εξαγωγή κάποιου συμπεράσματος υπάρχει ανάγκη σύγκρισής της με παλαιότερες.

Κατηγορία 1 = Αρνητική. Τίποτα για σχολιασμό. Συμμετρικοί μαστοί χωρίς ιδιαίτερη μάζα, αρχιτεκτονική διαταραχή ή ύποπτες αποτιτανώσεις.

Κατηγορία 2 = Καλόηθες εύρημα ή ευρήματα. Όπως και η «αρνητική» έτσι και αυτή είναι μια «φυσιολογική» αξιολόγηση, αλλά στη συγκεκριμένη περίπτωση ο ακτινολόγος επέλεξε να περιγράψει στην έκθεσή του το καλόηθες ή τα καλοήθη ευρήματα.

Κατηγορία 3 = Πιθανώς καλόηθες εύρημα – Συνιστάται παρακολούθηση σε σύντομο χρονικό διάστημα. Μία πλήρης απεικονιστική διερεύνηση είναι αναγκαία πριν καταταγεί ένα αποτέλεσμα σ' αυτή την κατηγορία.



- Έτσι δεν μπορεί να δοθεί ως αποτέλεσμα προληπτικής μαστογραφίας. Στη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών με αποτέλεσμα της κατηγορίας 3 συνιστάται μία επανεξέταση (παρακολούθηση) σε σύντομο χρονικό διάστημα (6μηνο), που ακολουθείται από πρόσθετες κλινικές και ακτινολογικές εξετάσεις, έως ότου σε κάποιο χρονικό διάστημα (σε 2 χρόνια ή περισσότερο)
- επιβεβαιωθεί ότι δεν υπάρχει ύποπτη αλλαγή του ευρήματος. Ένα εύρημα που κατατάσσεται σε αυτή την κατηγορία θα πρέπει να έχει κίνδυνο για κακοήθεια λιγότερο από 2%.

Κατηγορία 4 = Ύποπτο εύρημα – Θα πρέπει να ληφθεί υπόψη η περίπτωση της βιοψίας. Αυτή η κατηγορία αποδίδεται σε ευρήματα χωρίς την κλασική εμφάνιση της κακοήθειας, αλλά των οποίων η πιθανότητα κακοήθειας είναι μεγαλύτερη εκείνης της κατηγορίας 3.

Κατηγορία 5 = Υψηλή πιθανότητα (δηλωτική) κακοήθειας – Πρέπει να υπάρξει κατάλληλη ιατρική παρέμβαση. Αυτές οι βλάβες έχουν υψηλή πιθανότητα (> 95%) να αποδειχθούν ότι είναι καρκίνος. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει βλάβες για τις οποίες θα πρέπει να ληφθεί υπόψη η δυνατότητα εγχείρησης χωρίς να προηγηθεί βιοψία. Εντούτοις, στη σύγχρονη ογκολογική προσέγγιση η παρακέντηση με λεπτή ή με ευρύστομη βελόνα μπορεί να είναι ωφέλιμη, ιδίως όταν κατά τη χειρουργική αντιμετώπιση σχεδιάζεται η εξαίρεση του φρουρού λεμφαδένα ή όταν χορηγείται νεοεπιχειρητική χημειοθεραπεία.

Κατηγορία 6 = Γνωστό αποτέλεσμα από βιοψία/αποδεδειγμένη κακοήθεια – Πρέπει να υπάρξει κατάλληλη ιατρική παρέμβαση. Αυτή η κατηγορία αποδίδεται σε ευρήματα που έχουν αναγνωριστεί στην απεικονιστική μελέτη ως κακοήθη και έχουν ταυτοποιηθεί με μη ανοικτή βιοψία πριν από την οριστική θεραπεία. Οι ακτινολόγοι χρησιμοποιούν αυτή την κατηγορία όταν τους ζητείται δεύτερη γνώμη για μαστογραφίες που έχουν γίνει αλλού για γνωστούς καρκίνους ή όταν παρακολουθούν την απαντητικότητα του όγκου σε περιπτώσεις νεοεπιχειρητικής θεραπείας.

Σε ότι αφορά τον προληπτικό μαστογραφικό έλεγχο, αυτός πρέπει να γίνεται μετά την ηλικία των 40 ετών και να συνεχίζεται έως την ηλικία που η έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου μπορεί να έχει θετική επίπτωση στο προσδόκιμο επιβίωσης των εξεταζομένων. Γυναίκες που θηλάζουν θα πρέπει να υπόκεινται σε μαστογραφικό έλεγχο μετά 3μήνου από τον θηλασμό (για την υποχώρηση του οιδήματος), εκτός και αν υπάρχει ύποπτο κλινικά εύρημα.

Οι βλάβες που ανακαλύπτονται στον μαστογραφικό έλεγχο θα πρέπει κατά κανόνα να μελετώνται με πρόσθετες απεικονιστικές εξετάσεις.





Φωτογραφίες 1, 2. Μαστογραφία F/P όπου διαπιστώνεται περιοχή αυξημένης πυκνότητας με ακτινοειδείς προσεκβολές στην περιφέρεια διαστάσεων $3 \times 1,5$ εκ. και έλξη του υπερκείμενου δέρματος. Ευρήματα που συνηγορούν για κακοήθεια. – Κατηγορία 5 κατά BIRADS.

2.β. Η ψηφιακή μαστογραφία (FFDM)

Η ψηφιακή μαστογραφία (FFDM: Full Field Digital Mammography) δεν φαίνεται να υπερτερεί της κλασσικής μαστογραφίας στην ανίχνευση του αρκίνου του μαστού αλλά φαίνεται ότι μειώνει σημαντικά το ποσοστό επανάκλησης και τον αριθμό επανάκλησης των εξεταζομένων γυναικών^{81,82}. Ιδιαιότητα επεξεργασίας της αντίθεσης και της φωτεινότητας της εικόνας, η δυνατότητα αποθήκευσης και διαχείρισης των δεδομένων καθώς και τηλεμεταφορά της για δεύτερη γνώμη, η εφαρμογή νέων τεχνικών όπως η μοσιώνθεση αποτελούν αναμφισβήτητα πλεονεκτήματα

2.γ. Το υπερηχογράφημα

Το υπερηχογράφημα είναι μία πολύτιμη απεικονιστική διαγνωστική εξέταση, είτε όταν χρησιμοποιείται μεμονωμένα, είτε ως συμπληρωματική εξέταση στη μαστογραφία^{83,84}.

Οι βλάβες με τη μορφή μάζας σε πυκνούς μαστούς είναι πιο εύκολο να ανιχνευθούν και να μελετηθούν με το υπερηχογράφημα απ' ό,τι με τη μαστογραφία, γι' αυτό και το υπερηχογράφημα συνιστάται ως η αρχική απεικονιστική εξέταση για τη διευκρίνιση κλινικού ευρήματος σε γυναίκες ηλικίας μικρότερης των 40 ετών.

Το υπερηχογράφημα μπορεί να διαφοροδιαγνώσει αν μία μάζα είναι συμπαγής ή κυστική, ενώ οι αποτιτανώσεις μπορεί να γίνουν αντιληπτές μόνο αν είναι ικανοποιητικού μεγέθους και αριθμού και αν εντοπίζονται σε μία μάζα.

Το υπερηχογράφημα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπληρωματική της μαστογραφίας εξέταση για την:⁸⁴

- αξιολόγηση ψηλαφητών αλλοιώσεων που δεν είναι ορατές στη μαστογραφία
- διαφοροδιάγνωση μεταξύ καλοήθων και κακοήθων μαστογραφικών αλλοιώσεων⁸⁵
- ανίχνευση υποκείμενης μάζας ή διαταραχή συνδυασμένης με μαστογραφικές αποτιτανώσεις ή ασύμμετρη πυκνότητα
- αξιολόγηση ενθεμάτων
- καθοδήγηση διαδερμικής βιοψίας ή για τον προεγχειρητικό εντοπισμό μίας αλλοίωσης^{86,87}.

Η στοχευμένη εξέταση μίας ύποπτης κατά την κλινική ή/και τη μαστογραφική εξέταση (BIRADS 4 ή 5) περιοχής του μαστού καθιστά την υπερηχογραφική διερεύνηση πιο αποτελεσματική. Η εξέταση μπορεί να συμπεριλάβει και τη σύστοιχη μασχάλη. Το υπερηχογράφημα δεν συστήνεται ως εξέταση προληπτικού ελέγχου.

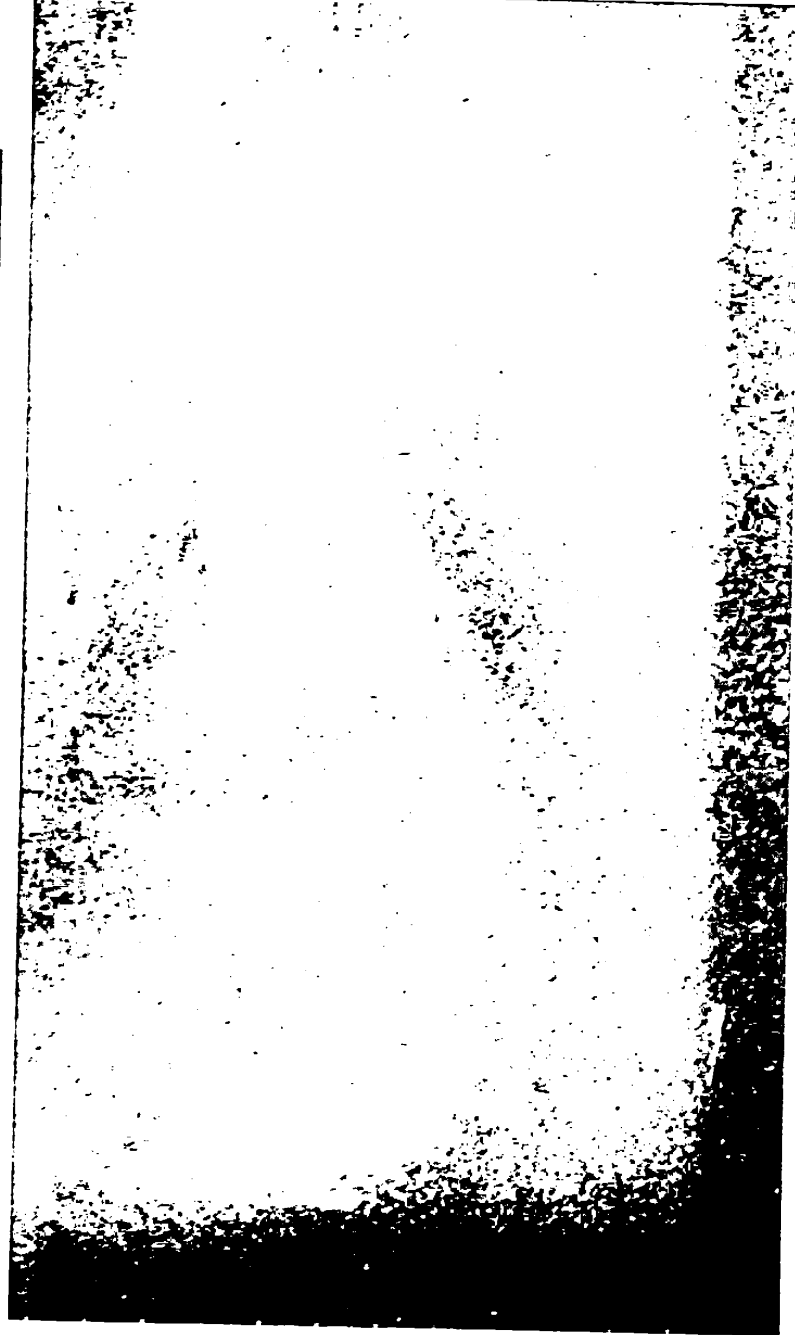
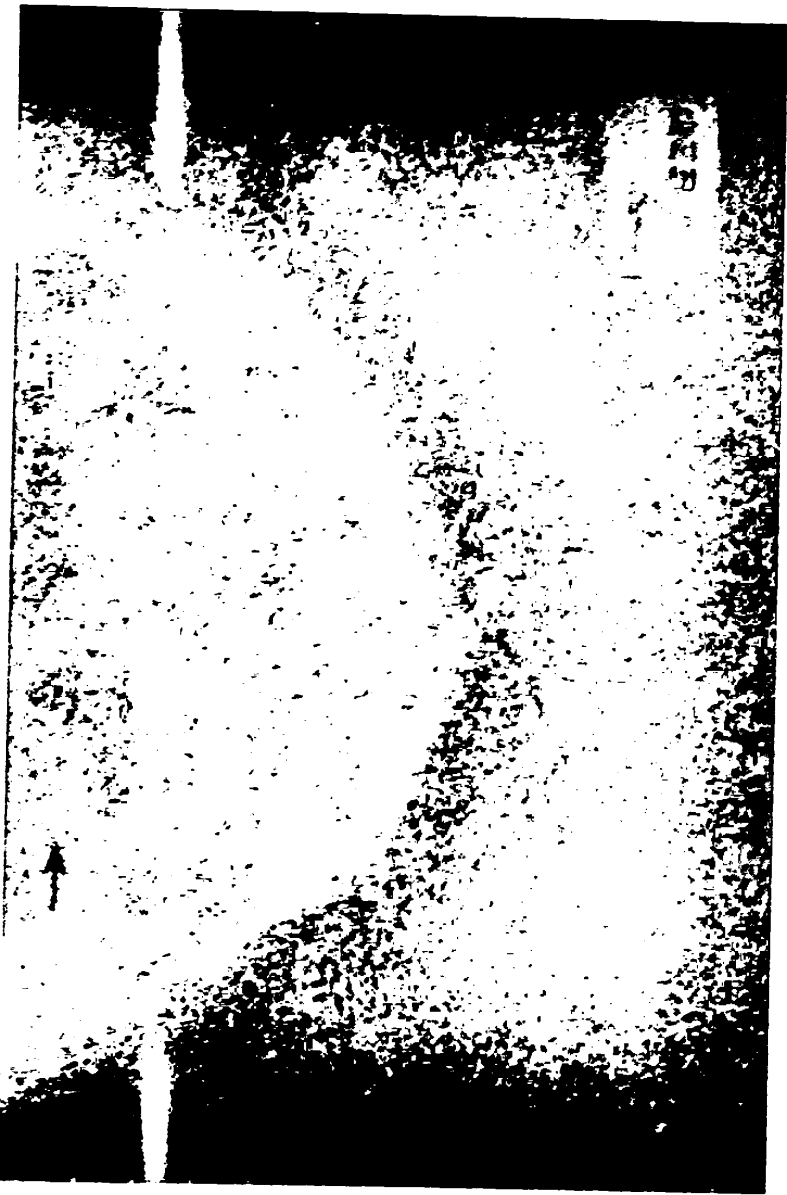
2.δ. Η μαγνητική μαστογραφία

Η μαγνητική μαστογραφία χρησιμοποιείται κατά βάση συμπληρωματικά προς τις καθιερωμένες απεικονιστικές μεθόδους.

Η μαγνητική μαστογραφία υπερτερεί της μαστογραφίας στον προληπτικό έλεγχο γυναικών υψηλού κινδύνου με μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA 1 και 2.⁸⁸

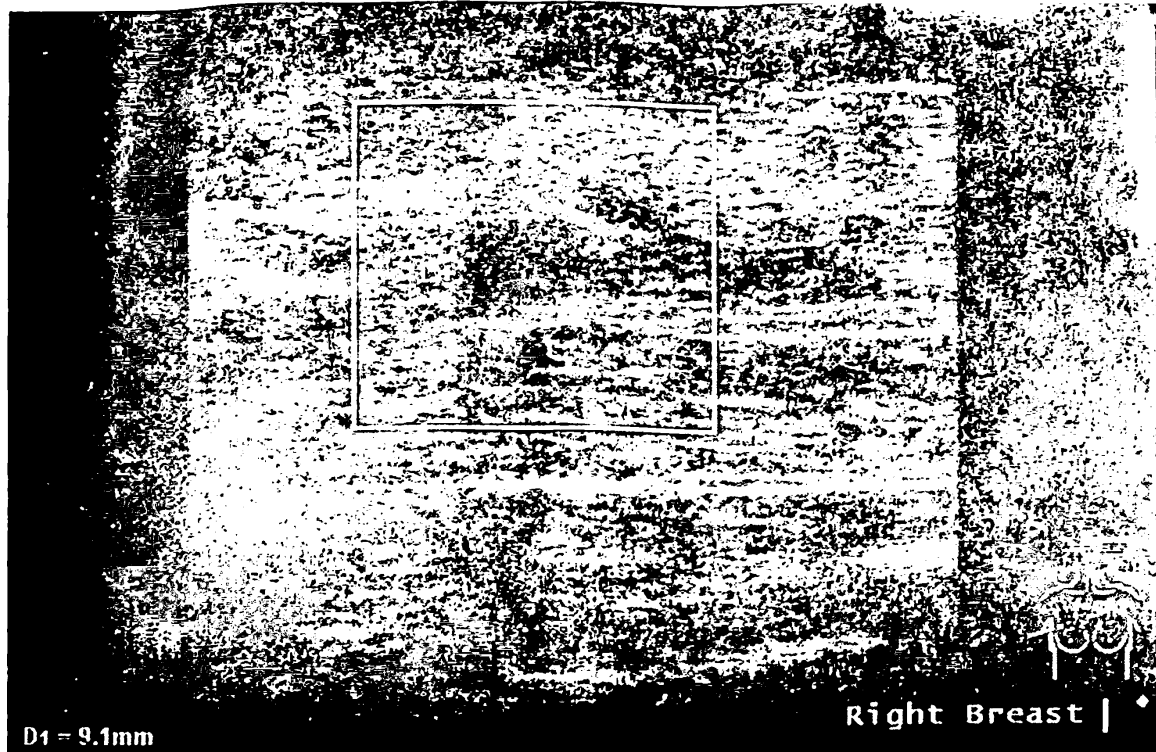
Επίσης, μπορεί να προσφέρει πρόσθετες πληροφορίες για:⁸⁹





Φωτογραφίες 3, 4. Μαστογραφία άμφω F/P.





Φωτογραφία 7. Υπερηχογράφημα μαστού.

- Τον καθορισμό της έκτασης μιας ύποπτης αλλοίωσης.
- Τη διαπίστωση αν υπάρχουν άλλες εστίες κακοήθειας στον ίδιο ή σε άλλο μαστό.
- Τον έλεγχο της απαντητικότητας και την έκταση της υπολλειπόμενης σου μετά νεοεπικουρική θεραπεία.
- Τον έλεγχο του μαστού σε γυναίκα με διηθημένο από αδenoκαρκίνω λεμφαδένα στη μασχάλη χωρίς εμφανή πρωτοπαθή εστία.
- Την προεγχειρητική εκτίμηση ασθενών με νεοδιαγνωσθέντα καρκίνο, οι οποίες είχαν υποβληθεί σε αυξητική επέμβαση του στήθους με ενθέματα.
- Για τη μετεγχειρητική εξέταση σε υποψία ύπαρξης υπολλειπόμενης σου και
- Για διερεύνηση ασθενών στις οποίες η μαστογραφία, το υπερηχογράφημα και τα κλινικά ευρήματα είναι βέβαια και δεν αναδεικνύεται εμφανές εστιακό εύρημα (π.χ. αυτόματη ρύση θηλής από το στόμιο ενός μαστού, διάχυτες μικροαποτιτανώσεις, λεπτές διαταραχές της αρχιτεκτονικής κ.ο.κ.).

3. Μη ανοικτές-διαδερμικές βιοψίες

Διακρίνουμε^{90,91,92} α) την κυτταρολογική εξέταση υλικού από παρακέντηση με λεπτή βελόνη (FNAB), β) βιοψία ιστοτεμαχίων από παρακέντηση με ειδική ευρύτομη βελόνα (CNB) και γ) την στερεοτακτική κατευθυνόμενη βιοψία με τη βοήθεια κενού (VAB).

Τόσο η κυτταρολογική εξέταση υλικού μετά από παρακέντηση με λεπτή βελόνα (fine needle aspiration biopsy – FNAB) όσο και η ιστολογική εξέταση κυλινδρικών ιστοτεμαχίων που λαμβάνονται από παρακέντηση του πυρήνα της βλάβης με ειδική ευρύστομη βελόνα (core needle biopsy – CNB) χρησιμοποιούνται για ψηλαφητές ή μη αλλοιώσεις των μαστών.

Σε ψηλαφητές βλάβες, ο χειρουργός μπορεί να κατευθύνει μόνος του τη βελόνα της παρακέντησης σε αυτές, χωρίς απεικονιστική βοήθεια. Σε μη ψηλαφητές αλλοιώσεις χρειάζεται καθοδήγηση από κάποια απεικονιστική μέθοδο (κατευθυνόμενη παρακέντηση).

Η μία εξέταση μπορεί να έχει συμπληρωματικό ρόλο προς την άλλη, όμως, η CNB έχει μεγαλύτερη ευαισθησία, εξειδίκευση και αρνητική διαγνωστική αξία από την FNAB.

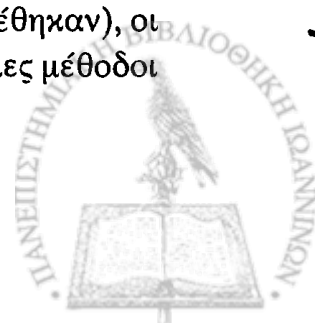
Με τη CNB μπορεί να αναγνωριστεί η μη διηθητική νόσος, κάτι που δεν είναι εφικτό με την FNAB.

Όταν υπάρχουν αποιτανώσεις, τα εξαιρεθέντα με την ειδική ευρύστομη βελόνη ιστοτεμάχια πρέπει να αποστέλλονται για μαστογραφική εξέταση, για να επιβεβαιωθεί ότι έγινε σωστή δειγματοληψία από την αλλοίωση.

Σε περιπτώσεις που από τις μη ανοικτές βιοψίες διαπιστωθούν βλάβες υψηλού κινδύνου, όπως άτυπη υπερπλασία (πόρων ή λοβίων) και λοβιακό καρκίνωμα *in situ*, η πιθανότητα συνύπαρξης στην ίδια θέση πορογενούς διηθητικού ή μη καρκινώματος είναι αυξημένη. Σε αυτές τις περιπτώσεις θα πρέπει να γίνει ανοικτή βιοψία.

Η στερεοτακτική κατευθυνόμενη βιοψία με τη βοήθεια κενού (VAB: vacuum assisted biopsy) είναι η εισαγωγή στην περιοχή της βλάβης, υπό απεικονιστική καθοδήγηση, ειδικής βελόνας που με τη βοήθεια αναρρόφησης και με περιστρεφόμενο εσωτερικό μαχαίριδιο αφαιρεί τεμάχια της, τα οποία στη συνέχεια αποστέλλονται για ιστολογική εξέταση. Το μέγεθος των ιστοτεμαχίων είναι πολύ μεγαλύτερο εκείνων της CNB.

Κύριες ενδείξεις για εφαρμογή της είναι η δειγματοληψία μικροαποιτανώσεων (που πρέπει να ελεγχθούν μαστογραφικά αν αφαιρέθηκαν), οι διαταραχές αρχιτεκτονικής και οι περιπτώσεις στις οποίες οι άλλες μέθοδοι



παρακέντησης απέτυχαν να συλλέξουν ικανά ιστικά ή κυτταρολογικά δείγματα.

4. Ανοικτή βιοψία

Οι διαδερμικές βιοψίες (με κυτταρολογική ή ιστολογική εξέταση) έχουν περιορίσει την ανάγκη ανοικτής βιοψίας. Η ανοικτή βιοψία^{70,93} γίνεται όταν τα αποτελέσματα των διαδερμικών βιοψιών δεν συμβαδίζουν με τα κλινικά ευρήματα και τις απεικονιστικές εξετάσεις και επομένως υπάρχει μεγάλη πιθανότητα να είναι ψευδώς αρνητικά.

Η ανοικτή βιοψία είναι προτιμότερο να πραγματοποιείται ως αυτόνομη (ξεχωριστή) χειρουργική επέμβαση. Με αυτό τον τρόπο αποκτώνται αναλυτικές πληροφορίες για τον τύπο και την έκταση του όγκου, την αγγειακή και λεμφαγγειακή διήθηση και την παρουσία εκτεταμένου ενδοπορικού στοιχείου (Extensive Intraductal Component – EIC), όπως επίσης και υλικό αρκετό για εξέταση των ορμονικών υποδοχέων και άλλων προγνωστικών δεικτών. Με όλες αυτές τις πληροφορίες μπορεί να γίνει καλύτερα ο σχεδιασμός της οριστικής χειρουργικής παρέμβασης και να δοθεί επαρκής χρόνος για αναλυτική συζήτηση με την ασθενή σχετικά με τις θεραπευτικές επιλογές και τις επιπτώσεις τους.

Σε μικρού μεγέθους βλάβες η ανοικτή βιοψία πραγματοποιείται με την ολική αφαίρεσή τους (excisional biopsy). Ορθόν είναι η βιοψία να εκτελείται ως ογκεκτομή, δηλαδή μαζί με τη βλάβη να αφαιρείται και ένα τμήμα υγιούς ιστού γύρω από αυτήν. Αν από την ιστολογική εξέταση προκύψει η διάγνωση καρκίνου, η επανεπέμβαση είναι απαραίτητη εφόσον τα όρια εκτομής δεν είναι επαρκή. Για τη βιοψία των μη ψηλαφητών αλλοιώσεων είναι χρήσιμος ο εντοπισμός τους πριν από την επέμβαση με συρμάτινο οδηγό ή ραδιοσημασμένη ουσία υπό μαστογραφική υπερηχογραφική καθοδήγηση. Τα εξαιρεθέντα ιστοτεμάχια θα πρέπει στη συνέχεια να ελέγχονται μαστογραφικά για να επιβεβαιωθεί ότι η ύποπτη βλάβη έχει όντως αφαιρεθεί.

5. Ιστολογικοί τύποι του καρκίνου του μαστού

Σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (Π.Ο.Υ.) ο καρκίνος του μαστού κατατάσσεται με βάση τον πίνακα 1⁹⁴.

Το μη ειδικού τύπου (NST) πορογενές διηθητικό καρκίνωμα του μαστού εμφανίζεται συνήθως μετά την 4η δεκαετία της ζωής, αποτελεί το 80% των εμφανιζόμενων καρκίνων του μαστού και στις 80% των περιπτώσεων



Πίνακας 1. Ιστολογική κατάταξη επιθηλιακών όγκων κατά την Π.Ο.Υ.

Διθηθικό πορογενές καρκίνωμα μη ειδικού τύπου (NST)

Μικτού τύπου

Καρκίνωμα με οστεοκλαστικού τύπου γιγαντοκύτταρα

Καρκίνωμα με στοιχεία χοριοκαρκινώματος

Καρκίνωμα με στοιχεία μελανώματος

Διθηθικό λοβιακό καρκίνωμα

Σωληνώδες καρκίνωμα

Διθηθικό ηθμοειδές καρκίνωμα

Μυελοειδές καρκίνωμα

Βλεννώδες καρκίνωμα και άλλα καρκινώματα με άφθονη βλέννη

Βλεννώδες καρκίνωμα

Κυσταδενοκαρκίνωμα και βλεννώδες καρκίνωμα με υψηλά κυλινδρικά κύτταρα

Καρκίνωμα με κύτταρα σφραγιστήρος δακτυλίου

Νευροενδοκρινείς όγκοι

Συμπαγές νευροενδοκρινικό καρκίνωμα

Άτυπο καρκινοειδές

Μικροκυτταρικό καρκίνωμα

Νευροενδοκρινικό καρκίνωμα με μεγάλα κύτταρα

Διθηθικό θηλώδες καρκίνωμα

Αποκρινές καρκίνωμα

Μεταπλαστικά καρκινώματα

Αμιγώς μεταπλαστικά καρκινώματα

Ακανθοκυτταρικό (εκ πλακωδών κυττάρων) καρκίνωμα

Αδενοκαρκίνωμα με ατρακτοκυτταρική μετάπλαση

Αδενοπλακώδες καρκίνωμα

Βλεννοεπιδερμοειδές καρκίνωμα

Μικτά επιθηλιακά/μεσεγγυματογενή μεταπλαστικά καρκινώματα

Πλούσιο σε λιπίδια καρκίνωμα

Εκκριτικό καρκίνωμα

Ογκοκυτταρικό καρκίνωμα

Αδενοειδές κυστικό καρκίνωμα

Κυψελιδικό κυστικό καρκίνωμα

Πλούσιο σε γλυκογόνο/διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα

Αποκρινές καρκίνωμα

Φλεγμονώδες καρκίνωμα

Νόσος Paget



συνοδεύεται με *in situ* – DCIS καρκίνωμα. Επίσης σε ποσοστό 20-30% εκφράζονται θετικά στην πρωτεΐνη HER 2/NEU, ενώ 80% έχουν θετικούς ορμονικούς υποδοχείς^{100,101}. Το λοβιακό καρκίνωμα αποτελεί το 5-15% των διηθητικών καρκινωμάτων του μαστού, σε ποσοστό 70-95% έχουν θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς ενώ το HER 2/NEU εκφράζεται σε πιο χαμηλό ποσοστό^{100,101}. Το σωληνώδες και το ηθμοειδές διηθητικό καρκίνωμα έχουν πολύ καλή πρόγνωση (100% θετικοί οιστρογονικοί υποδοχείς στο ηθμοειδές ενώ το σωληνώδες δεν εκφράζει το HER 2/NEU)^{97,100}. Το μυελοειδές παρατηρείται σε υψηλό ποσοστό σε γυναίκες φορείς του μεταλλαγμένου γονιδίου BRCA 1 και δεν εκφράζει τους ορμονικούς υποδοχείς ενώ έχει χαμηλό ποσοστό υπερέκφρασης της πρωτεΐνης HER 2/NEU⁹⁵. Το φλεγμονώδες καρκίνωμα είναι μία μορφή τοπικά προχωρημένου καρκινώματος, κακής πρόγνωσης, χωρίς ειδικά χαρακτηριστικά και είναι συνήθως πορογενές χαμηλής διαφοροποίησης με αρνητικούς υποδοχείς και υπέρκφραση του HER 2/NEU¹⁰⁰. Η νόσος του Paget είναι μία σπάνια εκδήλωση του καρκίνου του μαστού που χαρακτηρίζεται από την παρουσία νεοπλασματικών κυττάρων στην επιδερμίδα του συμπλέγματος θηλής-θηλαίας άλω και παρουσιάζεται με τη μορφή εκζεματοειδούς αλλοίωσης. Διαφοροδιαγιγνώσκεται ανοσοϊστοχημικά από τη νόσο του Bowen, το κακόηθες μελάνωμα και τα μεμονωμένα κερατινοκύτταρα με διαυγές και κενотоπιώδες κυτταρόπλασμα¹⁰⁰. Τα νευροενδοκρινή καρκινώματα αντιστοιχούν στο 2-5% των καρκινωμάτων του μαστού και η πρόγνωσή τους καθορίζεται με βάση την κυτταρική ατυπία και τον αριθμό των μιτώσεων⁹⁵. Οι υπόλοιπες μορφές καρκινωμάτων είναι σπάνιες, αντιστοιχούν στο 1-2% των καρκίνων του μαστού και η διάγνωσή τους γίνεται με μορφολογικά χαρακτηριστικά ιστοχημικά και ανοσοϊστοχημικά. Τέλος κατά τον Azzopardi το 3-4% των καρκινωμάτων του μαστού θεωρούνται απροσδιορίστου τύπου^{100,101}, το 99% των κακοήθων όγκων αφορά τα καρκινώματα ενώ το 1% αφορά τα σαρκώματα¹⁰⁰.

6. Βαθμός κακοήθειας (Grade)

Το ευρέως κοινά αποδεκτό σύστημα βαθμοποίησης του καρκίνου του μαστού είναι η τροποποιημένη κατά Elston και Ellis μέθοδος Nottingham του αρχικού κατά Scaff-Bloom-Richardson συστήματος. Σύμφωνα μ' αυτήν αξιολογούνται και βαθμολογούνται από το 1 έως το 3 τρία στοιχεία της μορφολογίας του όγκου: το αρχιτεκτονικό πρότυπο ανάπτυξης σωληνωδών σχηματισμών, ο πυρηνικός πλειομορφισμός και ο αριθμός των μιτώσεων. Από την άθροιση της βαθμολογίας προκύπτουν τρεις βαθμοί κακοήθειας:¹⁰¹



Βαθμός κακοήθειας 1 (GI): άθροισμα 3 έως 5 – μικρός

Βαθμός κακοήθειας 2 (GII): άθροισμα 6 έως 7 – μέτριος

Βαθμός κακοήθειας 3 (GIII): άθροισμα 8 έως 9 – υψηλός

Όταν ο βαθμός κακοήθειας δεν μπορεί να εκτιμηθεί χαρακτηρίζεται ως GX.

7. Σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού – TNM

Η σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού σύμφωνα με το κοινό σχήμα TNM της AJCC (American Joint Committee on Cancer) και της UICC (Union Internationale Centre le Cancer) ισχύει από το 1988¹⁰³ και η τελευταία τροποποίηση της σταδιοποίησης TNM έγινε το 2002 (Πίνακας 2)¹⁰⁴. Η ταξινόμηση αυτή εφαρμόζεται τόσο για το διηθητικό όσο και για το *in situ* καρκίνο του μαστού και είναι επιβεβλημένη η μικροσκοπική επιβεβαίωση της διάγνωσης καθώς και η καταγραφή του ιστολογικού τύπου του καρκίνου.

Πρωτοπαθής όγκος (T)

Οι κατηγορίες ταξινόμησης του αρχικού όγκου (T) είναι οι ίδιες στην κλινική και στην ιστολογική αξιολόγηση. Εάν η μέτρηση του μεγέθους του όγκου γίνει κλινικά, το αποτέλεσμα αποδίδεται με τις αδρότερες κατηγορίες του T (T1, T2 ή T3). Αν η μέτρηση γίνει με βάση απεικονιστική ή ιστολογική εξέταση, τα αποτελέσματα είναι πιο ακριβή και έτσι γίνεται εφικτή η χρήση των υποκατηγοριών του T. Η μικρότερη μονάδα μέτρησης των όγκων είναι το 0,1 εκ.

- TX: Ο πρωτοπαθής όγκος δεν μπορεί να εκτιμηθεί
- T0: Κανένα στοιχείο για το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου
- Tis: Μη διηθητικό πορογενές ή λοβιακό καρκίνωμα (DCIS-LCIS) ή νόσος Paget της θηλής χωρίς βλάβη στο μαζικό παρέγχυμα
 - Tis (DCIS): πορογενές μη διηθητικό καρκίνωμα (ενδοπορικόν)
 - Tis (LCIS): λοβιακό μη διηθητικό καρκίνωμα
 - Tis (Paget): Νόσος Paget της θηλής χωρίς συνύπαρξη όγκου.

Όταν στη νόσο Paget συνυπάρχει όγκος, η κατάταξη σε κατηγορία T γίνεται με βάση το μέγεθος του όγκου
- T1: Όγκος με μέγιστη διάμετρο ≤ 2.0 εκατ.
 - T1mic: Μικροδιήθηση ≤ 0.1 εκατ. στη μέγιστη διάμετρο
 - T1a: Όγκος > 0.1 και ≤ 0.5 εκατ. στη μέγιστη διάμετρο
 - T1b: Όγκος > 0.5 και ≤ 1.0 εκατ. στη μέγιστη διάμετρο
 - T1c: Όγκος > 1.0 και ≤ 2.0 εκατ. στη μέγιστη διάμετρο



- T2: Όγκος > 2.0 και \leq 5.0 εκατ. στη μέγιστη διάμετρο
- T3: Όγκος > 5.0 εκατ. με μέγιστη διάμετρο
- T4: Όγκος οποιουδήποτε μεγέθους με άμεση επέκταση (α) στο θωρακικό τοίχωμα ή (β) στο δέρμα, όπως περιγράφεται κατωτέρω:
 - T4a: Επέκταση στο θωρακικό τοίχωμα, μη περιλαμβανομένων των θωρακικών μυών
 - T4b: Οίδημα (συμπεριλαμβανομένου του peau d'orange) ή εξέλκωση του δέρματος του μαστού ή δορυφορικά δερματικά οζίδια που περιορίζονται στον ίδιο μαστό
 - T4c: T4a και T4b
 - T4d: φλεγμονώδης καρκίνος

Περιοχικοί λεμφαδένες (N)

- NX: Οι περιοχικοί λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν (π.χ. έχουν αφαιρεθεί προηγουμένως)
- N0: Καμία μετάσταση στους περιοχικούς λεμφαδένες
- N1: Μετάσταση σε ευκίνητο λεμφαδένα της σύστοιχης μασχάλης
- N2: Μετάσταση στους σύστοιχους μασχαλιαίους αδένες που είναι καθηλωμένοι ή αποτελούν μπλοκ ή κλινικά υποπτευόμενη (προφανής)* μετάσταση στους σύστοιχους λεμφαδένες της έσω μαστικής, σε απουσία κλινικά εμφανούς μετάστασης στους λεμφαδένες της μασχάλης
 - N2a: Μετάσταση στους σύστοιχους μασχαλιαίους λεμφαδένες που είναι καθηλωμένοι ο ένας στον άλλο ή σε γειτονικούς ιστούς
 - N2b: μόνο κλινικά υποπτευόμενη (προφανής)* μετάσταση στους σύστοιχους λεμφαδένες της έσω μαστικής, σε απουσία κλινικά εμφανούς μετάστασης στους λεμφαδένες της μασχάλης
- N3: Μετάσταση στο σύστοιχο υποκλείδιο (ους) λεμφαδένα(ες) με ή χωρίς συμμετοχή των μασχαλιαίων λεμφαδένων ή σε κλινικά υποπτευόμενη (προφανή)* μετάσταση στους σύστοιχους λεμφαδένες της έσω μαστικής και σε παρουσία κλινικά εμφανούς μετάστασης στους μασχαλιαίους λεμφαδένες ή μετάσταση στους σύστοιχους υπερκλείδιους λεμφαδένες με ή χωρίς συμμετοχή των λεμφαδένων της μασχάλης ή της έσω μαστικής
 - N3a: Μετάσταση σε σύστοιχο υποκλείδιο λεμφαδένα(ες)
 - N3b: Μετάσταση σε σύστοιχο λεμφαδένα(ες) της έσω μαστικής και της μασχάλης
 - N3c: Μετάσταση σε σύστοιχο υπερκλείδιο λεμφαδένα(ες)

* Ως κλινικά υποπτευόμενη (προφανή) μετάσταση ορίζεται αυτή που ανιχνεύεται από τις απεικονιστικές εξετάσεις (πλην του λεμφοσπινθηρογραφή-



ματος) ή από την κλινική εξέταση ή είναι μικροσκοπικά ορατή στην ιστολογική εξέταση

Παθολογοανατομική (ιστολογική) ταξινόμηση (pN)

- pNX: Οι περιοχικοί λεμφαδένες δεν μπορούν να αξιολογηθούν (π.χ., δεν έχουν αφαιρεθεί και σταλεί για παθολογοανατομική εξέταση ή έχουν αφαιρεθεί προηγουμένως, σε άλλη επέμβαση)
- pN0: Καμία ιστολογικά διαπιστούμενη μετάσταση στους περιοχικούς λεμφαδένες, καμία πρόσθετη εξέταση για μεμονωμένα καρκινικά κύτταρα (Isolated Tumor Cells – ITC)

[Σημείωση: Τα ITCs ορίζονται ως μεμονωμένα κύτταρα όγκου ή ένα μικρό άθροισμα [συστάδα] κυττάρων ≤ 0.2 χιλ., που συνήθως ανιχνεύεται μόνο με ανοσοϊστοχημικές (IHC) ή μοριακές μεθόδους, αλλά που μπορεί και να ελεγχθεί με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης (H&E). Τα ITCs δεν παρουσιάζουν συνήθως στοιχεία κακοήθους δραστηριότητας, π.χ. πολλαπλασιασμού ή στρωματικής αντίδρασης.]

- pN0 (i): ιστολογικά καμία μετάσταση στους περιοχικούς λεμφαδένες, αρνητική IHC
- pN0 (I+): ιστολογικά καμία μετάσταση στους περιοχικούς λεμφαδένες, θετική IHC, κανένα άθροισμα [συστάδα] με IHC > 0.2 χιλ.
- pN0 (mol): ιστολογικά καμία μετάσταση στους περιοχικούς λεμφαδένες, αρνητικά μοριακά ευρήματα (RT-PCR, δηλαδή reverse transcriptase/polymerase chain reaction = αλυσιδωτή αντίδραση τρανσκριπτάσης-πολυμεράσης)
- pN0 (mol+): ιστολογικά καμία μετάσταση στους περιοχικούς λεμφαδένες, θετικά μοριακά ευρήματα (RT-PCR)
- pN1: Μετάσταση σε 1 έως 3 μασχαλιαίους λεμφαδένες και/ή στους λεμφαδένες της έσω μαστικής με μικροσκοπική νόσο που ανιχνεύεται από βιοψία Φρουρού Λεμφαδένα (SLN) που είναι κλινικά αφανής**
 - pN1mi: Μικρομετάσταση (> 0.2 χιλ. αλλά ≤ 2.0 χιλ.)
 - pN1a: Μετάσταση σε 1 έως 3 μασχαλιαίους λεμφαδένες
 - pN1b: Μετάσταση στους λεμφαδένες της έσω μαστικής με μικροσκοπική νόσο που ανιχνεύεται από βιοψία SLN που είναι κλινικά αφανής**
- pN2: Μετάσταση σε 4 έως 9 μασχαλιαίους λεμφαδένες ή σε κλινικά προφανείς* λεμφαδένες της έσω μαστικής, ελλείπει μετάσταση στους μασχαλιαίους λεμφαδένες. Μετάσταση στους σύστοιχους μασχαλιαίους λεμφαδένες που ο ένας συμφύεται με τον άλλο ή με άλλους ιστούς



- pN2a: Μετάσταση σε 4 έως 9 μασχαλιαίους λεμφαδένες (τουλάχιστον 1 tumor deposit > 2.0 χιλ.
- pN2b: Μετάσταση κλινικά προφανείς* στους έσω μαστικούς λεμφαδένες ελλείψει μετάστασης στους μασχαλιαίους λεμφαδένες
- pN3: Μετάσταση σε ≥ 9 μασχαλιαίους λεμφαδένες ή στους υποκλείδιους λεμφαδένες ή σε κλινικά προφανείς* σύστοιχους λεμφαδένες έσω μαστικής παρουσία 1 ή περισσότερων θετικών μασχαλιαίων λεμφαδένων ή σε περισσότερους από 3 μασχαλιαίους λεμφαδένες με κλινικά αρνητική μικροσκοπική μετάσταση στους έσω μαστικούς λεμφαδένες ή στους σύστοιχους υπερκλείδιους λεμφαδένες
- pN3a: Μετάσταση σε ≥ 10 μασχαλιαίους λεμφαδένες (τουλάχιστον 1 tumor deposit > 2.0 χιλ.) ή μετάσταση στους υποκλείδιους λεμφαδένες
- pN3b: Μετάσταση σε κλινικά προφανής* σύστοιχους λεμφαδένες της έσω μαστικής παρουσία ≥ 1 θετικού μασχαλιαίου λεμφαδένα ή > 3 μασχαλιαίους λεμφαδένες και έσω μαστικούς λεμφαδένες με μικροσκοπική νόσο που ανιχνεύεται από βιοψία φρουρού λεμφαδένα αλλά κλινικά αφανής**
- pN3c: Μετάσταση στους σύστοιχους υπερκλείδιους λεμφαδένες

** Ως κλινικά μη εμφανής (αφανής) νόσος ορίζεται η μη ανιχνεύσιμη από τις μελέτες απεικόνισης (πλην του λεμφοσπινθηρογραφήματος) ή από την κλινική εξέταση

Στις περιπτώσεις που η ταξινόμηση βασίζεται μόνο στη βιοψία του φρουρού λεμφαδένα (SLNB), δίνεται ο πρόσθετος χαρακτηρισμός (sn) για το “sentinel node”, όπως π.χ. pN1 (sn). Για τις περιπτώσεις στις οποίες η αρχική ταξινόμηση βασίστηκε στη SLNB, αλλά στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε τυπική λεμφαδενική κένωση της μασχάλης, η ταξινόμηση βασίζεται στα συνολικά αποτελέσματα του λεμφαδενικού καθαρισμού (που περιλαμβάνει και τον φρουρό λεμφαδένα).

Απομακρυσμένη μετάσταση (M)

- MX: Η παρουσία απομακρυσμένης μετάστασης δεν μπορεί να αξιολογηθεί
- M0: Καμία απομακρυσμένη μετάσταση
- M1: Ύπαρξη απομακρυσμένης μετάστασης



Πίνακας 2. Στάδια κατά AJCC και UICC

Στάδιο 0

- Tis, N0, M0

Στάδιο I

- T1, N0, M0

Στάδιο IIA

- T0, N1, M0
- T1, N1, M0
- T2, N0, M0

Στάδιο IIB

- T2, N1, M0
- T3, N0, M0

Στάδιο IIIA

- T0, N2, M0
- T1*, N2, M0
- T2, N2, M0
- T3, N1, M0
- T3, N2, M0

Στάδιο IIIB

- T4, N0, M0
- T4, N1, M0
- T4, N2, M0

Στάδιο IIIC

- Οποιοδήποτε T, N3, M0

Στάδιο IV

- Οποιοδήποτε T, οποιοδήποτε N, M1
-

8. Προγνωστικοί παράγοντες στον Καρκίνο του Μαστού

Οι προγνωστικοί δείκτες δίνουν πληροφορίες για την πιθανή έκβαση της νόσου με βάση τα βιολογικά χαρακτηριστικά του νεοπλασματος όπως ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων, η διηθητικότητα και η μεταστατική ικανότητα. Η έκβαση αυτή της νόσου εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως είναι η διάμετρος του όγκου, η κατάσταση των λεμφαδένων, ο ιστολογικός τύπος, ο βαθμός διαφοροποίησης (Grade), η διήθηση αγγείων, η παρουσία νέκρωσης καθώς και άλλοι βιολογικοί δείκτες που χαρακτηρίζουν το νεό-



πλασμα. Τις περισσότερες από τις πληροφορίες για τους προγνωστικούς παράγοντες τις αντλούμε από το χειρουργικό παρασκεύασμα και την τελική ευθύνη για τη διάγνωση και για τον προσδιορισμό τους την έχει το παθολογοανατομικό Εργαστήριο. Δεν είναι λίγοι αυτοί που τους κατατάσσουν σε χρονοεξαρτώμενους και βιολογικούς¹⁰⁵.

- Χρονοεξαρτώμενοι είναι το μέγεθος του όγκου, η κατάσταση των λεμφαδένων, η διήθηση αγγείων, μυελού των οστών και οι απομακρυσμένες μεταστάσεις.

Βιολογικοί είναι το Grade, οι ορμονικοί υποδοχείς, οι δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, η έκφραση ογκογονιδίων και τα διάφορα ένζυμα του ιστού και του ορού.

8.1. Το μέγεθος του όγκου

Σε όλες τις μελέτες έχει καταξιωθεί σαν ο σπουδαιότερος προγνωστικός παράγοντας¹⁰⁶. Όσο μεγαλύτερος είναι ο όγκος τόσο περισσότερες είναι οι πιθανότητες μεταστάσεων στη μασχάλη. Σε όγκους μικρότερους του 1 εκ. εμφανίζονται μεταστάσεις στους μασχαλιαίους λεμφαδένες σε ποσοστό 5-25% και η πενταετής επιβίωση ανέρχεται σε 90%, ενώ σε όγκους με διάμετρο 2-2,5 εκ. η πενταετής επιβίωση ελαττώνεται στο 65%. Μεγαλύτεροι όγκοι έχουν μεγαλύτερα ποσοστά διήθησης μασχαλιαίων λεμφαδένων και μικρότερα ποσοστά επιβίωσης^{107,108}. Γενικά το μέγεθος επηρεάζει τη συμμετοχή των λεμφαδένων και επίσης σχετίζεται καθαρά με την υποτροπή και την επιβίωση¹⁰⁹. Τέλος στα μεγαλύτερα νεοπλάσματα υπάρχει εκταταμένη νέκρωση του όγκου και εδώ τα ποσοστά 10ετούς επιβίωσης είναι απογοητευτικά¹¹⁰.

8.2. Η κατάσταση των μασχαλιαίων λεμφαδένων

Οι μεταστάσεις στους μασχαλιαίους λεμφαδένες αποτελούν τον κύριο και πιο αξιόπιστο δείκτη της επιθετικότητας του όγκου και απ' αυτούς εξαρτάται ο χρόνος ελεύθερος νόσου και η συνολική επιβίωση¹¹¹. Το 20-30% των ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες θα παρουσιάσει υποτροπή εντός της δεκαετίας έναντι 70% αυτών που έχουν θετικούς λεμφαδένες¹¹². Ο απόλυτος αριθμός των προσβεβλημένων λεμφαδένων είναι σημαντικός, ενώ κλινική σημασία φαίνεται να έχει και το επίπεδο των προσβεβλημένων λεμφαδένων. Όσο αυξάνει ο αριθμός ή το επίπεδο των διηθημένων λεμφαδένων, τόσο δυσμενέστερη γίνεται η πρόγνωση, όχι μόνο για την πιθανότητα υποτροπής, αλλά επίσης και για την ταχύτητα που αυτή θα επέλθει και για την επιβίωση μετά την υποτροπή^{113,114}. Όμως ο συνολικός αριθμός των



διηθημένων λεμφαδένων είναι πιο αξιόπιστος δείκτης σε σχέση με το επίπεδο που εντοπίζονται αυτοί^{115,116}. Όταν παρατηρείται εστιακή κατάληψη του λεμφαδένα (μικρομεταστάσεις) ή όταν η μετάσταση περιορίζεται μέσα στα όρια του λεμφαδένα (≤ 2 mm) η πρόγνωση είναι πολύ πιο ευνοϊκή απ' ό,τι όταν είναι μεγαλύτερες και καταλαμβάνουν ολόκληρο τον λεμφαδένα ή όταν επεκτείνονται στον γύρω λιπώδη ιστό. Υποστηρίζεται ότι όταν υπάρχει μικρομετάσταση (pN1mi) οι ασθενείς έχουν την ίδια πρόγνωση με ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες^{106,107} ενώ σε μονήρη μετάσταση που είναι μεγαλύτερη των 2 εκ. η πρόγνωση είναι παρόμοια μ' αυτήν των 2 ή περισσότερων θετικών λεμφαδένων¹⁰⁸. Μεγάλος προβληματισμός υπάρχει για τον τρόπο ανίχνευσης αυτών των μικροεστιών με ή χωρίς ανοσοϊστοχημεία και αν τα νεοπλασματικά κύτταρα αφορούν μεμονωμένα ή νεοπλασματικά κύτταρα σε αθροίσεις¹¹⁷. Αναφέρεται ότι ο αριθμός των διηθημένων λεμφαδένων, που ανιχνεύονται μικροσκοπικά, θα μπορούσε να αυξηθεί έως και 20% εφόσον οι ιστολογικές τομές αιμοτοξυλίνης-ηωσίνης διαταμούν σε βάθος ή επιστρατευθούν μονοκλωνικά αντισώματα¹¹⁸. Μετά από ανοσοϊστοχημική ανίχνευση, μικρομετάσταση βρίσκεται στο 12-29% των ασθενών και 15% αυτών των ασθενών εμφανίζουν απομακρυσμένες μεταστάσεις¹¹⁹. Μείωση της επιβίωσης παρατηρείται σε μετα-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με περισσότερους των 4 διηθημένων λεμφαδένων ενώ όσον αφορά τις προεμμηνοπαυσιακές, η πρόγνωση είναι δυσμενής με διήθηση περισσότερων το 2 λεμφαδένων^{107,108}.

8.3. Ιστολογικός τύπος

Ο ιστολογικό τύπος του καρκινώματος φαίνεται ότι παίζει ρόλο στην εξέλιξη της νόσου, ενώ σε περίπτωση που συνυπάρχει νέκρωση του όγκου η πρόγνωση είναι εξαιρετικά δυσμενής¹¹⁰. Μεταξύ του πορογενούς και του λοβιακού καρκινώματος δεν φαίνεται να υπάρχει διαφορά στην πρόγνωση· η πενταετής επιβίωση φτάνει το 70%¹⁰⁸.

Το σωληνώδες και το ηθμοειδές διηθητικό καρκίνωμα έχουν άριστη πρόγνωση (90-100% δεκαετή επιβίωση)¹⁰¹, όπως επίσης και το βλεννώδες καρκίνωμα (80-100% δεκαετή επιβίωση). Το μυελοειδές καρκίνωμα αναφέρεται ότι έχει καλύτερη πρόγνωση από το πορογενές διηθητικό ενώ στο φλεγμονώδες καρκίνωμα η πρόγνωση είναι κάκιστη¹⁰¹.

8.4. Ο βαθμός κακοήθειας (Grade)

Ο βαθμός κακοήθειας μας παρέχει χρήσιμες προοπτικές και αναδρομικές πληροφορίες που αφορούν την πρόγνωση και είναι σημαντικός δεί-



κτης επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του μαστού. Ασθενείς με βαθμό κακοήθειας 1 έχουν 85% πιθανότητα δεκαετούς επιβίωσης ενώ ασθενείς με βαθμό κακοήθειας 3 το ποσοστό είναι μικρότερο του 45%¹⁰¹.

Ο προσδιορισμός του βαθμού κακοήθειας δεν πρέπει να περιορίζεται στο διηθητικό καρκίνωμα μη ειδικού τύπου αλλά να πραγματοποιείται για όλους τους ιστολογικούς υποτύπους με εξαίρεση το σωληνώδες και το μυελοειδές καρκίνωμα, όπου ο βαθμός κακοήθειας είναι προφανής. Σε παρασκευάσματα που είναι υπερβολικά μικρά ή είναι κακώς μονιμοποιημένα πρέπει να αποφεύγεται ο προσδιορισμός του βαθμού κακοήθειας του καρκινώματος¹⁰¹.

8.5. Η διήθηση αγγείων (αιμοφόρων και λεμφικών)

Η διήθηση αγγείων στην περιφέρεια του νεοπλάσματος και η ύπαρξη εμβόλων αποτελούν σημείο κακής πρόγνωσης και σχετίζεται με την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων, τοπικής υποτροπής ή την εμφάνιση απομακρυσμένων μεταστάσεων^{120,121}. Επίσης η διήθηση νεύρων θεωρείται επίσης κακός προγνωστικός παράγοντας¹⁰⁷. Η μη καταγραφή διήθησης αγγείων σε μια ιστολογική έκθεση δεν σημαίνει ότι δεν υπάρχει και ο Παθολογοανατόμος πρέπει να επιμένει στην μικροσκοπική τους περιγραφή ή όταν δεν είναι εφικτή να προχωρά στην ανοσοϊστοχημική ανίχνευση.

8.6. Οι ορμονικοί υποδοχείς – ERa, ERb και PgR

Οιστρογόνα και προγεστερόνη ασκούν την δράση τους συνδεδέμενα με ειδικούς υποδοχείς (estrogen receptors – ER και progesterone receptors – PgR) και πιο ειδικά η δράση των οιστρογόνων ασκείται μέσω δύο ειδικών υποδοχέων των ERa και ERb, ενώ η προγεστερόνη εκφράζεται μέσω του PgR¹²². Το σύμπλεγμα ορμόνη-υποδοχέας μεταναστεύει στον πυρήνα του κυττάρου-στόχου και με μια σειρά από γεγονότα-αλληλουχίες (estrogen ή progesterone response elements) συνδέεται με το DNA με απώτερο αποτέλεσμα την έκφραση της ορμονικής δράσης¹²³. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι ERa και ERb είναι προϊόντα διαφορετικών γονιδίων σε διαφορετικά χρωματοσώματα¹²⁴. Οι ER και οι PgR αποτελούν σήμερα τους περισσότερο μελετημένους βιολογικούς προγνωστικούς δείκτες στον καρκίνο του μαστού και παρέχουν σημαντικές πληροφορίες τόσο για την πορεία της νόσου και τα ποσοστά επιβίωσης των ασθενών όσο και για τα ποσοστά ανταπόκρισης στη θεραπεία, ώστε να γίνεται ο κατάλληλος θεραπευτικός χειρισμός¹²⁵.

Ο προσδιορισμός των ορμονικών υποδοχέων γίνεται βιοχημικά ή ανοσοϊστοχημικά και σήμερα αποτελεί διαγνωστική ρουτίνα για όλους τους ό-



γκους του μαστού. Αρχικά η εκτίμηση του ER/PgR status γινόταν σε φρέσκο νεοπλασματικό ιστό με τη χρήση τεχνικών σύνδεσης του προσθέτη (ELISA), όμως σήμερα με την πρόοδο της τεχνολογίας η ανοσοϊστοχημεία (IHC) είναι η μέθοδος εκλογής για την εκτίμηση των ER/PgR, καθώς έχει αποδειχθεί ότι είναι ισοδύναμη ή και καλύτερη από τις βιοχημικές μεθόδους¹²⁶. Ωστόσο, ειδικά για τους ERb δεν υπάρχει, σήμερα, γενικά αποδεκτή μέθοδος ανίχνευσης.

Σε ορισμένους όγκους ανιχνεύονται τόσο οι οιστρογονικοί όσο και ο προγεστερονικοί υποδοχείς, ενώ άλλοι εμφανίζουν μόνο τον ένα τύπο και σε μια τέταρτη κατηγορία απουσιάζουν ολοσχερώς οι υποδοχείς και των δύο τύπων. Η παρουσία και η συγκέντρωση των υποδοχέων στους όγκους του μαστού είναι χαμηλότερη στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες απ' ότι στις μεταεμμηνοπαυσιακές (Πίνακας 3)¹²⁸.

Η ηλικία της ασθενούς φαίνεται ότι παίζει ρόλο στην παρουσία και συγκέντρωση των υποδοχέων και προφανώς αυτό οφείλεται, μερικώς τουλάχιστον, στα αυξημένα ποσά ενδογενών οιστρογόνων στο πλάσμα των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών, που μπορεί να καλύπτουν τις θέσεις σύνδεσης των ER. Τα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων δεν είναι η μοναδική αιτία αυτής της διαφοράς, γιατί είναι γνωστά ότι τα οιστρογόνα προάγουν τη δημιουργία τόσο των δικών τους υποδοχέων όσο και της προγεστερόνης. Όμως η προγεστερόνη, που εμφανίζει αυξημένα επίπεδα στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε σχέση με τις μεταεμμηνοπαυσιακές όπου τα επίπεδα είναι χαμηλά, μειώνει τόσο τους ER όσο και τους PgR. Η αρνητική έκφραση των ER και η θετική έκφραση των PgR (ER⁻, PgR⁺) είναι ποσοστιαία τρεις φορές μεγαλύτερη στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε σχέση με τις μεταεμμηνοπαυσιακές. Συμπερασματικά, αναφορικά με τους ορμονικούς υποδοχείς, θα πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη το ορμονικό προφίλ της ασθενούς, η παρουσία ή όχι καταμήνιου κύκλου, για την εκτίμηση της πορείας της νόσου και για την επιλογή του θεραπευτικού σχήματος^{129,130}.

Πίνακας 3. Ορμονικοί υποδοχείς σε σχέση με το ορμονικό προφίλ της γυναίκας.

Φαινότυπος	Προ-εμμηνοπαυσιακές	Μετα-εμμηνοπαυσιακές
ER ⁺ PgR ⁺	45%	63%
ER ⁺ PgR ⁻	12%	15%
ER ⁻ PgR ⁺	15%	5%
ER ⁻ PgR ⁻	28%	17%



Σύμφωνα με το Αμερικάνικο Κολλέγιο Παθολογοανατόμων ο ERa ανήκει στην κατηγορία I προγνωστικών παραγόντων καρκίνου του μαστού, δηλαδή είναι αποδεδειγμένης προγνωστικής αξίας και χρήσιμος στη θεραπευτική αντιμετώπιση του ασθενούς. Η παρουσία του ERa σχετίζεται με ευνοϊκά προγνωστικά χαρακτηριστικά, όπως η καλύτερη διαφοροποίηση και ο χαμηλότερος ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού^{123,131}. Επιπλέον είναι σημαντικός προβλεπτικός παράγοντας της απάντησης στην ορμονοθεραπεία, καθώς η πιθανότητα και ο βαθμός απάντησης στην ορμονοθεραπεία είναι ανάλογα με την έκφραση των ERa τόσο στον πρωτοπαθή όγκο όσο και στις μεταστατικές εστίες. Ο PgR θεωρείται ανεξάρτητος προβλεπτικός παράγοντας της απάντησης στην ορμονοθεραπεία. Νεοπλάσματα που είναι ταυτόχρονα ERa⁺ και PgR⁺ εμφανίζουν την μεγαλύτερη ανταπόκριση στην ορμονοθεραπεία, ωστόσο και εκείνα που είναι μόνο ERa⁺ ή μόνο PgR⁺ ανταποκρίνονται επίσης σε ποικίλο βαθμό¹²⁵. Ο ρόλος και η σημασία έκφρασης των ERb δεν είναι απόλυτα τεκμηριωμένος¹³², όμως υπάρχουν ενδείξεις ότι συνδέονται με καλύτερη πρόγνωση και ότι είναι περισσότερο ευαίσθητοι στους αναστολείς αρωματάσης απ' ότι στην ταμοξιφαίνη^{123,124}. Οι μεταστατικές εστίες σε γενικές γραμμές εμφανίζουν τα ίδια επίπεδα ορμονικών υποδοχέων με τους πρωτοπαθείς όγκους αλλά συχνά είναι λιγότερο διαφοροποιημένες απ' αυτούς. Κατά την κακοήθη αυτή εξέλιξη μπορεί να επέλθει απώλεια ορμονικών υποδοχέων που υποδηλώνει έναν πιο ορμονοανεξάρτητο τύπο ανάπτυξης της μεταστατικής εστίας. Υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν μία προοδευτική απώλεια των υποδοχέων σε όγκους του μαστού καθώς η νόσος εξελίσσεται. Έτσι όποτε είναι δυνατό και εφικτό οι ορμονικοί υποδοχείς θα πρέπει να επαναπροσδιορίζονται στις μεταστατικές εστίες¹²⁸.

Η παρουσία των ER, PgR παρέχει μία μοριακή βάση για τον διαχωρισμό των καρκινωμάτων του μαστού σ' αυτά που ανταποκρίνονται στην ορμονοθεραπεία και σ' αυτά που δεν ανταποκρίνονται. Στον Πίνακα 4 φαίνονται οι συχνότητες των συνδυασμών ER και PgR στο σύνολο των ασθενών (προ- και μεταεμμηνοπαυσιακών) σε σχέση με την ανταπόκριση στην ορμονοθεραπεία.

Οι διαφορές ανταπόκρισης στην ορμονοθεραπεία και η αντίσταση στην ορμονοθεραπεία, που κατά μέσο όρο φτάνει στο 25%, μπορεί να έχει σχέση με τον μεταβολισμό των αντιοιστρογόνων στα νεοπλασματικά κύτταρα, με τα επίπεδα έκφρασης ρυθμιστικών πρωτεϊνών (co-regulators), με την υπερέκφραση πρωτεϊνών που εμπλέκονται σε ενδοκυττάριους μηχανισμούς



Πίνακας 4. Σχέσεις μεταξύ των ορμονικών υποδοχέων και της ανταπόκρισης στην ορμονοθεραπεία

Φαινότυπος	Συχνότητα	Ανταπόκριση
ER ⁺ PgR ⁺	58%	60-80%
ER ⁺ PgR ⁻	23%	27-40%
ER ⁻ PgR ⁺	4%	45%
ER ⁻ PgR ⁻	15%	10%

μεταγωγής σημάτων (c-erb-B2 και EGFR) και φυσικά με τον πολυμορφισμό των ορμονικών υποδοχέων. Ανοσοϊστοχημικά έχουν ανιχνευθεί 5 ισόμορφοι τύποι του ERb. Η ανίχνευση των ERb φαίνεται ότι ανοίγει νέους ορίζοντες στη διερεύνηση νέων ασθενών που θα ανταποκριθούν στην ορμονοθεραπεία. Το γεγονός ότι η ταμοξιφαίνη αλληλεπιδρά με τους ERb θα μπορούσε να δικαιολογήσει περιπτώσεις μη ανταπόκρισης στη χορήγησή της σε όγκους θετικούς στους ERa.

Στη συνθήκη του St Galen¹¹⁷ το 2005 οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού ταξινομούνται με βάση την προβλεπόμενη ανταπόκριση στην ορμονοθεραπεία: 1) σε ασθενείς με θετική ανταπόκριση που ο όγκος τους έχει θετική έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων, 2) σε ασθενείς με αβέβαιη ανταπόκριση, που οι ER απαντώνται σε < 10% των πυρήνων των νεοπλασματικών κυττάρων ή οι PgR απουσιάζουν εντελώς (άσχετα από την κατάσταση των ER) ή παρατηρείται μεγάλος αριθμός διηθημένων λεμφαδένων, κ.ά., 3) σε ασθενείς με αρνητική ανταπόκριση επί πλήρους απουσίας υποδοχέων στον όγκο.

8.7. Το ογκογονίδιο *HER-2/neu* (c-erb-B2)

Το HER-2/neu (ανθρώπινος επιθηλιακός υποδοχέας 2 ή c-erb-B2 ογκοπρωτεΐνη) γονίδιο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17 και κωδικοποιεί έναν διαμεμβρανικό υποδοχέα με δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης. Ενίσχυση του γονιδίου HER-2 και υπερέκφραση της πρωτεΐνης παίζουν σημαντικό ρόλο κυτταρικής ανάπτυξης¹³³. Ασθενείς με υπερέκφραση της πρωτεΐνης c-erb-B2 έχουν χειρότερη πρόγνωση σ' ότι αφορά την επιθετικότητα της νόσου (χρόνος ελεύθερος νόσου) αλλά και τη συνολική επιβίωση, κυρίως σε ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες^{134,135}. Πιο συγκεκριμένα υπερέκφραση της πρωτεΐνης και/ή ενίσχυση του γονιδίου παρατηρούνται στο 20-30% των διηθητικών καρκίνων του μαστού και στην πλειονότητα των υψηλού βαθμού



in situ πορογενών καρκινώματων^{136,137}. Το ενδιαφέρον είναι ότι ένας πρωτοπαθής όγκος που εκφράζει θετική την ογκοπρωτεΐνη c-erb-B2 θα εκφράζει θετική και την μεταστατική νόσο ακόμα και μεταγενέστερες εστίες. Αντίθετα ένας πρωτοπαθής όγκος δεν σημαίνει υποχρεωτικά αρνητική έκφραση σε μεταστατικές εστίες ακόμα και τις μεταγενέστερες.

- Η έκφραση του HER-2/neu μπορεί να καταδειχθεί με ανοσοϊστοχημικό έλεγχο οπότε ανιχνεύεται η c-erb-B2 πρωτεΐνη ή με ανάλυση του HER-2/neu γονιδίου με τη μέθοδο FISH. Ο ανοσοϊστοχημικός έλεγχος έχει παγιωθεί ως εξέταση ρουτίνας και η ανάλυση με τη μέθοδο FISH χρησιμοποιείται είτε εναλλακτικά είτε σε συνδυασμό με την ανοσοϊστοχημεία¹³⁸. Πάντως συμφωνία μεταξύ των δύο μεθόδων παρατηρείται σε ποσοστό άνω του 90%¹³⁹.

Η σχέση μεταξύ του HER-2 γονιδίου/πρωτεΐνης και ανταπόκρισης στη θεραπεία εξαρτάται από το θεραπευτικό σχήμα. Ασθενείς με θετικό HER-2 ανταποκρίνονται περισσότερο σε σχήματα που περιλαμβάνουν ανθρακυκλίνες, ενώ παρατηρείται ανθεκτικότητα σε θεραπεία με ταμοξιφαίνη, ευαισθησία στους αναστολείς της αρωματάσης σε όγκους θετικούς σε ER και HER και αλληλεπίδραση με τις ταξάνες¹³². Η ανάπτυξη ανασυνδυασμένου ανθρώπινου μονοκλωνικού αντισώματος που αναγνωρίζει το εξωκυττάριο τμήμα της πρωτεΐνης HER-2 (trastuzumab) και τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα από τη θεραπεία με καρκίνο του μαστού και θετικό HER-2 κάνουν σήμερα αναγκαία την ανίχνευση της ογκοπρωτεΐνης c-erb-B2¹⁴⁰.

Στα συμπεράσματα από το St Galen το 2005 το HER-2 αποτελεί άσχημο προγνωστικό παράγοντα και συνδέεται με μειωμένη επιβίωση ακόμη και σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες, γι' αυτό και κατέχει σημαντικό ρόλο στην ταξινόμηση των ομάδων επικινδυνότητα όσον αφορά την πρόγνωση αλλά και την απόφαση για το θεραπευτικό σχήμα σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού¹¹⁷. Σήμερα είναι αποδεκτό διεθνώς ότι ο θεράπων ιατρός πρέπει να έχει στη διάθεσή του την εκτίμηση του HER-2/neu· η εκτίμηση γίνεται στην πρωτοπαθή εστία με την έναρξη της νόσου. Για τους ασθενείς που δεν είναι διαθέσιμη η πρωτοπαθής εστία η εκτίμηση γίνεται από την μεταστατική εστία. Εκτίμηση στη μεταστατική εστία γίνεται επίσης όταν έχει κλινική σημασία και ο πρωτοπαθής όγκος ήταν αρνητικός σε ανοσοϊστοχημικό έλεγχο.

8.8. Άλλοι βιολογικοί δείκτες

Υπάρχει και μια σειρά από άλλους βιολογικούς δείκτες η έκφραση των οποίων σχετίζεται με τον καρκίνο του μαστού, αλλά δεν χρησιμοποιούνται



στην καθημερινή κλινική πράξη είτε γιατί είναι αντικείμενα περαιτέρω μελετών προκειμένου να αποδειχθεί η προγνωστική τους και η προβλεπτική τους αξία είτε γιατί η ανίχνευσή τους δεν μπορεί να αλλάξει την θεραπευτική στρατηγική.

8.8.α. Το γονίδιο p53

Το γονίδιο p53 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17 (θέση 17p53) και κωδικοποιεί πρωτεΐνες που παίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταγραφή και επιδιόρθωση βλαβών του DNA. Το φυσικό στέλεχος του γονιδίου p53 λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο και αποτρέπει τον νεοπλασματικό μετασχηματισμό των κυττάρων οδηγώντας τα κύτταρα που παρουσιάζουν βλάβη του DNA σε απόπτωση. Οι μεταλλαγμένες μορφές του p53 που ανιχνεύονται στα κύτταρα του όγκου στερούνται αυτών των ιδιοτήτων^{141,142}. Μεταλλάξεις του p53 γονιδίου παρατηρούνται σε ποσοστό 20-40% των καρκινωμάτων του μαστού ανιχνεύονται ανοσοϊστοχημικά^{142,143} και υπερέκφρασή του σχετίζεται με επιθετική βιολογική συμπεριφορά κατατάσσοντάς τον στους δείκτες πτωχής πρόγνωσης.

8.8.β. Το γονίδιο Bcl2

Η εντόπιση του Bcl2 στα μιτοχόνδρια παίζει σημαντικό ρόλο στα πρώιμα στάδια της απόπτωσης και θεωρείται «αναστολέας του κυτταρικού θανάτου» προάγοντας τελικά την βιωσιμότητα των κυττάρων¹⁴⁵. Το γονίδιο Bcl2 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 18q και υπερέκφραση της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί παρατηρείται στο 76% των καρκίνων του μαστού σχετιζόμενη με παραμέτρους καλής πρόγνωσης όπως χαμηλό βαθμό κακοήθειας, θετική έκφραση ορμονικών υποδοχέων, αρνητική έκφραση p53, χαμηλό δείκτη Ki-67, ενώ φαίνεται να έχει κάποια αξία στην πρόβλεψη της ανταπόκρισης στη θεραπευτική αγωγή^{146,147}.

8.8.γ. Ki-67

Από τους δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού το μονοκλωνικό αντίσωμα Ki-67 ανιχνεύει ένα πυρηνικό αντιγόνο, το οποίο είναι παρών σ' όλες τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου, εκτός από την φάση G0¹⁴⁸. Η ανοσοϊστοχημική του έκφραση συνδυάζεται με ανευπλοειδικούς όγκους, με υψηλό μιτωτικό δείκτη, υψηλό βαθμό κακοήθειας και απουσία ορμονικών υποδοχέων. Συμπερασματικά, η έκφραση του Ki-67 φαίνεται να αποτελεί έναν ανεξάρτητο, δυσμενή προγνωστικό παράγοντα για τον καρκίνο του μαστού¹⁴⁹.



8.8.δ. Ογκογονίδια *c-myc* και *c-ras*

Το ογκογονίδιο *c-myc* βρίσκεται στο χρωμόσωμα 8q24, υπερέκφραζεται στο 15-20% των καρκίνων του μαστού και η υπερέκφρασή του σχετίζεται με φτωχή πρόγνωση¹⁵⁰. Το ογκογονίδιο *c-ras* κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p21 και η υπερέκφρασή της επίσης σχετίζεται με φτωχή πρόγνωση καθώς συνδέεται με αυξημένη πιθανότητα τοπικής υποτροπής και λεμφαδενικών μεταστάσεων¹⁵¹.

8.8.ε. Το γονίδιο *Rb*

Το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος κωδικοποιεί μία πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη που δρα σαν αρνητικός ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου. Διαταραχές στην έκφρασή της παρατηρείται σε καρκινώματα του μαστού με διηθημένους λεμφαδένες, ενώ δεν παρατηρείται συσχέτιση με την εμφάνιση υποτροπών ή την επιβίωση των ασθενών¹⁴⁴.

8.8.στ. *p27* και *SKp2*

Τα *p27* και *SKp2* είναι αρνητικοί ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου, θεωρούνται ογκοκατασταλτικά γονιδιά τους και διαταραχή της λειτουργίας τους συνδέεται με κακοήθη συμπεριφορά¹⁵².

8.8.ζ. Η *p52* πρωτεΐνη

Η *p52* πρωτεΐνη είναι οιστρογονοεξαρτώμενη, ανιχνεύεται κυρίως σε καρκίνους μαστού με ER⁺ και φαίνεται να αποτελεί περισσότερο αξιόπιστο δείκτη ανταπόκρισης στην ορμονοθεραπεία σε σχέση με τους ορμονικούς υποδοχείς. Η απουσία της σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση¹⁵³.

8.8.η. Καθεψίνη D

Πρόκειται για λυσοσωματική πρωτεάση που προκαλεί λύση των πρωτεϊνών του στρώματος γύρω από το νεόπλασμα και κατ' αυτόν τον τρόπο αυξάνει τη διηθητική και μεταστατική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων. Υπερέκφραση της καθεψίνης D σχετίζεται με επιθετική συμπεριφορά του νεοπλάσματος, θετική έκφραση του *c-erbB-2* και φτωχή πρόγνωση¹⁵⁴.

Συμπερασματικά, στη συνάντηση του St Galen¹¹⁷ το 2005 αφού ελήφθησαν υπόψη όλοι οι προγνωστικοί και προβλεπτικοί παράγοντες, κατηγορίας I και II (σύμφωνα με το Αμερικάνικο Κολλέγιο Παθολογοανατόμων) καθιερώθηκαν τρεις κατηγορίες επικινδυνότητας, χαμηλής – ενδιάμεσης – υψηλής, οι οποίες ισχύουν διεθνώς (Πίνακας 5) και φανερώνουν τον σημαντικό ρόλο του Παθολογοανατόμου στον σχεδιασμό της θεραπείας στον καρ-



Πίνακας 5. Κατηγορίες επικινδυνότητας

Χαμηλού κινδύνου	ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες και οι ασθενείς με: pT ≤ 2 εκ. & grade I & απουσία νεοπλασματικών εμβολών σε αγγεία/περιφέρεια όγκου & αρνητικό HER2/neu ηλικία ≥ 35 ετών
Ενδιάμεσου κινδύνου	ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες και οι ασθενείς τουλάχιστον με 1 από τα κατωτέρω στοιχεία: pT > 2 εκ., ή grade 2-3, ή παρουσία νεοπλασματικών εμβολών σε αγγεία/περιφέρεια όγκου ή θετικό HER2/neu ή ηλικία < 35 ετών Θετικοί λεμφαδένες (1-3 θετικοί) & HER2/neu αρνητικό
Υψηλού κινδύνου	ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες (1-3) και θετικό HER2/neu ασθενείς με 4 ή > 4 λεμφαδένες

κίνο του μαστού και τη σημασία της συνεργασίας όλων των εμπλεκόμενων ιατρικών ομάδων (χειρουργών, παθολόγων-ογκολόγων, ακτινοθεραπευτών) στη διαμόρφωση της θεραπευτικής στρατηγικής για την αντιμετώπισή του.

9. Μοριακή ταξινόμηση των καρκινωμάτων του μαστού

Το γεγονός ότι καρκινώματα του μαστού, του-ιδίου ιστολογικού τύπου και του ίδιου σταδίου σύμφωνα με την κλασσική ταξινόμηση κατά TNM της AJCC και της UICC, τον ίδιο βαθμό διαφοροποίησης και ανάλογη έκφραση των ορμονικών υποδοχέων καθώς και των άλλων προγνωστικών και προβλεπτικών παραμέτρων, παρουσιάζουν διαφορετική κλινική πορεία και διάφορη ανταπόκριση στα προτεινόμενα θεραπευτικά σχήματα, γέννησε την ανάγκη για μια νέα ταξινόμηση των όγκων με βάση τη μοριακή τους εικόνα, την έκφραση των γονιδίων και των πρωτεϊνών που αυτά κωδικοποιούν και με βάση αυτά να δοθεί ερμηνεία στη βιολογική τους συμπεριφορά. Τα τελευταία έτη προτείνεται η ταξινόμηση των καρκινωμάτων του μαστού σε αυλικού τύπου (luminal cell) και βασικού τύπου (basal cell) που χαρακτηρίζο-



νται από ειδικό ανοσοφαινότυπο και συνδέονται με δεδομένη πρόγνωση και ανταπόκριση στις θεραπείες^{155,156}.

9.1. Αυλικού τύπου καρκινώματα του μαστού

Τα αυλικού τύπου καρκινώματα περιλαμβάνουν τα καρκινώματα του μαστού που εκφράζουν θετικά τους ορμονικούς υποδοχείς και έχουν μορφές έκφρασης παρόμοιες με αυτές των αυλικών επιθηλιακών κυττάρων του μαστού. Αυτές οι μορφές περιλαμβάνουν την έκφραση των ER, των αυλικών κερατινών 8/18, και γονίδια που συνδυάζονται με την ενεργοποίηση των ER.

Λιγότεροι από το 20% των αυλικών όγκων έχουν μετάλλαξη στο TP53 και αυτοί οι όγκοι είναι βαθμού διαφοροποίησης 1.

Στην ομάδα αυτή περιλαμβάνονται τουλάχιστον δύο υπότυποι τα αυλικά A και αυλικά B καρκινώματα του μαστού. Αν και οι δύο υπότυποι εκφράζουν θετικά τους ορμονικούς υποδοχείς έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά. Τα αυλικά A καρκινώματα εμφανίζουν γενικά εντονότερη έκφραση των ER γονιδίων και μικρότερη έκφραση των γονιδίων του κυτταρικού πολλαπλασιασμού απ' ότι τα αυλικά B καρκινώματα του μαστού.

Τα αυλικά καρκινώματα είναι ο πιο συχνός τύπος των καρκινωμάτων του μαστού σε ποσοστό που φθάνει το 67% των όγκων, ενώ κατά την αναπαραγωγική περίοδο το ποσοστό εμφάνισης των αυλικών A καρκινωμάτων πέφτει στο 36%.

Τα αυλικά B καρκινώματα συνήθως είναι χαμηλότερης διαφοροποίησης όγκοι απ' ότι τα αυλικά A καρκινώματα.

Τα αυλικά καρκινώματα έχουν γενικά καλή πρόγνωση και μάλιστα τα αυλικά B έχουν χειρότερη πρόγνωση σε σχέση με τα αυλικά A καρκινώματα του μαστού. Αυτή η διαφορά στην έκβαση μπορεί να οφείλεται εν μέρει στη διαφορετική αντίδραση στη θεραπεία.

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι θετικοί όγκοι στους ορμονικούς υποδοχείς ανταποκρίνονται πολλές φορές λιγότερο στη χημειοθεραπεία και η μειωμένη ανταπόκριση φαίνεται να οφείλεται στους δύο αυλικούς υποτύπους με τα αυλικά B καρκινώματα να έχουν μικρότερη ανταπόκριση.

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα αυλικά καρκινώματα στο σύνολό τους έχουν καλή ανταπόκριση στην ορμονοθεραπεία. Η χρήση αγγειογενετικών παραγόντων φαίνεται να έχει επίσης ευεργετικά αποτελέσματα στους περισσότερους από το 60% των ασθενών με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς και αρνητικό HER2.

Σύμφωνα με τις τελευταίες εκτιμήσεις τα αυλικά B καρκινώματα με την χειρότερη κλινική πορεία, εμφανίζουν μεγαλύτερο δείκτη πολλαπλασιασμού



και περισσότερες υποτροπές. Έτσι τα αυλικά Α καρκινώματα αντιμετωπίζονται θεραπευτικά με ορμονοθεραπεία ενώ στα αυλικά Β με ορμονοθεραπεία και χημειοθεραπεία¹⁵⁷.

9.2. HER2 υπότυπος

Στους HER2 όγκους περιλαμβάνονται τα θετικά στο HER2 καρκινώματα τα οποία εμφανίζουν αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς. Τα νεοπλάσματα αυτά δεν πρέπει να συγχέονται με τους κλινικά HER2 θετικούς όγκους στους οποίους περιλαμβάνονται και όγκοι με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς που σύμφωνα με αυτή την κατάταξη περιλαμβάνονται στα αυλικά καρκινώματα.

Όπως και τα βασικού τύπου, τα HER2 καρκινώματα είναι συνήθως βαθμού κακοηθείας 3 νεοπλάσματα τα οποία εμφανίζουν υψηλή αναλογία μετάλλαξης του TP53 (40-80%).

Στην πλειονότητά τους είναι όγκοι χαμηλής διαφοροποίησης με μεγάλο μέγεθος (μέση διάμετρος 3,6 εκ.) που εμφανίζουν απομακρυσμένες μεταστάσεις και μεταστάσεις στους λεμφαδένες σε διπλάσιο ποσοστό απ' ότι τα αυλικά καρκινώματα.

Τα HER2 καρκινώματα έχουν άσχημη πρόγνωση και αυτό καταδεικνύεται από τη μεγάλη πιθανότητα να εμφανίζουν, όπως και τα βασικού τύπου καρκινώματα, πρόωμη υποτροπή.

Είναι ευαίσθητα στις ανθρακνκλίνες και στην συμβατική χημειοθεραπεία με ταξάνες με πολύ καλύτερη αντίδραση απ' ότι τα αυλικά καρκινώματα (46% έναντι 7%).

Τα HER2 και τα βασικού τύπου καρκινώματα είναι όγκοι που εμφανίζουν τα καλύτερα αποτελέσματα στη χημειοθεραπεία. Σε αντίθεση με τα βασικού τύπου νεοπλάσματα όμως τα HER2 καρκινώματα μπορούν να δεχθούν στοχευμένη θεραπεία με αντιHER2 μονοκλωνικά αντισώματα trastuzumab. Η επίδραση του trastuzumab στα μεταστατικά καρκινώματα του μαστού καθώς επίσης η αξιοσημείωτη μείωση των υποτροπών στα HER2 θετικά καρκινώματα που θεραπεύθηκαν με trastuzumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία, ενισχύει την άποψη ότι στο μέλλον θα μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε στοχευμένη θεραπεία με πολύ καλά αποτελέσματα. Υπάρχουν όμως HER2 θετικά καρκινώματα τα οποία δεν αντιδρούν στο trastuzumab, σε αυτές τις περιπτώσεις η απώλεια ή η αδρανοποίηση του PTEN και η απορύθμιση του CXCR4 γονιδίου έχουν ενοχοποιηθεί για την αντίσταση στη θεραπεία.



9.3. Βασικού τύπου καρκινώματα του μαστού

Ο βασικού τύπου υπότυπος καρκινώματος του μαστού ονομάστηκε έτσι διότι η μορφή έκφρασης αυτού του υποτύπου μιμείται τα βασικά επιθηλιακά κύτταρα από άλλα μέρη του οργανισμού και τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα του φυσιολογικού μαστού. Αυτές οι ομοιότητες περιλαμβάνουν έλλειψη της έκφρασης των ER, PR και των σχετικών γονιδίων, μειωμένη έκφραση του HER2, έντονη έκφραση των «βασικών» κερατινών 5, 6, 17 και έκφραση των vimentin, p-cadherin, aB, crystallin, fascin, caveolins. Παρουσιάζουν επίσης υψηλά επίπεδα έκφρασης των γονιδίων που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, εκφράζοντας υποδοχείς του EGFR σε ποσοστά μεγαλύτερο από το 60% και εμφανίζουν ανοσοϊστοχημική έκφραση του p53 ή μετάλλαξη του TP53 γονιδίου στο 85% των περιπτώσεων.

Σε μία τελευταία μελέτη καθορίστηκε ότι το 60% των τριπλών αρνητικών καρκινωμάτων του μαστού εκφράζουν δείκτες των βασικών κυττάρων. Επίσης μικρός αριθμός (15-45%) των βασικού τύπου καρκινωμάτων εκφράζουν ή ER, PR ή HER2. Έτσι ο τριπλός αρνητικός ορισμός μπορεί να περιλαμβάνει τους αποκαλούμενους «τύπους του φυσιολογικού μαστού» οι οποίοι φαίνεται να έχουν μία κλινική συμπεριφορά διαφορετική από αυτή που έχουν τα βασικού τύπου νεπλάσματα.

Στην πλειονότητά τους αυτοί οι όγκοι έχουν τριπλό αρνητικό φαινότυπο (απουσία ER, PR, HER2) και έτσι μερικοί μελετητές έχουν αποδεχθεί τον τριπλό αρνητικό καθορισμό για τα βασικού τύπου καρκινώματα.

Ιστολογικά τα περισσότερα βασικού τύπου καρκινώματα είναι διηθητικά καρκινώματα των πόρων του μαστού χωρίς ειδικούς χαρακτήρες (86%), με υψηλό βαθμό κακοήθειας τα οποία μορφολογικά χαρακτηρίζονται από πολλές μιτώσεις, κεντρική νέκρωση, ασαφή κυτταρικά όρια, και ήπιες λεμφοκυτταρικές διηθήσεις.

Αναγνωρίζονται παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την ανάπτυξη του βασικού τύπου καρκινωμάτων του μαστού και στους οποίους περιλαμβάνονται:

1. Μετάλλαξη του BRCA1 γονιδίου συνδυάζεται σε ποσοστό 20% με ανάπτυξη βασικού τύπου καρκινώματος του μαστού, από τα οποία το 67% των περιπτώσεων παρουσιάζει μεταστάσεις στον εγκέφαλο. Αυτής της μορφής τα βασικού τύπου καρκινώματα έχουν παρόμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά και σύστοιχους φαινοτυπικούς χαρακτήρες με τους αντίστοιχους όγκους που εμφανίζουν μετάλλαξη του BRCA1 γονιδίου.
2. Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εμφανίζουν συχνότερα βασικού τύ-



που καρκινώματα του μαστού, σε σχεδόν διπλάσιο ποσοστό, απ' ότι οι μετεμμηνοπαυσιακές. Ο καταμήνιος κύκλος, το ιστορικό εγκυμοσύνης, το βάρος σώματος και η δραστηριότητα των γυναικών δεν φαίνεται να επηρεάζουν τη συχνότητα εμφάνισης αυτών των όγκων.

3. Η υπερέκφραση του EGFR που παρατηρήθηκε σε ποσοστό 54% στα βασικού τύπου καρκινώματα, συνδυάζεται με πτωχή πρόγνωση ανεξάρτητα από τη διήθηση των λεμφαδένων και το μέγεθος του όγκου.

Τα βασικού τύπου καρκινώματα του μαστού είναι νεοπλάσματα με επιθετική βιολογική συμπεριφορά που εμφανίζουν συχνά διήθηση στους μασχάλιους λεμφαδένες και μεταστάσεις στον εγκέφαλο και πνεύμονα¹⁵⁸. Παρά το γεγονός ότι οι όγκοι αυτοί συχνά αντιδρούν στην προεγχειρητική και συμβατική χημειοθεραπεία η πρόγνωσή του είναι πτωχή. Αυτό οφείλεται πιθανά στο τριπλό αρνητικό σχήμα των υποδοχέων (ER, PgR, HER2) σύμφωνα με το οποίο δεν μπορούν να δεχθούν ορμονοθεραπεία ή θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα (trastuzumab). Η ευαισθησία στα χημειοθεραπευτικά δεν είναι η ίδια σ' όλες τις περιπτώσεις. Σε ορισμένα βασικού τύπου καρκινώματα παρατηρείται ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία που σχετίζεται με υπάρχουσα διαταραχή του γονιδίου BRCA1.

Σύμφωνα με τα παραπάνω στη μοριακή ταξινόμηση των καρκινώματων του μαστού στηρίζονται πολλές ελπίδες τόσο για την πρόγνωση της κλινικής πορείας της νόσου όσο και για την επιλογή του κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος στο οποίο περιλαμβάνονται και η στοχευμένη θεραπεία.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Η θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού περιλαμβάνει τη χειρουργική θεραπεία, τη χημειοθεραπεία, την ακτινοθεραπεία, τους ορμονικούς θεραπευτικούς χειρισμούς και τη θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα.

Η θεραπευτική στρατηγική και ο συνδυασμός των διαφόρων θεραπειών διαμορφώνεται και εξαρτάται από το στάδιο της νόσου, τη διαφοροποίηση του όγκου, την ύπαρξη συγκεκριμένων υποδοχέων στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων (οιστρογόνων, προγεστερόνης, c-erb-B2) και από το είδος της χειρουργικής επέμβασης.

1. Χειρουργική θεραπεία του καρκίνου του μαστού

1.1. Ριζική μαστεκτομή κατά Halsted

Η τυπική ριζική μαστεκτομή αφορά την en block αφαίρεση ολόκληρου του μαστικού αδένου, μαζί με το υπερκείμενο δέρμα, του μείζονος και ελάσσονος θωρακικού μυός και τον καθαρισμό της μασχάλης από τον λεμφαδενικό ιστό. Περιγράφηκε το 1891 από τους Halsted και Meyer και έχει περισσότερο ιστορική σημασία αφού αποτέλεσε το σημείο εκκίνησης για τις εγχειρήσεις που εφαρμόζονται σήμερα. Αργότερα ο Patey επέφερε ορισμένες μεταβολές στη ριζική μαστεκτομή (διατήρηση του μείζονος ή και του ελάσσονος θωρακικού μυός) και τελικά διαμορφώθηκε η τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή, η οποία με τον χρόνο παρεκτόπισε την αρχική εγχείρηση. Η επικράτηση της τροποποιημένης ριζικής μαστεκτομής οφείλεται στην αναθεώρηση του μηχανιστικού δόγματος του Halsted από τη βιολογική υπόθεση του Fisher και σήμερα η ριζική μαστεκτομή που για οκτώ δεκαετίες υπήρξε η εγχείρηση εκλογής στον καρκίνο του μαστού, συγκρινόμενη με προοπτικές μελέτες με τις υπόλοιπες εναλλακτικές θεραπείες διαπιστώνεται ότι δεν προσφέρει κανένα πλεονέκτημα στα αρχικά στάδια της νόσου, ενώ η



νοσηρότητά της είναι σημαντική (λεμφοίδημα, δυσκινησία άνω άκρου, παραμόρφωση, περισσότερες μετεγχειρητικές επιπλοκές). Εφαρμόζεται σπάνια κατά περίπτωση σε τοπικά προχωρημένο καρκίνο του μαστού με διήθηση των θωρακικών μυών ενώ αντένδειξη αποτελεί η μεταστατική νόσος ή η συμμετοχή του ετερόπλευρου μαστού^{160,161}.

1.2. Τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή

Η τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή (TRM) συνίσταται στην ολική αφαίρεση του μαστού με το υπερκείμενο δέρμα, το σύμπλεγμα θηλής-θηλαίας άλω, το περιεχόμενο της σύστοιχης μασχαλιαίας κοιλότητας και διατήρηση του μείζονος και ελάσσονος θωρακικού μυός. Στην κατά Patey τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή γίνεται πλήρης λεμφαδενικός καθαρισμός (επίπεδο I, II και III) ενώ στην τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή κατά Auckincloss-Madden γίνεται αφαίρεση των μασχαλιαίων λεμφαδένων του επιπέδου I και II και διατηρείται ανέπαφος ο έλασσων θωρακικός μυός (τον οποίο παρακάμπτουμε ή επεμβαίνουμε χειρουργικά για την αποκάλυψη των λεμφαδένων ή επιπέδου). Τα αποτελέσματά της είναι συγκρίσιμα με την ριζική μαστεκτομή ενώ παράλληλα έχει σαφή λειτουργικά και κοσμητικά πλεονεκτήματα που διευκολύνουν την μετέπειτα πλαστική αποκατάσταση του μαστού και πολύ χαμηλή επίπτωση λεμφοιδήματος. Μετεγχειρητικά εμφανίζεται λεμφοίδημα στο 8% των ασθενών, που μπορεί να προληφθεί με το κατάλληλο επιμορφωτικό πρόγραμμα. Με καθαρισμό της μασχάλης στο επίπεδο I και II αποκαλύπτεται το 98,5% των μασχαλιαίων μεταστάσεων, ενώ αφαίρεση των λεμφαδένων επιπέδου III σπάνια δρα θεραπευτικά, όταν αυτά είναι κατειλημμένα^{160,162}. Δύο μεγάλες κλινικές μελέτες (Manchester 1969-1976 και Alabama 1975-1978), που συγκρίνουν την TRM με καθαρισμό της μασχάλης στο επίπεδο I και II με τη ριζική μαστεκτομή, δεν βρήκαν διαφορά στην επιβίωση, στις τοπικές υποτροπές και στο ελεύθερο νόσου διάστημα, ανάμεσα στις δύο επεμβάσεις^{160,163,164}. Τελικά, το 1979 το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου των ΗΠΑ και το Αμερικάνικο Κολλέγιο Χειρουργών καταλήγει ότι η τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή πρέπει να είναι η θεραπεία εκλογής σε σχέση με τη ριζική κατά Halsted μαστεκτομή αλλά και σε σχέση με την απλή μαστεκτομή, επειδή ο μασχαλιαίος λεμφαδενικός καθαρισμός με προσεκτική ανάλυση όσο το δυνατόν περισσότερων λεμφαδένων είναι σημαντικός για την πρόγνωση αλλά και για τις αποφάσεις που αφορούν την επικουρική θεραπεία^{160,165}.



1.3. Ολική (απλή) μαστεκτομή

Ο όρος ολική μαστεκτομή αντικατέστησε τον όρο «απλή» μαστεκτομή για να υπογραμμίσει τον σκοπό της επέμβασης, την αφαίρεση δηλαδή ολόκληρου του μαζικού αδένου χωρίς να παραμένουν υπολλείμματα του ιστού. Η διαδικασία αυτή απαιτεί δημιουργία κρημνών εκτεταμένων όσο και στις ριζικές επεμβάσεις με συναφαίρεση μερικών λεμφαδένων του I επιπέδου, προκειμένου να εξασφαλισθεί η en bloc αφαίρεση της μασχαλιαίας ουράς του Spence στο αφαιρούμενο χειρουργικό παρασκεύασμα¹⁶⁰. Η ολική μαστεκτομή εναρμονίζεται στις παρακάτω περιπτώσεις¹⁶⁶:

- α) Σε ασθενείς με in situ καρκίνωμα των πόρων ή των λοβίων (DCIS ή LCIS) που έχει πολυεστιακή ανάπτυξη⁴⁶.
- β) Σε ηλικιωμένα άτομα ή σε ασθενείς με κακή γενική κατάσταση.
- γ) Σε τοπικά προχωρημένο καρκίνο του μαστού για λόγους καθαριότητας (μαστεκτομή τουαλέτας).
- δ) Σε διάχυτες προκαρκινικές καταστάσεις^{42,57,58}.

«Απλή» μαστεκτομή και μάλιστα αμφοτερόπλευρη μπορεί να γίνει στις γυναίκες προφυλακτικά, που φέρουν μετάλλαξη στα γονίδια BRCA1 και BRCA2⁵⁸.

1.4. Υποδόρια μαστεκτομή

Η υποδόρια μαστεκτομή περιλαμβάνει αφαίρεση του αδενικού ιστού του μαστού με διατήρηση του δέρματος, του υποδόριου ιστού και του συμπλέγματος θηλής-θηλαίας άλω με σκοπό την άμεση ή απώτερη αποκατάσταση του μαστού¹⁶⁶. Ενδείξεις για την εκτέλεσή της θεωρούνται ο προφυλακτικός χειρισμός σε γυναίκες υψηλού κινδύνου. Το γεγονός όμως, ότι παραμένει το 10% περίπου του μαζικού ιστού σε συνδυασμό με την αβεβαιότητα αφαίρεσης τυχόν εστιών κακοήθειας που βρίσκονται στους παραμένοντες ιστούς, κάνει τους χειρουργούς να νοιώθουν μεγαλύτερη ασφάλεια όταν εκτελούν την «απλή» μαστεκτομή σαν προφυλακτικό χειρισμό. Σε κάθε περίπτωση όμως η μαστεκτομή ακολουθείται από πλαστική αποκατάσταση με προθέσεις σιλικόνης ή με χρήση ορθού κοιλιακού μυός με άριστα έως πολύ καλά αισθητικά αποτελέσματα.

1.5. Συντηρητικές επεμβάσεις στη χειρουργική του καρκίνου του μαστού

Η συντηρητική χειρουργική αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού έχει στόχο τη διάσωση του προσβεβλημένου μαστού και συνίσταται στην αφαίρεση του τμήματος του μαστού που περιέχει τον όγκο με λεμφαδενικό καθαρισμό της σύστοιχης μασχάλης. Ο όγκος πρέπει να περιβάλλεται από



υγιή ιστό τα όρια του οποίου απέχουν τουλάχιστον 2 εκ. από τον όγκο και η επιβεβαίωσή τους πρέπει να γίνεται παθολογοανατομικά. Η χειρουργική θεραπεία διατήρησης του μαστού μέχρι σήμερα δεν έχει τυποποιηθεί με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται ένας μεγάλος αριθμός παραλλαγών. Το πρωτόκολλο B-06 που εφαρμόστηκε το διάστημα 1976-1983 από το NSABP (National Surgical Adjuvant Breast Project) λάμβανε ασθενείς σταδίου I και II κατά TNM αλλά με διάμετρο όγκου μικρότερη των 4 cm και τα κριτήρια εισόδου των ασθενών στη μελέτη ήταν: α) ο όγκος να είναι μικρότερος ή ίσος των 4 cm, β) η νόσος να περιορίζεται στον μαστό και στη μασχάλη, γ) ο μαστός να είναι ικανοποιητικού μεγέθους, ώστε να επιτρέπει την κοσμητική αποκατάσταση, δ) ο όγκος να μην είναι κάτω από την θηλαία άλω, ε) ο όγκος να είναι κινητός χωρίς διήθηση του δέρματος ή των θωρακικών μυών. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η ολική επιβίωση και ο ελεύθερος νόσος χρόνος μεταξύ των ασθενών που υπεβλήθησαν σε τμηματοεκτομή με λεμφαδενικό καθαρισμό της μασχάλης και ακτινοθεραπεία ήταν συγκρίσιμα. Αύξηση των τοπικών υποτροπών (43% έναντι 12%) υπήρχε όταν η τμηματοεκτομή και ο λεμφαδενικός καθαρισμός δεν συνοδεύονταν από ακτινοθεραπεία^{160,167}. Μια σειρά από άλλες μελέτες έδωσαν ανάλογα αποτελέσματα.

Η μελέτη του Ευρωπαϊκού Οργανισμού για την Έρευνα και Θεραπεία του Καρκίνου (EORTC) έδειξε ότι ασθενείς με ριζική μαστεκτομή και ασθενείς με ογκεκτομή και λεμφαδενικό καθαρισμό μασχάλης σε συνδυασμό με ακτινοθεραπεία παρουσίασαν την ίδια επιβίωση ελεύθερης νόσου στην 7ετία (60%)¹⁶⁸. Η Σουηδική μελέτη μεταξύ ασθενών σταδίου I που υπεβλήθησαν σε ογκεκτομή με λεμφαδενικό καθαρισμό και ακτινοθεραπεία και ασθενών με την ίδια επέμβαση χωρίς ακτινοθεραπεία έδειξε ότι δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων όσον αφορά την επιβίωση· όμως σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων υπήρχε στα ποσοστά τοπικής υποτροπής, 2,9% έναντι 7,9%¹⁶⁹. Σε ανάλογη μελέτη, αυτήν της Σκωτίας, που περιελάμβανε ασθενείς I και II σταδίου τα αντίστοιχα ποσοστά με ακτινοθεραπεία και χωρίς ακτινοθεραπεία ήταν 8% και 27%¹⁷⁰. Έτσι η χειρουργική θεραπεία διατήρησης του μαστού πρέπει να συνοδεύεται από ακτινοθεραπεία.

Ο χειρουργός πρέπει να έχει υπόψη του ότι η επιλογή της συντηρητικής χειρουργικής θεραπείας διατήρησης του μαστού εξαρτάται από τρία κριτήρια: 1) την ικανότητα της ασθενούς να ακτινοβοληθεί, 2) την πιθανότητα να επιτευχθεί αισθητικά ικανοποιητικό αποτέλεσμα μετά την εγχείρηση και 3) τη δυνατότητα να εξαιρεθεί ο όγκος σε υγιή (αρνητικά) όρια εκτομής.



Οι απόλυτες και οι σχετικές αντενδείξεις για συντηρητική χειρουργική θεραπεία του καρκίνου του μαστού είναι οι ακόλουθες:

Απόλυτες αντενδείξεις

- α) Η εγκυμοσύνη, γιατί κατά τη διάρκειά της δεν μπορεί να χορηγηθεί ακτινοθεραπεία. (Παρόλα αυτά, σε αρκετές περιπτώσεις είναι δυνατή η πραγματοποίηση χειρουργικής διατήρησης του μαστού στο τρίτο τρίμηνο της κύησης και η ακτινοβολία να χορηγηθεί μετά τον τοκετό).
- β) Γυναίκες με δύο ή περισσότερους πρωτοπαθείς όγκους σε διαφορετικά τεταρτημόρια του μαστού ή με διάχυτες μικροαποπιτανώσεις ύποπτες κακοήθειας.
- γ) Ιστορικό παλαιότερης ακτινοθεραπείας στην περιοχή των μαστών, που καθιστά την νέα ακτινοβολία αδύνατη, λόγω της εξαιρετικά υψηλής δόσης ακτινοβολίας που συνολικά θα συσσωρεύονταν.
- δ) Επιμέμοντα θετικά όρια μετά από επανειλημμένες, σε λογικό αριθμό, απόπειρες συντηρητικής χειρουργικής.

Σχετικές ενδείξεις

- α) Ιστορικό νόσου του κολλαγόνου, επειδή έχουν δημοσιευθεί σειρές που δείχνουν ότι αυτές οι ασθενείς έχουν ελαττωμένη αντοχή στην ακτινοβολία. Η ρευματοειδή αρθρίτις δεν αποτελεί αντένδειξη.
- β) Η παρουσία πολλαπλών όγκων στο ίδιο τεταρτημόριο. Καθώς οι μη καθορισμένης φύσης αποπιτανώσεις πρέπει να ελεγχθούν προσεκτικά από τον παθολογοανατόμο για την καταλληλότητα συντηρητικής αντιμετώπισής τους.
- γ) Το μεγάλο μέγεθος του όγκου δεν κατατάσσεται στις απόλυτες αντενδείξεις, παρόλον ότι η δημοσιευμένη εμπειρία για την αντιμετώπιση ασθενών με όγκους μεγαλύτερους των 4-5 εκ. είναι μικρή. Εν τούτοις, σχετικά αντένδειξη μπορεί να αποτελεί η παρουσία μεγάλου όγκου σε μικρό μαστό, καθώς μία ογκολογικά επαρκής εκτομή θα είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αισθητική παραμόρφωση. Σ' αυτές τις περιπτώσεις μπορεί να εξεταστεί η περίπτωση χορήγησης προεγχειρητικής χημειοθεραπείας.
- δ) Το μέγεθος του μαστού μπορεί να είναι σχετική αντένδειξη. Ασθενείς με μεγάλα στήθη (είτε λόγω παχυσαρκίας είτε από την ιδιαιτερότητα του σωματότυπου τους) απαιτούν μεγαλύτερες δόσεις ακτινοβολίας και μπορεί να υπάρξει ανισομέρεια στην κατανομή τους, όπως και αυξημένος κίνδυνος δερματικών βλαβών. (Αλλά, από την άλλη, και η μαστεκτομή



συνοδεύεται από προβλήματα σε περιπτώσεις μεγάλων μαστών, κυρίως λόγω της έντονης ασυμμετρίας και της ανισοκατανομής του βάρους μετά από από αυτήν).

2. Βασικές αρχές ακτινοθεραπείας του καρκίνου του μαστού

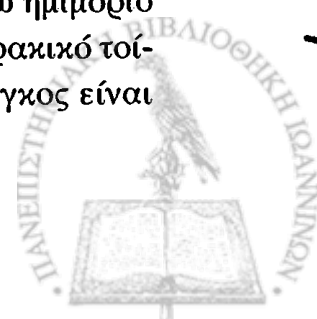
Από το 1920 που για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε η ακτινοθεραπεία στη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού εξελίχθηκε σημαντικά και παίζει καθοριστικό ρόλο στον έλεγχο και στην πορεία της νόσου, όταν αυτή επεισέχεται στη θεραπευτική στρατηγική. Η ακτινοθεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί προεγχειρητικά, μετεγχειρητικά, στην αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού, στην αντιμετώπιση τοπικά προχωρημένης ανεγχείρητης νόσου και παρηγορικά στις απομακρυσμένες μεταστάσεις και τοπικές υποτροπές. Δόσεις ακτινοβολίας 45 με 50 Gy (1 Gy = 100 rad) μπορούν να εξασφαλίσουν τον έλεγχο των υποκλινικών εστιών καρκινικών κυττάρων. Έχει καθιερωθεί τα 50 Gy να δίνονται σε 25 συνεδρίες των 2 Gy ημερησίως ενώ για συμπληρωματική ακτινοβολία στην κοίτη του όγκου (boost) δίνονται 10-16 Gy σε 5-8 συνεδρίες εξωτερικής Α/Θ ή βραχυθεραπείας¹⁷¹.

2.α. Προεγχειρητική ακτινοθεραπεία

Η προεγχειρητική ακτινοθεραπεία μπορεί να μετατρέψει όγκους οριακούς από άποψη χειρουργικής εκτομής σε πλήρως εξαιρεσίμους. Έτσι μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όγκους σταδίου III¹⁷².

2.β. Μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία

Η χορήγηση ακτινοθεραπείας μετεγχειρητικά, άσχετα με τη χειρουργική μέθοδο μαστεκτομής, ελαττώνει την εμφάνιση υποτροπής στο θωρακικό τοίχωμα ή στους επιχώριους λεμφαδένες σε ποσοστό 90-95% των ασθενών που είναι προδιατεθειμένες να αναπτύξουν τέτοιες υποτροπές¹⁷³. Πρέπει όμως να γίνεται προσεκτική επιλογή των ασθενών που έχουν αυξημένο κίνδυνο μετεγχειρητικών υποτροπών ώστε να ακτινοβολούνται αυτές που πραγματικά θα ωφεληθούν. Συνήθως ακτινοβολούνται οι κορυφαίοι μασχαλιαίοι λεμφαδένες, οι υπερκλειδίοι και οι έσω μαστικοί λεμφαδένες σε γυναίκες με θετικούς ιστολογικά μασχαλιαίους λεμφαδένες (N2, N3) ή όταν ο πρωτοπαθής όγκος είναι κεντρικός ή όταν εντοπίζεται στο έσω ημιμόριο άσχετα με την κατάσταση των μασχαλιαίων λεμφαδένων. Το θωρακικό τοίχωμα συμπεριλαμβάνεται στα ακτινοβολούμενα πεδία όταν ο όγκος είναι



μεγάλος (πάνω από 5 εκ.) ή διαπιστώνεται διήθηση του θωρακικού τοιχώματος ή του δέρματος και φυσικά όταν τα χειρουργικά όρια εκτομής είναι ανεπαρκή και υπάρχει υποψία παραμονής νόσου.

2.γ. Μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία στη συντηρητική χειρουργική θεραπεία

Μεγάλες πολυκεντρικές προοπτικές μελέτες έχουν αποδείξει την αναγκαιότητα των μετεγχειρητικών ακτινοθεραπειών στις γυναίκες που υποβάλλονται σε τμηματεκτομή/ογκεκτομή με λεμφαδενικό καθαρισμό της μασχάλης^{167,168,169,170}. Οι γυναίκες αυτές, όταν δεν υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία, συνίσταται να αρχίζουν ακτινοθεραπείες μέσα σε 8 εβδομάδες. Όταν γίνεται συνδυασμένη επικουρική θεραπεία η χημειοθεραπεία προηγείται της ακτινοθεραπείας ή παρεμβάλλεται η ακτινοθεραπεία μεταξύ των κύκλων της ακτινοθεραπείας (sandwich) ενώ απαγορεύεται η ταυτόχρονη χορήγηση ακτινοθεραπείας με ανθρακυκλίνη. Ένα ασφαλές διάστημα για την έναρξη της ακτινοθεραπείας μετά τη χειρουργική επέμβαση είναι οι 12 εβδομάδες με μεγαλύτερο διάστημα τους 6 μήνες.

Στο ενδοπορικό καρκίνωμα του μαστού (DCIS) η μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία μειώνει την εμφάνιση τοπικής υποτροπής θεαματικά. Ασθενείς που υπεβλήθησαν μόνο σε εγχείρηση έχουν πιθανότητα εμφάνισης τοπικής υποτροπής 54% στα 10 χρόνια, ενώ με την ακτινοθεραπεία το ποσοστό υποτροπής μειώνεται στο 28% και με την χορήγηση boost στο 14%.

2.δ. Ακτινοθεραπεία στον τοπικά προχωρημένο καρκίνο του μαστού

Σ' αυτές τις περιπτώσεις, που ουσιαστικά αφορά τα στάδια IIIA και IIIB κατά TNM, οι ασθενείς είναι δυνατόν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες: σ' αυτές που έχουν όγκο κλινικά ανεγχείρητο αλλά τεχνικά εξαιρεσιμο και σ' αυτές που έχουν όγκο εξαιρεσιμο χωρίς ασφαλή-υγιή όρια. Και στις δύο περιπτώσεις είναι αναγκαίο η χειρουργική επέμβαση να συνοδεύεται με ακτινοθεραπεία τουλάχιστον 50 Gy¹⁷⁵.

2.ε. Ακτινοθεραπεία στις τοπικές υποτροπές και στη μεταστατική νόσο

Η ακτινοθεραπεία στις τοπικές υποτροπές είναι παρηγορική και συμβάλλει στη βελτίωση της ποιότητας ζωής, δεδομένου πλέον ότι η νόσος είναι γενικευμένη. Όσο πιο βραχύ είναι το χρονικό διάστημα εμφάνισης της υποτροπής από την αρχική επέμβαση τόσο πιο φτωχή είναι η πρόγνωση. Η χορηγούμενη δόση είναι ανάλογη με την έκταση της υποτροπής. Δόσεις έως και 60 Gy δίνονται για υποτροπή διαμέτρου 3 εκ.



Καθοριστική είναι η ακτινοθεραπεία στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων των μεταστατικών εντοπίσεων στα οστά και στο Κ.Ν.Σ. (πόνος, εστιακή συμπτωματολογία εγκεφαλικών μεταστάσεων). Και σ' αυτές τις περιπτώσεις οι χορηγούμενες δόσεις μπορούν να φτάσουν τα 30-40 Gy σε 10-20 συνεδρίες^{176,177}.

3. Βασικές αρχές εφαρμογής συστηματικών επικουρικών θεραπειών. Χημειοθεραπεία – Ορμονοθεραπεία

Η χημειοθεραπεία και η ορμονοθεραπεία, χορηγούμενες συστηματικά σαν επικουρικές θεραπείες στη χειρουργική θεραπεία του καρκίνου του μαστού, συμβάλλουν στην εκρίζωση μικροσκοπικών μεταστατικών εστιών και κατ' αυτόν τον τρόπο έχουν δείξει ότι αυξάνουν τον χρόνο ελεύθερο νόσου και παρατείνουν την επιβίωση των ασθενών.

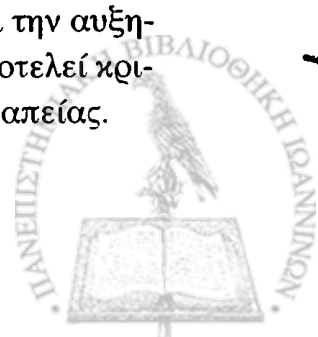
Η επιλογή για τη χορήγηση συστηματικής επικουρικής θεραπείας στηρίζεται στην αξιολόγηση προγνωστικών και προβλεπτικών παραγόντων, που είτε αφορούν τις ασθενείς και είναι ανεξάρτητοι από τη νόσο (π.χ. η ηλικία, συνύπαρξη συνοδών νόσων), είτε σχετίζονται με τον όγκο (π.χ. μέγεθος, ιστολογικός τύπος) και με βιολογικούς δείκτες που είναι μετρήσιμοι σε ιστούς, κύτταρα ή υγρά (π.χ. επίπεδο των ορμονικών υποδοχέων, HER-2, neu).

3.1. Χημειοθεραπεία

Η χημειοθεραπεία βελτιώνει τη μακροχρόνια ελεύθερη υποτροπής επιβίωση και τη συνολική επιβίωση, τόσο στις προεμμηνοπαυσιακές, όσο και στις μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έως την ηλικία των 70 ετών με ύπαρξη διήθησης ή χωρίς διήθηση στους μασχालιαίους λεμφαδένες.

Η χορήγηση πολυχημειοθεραπείας (με 2 ή περισσότερους παράγοντες) υπερτερεί της μονοθεραπείας. Η χημειοθεραπεία μεγάλων δόσεων (με υποστήριξη περιφερικών προγονικών κυττάρων) δεν φάνηκε να έχει καλύτερα αποτελέσματα από τη χορήγηση της πολυχημειοθεραπείας σε «κανονικές» δόσεις. Ως εκ τούτου, αυτού του είδους οι θεραπείες δεν θα πρέπει να γίνονται εκτός των πλαισίων κλινικών ερευνών.

Η απόφαση για χορήγηση επικουρικής χημειοθεραπείας σε ασθενείς ηλικίας μεγαλύτερης των 70 ετών θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη συνοδών νόσων, το προσδόκιμο επιβίωσης ανεξάρτητα του καρκίνου και την αυξημένη τοξικότητα της θεραπείας. Η ηλικία μόνο δεν πρέπει να αποτελεί κριτήριο αποκλεισμού από τη χορήγηση της επικουρικής χημειοθεραπείας.



Σταθμοί στην ιστορία της χημειοθεραπείας του καρκίνου του μαστού αποτέλεσαν οι συνδυασμοί των εξής χημειοθεραπειών:

- Ο συνδυασμός κυκλοφωσφαμίδης, μεθοτρεξάτης και φθοριουρακίλης (CMF)
- Η χρήση ανθρακυκλινών (ανδριαμυκίνη, επιαδριαμυκίνη)
- - Η χρήση των αναστολέων της μίτωσης – Ταξάνες (Πακλιταξέλη, Δοσεταξέλη).

Εάν και για πολλά χρόνια υπήρξε μεγάλη διαμάχη στον καθορισμό της ομάδας των ασθενών που χρήζει επικουρικής χημειοθεραπείας, φαίνεται να υπάρχει συμφωνία στο ότι ωφελεί τόσο προεμμηνοπαυσιακές όσο και μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με θετικούς ή αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς και διήθηση των επιχώριων λεμφαδένων¹¹⁷. Αλλά και σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες η θεραπευτική αντιμετώπιση με χειρουργική θεραπεία και συμπληρωματική χημειοθεραπεία (CMF) προσφέρει μεγαλύτερο διάστημα ελεύθερο νόσου και συνολική επιβίωση σε σχέση με τις ασθενείς που αντιμετωπίζονται μόνο χειρουργικά¹⁷⁹. Επίσης ασθενείς με αρνητικούς επιχώριους λεμφαδένες και θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς που έλαβαν χημειοθεραπεία και ταμοξιφαίνη είχαν επίσης διάστημα ελεύθερο νόσου και συνολική επιβίωση μεγαλύτερη από τις ασθενείς που πήραν μόνο ταμοξιφαίνη¹⁸⁰.

Πάντως πρέπει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τα κριτήρια του St Galen του 2005 οι ασθενείς που ανήκουν στην κατηγορία χαμηλού κινδύνου (pT ≤ 2, grade I, αρνητικοί λεμφαδένες, αρνητικό HER2 και ηλικία ≥ 35 ετών) η επικουρική ορμονική θεραπεία είναι αρκετή¹¹⁷.

Η επικουρική χημειοθεραπεία που περιέχει ανθρακυκλίνη προσδίδει ένα μικρό αλλά στατιστικά σημαντικό όφελος στους ασθενείς με καρκίνο του μαστού και θετικούς επιχώριους λεμφαδένες¹⁸¹ αλλά και στους ασθενείς υψηλού κινδύνου με αρνητικούς λεμφαδένες¹⁸².

Σήμερα οι ταξάνες αποτελούν καθιερωμένη θεραπεία σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού και θετικούς λεμφαδένες καθώς σειρά μελετών έχουν δείξει ότι προσφέρουν στατιστικά σημαντική μείωση του κινδύνου υποτροπής και της θνησιμότητας (17% και 18% αντίστοιχα). Το όφελος είναι ακόμη μεγαλύτερο σε ασθενείς με αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς ενώ η τοξικότητά τους δεν παρουσιάζει επιπλέον διαφορά¹⁸³.

3.2. Ορμονοθεραπεία – Ταμοξιφαίνη, Αναστολείς Αρωματάσεις,

GnRH ανάλογα

Σ' ότι αφορά τη χορήγηση επικουρικής ορμονοθεραπείας, αυτή έχει έν-



δειξη σε ασθενείς με όγκους θετικούς (έντονα ή μη) στην ύπαρξη ορμονικών υποδοχέων, ανεξάρτητα από την ηλικία, την εμμηνόπαυση, την ύπαρξη ή όχι διηθημένων μασχαλαίων λεμφαδένων ή το μέγεθος του όγκου. Ένδειξη για χορήγηση ορμονοθεραπείας υπάρχει και σε όγκους που είναι θετικοί μόνο στους υποδοχείς προγεστερόνης.

Με την ορμονοθεραπεία σε γυναίκες με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς μειώνονται οι πιθανότητες υποτροπής του όγκου κατά 47% και η θνησιμότητα κατά 25%. Αυτά τα ευεργετικά αποτελέσματα εξακολουθούν να ισχύουν σε μεγάλο βαθμό για τουλάχιστον 15 χρόνια τόσο σε προεμμηνοπαυσιακές όσο και μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες¹⁸⁴.

Αν ο διαθέσιμος ιστός δεν επαρκεί για τον προσδιορισμό των ορμονικών υποδοχέων, ο όγκος θεωρείται θετικός σε αυτούς, ιδιαίτερα σε μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς.

Η ορμονοθεραπεία εφαρμόζεται: α) με το μπλοκάρισμα των υποδοχέων των ορμονών με τη χρήση φαρμάκων, όπως η ταμοξιφαίνη, β) με την καταστολή της σύνθεσης των οιστρογόνων (στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με LHRH και στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με τη βοήθεια των αναστολέων της αρωματάσης) ή γ) με την καταστροφή των ωθηκών, χειρουργικά ή με ακτινοβολία.

Με έμμεσο τρόπο (καταστρέφοντας τα κύτταρα που παράγουν οιστρογόνα στις ωθήκες) μπορεί να επιτύχει το ίδιο αποτέλεσμα και η χημειοθεραπεία¹⁸⁵.

Στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς η ταμοξιφαίνη χορηγούμενη για 5 χρόνια αποτελεί τη θεραπεία εκλογής¹⁸⁴. Οι αναστολείς της αρωματάσης δεν είναι αποτελεσματική στην καταστολή των ορμονών που παράγονται από τις ωθήκες όμως η χορήγησή τους ενδείκνυται σε ασθενείς που δεν έχουν έμμηνο ρύση μετά από φαρμακευτική ωθηκεκτομή με GnRH ανάλογα¹⁷⁸, αν και ο συνδυασμός αναστολέων της αρωματάσης με GnRH ανάλογα αποτελεί ακόμα αντίκειμενο μελέτης.

Επίσης αντικείμενο μελέτης είναι η θέση της ωθηκεκτομής στην επικουρική θεραπεία του καρκίνου του μαστού στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες η οποία μπορεί να γίνει χειρουργικά, με χορήγηση ακτινοθεραπείας ή φαρμακευτικά όπου επιτυγχάνεται ωθηκική καταστολή με GnRH ανάλογα. Μεταξύ των τριών σήμερα έχει καθιερωθεί η θεραπεία με GnRH ανάλογα επειδή πλεονεκτεί στην εφαρμογή της και όταν απαιτείται είναι αναστρέψιμη. Τα GnRH ανάλογα χορηγούνται για 1-2 έτη.

Στις μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με καρκίνο του μαστού αυτές με θετικούς υποδοχείς αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα. Και σ' αυτήν την ο-



μάδα η χορήγηση ταμοξιφαίνης για 5 χρόνια μειώνει τον κίνδυνο υποτροπής και θνητότητας¹⁸⁴. Τα τελευταία χρόνια οι αναστολείς της αρωματάσης (αναστραζόλη-Arimidex, Λετροζόλη-Femara, Εξεμεστάμη-Aromasin) έχουν φέρει σημαντική αλλαγή στην ορμονοθεραπεία των μεταεμμηνοπαυσιακών γυναικών και η χορήγησή τους έχει δείξει ισάξια ή και καλύτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με την ταμοξιφαίνη τόσο στην επικουρική θεραπεία όσο και στη θεραπεία της μεταστατικής νόσου καθώς οι αναστολείς της αρωματάσης ελαττώνουν τα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων, που στις μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες παράγονται από τα ανδρογόνα με την επίδραση του ενζύμου αρωματάση, κατά 98%. Έτσι σήμερα στις μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με καρκίνο του μαστού η επικουρική ορμονοθεραπεία περιλαμβάνει έναν αναστολέα της αρωματάσης σαν αρχική θεραπεία ή μετά την θεραπεία με ταμοξιφαίνη. Θεραπευτικές επιλογές αποτελούν η θεραπεία 5 χρόνια με αναστολείς της αρωματάσης ή θεραπεία 2-3 χρόνια με ταμοξιφαίνη και στη συνέχεια χορηγείται αναστολέως της αρωματάσης για 2-3 χρόνια ή 5 χρόνια¹¹⁷. Σαν επιπλοκές πρέπει να αναφερθεί ότι ο καρκίνος του ενδομητρίου, η κολπική αιμορραγία, οι αγγειακές θρομβώσεις και οι εξάψεις είναι λιγότερο συχνές στο σκέλος των αναστολέων της αρωματάσης ενώ οι μυοσκελετικές επιπλοκές και τα κατάγματα είναι λιγότερο συχνά στο σκέλος της ταμοξιφαίνης.

Η European Society of Medical Oncology (ESMO) λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία (≤ 35 , > 35), το μέγεθος του όγκου (< 2 εκ., ≥ 2 εκ.), την έκφραση των ορμονικών υποδοχέων (θετικοί ή αρνητικοί), τον βαθμό κακοήθειας (I ή II-III) χωρίζει τις γυναίκες με καρκίνο του μαστού σε αυτές που είναι χαμηλού κινδύνου και σ' αυτές που είναι υψηλού κινδύνου (Πίνακας 6). Στη συνέχεια ανάλογα με την κατάσταση των μασχαλιαίων λεμφαδένων

Πίνακας 6. Ταξινόμηση ασθενών σε κατηγορίες κινδύνου για εφαρμογή επικουρικής θεραπείας.

	Μέγεθος όγκου	Ορμονικοί υποδοχείς	Grade	Ηλικία	Σχόλιο
Γυναίκες χαμηλού κινδύνου	< 2 εκ.	Θετικοί	I	> 35	Όλοι οι παράγοντες πρέπει να είναι παρόντες
Γυναίκες υψηλού κινδύνου	≥ 2 εκ.	Αρνητικοί	II-III	≤ 35	Τουλάχιστον ένας παράγων παρών



Πίνακας 7. Συστάσεις χορήγησης επικουρικής χημειο- και ορμονοθεραπείας

α) Ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες (N0)

Χαμηλού κινδύνου, ορμονοευαίσθητοι: Ταμοξιφαίνη ή τίποτα

Υψηλού κινδύνου, ορμονοευαίσθητοι:

- **προεμμηνοπαυσιακές:** Χημειοθεραπεία, καταστροφή ωοθηκών → ταμοξιφαίνη ή χημειοθεραπεία → ταμοξιφαίνη ή καταστροφή ωοθηκών
- **μετεμμηνοπαυσιακές:** ταμοξιφαίνη ή αναστολείς αρωματάσης ή χημειοθεραπεία → ταμοξιφαίνη

Υψηλού κινδύνου, ορμονοάντοχοι:

- **προεμμηνοπαυσιακές:** χημειοθεραπεία
- **μετεμμηνοπαυσιακές:** χημειοθεραπεία

β) Ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες (N+):

Ορμονοευαίσθητοι:

- **προεμμηνοπαυσιακές:** χημειοθεραπεία → ταμοξιφαίνη, ± καταστροφή ωοθηκών
- **μετεμμηνοπαυσιακές:** χημειοθεραπεία → ταμοξιφαίνη ή αναστολείς αρωματάσης ή

Ορμονοάντοχοι:

- **προεμμηνοπαυσιακές:** χημειοθεραπεία
- **μετεμμηνοπαυσιακές:** χημειοθεραπεία

(ESMO: Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, adjuvant treatment and follow-up of primary breast cancer) Annals of Oncology 16 (Supplement 1): i7-i9, 2005

(διηθημένοι ή χωρίς διήθηση) δίνει τις ακόλουθες συστάσεις για την εφαρμογή επικουρικής χημειοθεραπείας και ορμονοθεραπείας (Πίνακας 7).

3.3. Προεγχειρητική χημειοθεραπεία – ορμονοθεραπεία

Αυτή χορηγείται στον τοπικά προχωρημένο καρκίνο του μαστού κατά τον οποίο ο όγκος από χειρουργικής άποψης είναι ανεγχείρητος αλλά δεν ανιχνεύονται απομακρυσμένες μεταστάσεις. Στόχος της προεγχειρητικής χημειοθεραπείας-ορμονοθεραπείας είναι¹⁸⁶:

- α) η ελάττωση του μεγέθους του όγκου και της ενδεχόμενης περιοχικής επέκτασης ώστε να γίνει χειρουργήσιμος
- β) η ελάττωση του κινδύνου των τοπικών υποτροπών
- γ) η «έγκαιρη» αντιμετώπιση των μεταστάσεων
- δ) η αύξηση του χρόνου ελεύθερου νόσου και του χρόνου επιβίωσης



ε) η συντηρητική χειρουργική επέμβαση σε όγκους που είναι μικρότεροι των 4 εκ.

Πριν από την έναρξη των οποιοδήποτε θεραπευτικών χειρισμών είναι απαραίτητο να υπάρχει ιστολογική διάγνωση και να είναι γνωστή η κατάσταση των ορμονικών υποδοχέων και της έκφρασης του HER-2/neu.

Στην κλινική πράξη η προεγχειρητική χημειοθεραπεία βασίζεται στη χορήγηση τεσσάρων κύκλων χημειοθεραπείας με βάση τις ανθρακυκλίνες ή τις ταξάνες και να ακολουθεί εκτίμηση της ανταπόκρισης και επανεκτίμηση της κλινικής κατάστασης της ασθενούς. Εάν έχει επιτευχθεί πλήρης ή σχεδόν πλήρης ανταπόκριση ακολουθεί είτε τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή είτε συντηρητική χειρουργική θεραπεία. Και στις δύο περιπτώσεις η τοπική θεραπεία ολοκληρώνεται με ακτινοθεραπεία του θωρακικού τοιχώματος ή του μαστού, καθώς και της περιοχής της μασχάλης, της υπερκλείδιας χώρας και των λεμφαδένων της έσω μαστικής ανάλογα με την κλινική εκτίμηση. Μετά το πέρας της τοπικής θεραπείας χορηγούνται 4 κύκλοι επικουρικής χημειοθεραπείας. Ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται ικανοποιητικά στην προεγχειρητική χημειοθεραπεία πρέπει να λαμβάνουν, πριν την εφαρμογή τοπικής θεραπείας, 4 επιπλέον κύκλους από μία μη διασταυρούμενης αντίστασης θεραπεία π.χ. ταξάνη εάν αρχικά χορηγήθηκε σχήμα με βάση τις ανθρακυκλίνες ή αντίστροφα¹⁸⁷.

Στους ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο του μαστού και θετικούς υποδοχείς οιστρογόνων χορηγείται και προεγχειρητική ορμονοθεραπεία. Η ταμοξιφαίνη είναι το φάρμακο που έχει χορηγηθεί περισσότερο και επιτυγχάνει περίπου 50% μείωση του όγκου αν και η πιθανότητα να επιτευχθεί ύφεση της νόσου, με παθολογοανατομικά κριτήρια, είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με την προεγχειρητική χημειοθεραπεία. Αντίθετα με ό,τι έχει συμβεί με την προεγχειρητική χημειοθεραπεία, η σχέση μεταξύ της ανταπόκρισης στην προεγχειρητική ορμονοθεραπεία και της επιβίωσης χωρίς νόσο και της ολικής επιβίωσης δεν έχει αποδειχθεί σε προοπτικές μελέτες. Τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερο χρησιμοποιούνται αναστολείς της αρωματάσης στην ορμονοθεραπεία του τοπικά προχωρημένου καρκίνου του μαστού. Οι ασθενείς των οποίων οι όγκοι υπερεκφράζουν το HER-2/neu είναι προτιμότερο να λαμβάνουν σαν προεγχειρητική ορμονοθεραπεία αναστολείς της αρωματάσης γιατί είναι γνωστό ότι σ' αυτήν την ομάδα των ασθενών παρατηρείται αντίσταση στην ταμοξιφαίνη¹³².



3.4. Θεραπεία του καρκίνου του μαστού με μονοκλωνικά αντισώματα – *Trastuzumab (Herceptin)*

Η θεραπευτική σημασία του Herceptin στον καρκίνο του μαστού είναι ευρέως αποδεκτή, δεδομένου ότι η θεραπεία αυτή, έχει εγκριθεί από το FDA και την Ευρωπαϊκή Ένωση¹⁸⁸.

Είναι γνωστό ότι το ογκογονίδιο HER-2/neu που εδράζεται στο χρωμόσωμα 17 κωδικοποιεί έναν διαμεμβρανικό υποδοχέα με δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης, της ογκοπρωτεΐνης c-erb-B2. Το ανασυνδυασμένο ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab (Herceptin) αναγνωρίζει το εξωκυττάριο τμήμα της ογκοπρωτεΐνης c-erb-B2, το οποίο αποτελεί και στόχο της^{132,139}. Το Herceptin στις πρώτες μελέτες βρέθηκε ότι είναι καλά ανεκτό και προκαλεί ανταπόκριση στο 10-15% του συνόλου των ασθενών με καρκίνο του μαστού με μόνη σοβαρή παρενέργεια τον πυρετό και στο σύνολο σχεδόν των ασθενών με θετική έκφραση του HER-2. Ο συνδυασμός του με ανθρακυκλίνες αν και πολύ αποτελεσματικός προκαλεί καρδιοτοξικότητα και έτσι τελικά το φάρμακο χορηγείται σε συνδυασμό και με ταξάνες, ενώ η αποτελεσματικότητά του έχει αποδειχθεί και μετά την πρώτη γραμμή θεραπείας σε συνδυασμό με άλλα χημειοθεραπευτικά φάρμακα (ταξάνη και σισπλατίνη). Ο χρόνος χορήγησης του Herceptin είναι 12 μήνες ενώ υπό μελέτη βρίσκεται η χορήγηση του φαρμάκου για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (έως και 52 μήνες). Τελευταία το trastuzumab χορηγείται και σαν προεγχειρητική θεραπεία σε ασθενείς που από την ιστολογική εξέταση διαπιστώνεται ότι έχουν θετική έκφραση του HER-2).



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο

ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

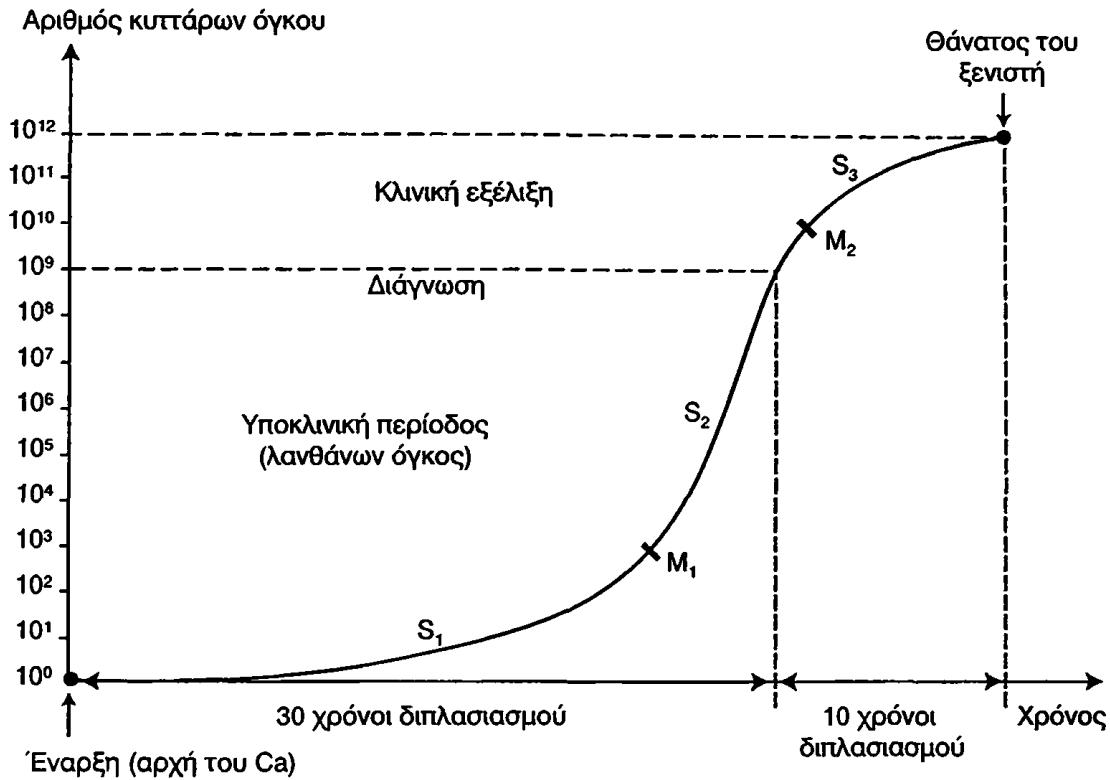
1. Γενικά

Η κυτταρική ανάπτυξη είναι αποτέλεσμα μιας δυναμικής ισορροπίας μεταξύ του πολλαπλασιασμού των κυττάρων και του προγραμματισμένου ή μη θανάτου αυτών, είτε με τη μορφή απόπτωσης είτε με τη μορφή νέκρωσης. Και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η απόπτωση είναι δύο ενεργείς διαδικασίες απαραίτητες στην εμβρυογένεση, στην ιστική ομοιοστάση και στην ανοσοεπίβλεψη των πολυκύτταρων οργανισμών. Οι μοριακοί μηχανισμοί που διέπουν αυτές τις διαδικασίες αλληλοεπικαλύπτονται και διαταραχές τους είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε κακοήθεια, αυτοάνοσα νοσήματα και εκφυλιστικές παθήσεις.

Η ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού καθορίζεται από ένα περίπλοκο σύστημα αλληλοσυσχετιζόμενων γεγονότων και είναι μια ισορροπία μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απώλειας κυττάρων. Το μοντέλο αύξησης του καρκινικού όγκου είναι μάλλον ακανόνιστο και φαίνεται να συνίσταται από περιόδους Κομπερτζιανής αύξησης (εικόνα 5) που μπορεί να συμβούν είτε σε προκλινικές φάσεις, είτε αφότου ο όγκος έχει διαγνωσθεί και αφαιρεθεί και μπορεί να διαρκέσουν από λίγους μήνες έως 8 χρόνια^{189,190}. Το συμπέρασμα ότι ο όγκος δεν μεγαλώνει σταθερά είναι αρκετά ευλογοφανές στον κλινικό γιατρό και στην κλινική πράξη παρατηρούνται συχνά παρεκτροπές από τη συνεχόμενη αύξηση. Η ακανόνιστη ανάπτυξη είναι μία εξήγηση του γεγονότος ότι η αύξηση του καρκίνου του μαστού είναι μία ισορροπία από προοδευτικές γενετικές αλλαγές μέσα στον όγκο, ορμονικές αλλαγές της ασθενούς, ανοσολογικές μεταβολές και άμυνας του ξενιστή, νέκρωσης και απόπτωσης καρκινικών κυττάρων.

Η απόπτωση είναι μία μορφή κυτταρικού θανάτου κατά την οποία εγγενείς μηχανισμοί ή εξωγενή ερεθίσματα ενεργοποιούν μία σειρά από γε-





Εικόνα 5. Η καμπύλη του Gombertz.

νετικά προγραμματισμένα γεγονότα τα οποία οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο.

Πρόκειται για μία γενετικά προγραμματισμένη «κυτταρική αυτοκτονία» με την οποία οι πολυκύτταροι οργανισμοί αποβάλλουν γηρασμένα, κατεστραμμένα ή νοσηρά κύτταρα με σκοπό τη διατήρηση των ιστών και την ενίσχυση της άμυνάς τους^{191,192}.

Αν και η απόπτωση θεωρείται ότι αποτελεί ένα νέο ερευνητικό πεδίο, η αντίληψη του κυτταρικού θανάτου υπάρχει εδώ και πάνω από έναν αιώνα. Από το 1885 αναφέρονται οι όροι «ryknozen» και «chromatolysis» για την περιγραφή κατακερματισμένων κυττάρων με συμπυκνωμένη χρωματίνη ή κυττάρων χωρίς πυρήνα αντίστοιχα σαν αποτέλεσμα ενός προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου¹⁹³.

Ο Glucksmann¹⁹⁴ μελέτησε πρώτος το φαινόμενο της απόπτωσης (1951). Αρκετά χρόνια αργότερα (1962), ο Saunders¹⁹⁵ συνέχισε τις έρευνες, ενώ την ίδια εποχή ο Kerr¹⁹⁶ παρατήρησε το φαινόμενο του κυτταρικού θανάτου σε ηπατοκύτταρα, μετά από απολίνωση κλάδου της πυλαίας φλέβας και περιέγραψε νεκρωτικές εστίες και συρρικνωμένους πυρήνες, χωρίς στοιχεία φλεγμονής, που κατέληγαν σε έναν άλλο τύπο κυτταρικού θανάτου. Το



1971 ο ίδιος ερευνητής, σε μελέτη με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, περιέγραψε το φαινόμενο της απόπτωσης, χαρακτηρίζοντάς το ως «νέκρωση εκ συρρικνώσεως»¹⁹⁷.

Τον επόμενο χρόνο, οι Kerr & Searke (1972)¹⁹⁸ πρότειναν να ονομασθεί η επιλεκτική και προγραμματισμένη αυτή απομάκρυνση των κυττάρων «απόπτωση» (apoptosis), «ως φύλλα που ο άνεμος χαμάδις χέει»²⁵⁴, εμπνευσμένοι από τους στίχους του Ομήρου, στην Ιλιάδα, για να περιγράψουν ένα τύπο κυτταρικού θανάτου τελείως διαφορετικού από τη νέκρωση. Γίνεται πια ξεκάθαρο ότι τα χαρακτηριστικά αυτού του θανάτου επισημαίνουν ένα σχεδιασμένο, αυτοκαταστροφικό μηχανισμό στον οποίο το κύτταρο έχει τον πλέον ενεργό ρόλο.

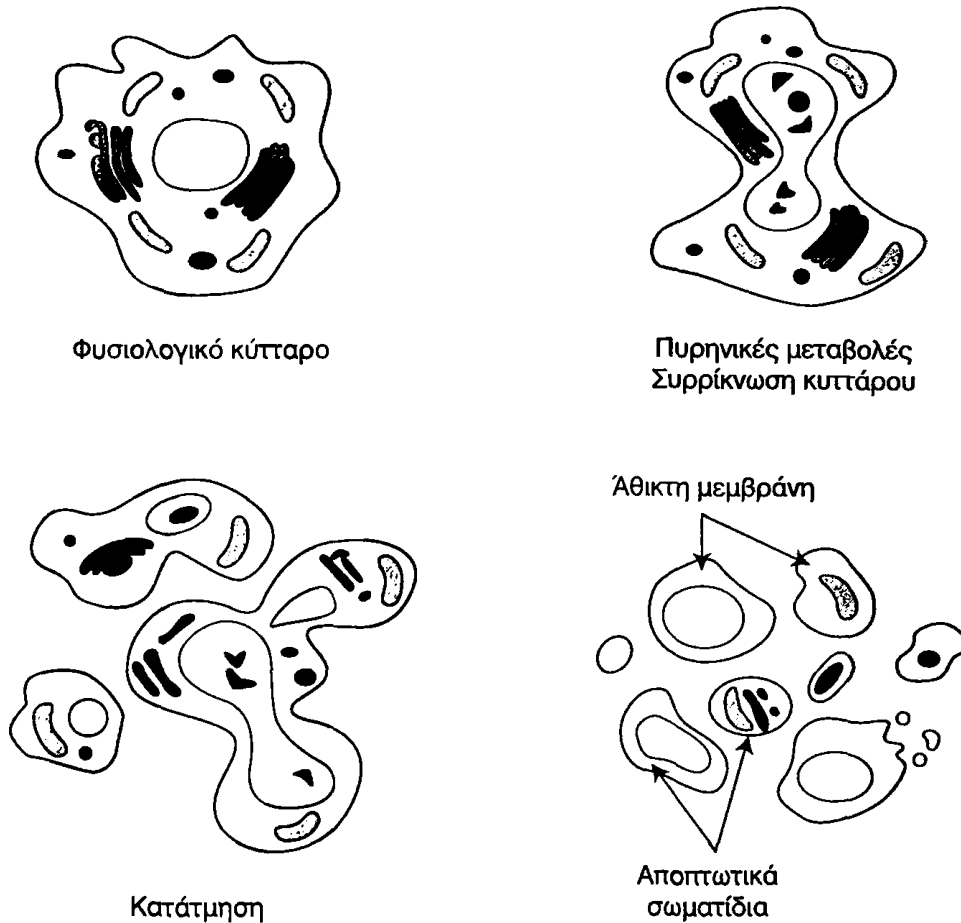
2. Μορφολογία των αποπτωτικών κυττάρων

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης τα οποία μελετήθηκαν κυρίως με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, περιλαμβάνουν: συρρίκνωση του κυττάρου, διόγκωση της κυτταροπλασματικής και πυρηνικής μεμβράνης, επανατοποθέτηση των οργανυλλίων, συμπύκνωση της χρωματίνης και σχηματισμό αποπτωτικών σωματίων. Τα αποπτωτικά σωματίδια είναι ενδοκυττάρια μόρια γύρω από τα οποία η κυτταρική μεμβράνη σχηματίζει εκκόλπωμα, περιέχουν ενδοκυττάριο υλικό ή και χρωματίνη και είναι ευαίσθητα στη φαγοκυττάρωση ακόμη και από «μη επαγγελματίες» φαγοκύτταρα (π.χ. ινοβλάστες)¹⁹³.

Στην απόπτωση, οι μεταβολές συμβαίνουν κυρίως στον πυρήνα, σε αντίθεση με τη νέκρωση, που λαμβάνει χώρα κυρίως στο κυτταρόπλασμα. Οι πρώτες ενδείξεις που χαρακτηρίζουν την απόπτωση είναι η πύκνωση της χρωματίνης μέσα στον πυρήνα σε καλά διαμορφωμένα τμήματα, σε ομοιόμορφες λεπτές μάζες χρωματίνης που ακουμπούν στην πυρηνική μεμβράνη, και η συμπύκνωση του κυτταροπλάσματος. Προοδευτικά, η συμπύκνωση αυτή ακολουθείται από παραμόρφωση του σχήματος του πυρήνα και συστολή του κυττάρου, ενώ μετά το στάδιο αυτό, ο πυρήνας συχνά διασπάται δημιουργώντας ενδιάκριτα θραύσματα. Τα θραύσματα αυτά δημιουργούν, στη συνέχεια, προεξοχές στην κυτταρική μεμβράνη και τελικά απομακρύνονται από το κύτταρο δημιουργώντας σωματίδια διαφόρων μεγεθών, τα «αποπτωτικά σωματίδια». Αυτά περικλείουν συχνά, εκτός από τα θραύσματα χρωματίνης, και άθικτα κυτταρικά οργανίδια¹⁹⁹.

Αναμφισβήτητα, το χαρακτηριστικό της απόπτωσης είναι η θραύση (collapse) του πυρήνα, ενώ τα κυτταρικά οργανίδια παραμένουν άθικτα.



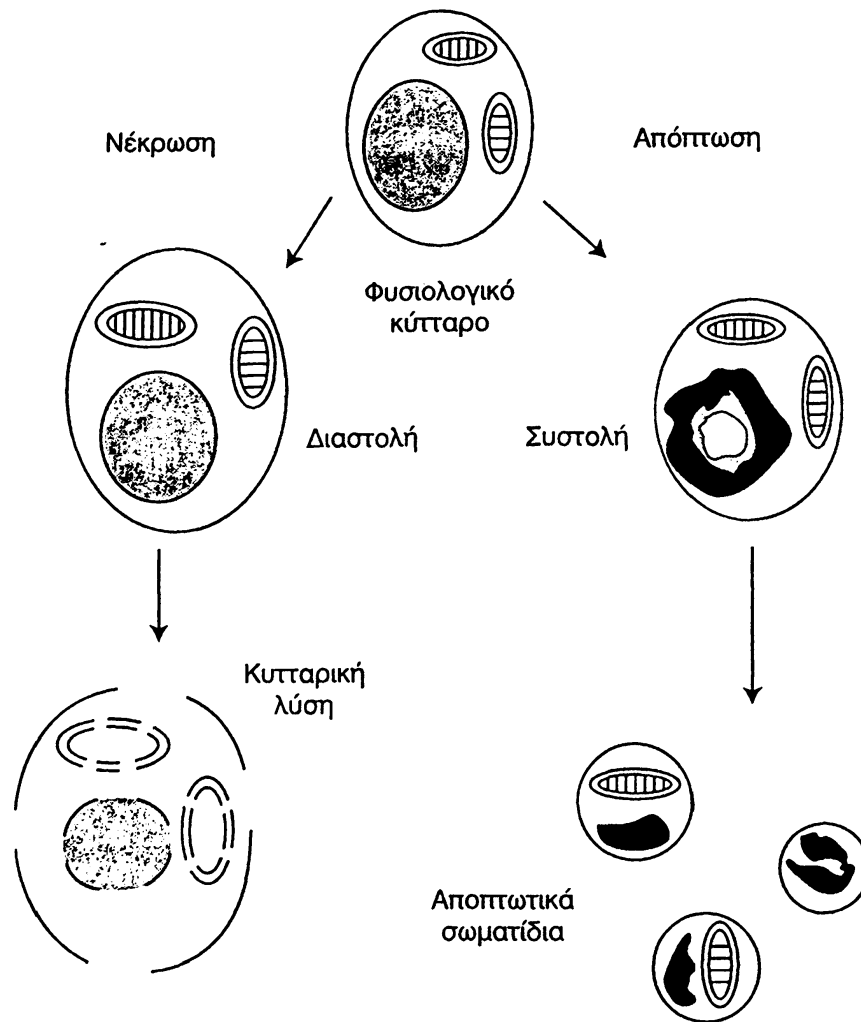


Εικόνα 6. Μορφολογικές μεταβολές του κυττάρου κατά την απόπτωση. Κατά τη διάρκεια της απόπτωσης προκαλείται δημιουργία μαλακής προεκβολής της κυτταρικής μεμβράνης (blebbing), χωρίς απώλεια της ακεραιότητάς της, συμπύκνωση του πυρήνα, συρρίκνωση του κυτταροπλάσματος, κατάτμηση του κυττάρου και δημιουργία αποπτωτικών σωματιδίων.

Θα πρέπει να τονιστεί εδώ ότι η κυτταρική μεμβράνη δεν είναι ο πρώτος στόχος της απόπτωσης. Το κύτταρο στην αποπτωτική διαδικασία παραμένει λειτουργικό και συγκρατεί τα περισσότερα από τα εσωτερικά συστατικά του¹⁹². Αντίθετα, στον κυτταρικό θάνατο που προέρχεται από τη μεσολάβηση του συμπληρώματος, το κύτταρο διαστέλλεται λόγω καταστροφής της ακεραιότητάς της κυτταρικής μεμβράνης.

Τα περιγραφόμενα χαρακτηριστικά είναι τελείως διαφορετικά από τα αντίστοιχα της νέκρωσης, η οποία είναι η «παθητική μορφή» του κυτταρικού θανάτου με αποτέλεσμα την κυτταρική καταστροφή²⁰⁰. Τα χαρακτηριστικά της νέκρωσης περιλαμβάνουν: διόγκωση του κυττάρου, δυσλειτουργία οργανυλλίων, εξάντληση μιτοχονδρίων, μετακίνηση ενδοκυττάρων στοι-





Εικόνα 7. Μορφολογικές μεταβολές απόπτωσης και νέκρωσης.

χείων στον εξωκυττάριο χώρο, καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης.

Στη νέκρωση, σε αντίθεση με την απόπτωση, υπάρχουν μεταβολές στο σχήμα και τη λειτουργία των οργανιδίων, με αποτέλεσμα να αυξάνεται σταδιακά ο όγκος του κυττάρου και τελικά αυτό να λύεται.

3. Βιοχημικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης

Το πιο σημαντικό, όχι όμως και μοναδικό, βιοχημικό χαρακτηριστικό της απόπτωσης, το οποίο έχει περιγραφεί σε ποικίλα αποπτωτικά συστήματα, είναι ο κατακερματισμός της χρωματίνης του πυρήνα (επομένως και του DNA) σε κλάσματα χρωματίνης από ειδικές ενδονουκλεάσες. Η δραστηριότητα των ενδονουκλεασών βρέθηκε ότι εξαρτάται από τα επίπεδα των ιόντων Ca^{2+} , Mg^{2+} και Zn^{2+} . Επιπλέον είναι δυνατό να ρυθμισθεί άμεσα ή



έμμεσα από την έκφραση διαφόρων ογκογονιδίων ή ογκοκατασταλτικών γονιδίων¹⁹³.

Οι διπλές έλικες του DNA κατατέμνονται στις περιοχές μεταξύ των νουκλεοσωματίων, σε τμήματα με μέγεθος πολλαπλάσιο των 180-200 bp (base pairs). Αυτά τα τμήματα του DNA μπορούν να αναλυθούν ηλεκτροφορητικά σε γέλη αγαρόζης, όπου εμφανίζονται χαρακτηριστικά ως κλίμακα. Αντίθετα, η εξαφάνιση της χρωματίνης στη νέκρωση συμβαίνει στο τελικό στάδιο, ακολουθείται δε από τυχαία διάσπαση του DNA, με αποτέλεσμα στη γέλη αγαρόζης, μετά από ηλεκτροφόρηση, αυτό να εμφανίζεται ως επίχρισμα (smear)²⁰¹.

Η κατάτμηση του DNA είναι ενζυμική, οφειλόμενη σε ενδογενή ενδονουκλεάση η οποία σε απομονωμένους πυρήνες μπορεί να ενεργοποιηθεί από Ca^{2+} και Mg^{2+} , ενώ αναστέλλεται από Zn^{2+} .

Η κατάτμηση του DNA, που παρατηρείται στην απόπτωση, είναι φαινόμενο που προηγείται του θανάτου του κυττάρου, σε αντίθεση με τη νέκρωση, όπου η αποσύνθεση του DNA συμβαίνει μετά το θάνατο του κυττάρου, από την απελευθέρωση των λυσοσωμικών ενζύμων.

Ο θάνατος του κυττάρου στην απόπτωση φαίνεται ότι δεν είναι άμεσο αποτέλεσμα της κατάτμησης του DNA, αλλά μάλλον της αδυναμίας του κυτ-

Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά της απόπτωσης και της νέκρωσης^{199,202}

Χαρακτηριστικά	Απόπτωση	Νέκρωση
Διέγερση	Φυσιολογική	Παθολογική
Ιστολογική εμφάνιση	Μεμονωμένα κύτταρα	Ομάδα κυττάρων
Αντιστροφή	Όχι	Ναι
Οργανίδια	Σχεδόν άθικτα	Πρώιμη συστολή
Έκλυση λυσοσωμικών ενζύμων	Απούσα	Παρούσα
Πυρήνας	Πτύχωση, καρυόρρηξη	Εξαφάνιση, καρυόλυση
Χρωματίνη	Συμπύκνωση	-
Κατάτμηση του DNA	Σε πολλαπλάσια των 180-200 bp	Τυχαία
Τελικό στάδιο	Σχηματισμός αποπτωτικών σωματιδίων	Διαστολή και αποσύνθεση
Φαγοκυττάρωση	Παρούσα	Απούσα
Φλεγμονή	Απούσα	Παρούσα



τάρου να επιδιορθώσει τις εκτεταμένες βλάβες της διπλής έλικας του DNA, που προέρχονται από τη δράση της ενδογενούς ενδονουκλεάσης^{199,202}.

4. Διέγερση, μηχανισμός και ρύθμιση του αποπτωτικού θανάτου

Οι πρώτες μελέτες για την απόπτωση αφορούσαν το μετάζωο *C. elegans* στο οποίο προσδιορίστηκαν γονίδια υπεύθυνα του κυτταρικού θανάτου (cell death genes, ced). Οι κωδικοποιούμενες από αυτά πρωτεΐνες βρέθηκε ότι ευόδωναν (CED-3, CED-4) ή ανέστειλαν (CED-9) τον κυτταρικό θάνατο. Ακόλουθες μελέτες στα θηλαστικά ανέδειξαν την παρουσία ποικίλων ενδοκυττάρων πρωτεασών, ομόλογες με τα ced, η υπερέκφραση των οποίων οδηγούσε στα κυτταρικό θάνατο. Οι πρωτεάσες αυτές ονομάστηκαν «caspases» (CED-3, ICE, Ich1/Nedd2, Ich2, TX, CPP32/Apopain, CPP32/YAMA, Mch2, Calpain, Sca κτλ.)¹⁹³.

Όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση έτσι και η απόπτωση θα πρέπει να θεωρείται σαν ένα κρίσιμο σημείο του κυτταρικού ελέγχου που μπορεί να ρυθμιστεί και από το ίδιο το κύτταρο και από το περιβάλλον του. Τόσο η έναρξη όσο και η αναστολή της εξαρτάται από ποικίλλες κυτταρικές (κυτταροκίνες, δευτερογενείς μεσολαβητές, υπερέκφραση γονιδίων) και περιβαλλοντικές παραμέτρους (ακτινοβολία, φάρμακα).

Έχει διαπιστωθεί επαγωγή της απόπτωσης των ινοβλαστών από τον παράγοντα νέκρωσης του όγκου (TNF), των ηπατοκυττάρων από τον αυξητικό παράγοντα μετασχηματισμού (TGF), των μονοκυττάρων και ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων από τις IL-4 και IL-6 αντίστοιχα ενώ χαμηλά επίπεδα ή απουσία της IL-2 ευοδώνει την απόπτωση ώριμων T-λεμφοκυττάρων. Δευτερογενείς μεσολαβητές, όπως η πρωτεϊνική κινάση C ή τα αυξημένα επίπεδα των ιόντων Ca^{2+} οδηγούν επίσης σε απόπτωση.

4.1. Γενετική ρύθμιση της απόπτωσης

Σε πολλά κυτταρικά μοντέλα, η απόπτωση είναι τελικό αποτέλεσμα της έκφρασης γονιδίων, τα προϊόντα των οποίων προκαλούν τόσο την έναρξη των μορφολογικών μεταβολών, όσο και τον κυτταρικό θάνατο, αυτόν καθεαυτόν. Ο όρος *προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος* χρησιμοποιείται σ' αυτή την περίπτωση, για να δείξει την ύπαρξη ενός γονιδίου ή μιας ομάδας γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που ρυθμίζουν (διεγείρουν ή αναστέλλουν) τον κυτταρικό θάνατο. Διάφορα γονίδια έχουν συσχετιστεί με την απόπτωση και είτε διεγείρουν, είτε, ανάλογα με τις συνθήκες, διεγείρουν/αναστέλλουν την αποπτωτική διαδικασία.



Ο μεγάλος αριθμός των γονιδίων που σχετίζονται με τη ρύθμιση του αποπτωτικού μηχανισμού μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις ευρείες κατηγορίες:

- α) τα γονίδια *fas/fas ligand*, *myc*, *p53*, *p21WAF* (upstream genes), *Bax*, *Bad*, *bak*, *Bcl-xS*, *ced-3*, *ced-4* κ.ά. που επάγουν την απόπτωση
- β) τα γονίδια που δρουν ανασταλτικά στην αποπτωτική διαδικασία όπως *Bcl2*, μεταλλαγμένα *53*, *Bcl-xL*, *Bcl-w*
- γ) τα γονίδια που δρουν ως τελεστές (effectors) της απόπτωσης, όπως η οικογένεια ICE γονιδίων του μετατροπτικού ενζύμου της ιντερλευκίνης-1β (interleukin-1β converting enzyme).

4.2. Αποπτωτικά μονοπάτια

Δύο είναι τα βασικά μονοπάτια που συμμετέχουν στη διαδικασία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου: Το ενδογενές και η εξωγενές αποπτωτικό μονοπάτι. Η ενεργοποίηση αυτών των μονοπατιών είναι το αποτέλεσμα (γονιδίων, ενεργοποίησης κασπασών, κυτταροκινών, ειδικών υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη).

4.2.1. Εξωγενές αποπτωτικό μονοπάτι (*Extrinsic apoptotic pathway*)

Το μονοπάτι αυτό ενεργοποιείται από τη δράση ειδικών υποδοχέων στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης, των υποδοχέων TNF-α. Οι υποδοχείς αυτοί συνδέονται με υποκαταστάτες (ligands) και μέσω ενδοκυττάρων πρωτεϊνών προκαλούν ενεργοποίηση ενζύμων –των κασπασών (πρωτεασών κυστεΐνης)– με αποτέλεσμα την επαγωγή των κυττάρων προς απόπτωση. Στην όλη διαδικασία της απόπτωσης κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζουν T-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα, τα οποία μέσω των ειδικών μορίων FasL (Fas ligand), που βρίσκονται στην κυτταρική τους επιφάνεια, αλληλεπιδρούν με τον υποδοχέα Fas, ο οποίος εκφράζεται στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων στόχων²⁰⁵.

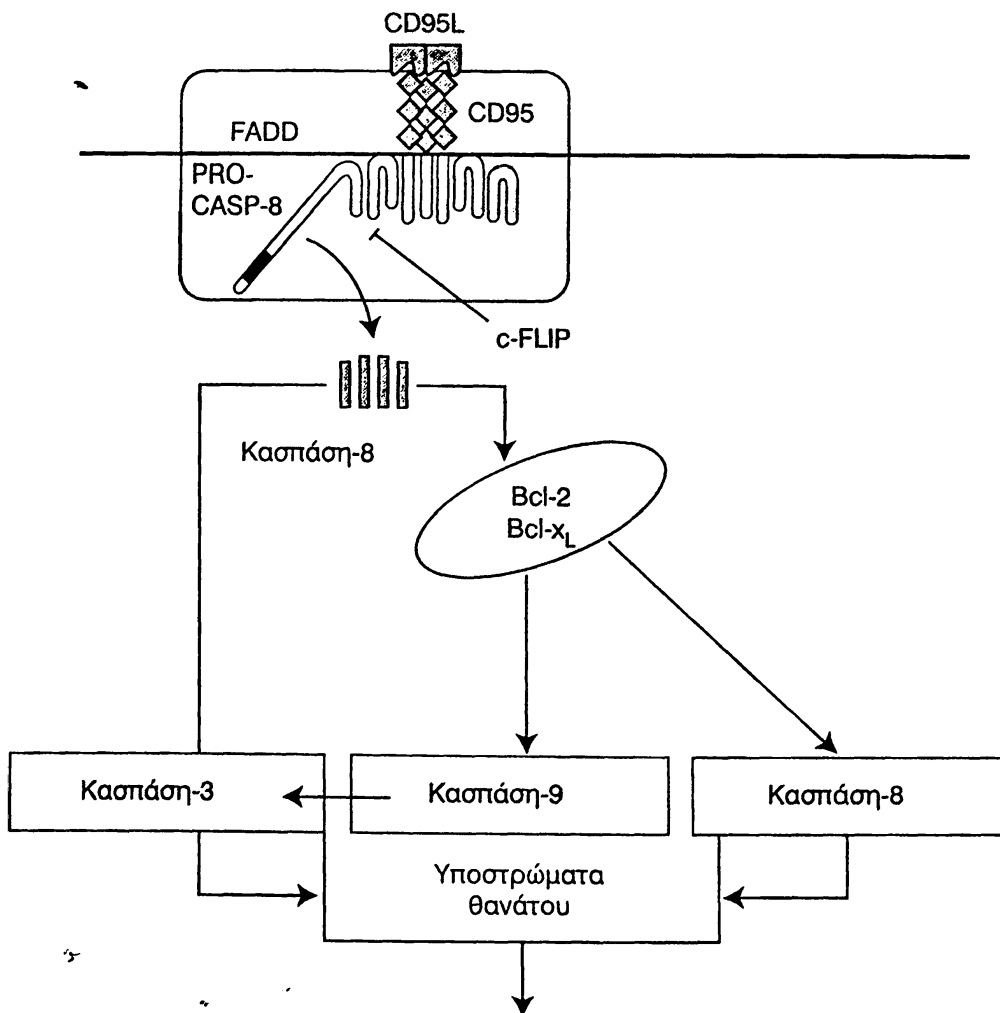
Η σύνδεση του FasL και του παράγοντα νέκρωσης όγκου TNF-α με τον συνδέτη Fas και με τον υποδοχέα TNF-α αντίστοιχα, καταλήγει σε διαμόρφωση σύνθετων σημάτων θανάτου, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της κασπάσης-8, τη ροή ενεργοποιημένων προκασπασών και τελικά την ενεργοποίηση της αποπτωτικής διαδικασίας των κυττάρων στόχων.

Πιο συγκεκριμένα, οι υποδοχείς αποτελούνται από μία εξωκυττάρια περιοχή πλούσια σε κυστεΐνες και μια ενδοκυττάρια περιοχή θανάτου (DD, Death Domain), που συμμετέχει στην μεταφορά του αποπτωτικού σήματος από την επιφάνεια του κυττάρου στο κυτταρόπλασμα. Μετά την ενεργοποι-



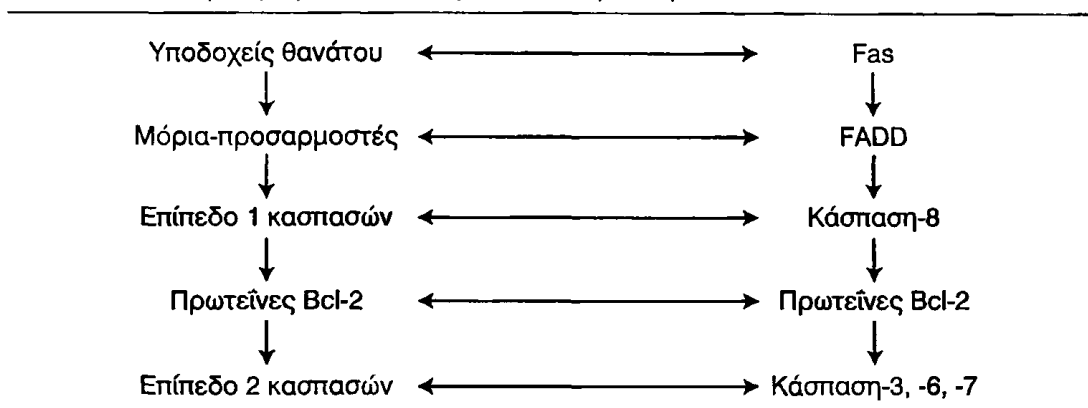
ησή τους, οι υποδοχείς επιστρατεύουν πρωτεΐνες προσαρμογής (adaptor proteins), π.χ. FADD (fas associated death domain) για τον υποδοχέα Fas/CD95, χρησιμοποιώντας τη δυνατότητα σύνδεσης των περιοχών θανάτου (DD) του ενδοκυττάριου μέρους των υποδοχέων με τις περιοχές θανάτου (DD) των πρωτεϊνών προσαρμογής.

Οι περιοχές προσαρμογής περιέχουν στο μόριό τους μία περιοχή εκτέλεσης θανάτου (DED, death effector domain) που συνδέεται με την περιοχή DED του αποπτωτικού ενζύμου προ-κασπάση 8 για να μετατραπεί σε



Εικόνα 8. Επαγωγή απόπτωσης μέσω Fas/CD95. Μετά τη σύνδεση του προσδετικού μορίου Fas ligand/CD95L στον υποδοχέα Fas/CD95 και τον τριμερισμό του Fas, το αποπτωτικό σήμα μεταβιβάζεται μέσω του μορίου-προσαρμοστή FADD στην προ-κασπάση-8. Αυτή ενεργοποιείται σε κασπάση-8 και ενεργοποιεί και άλλες κασπάσες-τελεστές που οδηγούν το κύτταρο σε απόπτωση. Η πρωτεΐνη FLIP περιέχει και αυτή περιοχή Death Effector Domain και είναι αναστολέας της κασπάσης-8.



Πίνακας 9. Ρύθμιση της απόπτωσης που επάγεται μέσω Fas και FasL.

ενεργοποιημένη κασπάση 8, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί τις κασπάσες 3, 6, και 7^{205,206,207} (Εικόνα 8, Πίνακας 9).

4.2.2. Ενδογενές αποπτωτικό μονοπάτι (*Intrinsic apoptotic pathway*)

Το ενδογενές μονοπάτι, ή μιτοχονδριακό αποπτωτικό μονοπάτι, ενεργοποιείται από ποικίλα ενδοκυττάρια (π.χ. βλάβη του γενετικού υλικού) και εξωκυττάρια ερεθίσματα (π.χ. χημειοθεραπευτικοί παράγοντες, γ-ακτινοβολία, στέρηση του κυττάρου από σήματα επιβίωσης όπως αυξητικοί παράγοντες, κυτταροκίνες, ορμόνες), σε απάντηση των οποίων μεταφέρονται διάφορα σήματα που καταλήγουν κυρίως στα μιτοχόνδρια. Η συμμετοχή των μιτοχονδρίων στην παραπάνω διαδικασία είναι πολύ σημαντική και χαρακτηρίζεται από πρόκληση μεταβολών, τόσο σε λειτουργικό όσο και σε δομικό επίπεδο. Οι μεταβολές αυτές, κυρίως βιοχημικές, επιφέρουν αύξηση της διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων, την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα, καθώς και άλλων προ-αποπτωτικών μορίων, την ενεργοποίηση κασπασών (κασπάσες 9) και τελικά το σχηματισμό ενός σύμπλοκου αποπτωτικού παράγοντα που ονομάζεται αποπτώσωμα (apoptosome). Το αποπτώσωμα αποτελεί σύμπλεγμα του παράγοντα Araf-1 (Apoptotic protease activating factor-1), με τον οποίον συνδέεται το κυτόχρωμα c, συμβάλλοντας έτσι ενεργά στις διεργασίες της απόπτωσης^{208,202}.

4.3. Παράγοντες που συμμετέχουν στην απόπτωση

4.3.1. Οικογένεια Bcl2

Η οικογένεια Bcl2 περιλαμβάνει περίπου 25 πρωτεΐνες που διακρίνονται σε προ-επιβιωτικές (*Bcl2* και *Bcl-X₁*) και σε προ-αποπτωτικές (*Bad*,



Bax) και σχηματίζουν ομοιογενείς ή ετερογενείς διμερείς ενώσεις. Οι πρωτεΐνες αυτές εντοπίζονται κυρίως στη μεμβράνη των μιτοχονδρίων, στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στην πυριηνική μεμβράνη των φυσιολογικών κυττάρων και αποτελούν προϊόντα γονιδίων. Η ευαισθησία των κυττάρων στα αποπτωτικά σήματα φαίνεται ότι ρυθμίζεται από την ισορροπία μεταξύ των προ-επιβιωτικών και των προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών, ενώ το είδος του κυρίαρχου διμερούς θα προσδιορίσει και τελικά θα καθορίσει την επαγωγή ή την αναστολή των κυττάρων προς απόπτωση. Φυσιολογικά, τα κύτταρα φέρουν στην επιφάνεια των μιτοχονδρίων τους την πρωτεΐνη *Bcl2*, η οποία προστατεύει τα κύτταρα από κυτταρικό θάνατο. Η εντόπιση του *Bcl2* στα μιτοχόνδρια παίζει σημαντικό ρόλο στα πρώιμα στάδια της απόπτωσης και θεωρείται «αναστολέας του κυτταρικού θανάτου» προάγοντας τελικά τη βιωσιμότητα των κυττάρων²¹⁰.

Το γονίδιο *Bcl2* αλληλεπιδρά με ένα άλλο γονίδιο, το *bax*, η έκφραση του οποίου προκαλεί απόπτωση, ενώ φαίνεται ότι μεταξύ των *Bcl2* και *bax* υπάρχει μια διασταυρούμενη αντίθετη σχέση. Έχει αποδειχθεί ότι οι πρωτεΐνες *Bcl2* και *bax* σχηματίζουν διμερή (*Bcl2-Bcl2* και *bax-bax*). Κατ' αυτό τον τρόπο η μία είναι δυνατόν να αντικαθιστά την άλλη στο διμερές και να αναστέλεται η δράση της.

Bax: Ανήκει στην οικογένεια των *Bcl2* και κωδικοποιείται από 6 εξόνια. *In vitro*, η *bax* μαζί με τη *Bcl2* ομοδιμερίζεται και σχηματίζει ετεροδιμερή. Όταν η *bax* υπερεκφράζεται, προκαλεί επιτάχυνση του κυτταρικού θανάτου. Η αναλογία της *Bcl2* προς της *bax* καθορίζει, μετά από κάποιο αποπτωτικό ερέθισμα, την επιβίωση ή τον θάνατο των κυττάρων²¹¹.

Bcl-x: Πρόκειται για ένα ομόλογο γονίδιο με το *Bcl2*, που κωδικοποιεί 2 πρωτεΐνες, τη *bcl-xL* και τη *bcl-xs*. Από αυτές, η πρώτη, η *bcl-xL* αποτελεί τη μακρά μορφή (long form) της *Bcl2* και είναι όμοια με αυτήν ως προς τη δομή, το μέγεθος και τη λειτουργία της, αναστέλλει την αποπτωτική διαδικασία που προκαλείται από τη *bcl-xs*, η οποία αποτελεί τη βραχεία μορφή (short form) της και επάγει τα κύτταρα προς απόπτωση²¹².

4.3.2. Κυτταροκίνες (Cytokines)

Οι κυτταροκίνες ή κυτοκίνες²¹³ συνιστούν μια οικογένεια μικρομοριακών πρωτεϊνών, γλυκοπρωτεϊνών, με (MB < 80 kDa), οι οποίες παράγονται από διάφορα είδη κυττάρων του οργανισμού και σχηματίζουν πολύπλοκα δίκτυα επικοινωνίας. Επίσης, συμμετέχουν στο μηχανισμό της φλεγμονής, καθώς και σε ανοσορρυθμιστικές αποκρίσεις, οι οποίες συμβαίνουν κατά τη διαδικασία της απόπτωσης, προκαλώντας ενεργοποίηση, αύξηση ή και τον



θάνατο των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι κυτταροκίνες διακρίνονται σε λεμφοκίνες, (lympokines), που παράγονται από τα λεμφοκύτταρα, σε χυμοκίνες (chemokines), που ενεργοποιούνται στα αρχικά στάδια της φλεγμονής και σε μονοκίνες που παράγονται από τα μακροφάγα.

Στις κυτταροκίνες περιλαμβάνονται εκτός από τον παράγοντα TNF- α , η IFN- γ και ο συνδέτης Fas (FasL).

Ο παράγοντας νέκρωσης όγκου, ο TNF- α , είναι μια πολύ σημαντική κυτταροκίνη που συμμετέχει σε φλεγμονές, διεγείρει την αγγειογένεση, ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στην απόπτωση.

Η οικογένεια του TNF- α υποδοχέα είναι μια πρωτεΐνη 17 kDa, η οποία παράγεται από διάφορα είδη κυττάρων, αλλά κυρίως από μακροφάγα, από T- και B-λεμφοκύτταρα.

4.3.3. Κασπάσες (Caspases)

Είναι πρωτεΐνες που συνιστούν μια ομάδα πρωτεασών κυστεΐνης οι οποίες συμμετέχουν άμεσα ή έμμεσα στις μορφολογικές και βιοχημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα στα κύτταρα, κατά τη διαδικασία της απόπτωσής τους, χαρακτηριζόμενες ως τα εκτελεστικά μόρια της απόπτωσης. Οι κασπάσες εντοπίζονται μέσα στα κύτταρα και αποτελούν αδρανείς μορφές των ζυμοενζύμων (zymogens). Αυτά τα τελευταία μπορούν να διασπώνται σε ενεργά ένζυμα, τα οποία στη συνέχεια επάγουν τα κύτταρα προς απόπτωση. Η επαγωγή προς απόπτωση των κυττάρων μέσω των υποδοχέων θανάτου της κυτταρικής μεμβράνης, ενεργοποιεί και άλλες κασπάσες, κυρίως την -8 και -10, οι οποίες εκφράζονται με τη μορφή αντιδράσεων-καταρράκτη. Η ενεργοποίηση των κασπασών λαμβάνει χώρα τόσο στο ενδογενές όσο και στο εξωγενές αποπτωτικό μονοπάτι²⁰⁷.

4.3.4. Granzyme B

Το ένζυμο Granzyme B είναι μια πρωτεάση σερίνης και αποτελεί συστατικό των κοκκίων του κυτταροπλάσματος. Το ένζυμο αυτό κατανέμεται μέσα στα κύτταρα με την επίδραση των T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων και ενεργοποιεί άμεσα τις κασπάσες -3, -7 και -10, ώστε να επάγουν σε απόπτωση τα κύτταρα στόχους.

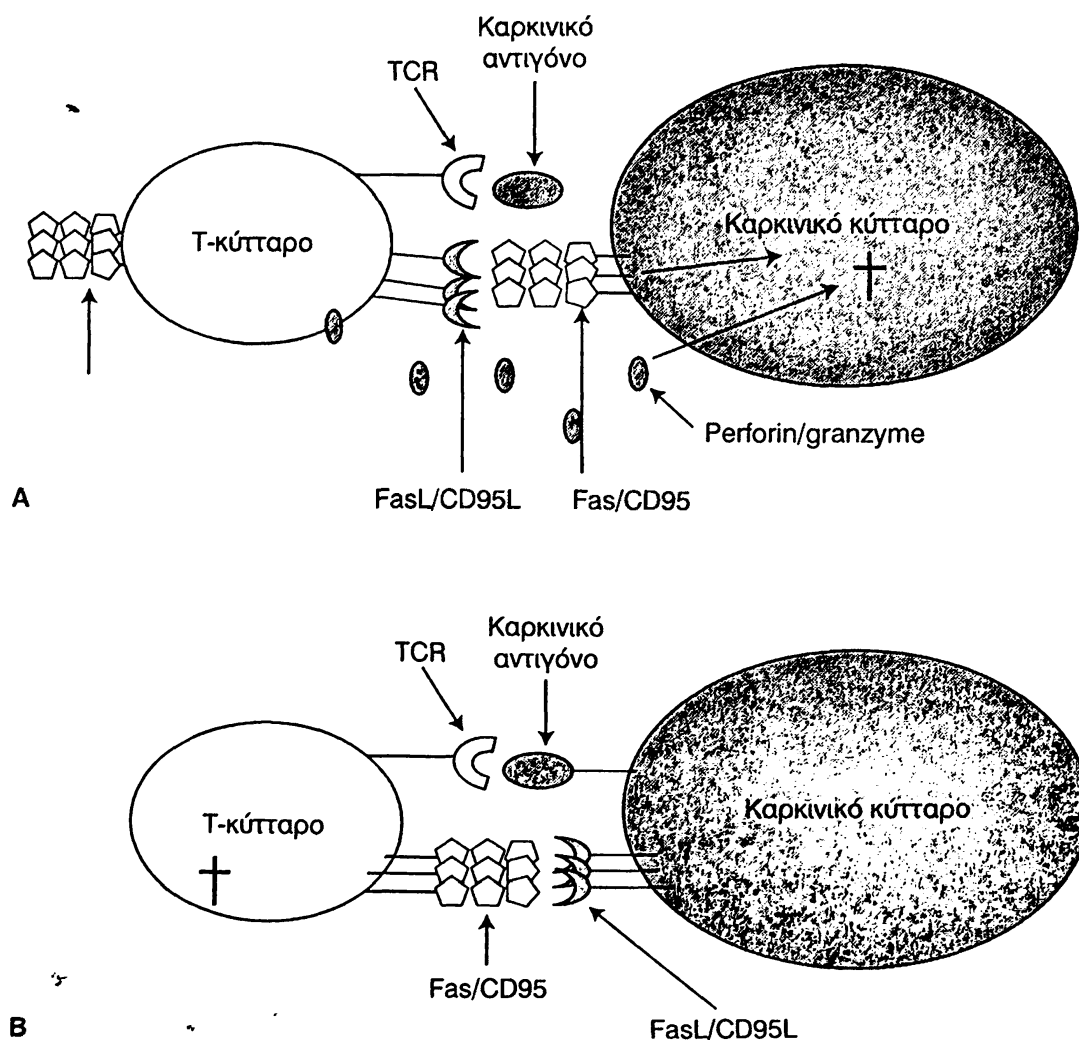
4.3.5. Οι υποδοχείς θανάτου και το μονοπάτι Fas/FasL^{206,214}

Οι υποδοχείς θανάτου (death receptors) αποτελούν μία υποομάδα στην υπεροικογένεια υποδοχέων του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNFR,



tumor necrosis factor receptor superfamily) με μια ομόλογη κυτταροπλασματική περιοχή 80 αμινοξέων, που ονομάζεται περιοχή θανάτου DD (death domain) (εικ. 2). Οι περιοχές θανάτου επιτρέπουν στους υποδοχείς θανάτου να συνδεθούν με τον αποπτωτικό μηχανισμό.

Οι υποδοχείς που έχουν χαρακτηριστεί καλύτερα μέχρι σήμερα είναι ο υποδοχέας *CD95/Fas/Apo1* και ο τύπου 1 υποδοχέας του TNF ή *TNFR1*, ο *DR3* (death receptor 3) ή *Apo3*, ο *CAR1*, ο *DR4* και ο *DR5* ή *Apo2*.



Εικόνα 9. Αλληλεπιδράσεις T-κυττάρων με καρκινικά κύτταρα: (α) το T-κύτταρο αναγνωρίζει το κύτταρο μέσω του υποδοχέα του TCR και το σκοτώνει μέσω της αλληλεπίδρασης Fas/FasL ή με την απελευθέρωση περφορίνης, (β) το καρκινικό κύτταρο είναι ανθεκτικό στην απόπτωση και εκφράζει FasL. Το T-κύτταρο αναγνωρίζει το καρκινικό κύτταρο, αλλά σκοτώνεται από το καρκινικό κύτταρο μέσω αλληλεπίδρασης Fas/FasL ("tumor counter-attack").



Οι υποδοχείς Fas, TNFR1 και DR3 μεταβιβάζουν τα αποπτωτικά σήματα μέσω του μορίου-προσαρμοστή FADD/Mort 1 (Fas-associated death domain) στην προκασπάση-8 και προκαλούν την ενεργοποίησή της σε κασπάση-8. Η κασπάση-8 στη συνέχεια ενεργοποιεί κασπάσες-τελεστές, όπως η κασπάση-9, οδηγώντας το κύτταρο στην απόπτωση.

Η πρωτεΐνη Fas εκφράζεται σε διάφορους ιστούς συμπεριλαμβανομένου του θυρεοειδή αδένου, καθώς και σε ποικιλία κυτταρικών τύπων, όπως είναι τα ενεργοποιημένα T- και B-λεμφοκύτταρα. Το προσδετικό μόριο Fas ligand (FasL) είναι διαμεμβρανική πρωτεΐνη, που επίσης ανήκει στην οικογένεια TNF. Για την πρόκληση απόπτωσης είναι απαραίτητη η ενεργοποίηση του υποδοχέα Fas είτε μέσω αντισώματος είτε μέσω του προσδετικού μορίου FasL.

Μέχρι σήμερα γνωρίζουμε ότι υποδοχείς Fas/CD95 και FasL/CD96L παίζουν σημαντικό ρόλο κυρίως σε τρεις τύπους φυσιολογικής απόπτωσης: (α) στην περιφερική εξάλειψη ενεργοποιημένων ώριμων T-κυττάρων κατά τη λήξη μιας ανοσολογικής αντίδρασης, (β) στην καταστροφή κυττάρων-στόχων (όπως κύτταρα προσβεβλημένα από ιούς ή καρκινικά κύτταρα) μέσω των T-κυτταροτοξικών κυττάρων και των κυττάρων-φυσικών φονιάδων (NK) και, (γ) στην εξάλειψη κυττάρων φλεγμονής σε ανοσολογικά προνομιακούς ιστούς (immune-privileged), όπως είναι οι ιστοί των οφθαλμών και των όρχεων (Εικόνα 9).

5. Ο ρόλος του p53 στην απόπτωση

Οι κυριότερες γνωστές λειτουργίες του γονιδίου p53 είναι η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η κυτταρική απάντηση στην καταστροφή του DNA, η έναρξη της επιδιόρθωσης και της αντιγραφής του DNA, η επαγωγή της απόπτωσης και η προαγωγή της κυτταρικής διαφοροποίησης²¹⁵.

Το φυσικό στέλεχος του γονιδίου p53 αποτελεί έναν τοποτηρητή της γονιδιακής σταθερότητας του κυττάρου. Όταν το φυσικό στέλεχος του γονιδίου p53 προκαλεί διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1, παρέχοντας στο κύτταρο ένα χρονικό περιθώριο για να επιδιορθώσει τη βλάβη. Αν η επιδιόρθωση αποτύχει, το κύτταρο οδηγείται σε αποπτωτικό θάνατο.

Το φυσικό στέλεχος του γονιδίου p53 λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο και αποτρέπει το νεοπλασματικό μετασχηματισμό των κυττάρων, την *in vitro* αύξηση των καρκινικών κυττάρων και τη δράση των ογκογονιδίων σε κυτταρικές καλλιέργειες και μπορεί να εμποδίσει τη δημιουργία ό-



γκων σε πειραματικά ζωικά μοντέλα. Οι μεταλλαγμένες p53 πρωτεΐνες, που ανιχνεύονται στα κύτταρα των όγκων, στερούνται αυτών των ιδιοτήτων. Η απώλεια της λειτουργίας του p53 μπορεί να είναι αποτέλεσμα μεταλλάξεων του γονιδίου p53 με ή χωρίς συνοδό αλληλική εξάλειψη, σύνδεσης της p53 πρωτεΐνης με κυτταρικές πρωτεΐνες (π.χ. MDM2), σύνδεσης της p53 πρωτεΐνης με ικές ογκοπρωτεΐνες και μετατόπισης της πρωτεΐνης p53 από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα.

Οι μεταλλάξεις στη δομή του p53 αποτελούν την πιο συχνή γενετική ανωμαλία στον καρκίνο του ανθρώπου. Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη p53 έχει παρατεταμένο χρόνο ημίσειας ζωής, γεγονός που επιτρέπει την ανίχνευσή της με την ανοσοϊστοχημεία. Η μεταλλαγμένη p53 πρωτεΐνη, καθώς και τα ετεροδιδμερή που σχηματίζει με τη φυσιολογική p53 πρωτεΐνη, δεν μπορούν να συνδεθούν με της αλληλουχίες του DNA και δεν μπορούν να ρυθμίσουν τις μεταγραφικές δραστηριότητες. Επίσης, δεν μπορούν να σταματήσουν τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G1 μετά από βλάβη του DNA ούτε να καταστείλουν την αύξηση των καρκινικών κυττάρων.

Μεταλλάξεις του p53 γονιδίου έχουν παρατηρηθεί στο 20-40% των καρκίνων του μαστού.

6. Ο ρόλος της απόπτωσης στη θεραπεία του καρκίνου

Η απόπτωση, εκτός από τη σημασία της στη δημιουργία της κακοήθειας σχετίζεται και με τη θεραπεία της^{216,217}. Η πλειοψηφία των θεραπευτικών μέσων που χρησιμοποιούνται σήμερα για την αντιμετώπιση του καρκίνου, όπως η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία και η ορμονοθεραπεία, εξαρτούν τη δράση τους από την ικανότητά τους στη διέγερση της αποπτωτικής δραστηριότητας στα καρκινικά κύτταρα. Η αποπτωτική δράση των αντικαρκινικών θεραπευτικών μέσω εξαρτάται τόσο από τη φύση του χρησιμοποιούμενου μέσου, όσο και από το είδος των καρκινικών κυττάρων, ανάλογα με την ταχύτητα διέγερσης της απόπτωσης και την ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με τα γονίδια που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο και τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.

Διάφοροι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες προάγουν την απόπτωση στους όγκους. Χημειοθεραπευτικά αντικαρκινικά φάρμακα οδήγησαν σε έντονη απόπτωση στους όγκους (συμβάλλοντας έτσι στην καταστολή τους), παράλληλα όμως και σε φυσιολογικούς ιστούς, συμμετέχοντας έτσι στα αρνητικά αποτελέσματα της χημειοθεραπείας. Έχει βρεθεί ότι τροφικές κυταροκίνες ή αύξηση της έκφρασης του *Bcl2* πρωτοογκογονιδίου εμποδίζει



την πρόκληση απόπτωσης από τους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες και οδηγεί σε αντοχή στη χημειοθεραπεία.

Ορμονικοί παράγοντες έχουν επίσης συσχετιστεί με την απόπτωση. Απόσυρση ορμονικών ερεθισμάτων είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη απόπτωση σε ορμονοεξαρτώμενους όγκους, π.χ. σε καρκίνωμα μαστού και προστάτη. Αντίθετα, αυξημένα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών είχαν ως αποτέλεσμα αυξημένη απόπτωση σε λεμφοβλαστικές λευχαιμίες και κακοήγη λεμφώματα. Η παραπάνω δράση των γλυκοκορτικοειδών αναστέλλεται σε περίπτωση υπερέκφρασης του *Bcl2* πρωτο-ογκογονιδίου, με συνέπεια αντοχή στην ορμονοθεραπεία.

Σήμερα σε ευρεία χρήση, ως θεραπευτικά μέσα σε πολλές μορφές καρκίνου, είναι ουσίες όπως οι αναστολείς της τοποϊσομεράσης (αδριαμυκίνη, ετοποσίδη, τενιποσίδη, αμσακρίνη), αντιμεταβολίτες (5-φθοριο-ουρακίλη, μεθοτρεξάτη), παράγοντες αλκυλίωσης (κυκλοφωσφαμίδιο, *cis*-πλατίνα) και αναστολείς της τουμπουλίνης (βινκριστίνη, βινμπλαστίνη). Η δράση των παραγόντων αυτών σχετίζεται με τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου των καρκινικών κυττάρων. Έτσι, καρκινικά κύτταρα που έχουν επωαστεί με τις ουσίες αυτές σταματούν την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου στη φάση G_1 ή G_2 και λόγω των εκτεταμένων βλαβών του DNA, που δεν είναι δυνατό να επιδιορθωθούν, το κύτταρο πεθαίνει με απόπτωση. Οι αναστολείς της τοποϊσομεράσης, οι αντιμεταβολίτες, οι παράγοντες αλκυλίωσης είναι δυνατόν να προκαλέσουν απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα του μαστού ανεξάρτητα από τον κυτταρικό κύκλο. Σε ευρεία χρήση, εξάλλου, κυρίως για τη θεραπεία της λευχαιμίας, είναι τα γλυκοκορτικοειδή. Σε μορφές καρκίνου που εξαρτώνται από ορμόνες, η χορήγηση αντι-οιστρογόνων και ταμοξιφένης προκαλεί απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και υποχώρηση του όγκου. Τα θεραπευτικά αυτά σχήματα εφαρμόζονται στην αντιμετώπιση το καρκίνου του μαστού.

Η ακτινοβολία σε μικρές ή μέτριες δόσεις αυξάνει την απόπτωση στους όγκους, όπως εξάλλου και σε φυσιολογικούς ιστούς, ενώ μεγάλες δόσεις οδηγούν σε νέκρωση. Έχει βρεθεί αυξημένη απόπτωση σε όγκους που είναι ακτινοευαίσθητοι.

Κεντρική θέση στο μηχανισμό έναρξης της απόπτωσης μετά από ακτινοβολία, κατέχει ο φυσικός τύπος του γονιδίου *p53*. Η ακτινοβολία προκαλεί βλάβη στο DNA του κυττάρου και αυτή με τη σειρά της οδηγεί σε υπερέκφραση του γονιδίου *p53*. Το γονίδιο αυτό αποτελεί ένα είδος τοποτηρητή της σταθερότητας του γονιδιακού υλικού και προκαλεί διακοπή της κυτταρικής ανάπτυξης του προσβεβλημένου κυττάρου στη φάση G_1 του κυττα-



ρικού κύκλου. Παρέχεται έτσι στο κύτταρο ένα χρονικό περιθώριο ώστε να επιδιορθώσει τη βλάβη. Εάν αυτό δεν επιτευχθεί, το κύτταρο οδηγείται σε απόπτωση. Το τελευταίο αυτό βήμα έχει αποδειχθεί μόνο σε κύτταρα όγκων.

Στην περίπτωση όμως των ιονιζουσών ακτινοβολιών και ορισμένων χημειοθεραπευτικών ουσιών που δρουν κατευθείαν στο DNA, η ανθεκτικότητα των κακοήθων κυττάρων σχετίζεται με την έκφραση γονιδίων, όπως τα *c-myc*, *c-fos* και *c-jun* και το *p53*. Η έκφραση των *c-myc*, *c-fos* και *c-jun* μπορεί να κατευθύνει επιτυχώς την αποπτωτική δράση πολλών αντικαρκινικών ουσιών, όπως του TFNa, της ετοποσίδης κ.ά. Η έκφραση του γονιδίου *p53* φαίνεται ότι παίζει επίσης ένα σημαντικό ρόλο στην αποπτωτική δράση πολλών χημειοθεραπευτικών ουσιών, καθώς και των ακτινοβολιών. Έτσι, κύτταρα στα οποία εκφράζεται το *p53* πεθαίνουν με απόπτωση μετά από επίδραση 5-φθοριο-ουρακίλης, ετοποσίδης, αδριαμυκίνης και ιονιζουσών ακτινοβολιών, σε αντίθεση με κύτταρα στα οποία το *p53* δεν εκφράζεται και τα οποία είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά στους παράγοντες αυτούς. Για την αποπτωτική του δράση, το *p53* απορρυθμίζει το γονίδιο *Bcl2*, του οποίου η έκφραση, όπως έχει αναφερθεί, αναστέλλει την απόπτωση, ενώ το *Bcl2* συμμετέχει στην ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία που παρατηρείται σε ορισμένες μορφές λευχαιμίας.

Κατανοώντας όλο και περισσότερο τον τρόπο δράσης των γονιδίων αυτών σε σχέση με την απόπτωση και κατ' επέκταση με τον κυτταρικό θάνατο, νέες προοπτικές διαγράφονται στη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου. Στόχος αυτής της θεραπευτικής αντιμετώπισης είναι αφενός μεν η αύξηση του αυτόματου κυτταρικού θανάτου στα κύτταρα του όγκου και αφετέρου η μείωση της αντοχής των νεοπλασματικών κυττάρων στις διάφορες μορφές θεραπείας. Οι στόχοι αυτοί θα επιτευχθούν, αν αυξηθεί η έκφραση των γονιδίων που προάγουν την απόπτωση, με φάρμακα τα οποία θα προκαλούν υπερέκφραση του φυσικού τύπου του *p53* ή θα μιμούνται τη δράση του ή θα δρουν ως υποδοχείς Fas, που πυροδοτούν την απόπτωση. Στο ίδιο αποτέλεσμα στοχεύει η ανεύρεση φαρμάκων τα οποία θα αναστέλλουν την έκφραση του *Bcl2*, το οποίο, ως γνωστό, καταστέλλει την απόπτωση. Ομοίως, μείωση της έκφρασης μεταλλαγμένων γονιδίων, όπως ο μεταλλαγμένος τύπος του γονιδίου *p53* ή το χιμαιρικό γονίδιο *Bcr-Abl* της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας, θα είχε ανάλογα αποτελέσματα. Τέλος, οι αυξητικοί παράγοντες προσφέρουν ένα σημαντικό πεδίο θεραπευτικής παρέμβασης. Για παράδειγμα, αποστέρηση ειδικών αυξητικών παραγόντων (όπως ο IGF-1 για τους ινοβλάστες) ευνοεί την αποπτωτική δράση του *c-myc*.



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



1. ΣΚΟΠΟΣ

Η μεγάλη συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου του μαστού και η διαπίστωση ότι ασθενείς με καρκίνο του μαστού δεν εμφανίζουν την ίδια βιολογική συμπεριφορά έχει οδηγήσει την έρευνα και τη μελέτη, τόσο σε κυτταρικό/μοριακό όσο και σε κλινικό επίπεδο, στη διερεύνηση και ερμηνεία των μηχανισμών που οδηγούν στην καρκινογένεση και στην αναζήτηση προγνωστικών δεικτών. Μια σειρά από κλινικούς παθολογοανατομικούς παράγοντες και μοριακούς δείκτες, που αφορούν είτε τα χαρακτηριστικά του ασθενούς είτε τα χαρακτηριστικά του όγκου, έχουν μελετηθεί και μας δίνουν πληροφορίες για την πιθανή πορεία της νόσου, ενώ επίσης βοηθούν στη διαμόρφωση της θεραπευτικής στρατηγικής.

Η απόπτωση είναι μία μορφή κυτταρικού θανάτου, προγραμματισμένη και ελεγχόμενη γενετικά, με την οποία ο οργανισμός αποβάλλει γηρασμένα, κατεστραμμένα ή νοσηρά κύτταρα, με σκοπό την ομοιόστασή του και την ενίσχυση της άμυνάς του. Τελευταία συσσωρεύονται όλο και περισσότερες γνώσεις ότι το φαινόμενο της απόπτωσης παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην καρκινογένεση όσο και στην εξέλιξη και βιολογία του καρκίνου του μαστού ενώ παράλληλα μια σειρά από μελέτες έχουν δείξει ότι η απόπτωση ελέγχεται γενετικά από μερικά από τα συνηθέστερα γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο, όπως το γονίδιο Bcl2, που θεωρείται ότι αναστέλλει την απόπτωση και το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53, που την προάγει. Τα γονίδια αυτά έχουν μελετηθεί και στον καρκίνο του μαστού του ανθρώπου.

Στον καρκίνο του μαστού η απόπτωση, όπως εκφράζεται με τον αποπτωτικό δείκτη (AI), έχει μελετηθεί και συσχετισθεί με ορισμένους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες που συνδέονται με την βιολογική συμπεριφορά της νόσου, όπως βαθμός διαφοροποίησης, ορμονικοί υποδοχείς, δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, μέγεθος όγκου, διήθηση σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων. Επίσης, η σχέση του αποπτωτικού δείκτη (AI) με τις ογκοπρωτεΐνες Bcl2 και p53 έχει μελετηθεί στον καρκίνο του



μαστού, σε αρκετές σειρές ασθενών. Στο σύνολο σχεδόν, όμως, των μελετών δεν αποδεικνύεται η ανεξάρτητη προγνωστική σημασία του αποπτωτικού δείκτη.

Σκοπός της Διδακτορικής αυτής Διατριβής είναι να συμβάλει στη μελέτη και διερεύνηση της προγνωστικής σημασίας της απόπτωσης στη βιολογική συμπεριφορά και κλινική πορεία του καρκίνου του μαστού.

Πιο συγκεκριμένα η παρούσα εργασία αποσκοπεί να μελετηθεί η απόπτωση και η ποσοτική της έκφραση, που είναι ο αποπτωτικός δείκτης (AI) στο πορογενές αδενοκαρκίνωμα του μαστού μη ειδικού τύπου (NST), και τα ευρήματα να συσχετισθούν με τον μιτωτικό δείκτη (MI) και γνωστούς κλινικούς και παθολογοανατομικούς παράγοντες (μέγεθος όγκου, διήθηση σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων, στάδιο νόσου, βαθμός κακοήθειας, έκφραση ορμονικών υποδοχέων, ηλικία, εμμηνοπαυσιακή κατάσταση) καθώς και με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53. Για τους σκοπούς της μελέτης, ανάλογη συσχέτιση θα γίνει μεταξύ του μιτωτικού δείκτη (MI) με τους ίδιους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες καθώς και με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53. Τέλος ο αποπτωτικός δείκτης (AI), ο μιτωτικός δείκτης (MI), οι παραπάνω κλινικοπαθολογοανατομικοί δείκτες και η έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53 θα συσχετισθούν με την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (Relapse Free Survival, RFS) των ασθενών.



2. ΥΛΙΚΟ - ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Ασθενείς

Μελετήθηκαν 175 ασθενείς γυναίκες, προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές, ηλικίας 28 έως 72 ετών (μέσος όρος ηλικίας 54 έτη), με διηθητικό πορογενές αδenoκαρκίνωμα του μαστού, μη ειδικού τύπου (NST) σταδίου I, II_A, II_B και III_A, που αντιμετωπίστηκαν κατ' αρχήν χειρουργικά στο Α.Ν.Θ. «Θεαγένειο» κατά το χρονικό διάστημα από τον Ιανουάριο του 1992 έως τον Δεκέμβριο του 1993 (Ιανουάριος 1992-Δεκέμβριος 1993). Αμέσως μετά την αρχική διαγνωστική προσέγγιση οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε χειρουργική επέμβαση, η οποία ανάλογα με τα κλινικά και απεικονιστικά χαρακτηριστικά του όγκου και μετά από ενημέρωση της ασθενούς και την εκτίμηση του χειρουργού ήταν τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή ή τμηματεκτομή με λεμφαδενικό καθαρισμό μασχάλης. Πριν από την χειρουργική αντιμετώπιση οι ασθενείς δεν υπεβλήθησαν σε κανενός είδους άλλη θεραπεία (νεο-adjuvant θεραπεία, Α/Θ ή Ο/Θ). Στη συνέχεια και μετά την ιστολογική επιβεβαίωση της νόσου οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία, ορμονοθεραπεία ή συνδυασμούς αυτών. Το μετεγχειρητικό θεραπευτικό σχήμα προσδιοριζόταν αφού λαμβάνονταν υπόψη το είδος της χειρουργικής επέμβασης, το στάδιο της νόσου και η ορμονική κατάσταση της ασθενούς (προεμμηνοπαυσιακή-μετεμμηνοπαυσιακή, θετική-αρνητική παρουσία ορμονικών υποδοχέων). Η σταδιοποίηση έγινε σύμφωνα με το κοινό σχήμα TNM της AJCC (American Joint Committee on Cancer) και της UICC (Union Internationale Centre le Cancer) όπως αυτό αναθεωρήθηκε το 1988, ενώ ο βαθμός διαφοροποίησης του νεοπλάσματος καθορίστηκε σύμφωνα με τα κριτήρια του κατά Bloom-Richardson συστήματος. Ο προσδιορισμός των ορμονικών υποδοχέων έγινε με τη βιοχημική μέθοδο προσρόφησης με ενεργό άνθρακα (DCC) και ως θετικές θεωρήθηκαν οι τιμές που ήταν μεγαλύτερες από 10 fmoles/mg.



2. Παρακολούθηση των ασθενών (Follow-up)

Αμέσως μετά τη θεραπεία πρώτης γραμμής και μέχρι τον Δεκέμβριο του 2007 οι ασθενείς υποβάλλονταν σε συνεχή παρακολούθηση σε τακτά χρονικά διαστήματα και ανάλογα με την κλινική πορεία της νόσου. Η παρακολούθηση γίνονταν με κλινική εξέταση, εργαστηριακό έλεγχο για την εκτίμηση λειτουργίας άλλων οργάνων και με την ανίχνευση των CA 15-3 και CEA. Ο απαραίτητος απεικονιστικός έλεγχος περιελάμβανε τη διενέργεια μαστογραφίας, υπερηχογραφήμάτων, σπινθηρογραφήμάτων, αξονικής και μαγνητικής τομογραφίας για την διαπίστωση της ύπαρξης τοπικής ή μη υποτροπής και για την ανίχνευση μεταστάσεων στους πνεύμονες, στο ήπαρ, στα οστά, στον εγκέφαλο ή ανάλογα με την κλινική συμπτωματολογία σ' άλλα όργανα. Το χρονικό διάστημα της παρακολούθησης ήταν από τον Ιανουάριο του 1992 έως τον Δεκέμβριο του 2007 (168-192 μήνες).

3. Εκτίμηση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη

Η εκτίμηση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη έγινε σε τομές παραφίνης και χρώση ηωσίνης-αιματοξυλίνης και εκφράσθηκε ως ο μέσος όρος των κυττάρων που βρίσκονται σε απόπτωση και μίτωση, αντίστοιχα, σε 20 οπτικά πεδία (ΟΠ) μεγάλης μεγέθυνσης ($\times 400$).

Τα αποπτωτικά κύτταρα αναγνωρίστηκαν από τα ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους, όπως πύκνωση του κυτταροπλάσματος και περιφερική διάταξη της χρωματίνης του πυρήνα. Στη μέτρηση περιελήφθησαν και τα αποπτωτικά σωματίδια. Όταν αυτά συγκεντρώνονταν κατά αθροίσεις, καταμετρήθηκαν σαν ένα, θεωρούμενα ότι προέρχονται από ένα αποπτωτικό κύτταρο.

Υπολογισμός αποπτωτικού (ΑΔ) και μιτωτικού δείκτη (ΜΔ)

$$ΑΔ = \frac{nA \text{ στα } 20 \text{ ΟΠ}}{20}$$

$$ΜΔ = \frac{nM \text{ στα } 20 \text{ ΟΠ}}{20}$$

nA : Συνολικός αριθμός αποπτωτικών κυττάρων και σωματίων

nM : Συνολικός αριθμός μιτώσεων

ΟΠ : Οπτικά πεδία μεγάλης μεγέθυνσης ($\times 400$)



4. Ανοσοϊστοχημική μέθοδος

Η ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53 μελετήθηκε σε τομές παραφίνης με μονοκλωνικά αντισώματα. Εφαρμόστηκαν τα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-Bcl2 (κλώνος 124, DAKO) και αντι-p53 (κλώνος DO 7, DAKO) με τη μέθοδο αβιδίνης-βιοτίνης και σαν χρωμογόνο χρησιμοποιήθηκε η διαμινοβενζιδίνη (DAB). Η ανοσοαντίδραση θεωρήθηκε θετική, εφ' όσον τουλάχιστον 10% των καρκινικών κυττάρων ήταν θετικά.

5. Στατιστική ανάλυση

Η επιλογή της στατιστικής μεθόδου έγινε με βάση τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των δεικτών που μελετήθηκαν και την αντικειμενική απόδοση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης.

Η σύγκριση των συνεχών μεταβλητών έγινε με τον στατιστικό έλεγχο t (t-test), ενώ για τη σύγκριση των κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο στατιστικός έλεγχος χ^2 . Όταν μία συνεχής μεταβλητή δεν ακολουθεί κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε ο λογάριθμος της μεταβλητής. Για τον πολυπαραγοντικό έλεγχο του αποπτωτικού δείκτη σε σχέση με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες χρησιμοποιήθηκε το πολυμεταβλητό μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης.

Η ανάλυση της επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής μιας ομάδας ασθενών ή διαφορετικών ομάδων ασθενών, όταν αυτές διαφέρουν κατά ένα παράγοντα, έγινε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και η σύγκριση των αποτελεσμάτων των επιβιώσεων ελεύθερης υποτροπής έγινε με στατιστικό έλεγχο log-rank. Η πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής έγινε με τη χρήση του μοντέλου αναλογικού κινδύνου του Cox (proportional hazards model).

Όλοι οι έλεγχοι γίνονται σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $\alpha = 5\%$.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το λογισμικό στατιστικής R.



3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Τιμές και συχνότητες των δεικτών που μελετήθηκαν

Το δείγμα αποτελείται από 175 γυναίκες με καρκίνο του μαστού που παρακολούθηθηκαν από 3 έως 191 μήνες (μέσος χρόνος παρακολούθησης 125 μήνες, ενδιάμεσος χρόνος 171 μήνες). Η μέση ηλικία των γυναικών ήταν τα 54 χρόνια (από 28 χρόνων η μικρότερη ως 72 ετών), ενώ 50 από αυτές τις γυναίκες ήταν προεμμηνοπαυσιακές και 125 μεταεμμηνοπαυσιακές.

Για το δείγμα των ασθενών μετρήθηκαν μια σειρά από κλινικά παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά που συνδέονται με τον καρκίνο του μαστού. Θετικές σε οιστρογόνα και προγεστερόνη (ER-PR) ήταν 131 γυναίκες (ποσοστό 74.9%) ενώ οι υπόλοιπες 44 ήταν αρνητικές (25.1%). Το μέγεθος του όγκου που αφαιρέθηκε από τους ασθενείς κατηγοριοποιήθηκε σύμφωνα με τη γνωστή σταδιοποίηση ως T₁ και T₂, και βρέθηκαν 88 γυναίκες με T₁ όγκο (50.3%) και 87 με μέγεθος T₂ (49.7%). Από το σύνολο των ασθενών 66 γυναίκες είχαν αρνητικούς λεμφαδένες (N₀, ποσοστό 37.7%), 78 γυναίκες N₁ (44.6%) και 31 γυναίκες N₂ (17.7%). Η διαφοροποίηση του όγκου καταγράφηκε σύμφωνα με τα κριτήρια του κατά Bloom-Richardson και βρέθηκαν 23 γυναίκες που είχαν όγκο καλής διαφοροποίησης (Grade I, ποσοστό 13.1%), 62 γυναίκες με όγκους μέτριας διαφοροποίησης (Grade II, 35.4%) και 90 γυναίκες με όγκους χαμηλής διαφοροποίησης (Grade III, 51.5%). Συνολικά, η σταδιοποίηση των όγκων ήταν: 38 όγκοι σε στάδιο I (ποσοστό 21.7%), 69 όγκοι σε στάδιο II_A (39.4%), 37 όγκοι σε στάδιο II_B (21.2%) και 31 όγκοι σταδίου III_A (17.7%).

Σε μερικές περιπτώσεις νεοπλασμάτων μελετήθηκαν και γονιδιακά χαρακτηριστικά και συγκεκριμένα η ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών p53 και Bcl2. Η έκφραση των p53 και Bcl2 ογκοπρωτεϊνών μελετήθηκε σε 84 όγκους και θετικές αναδείχθηκαν 28 (ποσοστό 33.3%) και 61 (72.6%) περιπτώσεις αντίστοιχα.

Όλα τα χαρακτηριστικά που αναφέρθηκαν ως τώρα περιγράφονται στο πίνακα 1 που ακολουθεί.



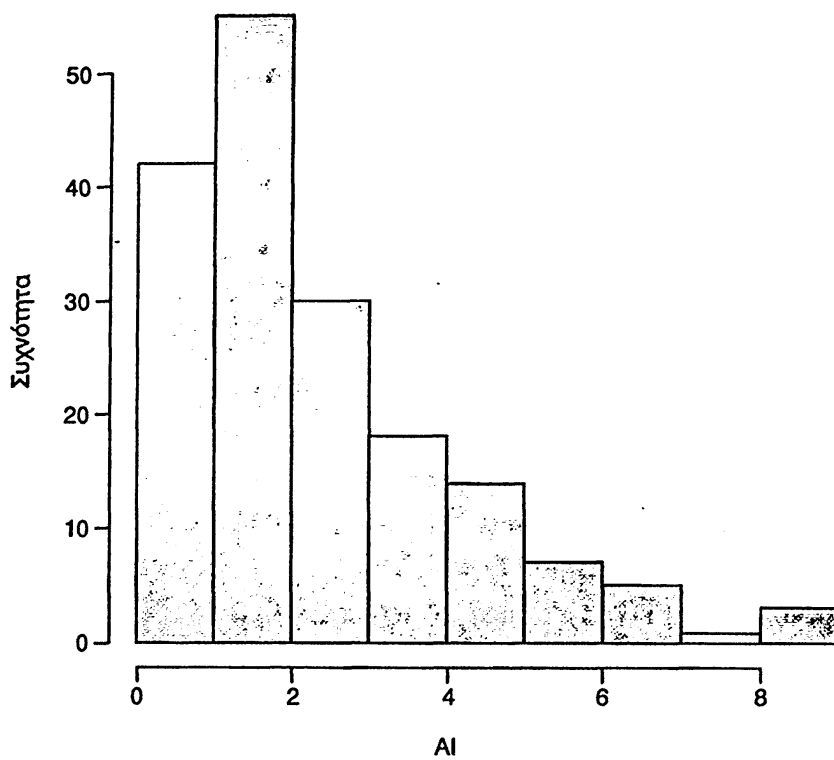
Παράλληλα με τους γνωστούς προγνωστικούς δείκτες που αναφέρθησαν μετρήθηκαν και ο αποπτωτικός και μιτωτικός δείκτης. Η μέση τιμή του αποπτωτικού δείκτη ήταν 2.39 με εύρος από 0.05 ως 8.9 και τυπική απόκλιση 1.79, ενώ για τον μιτωτικό δείκτη η μέση τιμή ήταν 1.61 με εύρος από 0.05 ως 7.65 και τυπική απόκλιση 1.29. Στο διάγραμμα 1 παρουσιάζεται το ιστόγραμμα συχνοτήτων για τον αποπτωτικό δείκτη και στο διάγραμμα 2 το αντίστοιχο ιστόγραμμα για τον μιτωτικό δείκτη.

Μέσα στο χρόνο παρακολούθησης 72 από τους ασθενείς παρουσίασαν υποτροπή.

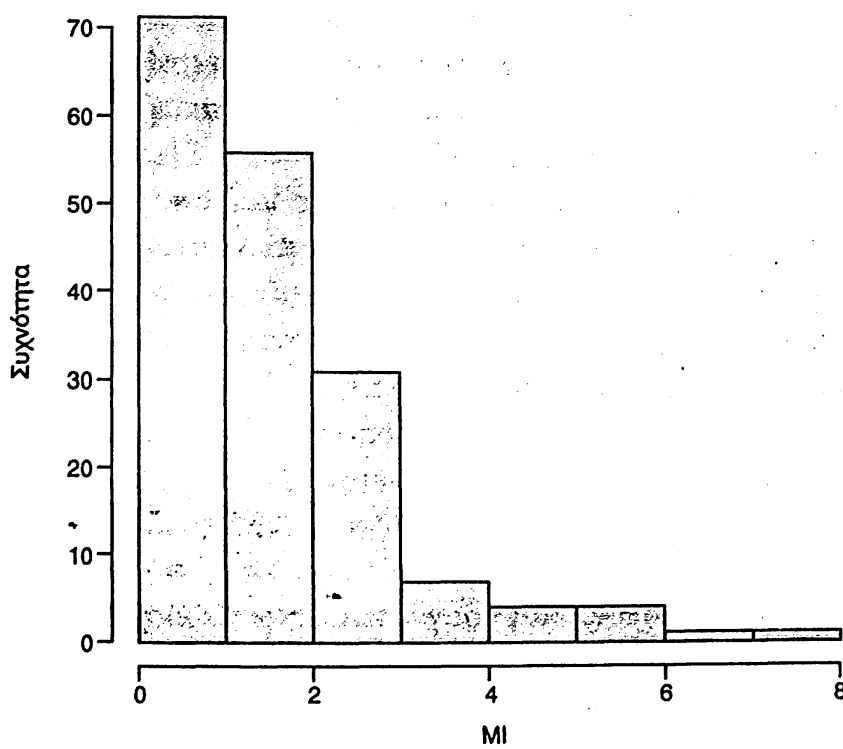
Πίνακας 1. Πίνακας συχνοτήτων και τιμών για τα χαρακτηριστικά των 175 ασθενών.

	Πλήθος	Ποσοστό %
Προ-εμμηνοπαυσιακές	50	28.5
Μετ-εμμηνοπαυσιακές	125	71.5
ER-PR θετικό	131	74.9
ER-PR αρνητικό	44	25.1
T1	88	50.3
T2	87	49.7
N0	66	37.7
N1	78	44.6
N2	31	17.7
Στάδιο I	38	21.7
Στάδιο ΙΑ	69	39.4
Στάδιο ΙΒ	37	21.2
Στάδιο ΙΙΑ	31	17.7
Grade I	23	13.1
Grade II	62	35.4
Grade III	90	51.5
p53 θετικό	28	33.3
p53 αρνητικό	56	66.7
Bcl2 θετικό	61	72.6
Bcl2 Αρνητικό	23	27.4
	Μέσος	Τυπική απόκλιση
A.Δ.	2.39	1.79
M.Δ.	1.61	1.29





Διάγραμμα 1. Ιστογράμμα συχνοτήτων για των αποπτωτικό δείκτη (AI).



Διάγραμμα 2. Ιστογράμμα συχνοτήτων για των μιτωτικό δείκτη (MI).



2. Συσχέτιση του αποπρωτικού δείκτη με τους κλινικοπαθολογο-ανατομικούς παράγοντες που μελετήθηκαν

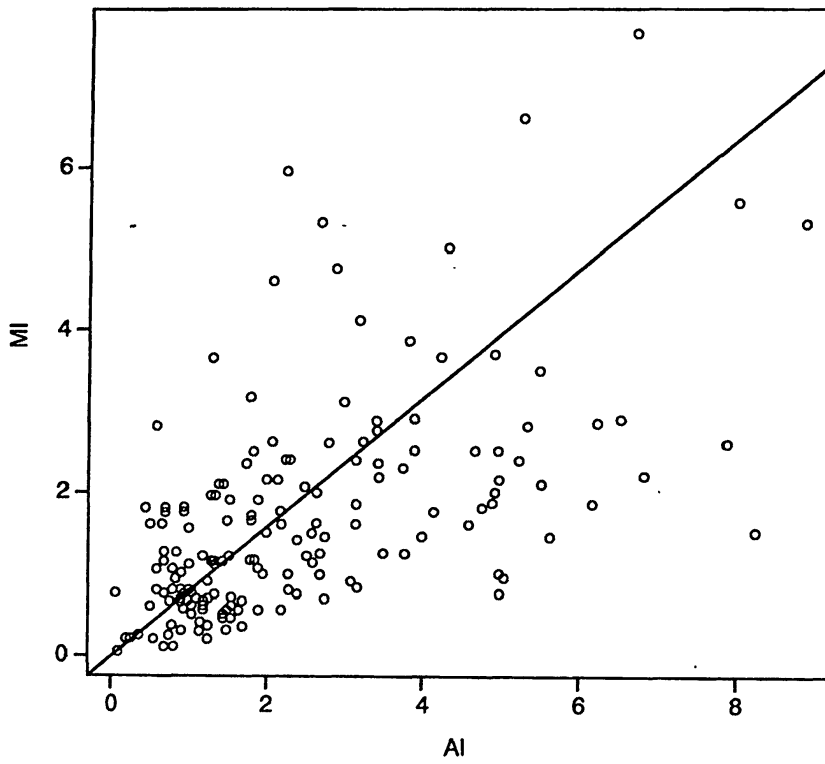
Οι τιμές του αποπρωτικού δείκτη είναι ο κύριος παράγοντας που ενδιαφέρει σ' αυτή τη μελέτη. Πριν προχωρήσει η στατιστική συμπερασματολογία θα πρέπει να ερευνηθεί πως σχετίζονται οι τιμές του δείκτη αυτού με τις υπόλοιπες μεταβλητές που μετρήθηκαν. Όπως φαίνεται από το διάγραμμα 1, οι τιμές του δείκτη δεν φαίνεται να ακολουθούν τη κανονική κατανομή. Για να ξεπεραστεί το πρόβλημα αυτό, όποτε η στατιστική ανάλυση υποθέτει την κανονικότητα της μεταβλητής, θα χρησιμοποιείται ο λογάριθμος του αποπρωτικού δείκτη.

Αρχικά, οι τιμές του αποπρωτικού δείκτη παρουσιάζουν πολύ ισχυρή συσχέτιση με αυτές του μιτωτικού δείκτη. Ο συντελεστής συσχέτισης είναι 0.789 και αποδεικνύεται ότι είναι στατιστικά ισχυρά σημαντικός ($p < 0.001$). Αυτό σημαίνει πως όταν αυξάνονται οι τιμές του αποπρωτικού δείκτη αυξάνονται και οι τιμές του μιτωτικού. Η σχέση αυτή φαίνεται και στο διάγραμμα 3.

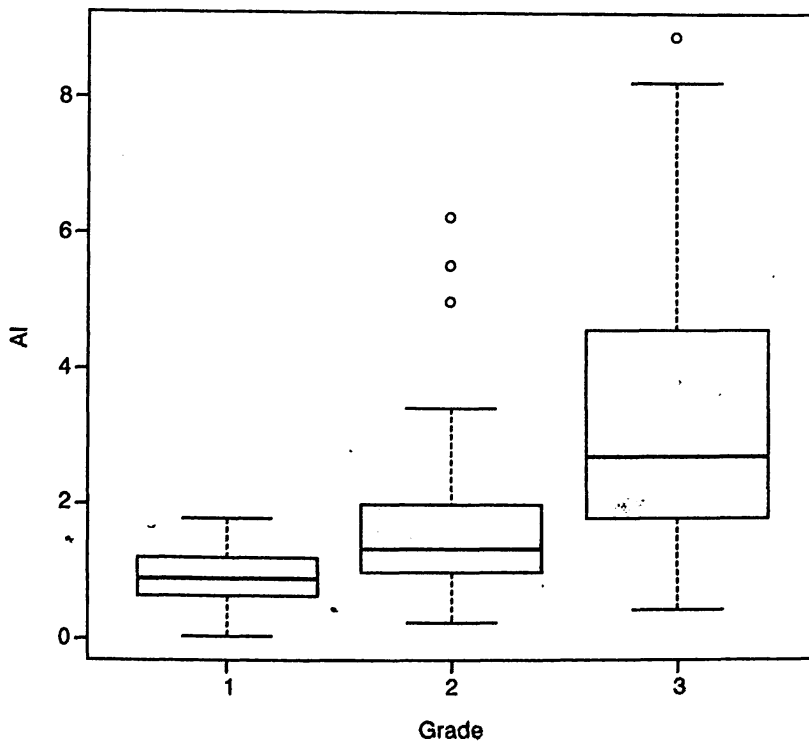
Στη συνέχεια μελετήθηκε η σχέση του αποπρωτικού δείκτη με όλους τους υπόλοιπους παράγοντες. Σημειώνεται πως εκτός από την ηλικία που μετράται σε συνεχή κλίμακα, όλοι οι άλλοι παράγοντες είναι κατηγορικοί. Για να απεικονιστούν σωστά χρησιμοποιήθηκαν διαγράμματα πλαισίου και απολήξεων (box-plot chart). Στο διάγραμμα 4 παρουσιάζεται το γράφημα πλαισίου και απολήξεων για τον αποπρωτικό δείκτη ανάλογα με τη διαφοροποίηση του όγκου. Όταν ο βαθμός κακοήθειας είναι υψηλός φαίνεται πως και ο αποπρωτικός δείκτης έχει υψηλή μέση τιμή: 3.2 (ελάχιστη τιμή: 0.45, μέγιστη τιμή: 8.9). Από το διάγραμμα φαίνεται πως όταν αυξάνεται ο βαθμός κακοήθειας του όγκου τότε αυξάνεται κατά μέσο όρο η τιμή του αποπρωτικού δείκτη. Συνεπώς οι δύο μεταβλητές φαίνεται να παρουσιάζουν συσχέτιση. Στα διαγράμματα 5 ως 10 παρουσιάζονται οι σχέσεις του αποπρωτικού δείκτη με τις υπόλοιπες μεταβλητές.

Από τη σύγκριση των τιμών του αποπρωτικού δείκτη (AI) σε σχέση με τους παράγοντες που μελετήθηκαν φαίνεται πως οι παράγοντες που σχετίζονται και επηρεάζουν τις τιμές που παίρνει ο αποπρωτικός δείκτης είναι ο βαθμός κακοήθειας του όγκου ($p < 0,001$ σε όλες τις συγκρίσεις του AI ανά Grade), οι οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς (αρνητική συσχέτιση, $p = 0,003$), το μέγεθος του όγκου ($p < 0,001$) και ο μιτωτικός δείκτης ($p < 0,001$), ενώ δεν παρατηρείται συσχέτιση του αποπρωτικού δείκτη με την ηλικία, το στάδιο της νόσου, τη λεμφαδενική διήθηση στη σύστοιχη μασχάλη και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση.



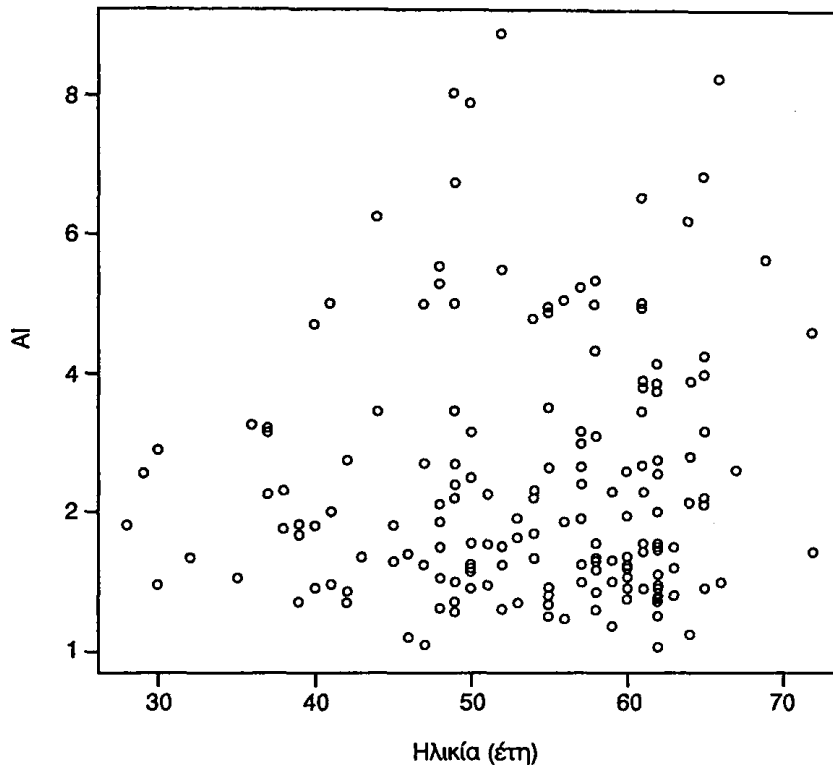


Διάγραμμα 3. Σχέση μεταξύ μιτωτικού και αποπτωτικού δείκτη.

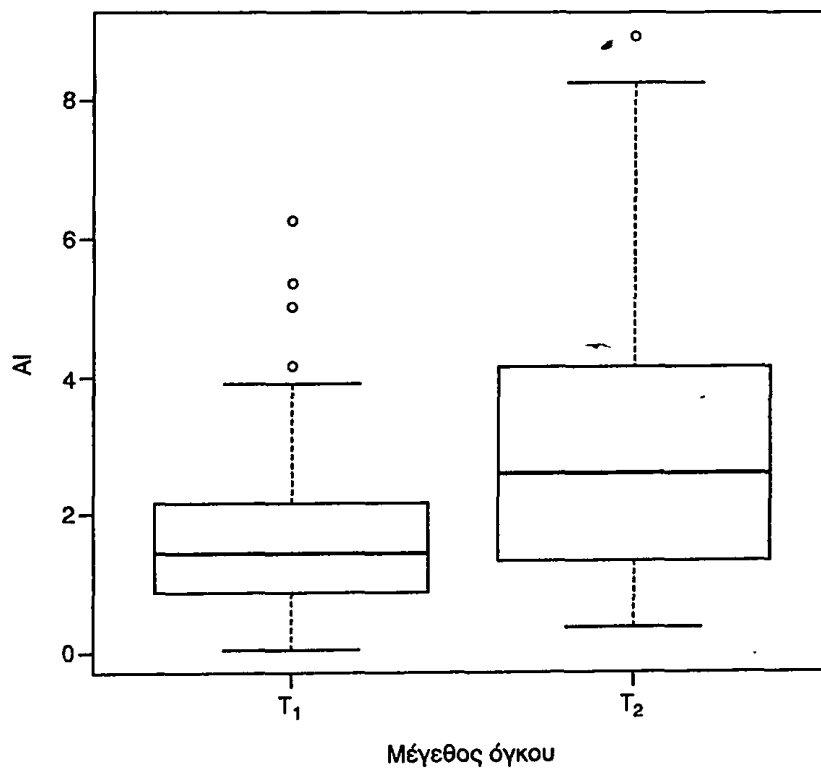


Διάγραμμα 4. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με τον βαθμό κακοήθειας του όγκου.



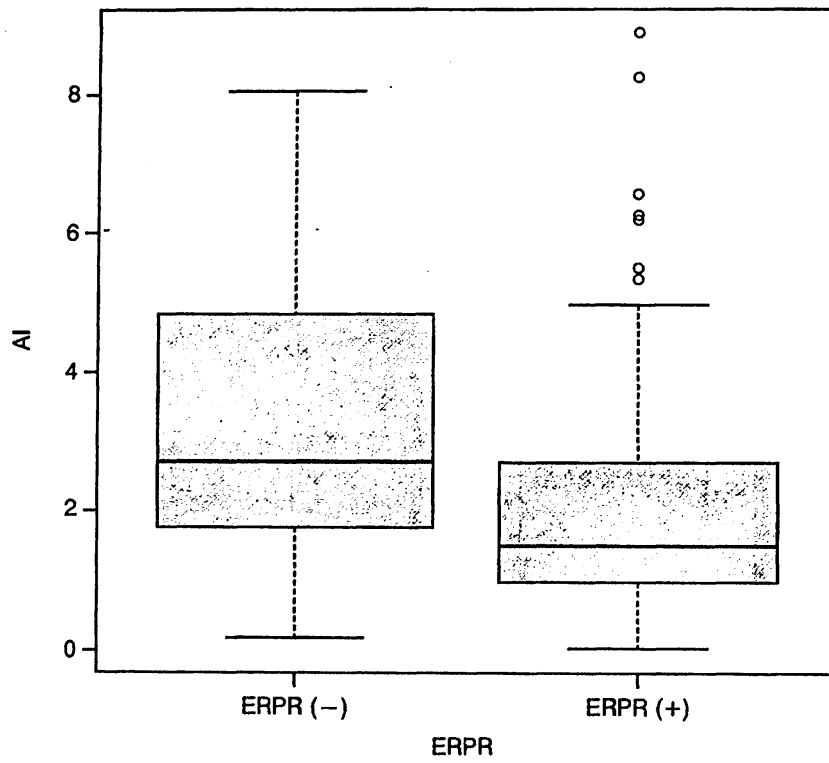


Διάγραμμα 5. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με την ηλικία.

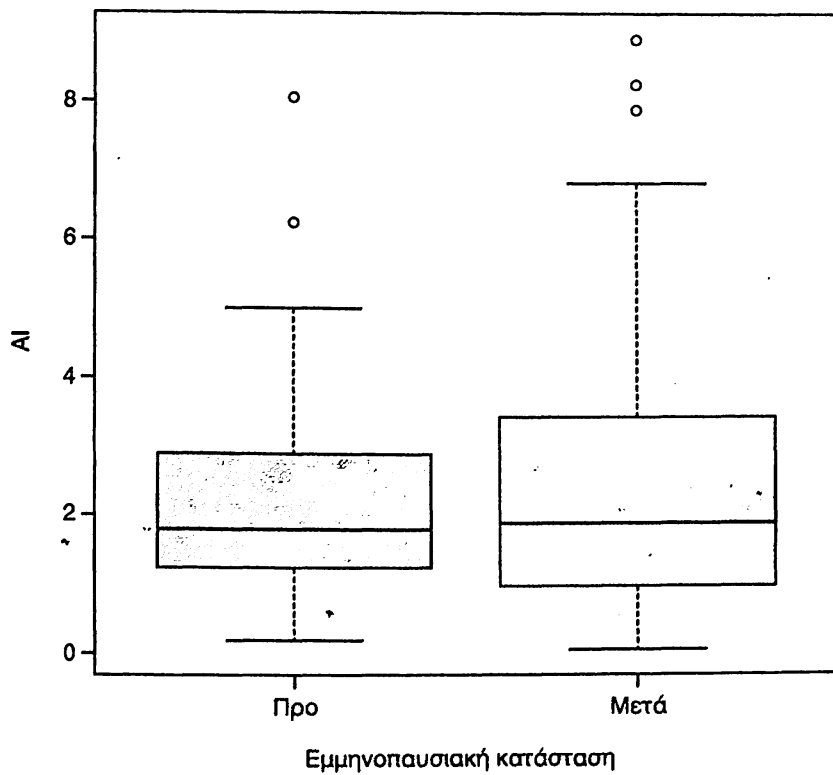


Διάγραμμα 6. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με το μέγεθος όγκου.



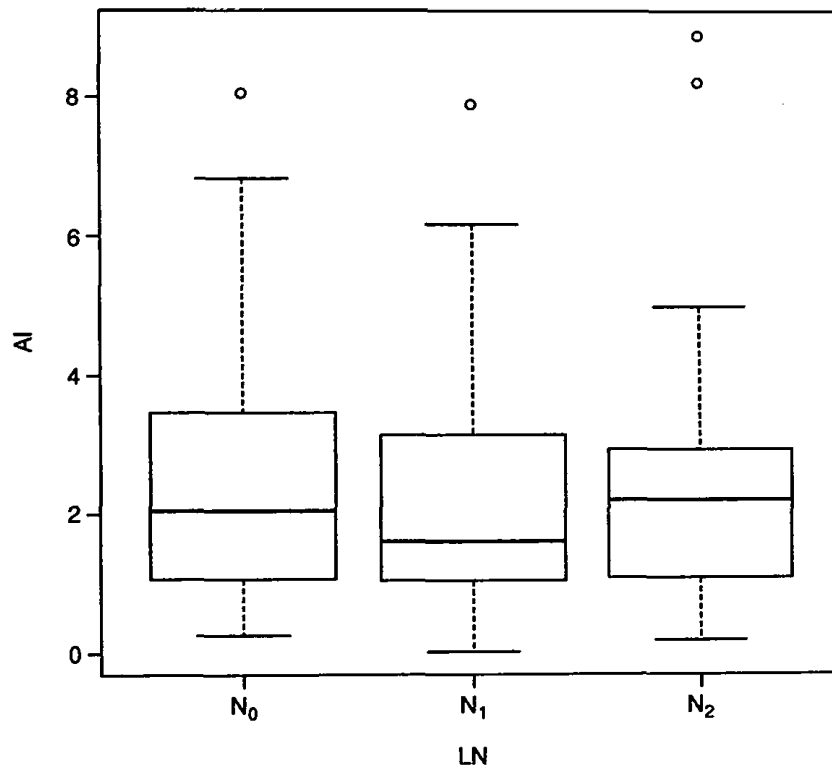


Διάγραμμα 7. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με τους υποδοχείς.

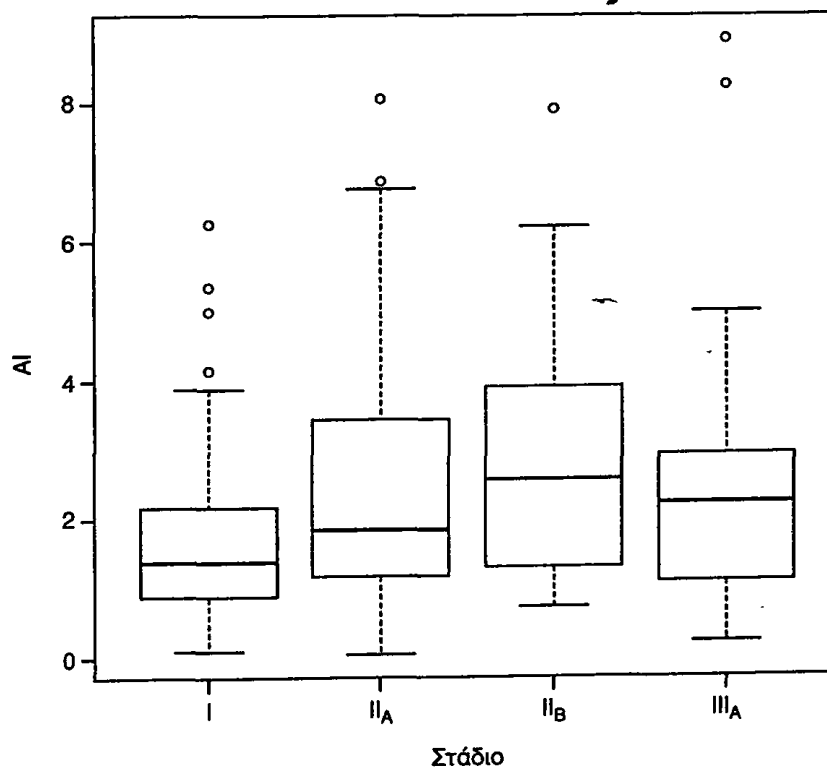


Διάγραμμα 8. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση.





Διάγραμμα 9. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με τη σύστοιχη μασχαλιαία λεμφαδενική διήθηση.



Διάγραμμα 10. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με το στάδιο της νόσου.



Πίνακας 2. Αποτελέσματα γραμμικής παλινδρόμησης.

	β1 συντελεστής	p-value
μιτωτικός δείκτης	0.60	<0.001
grade	0.59	0.001
ER-PR	-0.49	0.06
ηλικία	0.03	0.01

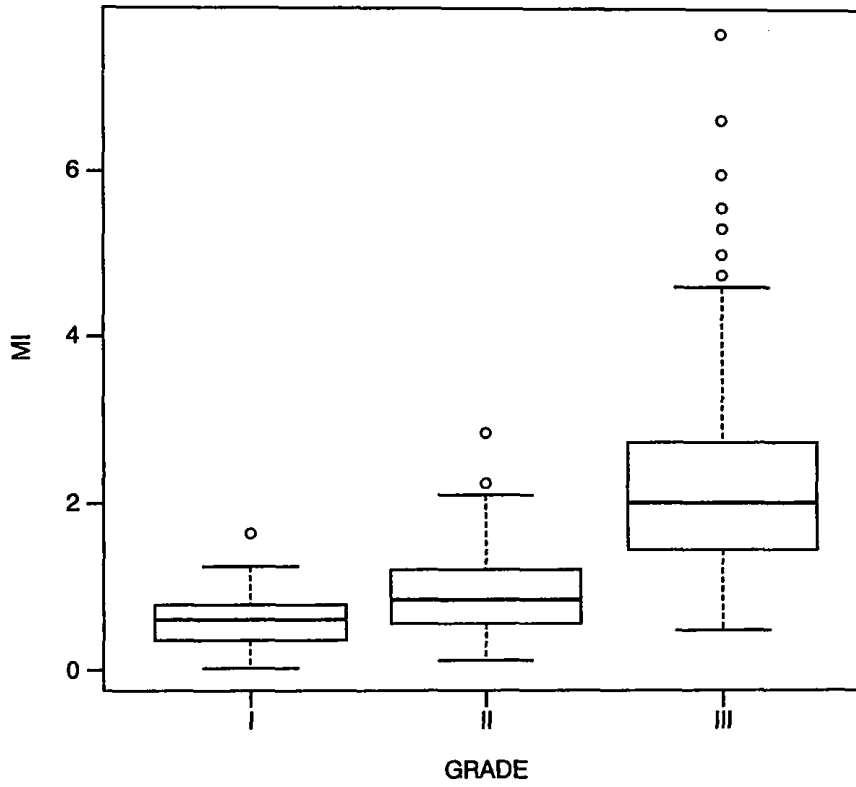
Εκτός από τη μονοπαραγοντική ανάλυση του αποπτωτικού δείκτη σε σχέση με τους μελετημένους δείκτες έγινε και πολυπαραγοντικός στατιστικός έλεγχος με τη χρήση πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης σύμφωνα με το οποίο η τιμή του αποπτωτικού δείκτη μπορεί να εκφραστεί λαμβάνοντας υπόψην όλους τους υπόλοιπους ανεξάρτητους παράγοντες. Ο πίνακας 2 παρουσιάζει τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης.

Από τους συντελεστές που παρουσιάζονται στον πίνακα συμπεραίνεται πως όσο αυξάνει ο μιτωτικός δείκτης τόσο αυξάνει και ο αποπτωτικός, και όσο αυξάνει ο βαθμός κακοήθειας αυξάνει κατά μέσο όρο και ο αποπτωτικός δείκτης. Παρόμοια σχέση ισχύει και για την ηλικία, ενώ γυναίκες που είναι θετικές στους υποδοχείς έχουν κατά μέσο όρο χαμηλότερες τιμές στον αποπτωτικό δείκτη.

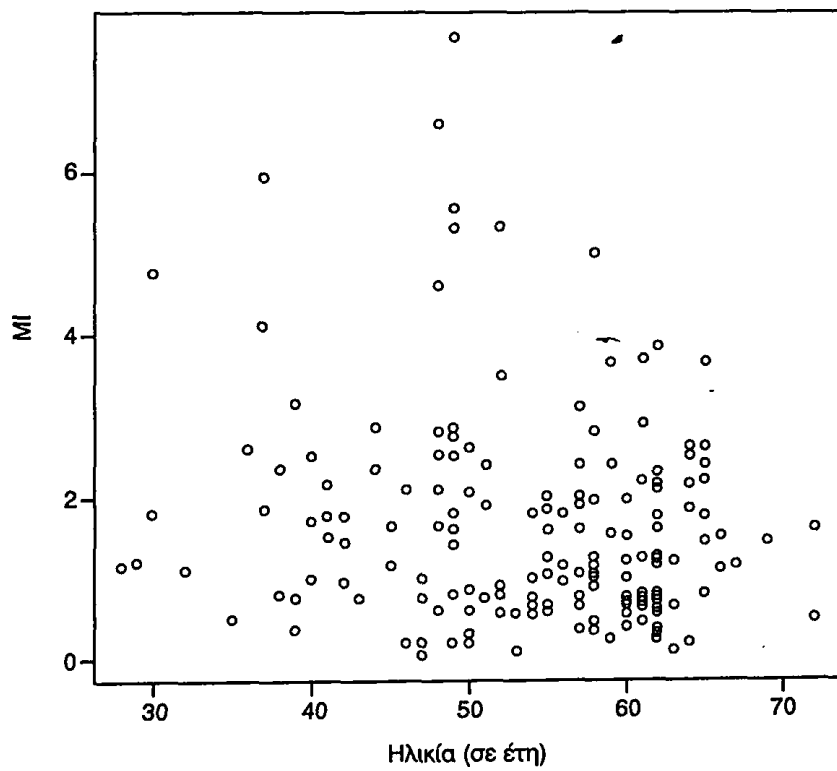
3. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες που μελετήθηκαν

Στα διαγράμματα 11 ως 18 παρουσιάζεται η σχέση του μιτωτικού δείκτη με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες. Από την ανάλυση φαίνεται ότι ο μιτωτικός δείκτης (MI) σχετίζεται με τον βαθμό κακοήθειας (όλες οι συγκρίσεις του AI ανά Grade είναι $p < 0,001$ εκτός τη σύγκριση AI μεταξύ Grade II και III που είναι $p = 0,006$), το μέγεθος του όγκου ($p < 0,001$) και παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με τους ορμονικούς υποδοχείς ($p = 0,008$), ενώ δεν παρατηρείται συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με τις υπόλοιπες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους.



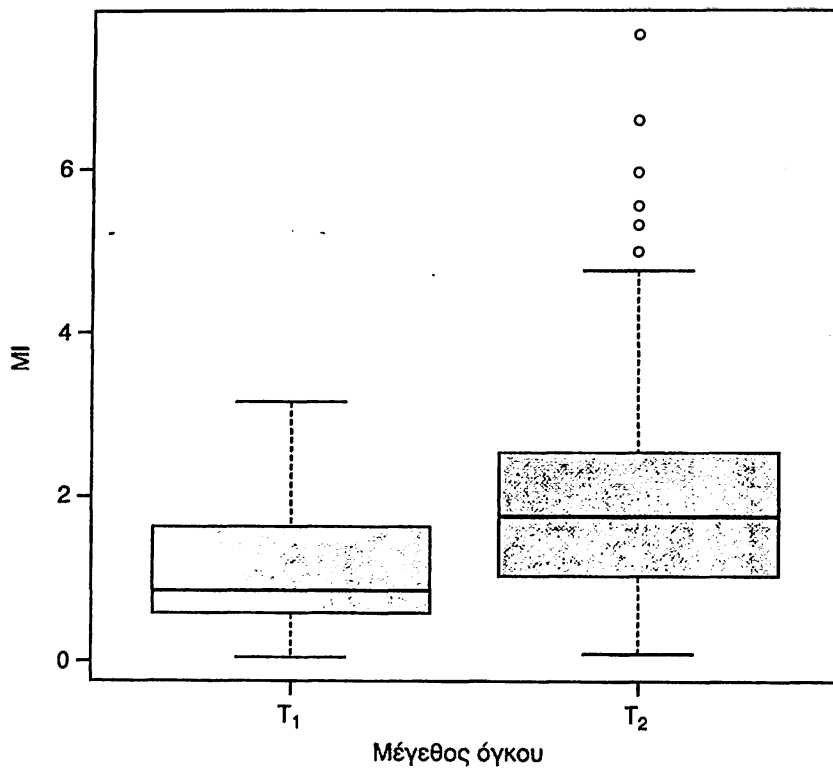


Διάγραμμα 11. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με τον βαθμό κακοήθειας.

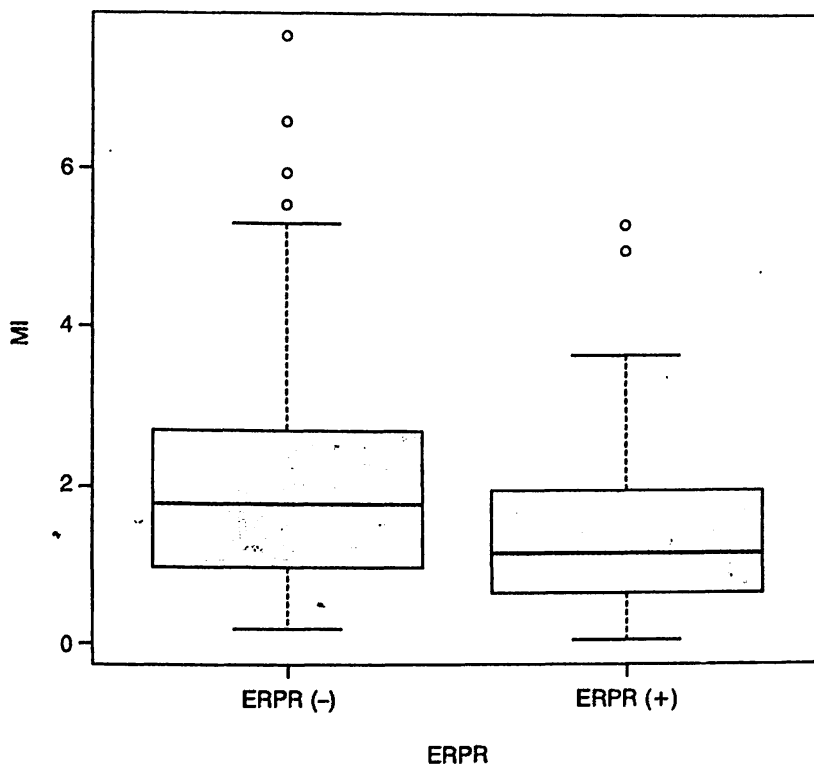


Διάγραμμα 12. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με την ηλικία.



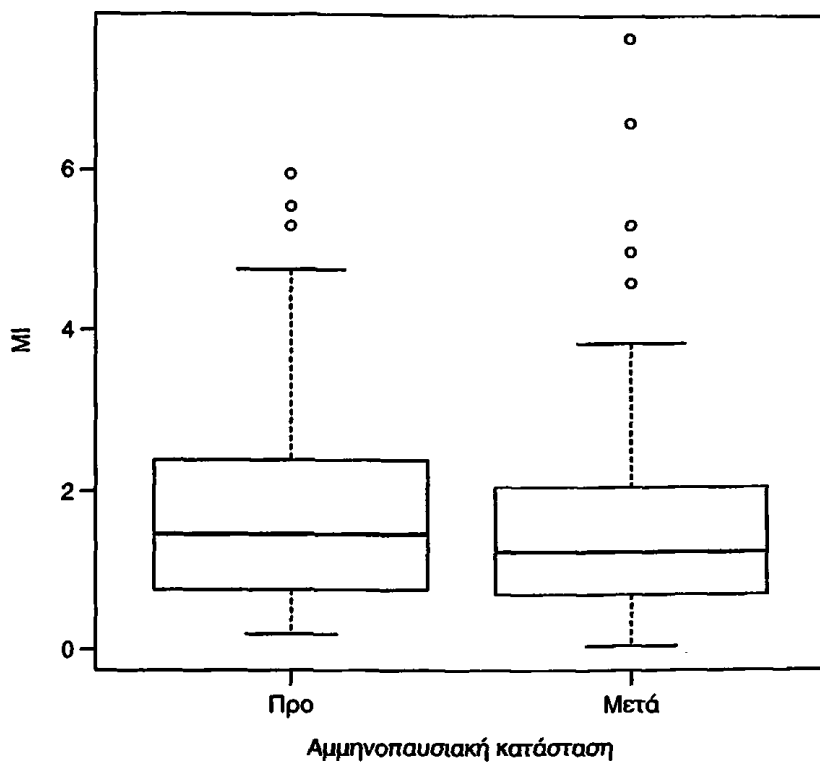


Διάγραμμα 13. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με το μέγεθος του όγκου.

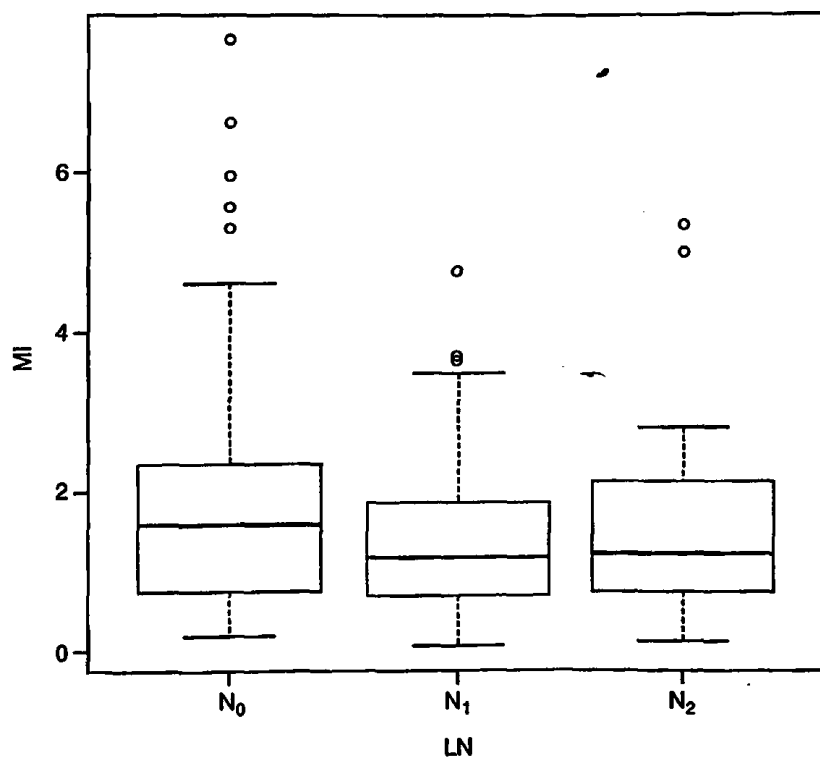


Διάγραμμα 14. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με τους ορμονικούς υποδοχείς.



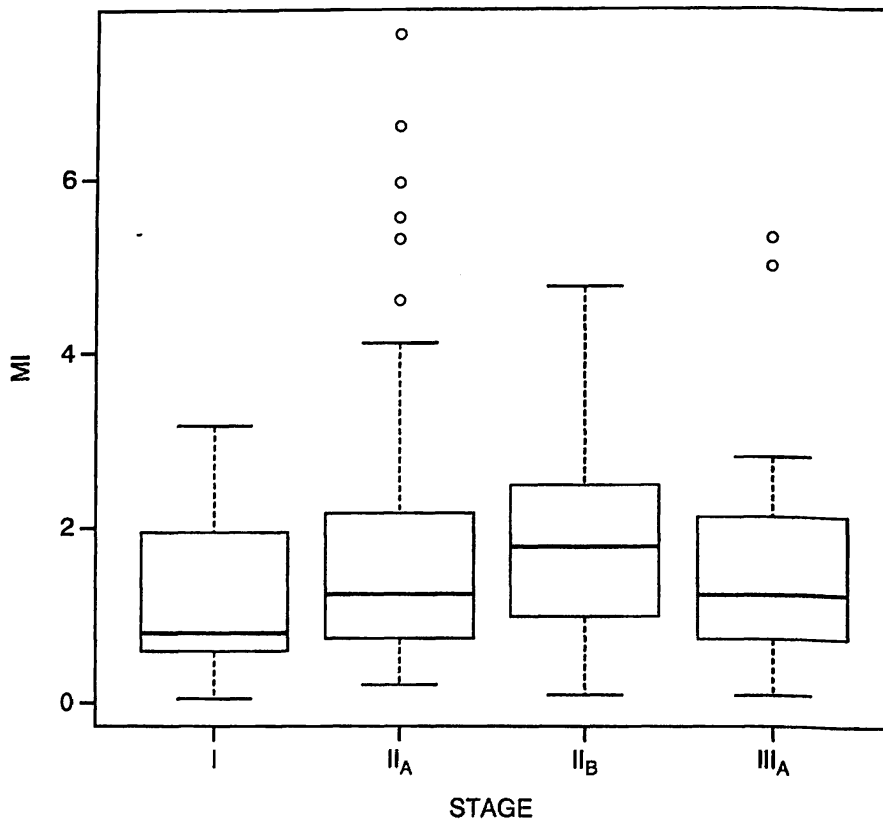


Διάγραμμα 16. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση.



Διάγραμμα 17. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με τη σύστοιχη μασχαλιαία λεμφαδενική διήθηση.





Διάγραμμα 18. Συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με το στάδιο της νόσου.

4. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών p53 και Bcl2

Στις 84 ασθενείς που έγινε ανοσοϊστοχημική εκτίμηση των ογκοπρωτεϊνών p53 και Bcl2, η μέση τιμή του αποπτωτικού δείκτη ήταν 2,39 και η μέση τιμή του μιτωτικού δείκτη 1,61.

Για τις ασθενείς με p53 (+) ή p53 (-) όγκους καθώς και αυτές με Bcl2 (+) ή Bcl2 (-) όγκους, η μέση τιμή του αποπτωτικού δείκτη ήταν:

Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη (p53 -) = 2.18

Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη (p53 +) = 3.25

Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη (Bcl2 -) = 3.48

Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη (Bcl2 +) = 2.19

Για τις ασθενείς με p53 (+) ή p53 (-) όγκους καθώς και αυτές με Bcl2 (+) ή Bcl2 (-) όγκους η μέση τιμή του μιτωτικού δείκτη ήταν:



Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη (p53 -)	= 1.39
Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη (p53 +)	= 2.48
Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη (Bcl2 -)	= 2.34
Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη (Bcl2 +)	= 1.53

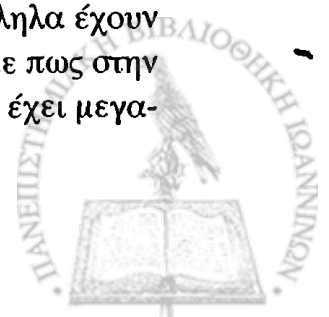
Από την ανάλυση των παραπάνω αποτελεσμάτων φαίνεται ότι ο αποπτωτικός δείκτης παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των γυναικών με p53 (+) και p53 (-) όγκους με τις πρώτες να έχουν σαφώς μεγαλύτερες τιμές ($p = 0,0183$). Στις γυναίκες με θετικούς στην ογκοπρωτεΐνη Bcl2 όγκους παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές αποπτωτικού δείκτη σε σχέση με τις Bcl2 αρνητικές γυναίκες ($p = 0,00653$). Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για τον μιτωτικό δείκτη με τις γυναίκες με p53 (+) όγκους να έχουν σημαντικά μεγαλύτερες τιμές MI ($p = 0,00814$) και τις γυναίκες με Bcl2 (+) όγκους να έχουν μικρότερες τιμές MI ($p = 0,06$).

5. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με την υποτροπή και τον χρόνο υποτροπής

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των ασθενών μετά την ομαδοποίησή τους ανάλογα με το αν είχαν υποτροπή ή όχι. Το συνολικό δείγμα των 175 ασθενών χωρίστηκε σε 2 ομάδες, η πρώτη που περιλαμβάνει 103 ασθενείς που παρέμειναν «υγιείς» (χωρίς υποτροπή) καθόλο το χρόνο παρακολούθησης (ομάδα A) και η δεύτερη που περιλαμβάνει 72 ασθενείς που παρουσίασαν υποτροπή (ομάδα B) (Πίνακας 3).

Από τις 72 γυναίκες που παρουσίασαν υποτροπή, κάποιες από αυτές υποτροπιάσαν σε διάστημα μικρότερο ή ίσο των 60 μηνών (52 ασθενείς) ενώ κάποιες σε διάστημα μεγαλύτερο των 60 μηνών (20 ασθενείς). Το σύνολο λοιπόν αυτών των ασθενών χωρίστηκε σε δυο υποομάδες, B₁ και B₂ αντίστοιχα (ανάλογα με το χρόνο υποτροπής) και τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα 4.

Σύμφωνα με τους ελέγχους που έγιναν, ο αποπτωτικός δείκτης παρουσιάζεται αυξημένος στην ομάδα των γυναικών που υποτροπιάσαν ($p = 0,001$), ενώ ανάλογες στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων παρουσιάζονται σε σχέση με τον βαθμό κακοήθειας με την ομάδα A να έχει περισσότερους όγκους μικρού και μέσου βαθμού κακοήθειας. Όσον αφορά το στάδιο η διαφορά είναι επίσης στατιστικά σημαντική αφού οι «υγιείς» γυναίκες έχουν μεγαλύτερα ποσοστά σε όγκους χαμηλότερου σταδίου από τις γυναίκες που υποτροπιάσαν ($p = 0,024$), ενώ παράλληλα έχουν και μικρότερους όγκους ($p = 0,007$). Συμπερασματικά, βλέπουμε πως στην ομάδα των γυναικών που υποτροπιάσαν ο αποπτωτικός δείκτης έχει μεγα-



Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά ασθενών ανά ομάδα. Α ομάδα: γυναίκες χωρίς υποτροπή, ομάδα Β γυναίκες με υποτροπή.

	A (%)	p-value	B	Σύνολο
Προ-εμμηνοπαυσιακές	28 (56.0)		22 (44.0)	50
Μετ-εμμηνοπαυσιακές	75 (60.0)		50 (40.0)	125
p-value		0.752		
ER-PR θετικό	82 (62.6)		49 (37.4)	131
ER-PR αρνητικό	21 (47.7)		23 (52.2)	44
p-value		0.119		
T ₁	61 (69.3)		27 (30.7)	88
T ₂	42 (48.2)		45 (51.2)	87
p-value		0.007		
N ₀	43 (65.5)		23 (34.5)	66
N ₁	47 (60.2)		31 (39.7)	78
N ₂	13 (41.9)		18 (58.1)	31
p-value		0.090		
Στάδιο I	29 (76.3)		9 (23.7)	38
Στάδιο II _A	42 (60.8)		27 (39.2)	69
Στάδιο II _B	19 (51.3)		18 (48.7)	37
Στάδιο III _A	13 (41.9)		18 (58.1)	31
p-value		0.024		
Grade I	15 (65.3)		8 (34.7)	23
Grade II	43 (69.3)		19 (30.7)	62
Grade III	45 (50.0)		45 (50.0)	90
p-value		0.046		
p53 θετικό	15 (53.6)		13 (46.4)	28
p53 αρνητικό	32 (57.1)		24 (42.8)	56
p-value		0.938		
Bcl2 θετικό	36 (59.0)		25 (41.0)	61
Bcl2 Αρνητικό	11 (47.8)		12 (52.1)	23
p-value		0.498		
ηλικία	53.9		53.9	
p-value		0.99		
A.Δ.	2.00		2.94	
p-value		0.001		
M.Δ.	1.45		1.83	
p-value		0.059		



Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά ασθενών που παρουσίασαν υποτροπή ανά ομάδα. Ομάδα B₁: ασθενείς που υποτροπίασαν σε χρόνο ≤ 60 μηνών. Ομάδα B₂: ασθενείς που υποτροπίασαν σε χρόνο > 60 μηνών.

	B ₁	p-value	B ₂	Σύνολο
Προ-εμμηνοπαυσιακές	13		9	22
Μετ-εμμηνοπαυσιακές	39		11	50
p-value		0.172		
ER-PR θετικό	34		15	49
ER-PR αρνητικό	18		5	23
p-value		0.119		
T ₁	20		7	27
T ₂	32		13	45
p-value		0.007		
N ₀	15		8	23
N ₁	22		9	31
N ₂	15		3	18
p-value				
Στάδιο I	6		3	9
Στάδιο II _A	19		8	27
Στάδιο II _B	12		6	18
Στάδιο III _A	15		3	18
p-value				
Grade I	4		4	8
Grade II	9		10	19
Grade III	39		6	45
p-value				
p53 θετικό	10		3	13
p53 αρνητικό	16		8	24
p-value				
Bcl2 θετικό	17		8	25
Bcl2 Αρνητικό	9		3	12
p-value				
ηλικία	54.6		52.1	
p-value		0.314		
A.Δ.	2.00		2.94	
p-value		0.002		
M.Δ.	1.45		1.83	
p-value		0.004		



λύτερη μέση τιμή, αλλά οι δύο ομάδες τείνουν να έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά. Συνεπώς, δεν μπορεί ξεκάθαρα να βγει το συμπέρασμα πως ο αυξημένος αποπρωτικός δείκτης είναι αυτός που προκαλεί τις υποτροπές, αλλά σίγουρα φαίνεται μια προδιάθεση που θα αναλυθεί περισσότερο στο επόμενο μέρος της μελέτης.

6. Συσχέτιση του αποπρωτικού και μιτωτικού δείκτη με τους ορμονικούς υποδοχείς και τον χρόνο υποτροπής

Όσον αφορά τη μέση τιμή του αποπρωτικού δείκτη σε σχέση με τους ορμονικούς υποδοχείς υπάρχει μια σημαντική διαφορά ανάμεσα στις θετικές ασθενείς και τις αρνητικές. Συγκεκριμένα, για τις ασθενείς με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς η μέση τιμή του δείκτη ήταν 2.13 (τυπική απόκλιση 1.65) ενώ για τις ασθενείς με αρνητικούς υποδοχείς η μέση τιμή ήταν 3.16 (τ.απ. 2.06). Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με $p = 0.003$. Όσο προχωράμε από την κατηγορία με τα καλύτερα αποτελέσματα, δηλαδή τις γυναίκες με θετικούς υποδοχείς χωρίς υποτροπή, στην κατηγορία με την χειρότερη πρόγνωση, γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς που υποτροπίασαν σε λιγότερο από 60 μήνες, τόσο προοδευτικά αυξάνεται και η μέση τιμή του δείκτη. Συγκεκριμένα, στις 72 γυναίκες που παρουσίασαν υποτροπή όταν οι υποδοχείς ήταν θετικοί ο δείκτης είχε μέση τιμή 2.67 ενώ όταν οι υποδοχείς ήταν αρνητικοί ο δείκτης ήταν 3.49. Όταν οι γυναίκες είχαν την υποτροπή σε χρόνο μεγαλύτερο των 60 μηνών ο δείκτης για θετικούς υποδοχείς ήταν 1.74 ενώ για αρνητικούς υποδοχείς ήταν 2.39. Στις γυναίκες που υποτροπίασαν σε χρόνο ≤ 60 μηνών ο ΑΙ ήταν 3.09 για θετικούς υποδοχείς και 3.80 για αρνητικούς. Αν θεωρήσουμε ότι μπορούμε να δημιουργήσουμε κάποιες ομάδες πρόβλεψης, ξεκινώντας από την πρώτη ομάδα καλής πρόβλεψης ως την τελευταία της χειρότερης πρόβλεψης τότε θα είχαμε:

- ομάδα α: γυναίκες με θετικούς υποδοχείς που δεν υποτροπίασαν
- ομάδα β: γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς που δεν υποτροπίασαν
- ομάδα γ: γυναίκες με θετικούς υποδοχείς που υποτροπίασαν μετά από 60 μήνες
- ομάδα δ: γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς που υποτροπίασαν μετά από 60 μήνες
- ομάδα ε: γυναίκες με θετικούς υποδοχείς που υποτροπίασαν πριν από 60 μήνες
- ομάδα στ: γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς που υποτροπίασαν πριν από 60 μήνες

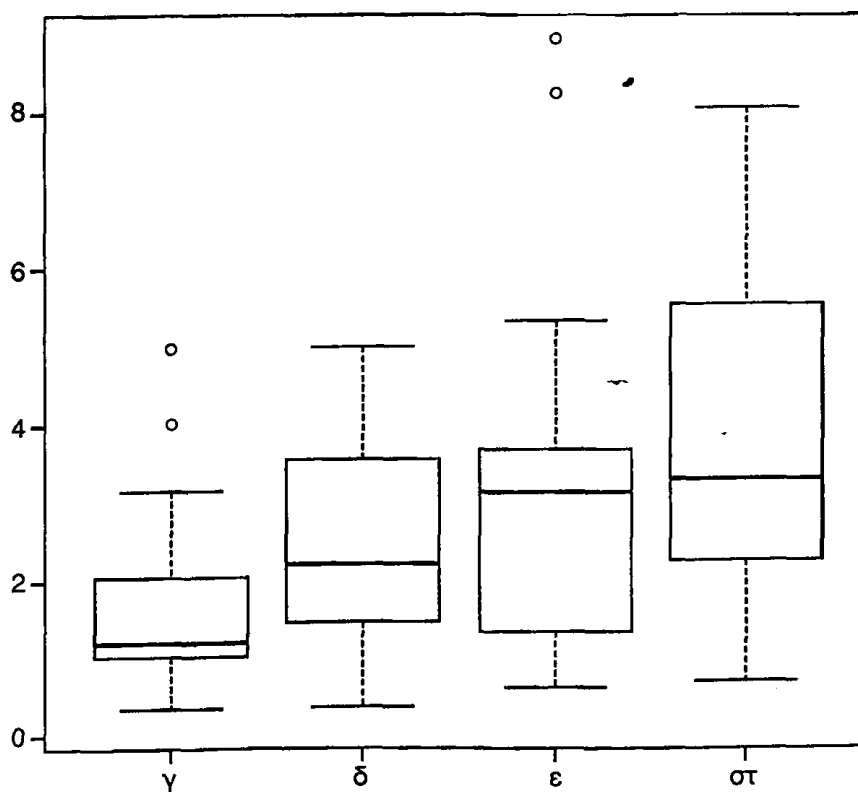


Ο πίνακας 5 περιλαμβάνει την τιμή του δείκτη για τις ομάδες αυτές.

Βλέπουμε συνεπώς πως οι γυναίκες που υποτροπίασαν (ομάδες γ, δ, ε, στ) παρουσιάζουν μια καθαρή αυξητική γραμμική τάση στην μέση τιμή του αποπτωτικού δείκτη. Αυτό μπορεί να φανεί από το διάγραμμα 19, ενώ αυτή η τάση επιβεβαιώνεται και μέσα από ένα γραμμικό μοντέλο που εκτιμά την τάση αυτή ως στατιστικά σημαντική ($p = 0.001$).

Πίνακας 5

	Πλήθος	Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη
ομάδα α	82	1.80
ομάδα β	21	2.79
ομάδα γ	15	1.74
ομάδα δ	5	2.39
ομάδα ε	34	3.09
ομάδα στ	18	3.80



Διάγραμμα 19. Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη ανά ομάδα πρόγνωσης.



Η αντίστοιχη ανάλυση έγινε και για τον μιτωτικό δείκτη (Πίνακας 6).

Πίνακας 6

	Πλήθος	Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη
δείκτη		
ομάδα α	82	1.19
ομάδα β	21	2.50
ομάδα γ	15	2.12
ομάδα δ	5	2.19
ομάδα ε	34	2.12
ομάδα στ	18	1.98

Στην περίπτωση αυτή δεν προκύπτει μια ξεκάθαρη σχέση.

7. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με τη διαφοροποίηση του όγκου και τον χρόνο υποτροπής

Η μέση τιμή του AI ανά grade είναι:

grade 1: 0.91, grade II: 1.73, grade III: 3.21

Δημιουργούνται οι ακόλουθες ομάδες:

- ομάδα α : Grade I χωρίς υποτροπή
- ομάδα β : Grade II χωρίς υποτροπή
- ομάδα γ : Grade III χωρίς υποτροπή
- ομάδα δ : Grade I υποτροπή μετά 60 μήνες
- ομάδα ε : Grade II υποτροπή μετά 60 μήνες
- ομάδα στ : Grade III υποτροπή μετά 60 μήνες
- ομάδα ζ : Grade I υποτροπή πριν 60 μήνες
- ομάδα η : Grade II υποτροπή πριν 60 μήνες
- ομάδα θ : Grade III υποτροπή πριν 60 μήνες

Αν και φαίνεται μια συγκεκριμένη τάση να αυξάνεται ο δείκτης όσο χειροτερεύει η πρόγνωση, δηλαδή όσο προχωράμε από τις γυναίκες με Grade I που δεν υποτροπίασαν στις γυναίκες με Grade III που υποτροπίασαν σε



χρόνο ≤ 60 μηνών, ωστόσο οι υποομάδες είναι πολύ μικρές σε μέγεθος για να μπορούν να βγουν συμπεράσματα με στατιστικές μεθόδους.

Πίνακας 7

	Πλήθος	Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη
ομάδα α	15	0.80
ομάδα β	43	1.67
ομάδα γ	45	2.71
ομάδα δ	4	0.86
ομάδα ε	10	1.35
ομάδα στ	6	3.52
ομάδα ζ	4	1.37
ομάδα η	9	2.42
ομάδα θ	39	3.79

Ακολουθεί ο πίνακας 8 για τον μιτωτικό δείκτη.

Πίνακας 8

	Πλήθος	Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη
ομάδα α	15	0.51
ομάδα β	43	0.95
ομάδα γ	45	2.26
ομάδα δ	4	0.68
ομάδα ε	10	0.80
ομάδα στ	6	2.32
ομάδα ζ	4	0.97
ομάδα η	9	1.18
ομάδα θ	39	2.38

8. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με το στάδιο της νόσου

Αν γίνουν υποομάδες με την προηγούμενη λογική το πλήθος τους είναι ιδιαίτερα μικρό. Συγκεκριμένα υπάρχουν 3 γυναίκες στο στάδιο Ι που υπο-



τροπίασαν μετά από 60 μήνες, 8 στο στάδιο II_A , 6 στο στάδιο II_B και 3 στο στάδιο III_A . Ο μέσος όρος από τρεις παρατηρήσεις είναι αφελής έννοια, όποτε γράφω μόνο για τον δείκτη ανά στάδιο χωρίς να προχωρήσω σε λεπτομερή ανάλυση (Πίνακας 9).

Πίνακας 9

	Πλήθος	Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη	Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη
Στάδιο I	38	1.77	1.17
Στάδιο II_A	69	2.49	1.78
Στάδιο II_B	37	2.79	1.81
Στάδιο III_A	31	2.43	1.52

9. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με το μέγεθος του όγκου και τον χρόνο υποτροπής

Η μέση τιμή του AI ανά μέγεθος όγκου είναι T1: 1,78 και T2: 3,00.

Πίνακας 10

	Πλήθος	Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη	Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη
T ₁ χωρίς υποτροπή	61	1.58	1.03
T ₂ χωρίς υποτροπή	42	2.60	2.07
T ₁ +υποτροπή >60	7	0.93	0.75
T ₂ +υποτροπή >60	13	3.76	2.39
T ₁ +υποτροπή <60	20	2.66	1.55
T ₂ +υποτροπή <60	32	2.43	1.50



10. Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με τη σύστοιχη μασχαλιαία λεμφαδενική διήθηση και τον χρόνο υποτροπής

Πίνακας 11

	Πλήθος	Μέση τιμή αποπτωτικού δείκτη	Μέση τιμή μιτωτικού δείκτη
N_0 χωρίς υποτροπή	43	2.36	1.78
N_1 χωρίς υποτροπή	47	1.87	1.29
N_2 χωρίς υποτροπή	13	1.30	1.00
N_0 +υποτροπή >60	8	2.07	1.79
N_1 +υποτροπή >60	9	2.19	1.01
N_2 +υποτροπή >60	3	0.60	0.45
N_0 +υποτροπή <60	15	3.52	2.28
N_1 +υποτροπή <60	22	2.90	1.84
N_2 +υποτροπή <60	13	1.30	1.00

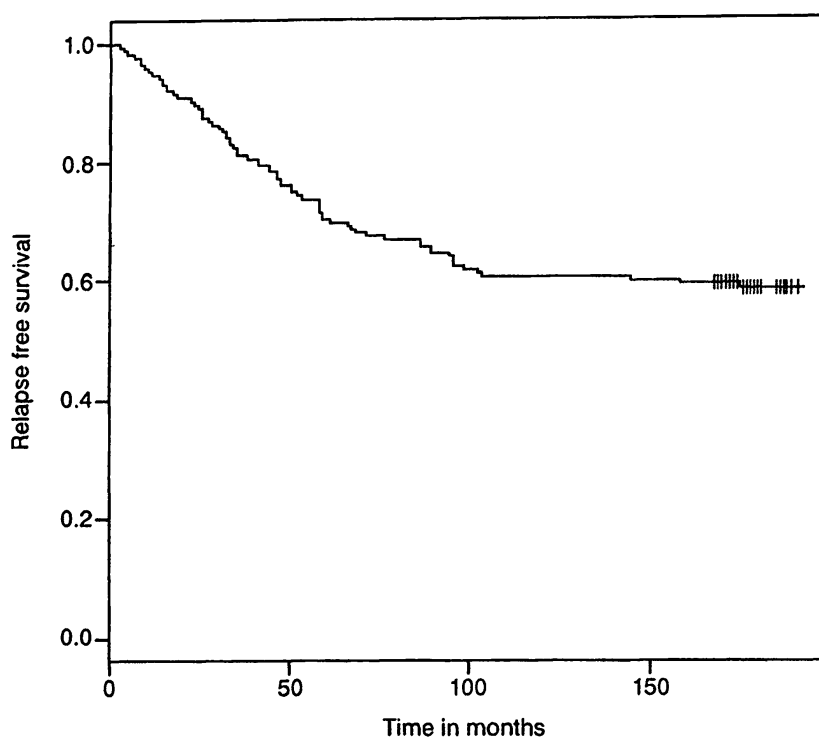
11. Ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής (RFS)

Στο σημείο αυτό της μελέτης θα θέλαμε να εξετάσουμε αν η πιθανότητα να υποτροπιάσει μια γυναίκα επηρεάζεται από την τιμή του αποπτωτικού δείκτη. Αν αυτό συμβαίνει, τότε με βάση τις τιμές του δείκτη θα μπορούσαμε να κάνουμε προβλέψεις για το πως μεταβάλλονται οι πιθανότητες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής. Αν ισχύει μια στατιστικά ισχυρή σχέση τότε οι τιμές του δείκτη θα μπορούσαν να αποτελέσουν έναν προγνωστικό παράγοντα με βάση τον οποίο οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού θα μπορούσαν να κατηγοριοποιηθούν σε ασθενείς υψηλού, μεσαίου ή χαμηλού κινδύνου για υποτροπή.

11.1. Μονομεταβλητή ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής σε σχέση με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες

Η μέθοδος Kaplan-Meier προσφέρει μια εκτίμηση για την επιβίωση ελεύθερης υποτροπής μιας ομάδας ασθενών, ή διαφορετικών ομάδων ασθενών όταν αυτές διαφέρουν μόνο κατά ένα παράγοντα. Στο διάγραμμα 20 παρουσιάζεται η καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής για το σύνολο των 175 ασθενών που μελετήθηκαν.





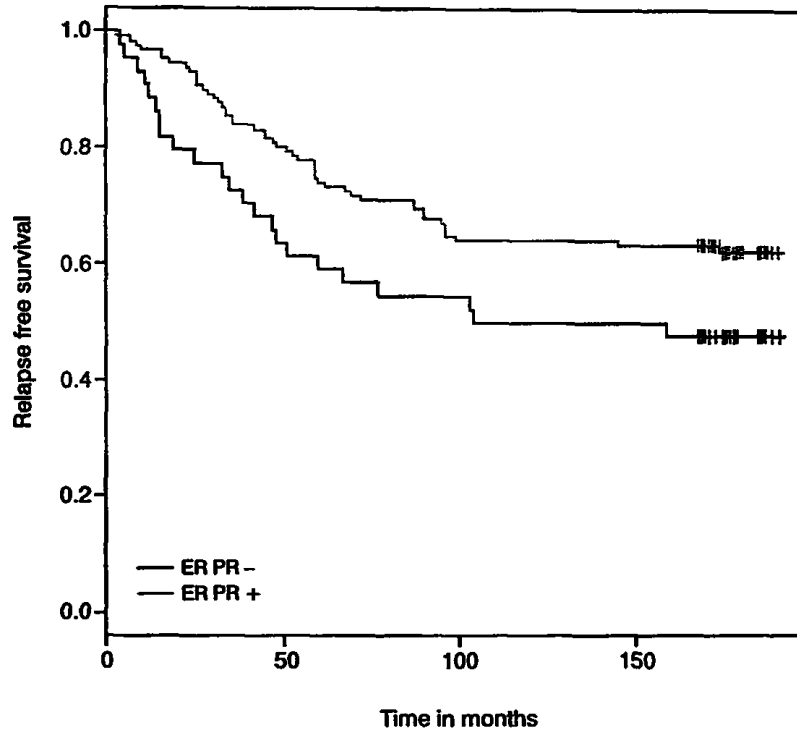
Διάγραμμα 20. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier για τους 175 ασθενείς με καρκίνο του μαστού.

Στο διάγραμμα 21 παρουσιάζονται οι καμπύλες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής για τους ασθενείς χωρισμένους σε δύο ομάδες – τις γυναίκες με θετικούς υποδοχείς και τις γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς. Οι γυναίκες με θετικούς υποδοχείς παρουσιάζουν καλύτερα αποτελέσματα και αυτό φαίνεται ξεκάθαρα από το διάγραμμα όπου η πιθανότητα επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής είναι μεγαλύτερη καθόλη τη διάρκεια του χρόνου μελέτης. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική, με $p = 0.043$ όπως αυτό υπολογίστηκε από τον στατιστικό έλεγχο log-rank.

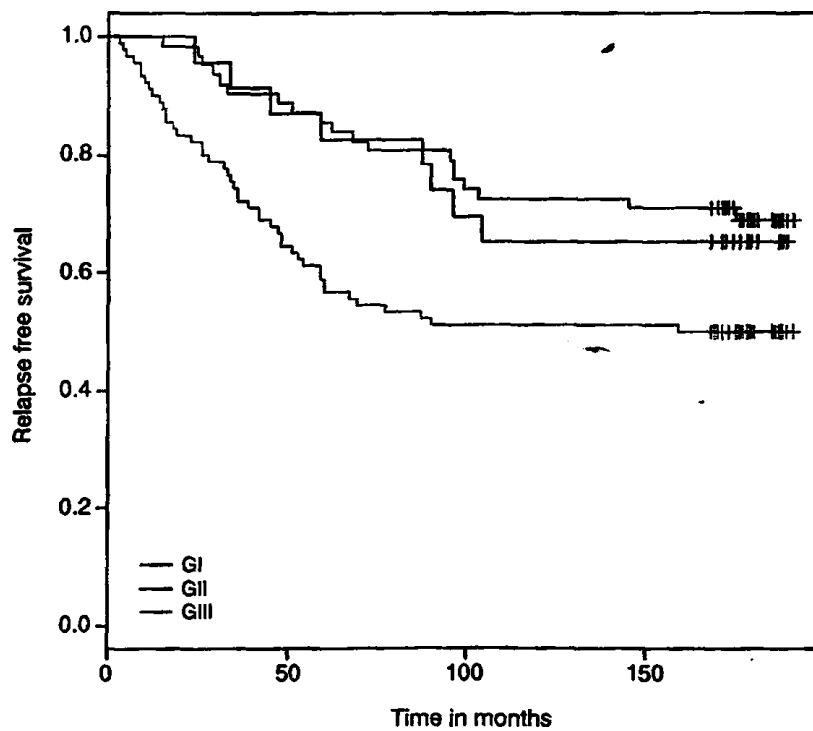
Στο διάγραμμα 22 παρουσιάζεται η επιβίωση ελεύθερη υποτροπής ανά Grade. Στο δείγμα που μελετήθηκε, οι γυναίκες με όγκους χαμηλού βαθμού κακοήθειας (Grade I) παρουσιάζουν παρόμοιες πιθανότητες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής με τις γυναίκες με όγκους μέσου βαθμού κακοήθειας (Grade II) αφού οι καμπύλες σχεδόν συμπίπτουν ($p = 0,71$). Αντίθετα, οι γυναίκες με όγκους υψηλού βαθμού κακοήθειας (Grade III) έχουν χαμηλότερες πιθανότητες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής σε σχέση με τις γυναίκες με όγκους Grade II ($p = 0,005$).

Όσον αφορά την εμμηνόπαυση, οι καμπύλες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μεταεμμηνοπαυσιακών γυναι-



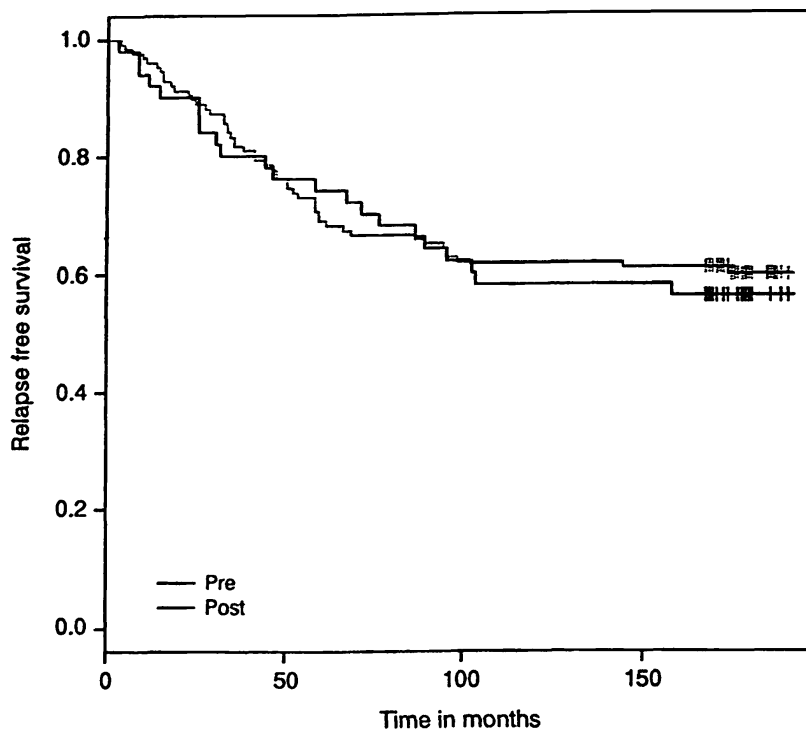


Διάγραμμα 21. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier σε σχέση με τους ορμονικούς υποδοχείς.



Διάγραμμα 22. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier σε σχέση με τον βαθμό κακοήθειας.





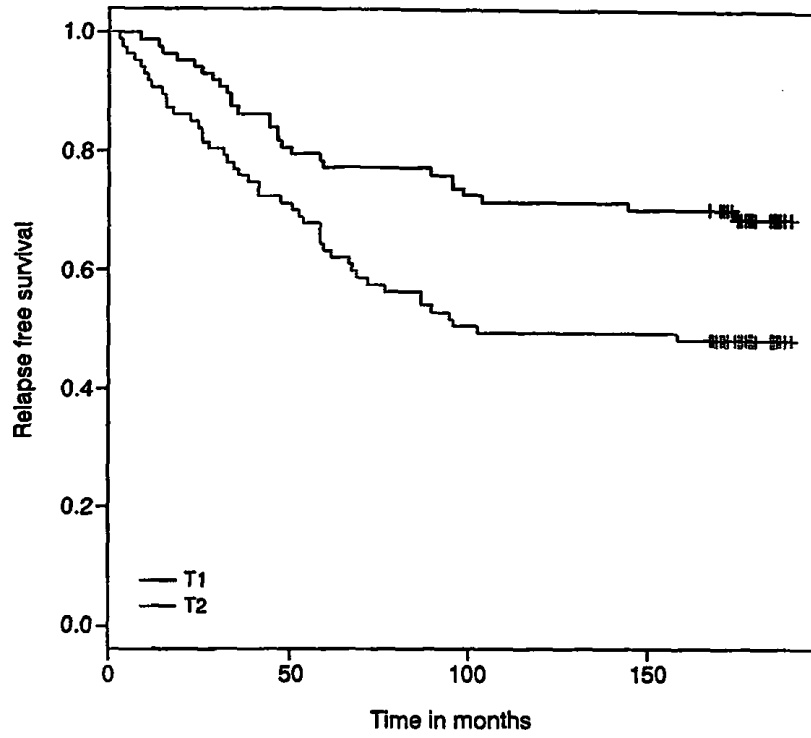
Διάγραμμα 23. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier σε σχέση με την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση.

κών σχεδόν ταυτίζονται, συνεπώς δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0.686$), διάγραμμα 23.

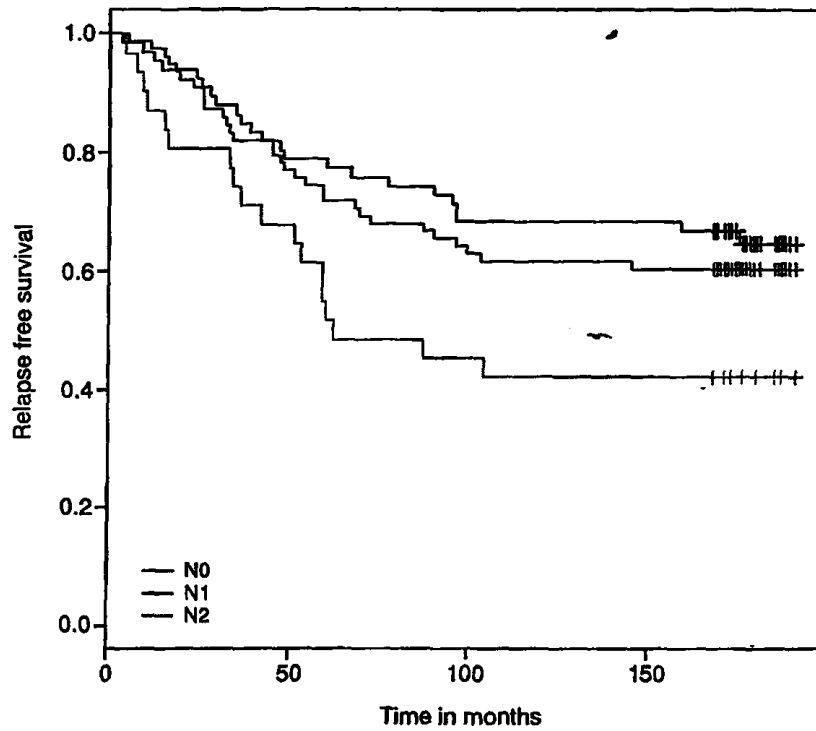
Το διάγραμμα 24 επιβεβαιώνει τη σχέση μεταξύ του μεγέθους του όγκου και τον κίνδυνο υποτροπής. Οι γυναίκες με όγκους T_1 έχουν καλύτερη καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής από τις γυναίκες με όγκους T_2 και η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική ($p = 0.003$). Όσον αφορά τον αριθμό των λεμφαδένων παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των γυναικών N_0 με N_2 ($p = 0.016$) με τις πρώτες να έχουν καλύτερη καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής. Στη σύγκριση των γυναικών N_1 με N_2 οι πρώτες φαίνεται να έχουν καλύτερη επιβίωση ελεύθερη υποτροπής αλλά η σχέση αυτή είναι οριακά μη στατιστικά σημαντική ($p = 0.055$). Αντίθετα, η επιβίωση ελεύθερη υποτροπής γυναικών με N_0 λεμφαδένες δε διαφέρει ιδιαίτερα από την επιβίωση των γυναικών με N_1 λεμφαδένες ($p = 0.527$). Οι καμπύλες παρουσιάζονται στο διάγραμμα 25.

Το διάγραμμα 26 παρουσιάζει τις καμπύλες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής ανά στάδιο. Εδώ υπάρχουν 4 κατηγορίες και τα αποτελέσματα των ελέγχων μεταξύ των ομάδων εμφανίζονται στον πίνακα 12.



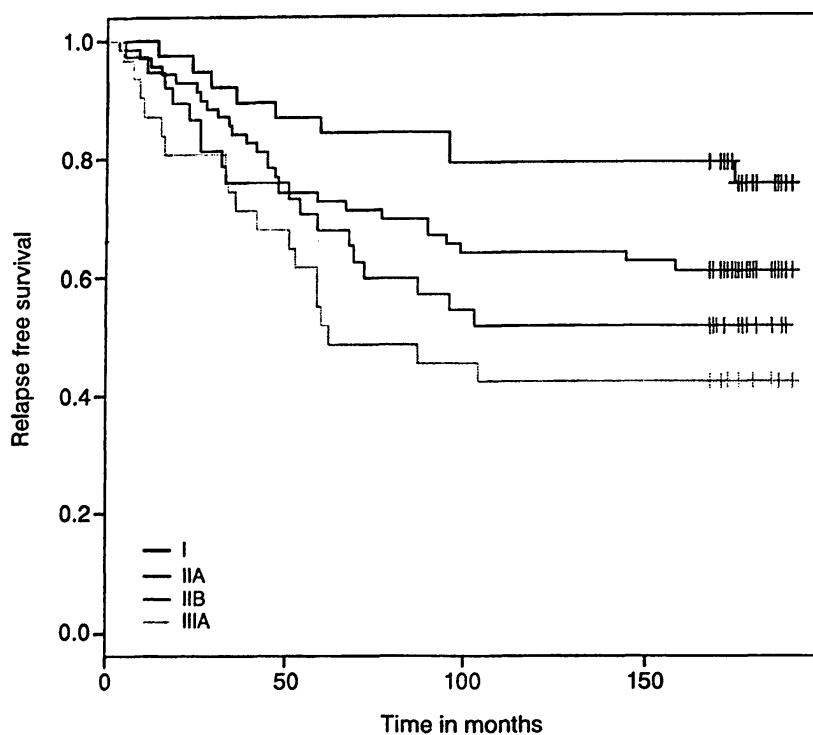


Διάγραμμα 24. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier σε σχέση με το μέγεθος όγκου.



Διάγραμμα 25. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier σε σχέση με τους λεμφαδένες.





Διάγραμμα 26. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier σε σχέση με το στάδιο.

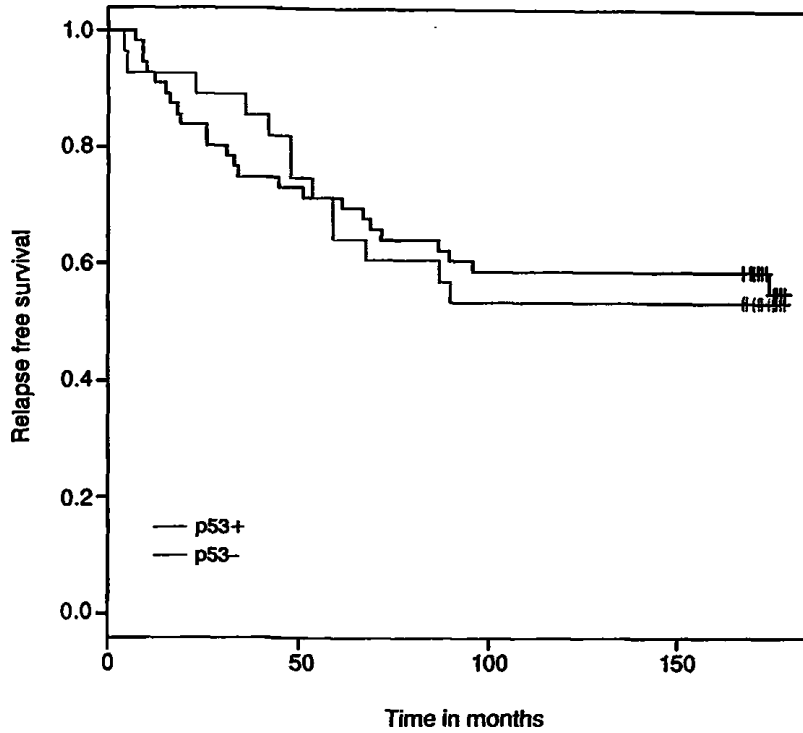
Πίνακας 12. Αποτελέσματα log-rank ελέγχων (*p-values*) ανά στάδιο ασθένειας.

Στάδιο	I	II _A	II _B	III _A
I	–	0.101	0.019	0.001
II _A	0.101	–	0.325	0.053
II _B	0.019	0.325	–	0.375
III _A	0.001	0.053	0.375	–

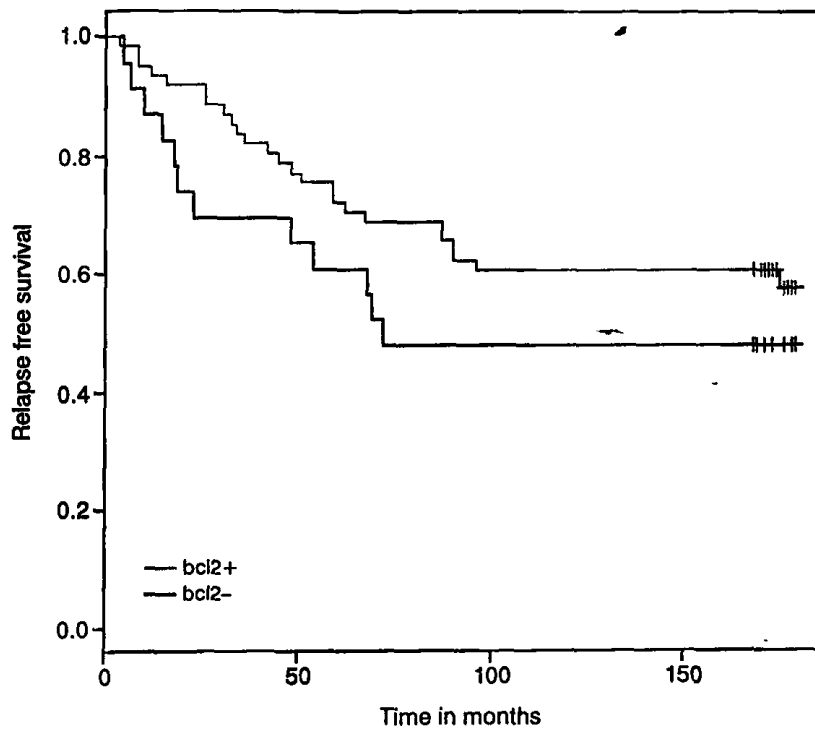
Όπως φαίνεται από τον πίνακα 12 και το διάγραμμα 26, οι γυναίκες που ανήκουν στο στάδιο I παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική καλύτερη επιβίωση ελεύθερη υποτροπής τόσο από τις γυναίκες σε στάδιο II_B όσο και στο στάδιο III_A. Οριακά μη στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0.053$) έχουν οι γυναίκες σταδίου II_A σε σχέση με αυτές σταδίου III_A. Από όλες τις άλλες συγκρίσεις δεν προκύπτουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Στα διαγράμματα 27 και 28 παρουσιάζονται οι καμπύλες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής (Kaplan-Meier) ανάλογα με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών p53 και Bcl2. Από τον έλεγχο που έγινε δεν προκύπτει διαφορά στην επιβίωση ελεύθερη υποτροπής μεταξύ των γυναικών





Διάγραμμα 27. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier ανάλογα με την ανοσοϊστολογική έκφραση της πρωτεΐνης p53 (p53+/-). p -value:0,835.



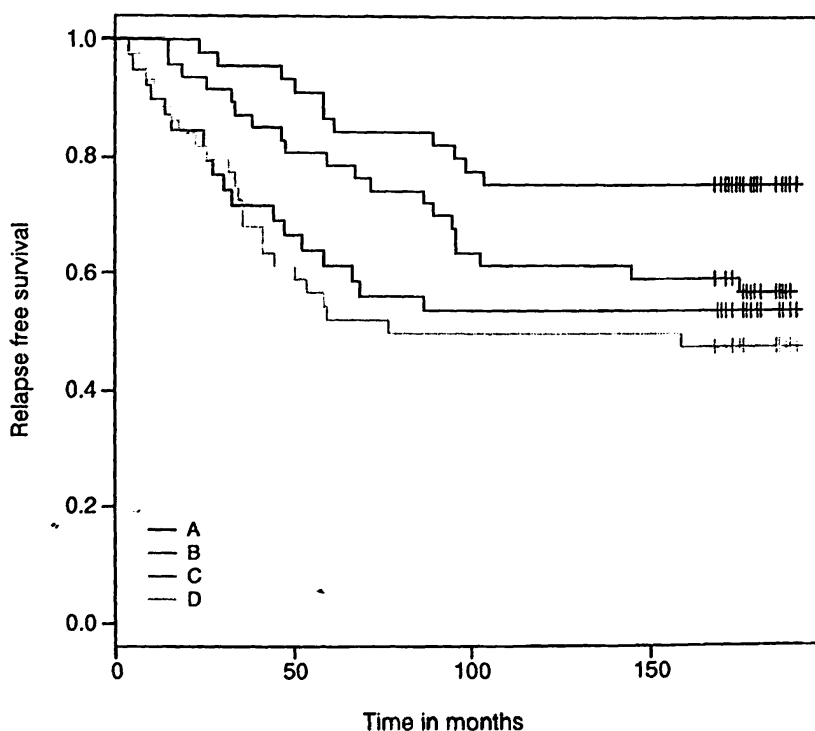
Διάγραμμα 28. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier ανάλογα με την ανοσοϊστολογική έκφραση της πρωτεΐνης Bcl2 (Bcl2+/-). p -value:0,2245.



που έχουν θετική έκφραση των συγκεκριμένων ογκοπρωτεϊνών και αυτών που έχουν αρνητική (p53+/-: $p = 0,835$ και Bcl2+/-: $p = 0,2245$).

11.2. Μονομεταβλητή ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής σε σχέση με τον αποπτωτικό δείκτη (AI)

Για να γίνει η ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής κατά Kaplan-Meier σε σχέση με τον αποπτωτικό δείκτη οι συνεχής μεταβλητή του AI μετασχηματίστηκε σε κατηγορική με τεταρτημόρια. Ο αποπτωτικός δείκτης στο πρώτο τεταρτημόριο έχει τιμή έως 1.05 (αυτό σημαίνει πως το 25% των ασθενών που μετρήθηκαν έχουν τιμή χαμηλότερη του 1.05), στο δεύτερο έως 1.80 (50% των παρατηρήσεων ήταν κάτω από αυτή τη τιμή και το υπόλοιπο 50% πάνω), ενώ στο τρίτο τεταρτημόριο έχει τιμή έως 3.15 (75% των παρατηρήσεων ήταν κάτω από 3.15). Στο διάγραμμα 29 παρουσιάζονται οι καμπύλες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής, ανάλογα με τον αποπτωτικό δείκτη. Παρουσιάζονται 4 ομάδες, στην ομάδα Α ανήκουν οι γυναίκες που είχαν τιμές αποπτωτικού δείκτη ως 1.05, στην ομάδα Β οι γυναίκες με τιμές από 1.05 ως 1.80, στην ομάδα Γ οι γυναίκες με δείκτη από 1.80 ως 3.15 και τέλος στην ομάδα Δ οι γυναίκες που είχαν τιμές πάνω από 3.15. Στον πίνακα 13 παρου-



Διάγραμμα 29. Καμπύλη επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής Kaplan-Meier ανά ομάδα αποπτωτικού δείκτη.



Πίνακας 13. Αποτελέσματα log-rank ελέγχων (p-values) ανά ομάδα αποπτωτικού δείκτη.

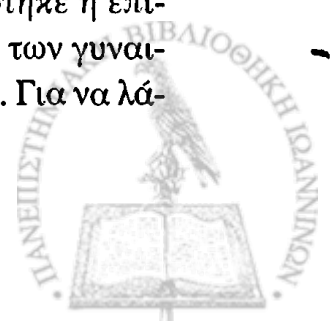
	A	B	Γ	Δ
A	–	0.607	0.005	<0.001
B	0.607	–	0.018	0.001
Γ	0.005	0.018	–	0.457
Δ	<0.001	0.001	0.457	–

σιάζονται οι τιμές των p-value για τις συγκρίσεις ανάμεσα στις διαφορετικές ομάδες.

Στο διάγραμμα φαίνεται πως η ομάδα A σε σχέση με την ομάδα B δεν έχει στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής ($p = 0.607$) αλλά έχει σαφώς καλύτερη επιβίωση ελεύθερη υποτροπής από τις ομάδες Γ και Δ. Επιβεβαιώνεται λοιπόν πως υψηλές τιμές του αποπτωτικού δείκτη παρουσιάζουν και μεγαλύτερο κίνδυνο για υποτροπή. Κοιτάζοντας τον πίνακα θα μπορούσαμε να πούμε πως ούτε οι ομάδες Γ και Δ δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ($p = 0.457$), αφού έχουν και οι δύο χαμηλές πιθανότητες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής. Από μια πρώτη ανάλυση λοιπόν μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα πως γυναίκες με αποπτωτικό δείκτη χαμηλότερο του 1.80 μπορούν να χαρακτηριστούν ως γυναίκες «καλής πρόγνωσης» ενώ αν ο δείκτης αυτός ξεπερνά το 1.80 τότε οι ασθενείς θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν «αυξημένου κινδύνου». Παρόλα αυτά, το συμπέρασμα αυτό θα πρέπει να επιβεβαιωθεί και από τη πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση που ακολουθεί.

11.3. Πολυμεταβλητή ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής

Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα έδωσαν μια εικόνα για το πως επιδρά ο κάθε ένας παράγοντας ξεχωριστά στις πιθανότητες επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής. Ωστόσο, όπως φάνηκε και στο πρώτο μέρος της στατιστικής ανάλυσης, υπάρχουν αλληλοσυσχετίσεις μεταξύ των παραγόντων. Για να είναι πιο πλήρης και έγκυρη η στατιστική ανάλυση θα πρέπει οι παράγοντες αυτοί να μελετηθούν από κοινού, για να δούμε πως επηρεάζεται η πιθανότητα επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής λαμβάνοντας υπόψη ένα πλήθος χαρακτηριστικών. Για παράδειγμα, στο διάγραμμα 22 παρουσιάστηκε η επιβίωση ελεύθερη υποτροπής ανά Grade. Μέσα στο πλήθος όμως των γυναικών με Grade I μπορεί να ανήκουν γυναίκες με όγκους T₂ και T₁. Για να λά-



βουμε αυτή τη διαφοροποίηση υπόψη προχωράμε στην πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση χρησιμοποιώντας το μοντέλο αναλογικού κινδύνου του Cox (proportional hazards model).

Το μοντέλο εφαρμόστηκε στα δεδομένα για τις 175 γυναίκες. Ως ανεξάρτητες μεταβλητές, δηλαδή που μπορούν να επηρεάσουν τον κίνδυνο υποτροπής από καρκίνο μαστού, χρησιμοποιήθηκαν οι μεταβλητές που αναλύθηκαν προηγουμένως μια προς μια. Τα αποτελέσματα του μοντέλου παρουσιάζονται στον πίνακα 14.

Η μόνη στατιστικά σημαντική σχέση που προκύπτει είναι για τον αποπρωτικό δείκτη. Ο σχετικός κίνδυνος ορίζεται στο 1.31, που σημαίνει πως όταν αυξάνεται ο αποπρωτικός δείκτης κατά 1 μονάδα, τότε ο κίνδυνος υποτροπής αυξάνει κατά 31%.

Αυτό που αξίζει να σημειωθεί είναι πως ενώ στη μονομεταβλητή ανάλυση είδαμε πως κάποιοι παράγοντες επηρεάζουν την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (όπως το μέγεθος του όγκου) στην πολυμεταβλητή ανάλυση η επίδρασή τους χάνει τη στατιστική της σημαντικότητα. Ωστόσο, στο πρώτο μέρος της ανάλυσης είδαμε πως ο αποπρωτικός δείκτης εξαρτάται από τους υπόλοιπους παράγοντες (στο πολυμεταβλητό γραμμικό μοντέλο). Αυτό σημαίνει πως ο δείκτης αυτό συμπυκνώνει αρκετή πληροφορία από τους υπόλοιπους κλινικούς παράγοντες και πως –τουλάχιστον στο δείγμα αυτό– μπορεί να χρησιμοποιηθεί από μόνος του ως ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για την αξιολόγηση του κινδύνου υποτροπής των ασθενών με καρκίνο του μαστού.

Πίνακας 14. Αποτελέσματα μοντέλου Cox.

	Σχετικός κίνδυνος	p-value
ηλικία	1.01	0.45
εμμηνόπαυση	0.66	0.32
υποδοχείς	0.59	0.07
μέγεθος όγκου	1.35	0.53
λεμφαδένες	1.69	0.40
στάδιο	0.99	0.99
grade	1.08	0.74
αποπρωτικός δείκτης	1.31	<0.001
μειωτικός δείκτης	0.94	0.60



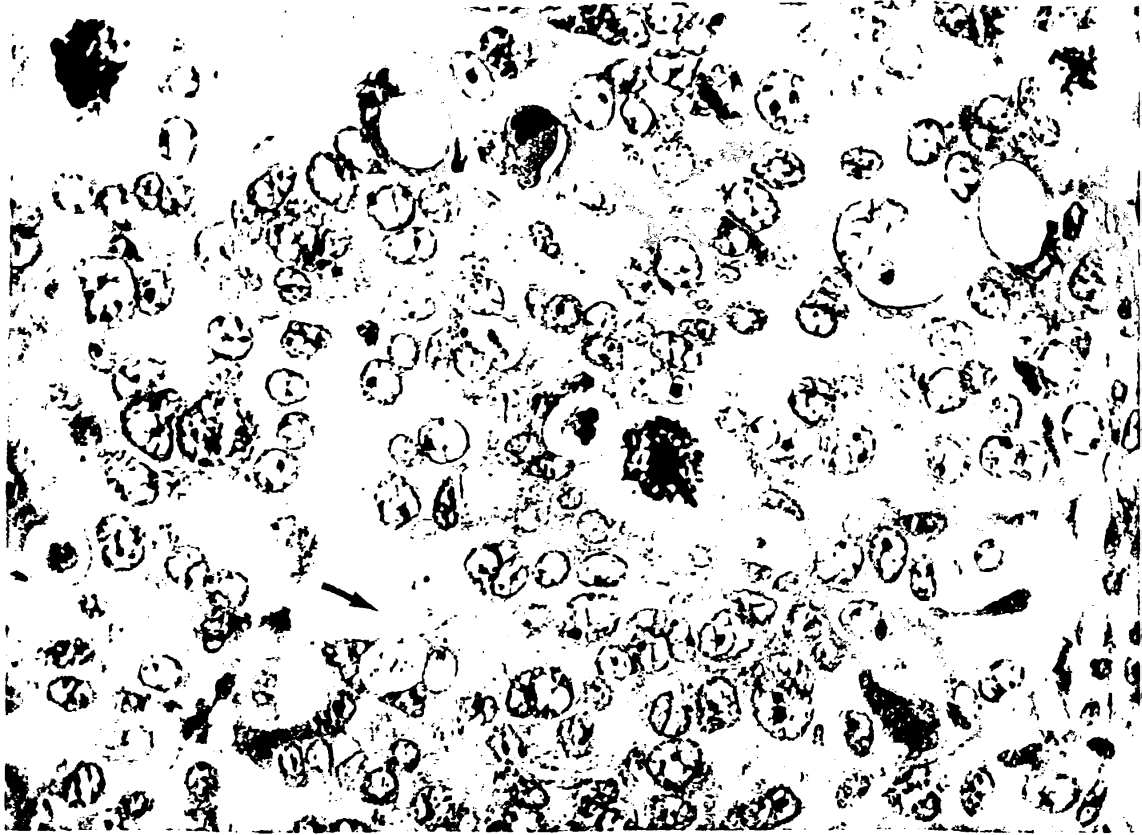


γραφία 8. Διθηθικό αδenoκαρκίνωμα του μαστού, μη ειδικού τύπου (NST) (25).

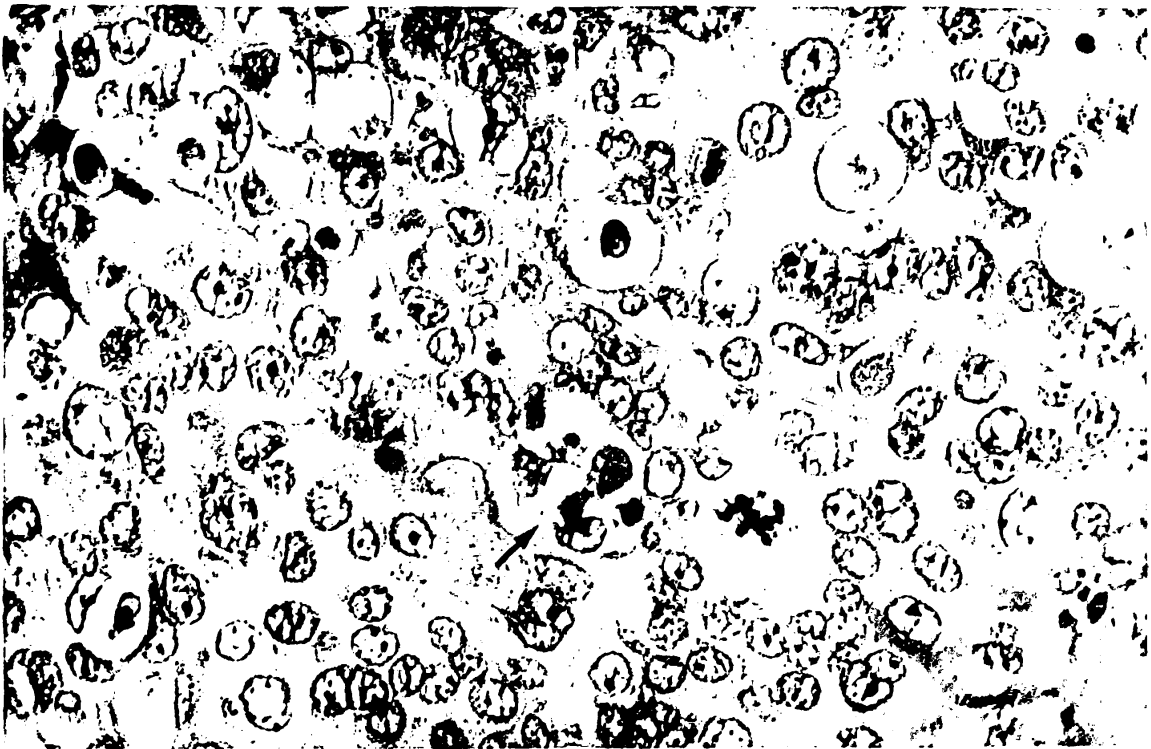


γραφία 9. Διθηθικό αδenoκαρκίνωμα του μαστού, μη ειδικού τύπου (NST), με διαφοροποίηση (HE x 100).

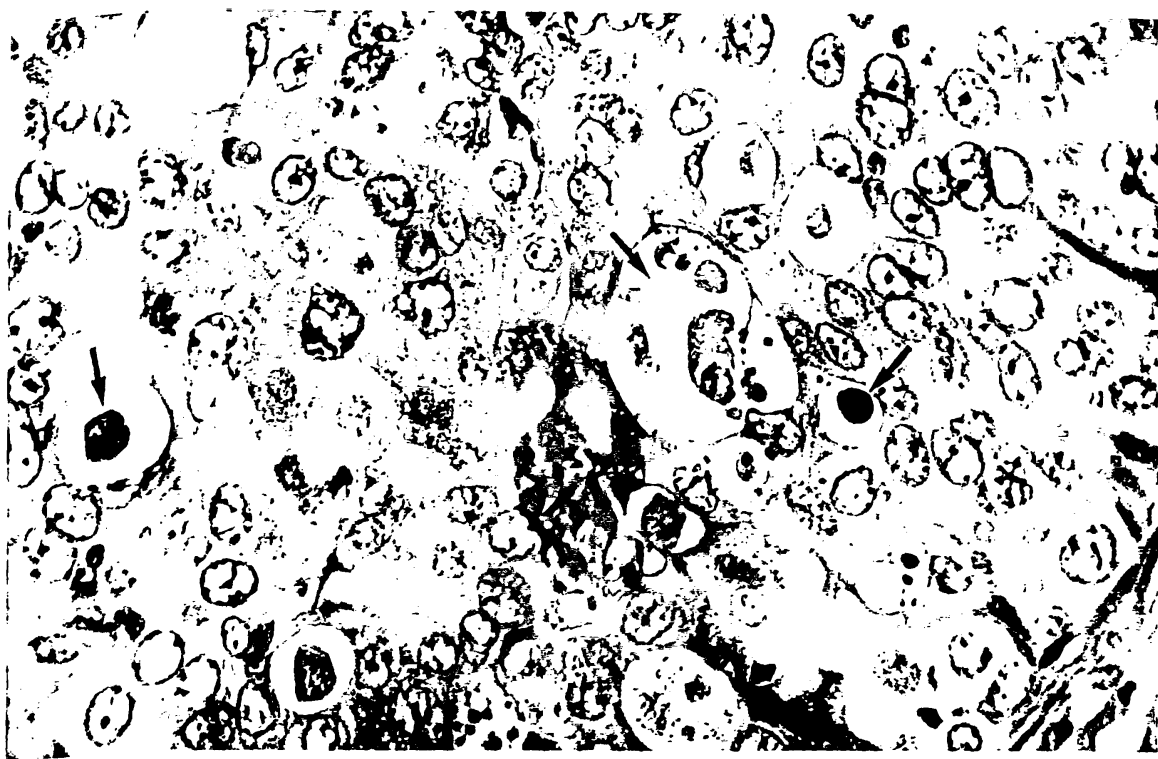




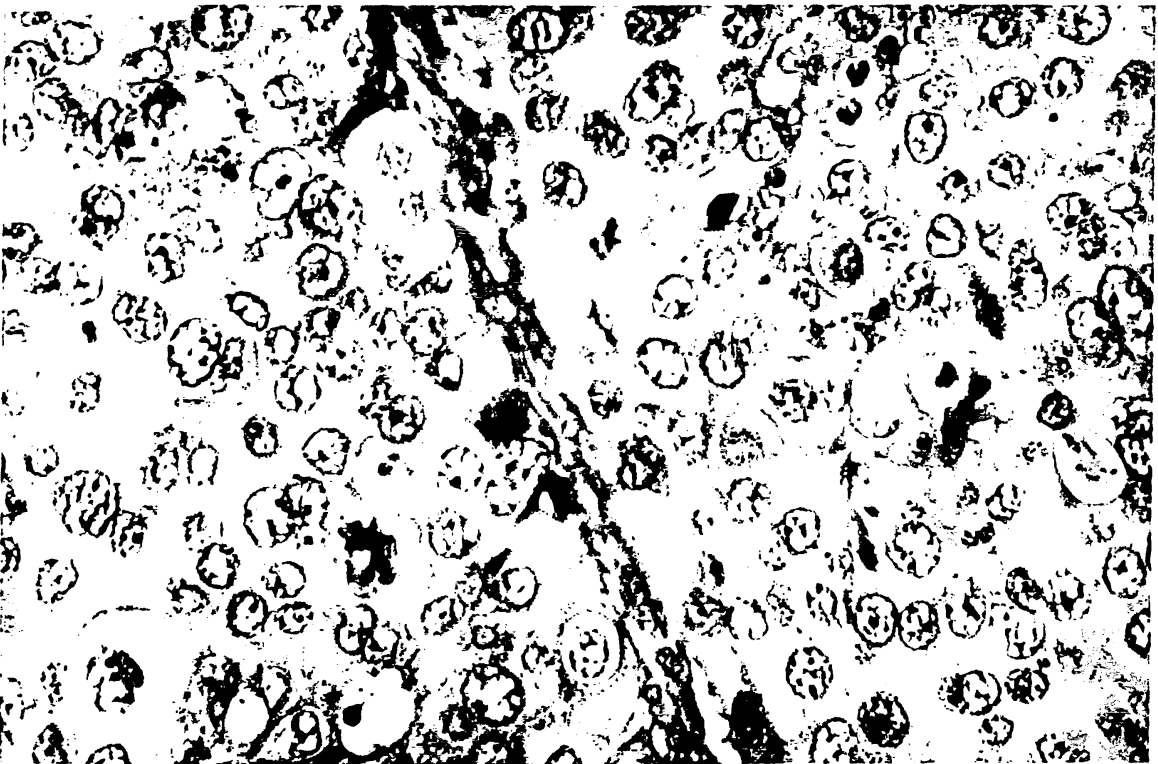
Φωτογραφία 10. Αποπτωτικά κύτταρα και σωμάτια (βέλος) και άτυπες μιτώσεις διηθητικό πορογενές αδενοκαρκίνωμα του μαστού μη ειδικού τύπου (NST) χαλής διαφοροποίησης (HE × 400).



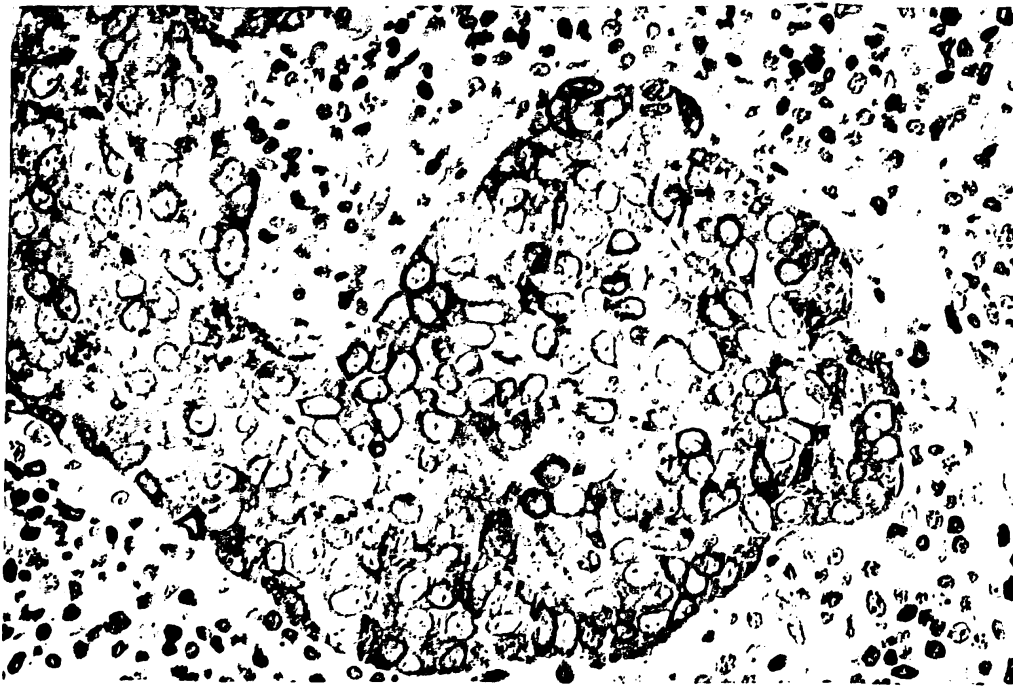
Φωτογραφία 11. Αποπτωτικά κύτταρα και σωμάτια (βέλος) σε διηθητικό πορογενές αδενοκαρκίνωμα του μαστού μη ειδικού τύπου (NST) χαμηλής διαφοροποίησης (ι × 400).



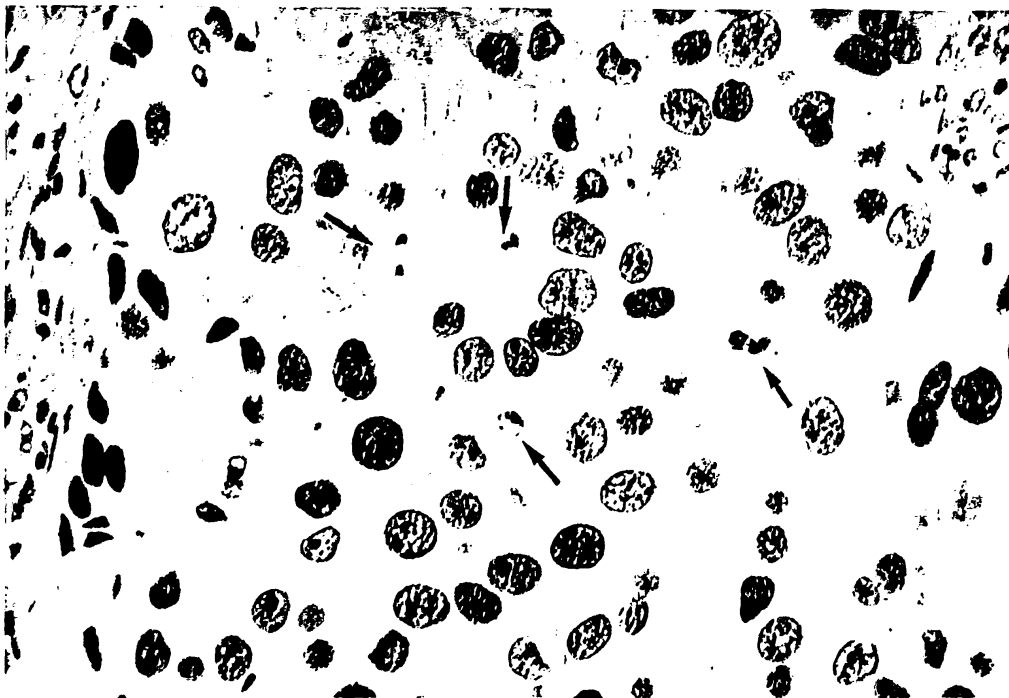
τογραφία 12. Αποπτωτικά κύτταρα κατά αθροίσεις (βέλη) και άτυπη μίτωση σε θητικό πορογενές αδenoκαρκίνωμα του μαστού μη ειδικού τύπου (NST) χαμηλώς διαφοροποίησης (HE x 400).



τογραφία 13. Αποπτωτικά κύτταρα (βέλη) και άτυπη μίτωση σε διηθητικό πορογενές αδenoκαρκίνωμα του μαστού μη ειδικού τύπου (NST) χαμηλής διαφοροποίησης (HE x 400).



Φωτογραφία 14. Θετική κυτταροπλασματική ανοσοϊστοχημική έκφραση της ογκοπρωτεΐνης Bcl2 σε διθητικό πορογενές αδενοκαρκίνωμα του μαστού μη ειδικού τύπου (NST) (ABC x 200).



Φωτογραφία 15. Θετική πυρηνική ανοσοϊστοχημική έκφραση της ογκοπρωτεΐνης p53 σε διθητικό πορογενές αδενοκαρκίνωμα του μαστού μη ειδικού τύπου (NST) (ABC x 400).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ανάπτυξη και η εξέλιξη του καρκίνου του μαστού και κατά συνέπεια η κλινική του πορεία, είναι αποτέλεσμα μιας δυναμικής ισορροπίας μεταξύ της μιτωτικής δραστηριότητας και της αποπτωτικής διαδικασίας καθώς και των μηχανισμών που τις ελέγχουν^{191,192,218-220,236}. Η απόπτωση ελέγχεται γενετικά από μερικά από τα συνηθέστερα γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο, όπως το ογκογονίδιο Bcl2, που θεωρείται ότι αναστέλλει την απόπτωση και το ογκοκατασταλτικό ογκογονίδιο p53, που την προάγει. Τα γονίδια αυτά έχουν μελετηθεί και στον καρκίνο του μαστού του ανθρώπου. Συγκεκριμένα, αναφέρεται ότι καρκινώματα του μαστού με θετική έκφραση της ογκοπρωτεΐνης Bcl2 έχουν καλύτερη πρόγνωση²³⁷⁻²⁴⁴, ενώ αντίθετα υπερέκφραση της ογκοπρωτεΐνης p53 έχει συσχετισθεί με δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες²⁴⁵⁻²⁴⁷. Συνήθως παρατηρείται ανάστροφη συσχέτιση της παρουσίας των δύο πρωτεϊνών, χωρίς όμως να αποκλείεται και η ταυτόχρονη έκφρασή τους, γεγονός που δείχνει ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ τους στη ρύθμιση της απόπτωσης με πιο περίπλοκους ή και άγνωστους προς το παρόν μηχανισμούς.

Τελευταία συσσωρεύονται όλο και περισσότερες γνώσεις ότι το φαινόμενο της απόπτωσης παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην καρκινογένεση όσο και στην εξέλιξη και βιολογία του καρκίνου του μαστού.

Στον καρκίνο του μαστού η απόπτωση, όπως εκφράζεται με τον αποπτωτικό δείκτη (AI), έχει συσχετισθεί με ορισμένους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες που συνδέονται με την βιολογική συμπεριφορά της νόσου, όπως βαθμός διαφοροποίησης, ορμονικοί υποδοχείς, δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, μέγεθος όγκου, διήθηση σύστοιχων μασχαλαίων λεμφαδένων, με σκοπό να διερευνηθεί η προγνωστική τους σημασία χωρίς όμως να αποδειχθεί μέχρι τώρα ότι αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα^{221-224,228}. Επίσης, η σχέση της απόπτωσης, όπως εκφράζεται με τον αποπτωτικό δείκτη (AI), με τις ογκοπρωτεΐνες Bcl2 και p53 έχει μελετηθεί στον καρκίνο του μαστού, σε αρκετές σειρές ασθενών, και έχει βρεθεί ότι χαμηλοί α-



ποπρωτικοί δείκτες παρατηρούνται σε καρκινώματα με καλούς προγνωστικούς δείκτες, θετική έκφραση της ογκοπρωτεΐνης Bcl2 και αρνητική έκφραση της ογκοπρωτεΐνης p53²²⁴⁻²²⁸. Στις περισσότερες όμως από τις μελέτες δεν αποδεικνύεται η ανεξάρτητη προγνωστική σημασία του αποπρωτικού δείκτη. Κατά συνέπεια, μέχρι σήμερα, δεν έχει καθιερωθεί η εφαρμογή του σαν προγνωστικός δείκτης στην κλινική πράξη.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο αποπρωτικός δείκτης (AI) των όγκων ασθενών, με διηθητικό πορογενές καρκίνωμα του μαστού, μη ειδικού τύπου (NST), και συσχετίστηκε με τον μιτωτικό δείκτη, την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση, το μέγεθος του όγκου, τη διήθηση των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων, το στάδιο της νόσου, τον βαθμό διαφοροποίησης, την έκφραση των ορμονικών υποδοχέων, καθώς και με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνικών Bcl2 και p53, προκειμένου να διερευνηθεί η προγνωστική σημασία της απόπτωσης στον καρκίνο του μαστού. Επίσης, για τους σκοπούς της μελέτης ανάλογη συσχέτιση έγινε μεταξύ του μιτωτικού δείκτη με τους ίδιους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες και με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνικών Bcl2 και p53. Τέλος ο αποπρωτικός δείκτης, ο μιτωτικός δείκτης, οι παραπάνω κλινικοπαθολογοανατομικοί δείκτες και η έκφραση των ογκοπρωτεϊνικών Bcl2 και p53 συσχετίστηκαν με την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (Relapse Free Survival, RFS) των ασθενών.

Οι παραπάνω αναλύσεις και συσχετίσεις έγιναν σε 175 ασθενείς με διηθητικό καρκίνωμα των πόρων του μαστού, μη ειδικού τύπου (NST), με βάθος χρόνου παρακολούθησης 15 έτη. Συγκεκριμένα παρακολούθηθηκαν από 3 έως 191 μήνες, με ενδιάμεσο χρόνο παρακολούθησης 171 μήνες και μέσο όρο παρακολούθησης 125 μήνες.

Η ανοσοϊστολογική έκφραση των πρωτεϊνών Bcl2 και p53 μελετήθηκε σε 84 ασθενείς (εκ των 175) και ο χρόνος παρακολούθησης ήταν ο ίδιος.

Στη δικιά μας μελέτη σαν αποπρωτικός δείκτης έχει ορισθεί ο μέσος όρος των αποπρωτικών κυττάρων σε 20 ΟΠ μεγάλης μεγέθυνσης (x 400). Η μίτωση έχει θεωρηθεί ως ο αντίποδας της απόπτωσης και παρόμοια με τον αποπρωτικό δείκτη (AI) ορίστηκε ο μιτωτικός δείκτης (MI)²³¹. Σε αρκετές μελέτες, ο αποπρωτικός δείκτης ορίζεται ως ο αριθμός των αποπρωτικών κυττάρων ανά τετραγωνικό χιλιοστό νεοπλασματικού ιστού ή η εκατοστιαία αναλογία των αποπρωτικών κυττάρων. Εξ αιτίας αυτών των μεθοδολογικών διαφοροποιήσεων, απόλυτες τιμές του AI δεν είναι άμεσα συγκρίσιμες μεταξύ των διαφόρων μελετών, αλλά η στατιστική σχέση με άλλους παράγοντες μπορεί να συγκριθεί με αξιοπιστία²³⁰.



Ο υπολογισμός του αποπτωτικού δείκτη έγινε με μορφολογική αναγνώριση και καταμέτρηση των αποπτωτικών κυττάρων σε χρώση ηωσίνης-αιματοξυλίνης με βάση τα ιδιαίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης. Σε αρκετές μελέτες ο αποπτωτικός δείκτης υπολογίστηκε με άλλες μεθόδους, όπως η ISNT (in situ nick translation), η TUNEL (TdT mediated dUTP-biotin nick end labeling) και τα μονοκλωνικά αντισώματα στο μονόκλωνο DNA^{223-224,229}. Και οι δύο μέθοδοι αναγνώρισης και καταμέτρησης των αποπτωτικών κυττάρων έχουν τα χαρακτηριστικά τους προβλήματα. Ο εντοπισμός των αποπτωτικών κυττάρων σε συμβατικές ιστολογικές τομές μπορεί να είναι δύσκολος ειδικά όταν υπάρχει νέκρωση ή φλεγμονώδη κύτταρα, ενώ οι ειδικές τεχνικές χρώσεις μπορούν να ξεχωρίζουν κύτταρα με διασπασμένο DNA που δεν είναι αποτέλεσμα αποπτωτικού θανάτου²³⁰. Σε μία μελέτη οι Nishimura και συν. έδειξαν ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση των ευρημάτων μεταξύ της μορφολογικής μεθόδου και της μεθόδου TUNEL²²⁹. Εξ άλλου, με την εφαρμογή των διαφόρων μεθόδων έχουν βρεθεί παρόμοιες συσχετίσεις του αποπτωτικού δείκτη με προγνωστικούς παράγοντες, όπως η μιτωτική δραστηριότητα, ο βαθμός διαφοροποίησης, το μέγεθος του όγκου, το στάδιο, οι λεμφαδενικές μεταστάσεις στη σύστοιχη μασχάλη και η παρουσία ορμονικών υποδοχέων. Για τους λόγους αυτούς στην παρούσα μελέτη ο υπολογισμός του αποπτωτικού δείκτη έγινε με τη μορφολογική μέθοδο, η οποία, εφόσον εφαρμοσθεί με αυστηρά κριτήρια, είναι αξιόπιστη και πολύ πρακτική.

Το φαινόμενο της απόπτωσης έχει αποτελέσει αντικείμενο εντατικής μελέτης σε σχέση με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες: μέγεθος όγκου, βαθμός διαφοροποίησης όγκου, ορμονικοί υποδοχείς, αριθμός διηθημένων λεμφαδένων, στάδιο νόσου. Στη μελέτη αυτή η συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με τους παραπάνω κλινικοπαθολογοανατομικούς δείκτες καθώς και την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση μας οδήγησε στη διαπίστωση ότι οι παράγοντες που σχετίζονται και επηρεάζουν τις τιμές που παίρνει ο ΑΙ είναι το μέγεθος του όγκου, ο βαθμός διαφοροποίησης και η έκφραση των ορμονικών υποδοχέων. Έτσι χαμηλές τιμές του ΑΙ παρατηρούνται συνήθως σε μικρού μεγέθους όγκους, με χαμηλό βαθμό κακοήθειας και θετική έκφραση των ορμονικών υποδοχέων, ενώ μεγάλοι όγκοι, με υψηλό βαθμό κακοήθειας και αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς έχουν υψηλό ΑΙ. Επομένως ο ΑΙ είναι ανάλογος με το μέγεθος του όγκου και με τον βαθμό κακοήθειας και αντίστροφα ανάλογος με την έκφραση ορμονικών υποδοχέων.



Σε μελέτη των Zhang και συν. (1998)²²⁴ που περιελάμβανε 126 ασθενείς με καρκίνο του μαστού, βρέθηκε ότι οι μεγάλοι όγκοι είχαν σημαντικά υψηλότερο ΑΙ σε σχέση με τους μικρούς· συγκεκριμένα ο μέσος όρος του ΑΙ στους μικρούς όγκους (< 2 cm) ήταν 1.4, ενώ στους μεγάλους όγκους (> 5 cm) ο ΑΙ ήταν 4.9 (p 0,008). Σ' άλλες όμως έρευνες όπως αυτές των Lipponen και συν. (1994)²²¹ και Berardo και συν. (1998)²²³ δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του αποπρωτικού δείκτη και του μεγέθους του όγκου.

Σ' όλες τις δημοσιευμένες μελέτες επισημαίνεται μία αξιοσημείωτη σχέση μεταξύ του ΑΙ και του βαθμού διαφοροποίησης. Στη μελέτη του Lipponen και συν. (1994), οι όγκοι με βαθμό κακοήθειας ΙΙΙ έχουν δύο φορές υψηλότερο ΑΙ σε σχέση με τους όγκους βαθμού κακοήθειας Ι. Αναλυτικότερα ο μέσος όρος του ΑΙ, με μορφολογικό χαρακτηριστικά ήταν 7,9/mm², 9,4 mm² και 16,8/mm² σε όγκους με βαθμό κακοήθειας Ι, ΙΙ και ΙΙΙ αντίστοιχα.

Στις περισσότερες μελέτες που συσχετίζεται ο ΑΙ με τους ορμονικούς υποδοχείς διαπιστώνεται ότι η μεταξύ τους σχέση είναι σημαντική και μάλιστα είναι αντίστροφα ανάλογη^{234,235}. Δύο μεγάλες μελέτες (Lipponen και συν. 1994, Berardo και συν. 1998) που περιελάμβαναν περισσότερα από 1000 καρκινώματα του μαστού βρήκαν σημαντική σχέση ανάμεσα στην αρνητική έκφραση των ορμονικών υποδοχέων και τον υψηλό ΑΙ, ενώ οι όγκοι με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς έχουν συνήθως χαμηλότερο ΑΙ. Έτσι οι τιμές του ΑΙ ήταν 50% μεγαλύτερες στους όγκους με αρνητικούς υποδοχείς.

Από την ανάλυση που έγινε στη μελέτη αυτή, ο αποπρωτικός δείκτης δεν φαίνεται να σχετίζεται με τη διήθηση των μασχαλιαίων λεμφαδένων στη σύστοιχη μασχάλη, με το στάδιο της νόσου, με την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση.

Σε μελέτες που αναφέρονται στη σχέση ΑΙ και διήθησης μασχαλιαίων λεμφαδένων της σύστοιχης μασχάλης τα ευρήματά διαφοροποιούνται. Σε μελέτη του Berardo και συν. (1998) που περιελάμβανε 979 όγκους με καρκίνο του μαστού, ο υψηλός ΑΙ συνδέονταν θετικά με τους διηθημένους λεμφαδένες της σύστοιχης μασχάλης αλλά η σχέση δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p = 0,06) ενώ ο Lipponen και συν. (1994) δεν βρήκαν να υπάρχει σχέση μεταξύ των δύο παραμέτρων. Ανάλογα είναι και τα συμπεράσματα για το στάδιο της νόσου.

Παρά την προσπάθειά μας, στη διεθνή βιβλιογραφία, δεν αναβρέθησαν συσχετίσεις μεταξύ του ΑΙ με την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση των ασθενών.

Από τις μελέτες που έχουν γίνει για τη σχέση του αποπρωτικού με τον



μιτωτικό δείκτη φαίνεται ότι υπάρχει μεταξύ τους μεγάλη συσχέτιση^{221,250,251}, που σημαίνει ότι ο αριθμός των αποπτωτικών κυττάρων είναι ανάλογος μ' αυτών που βρίσκονται στη φάση της μιτωτικής διεργασίας. Αυτό επιβεβαιώνει την άποψη ότι μίτωση και απόπτωση είναι δύο βιολογικές διεργασίες που βρίσκονται σε κατάσταση δυναμικής ισορροπίας²²¹, με την μίτωση να θεωρείται ως ο αντίποδας της απόπτωσης. Από τις μελέτες επίσης φαίνεται ότι ο αριθμός των αποπτωτικών κυττάρων υπερσχύει σχετικά των κυττάρων που βρίσκονται στη φάση της μίτωσης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μίτωση πραγματοποιείται πιο γρήγορα από την απόπτωση, ενώ τα αποπτωτικά σωματίδια παραμένουν στον εξωκυττάριο χώρο 1-8 ώρες πριν φαγοκυταρωθούν από τα γειτονικά παρεγγυματικά κύτταρα, ιστιοκύτταρα ή κύτταρα του όγκου^{231,217}.

Στην παρούσα μελέτη οι τιμές του ΑΙ παρουσιάζουν πολύ ισχυρή συσχέτιση με τις τιμές του ΜΙ ($p < 0,001$) που σημαίνει όταν αυξάνονται οι τιμές του ΑΙ αυξάνονται και οι τιμές του ΜΙ.

Η μέση τιμή του ΑΙ είναι μεγαλύτερη από τη μέση τιμή του ΜΙ (ΑΙ: 2,39 – ΜΙ: 1,61) ενώ από την ανάλυση και μελέτη των τιμών του ΜΙ σε σχέση με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες που μετρήθηκαν προκύπτουν ανάλογα αποτελέσματα μ' αυτά του ΑΙ. Αυτό συμφωνεί με τη γενική διατύπωση ότι μίτωση και απόπτωση είναι δύο αλληλένδετες βιολογικές διεργασίες²²¹. Στον καρκίνο του μαστού, στις περισσότερες μελέτες, όπως και στην παρούσα, ο ΑΙ είναι μεγαλύτερος από τον ΜΙ²³⁰. Σε αρκετές βιβλιογραφικές αναφορές, ο ΜΙ θεωρείται σαν πιο σημαντική παράμετρος του ΑΙ^{221,230} (Lipponen και συν. 1994) ενώ είναι αρκετές αυτές που ο ΜΙ αναφέρεται σαν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας^{248,249}.

Στη δικιά μας μελέτη η ισχυρή συσχέτιση του ΑΙ με τον ΜΙ καθώς και η αναλογία των σχέσεων τους με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες που μελετήθηκαν υποστηρίζει την συμπερασματολογία μας για τον ΑΙ και την κάνει πιο ισχυρή.

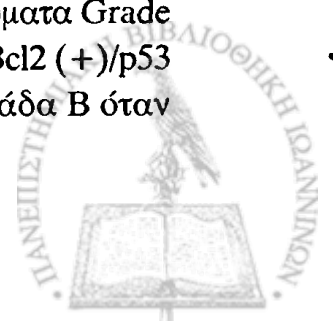
Τελευταία παρατηρείται επικέντρωση του ενδιαφέροντος στη μελέτη των γονιδίων που ρυθμίζουν την απόπτωση, όπως του Bcl2 και του p53. Το ογκογονίδιο Bcl2 έχει μελετηθεί στον καρκίνο του μαστού του ανθρώπου και η παρουσία του έχει συσχετισθεί με ευνοϊκή πρόγνωση και χαμηλό αποπτωτικό δείκτη. Αντίθετα, η αυξημένη έκφραση της ογκοπρωτεΐνης p53 έχει συσχετισθεί με δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες και υψηλό αποπτωτικό δείκτη²²⁴⁻²²⁸. Στην παρούσα μελέτη η συσχέτιση των ΑΙ με την ανοσοϊστολογική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53 δείχνει ότι χα-



μηλοί ΑΙ παρατηρούνται συνήθως σε όγκους με θετική έκφραση του Bcl2 και αρνητική έκφραση του p53 ενώ όγκοι με υψηλό ΑΙ εμφανίζουν συνήθως Bcl2 (-) και p53 (+) ογκοπρωτεϊνική έκφραση. Η διαφορά στη μέση τιμή του ΑΙ μεταξύ Bcl2 (+) και Bcl2 (-) όγκων καθώς και μεταξύ p53 (+) και p53 (-) είναι στατιστικά σημαντική ($p = 0,0065$, $p = 0,01$ αντίστοιχα). Στα ευρήματά μας φαίνεται ότι η απόπτωση, όπως εκφράζεται ποσοτικά με τον αποπτωτικό δείκτη, σχετίζεται με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53, στους ασθενείς με διηθητικό πορογενές καρκίνωμα του μαστού μη ειδικού τύπου (NST). Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν και με ανάλογες παλαιότερες μελέτες μας²⁵².

Ένα ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης είναι ότι οι όγκοι των ασθενών της ομάδας Α, που ήταν ελεύθερος νόσου στο διάστημα της 15ετούς περίπου παρακολούθησης, χαρακτηρίζονταν από χαμηλότερους ΑΙ (μέσος όρος 2,00) σε σύγκριση με τους όγκους των ασθενών της ομάδας Β, που παρουσίασαν υποτροπή (μέσος όρος 2,94, $p = 0,001$). Ανάλογη διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων Α και Β παρατηρείται και στις τιμές του ΜΙ (μέσος όρος 1,45 και 1,83 αντίστοιχα) όμως αυτή δεν είναι τόσο ισχυρή ($p = 0,059$). Παρόμοια ευρήματα που σχετίζουν χαμηλό αποπτωτικό δείκτη με καλή πρόγνωση αναφέρονται και από άλλους συγγραφείς^{221,223,224,252}. Από την εμπάθυνση όμως της ανάλυσης και συγκρίνοντας τα χαρακτηριστικά και τα αποτελέσματα από τους άλλους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες μεταξύ των ομάδων Α και Β, δεν μπορεί ξεκάθαρα να βγει το συμπέρασμα πως ο αυξημένος ΑΙ είναι αυτός που προκαλεί τις υποτροπές γιατί οι δύο ομάδες τείνουν να έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά και στην εμφάνιση της υποτροπής επηρεάζονται και επιδρούν και οι υπόλοιποι κλινικοπαθολογοανατομικοί παράγοντες.

Σε σχέση με την εμφάνιση υποτροπής, στην ομάδα Α διαπιστώθηκαν περισσότερα Bcl2 (+) καρκινώματα σε σύγκριση με την ομάδα Β και στην ομάδα Α υπερτερούν/υπερέχουν τα p53 (-) καρκινώματα σε σχέση με την ομάδα Β, χωρίς όμως όλες αυτές οι συσχετίσεις στο παρόν δείγμα να είναι στατιστικά σημαντικές. Η ανάλυση των αποπτωτικών δεικτών έδειξε ότι Bcl2 (+)/p53 (-) καρκινώματα της ομάδας Α εμφάνιζαν στην πλειονότητά τους χαμηλότερους αποπτωτικούς δείκτες σε σχέση με την ομάδα Β. Αναλύοντας τα αποτελέσματά μας και σε σχέση με τον βαθμό διαφοροποίησης, το μέγεθος του όγκου και το στάδιο της νόσου διαπιστώσαμε ότι ο ευνοϊκός αυτός ανοσοφαινότυπος Bcl2 (+)/p53 (-) διατηρήθηκε και στα καρκινώματα Grade III, όγκους T₂ και στάδιο της νόσου III_A δηλαδή καρκινώματα Bcl2 (+)/p53 (-) είχαν χαμηλότερους ΑΙ στην ομάδα Α σε σχέση με την ομάδα Β όταν



ταυτόχρονα τα καρκινώματα είχαν βαθμό κακοήθειας Grade III, ή το μέγεθος του όγκου ήταν T₂, ή το στάδιο της νόσου ήταν III_A. Τα ευρήματά μας, αν και δεν φτάνουν στα όρια της στατιστικής σημαντικότητας λόγω της πολυδιάσπασης του δείγματος, συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα και ενισχύουν την άποψη ότι καρκινώματα με χαμηλό AI και Bcl2 (+)/p53 (-) ανοσοφαινότυπο έχουν καλύτερη πρόγνωση.

Συμπερασματικά, όλα τα παραπάνω θα μπορούσαν να συνοψισθούν στη διατύπωση ότι οι χαμηλές τιμές του AI σχετίζονται με ευνοϊκούς δείκτες όπως: θετικοί ορμονικοί υποδοχείς, χαμηλό βαθμό κακοήθειας, μικρό μέγεθος όγκου, Bcl2 (+), p53 (-) ενώ υψηλές τιμές του AI συνήθως σχετίζονται με δυσμενείς κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους (αρνητικοί ορμονικοί υποδοχείς, υψηλό βαθμό κακοήθειας, μεγάλο μέγεθος όγκου, Bcl2 (-), p53 (+). Επίσης δημιουργούνται ενδείξεις ότι ο AI συμπυκνώνει πληροφορίες από τους παραπάνω προγνωστικούς δείκτες που σημαίνει ότι, στην παρούσα μελέτη, ο αποπτωτικός δείκτης θα μπορούσε να αποτελέσει μια μορφή συνισταμένης των συγκεκριμένων προγνωστικών δεικτών.

Από την πολυμεταβλητή ανάλυση που έγινε στην παρούσα μελέτη λαμβάνοντας υπόψη όλες τις υπό μελέτη παραμέτρους, φαίνεται πως ο αποπτωτικός δείκτης περιλαμβάνει πληροφορίες από βασικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού και απ' αυτήν την άποψη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί πιθανόν σαν ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας που συμπυκνώνει πληροφορίες από τους υπόλοιπους δείκτες.

Αν και σε αρκετές μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας δεν βρέθηκε, σε πολυπαραγοντικές αναλύσεις που έγιναν, ανεξάρτητη τιμή για τον AI (Berardo και συν. 1998, Zhang και συν. 1998, Lipponen και συν. 1994) ωστόσο σε άλλες, σχετικά πιο πρόσφατες, έχει αναφερθεί ο AI να είναι ανεξάρτητη μεταβλητή όταν λαμβάνονται υπόψη οι άλλοι προγνωστικοί παράγοντες (De Jong και συν. 2000²⁵³, Gonzalez-Camproa R και συν., 2000²³⁵).

Συγκεκριμένα αρκετές μελέτες έχουν αναλύσει την προγνωστική σημασία του αποπτωτικού δείκτη σε σχέση με την επιβίωση. Οι Berardo και συν. (1998)²²³ σε μελέτη με 979 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και θετικούς σύστοιχους μασχαλιαίους λεμφαδένες και ενδιάμεσο χρόνο παρακολούθησης 61 μήνες ανέφερε ότι η αυξημένη απόπτωση σχετίζεται με μειωμένη πιθανότητα επιβίωσης, αλλά με οριακή σημασία ($p = 0,06$). Οι Lipponen και συν. (1994)²²¹ σε μελέτη με 288 ασθενείς με καρκίνο του μαστού βρήκε μια στατιστικά σημαντική διαφορά στην επιβίωση ανάλογα με την τιμή του AI. Η διαφορά στην επιβίωση στα 10 χρόνια σε όγκους με αρνητικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες ήταν 10% ($p = 0,035$), ενώ σε όγκους με θετικούς

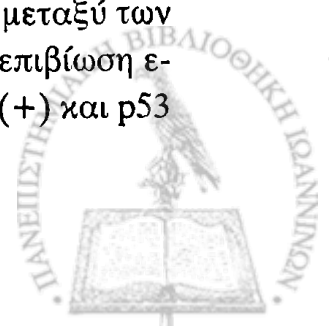


μασχαλιαίους λεμφαδένες ήταν 35% ($p = 0,008$). Οι Zhang και συν. (1998)²²⁴ αναφέρουν διαφορά 30% στην επιβίωση στα 5 χρόνια σε 126 ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Παρ' όλα αυτά σε καμιά από τις παραπάνω μελέτες δεν βρέθηκε ανεξάρτητη προγνωστική τιμή για τον αποπρωτικό δείκτη σε πολυπαραγοντική ανάλυση των κλινικοπαθολογοανατομικών παραγόντων.

Στην παρούσα εργασία από την ανάλυση των μελετημένων κλινικοπαθολογοανατομικών παραγόντων σε σχέση με την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) βρέθηκε ότι αυτή επηρεάζεται σημαντικά από τους ορμονικούς υποδοχείς, τον βαθμό διαφοροποίησης, το μέγεθος του όγκου, τη διήθηση των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων καθώς και από το στάδιο. Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι σε όγκους με θετικούς υποδοχείς παρουσιάζεται καλύτερη επιβίωση ελεύθερη υποτροπής από τους όγκους με αρνητικούς λεμφαδένες ($p = 0,043$) καθώς επίσης γυναίκες με καρκίνο του μαστού μικρού και μέσου βαθμού κακοήθειας (grade I και II) παρουσιάζουν σημαντική διαφορά στην επιβίωση ελεύθερη υποτροπής από τις γυναίκες με όγκους υψηλού βαθμού κακοήθειας (grade III) ($p = 0,005$ μεταξύ grade II και III).

Γυναίκες με όγκους T_1 έχουν στατιστικά σημαντικά καλύτερη επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) από τις γυναίκες με όγκους T_2 ($p = 0,003$) ενώ σε σχέση με τον αριθμό των διηθημένων λεμφαδένων παρατηρείται σημαντική διαφορά μεταξύ των γυναικών N_0 με N_2 ($p = 0,016$) με τις πρώτες να έχουν καλύτερη επιβίωση. Στη σύγκριση της επιβίωσης ελεύθερης νόσου των γυναικών N_1 με N_2 οι πρώτες φαίνεται να έχουν οριακά καλύτερη επιβίωση ($p = 0,055$) ενώ δεν διαφέρει ιδιαίτερα η επιβίωση ελεύθερη υποτροπής των γυναικών N_0 από τις N_1 ($p = 0,527$). Από τη μελέτη της επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής σε σχέση με το στάδιο της νόσου προκύπτει σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών που ανήκουν στο στάδιο I και αυτών που ανήκουν στο στάδιο II_B και III_A ($p = 0,019$ και $p = 0,001$ αντίστοιχα) με τις πρώτες να έχουν πολύ καλύτερη επιβίωση. Οριακές είναι οι διαφορές στην επιβίωση ελεύθερη υποτροπής μεταξύ γυναικών σταδίου II_A και III_A ($p = 0,053$) ενώ από τις άλλες συγκρίσεις δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Από την μονοπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής των ασθενών με Bcl2 (+) και Bcl2 (-) δεν φαίνεται να υπάρχει διαφορά στατιστικά σημαντική στην επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) μεταξύ των δύο ομάδων ενώ επίσης δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στην επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) μεταξύ των ασθενών με όγκους p53 (+) και p53



(-). Αυτό βέβαια οφείλεται στο γεγονός ότι στην επιβίωση μεταξύ των δύο ομάδων επηρεάζονται και επιδρούν και όλοι οι άλλοι κλινικοπαθολογολογιοανατομικοί παράγοντες.

Για τη μελέτη της επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής (RFS) σε σχέση με τον αποπρωτικό δείκτη (AI) οι ασθενείς κατενεμήθηκαν σε 4 ομάδες A, B, Γ και Δ κάθε μία από τις οποίες περιλαμβάνει το 25% του συνόλου.

ομάδα A	: AI ≤ 1,05
ομάδα B	: 1,05 < AI ≤ 1,8
ομάδα Γ	: 1,8 < AI ≤ 3,15
ομάδα Δ	: AI > 3,15

Από τη σύγκριση της επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής μεταξύ των ομάδων A και B, με σχετικά χαμηλό αποπρωτικό δείκτη, δεν προκύπτει σημαντική διαφορά μεταξύ τους ($p = 0,607$), όπως επίσης δεν προκύπτει σημαντική διαφορά στην επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) μεταξύ των ομάδων Γ και Δ, με σχετικά υψηλό AI ($p = 0,457$). Συγκρίνοντας όμως την επιβίωση ελεύθερης υποτροπής (RFS) των ομάδων A και B (χαμηλοί σχετικά αποπρωτικοί δείκτες), με τις ομάδες Γ και Δ (υψηλοί σχετικά αποπρωτικοί δείκτες) οι διαφορές είναι στατιστικά σημαντικές. Η επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) των ασθενών της ομάδας A είναι πολύ καλύτερη συγκρινόμενη με αυτήν της ομάδας Γ και Δ ($p = 0,005$ και $p = < 0,001$ αντίστοιχα) και η επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) των ασθενών της ομάδας B είναι επίσης καλύτερη από την RFS των ασθενών της ομάδας Γ και Δ ($p = 0,01$ και $p = 0,001$ αντίστοιχα). Έτσι διαπιστώνουμε ότι υψηλές τιμές του αποπρωτικού δείκτη παρουσιάζουν σχετικά μεγαλύτερο κίνδυνο υποτροπής. Από την εμβάθυνση της ανάλυσης μπορεί να οδηγηθούμε στο συμπέρασμα ότι ασθενείς με αποπρωτικό δείκτη χαμηλότερο του 1,80 μπορούν να χαρακτηρισθούν ως ασθενείς «καλής πρόγνωσης», ενώ αν ο αποπρωτικός δείκτης είναι υψηλότερος του 1,80 τότε οι ασθενείς θα μπορούσαν να χαρακτηρισθούν «αυξημένου κινδύνου». Παρ' όλα αυτά το συμπέρασμα αυτό θα πρέπει να επιβεβαιωθεί από πολυπαραγοντική ανάλυση.

Οι de Jong και συν. (2000)²⁵³, σε μελέτη που περιελάμβανε 172 ασθενείς με καρκίνο του μαστού σταδίου I και II, με ενδιάμεσο χρόνο παρακολούθησης 90 μήνες και ενδιάμεσο χρόνο παρακολούθησης των ασθενών που επιβίωσαν 111 μήνες βρήκαν ότι ο αποπρωτικός δείκτης (AI) μαζί με τον μίτωτικό δείκτη (MI), το μέγεθος του όγκου και την κατάσταση των λεμφαδών φαίνονται να είναι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες. Ασθενείς



με χαμηλό ΑΙ και χαμηλό ΜΙ παρουσιάζουν άριστη επιβίωση, σε αντίθεση με τους ασθενείς με υψηλό ΑΙ και υψηλό Μι που η επιβίωσή τους είναι σύντομη. Επίσης, όπως και στην παρούσα μελέτη βρήκαν μεγάλη συσχέτιση του ΑΙ με τον ΜΙ ($p < 0,0001$) καθώς και σημαντική σχέση του ΑΙ με το μέγεθος του όγκου ($p = 0,049$) ενώ δεν βρέθηκε ιδιαίτερη σχέση του ΑΙ με την κατάσταση των λεμφαδένων ($p = 0,08$).

Επιπλέον, οι Gonzalez-Camproa και συν. (2000)²³⁵ σε μελέτη με 65 ασθενείς με πορογενές καρκίνωμα του μαστού και ενδιάμεσο χρόνο παρακολούθησης 78 μήνες, βρήκαν ότι η απόπτωση, περισσότερο από ότι οι δείκτες πολλαπλασιασμού ή την έκφραση των Bcl2 και p53 ογκοπρωτεϊνών, φαίνεται να είναι ένας ανεξάρτητος δείκτης για την πρόγνωση της επιβίωσης.

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση όλων των παραγόντων αυτής της εργασίας (ορμονικοί υποδοχείς, μέγεθος όγκου, στάδιο, βαθμός διαφοροποίησης, διήθηση λεμφαδένων, ηλικία, εμμηνοπαυσιακή κατάσταση, μιτωτικός δείκτης και αποπτωτικός δείκτης) με τη βοήθεια του μοντέλου αναλογικού κινδύνου του Cox, βρέθηκε ότι ο μόνος σημαντικός παράγοντας που σχετίζεται με την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής είναι ο αποπτωτικός δείκτης ($p < 0,001$). Αυτό σημαίνει πως ο ΑΙ συμπυκνώνει αρκετές πληροφορίες από τους υπόλοιπους παράγοντες και πως –τουλάχιστον στο δείγμα αυτών των ασθενών– μπορεί να χρησιμοποιηθεί από μόνος του ως ένας σημαντικός ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την αξιολόγηση του κινδύνου υποτροπής από καρκίνο του μαστού.

Σημαντικό πλεονέκτημα της παρούσας μελέτης είναι ο σχετικά μεγάλος αριθμός των ασθενών που παρακολούθηθηκαν (175 ασθενείς) και το μεγάλο χρονικό διάστημα παρακολούθησης (ενδιάμεσος χρόνος παρακολούθησης 171 μήνες).

Η απόδειξη μιας ανεξάρτητης τιμής για τον αποπτωτικό δείκτη μας επιτρέπει τη γενική του χρήση στην κλινική πράξη και μας παρέχει τη δυνατότητα να κάνουμε προβλέψεις για την πιθανότητα επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του μαστού. Σ' αυτήν την περίπτωση, ο αποπτωτικός δείκτης θα μπορούσε να αποτελέσει έναν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα με βάση το οποίο οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού θα μπορούσαν να κατηγοριοποιηθούν σε ασθενείς υψηλού, μεσαίου ή χαμηλού κινδύνου υποτροπής.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης η οποία περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό ασθενών (175) με μεγάλο χρονικό διάστημα κλινικής παρακολούθησης (ενδιάμεσος χρόνος 171 μήνες), μας οδηγεί στα παρακάτω συμπεράσματα:

1. Ο αποπτωτικός δείκτης (AI) παρουσιάζει θετική και ισχυρή συσχέτιση με τον βαθμό κακοήθειας και το μέγεθος του όγκου, ενώ με τους ορμονικούς υποδοχείς σχετίζεται αρνητικά.
2. Δεν παρατηρείται συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με το στάδιο της νόσου, τη διήθηση των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων, την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση των ασθενών.
3. Ο αποπτωτικός δείκτης (AI) παρουσιάζει θετική και ισχυρή συσχέτιση με τον μιτωτικό δείκτη (MI).
4. Ο μιτωτικός δείκτης (MI) παρουσιάζει θετική και ισχυρή συσχέτιση με τον βαθμό κακοήθειας και το μέγεθος του όγκου, ενώ με τους ορμονικούς υποδοχείς σχετίζεται αρνητικά.
5. Δεν παρατηρείται συσχέτιση του μιτωτικού δείκτη με το στάδιο της νόσου, τη διήθηση των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων, την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση των ασθενών.
6. Όγκοι με θετική ανοσοϊστοχημική έκφραση του Bcl2 ογκοπρωτεΐνης και αρνητική έκφραση της p53 ογκοπρωτεΐνης παρουσιάζουν χαμηλό αποπτωτικό και μιτωτικό δείκτη.
7. Οι ασθενείς που υποτροπίασαν είχαν όγκους μεγάλου μεγέθους, υψηλού βαθμού κακοήθειας (Grade III) και εξέφραζαν υψηλές τιμές αποπτωτικού δείκτη (AI). Σε σχέση με το στάδιο το μεγαλύτερο ποσοστό υποτροπής παρατηρήθηκε στις ασθενείς σταδίου III_A.
8. Η μέση τιμή του μιτωτικού δείκτη μεταξύ των ασθενών που υποτροπίασαν και αυτών που δεν εμφάνισαν υποτροπή δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά.



9. Σε σχέση με τον χρόνο εμφάνισης της υποτροπής, αυτός ήταν μικρότερος (≤ 60 μήνες) στις ασθενείς με όγκους μεγάλου μεγέθους και υψηλές τιμές αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη.
10. Η επιβίωση ελεύθερης υποτροπής ήταν μεγαλύτερη στις ασθενείς με όγκους μικρού μεγέθους, χαμηλού βαθμού κακοήθειας, σταδίου I με απουσία λεμφαδενικών μετάστασεων και θετικούς υποδοχείς.
11. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στην επιβίωση ελεύθερη υποτροπής μεταξύ των ασθενών σε σχέση με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53.
12. Ασθενείς με όγκους που ο αποπτωτικός δείκτης ήταν χαμηλός ($< 1,8$) είχαν καλή πρόγνωση ενώ ασθενείς με όγκους μεγαλύτερου αποπτωτικού δείκτη είχαν αυξημένο κίνδυνο υποτροπής.
13. Η πολυπαραγοντική ανάλυση της συσχέτισης του AI με τους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες που μελετήθηκαν και η πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης έδειξαν ότι ο AI περιλαμβάνει πληροφορίες απ' αυτούς τους παράγοντες και έχει πολύ μεγάλη σημασία για την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής. Γι' αυτό στην παρούσα μελέτη ο αποπτωτικός δείκτης (AI) αποκτά τα χαρακτηριστικά ανεξάρτητου προγνωστικού παράγοντα.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός αυτής της προσπάθειας είναι να μελετηθεί η απόπτωση και η ποσοτική της έκφραση, που είναι ο αποπτωτικός δείκτης (AI), στο πορογενές αδеноκαρκίνωμα του μαστού, μη ειδικού τύπου (NST) και τα ευρήματα να συσχετισθούν με τον μιτωτικό δείκτη (MI), τον βαθμό κακοήθειας, το μέγεθος του όγκου, τη διήθηση των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων, το στάδιο της νόσου, τους ορμονικούς υποδοχείς, την ηλικία, την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση και την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53. Για τον σκοπό της μελέτης, επίσης θα εκτιμηθεί η σχέση του μιτωτικού δείκτη (MI) με τους ίδιους κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες και με την ανοσοϊστοχημική έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53. Τέλος ο αποπτωτικός δείκτης (AI), ο μιτωτικός δείκτης (MI), οι παραπάνω κλινικοπαθολογοανατομικοί παράγοντες και η έκφραση των Bcl2 και p53 ογκοπρωτεϊνών θα συσχετισθεί με την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (Relapse Free Survival, RFS) των ασθενών.

Η μελέτη περιλαμβάνει 175 ασθενείς με πορογενές αδеноκαρκίνωμα του μαστού, μη ειδικού τύπου (NST), και ο χρόνος παρακολούθησης ήταν 15 περίπου χρόνια. Συγκεκριμένα οι ασθενείς παρακολούθηθηκαν από 3 μήνες έως 191 μήνες, με ενδιάμεσο χρόνο παρακολούθησης 171 μήνες και μέσο όρο παρακολούθησης 125 μήνες.

Η ανοσοϊστοχημική έκφραση των Bcl2 και p53 ογκοπρωτεϊνών έγινε σε 84 (εκ των 175) ασθενείς και ο χρόνος παρακολούθησης ήταν ο ίδιος.

Η εκτίμηση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη έγινε με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά σε τομές παραφίνης και χρώση ηωσίνης-αιματοξυλίνης και ορίσθηκε ως ο μέσος όρος των κυττάρων που βρίσκονται σε απόπτωση και μίτωση, αντίστοιχα, σε 20 ΟΠ μεγάλης μεγέθυνσης ($\times 400$).

Στη στατιστική ανάλυση οι αποπτωτικοί και μιτωτικοί δείκτες των ομάδων εκφράστηκαν ως μέση τιμή, η σύγκριση των συνεχών μεταβλητών έγινε με στατιστικό έλεγχο t και η σύγκριση των κατηγορικών μεταβλητών έ-



γινε με έλεγχο χ^2 . Ο πολυπαραγοντικός έλεγχος του AI με τις υπόλοιπες μεταβλητές έγινε με πολυμεταβλητό μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης. Η ανάλυση της επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής (RFS) έγινε με την μέθοδο Kaplan-Meier και η πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης έγινε με το μοντέλο αναλογικού κινδύνου του Cox (proportional hazards model).

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης προέκυψε ότι ο αποπτωτικός δείκτης (AI) έχει ισχυρή και θετική σχέση με τον μιτωτικό δείκτη (MI) ($p < 0,001$), με τον βαθμό κακοήθειας (από τον έλεγχο όλων των ομάδων ανά Grade $p < 0,001$) και το μέγεθος του όγκου ($p < 0,001$) ενώ παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με τους ορμονικούς υποδοχείς ($p = 0,003$).

Δεν φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη με τη διήθηση των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων, το στάδιο της νόσου, την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση.

Ο μιτωτικός δείκτης (MI) σε σχέση με τους παραπάνω κλινικοπαθολογοανατομικούς δείκτες παρουσιάζει τις ίδιες συσχετίσεις δηλαδή έχει ανάλογη σχέση με τον βαθμό κακοήθειας, το μέγεθος του όγκου και αντίστροφη σχέση με τους ορμονικούς υποδοχείς. Όμως δεν φαίνεται να σχετίζεται με τη διήθηση των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων, το στάδιο της νόσου, την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση. Αναφορικά με την ανοσοϊστολογική έκφραση των Bcl2 και p53 ογκοπρωτεϊνών, ο αποπτωτικός δείκτης (AI) και ο μιτωτικός δείκτης (MI) έχουν θετική σχέση με την p53 ογκοπρωτεΐνη ($p = 0,001$ και $p = 0,008$ αντίστοιχα). Σε σχέση με την ογκοπρωτεΐνη Bcl2 ο αποπτωτικός δείκτης έχει αντίστροφη σχέση ($p = 0,006$) ενώ δεν φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του μιτωτικού δείκτη (MI) και της Bcl2 ογκοπρωτεΐνης ($p = 0,06$). Έτσι όγκοι με θετική ανοσοϊστοχημική έκφραση της Bcl2 ογκοπρωτεΐνης και αρνητική έκφραση της p53 φαίνεται να έχουν χαμηλό αποπτωτικό δείκτη (AI).

Οι γυναίκες που υποτροπίασαν είχαν υψηλότερο αποπτωτικό δείκτη απ' αυτές που δεν εμφάνισαν υποτροπή ($p = 0,001$) ενώ ο μιτωτικός δείκτης ήταν κατά μέσο όρο υψηλότερος σ' αυτές που εμφάνισαν υποτροπή ($p = 0,059$). Επίσης οι γυναίκες που υποτροπίασαν είχαν όγκους μεγάλου μεγέθους ($p = 0,007$) με υψηλό βαθμό κακοήθειας (Grade III) ($p = 0,02$) και το μεγαλύτερο ποσοστό υποτροπής παρατηρήθηκε σε ασθενείς σταδίου III_A.

Ο χρόνος εμφάνισης της υποτροπής ήταν μικρότερος (≤ 60 μήνες) στις γυναίκες με υψηλό αποπτωτικό και μιτωτικό δείκτη ($p = 0,002$, $p = 0,004$ αντίστοιχα και μεγάλους όγκους ($p = 0,007$).

Η επιβίωση ελεύθερης υποτροπής ήταν μεγαλύτερη στις ασθενείς με



μικρό μέγεθος όγκου ($p = 0,003$), χωρίς διηθημένους λεμφαδένες (N_0) στη σύστοιχη μασχάλη ($p = 0,016$ με N_2 και $p = 0,055$ N_1 με N_2), σταδίου I ($p = 0,01$ με II_B και $p = 0,001$ με III_A) με θετικούς υποδοχείς ($p = 0,04$). Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην επιβίωση ελεύθερης υποτροπής μεταξύ προ- και μεταεμμηνοπαυσιακών γυναικών και μεταξύ γυναικών με θετική (+)/αρνητική (-) έκφραση των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53.

Σ' αυτήν τη μελέτη, οι ασθενείς που είχαν χαμηλό αποπτωτικό δείκτη ($AI \leq 1,8$) είχαν μεγαλύτερη επιβίωση ελεύθερη υποτροπής και μπορεί να χαρακτηριστεί σαν ομάδα «καλής πρόγνωσης» σε σχέση με τις ασθενείς με υψηλό αποπτωτικό δείκτη ($AI > 1,8$) που μπορεί να χαρακτηριστεί σαν ομάδα «υψηλού κινδύνου» ($p < 0,005$).

Η πολυπαραγοντική ανάλυση της σχέσης του αποπτωτικού δείκτη (AI) με τους κλινικοπαθολογικούς παράγοντες που μελετήθηκαν και η πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης έδειξε, στην παρούσα μελέτη, ότι ο αποπτωτικός δείκτης περιλαμβάνει πληροφορία από αυτούς τους παράγοντες και έχει μεγάλη σημασία για την επιβίωση ελεύθερη υποτροπής. Συνεπώς θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί –πιθανόν– σαν ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας που συμπυκνώνει πληροφορίες για τον καρκίνο του μαστού και –τουλάχιστον στο δείγμα αυτό των ασθενών– θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί από μόνος του σαν ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την αξιολόγηση του κινδύνου υποτροπής των ασθενών με καρκίνο του μαστού.

Σημαντικό πλεονέκτημα της παρούσας μελέτης είναι ο σχετικά μεγάλος αριθμός των ασθενών που παρακολούθηθηκαν (175) και το μεγάλο χρονικό διάστημα παρακολούθησης (ενδιάμεσος χρόνος παρακολούθησης 171 μήνες).

Η απόδειξη μιας ανεξάρτητης τιμής για τον αποπτωτικό δείκτη μας επιτρέπει τη γενική του χρήση στην κλινική πράξη και μας παρέχει τη δυνατότητα να κάνουμε προβλέψεις για την πιθανότητα επιβίωσης των ασθενών με καρκίνο του μαστού. Σ' αυτήν την περίπτωση, ο αποπτωτικός δείκτης θα μπόρούσε να αποτελέσει έναν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα με βάση το οποίο οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού θα μπορούσαν να κατηγοριοποιηθούν σε ασθενείς υψηλού, μεσαίου ή χαμηλού κινδύνου υποτροπής.



SUMMARY

The aim of this work was to study the apoptosis and the apoptotic index (AI) in ductal breast adenocarcinomas, non specified type (NST) and to correlate the findings with the mitotic index (MI), tumor grade, tumor size, lymph node status, stage, hormone receptors' status, patients' age and menopausal status as well as with the immunohistochemical expression of Bcl2 and p53 oncoproteins. Moreover, in this study the correlation of the mitotic index (MI) with the same clinicopathological parameters and the immunohistochemical expression of Bcl2 and p53 oncoproteins was also examined. Finally, the apoptotic index (AI), the mitotic index (MI), the above clinicopathological parameters and the expression of Bcl2 and p53 oncoproteins were correlated with the relapse free survival (RFS) of the patients.

In this study, 175 patients with invasive ductal breast adenocarcinomas, non specified type (NST) were included. The follow-up period was approximately 15 years. The follow-up time ranged from 3 months to 191 months, the median follow-up period was 171 months and the mean follow-up period was 125 months. The immunohistochemical expression of Bcl2 and p53 oncoproteins was available in tumor tissue sections of 84 out of 175 patients with the same follow-up period.

The estimation of the apoptotic and mitotic indices was based on morphological characteristics in paraffin-embedded tissue sections that stained with hematoxylin and eosin and calculated as the mean number of apoptotic and mitotic cells, respectively, in 20 fields of high magnification ($\times 400$).

For the statistical analysis, the association of continuous variables was confirmed using the t-test and in case of categorical variables the χ^2 test was applied. The multivariate analysis of AI was performed using the statistical model of linear regression. RFS was estimated using the Kaplan-Meier method and the multivariate survival analysis was estimated by the Cox model.

In this study, a strong statistically significant positive correlation of the



apoptotic index (AI) with the mitotic index (MI) ($p < 0.001$), the tumor grade ($p < 0.001$) and the tumor size ($p < 0.001$) was observed. A statistically significant negative correlation of the apoptotic index (AI) with the hormone receptors status was also found ($p = 0.003$). No significant associations of the apoptotic index (AI) with the lymph node involvement, the disease stage, the patients' age and menopausal status were observed. Similarly, the mitotic index was correlated positively with tumor grade and size and negatively with hormone receptors status. There were no statistical correlations between the mitotic index and lymph node involvement, disease stage, patients' age and menopausal status.

In the present study, the apoptotic and mitotic indices were correlated positively with p53 protein expression ($p = 0.001$ and $p = 0.008$, respectively). An inverse statistically significant association between the apoptotic index and Bcl2 expression was observed ($p = 0.006$). No association was found between the mitotic index and Bcl2 protein expression ($p = 0.06$).

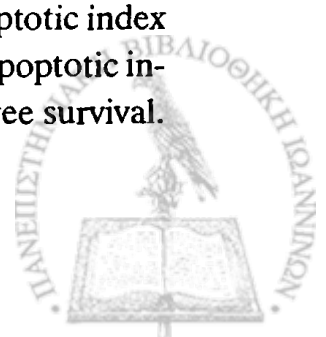
Women who presented relapses had higher tumor apoptotic and mitotic indices compared with those without relapses ($p = 0.001$ and $p = 0.059$, respectively). Moreover, women with relapses had tumors of large size ($p = 0.007$) and of high grade (Grade III) ($p = 0.02$). In addition, the majority of relapses were observed in patients with disease stage III_A.

The time to recurrence was shorter (≤ 60 months) for women with high apoptotic and mitotic indices as well as with large tumors ($p = 0.007$).

The relapse free survival was longer in patients with small size tumors ($p = 0.003$), absence of lymph node metastases (N0 vs N2: $p = 0.01$, N0 vs N1: $p = 0.055$), stage I (I vs IIB: $p = 0.01$, I vs IIIA: $p = 0.001$) and positive hormone receptors ($p = 0.04$). No significant correlations for the relapse free survival between premenopausal and postmenopausal women as well as between women with positive or negative immunohistochemical expression of Bcl2 and p53 oncoproteins were observed.

In this study, the patients with low tumor apoptotic index ($AI \leq 1.8$) had longer relapse free survival, therefore, this group of patients may be considered as a group of "good prognosis" compared to the group of patients with high tumor apoptotic index ($AI > 1.8$, $p < 0.005$) – the so called group of "high risk".

The multivariate analysis of the correlations among the apoptotic index and the studied clinicopathological parameters showed that the apoptotic index is a factor that provides important information for relapse free survival.



Therefore, it may be used, at least in the sample of patients of the present study, as a prognostic indicator in order to estimate the risk of recurrence in patients with ductal breast adenocarcinomas.

Major advantages of this study are the relatively large number of patients that was included and the long follow-up period. The demonstration of an independent value for the apoptotic index allows its use in the clinical practice and provides information for the prediction of survival of patients with breast cancer. In this case, the apoptotic index may serve as an independent prognostic factor by which the patients with breast cancer could be separated into groups of "high", "moderate" and "low" risk of recurrence.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kaprozilos A, Pavlidis N: The treatment of cancer in Greek antiquity. *European Journal of Cancer*. 2004; 40: 2033-40.
2. Ρηγάτος Γ, Μάλλιου Σ: Ο καρκίνος του μαστού στην αρχαιότητα και τους μέσους χρόνους. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ, Μανδρέκας Α, Μπαρμπούνης Β. Εκδ. Πασχαλίδης. Αθήνα 2007: 611-620.
3. Hagward OS: The history of Oncology. Early Oncology and the literature of discovery. *Surgery* 1965; 58: 460-468.
4. Μάλλιου Σ: Η Ιστορία της Μαστεκτομής. Διδακτορική διατριβή. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. 2005.
5. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, et al: The contribution of recent NSABP clinical trials of primary breast cancer therapy to an understanding of tumor biology. An overview of findings. *Cancer* 1980; 46: 1009-1025.
6. Sondik EJ: Breast cancer trends: Incidence, mortality and survival. *Cancer* 1994; 74: 995-9.
7. Hamilton NJ, Boyd JD, Mossman HW: *Human Embryology*. Helder Cambridge 1968: p. 428.
8. Rush FB: Breast Embryology. In *Principles of Surgery*. Schwartz IS, Shires TG, Spencer CF. 4th Edition. McGraw-Hill Book Co. Singapore 1987: p. 523.
9. Μεδίτσκου Σ: Βασικά στοιχεία ιστολογίας του μαστικού αδένου. *Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής* 2005; 19(1): 11-13.
10. Rush FB: Anatomy and Development. Breast. In *Principles of Surgery*. Schwartz IS, Shires TG, Spencer CF. 4th Edition. McGraw-Hill Book Co. Singapore 1987: 524-27.
11. St Sternberg: *Histology for Pathologists*. 1992: 893-902.
12. Σάββας Α: *Επίτομη Ανατομική του ανθρώπου*. Ε' Έκδοση. Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη. Θεσσαλονίκη 1996: 175-184.



13. Πινακίδης Μ, Μπούτης Λ: Ανατομία μαστού. Καρκίνος Μαστού. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 1993: 19-25.
14. Rosai J: Ackerman's Surgical Pathology. 7th Ed. Mosby. St Luis 1989: 1193-96.
15. Pallav Shah: Breast In Gray's Anatomy. Susan Standring. 39th Ed. Elsevier. International Edition 2005: 969-975.
16. Τζωρακοελευθεράκης Ε. Ανατομία του μαστού και της μασχάλης. Χειρουργικές Παθήσεις του Μαστού. Εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα 1992: 11-31.
17. Σάββας Α: Επίτομη Ανατομική του ανθρώπου. Ε' Έκδοση. Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη. Θεσσαλονίκη 1996: 204-206.
18. Minton JP: Physiology of the Breast. Cancer of the Breast Donegan W, Spratt J. 3rd Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia 1988: 34-45.
19. Τζανέλα Μ, Κουτσιλιέρης Μ: Φυσιολογία του Μαστού και της Γαλουχίας. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Α, Μανδρέκας Α, Μπαρμπούνης Β. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 2007: 45-54.
20. Rush JB: Pregnancy and Lactation. Menopausal Changes. Principles of Surgery. Schwart, Shires, Spencer. 4th Ed. McGraw-Hill Book Co. Singapore 1987: 526-527.
21. Perkin DM: The global burden of Cancer. Semin Cancer Biol 1998; 8: 219-35.
22. Perkin DM, Bray F, Ferday J, et al: Global Cancer Statistics 2002. CA Cancer J Clin 2005; 55: 74-108.
23. Parker SL, Tong T, Bolden S, et al: Cancer Statistics 1996. CA Cancer J Clin 1996; 46: 5-27.
24. Greenlee RT, Murray J, Bolden J, et al: Cancer Statistics. CA Cancer J Clin 2000; 50: 7-33.
25. Boyle P, Ferlay J: Cancer incidence and mortality in Europe 2004. Annals of Oncology 2005; 16: 481-8.
26. <http://caonline.amcancersoc.org/>
27. Ferlay J, Bray F, Parkin DM, et al: Globocan 2000. Cancer Incidence, mortality and Prevalence Worldwide, Version 1.0. IARC CanceBase No. 5. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2001.
28. Tominaga S: Cancer incidence in Japanese in Japan, Hawaii and Westerd United States. J. Natl Cancer Inst. 1985; 69: 83-92.
29. Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC, et al: Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. J Natl Cancer Inst 1993: 85: 1819-27.



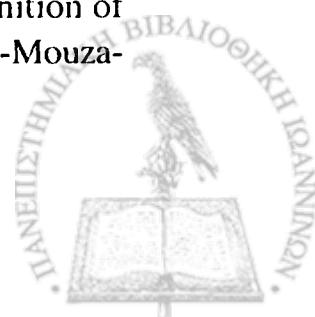
30. Στατιστικοί Πίνακες. Μάχη της Ελπίδας (Δημοσιογραφικό Όργανο της Ελλ. Αντικαρκινικής Εταιρείας) Δεκέμβριος 1981, σελ. 18.
31. Πινακίδης Μ, Μπούτης Λ: Επιδημιολογία. Καρκίνος Μαστού. Εκδ. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 1993: σελ. 32.
32. Parkin DM, Bray F, Devesa S: Cancer burden in the year 2000: the global picture. *Eur J Cancer* 2001; 37: 54-566.
33. Garfinkel L, Boring CC, Heath CW: Changing trends. An overview of breast cancer incidence and mortality. *Cancer* 1994; 74: 222-227.
34. Chu KC, Tarone RE, Kessler LG, et al: Recent trends in US. Breast incidence's survival and mortality rates.. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1571-79.
35. Πινακίδης Μ, Μπούτης Λ: Καρκίνος Μαστού. Εκδ. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 1993: σελ. 32-37.
36. Jensen OM, Estève J, Moller H, Renard H: Cancer in the European Community and its Member States. *Eur J Cancer* 1990; 26: 1167-1256.
37. Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD, et al: The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. *Cancer* 1996; 77: 2318-2324.
38. Hall JM, Lee MK, Morrow JK, et al: Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990; 250: 1684-1689.
39. Wooster R, et al: Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA 2, to chromosome 13q, 12-13. *Science* 1995; 265: 2088-2090.
40. Μιχαλάκη ΙΒ: Στοιχεία Γενετικής του Καρκίνου. Ογκολογική Ενημέρωση 2005; 7: 156-162.
41. Γούσια Α, Στεφάνου Δ, Αγνάντη Ν: Οριακές αλλοιώσεις του μαστού. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Α, Μανδρέκας Α, Μπαρμπούνης Β. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 2007: 529-539.
42. Αγνάντη Ν, Σφήκας Κ, Αποστολίκας Ν: Ιστολογικά χαρακτηριστικά της κυστικής νόσου του μαστού ενδεικτικά για την τοποθέτηση των ασθενών στην «ομάδα αυξημένου κινδύνου» (H.R.G.) *Νοσοκομειακά Χρονικά* 1982; 44: 316-320.
43. Page DL, Dupont WD, et al: Intraductal carcinoma of the breast: follow-up after biopsy only. *Cancer* 1982; 49: 751-758.
44. Webber W, Boyd N: A critique of the methodology of studies of benign breast disease and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 1986; 77: 397-404.
45. Kodlin D, Winger EE, Morgenstern NL, et al: Chronic mastopathy and breast cancer. A follow-up study. *Cancer* 1977; 39: 2603-7.



46. Page DL, Vander ZR, Rogers L7W: Relation between component parts of fibrocystic disease complex and breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61: 1055-63.
47. Boyd NF, Jensen HM, et al: Relationship between mammographic and histological risk factors for breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1170-9.
48. Spratt J, Donegan W, Greenbery R: *Epidemiology and Etiology. Cancer of the Breast*. 3rd Ed. W.B. Saunders Co 1988: p. 46-70.
49. Kvale G, Hensch I: Menstrual factor and breast cancer risk. *Cancer* 1988; 62: 1625-31.
50. MacMahon B: Reproduction and cancer of the breast. *Cancer* 1993; 71: 3185-88.
51. Trichopoulos D, MacMahon B, Cole P: The menopause and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 1972; 48: 605-13.
52. Henderson BE, Poivell D, Rosano I: An epidemiologic study of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1974; 53: 609-14.
53. Ursin G, Longnecker MP, et al: A meta-analysis of body mass index and risk of breast cancer. *Epidemiology* 1995; 6: 137-41.
54. Longnecker MP: Alcoholic beverage consumption in relation to risk of breast cancer. *Cancer Causes Control* 1994; 5: 73-82.
55. Ota RM, Jones LA, Jackson EL, et al: Non-protein-bound estradiol levels and distribution of estradiol in the sera of breast cancer patients. *Cancer* 1986; 57: 558-62.
56. Byers T, Graham S, Rzepka T, et al: Lactation and breast cancer. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 664-74.
57. Γεννατάς ΣΚ: Η αντιμετώπιση γυναικών με Αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης Καρκίνου του Μαστού. *Ογκολογική Ενημέρωση* 2005; 7: 163-4.
58. Αρκαδόπουλος Ν: «Προληπτική» Ογκολογική Χειρουργική σε Ασθενείς με Γενετική Επιβάρυνση. *Ογκολογική Ενημέρωση* 2005; 7: 165-6.
59. Wood CW, Muss BM, Solin JC: *Malignant Tumors of the Breast in Cancer. Principles and Practice of Oncology*. De Vita TV, Hellman S, Rosenberg AS. 7th Ed. Lippincott, Williams, Wilkins 2004: 1415-77.
60. Πινακίδης Μ, Μπούτης Λ: Κυτταροκινητική – Ρυθμοί ανάπτυξης του Καρκίνου του Μαστού. *Καρκίνος Μαστού*. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 1993: 72-79.
61. Τζωρακολευθεράκης Ε: Φυσική Ιστορία και Επέκταση του Καρκίνου του Μαστού. *Χειρουργικές παθήσεις του Μαστού*. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα 1992 σελ. 92-94.



62. Koscielny S, Tubiana M, Vellerson AJ: A simulation model at the natural history of human breast cancer. *Br J Cancer* 1985; 52: 513-24.
63. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, et al: The contribution of recent NSABP clinical trials of primary breast cancer therapy to an understanding of tumor biology. An overview of findings. *Cancer* 1980; 46: 1009-25.
64. Schwartz GF, Feig SA, Patchfsky AS: Significance and staying on non-palpable carcinomas of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1980; 46: 1009-25.
65. Henderson IC, Canellos GP: Cancer of the breast. The past decade. *N Engl J Med* 1980; 302: 17-30.
66. Tabar L, Duffy SW, Vitak B, et al: The natural history of breast carcinoma: what have we learned from screening? *Cancer* 1999; 86(3): 449-62.
67. Konciency S, Tubiana M, Lea MG, et al: Breast Cancer: Relationship between the size of the primary tumor and the probability of metastatic dissemination. *Br J Cancer* 1984; 49: 709-15.
68. Feldmand JG, Carter AC, Nicastrì AD, et al: Breast self examination, relationship to stage of breast cancer at diagnosis. *Cancer* 1981; 47: 2740-7.
69. U.I.C.C. Manual of Clinical Oncology. 5th Ed. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-New York 1990, p. 253-271.
70. Spratt J, Donegan W: "Diagnosis" in *Cancer of the Breast*. Ed. Saunders Co. Philadelphia 1988, p. 125-166.
71. Iglehart JD, Smith LB: Diseases of the Breast in *Sabiston Textbook of Surgery*. Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM. Ed. Saunders Elsevier Philadelphia 2004, p. 851-899.
72. The Yorkshire Breast Cancer Group: Symptoms and Signs of Operable breast cancer, 1976-1981. *Br J Surg* 1983; 70: 350-361.
73. McGinnis L: The importance of clinical breast examination. *Cancer* 1989; 64(12): 2657-60.
74. Moskowitz M: Breast Imaging in *Cancer of the Breast*. Spatt J, Donagen W. Ed. Saunders Co. Philadelphia 1988, p. 167-205.
75. Κωνσταντίνος Ι: Η διαγνωστική συμβολή της μαστογραφίας στις παθήσεις του μαστού. *Ιατρική* 1985; 47(1): 18-26.
76. Smart CR, Byrne C, Smith RA. Twenty-year follow-up of the breast cancers diagnosed during the Breast Cancer Detection Demonstration Project. *CA Cancer J Clin* 1997; 47: 134-149.
77. Coumot PA, Lesur A, Frouge Ch: Numericalisation and recognition of the forms of microcalcifications. In: *Semology*. Eds. L. Ioannidou-Mouza-



- ka, NJ. Agnantis, I. Karydas. Elsevier Science Publ Amsterdam 1992, p. 99-104.
78. Konfopoulos C, and Ioannidou-Mouzaka L: Microcalcifications in the breasts. In Senology Eds. L. Ioannidou-Mouzaka, NJ. Agnantis, I. Karydas. Elsevier Science Publ Amsterdam 1992, p. 99-104.
 79. Frouge G, Coumot PA, Lesur A, et al: Morphometrical analysis of breast microcalcifications after indirect nummerisation. In Senology Eds. L. Ioannidou-Mouzaka, NJ. Agnantis, I. Karydas. Elsevier Science Publ Amsterdam p. 65-68.
 80. <http://www.acr.org> (American College of Radiology)
 81. Crystal P, Strano S, Keen JD, et al: Digital and Film Mammography. NEJM 2006; 354: 765-767.
 82. Dershaw DD: Film or Digital Mammographic Screening? NEJM 2005; 353: 1846-47.
 83. Kolb TM, Lichy J, Newhouse JH: Comparison of the performance of screening mammography, physical examination and breast U/S and evaluation of factors that influence them: an analysis of 27,825 patient evaluations. Radiology 2002; 225(1): 165-175.
 84. Σβάρανα Ε, Lattanzio Ε: Ο Υπερηχοτομογραφικός Έλεγχος των Μαστών βασικό συμπλήρωμα της Μαστογραφίας. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ, Μανδρέκας Απόστολος, Μπαρμπούνης Β. Εκδ. Πασχαλίδης. Αθήνα 2007: 389-412.
 85. Τάτσης Χ: Υπερηχογραφική Απεικόνιση των Καλοήθων και Κακοήθων Όγκων του Μαστού. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ, Μανδρέκας Απόστολος, Μπαρμπούνης Β. Εκδ. Πασχαλίδης. Αθήνα 2007: 413-423.
 86. Fornage B, Faroux MJ, Simatos A: Breast masses US-guided fine needle aspiration biopsy. Radiology 1987; 162: 409-414.
 87. Homer KK, Smith TJ, Marchant DJ: Outpatient needle localization and biopsy for nonpalpable breast lesions. JAMA 1984; 252: 2452-54.
 88. Warner E, Plewes DB, Hill KA, et al: Surveillance of BRCA 1 and BRCA 2 mutation carriers with MRI, ultrasound, mammography and clinical breast examination. JAMA 2004; 292: 1317-1325.
 89. Kuhl CK: MR-imaging of breast tumors. Eur Radiol 2000; 10: 46-58.
 90. Pisano ED, Fajardo LL, Caundry PJ, et al: Fine-needle aspiration biopsy of non-palpable breast lesion in a multi-center clinical trial: results from the radiologic diagnostic oncology group V. Radiology 2001; 219(3): 785-92.



91. Ντουμιτρίου Κ, Γεωργούντζος Β: Η προσφορά των απεικονιστικών μεθόδων στην ανακάλυψη του μη ψηλαφητού καρκίνου του μαστού και η εντόπισή του. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ, Μανδρέκας Α, Μπαρμπούνης Β. Αθήνα 2007: 441-60.
92. Owings DN, Hann L, Schmitt SJ: How thoroughly should needle localization breast biopsy be samples for microscopic examination? *Am J Surg Pathol* 1990; 14: 578-583.
93. Rush FB: Breast Biopsy. In *Principles of Surgery*. Schwartz, Shires, Spencer. 4th Ed. McGraw-Hill Book Co. Singapore 1987, p. 537.
94. Tumours of the Breast and Female Genital Organs Pathology and Genetics. World Health Organization (W.H.O.). Classification of Tumors. Edited by F.A. Tavassoli & P. Deville. Lyon 2003, p. 37-41.
95. Παπαεμμανούλ Σ: Μυελοειδές καρκίνωμα του μαστού – Νευροενδοκρινικοί όγκοι. *Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής* 2006; 20(1): 13-18.
96. Κωστόπουλος Ι: Διθηθητικό θηλώδες και μικροθηλώδες καρκίνωμα του μαστού. *Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής* 2006; 20(1): 19-23.
97. Μηλιαράς Δ: Σωληνώδες και διθηθητικό ηθμοειδές καρκίνωμα του μαστού. *Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής* 2006; 20(1): 24-30.
98. Μαυροπούλου Σ: Μεταπλαστικό καρκίνωμα του μαστού. *Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής* 2006; 20(1): 31-36.
99. Γούσια Α, Στεφάνου Δ, Αγνάντη Ν: Οριακές αλλοιώσεις του μαστού. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ, κ.ά. Εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα 2007: 529-539.
100. Αγνάντη Ι.Ν: Καρκίνος του μαστού. *Ειδική Παθολογική Ανατομική. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. Ιωάννινα* 2003; 2: 22-49.
101. Παπαδόπουλος Σ: Ιστοπαθολογία διθηθητικού αδenoκαρκινώματος του μαστού. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ, Μανδρέκας Α, Μπαρμπούνης Β. Εκδ. Πασχαλίδης. Αθήνα 2007: σελ. 549-556.
102. Stuart JS, Rosemary R, Andrew MH, et al: "The Breast". In Sternberg's "Diagnostic Surgical Pathology". Vol. 1. 4th Ed. Lippincott W & W Philadelphia 2004.
103. Bears OH, Henson DE, Hutter RP, et al: Manual for Staging of Cancer. AJCC. Ed. Lippincott Co. Philadelphia 1988.
104. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al: AJCC Cancer Staging Manual 6th Ed Springer-Verlag New York 2002: 223.
105. Mitra L, McRac D: 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: 1574-83.



106. Αραπαντώνη-Δαδιώτη Π: Προγνωστικοί παράμετροι στον καρκίνο του μαστού. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ, Μανδρέκας Α, Μπαρμπούνης Β, Εκδόσεις Πασχαλίδης Αθήνα 2007: 557-567.
107. Perez-Mesa MC: Cross and Microscopic Pathology. Cancer of the Breast. Donegan W, Spratt J. Saunders Co. Philadelphia 1988: 206-248.
108. Πινακίδης Μ, Μπούτης Α: Ιστολογική εικόνα – Κλινικοί συσχετισμοί. Καρκίνος Μαστού. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 1993: 67-71.
109. Ries LA, Henson DG, Hattres A: Survival from breast cancer according to tumor size and nodal status. Surg Oncol Clin North Ann 1994; 3: 35-52.
110. Parham DM, Robertston AJ: Morphometric analysis of breast carcinoma: associated with survival. J Clin Pathol 1998; 41: 173-177.
111. Dressler LG, Seamer LC, Omets MA, et al: DNA flow cytometry and prognostic factors in 1331 frozen breast cancer specimens. Cancer 1988; 61: 420-427.
112. Quiet CA, Ferguson DJ, Hellman S, et al: Natural history of node-negative breast cancer. A study of 826 patients with long-term follow-up. J Clin Oncol 1995; 13: 1144-1151.
113. Carter CL, Allen C, Henson DE: Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24,740 breast cancer cases. The surveillance, epidemiology and result (SEER) - Program of the National Cancer Institute. Cancer 1989; 63: 181-187.
114. Verovesi V, Rilke F, Luimi A, et al: Distribution of axillary node metastases by level of invasion. An analysis of 539 cases. Cancer 1987; 59: 682-687.
115. Smith JA, Gamez-Araujo J, Callagher HJ, et al. Analysis of total lymph node involvement versus level of metastasis. Cancer 1977; 39: 527-532.
116. Fisher B, Bauer M, Wickerham L, et al: Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update. Cancer 1983; 52: 1551-1557.
117. Coldhirsch A, Glick H, Gelber D, et al: Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. Ann Oncol 2005; 10: 1-15.
118. El-Tamer M, Chun J, Gill M, et al. Incidence and clinical significance of lymph node metastasis detected by cytokeratin immunohistochemical staining in ductal carcinoma in situ. Ann Surg Oncol 2005; 12: 254-259.



119. Hermanek P, Hutter P, Sobin H, et al: Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer* 1999; 86: 2668-73.
120. Clemente CG, Boracchi P: Peritumoral lymphatic invasion in patients with node-negative mammary duct carcinoma. *Cancer* 1992; 69: 1396-1403.
121. Chia SK, Speers CH, Bryce CJ, et al: Ten years outcomes in a population-based cohort of node negative early breast cancer without adjuvant systemic therapies. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1630-1637.
122. Sommer S, Fuqua SA: Estrogen receptor and breast cancer. *Semin Cancer Biology* 2001; 11: 339-52.
123. Αγνάντη Ν, Μπατιστάτου Α, Γούσια Α: Μοριακή Παθολογική Ανατομική του Καρκίνου του Μαστού: Προγνωστικοί και προβλεπτικοί δείκτες. Υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ, Μανδρέκας Α, Μπαρμπουνής Β. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 2007; 1: 569-70.
124. Αραπαντώνη-Δαδιώτη Π: Προγνωστικοί Παράμετροι στον Καρκίνο του Μαστού. Σύγχρονη Μαστολογία. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 2007; 1: 557-67.
125. Agnantis NJ, Goussia AC: The impact of tumor marker in breast cancer prognosis from the pathologist's point of view. *Le Sein* 1998; 8: 228-232.
126. Layfield LS, Gupta D, Mooney EE: Assessment of tissues estrogen and progesterone receptor levels: a survey of current practice, techniques and quantitation methods. *Breast J* 2000; 6: 189-196.
127. Speirs V, Carder PJ, Lansdown MR: Oestrogen receptor beta: how should we measure this? *Br J Cancer* 2002; 87: 687-9.
128. Πινακίδης Μ, Μπούτης Λ: Ορμονικοί Υποδοχείς. Καρκίνος Μαστού. University Studio Press. Θεσσαλονίκη 1993: 80-90.
129. Agnantis NJ, Goussia AC, Stefanou D: Tumor markers. An update approach for their prognostic significance. Part I. *In Vivo* 2003; 17: 609-18.
130. Agnantis NJ, Goussia AC, Batistatou A, et al: Tumor markers. An update approach for their prognostic significance. Part II. *In Vivo* 2004; 18: 481-88.
131. Barns NL, Boland GP, Daveport A, et al: Relationship between hormone receptor status and tumor size, grade and comedo necrosis in ductal carcinoma in situ. *Br J Surg* 2005; 92: 429-34.



132. Stefanou D, Batistatou A, Briasoulis E, et al: Estrogen reseptor beta (ERbeta) expression in breast carcinomas in not correlated with estrogen receptor alpha (ERalpha) and prognosis: the Greek experiance. *Eur J Gynecol Oncol* 2004; 25(4): 457-461.
133. Αγνάντη Ν, Μπατιστάτου Α, Γούσια Α: Μοριακή Παθολογική Ανατομική του Καρκίνου του Μαστού: Προγνωστικοί και προβλεπτικοί δείκτες. Το γονίδιο HER-2/neu (c-erb-B2). Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Α, Μανδρέκας Α, Μπαρμπούνης Β. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 2007; 1: 572-74.
134. Goussia A, Agnantis NJ, Athanassiadou S, et al: Prognostic significance of c-erb-B2 and hormone receptors' status in human benign and malignant breast lessions. *Anticancer Res* 1995; 15: 2313-2318.
135. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al: Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-182.
136. Osborne S, Wilson P, Tripathy D: Oncogenes and tumor suppressor genes in breast cancer: Potential diagnostic and therapeutic applications. *The Oncologist* 2004; 9: 361-377.
137. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al: Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and overian cancer. *Science* 1989; 244: 707-12.
138. Bai M, Demou AA, Soufi MT, et al: Detection of numerical abnormalities of chromosome 17 and c-erbB-2 amplification in benign, borderline and malignant epithelial breast lesions by dual color fluorescence in situ hybridization. In: *Where we sud with Breast Cancer Research*. NJ Agnantis and DD Tsiftsis Editors 1999.
139. Mezzalani A, Alasio L, Bartoli C, et al: C-erb-2/neu gene and chromosome 17 analysis in breast cance by FISH and archival cytological Rine needle aspirates. *Br J Cancer* 1999; 80: 519-525.
140. Lewis F, Jackson P, Lane S, et al: Testing for HER2 in breast cancer. *Histopathology* 2004; 45: 207-217.
141. Νακοπούλου Α: Προγνωστική/προβλεπτική σημασία της μεταλλαγμένης p53 πρωτεΐνης στο διηθητικό καρκίνο του μαστού. *Ιατρική* 1997; 72: 244-45.
142. Αγνάντη Ν, Μπατιστάτου Α, Γούσια Α: Μοριακή Παθολογική Ανατομική του Καρκίνου του Μαστού: Προγνωστικοί και προβλεπτικοί δείκτες. Το γονίδιο p53. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Α, κ.ά. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 2007; 1: 574-75.



143. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, et al: p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
144. Agnantis NJ, Goussia AC, Zagorianakou P, Bai M: Alterations of the cell cycle regulating proteins in invasive breast cancer. In *Immunohistochemistry and in situ hybridization of human carcinoma*. Vol I. Ed. Hayat Elsevier Academic Press USA 2004: 425-438.
145. Boise L, Gonzalez-Garcia M, Postema C: Bcl-x, Bcl-2 related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell-death. *Cell* 1993; 74: 597-608.
146. Bozzetti C, Nizzoli R, Naldi N, et al: Bcl-2 expression on fine needle aspirates from primary breast carcinoma: correlation with other biologic factors. *Cancer* 1999; 87(4): 224-230.
147. Hellemans P, Van Dam P, Weyler J, et al: Prognostic value of bcl-2 expression in invasive breast. *Br J Cancer* 1995; 72: 354-360.
148. Σανιδάς ΗΕ, Τσιφτσής ΔΔ: Μοριακοί προγνωστικοί δείκτες στον καρκίνο του μαστού. *Ελλην. Ογκολογία* 1995; 31: 209-216.
149. Van Diest P, Van der Wall E, Baak J: Prognostic value of proliferation in invasive breast cancer: a review. *J Clin Pathol* 2004; 57: 675-681.
150. Nass D, Dickson R: Defining a role for c-myc in breast tumorigenesis. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 44: 1-22.
151. Clair T, Miller W, Cho-Chung Y. Prognostic significance of the expression of c-ras protein with a molecular weight of 2.100 by human breast cancer. *Cancer Res* 1987; 47: 5290-93.
152. Αθανασιάδου Π: Η θέση της FNA στους βιολογικούς παράγοντες του καρκίνου του μαστού. p27 και SKp2. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ. κ.ά. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 2007; 1: 501-502.
153. Gion M, Mione R, Pappagalo GL, et al: p52 in breast cancer – alternative or complementary tool to steroid receptor status? *Br J Cancer* 1993; 68: 374-379.
154. Tetu D, Brisson J, Cote C, et al: Prognostic significance of cathepsin D expression in node-positive breast carcinoma: An immunohistochemical study. *Int J Cancer* 1993; 55: 429-435.
155. Τσομπανίδου Χ: Μοριακή ταξινόμηση των καρκινωμάτων του μαστού. *Αρχείο Παθολογικής Ανατομικής* 2007; 21(8): 11-18.
156. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al: Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747-752.
157. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al: Expression at luminal



- and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004; 203: 661-671.
158. Hicks DG, Short SM, Prescott et al: Breast cancers with brain metastases are more likely to be estrogen reseptor negative, express the basal cytokeratin CK5/6 and overexpress HER2 or EGFR. *Am J Surg Pathol* 2006; 30(9): 1097-1104.
 159. Palacios J, Honrado A, Osorio et al: Phenotypic characterization at BRCA1 and BRCA2 tumors based in a tissuee microarray study with 37 immunohistochemical markers. *Breast Cancer Res* 2005; 90: 5-14.
 160. Πινακίδης Μ, Μπούτης Λ: Χειρουργική θεραπεία του καρκίνου του μαστού. *Καρκίνος μαστού*. University Studio Press, Θεσσαλονίκη 1993: 107-125.
 161. Maddox WA, Carpenter JT, Laws HT, et al: Does radical mastectomy still have a place in the treatment of primary operable breast cancer? *Arch Surg* 1987; 122: 1317-1320.
 162. Donegan LW, Spratt SJ: Surgical Management. In *Cancer of the Breast 3rd Edition*. W.B. Saunders Co. Philadelphia 1988: 403-461.
 163. Turner L, Swindell R, Bell WGT, et al: Radical vs modified radical mastectomy for breast cancer. *Ann R Coll Surg Engl* 1981; 63: 239-243.
 164. Maddox WA, Carpenter JT, Laws HL, et al: A randomised prospective trial of radical (Halsted) mastectomy versus modified radical mastectomy in 311 breast cancer patient. *Ann Surg* 1983; 198(2): 207-212.
 165. Nemoto T, Vana J, Bedwani RN, et al: Management and survival at female breast cancer: results of a national survey by the American College of Surgeons *Cancer* 1980; 45(12): 2917-2924.
 166. Τζωρακοελευθεράκης Ε: Υποδόρια Μαστεκτομή – Απλή Μαστεκτομή. *Χειρουργικές παθήσεις του μαστού*. Εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα 1992: 144-148.
 167. Fisher B, Redmont C, Poison R, et al: Eight-years results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and lympectomy with or not irradiation in the treatment at breast cancer. *N Engl J Med* 1989; 326(13): 822-828.
 168. Van Dongen J: Breast conserving therapy in operable breast cancer. *ESO Seminar on Conservative treatment in breast cancer*. Venice July 11-13th, 1989.
 169. The Upsala - Orebo. Breast Cancer Study Group: Sector resection with or without postoperative radiotherapy for stage I breast cancer: a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82(4): 277-82.



170. Stewart HJ, Forest PA. Conservation therapy of breast cancer. *Lancet* 1989; 2: 168-169.
171. Wilson JF, Cox DJ: Definitive, Adjuvant and Palliative Radiation Therapy for mammary cancer. In cancer of the Breast. Donegan LW, Spratt SJ. 3rd Edition. Philadelphia 1988: 462-474.
172. Rodger A, Montague E, Fletcher G: Preoperative or postoperative irradiation as adjuvant treatment with radical mastectomy in breast cancer. *Cancer* 1983; 51: 1388-1392.
173. Montague E, Fletcher G: Local regional effectiveness of surgery and radiation in the treatment in breast cancer. *Cancer* 1985; 55: 2266.
174. Βακάλης Ξ: Ο ρόλος της ακτινοθεραπείας στη συντηρητική χειρουργική αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού. Σύγχρονη Μαστολογία. Ιωαννίδου-Μουζάκα Α, κ.ά. Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 2007: 801-810.
175. Harris JR, Hellmann S: The role of radiation therapy in the management of locally advanced carcinoma of the breast. *Cancer* 1984; 53: 758-761.
176. Τζωρακοελευθεράκης Ε: Ακτινοθεραπεία. Χειρουργικές παθήσεις του μαστού. Εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα 1992: 172-177.
177. Πινακίδης Μ, Μπούτης Λ: Ακτινοθεραπεία. Καρκίνος μαστού. University Studio Press, Θεσσαλονίκη 1993: 138-141.
178. Μπάμιας Α, Δημόπουλος ΑΜ, Γεωργούλιας Β: Θεραπευτικές κατευθύνσεις στον καρκίνο μαστού. Εισαγωγή στην Κλινική Ογκολογία. Διαπανεπιστημιακή Ομάδα Παθολόγων Ογκολόγων Ελλάδας. Αθήνα 2004: 108-111.
179. Fisher B, Jeong JH, Anderson S, et al: Treatment of axillary lymph node-negative, estrogen receptor-negative breast cancer: updated finding from National Surgical Adjuvant and Bowel Project clinical trials. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1823-31.
180. Fisher B, Jeond JH, Bryant J, et al: Treatment of lymph node-negative, estrogen reseptor-positive breast cancer: long-term findings from National Surgical Adjuvant and Bowel Project randomised clinical trials. *Lancet* 2004; 364: 858-68.
181. Levine MN, Braunwell VH, Prichard KI, et al: Randomized trial of intensive cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil chemotherapy compared with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in premenopausal women with node-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2651-8.



182. Hutchins LF, Green SJ, Ravdin PM, et al: Randomized, controlled trial of cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil versus cyclophosphamide, doxorubicin, fluorouracil with and without tamoxifen for high risk, node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 8313-21.
183. Henderson IC, Berry DA, Demetri GD, et al: Improved outcomes from adding sequential Paclitaxel but not from escalation Doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients from node-positive primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 976-83.
184. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* 1998; 351: 1451-67.
185. Kaufmann M, Jonot W, Blamey R, et al: Gojeralin (Zoladex) versus CMF in premenopausal women with node-positive breast cancer. *Eur J Cancer* 2003; 39: 1711-7.
186. Πινακίδης Μ, Μπούτης Λ: Προεγχειρητική (Neoadjuvant) χημειοθεραπεία. Καρκίνος Μαστού. Εκδόσεις University Studio Press. Θεσσαλονίκη 1983: 188-193.
187. Κοσμίδης Π. Θεραπεία του τοπικά προχωρημένου καρκίνου του μαστού. Σύγχρονη Μαστολογία Ιωαννίδου-Μουζάκα Λ κ.ά. Εκδόσεις Πασχάλιδη Αθήνα 2007: 929-939.
188. Κλούβας ΔΓ. Ο θεραπευτικός ρόλος του Herceptin σε κακοήγη νεοπλασμάτα. Καρκινικοί δείκτες. Αγνάντη ΙΝ, Νασιούλας ΑΓ, 2000: 64-65.
189. Retsky MW, Wardwell RH, Swartzendruber, et al: Is Compertzian or exponential kinetics a valid description of individual human cancer growth? *Med Hypothesis* 1990; 33: 95-106.
190. Retsky MW, Swartzendruber, Wardwell RH, et al: Prospective computerized simulation with nine sets of biological and clinical data. *Cancer Res* 1987; 47: 4989-87.
191. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, et al: Apoptosis: definition, mechanisms and relevance to disease. *Am J Med* 1999; 107: 489-506.
192. Williams GT, Smith CA, McCarthy NJ, et al: Apoptosis: final control point in cell biology. *Trends in Cell Biology* 1992; 2: 263-267.
193. Γούσια Α, Αγνάντη Ν: Απόπτωση και βιολογικοί δείκτες καρκίνου. Καρκινικοί Δείκτες. Ν Αγνάντη, Σ. Κοτταρίδης, Εκδ. Σύνεδρου Αθήνα 1998; 176-180.



194. Glucksmann A: Cell death normal vertebrate ontogeny. *Biol Rev* 1951; 26: 86.
195. Saunders JW: Death in embryonic systems. *Science* 1966; 154: 604-612.
196. Kerr JFR: A histochemical study of hypertrophy and ischaemic injury of rat liver with special reference to changes in lysosomes. *J Pathol Bacteriol* 1965; 90: 419-425.
197. Kerr JFR: Shrinkage necrosis: a distinct mode of cellular death. *J Pathol* 1971; 105: 13-20.
198. Kerr JFR, Searke J: A suggested explanation for the paradoxically slow growth rate basal cell carcinomas that contain numerous mitotic figures. *J Pathol* 1972; 107: 41-44.
199. Schwartzman AR, Cidlowski AJ: Apoptosis: The Biochemistry and Molecular Biology of Programmed Cell Death. *Endoc Rev* 1993; 14(2): 133-15.
200. Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR: Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68: 251-306.
201. Wyllie AH: Glucocorticoid - induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980; 284: 555-556.
202. Stratford M, Deng J, Deng X: Apoptosis In Principles of Molecular Medicine. Range SM, Petterson C, Humana Press New Jersey 2004: 709-719.
203. Krajewska M, Krajewski S, Epstein JI, et al: Immunohistochemical analysis of Bcl-2, Bax, Bcl-x and mcl-1 expression in prostate cancers. *Am J Pathol* 1996; 148: 1567-1576.
204. Reed JC: Bcl-2 and the regulation of Programmed Cell Death. *J Cell Biol* 1994; 124: 1-6.
205. McConkey DJ, Orrenius S, Jondal M: Cellular signaling in programmed cell death (Apoptosis). *Immunol Today* 1990; 11: 120-121.
206. Ashkenazi A, Dixit MV: Death Receptors: Signaling and Modulation. *Science* 1998; 281: 1305-1308.
207. Thornberry AN, Lazabnik Y: Enemies within science 1998; 281: 1312-1316.
208. Green DR, Reed CJ: Mitochondria and Apoptosis. *Science* 1998; 281: 1309-1312.
209. Adams JM, Cory S: The Bcl-2 protein family: Arbiters of Cell Survival *Science* 1998; 281: 1322-1325.
210. Boise L, Gonzalez-Garcia M, Postema C: Bcl-x, a bcl-2-related gene



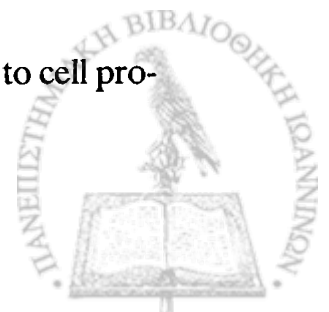
- that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 1993; 74: 597-608.
211. Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ: Bcl-2 heterodimers in vivo with a conserved homolog, bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993; 74: 609-619.
 212. Hockenbery DM, Oltvai ZN, Yin XM, et al: Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell* 1993; 75: 241-251.
 213. Bowen DI, Bowen MS, Jones HA: Cytokines, signalling and cell death. In *Mitosis and Apoptosis*. Ed. Chapman and Hall 1998; 100-133.
 214. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, et al: Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1995; 270: 1189-1192.
 215. Τηνιακού Ντ, Anderson JJ, Horne GM, κá. Έκφραση ογκοκατασταλτικών γονιδίων στον καρκίνο του μαστού. *Ιατρική* 1997; 72: 279-284.
 216. Fisher DH: Apoptosis in cancer therapy. Crossing the threshold. *Cell* 1994; 78: 539-542.
 217. Kerr JFR, Winterford CM, Harmon BV: Apoptosis: Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 1994; 73: 2013-2026.
 218. Marx J: Cell death studies yield cancer clues. *Science* 1993; 259: 760-1.
 219. Wyllie AH: The biology of cell death in tumors. *Anticancer Res* 1985; 5: 131-6.
 220. Kerr JFR, Winterford CM, Harmon BV: Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 1994; 73: 2013-26.
 221. Lipponen P, Aaltoma S, Kosma VM, Syrjanen K: Apoptosis in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. *Eur J Cancer* 1994; 30A: 2068-73.
 222. Γραικού AN, Πατακιούτα Φ, Τσουκαλάς Θ. και συν: Συσχέτιση του αποπτωτικού και μιτωτικού δείκτη με την πορεία της νόσου σε ασθενείς με διηθητικό πορογενές καρκίνωμα του μαστού. *Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής* 1995; 9: 152-7.
 223. Berardo DM, Elledge MR, Moor de C, et al: Bcl-2 and Apoptosis in Lymph Node Positive Breast Carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1296-1302.
 224. Zhang G, Kimijima I, Abe R, et al: Apoptotic index correlates to bcl-2 and p53 protein expression, histological grade and prognosis in invasive breast cancers. *Anticancer Res* 1998; 18: 1989-98.
 225. Rochaix P, Krajewski S, Reed JC, et al: In vivo patterns of bcl-2 family protein expression in breast carcinomas in relation to apoptosis. *J Pathol* 1999; 187: 410-5.



226. Lipponen P, Pietlainen T, Kosma VM, et al: Apoptosis suppressing protein bcl-2 is expressed in well-differentiated breast carcinomas with favourable prognosis. *J Pathol* 1995; 177: 49-55.
227. Frankfurt OS, Robb GA, Sugarbaker EV, Villa L: Apoptosis in breast carcinomas detected with monoclonal antibody to single-stranded DNA: relation to bcl-2 expression, hormone receptors and lymph node metastases. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 465-71.
228. Schöndorf T, Göhring UJ, Becker M, et al: High apoptotic index correlates to p21 and p27 expression indicating a favorable outcome of primary breast cancer patient, but lacking prognostic significance in multivariate analysis. *Pathology* 2004; 71(4): 217-22.
229. Nishimura R, Nagao K, Miyayama H, et al: Apoptosis in breast cancer and its relationship to clinicopathological characteristics and prognosis. *J Surg Oncol* 1999; 71: 226-34.
230. Lipponen P: Apoptosis in breast cancer: relationship with other pathological parameter. *Endocrine-Related Cancer* 1999; 6: 13-16.
231. Magjo G, Joris I: Apoptosis, oncosis and necrosis: An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-15.
232. Joshi K, Smith JA, Perusinghe N, et al: Cell proliferation in the human mammary epithelium. Differential contribution by epithelial and myoepithelial cells. *Am J Pathol* 1986; 124: 199-206.
233. Allan DJ, Howell A, Roberts SA, et al: Reduction in apoptosis relative to mitosis in histological normal epithelium accompanies fibrocystic change and carcinoma of the premenopausal human breast. *J Pathol* 1992; 167: 25-32.
234. Kozłowska E, Smolarz B, Kulig A, et al: Frequency analysis of apoptosis in sporadic breast cancer. *Pol J Pathol* 2006; 57(4): 199-204.
235. Gonzalez-Campora R, Galera Ruiz MR, Vazquez Ramirez F, Rios Martin JJ, Fernandez Santos JM, Ramos Martos MM, et al: Apoptosis in breast carcinoma. *Pathol Res Pract* 2000; 196: 167-74.
236. Wyllie AH. Apoptosis. *Br J Cancer* 1993; 67: 205-208.
237. Gee JMV, Robertson JFR, Ellis JO, et al: Immunohistochemical localization of bcl-2 protein in human breast cancers and its relationship to a series of prognostic markers and response to endocrine therapy. *Int J Cancer* 1994; 59: 619-28.
238. Joensuu H, Pylkkanen L, Toikkanen S: Bcl-2 protein expression and long term survival in breast cancer. *Am J Pathol* 1994; 145: 1191-8.



239. 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: 499-504.
240. Gasparini G, Barbareschi M, Doglioni C, et al: Expression of bcl-2 protein predicts efficacy of adjuvant treatments in operable node-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 1995; 1: 189-98.
241. Lee W, Jin Y, Tzeng C: Reciprocal expression of bcl-2 and p53 in breast ductal carcinoma. *Anticancer Res* 1996; 16: 3007-12.
242. Kobayashi S, Iwase H, Ito Y, et al: Clinical significance of bcl-2 gene expression in human breast cancer tissues. *Breast Cancer Res Treat* 42: 183-81, 1997.
243. Jansen RLH, Joosten-Achjanie SR, Volovics A, et al: Relevance of the expression of bcl-2 in combination with p53 as a prognostic factor in breast cancer. *Anticancer Res* 1998; 18: 4455-62.
244. Le MG, Mathieu MC, Douc-Racy S, et al: c-myc, p53 and bcl-2, apoptosis-related genes in infiltrating breast carcinomas: evidence of a link between bcl-2 protein over-expression and a lower risk of metastases and death in operable patients. *Int J Cancer (Pred Oncol)*: 1999; 84:562-7.
245. Barbareschi M, Leonardi E, Mauri F, et al: P53 and c-erb-2 expression in breast carcinomas. An immunohistochemical study including correlations with receptor status, proliferation markers and clinical stage in human breast cancers. *Am J Clin Pathol* 1992; 98: 108-18.
246. Allred DC, Clark GM, Elledge R, et al: Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 200-6.
247. Bhargava V, Thor A, Deng G, et al: The association of p53 immunopositivity with tumor proliferation and other prognostic indicators in breast cancer. *Modern Pathol* 1994; 7: 631-8.
248. Manders P, Bult P, Sweep CGJ, et al: The prognostic value of the mitotic activity index in patients with primary breast cancer who were not treated with adjuvant systemic therapy. *Breast Cancer Research and Treatment* 2003; 77: 77-84.
249. Baak J, Diest van PJ, Voohorst F, et al: Prospective multicenter validation of the independent prognostic value of the mitotic activity index in lymph node-negative breast cancer patients younger than 55 years. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5993-6001.
250. Zheng WQ, Zhan RZ: Quantitative comparison of apoptosis to cell pro-



- liferation and p53 protein in breast carcinomas. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology* 1998; 20: 1-6.
251. van Slooten H-J, van der Vijver MJ, van der Velde CJH, van Dierendonck JH: Loss of bcl-2 in invasive breast cancer is associated with high rates of cell death, but also with increased proliferative activity. *British Journal of Cancer* 1998; 77: 789-796.
252. Γραικού Α, Τσουκαλάς Θ, Τόλιου Θ, κά. Συσχέτιση του αποπτωτικού δείκτη και των ογκοπρωτεϊνών Bcl2 και p53 με την πορεία της νόσου σε ασθενείς με διηθητικό καρκίνωμα των πόρων του μαστού. *Καρκινικοί δείκτες 2000* Ν.Ι. Αγκάντη, Γ.Α. Νάσιουλας. Εκδ. Σύνοδρον Αθήνα 2000; 55-60.
253. De Jong JS, van Diest PJ, Baak JPA. Number of apoptotic cells as a prognostic marker in invasive breast cancer. *Br J Cancer* 2000; 82: 368-373.
254. Ομήρου Ιλιάς Ζ' 147.

