



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟΝ  
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΚΑΙ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ  
ΚΑΙ ΩΘΗΚΗΣ**

**Ζιώγας Δημοσθένης  
Χειρουργός**

**Δ Ι Δ Α Κ Τ Ο Ρ Ι Κ Η Δ Ι Α Τ Ρ Ι Β Η**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011**









**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟΝ  
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΚΑΙ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ  
ΚΑΙ ΩΘΗΚΗΣ**

**Ζιώγας Δημοσθένης  
Χειρουργός**

**Δ Ι Δ Α Κ Τ Ο Ρ Ι Κ Η Δ Ι Α Τ Ρ Ι Β Η**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011**



Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος).





**Ημερομηνία αίτησης του κ. Ζιώγα Δημοσθένη : 15-11-2004**

**Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 539<sup>α</sup>/23-11-2004**

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπων

Καππός Άγγελος Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Ρούκος Δημήτριος Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής με ιδιαίτερη έμφαση στην ερευνητική πειραματική Χειρουργική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπάτσης Χαράλαμπος Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Ημερομηνία ορισμού θέματος: 6-12- 2004**

*«Γενετικός έλεγχος και βιοδείκτες στον Οικογενειακό και κληρονομικό καρκίνο μαστού ωοθήκης»*

**Ημερομηνία 1<sup>ης</sup> ανασυγκρότησης της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 567<sup>α</sup>/29-11-2005**

Επιβλέπων

Καππός Άγγελος Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Ρούκος Δημήτριος Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής με ιδιαίτερη έμφαση στην ερευνητική πειραματική Χειρουργική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπατιστάτου Άννα Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Ημερομηνία 2<sup>ης</sup> ανασυγκρότησης της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 687<sup>α</sup>/8-6-2010**

Επιβλέπων

Ρούκος Δημήτριος Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής με ιδιαίτερη έμφαση στην ερευνητική πειραματική Χειρουργική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Μπάτσης Χαράλαμπος Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπατιστάτου Άννα Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 711<sup>α</sup>/3-5-2001**

Γεωργίου Ιωάννης

Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής και

Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής -



**Καππός Άγγελος**

Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου  
Ιωαννίνων

**Μπαλτογιάννης Γεώργιος**

ομότιμος Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής  
Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Κάτσιος Χρήστος**

Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής  
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Μπατιστάτου Άννα**

Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής  
Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Ρούκος Δημήτριος**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής  
Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου  
Ιωαννίνων

**Μπάτσης Χαράλαμπος**

Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής με  
ιδιαίτερη έμφαση στην πειραματική χειρουργική  
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρικής  
Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 10-5-2011

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

**Ιωάννης Γουδέβενος**

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας

**Η Γραμματέας της Σχολής**



**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ -ΖΩΗ**



*Αφιερώνω το παρόν εκπόνημα στην οικογενειά μου,  
στη συζυγό μου, Μαρία,  
στα παιδιά μου, Ηλία, Εμμανουήλ, Αλέξιο,  
που μου συμπαραστάθηκαν και υπέμεναν  
το δύσκολο αυτό έργο.*

*Στους γονείς μου,  
Ηλία και Αγγελική  
που με δημιούργησαν.*



*Ως ελάχιστο φόρο τιμής,  
αφιερώνω την διατριβή μου  
στον επιβλέποντά μου  
κ. Δημήτριο Φούκο  
που με καθοδήγησε στο επίτιμο αυτό έργο,  
καθώς και στους υπόλοιπους Καθηγητές  
της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής.*





## Πίνακας περιεχομένων

Πίνακας περιεχομένων.....	1
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>3</b>
Εισαγωγή.....	3
Ταξινόμηση κινδύνου.....	3
Εξατομίκευση – γονιδίωμα καρκίνου.....	3
Εθνική & γεωγραφική κατανομή μεταλλάξεων.....	3
Γονίδια και κληρονομούμενες μεταλλάξεις χαμηλού κινδύνου.....	4
<b>ΝΕΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΝΕΑ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ.....</b>	<b>4</b>
Καρκίνος μαστού σε γυναίκες με <i>BRCA1</i> μεταλλάξεις.....	4
Πρώτη πλήρης ανάλυση γονιδιώματος σε «basal-like» καρκίνο μαστού.....	5
<i>BRCA2</i> μεταλλάξεις και καρκίνος μαστού.....	5
Γονιδιακή υπογραφή και πολυγονιδιακό προφίλ όγκου.....	5
Σκοπός της διατριβής.....	5
<b>ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΑΠΟΦΑΣΕΙΣ.....</b>	<b>5</b>
Ποιες γυναίκες πρέπει να εξετάζονται σε ειδικά ιατρεία.....	6
<b>ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ.....</b>	<b>7</b>
Τοπικο-περιοχικός έλεγχος και ολική επιβίωση.....	7
Προεγχειρητική ταξινόμηση κινδύνου.....	8
Παράγοντες κινδύνου τοπικής υποτροπής και ετερόπλευρου καρκίνου μαστού.....	9
<b>ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ.....</b>	<b>9</b>
Προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή (PBM).....	10
Προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή (PBSO).....	10
<b>ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΠΡΑΚΤΙΚΗ.....</b>	<b>11</b>
Σποραδικός & οικογενειακός <i>BRCA</i> -αρνητικός καρκίνος μαστού.....	11
Κληρονομικός, <i>BRCA+</i> καρκίνος του μαστού.....	12
Χρονική στιγμή διενέργειας <i>BRCA</i> test.....	12
Επιλογή προληπτικής παρέμβασης.....	13
Επιλογή του βέλτιστου χρόνου για χειρουργική επέμβαση.....	15
Αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνο μαστού και <i>BRCA</i> μεταλλάξεις.....	16
Επικουρική ακτινοθεραπεία.....	16
Συστηματική συμπληρωματική θεραπεία.....	17
Μη-χειρουργικές προληπτικές επιλογές.....	17
Παρακολούθηση.....	17
Φαρμακολογική χημειοπροφύλαξη.....	18
Διαμορφωτές εκλεκτικών οιστρογονικών υποδοχέων.....	18
Αναστολείς της Αρωματάσης.....	19
Ορμονικά αντισυλληπτικά.....	19
Θεραπεία υποκατάστασης ορμονών μετά από προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή.....	19
Μακροπρόθεσμες συνέπειες της προφυλακτικής αμφοτερόπλευρης σαλπγγο-ωθηκεκτομής.....	19
Στοχευμένη θεραπεία: Έχει επιπτώσεις στον τοπικό έλεγχο;.....	20
Κίνδυνοι καρκίνου σε άλλες εντοπίσεις.....	21
Νέες θεραπευτικές έννοιες (PARP1).....	21
<b>ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΝΕΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ.....</b>	<b>21</b>
<b>ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....</b>	<b>23</b>
<b>ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ ΟΛΟΚΛΗΡΟΥ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ.....</b>	<b>25</b>
Περιορισμοί & προκλήσεις.....	25

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΓΙΑ ΠΡΟΣΩΠΙΚΗ ΓΕΝΟΜΙΚΗ: ΠΡΟΣΔΟΚΙΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ.....	27
Γενετικές παραλλαγές στην καρκινογένεση του μαστού και στην τοπική υποτροπή.....	28
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>29</b>
Εισαγωγή.....	29
Ki-67.....	30
TOP Πα.....	30
TP53.....	31
HER2.....	31
Ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό και αρνητική εξέταση για <i>BRCA1/BRCA2</i> .....	31
Παρακολούθηση.....	32
Μέθοδοι.....	32
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ &amp; ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....</b>	<b>33</b>
Γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό και πλήρη γενετικό έλεγχο για μεταλλάξεις <i>BRCA1/2</i> .....	33
Στοχευμένος γενετικός έλεγχος.....	34
Στοχευμένη ανίχνευση μεταλλάξεων στα γονίδια <i>BRCA1 &amp; BRCA2</i> .....	34
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΜΑΣΤΟΥ – ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ.....</b>	<b>35</b>
Γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό χωρίς διενέργεια γενετικού ελέγχου για μεταλλάξεις <i>BRCA1/2</i> .....	35
Στατιστική ανάλυση.....	37
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>37</b>
Κλινικά και παθολογο-ανατομικά χαρακτηριστικά ασθενών.....	37
HER2 ανοσοϊστοχημεία και φθορισμός <i>in situ</i> υβριδοποίησης.....	38
Τοποϊσομεράση Πα.....	39
Ki 67.....	40
TP53.....	42
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>43</b>
Ανοσοϊστοχημεία και βιοδείκτες.....	43
Γενετικός έλεγχος.....	45
Γενετικός έλεγχος και χειρουργική αντιμετώπιση.....	45
Αρνητικό <i>BRCA</i> test.....	45
Έκταση χειρουργικής σε ασθενείς με καρκίνο μαστού.....	46
Πρότυπο πρόγραμμα παρακολούθησης.....	46
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>47</b>
Ανοσοϊστοχημεία και βιοδείκτες.....	47
Γενετικός έλεγχος.....	47
Περίληψη.....	51
Summary.....	51
Βιβλιογραφία.....	53

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καρκίνος του μαστού είναι ο πιο συχνός καρκίνος μεταξύ των γυναικών παγκοσμίως. Σε περισσότερες από 1,35 εκατομμύρια γυναίκες παγκοσμίως γίνεται μια νέα διάγνωση καρκίνου μαστού κάθε έτος [1]. Στις ΗΠΑ υπολογίζεται ότι το 2010, 207.090 γυναίκες προσβάλλονται από διηθητικό και 54.010 γυναίκες από *in situ* καρκίνου μαστού [2]. Στην Ελλάδα, αν και δεν μπορεί να γίνει ακριβής εκτίμηση λόγω έλλειψης βάσης δεδομένων και αρχειοθέτησης, κατά προσέγγιση υπολογίζεται ότι περίπου 4000-6000 γυναίκες προσβάλλονται ετησίως από καρκίνο του μαστού, εκ των οποίων περίπου 200-600 προσβάλλονται από το σύνδρομο του ΚΚΜΩ.

### Ταξινόμηση κινδύνου

Ο διαχρονικός μέσος κίνδυνος μιας γυναίκας στον γενικό πληθυσμό να αναπτύξει καρκίνο μαστού κυμαίνεται μεταξύ 10 και 14% στην Ε.Ε. και ΗΠΑ. Οι γυναίκες μπορούν να χωριστούν σε τρεις κύριες ομάδες κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου στον μαστό.

α) Στην ομάδα υψηλού κινδύνου με εφόρου ζωής κίνδυνο περίπου 75%. Στην μικρή αυτή πληθυσμιακή ομάδα συμπεριλαμβάνονται οι γυναίκες με κληρονομικό ιστορικό και κληρονομούμενες μεταλλάξεις στα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* (*BRCA1/2*) [3].

β) Στην ομάδα μέσου κινδύνου με κίνδυνο προσβολής από καρκίνο μαστού 2-πλάσιο έως 4-πλάσιο του μέσου όρου. Στην κατηγορία αυτή εντάσσονται γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού η/και ωοθήκης αλλά με αρνητικό τεστ για *BRCA1/2* μεταλλάξεις [4]. Επίσης γυναίκες που παρουσιάζουν τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου (μοντέλο Gail). Οι παράγοντες αυτοί σχετίζονται με την αναπαραγωγικότητα (ηλικία εμμηναρχής/εμμηνόπαυσης, τεκνοποίηση και ηλικία πρώτης κύησης, θηλασμός, αντισυλληπτικά), δείκτης μάζας σώματος, ύψος, τρόπος ζωής (φυσική άσκηση, αλκοόλ, κάπνισμα), βιοψίες μαστού, και πυκνότητα μαστού στην μαστογραφική απεικόνιση [5].

γ) Στην τρίτη κατηγορία χαμηλού κινδύνου υπάγονται οι γυναίκες χωρίς τους ανωτέρω παράγοντες κινδύνου και αποτελούν την μεγάλη ομάδα των γυναικών στον γενικό πληθυσμό.

Η κλινική σημασία της ταξινόμησης είναι προφανής γιατί θα επιτρέψει τον στοχευμένο έλεγχο του πληθυσμού με βάση τον κίνδυνο καρκίνου. Όμως σήμερα, με εξαίρεση τις γυναίκες με θετική δοκιμασία για *BRCA1/2*, η εξατομικευμένη πρόβλεψη κινδύνου και πρόληψη δεν είναι εφικτή.

### Εξατομίκευση – γονιδίωμα καρκίνου

Πολύ πρόσφατες προσπάθειες να αναγνωρίσουν γυναίκες υψηλού κινδύνου με βάση γενετικές παραλλαγές που ανιχνεύτηκαν πρόσφατα με μελέτες ευρείας ανάλυσης του γονιδιώματος [Genome-wide association studies (GWAS)] δεν έδωσαν θετικά αποτελέσματα. Πράγματι πρόσφατη δημοσίευση στο περιοδικό *The New England Journal of Medicine* έδειξε ότι η προσθήκη 10 νέων γενετικών παραλλαγών στους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου δεν βελτίωσε την πρόβλεψη κινδύνου [6]. Η μελέτη αυτή επιβεβαιώνει την περιπλοκότητα και ετερογένεια του καρκίνου του μαστού και δείχνει ότι παρά την τεχνολογική επανάσταση με την νέα γενιά σάρωσης της αλληλουχίας του γονιδιώματος, ακόμη και 10 χρόνια μετά την πρώτη ολοκληρωμένη σάρωση της αλληλουχίας του ανθρώπινου γονιδιώματος, σημαντικές κλινικές εφαρμογές στην ταξινόμηση του κινδύνου βασισμένες στην προληπτική παρέμβαση δεν έχουν ακόμη επιτευχθεί [7-13].

### Εθνική & γεωγραφική κατανομή μεταλλάξεων

Η συχνότητα των μεταλλάξεων στα γονίδια *BRCA1* ή *BRCA2* αναφέρεται ότι ποικίλλει ανάλογα με την εθνότητα και των γεωγραφική προέλευση του πληθυσμού. Για παράδειγμα, στη Βόρεια Αμερική, υπολογίζεται ένας φορέας κληρονομούμενων *BRCA* μεταλλάξεων ανά 300-500 κατοίκους [14]. Οι μεταλλάξεις αυτές μεταβιβάζονται κατά τον επικρατούντα χαρακτήρα. Στις

γυναίκες των Εβραίων Ashkenazi, δύο μεταλλάξεις στο *BRCA1* και μια μετάλλαξη στο *BRCA2* αντιπροσωπεύουν το 90% του συνόλου των περιπτώσεων ΚΚΜΩ (HBOC) και θεωρούνται ως «founder» (ιδρυτικές) μεταλλάξεις [15]. Ο έλεγχος για επικρατούσες μεταλλάξεις είναι μια σχετικά ανέξοδη προσέγγιση που μπορεί να διευκολύνει μεγάλης κλίμακας εθνικές επιδημιολογικές και προληπτικές κλινικές μελέτες για ΚΚΜΩ (HBOC). Εντούτοις, μπορούν να εμφανιστούν υπολειπόμενες μεταλλάξεις και στα δύο *BRCA* γονίδια και έτσι ο έλεγχος σε ολόκληρες τις ακολουθίες και των δύο γονιδίων για μεταλλάξεις είναι απαραίτητος στα άτομα με υποψία *BRCA1/2* μετάλλαξης, και γενετική ετερογένεια [16].

### **Γονίδια και κληρονομούμενες μεταλλάξεις χαμηλού κινδύνου**

Αναφέρεται ότι μεταλλάξεις που προκαλούν απώλεια της λειτουργικότητας των *BRCA1* και *BRCA2* μπορεί να συμβάλουν σε ποσοστό 20-25% της κληρονομούμενης προδιάθεσης για καρκίνο μαστού [17]. Η άποψη αυτή δεν έχει επιβεβαιωθεί.

Αρκετά γονίδια έχουν αναφερθεί ότι αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου μαστού, αλλά σε αντίθεση με τα *BRCA1/2*, τα γονίδια αυτά προκαλούν μια μικρή αύξηση κινδύνου [18, 19]. Για το *CHEK2* έχει αναφερθεί μια συγκεκριμένη μετάλλαξη (*CHEK2\*1100delC*) που σχεδόν διπλασιάζει τον κίνδυνο για καρκίνο μαστού [20-23].

## **ΝΕΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΝΕΑ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ**

Η δημιουργία της τεχνολογίας των μικροσυστοιχιών DNA (DNA microarrays) μια δεκαετία πριν επηρέασε σημαντικά την βασική και μεταφραστική έρευνα και τις βιοατρικές επιστήμες. Η δυνατότητα των μικροσυστοιχιών για ανάλυση της έκφρασης εκατοντάδων γονιδίων ταυτόχρονα μπορεί να ελέγξει το προφίλ της έκφρασης των γονιδίων που εμπλέκονται στον καρκίνο γενικά και ειδικά στον καρκίνο του μαστού. Μια από τις πρώτες καινοτόμες εφαρμογές των μικροσυστοιχιών DNA είναι μια νέα μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του μαστού στις εξής κατηγορίες καθώς και η συσχέτιση τους με την παραδοσιακή ταξινόμηση.

- **Αυλικός A/B** (Luminal A) (Luminal B). Αντιστοιχεί σε όγκους θετικούς στην έκφραση των ορμονικών υποδοχέων (ER/PR+).
- **HER2+ like** Αντιστοιχεί σε HER2-θετικούς όγκους.
- **Basal-like** (βασικού τύπου). Αντιστοιχεί σε όγκους που δεν εκφράζουν ούτε ορμονουποδοχείς ούτε HER2 (ER/PR/HER2-αρνητικοί όγκοι γνωστοί και ως “triple negative”)

Η νέα αυτή ταξινόμηση προτάθηκε από τους Perou και λοιποί συγγραφείς [24] που διαπίστωσαν στατιστικά σημαντική διαφορά στην επιβίωση ασθενών ανάλογα με την μοριακή ομάδα.

Μπορεί και πώς, να συσχετισθεί η μοριακή αυτή ταξινόμηση με τους όγκους που αναπτύσσονται σε γυναίκες με *BRCA1* και *BRCA2* μεταλλάξεις?

### **Καρκίνος μαστού σε γυναίκες με *BRCA1* μεταλλάξεις**

Φαίνεται ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των όγκων που αναπτύσσονται σε γυναίκες με *BRCA1* μεταλλάξεις και της υποκατηγορίας basal-like (βασικού τύπου) υποκατηγορίας. Ιστολογική και μοριακή ανάλυση όγκων σε ασθενείς με *BRCA1* μεταλλάξεις και καρκίνου μαστού έδειξαν ότι οι περισσότεροι από αυτούς τους όγκους είχαν χαρακτηριστικά της βασικής μοριακής ομάδας (basal-like). Πιο συγκεκριμένα στην πλειοψηφία τους οι όγκοι αυτοί ήταν τριπλοί αρνητικοί, δηλ. ER/PR/HER2-αρνητικοί όγκοι [25]. Η πρόγνωση των ασθενών με αυτή την υποκατηγορία καρκίνου είναι δυσμενής και κατά συνέπεια και οι ασθενείς *BRCA1* μεταλλάξεων έχουν μια σχετικά κακή πρόγνωση. Σήμερα η αντιμετώπιση των ασθενών αυτών περιορίζεται στην χρήση σύγχρονων χημειοθεραπευτικών σχημάτων λόγω απουσίας στοχευμένης αντιμετώπισης με βιολογικά φάρμακα σε ασθενείς με basal-like τύπο ή *BRCA1* καρκίνο [26].

### **Πρώτη πλήρης ανάλυση γονιδιώματος σε «basal-like» καρκίνο μαστού**

Με πιθανή την συσχέτιση *BRCAl* καρκίνου με βασικού τύπου καρκίνο, σε μια πρόσφατη δημοσίευση στο *Nature* [27] αναδεικνύει την περιπλοκότητα των γενετικών και μοριακών μηχανισμών που καθοδηγούν την καρκινογένεση και μετάσταση σε «basal-like» καρκίνο μαστού.

### ***BRCAl2* μεταλλάξεις και καρκίνος μαστού**

Στην κατηγορία αυλικού τύπου (Luminal A/ Luminal B) ανήκουν οι περισσότεροι όγκοι που αναπτύσσονται σε ασθενείς *BRCAl2* μεταλλάξεων, δηλ. είναι θετικοί για ορμονουποδοχείς (ER/PR) και αρνητικοί για HER2. Συνήθως οι όγκοι αυτοί έχουν έναν υψηλό ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης [28]. Η αυλικού τύπου υποκατηγορία έχει γενικά μια καλή πρόγνωση και υποδιαιρείται στις υποκατηγορίες αυλικού τύπου A και αυλικού τύπου B. Η ορμονική θεραπεία για την ER-θετική νόσο της αυλικού τύπου υποκατηγορίας A αποτελεί κλασσική αγωγή. Υπό έρευνα βρίσκεται ακόμη η διάκριση εκείνων των γυναικών με κατηγορία αυλικού A ή B πρώιμου καρκίνου μαστού που μπορεί να ωφεληθούν από την προσθήκη χημειοθεραπείας από εκείνες που θα μπορούσαν χωρίς επιπτώσεις να αποφύγουν την χημειοθεραπεία.

### **Γονιδιακή υπογραφή και πολυγονιδιακό προφίλ όγκου**

Μετά την μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου μαστού, η μεταφραστική έρευνα με βάση τις μικροσυστοιχίες, επικεντρώθηκε στην δημιουργία βιοδεικτών βασισμένη στο προφίλ της έκφρασης πολλαπλών γονιδίων. Πράγματι, το σετ 21-γονιδίων (Oncotype DX) [29] και το σετ 70-γονιδίων (MammaPrint) [30] μπορεί ενδεχομένως να διακρίνει ποιες γυναίκες με πρώιμο καρκίνο μαστού και αρνητική λεμφαδενική νόσο (N0) μπορεί να ωφεληθούν από τη συστηματική χημειοθεραπεία.

Καθώς νέα δεδομένα προκύπτουν με την έκρηξη της νέας τεχνολογίας της αλληλουχίας του γονιδιώματος και την σαφή μείωση του κόστους [8-11, 27], αναμένεται ότι νέες μελέτες με την πλήρη σάρωση του γονιδιώματος σε ασθενείς με καρκίνο μαστού και *BRCAl/2* μεταλλάξεις θα συμβάλουν σημαντικά στην κατανόηση της καρκινογένεσης, εξέλιξης και μετάστασης του συνδρόμου κληρονομικού καρκίνου μαστού-ωοθήκης (HBOC). Σήμερα η στρατηγική αυτή κατεύθυνση θεωρείται μια από τις πιο ορθολογιστικές ερευνητικές προσεγγίσεις για την πιο αποτελεσματική πρόληψη και αντιμετώπιση του κληρονομικού καρκίνου.

### **Σκοπός της διατριβής**

Η διδακτορική αυτή διατριβή έχει κλινικό και ερευνητικό στόχο. Στο κλινικό πεδίο να εξετάσει πως ο γενετικός έλεγχος των *BRCAl* και *BRCAl2* γονιδίων, ποιες απεικονιστικές και κλινικές εξετάσεις, και ποιες συντηρητικές ή χειρουργικές παρεμβάσεις μπορούν να σώσουν τις ζωές γυναικών με κληρονομική προδιάθεση για καρκίνο μαστού-ωοθήκης. Ιδιαίτερη έμφαση δίδεται στην προσπάθεια επιλογής της βέλτιστης χειρουργικής προληπτικής παρέμβασης εξατομικευμένα σε κάθε γυναίκα με οικογενειακό ιστορικό.

Στο ερευνητικό πεδίο της ανίχνευσης βιοδεικτών, να εξετάσει εάν συγκεκριμένοι δείκτες, όπως Ki-67, Topoisomerase IIα, P53, και HER2, έχουν παρόμοια ή διαφορετικά επίπεδα ανοσοϊστοχημικής έκφρασης μεταξύ ασθενών με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού και σποραδικό (απουσία οικογενειακού ιστορικού) καρκίνο μαστού.

## **ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΑΠΟΦΑΣΕΙΣ**

Η παροχή γενετικών συμβουλών και εξετάσεων είναι ένα πολύ ευαίσθητο κοινωνικό και ιατρικό ζήτημα που προκαλεί ανησυχίες σχετικά με την κατάλληλη κλινική διαχείριση. Οι γυναίκες που θεωρούνται υψηλού κίνδυνου ως έχουσες *BRCAl* ή *BRCAl2* μεταλλάξεις πρέπει να ενθαρρύνονται να παρακολουθούν ένα εξειδικευμένο ιατρείο κληρονομικού καρκίνου μαστού για εγκεκριμένη παροχή γενετικών συμβουλών και διαχείριση. Η δημοτικότητα του γενετικού ελέγχου και οι υψηλές προσδοκίες κέρδους έχουν ενθαρρύνει την άμεση καταναλωτική εμπορευσιμότητα

διαμέσου του Διαδικτύου αυτών των ελέγχων, γεγονός το οποίο έχει προκαλέσει ανησυχίες μεταξύ των νοσοκομειακών γιατρών όσο και των ειδικών [31]. Ο Sharon Plon, Δ/ντής της κλινικής γενετικού καρκίνου στο κολλέγιο Baylor της Ιατρικής Σχολής, δηλώνει ότι «μέλη του κοινού παίρνουν ελέγχους που δεν καταλαβαίνουν, και οι ιατροί τους δεν μπορούν να αναλύσουν τα αποτελέσματα, και μπορεί να λάβουν κρίσιμες αποφάσεις που όμως ενδεχομένως είναι επιζήμιες για τις γυναίκες». Στις 27 Ιουλίου 2006, η Ομοσπονδιακή Επιτροπή Εμπορίου των Η.Π.Α. εξέδωσε μία οδηγία προς τους καταναλωτές σε μια προσπάθεια να διευθετήσει τέτοιες ανησυχίες καθώς επίσης και να προστατεύσει τα προσωπικά δεδομένα. Σε μια σχετική προοπτική μελέτη, υπογραμμίστηκε ότι η συλλογή, η δημιουργία τραπεζών βιολογικών ιστών, και οι αναλύσεις DNA επεκτείνονται γρήγορα, και ότι ένας ομοσπονδιακός γενετικός νόμος ιδιωτικότητας απαιτείται για να προστατεύσει τα προσωπικά γενετικά δεδομένα. Πρέπει να σημειωθεί ότι η ανάλυση μεταλλάξεων συνδέεται με ιδιαίτερους περιορισμούς [32]. Δεν θα αναπτύξουν όλες οι γυναίκες με *BRCA1* μεταλλάξεις καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών, και δεν είναι κλινικής σημασίας κάθε μετάλλαξη που ανιχνεύεται [14]. Επιπλέον, υπάρχει αβεβαιότητα για τις εκτιμήσεις κινδύνου και τις στρατηγικές πρόληψης για τις γυναίκες από οικογένειες υψηλού κινδύνου που έχουν αρνητική εξέταση για μεταλλάξεις *BRCA1* και *BRCA2* [33]. Ο αντίκτυπος τέτοιων περιορισμών στην ποιότητα της ζωής, η εκτίμηση του γενετικού κινδύνου και η διατήρηση της γενετικής ιδιωτικότητας είναι αυτή τη στιγμή άγνωστοι. Για τις γυναίκες υψηλού κινδύνου, εντούτοις, η κατάλληλη παροχή γενετικών συμβουλών τις βοηθά να λάβουν ενημερωμένες αποφάσεις, και μπορεί να βελτιώσει τη γνώση και την αντίληψη τους για τον απόλυτο κίνδυνο και συχνά να μειώσει την ανησυχία [34].

#### Ποιες γυναίκες πρέπει να εξετάζονται σε ειδικά ιατρεία

Γυναίκες με κληρονομούμενη μετάλλαξη *BRCA1* ή/και *BRCA2* έχουν έναν διαχρονικό κίνδυνο ~ 85% για ανάπτυξη καρκίνου στον μαστό και περίπου 20-60% για ανάπτυξη καρκίνου στις ωοθήκες (Πίνακας 1) [14, 35]. Αυτός ο εξαιρετικά υψηλός κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου καθιστά το γενετικό έλεγχο ουσιαστικό για τον προσδιορισμό των γυναικών με μεταλλάξεις. Εντούτοις, διάφορες νομικές, ηθικές και κοινωνικές συνέπειες πρέπει να εξεταστούν προσεκτικά [36]. Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση αποκάλυψε ότι δεν έχει αξιολογηθεί μια προσέγγιση πρωτοβάθμιας φροντίδας στη διαλογή προδιαθεσικών γονιδίων κληρονομικού καρκίνου μαστού και ωοθήκης, και τα οφέλη και οι κίνδυνοι για το γενικό πληθυσμό είναι μέχρι τώρα άγνωστοι [14]. Οι οδηγίες που προτείνονται από διεθνείς ειδικές επιτροπές συστήνουν το γενετικό έλεγχο και την κατάλληλη προληπτική παρέμβαση σε όλα τα άτομα που βρίσκονται σε κίνδυνο [34, 37, 38]. Η τρέχουσα επιλογή για τον κληρονομικό καρκίνο μαστού-ωοθήκης περιλαμβάνει τέσσερα σημαντικά βήματα: αξιολόγηση του κινδύνου, παροχή γενετικών συμβουλών, έλεγχο *BRCA* γονιδίων, και κατάλληλη ιατρική προληπτική παρέμβαση [14].

**Πίνακας 1 Εκτιμήσεις κινδύνου καθόλη τη διάρκεια της ζωής ανάπτυξης καρκίνου μαστού και ωοθήκης μεταξύ γυναικών σε φυσιολογικό κίνδυνο και εκείνων με κληρονομούμενες *BRCA1* ή *BRCA2* μεταλλάξεις.**

Εντόπιση του καρκίνου <sup>α</sup>	Εκτιμήσεις κινδύνου καθόλη τη διάρκεια της ζωής [14, 36, 39-41]		
	Γενικός πληθυσμός	Γονιδιακές μεταλλάξεις	
		<i>BRCA1</i> (%)	<i>BRCA2</i> (%)
Καρκίνος μαστού	10-14 <sup>β</sup>	65-85	45-85
Καρκίνος ωοθήκης	1-2	37-62	11-23

<sup>α</sup> Είναι πιθανόν οι γυναίκες με *BRCA1* ή *BRCA2* μεταλλάξεις να έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν καρκίνο σε διαφορετικές θέσεις, όπως καρκίνο παγκρέατος ή στομάχου, ή πρωτοπαθές ορώδες περιτοναϊκό καρκίνωμα. Πάντως αυτός ο κίνδυνος είναι μάλλον μικρός.

<sup>β</sup> Περίπου 10% στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και 14% στις Η.Π.Α.

Στην ιδανική περίπτωση, η ανάλυση για ανεύρεση μεταλλάξεων πρέπει να προσφέρεται σε όλες τις γυναίκες που βρίσκονται σε κίνδυνο. Όμως, η χαμηλή επίπτωση γυναικών με *BRCA* μεταλλάξεις στο γενικό πληθυσμό και ιδιαίτερα σήμερα με την οικονομική κρίση, το υψηλό κόστος του γενετικού ελέγχου περιορίζει την δυνατότητα κάλυψης από τα Ασφαλιστικά Ταμεία στην Ελλάδα, αλλά και σε πολλές χώρες. Εάν ένα μέλος μιας οικογένειας είναι γνωστό ότι φέρει μια μετάλλαξη στο *BRCA1* ή *BRCA2* γονίδιο, συστήνεται γενετικός έλεγχος σε όλα τα μέλη της οικογένειας για την συγκεκριμένη μόνο μετάλλαξη με χαμηλό κόστος. Το οικογενειακό και ατομικό ιστορικό και η ηλικία στη διάγνωση καρκίνου σε κάποιο ή κάποια μέλη μιας οικογένειας χρησιμοποιούνται ως κριτήρια για την παραπομπή σε γενετικό έλεγχο. Εντούτοις, κανένα από αυτά τα εργαλεία δεν έχει επικυρωθεί. Πρότυπα πρόβλεψης γυναικών με *BRCA* μεταλλάξεις έχουν αναπτυχθεί, όπως το BOADICEA, το BRCAPRO και Myriad II, όμως παραμένει ακόμη να επικυρωθούν για την αποτελεσματικότητα στην πρωτοβάθμια περίθαλψη [42].

Βάσει μελετών που έχουν διεξαχθεί, προτείνεται ότι ο γενετικός έλεγχος πρέπει να προσφέρεται στις γυναίκες με πιθανότητα τουλάχιστον 10% ή μεγαλύτερη για την ανεύρεση *BRCA* μετάλλαξης [34, 37]. Τα κατώτατα όρια πιθανότητας πρέπει να είναι λιγότερο αυστηρά για τους υψηλού κινδύνου πληθυσμούς όπως οι Εβραίες γυναίκες Ashkenazi. Μερικοί εμπειρογνώμονες υποστηρίζουν την εφαρμογή μελετών ελέγχου στους πληθυσμούς με γνωστές επικρατούσες μεταλλάξεις, βάσει των αποτελεσμάτων της μελέτης καρκίνου μαστού της περιοχής της Νέας Υόρκης, που αποκάλυψε υψηλού κινδύνου άτομα όχι μόνο μεταξύ των πρώτου ή δεύτερου βαθμού συγγενών αλλά και στις συγγενείς 3ου ή 4ου βαθμού συγγένειας [40, 43].

## **ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ**

### **Τοπικο-περιοχικός έλεγχος και ολική επιβίωση**

Σημαντικό μέρος της έρευνας έχει επικεντρωθεί στο πως θα μπορούσαν να μειωθούν οι απομακρυσμένες υποτροπές. Γενικότερα στον σποραδικό καρκίνο μαστού, τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες (RCT) έχουν δείξει ότι η τοπικοπεριοχική υποτροπή δεν έχει επιπτώσεις στη ολική επιβίωση υποστηρίζοντας τη θεωρία ότι ο καρκίνος του μαστού ακόμη και στα αρχικά στάδια είναι μια συστηματική νόσος [44]. Εντούτοις, μια πρόσφατη μετανάλυση 78 RCT που διεξάχθηκε από το Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group, συμπεριέλαβε περίπου 42.000 ασθενείς και έδειξε ότι ο βελτιωμένος τοπικός χειρουργικός έλεγχος οδήγησε σε μια χαρακτηριστική βελτίωση τόσο στην 5-ετή επιβίωση από καρκίνο του μαστού όσο και στην ολική επιβίωση στα 15 έτη [45]. Αν και τα τρέχοντα τυποποιημένα χημειοθεραπευτικά σχήματα μπορούν να μειώσουν περαιτέρω την τοπικοπεριοχική υποτροπή, κάθε προσπάθεια πρέπει να καταβληθεί για να αποτραπούν οι τοπικές υποτροπές χωρίς την υπερβολική χειρουργική θεραπεία [46].

Δεν προκαλεί έκπληξη επομένως ότι αυτή την περίοδο ανανεώνεται το ενδιαφέρον και η συζήτηση σχετικά με το καλύτερο είδος χειρουργικής επέμβασης για τον χειρουργικά αντιμετωπίσιμο καρκίνο του μαστού. Πρόσφατα, η τοπική υποτροπή ως πρωτοπαθές γεγονός έχει ενσωματωθεί ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας πέρα από την απομακρυσμένη υποτροπή στις περισσότερες RCT, και τα πρώτα βραχυπρόθεσμα αποτελέσματα επιβίωσης μετά από τη σύγχρονη επικουρική χημειοθεραπεία συμπεριλαμβανομένων των στοχευμένων θεραπειών αποκαλύπτουν τη σημασία των τοπικών υποτροπών [47-49]. Αυτή η σημασία τονίζεται από μια νέα μελέτη, η οποία πραγματοποιείται σε μια διεθνή συνεργασία από τη Breast International Group (BIG), τη διεθνή ομάδα μελέτης καρκίνου του μαστού (IBCSG), και το Εθνικό Χειρουργικό Χημειοθεραπευτικό Πρόγραμμα στο Μαστό και στο Παχύ έντερο (NSABP) [50]. Ο στόχος αυξήθηκε σε 977 ασθενείς που δείχνει επίσης το βαθμό του προβλήματος. Ασθενείς με τοπικά υποτροπιάζον καρκίνο του μαστού υποβάλλονται σε πλήρη χειρουργική εκτομή και αναλόγως ορίζονται τυχαία για να λάβουν ή να μην λάβουν χημειοθεραπεία.

Η ακτινοβολία, η ορμονική θεραπεία, και το μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab (τραστουζουμάμπη) χορηγούνται ανάλογα με την περίπτωση, δηλαδή σύμφωνα με τους ορμονικούς

υποδοχείς [οιστρογονικοί υποδοχείς (ER), υποδοχείς προγεστερόνης (PR)] και τον υποδοχέα 2 του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2). Αυτή η μελέτη θα παράσχει σημαντικές ερευνητικές και κλινικές πληροφορίες για τις τοπικοπεριοχικές υποτροπές.

Για να αποτραπούν αυτές οι τοπικές υποτροπές στον προσβληθέντα μαστό (ομόπλευρη υποτροπή καρκίνου μαστού [IBC] ή ένας νέος όγκος) και στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό (ετερόπλευρος καρκίνος μαστού [CBC]), ένας ταχέως αυξανόμενος αριθμός ασθενών με καρκίνο μαστού στις ΗΠΑ επιλέγει μια επιθετικότερη χειρουργική επέμβαση από την τρέχουσα προτιμώμενη χειρουργική επέμβαση διατήρησης μαστού (BCS). Τα στοιχεία της βάσης δεδομένων της Εθνικής Υπηρεσίας Επιτήρησης, Επιδημιολογίας και Τελικών Αποτελεσμάτων των ΗΠΑ (SEER) δείχνουν ότι το ποσοστό ετερόπλευρης προφυλακτικής μαστεκτομής (CPM) έχει αυξηθεί κατά 150% μέσα σε 5 έτη (Πίνακας 2, [51]). Εντούτοις, αυτή η γενίκευση στην χειρουργική υπερθεραπεία δεν απεικονίζει μια τεκμηριωμένη προσέγγιση και μπορεί να βλάψει τις ασθενείς, την κοινωνία και τα ασφαλιστικά ταμεία [52].

<b>Πίνακας 2. Η τρέχουσα αλλαγή στην έκταση της χειρουργικής επέμβασης για εντοπισμένο καρκίνο μαστού έναντι πιο επιθετικής χειρουργικής αντιμετώπισης. Πηγή: Η.Π.Α – SEER</b>		
<b>Είδος χειρουργικής επέμβασης</b>	<b>1998 (%)</b>	<b>2003 (%)</b>
BCS	56.1	56.1
UM	42	35.9
CPM	4.2	11

BCS: Συντηρητική χειρουργική επέμβαση, UM: Μονόπλευρη μαστεκτομή, CPM: ετερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή, SEER: Επιτροπή Παρακολούθησης Επιδημιολογίας και Τελικών Αποτελεσμάτων των Η.Π.Α. [51].

### **Προεγχειρητική ταξινόμηση κινδύνου**

Η ταξινόμηση των ασθενών με καρκίνο μαστού πριν από τη χειρουργική επέμβαση σε υψηλού, μετρίου και χαμηλού κινδύνου για τοπική υποτροπή θα είχε σημαντικές επιπτώσεις. Παραδείγματος χάριν, οι ασθενείς υψηλού κινδύνου τοπικής υποτροπής μπορούν να ωφεληθούν από μια πιο εκτενή χειρουργική επέμβαση όπως η αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή. Πάντως, αυτή η αξιολόγηση του κινδύνου είναι δύσκολη ή ανέφικτη για τις περισσότερες ασθενείς. Πολλαπλές μεταβλητές συμπεριλαμβανομένων των συμβατικών κλινικοπαθολογοανατομικών παραγόντων, των βιολογικών-γενετικών χαρακτηριστικών των όγκων και της τρέχουσας συστηματικής χημειοθεραπευτικής αντιμετώπισης μπορούν να επηρεάσουν την τοπική υποτροπή [3, 45-49, 53, 54]. Κατά συνέπεια, προκύπτει μια επείγουσα ανάγκη για βιοδείκτες ικανούς να προβλέψουν και την τοπική υποτροπή και την απάντηση στην θεραπεία προκειμένου να επιλεγεί η καλύτερη αντιμετώπιση για την παρεμπόδιση των τοπικών υποτροπών.

Η εξατομικευμένη ογκολογία είναι ένας σημαντικός στόχος για να μεγιστοποιηθούν τα οφέλη και να ελαχιστοποιηθούν οι παρενέργειες σε κάθε μεμονωμένο ασθενή [55]. Η ολοκλήρωση του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος πριν από 8 έτη, φτηνότερες υψηλότερης απόδοσης τεχνικές προσδιορισμού της αλληλουχίας του DNA (DNA sequencing) και η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών (microarrays), επιτρέπουν την ταυτόχρονη και άμεση εξέταση χιλιάδων γονιδίων και πρωτεϊνών. Οι γενετικές παραλλαγές μπορούν τώρα να προσδιοριστούν αποτελεσματικότερα, αλλά η κλινική χρησιμότητα των ανακαλύψεων δεν έχει οριστεί ακόμα.

Οι διαφορές στη γενετική ποικιλομορφία τόσο στο τμήμα του DNA που κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες (protein-coding DNA) όσο και στο μη κωδικοποιον γονιδίωμα (non-coding DNA) καθιστούν κάθε άνθρωπο και κάθε ασθενή μοναδικό. Πρόσφατα, υπάρχει ταχεία πρόοδος προς την κατεύθυνση της ολοκλήρωσης του καταλόγου των γονιδίων και των μεταλλάξεων που εμπλέκονται στον καρκίνο του μαστού [56]. Όμως πρέπει να σημειωθεί, ότι αυτό είναι μόνον το πρώτο βήμα, και πολύ περισσότερη ερευνητική εργασία, συμπεριλαμβανομένων λειτουργικών μελετών, απαιτείται προς την εξατομικευμένη διαχείριση του καρκίνου του μαστού [57]. Η πρόσφατη ολοκλήρωση του προγράμματος HarMap II, που χαρακτηρίζει πάνω από 3.1 εκατομμύρια μεμονωμένους



πολυμορφισμούς νουκλεοτιδίων (SNPs) [56] επιτρέπει την έρευνα SNPs που εμπλέκονται στις ανθρώπινες διαταραχές. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων τριών ετών, μια σειρά μελετών γνωστές ως μελέτες ευρείας ανάλυσης γονιδιώματος (Genomewide-association studies [GWAS]) συσχέτισαν SNPs με την ανθρώπινη ποικιλομορφία και με διάφορες σύνθετες ασθένειες. Οι ανθρώπινες γενετικές παραλλαγές διακρίνονται στις ποιοτικές διαφορές στο γονιδίωμα (υπό τη μορφή των SNPs) και τις ποσοτικές διαφορές, όπως οι δομικές γενομικές παραλλαγές (διαγραφές και διπλασιασμοί), οι οποίες οδηγούν στις παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (CNVs) [58-60]. Προσφάτως, οι GWAS έχουν προσδιορίσει γονίδια χαμηλής διεισδυτικότητας με νέες γενετικές παραλλαγές (SNPs) που συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου μαστού [61-63] και άλλων κοινών τύπων καρκίνου [64, 65]. Όμως, επί του παρόντος, περιορισμένες ή ελάχιστες είναι οι κλινικές εφαρμογές των GWAS.

### **Παράγοντες κινδύνου τοπικής υποτροπής και ετερόπλευρου καρκίνου μαστού.**

Διάφοροι παράγοντες σχετικοί με την ασθενή, τα χαρακτηριστικά των όγκων και τη θεραπεία, επηρεάζουν τις τοπικές υποτροπές. Υπάρχει μια ποικιλία στο βαθμό που αυτές οι παράμετροι αυξάνουν ή μειώνουν το ποσοστό του IBC/CBC. Διάφοροι κλασικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ηλικίας της ασθενούς, του οικογενειακού ιστορικού, των ιστολογικών χαρακτηριστικών, των χειρουργικών ορίων εκτομής και της επικουρικής χημειοθεραπείας έχουν αναφερθεί να επηρεάζουν την τοπική ομόπλευρη ή ετερόπλευρη υποτροπή [46-49]. Πρόσφατα, νέα στοιχεία όσον αφορά τον αντίκτυπο της γενετικής του καρκίνου [3, 52], της έκφρασης γονιδίων βασισμένων στα χαρακτηριστικά των υποκατηγοριών του καρκίνου του μαστού [66, 67], και των τρεχόντων στοχευμένων φαρμάκων [46-49] στις τοπικές υποτροπές έχουν γίνει διαθέσιμα και θα πρέπει να ληφθούν υπόψη. Παραδείγματος χάριν, φαίνεται ότι τα τρέχοντα τυποποιημένα φάρμακα, τραστουζουμάμπη για τις θετικές στο HER2 και η ταμοξιφένη ή οι ανασταλτικοί παράγοντες της αρωματάσης για τις ασθενείς με θετικούς στους ορμονικούς υποδοχείς (HR-θετικούς) όγκους, μειώνουν τις τοπικές υποτροπές [47-49, 53]. Εντούτοις, απαιτούνται μακροχρόνια στοιχεία παρακολούθησης για συμπαγή συμπεράσματα και είναι πιθανό οι μη ανταποκρινόμενες σε αυτά τα φάρμακα ασθενείς να παραμένουν σε υψηλότερο κίνδυνο για ομόπλευρο ή ετερόπλευρο καρκίνο μαστού από τις ασθενείς που ανταποκρίνονται. Αυτή η διάκριση μεταξύ ανταποκρινόμενων και μη ανταποκρινόμενων ασθενών είναι αυτή τη στιγμή ανέφικτη και αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό ερευνητικό στόχο.

Η χειρουργική παρέμβαση για τον εντοπισμένο μονόπλευρο καρκίνο μαστού περιλαμβάνει: επέμβαση διατήρησης μαστού (BCS), μονόπλευρη μαστεκτομή του προσβληθέντος μαστού και ετερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή (CPM) του υγιούς μαστού ως αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή. Πώς θα μπορούσε να είναι δυνατό να επιλεγεί η βέλτιστη χειρουργική επέμβαση ώστε να επιτευχθούν τα καλύτερα ογκολογικά αποτελέσματα και η καλύτερη ποιότητα ζωής; Είναι αυτήν την περίοδο εφικτή μια ταξινόμηση βασισμένη στον κίνδυνο για την επιλογή της κατάλληλης χειρουργικής επέμβασης για μεμονωμένες ασθενείς; Προφανώς, παράγοντες σχετιζόμενοι με την ασθενή και τη θεραπεία πρέπει να εξεταστούν.

## **ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ**

Η προληπτική χειρουργική επέμβαση στοχεύει να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου και τη θνησιμότητα [68]. Οι χειρουργικές επιλογές που μειώνουν τον κίνδυνο περιλαμβάνουν:

- προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή (PBM)
- προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή (PBSO)
- προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή και ωοθηκεκτομή.

Η ποιότητα των δεδομένων, σύμφωνα με τις αρχές της τεκμηριωμένης Ιατρικής (evidence-based medicine) για την προφυλακτική χειρουργική είναι ανεπαρκής. Δεδομένα επιπέδου I, δηλ. από

τυχαιοποιημένες τυφλές κλινικές μελέτες, δεν υπάρχουν. Όμως δεν πρόκειται να υπάρξουν ούτε στο μέλλον για δύο λόγους. Πρώτον το κληρονομικό σύνδρομο HBOC (ΚΚΜΩ) είναι σπάνιο και δύσκολα μπορεί να υπάρξει ικανοποιητικός αριθμός ασθενών για μελέτη φάσης III. Δεύτερον, είναι τόσο ισχυρή η ένδειξη από μελέτες βασικής και μεταφραστικής έρευνας για τον υψηλό κίνδυνο καρκίνου σε ασθενείς *BRCA1/2* μεταλλάξεων ώστε από ηθικής και δεοντολογικής πλευράς δεν δικαιολογείται η τυχαιοποίηση. Για τους ανωτέρω λόγους η κλινική απόφαση βασίζεται στα υπάρχοντα δεδομένα [69] και συνιστάται εξατομίκευση.

### **Προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή (PBM)**

Μια μείωση του κινδύνου κατά 85-100% για τον καρκίνο του μαστού αποδείχθηκε σε αναδρομικές μελέτες με προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή στις ομάδες γυναικών υψηλού κινδύνου [70-73]. Στη μόνη προοπτική μη τυχαιοποιημένη όμως μελέτη έως σήμερα αναλύθηκαν 139 ασθενείς *BRCA1/2* μεταλλάξεων για την επίπτωση καρκίνου μαστού. Με μια μέση παρακολούθηση 3 ετών, κανένας καρκίνος μαστού δεν εντοπίστηκε μεταξύ των γυναικών που υποβλήθηκαν σε προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή (0%) ενώ 8 καρκίνοι μαστού (13%  $P= 0.003$ ) αναπτύχθηκαν στις γυναίκες υπό κανονική επιτήρηση [70]. Η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή μείωσε τον κίνδυνο καρκίνου μαστού κατά περίπου 95% στις ασθενείς με προγενέστερη ή ταυτόχρονη προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή και μείωσε τον κίνδυνο κατά περίπου 90% στις γυναίκες με άθικτες ωθήκες [71]. Η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή δεν φαίνεται να έχει επιπτώσεις στην ποιότητα της ζωής των ασθενών *BRCA1* μεταλλάξεων που επιλέγουν αυτήν την διαδικασία. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι έναντι των ασθενών που επέλεξαν την επέμβαση διατήρησης των μαστών ή την απλή μαστεκτομή, εκείνες που επέλεξαν τη μαστεκτομή του προσβληθέντα μαστού και την ετερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή του απρόσβλητου μαστού δεν εμφάνισαν χειρότερη ποιότητα ζωής ή αυξημένο άγχος [74].

### **Προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή (PBSO)**

Η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή είναι αυτήν την περίοδο η επικρατούσα προληπτική επιλογή για ασθενείς με *BRCA* μετάλλαξη στις ΗΠΑ και τον Καναδά [75, 76]. Η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο καρκίνου ωθηκών κατά περίπου 90% (από 85-100%) και τον κίνδυνο καρκίνου μαστού κατά περίπου 50% (από 46-68%) [77-80]. Επιπρόσθετα, μια άλλη μελέτη παρείχε δεδομένα ότι η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή μειώνει όχι μόνο την επίπτωση του καρκίνου αλλά και τη γενική θνησιμότητα [81]. Σε ένα συνοδευτικό κύριο άρθρο, οι Brekelmans και Seynaeve σχολιάζουν ότι μελέτες με μεγαλύτερα σύνολα δεδομένων και πιο μακροχρόνια παρακολούθηση απαιτούνται για να καθορίσουν ακριβέστερα τη μείωση της θνησιμότητας που παρέχεται από τη προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή [82]. Η μείωση του κινδύνου καρκίνου μαστού και ωθήκης που παρέχεται από τη προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό πλεονέκτημα αυτής της διαδικασίας.

Η μεγαλύτερη δημοσιευμένη αναδρομική μελέτη ανέλυσε 1.439 ασθενείς με καρκίνο μαστού και 1.868 γυναίκες της ομάδας ελέγχου που προήλθαν από ένα αρχείο φορέων της μετάλλαξης στο Τορόντο [78]. Η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή συσχετίστηκε με μια σημαντική μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου μαστού για γυναίκες με *BRCA1* μεταλλάξεις (56% OR = 44, 95% CI 0.29-0.66) αλλά για τις γυναίκες με *BRCA2* μεταλλάξεις η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Σε μια αναδρομική ανάλυση με 551 ασθενείς *BRCA*, η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή μείωσε τον κίνδυνο καρκίνου ωθηκών κατά 96% και αυτόν του καρκίνου μαστού κατά 53% με μια μέση παρακολούθηση 9 ετών [80].

Σήμερα υπάρχουν αποτελέσματα από προοπτικές μελέτες με προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή. Σε μια πρώτη μικρή προοπτική μελέτη σε 170 ασθενείς *BRCA1/2* με μια μέση παρακολούθηση 24.2 μηνών, υπήρξε μια σημαντικά μεγαλύτερη επίπτωση ωθηκικού ή

περιτοναϊκού καρκίνου και καρκίνου μαστού στην ομάδα παρακολούθησης από την ομάδα με προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγγο-ωθηκεκτομή [83]. Μια άλλη διεθνής προοπτική μελέτη αναφέρεται σε 1.828 γυναίκες ηλικίας 30-75 ετών με μεταλλάξεις *BRCA1* ή *BRCA2* [40]. Από αυτές τις γυναίκες, 1.045 (57%) είχαν προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγγο-ωθηκεκτομή και 783 (43%) δεν υποβλήθηκαν στη διαδικασία. Ο κίνδυνος του καρκίνου ωθηκών μέχρι την ηλικία των 75 ετών εκτιμήθηκε σε 62% για τις γυναίκες με *BRCA1* μετάλλαξη και 18% για εκείνες τις γυναίκες με μετάλλαξη *BRCA2*. Ο κίνδυνος περιτοναϊκού καρκίνου στα 20 έτη μετά από ωθηκεκτομή ήταν 4.3%. Η γενική μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου που συνδέθηκε με προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγγο-ωθηκεκτομή ήταν 80% ( $P = 0.003$ ). Οι Finch και λοιποί κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγγο-ωθηκεκτομή μειώνει τον κίνδυνο καρκίνου ωθηκών και σαλπγγγων, αν και υπάρχει ένας ουσιαστικός υπολειπόμενος κίνδυνος περιτοναϊκού καρκίνου σε ασθενείς *BRCA1* και *BRCA2* μετάλλαξης μετά από προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγγο-ωθηκεκτομή [40].

Η **λαπαροσκοπική** προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγγο-ωθηκεκτομή είναι μια χειρουργική επιλογή με καλύτερη ποιότητα ζωής από την ανοικτή χειρουργική για ασθενείς *BRCA* μετάλλαξης. Σχετίζεται με χαμηλή νοσηρότητα (4%), έχει τα οφέλη της ελάχιστα-επεμβατικής χειρουργικής και φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο του καρκίνου των ωθηκών και του μαστού [84]. Τα στοιχεία δείχνουν ότι όσο πρωιμότερα εκτελείται η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγγο-ωθηκεκτομή, τόσο μεγαλύτερη η ευεργετική επίδρασή της. Η μεγαλύτερη επίδραση στη μείωση του κινδύνου αφορά τις προεμμηνοεπασιακές γυναίκες με *BRCA1* μετάλλαξη [85]. Αυτή η παρατήρηση δείχνει ότι η θεραπεία υποκατάστασης ορμονών (HRT) θα πρέπει να εξεταστεί σε αυτές τις γυναίκες. Τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα μιας πρόωρης χειρουργικής εμμηνόπαυσης και η μακροπρόθεσμη χρήση HRT είναι γενικά απροσδιόριστα. Εντούτοις μια πρόσφατη μελέτη βασισμένη σε ένα αναλυτικό πρότυπο απόφασης κατά Markov, προτείνει ότι γυναίκες με μεταλλάξεις *BRCA1* ή/και *BRCA2* που υποβάλλονται σε προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγγο-ωθηκεκτομή μετά το πέρας της τεκνοποίησης, πρέπει να αποφασίσουν για βραχυπρόθεσμη HRT μετά από ωθηκεκτομή βασιζόμενες κατά ένα μεγάλο μέρος στην ποιότητα-ζωής τους παρά στην διάρκεια ζωής. Εάν χρησιμοποιείται η θεραπεία υποκατάστασης ορμονών οι γυναίκες πρέπει να αποφασίσουν να διακόψουν τη θεραπεία κατά την διάρκεια της αναμενόμενης φυσικής εμμηνόπαυσης [86]. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι τα από του στόματος αντισυλληπτικά θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ακίνδυνα ως μέσο για να προληφθεί ο καρκίνος των ωθηκών σε φορείς *BRCA1* και *BRCA2* μετάλλαξης [87].

## **ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΠΡΑΚΤΙΚΗ**

Οι γενετικοί παράγοντες κινδύνου συνήθως δεν εξετάζονται στην καθημερινή πράξη για την επιλογή της έκτασης της χειρουργικής επέμβασης. Δεδομένου ότι μπορούν να διαδραματίσουν έναν σημαντικό ρόλο τόσο στον ομόπλευρο όσο και στον ετερόπλευρο καρκίνο μαστού, πέρα από τους καθιερωμένους παράγοντες (κατάσταση χειρουργικών ορίων εκτομής, πολυκεντρικότητα νεοπλασματικών εντοπίσεων, επικουρική χημειοθεραπεία), μια χειρουργική θεραπευτική προσέγγιση που προτείνεται σήμερα περιλαμβάνει το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου, και τον γενετικό έλεγχο. Όλες οι κλασσικές κλινικοπαθολογοανατομικές, γενετικές και θεραπευτικές παράμετροι πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από εξειδικευμένη ομάδα γιατρών, παθολογοανατόμων γενετιστών και επιστημόνων άλλων ειδικοτήτων.

### **Σποραδικός & οικογενειακός *BRCA*-αρνητικός καρκίνος μαστού**

Η επέμβαση διατήρησης του μαστού είναι η τυποποιημένη χειρουργική επιλογή για τα στάδια I/II της νόσου που δεν έχουν κανένα οικογενειακό ιστορικό (σποραδικός καρκίνος) ή με οικογενειακό ιστορικό και *BRCA*-αρνητικό έλεγχο (οικογενειακός μη-*BRCA* καρκίνος). Εντούτοις, τα ελεύθερα όρια εκτομής και η απουσία πολυεστιακού ή/και πολυκεντρικού καρκίνου είναι σημαντικά στοιχεία για τον τοπικό έλεγχο και πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Επιπλέον, σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες [53] η επικουρική ακτινοβολία ολόκληρου του μαστού και η συστηματική θεραπεία

συμπεριλαμβανομένης της εμπειρικής χημειοθεραπείας, και της στοχευμένης ορμονικής θεραπείας, και της τραστουζουμάμπης, βελτιώνουν επίσης τον τοπικοπεριοχικό έλεγχο του όγκου. Αν και μερικά προκαταρκτικά στοιχεία προτείνουν έναν υψηλότερο κίνδυνο για ομόπλευρο όσο και για ετερόπλευρο καρκίνο μαστού μεταξύ συγκεκριμένων υποομάδων όπως οι τριπλά-αρνητικές περιπτώσεις (ER/PR/HER2-αρνητική νόσος), ιδιαίτερα για οικογενείς μη-*BRCA* περιπτώσεις καρκίνου μαστού, τα δεδομένα είναι ακόμα ανεπαρκή για να υποστηρίξουν μια επιθετικότερη χειρουργική. Ίσως μια εκτενής συζήτηση για την ισορροπία των κινδύνων και των οφελών σε αυτή την ομάδα γυναικών με οικογενειακό ιστορικό αλλά αρνητικό *BRCA* έλεγχο θα μπορούσε να είναι χρήσιμη. Σήμερα όμως καμία στοιχειοθετημένη απόφαση για εκτενή χειρουργική επέμβαση δεν μπορεί να ληφθεί. Μελλοντικές μελέτες ευρείας ανάλυσης του γονιδιώματος [Genome-wide association studies (GWAS)], που αναλύθηκαν ανωτέρω, μπορεί να οδηγήσουν σε μια προσαρμοσμένη στην ασθενή χειρουργική επέμβαση στα πλαίσια της εξατομικευμένης ιατρικής.

### **Κληρονομικός, *BRCA*+ καρκίνος του μαστού**

Οι ασθενείς με θετικό έλεγχο για *BRCA* μεταλλάξεις μπορούν να ωφεληθούν από μια επιθετικότερη χειρουργική επέμβαση. Πρόσφατες μελέτες, όπως αναφέρονται ανωτέρω, έχουν καταδείξει ότι ασθενείς με *BRCA* μετάλλαξη έχουν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου ομόπλευρου πάσχοντα μαστού ή στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό από ότι είχαν οι ασθενείς χωρίς *BRCA* μετάλλαξη. Το 29.5% των ασθενών προσβλήθηκαν από καρκίνο στον ετερόπλευρο μαστό εντός 10 ετών μετά από ετερόπλευρη χειρουργική επέμβαση μαστού. Σημαντικότερο ήταν ότι η ετερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή (CPM) ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική μέχρι και 97% στην πρόληψη καρκίνου στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό [88-90].

Αυτά τα κλινικά στοιχεία και η βασική έρευνα υποστηρίζουν έντονα την αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή για τις ασθενείς με μεταλλάξεις *BRCA*. Εντούτοις, πρέπει να αναφερθεί η απουσία τυχαιοποιημένων τυφλών μελετών (RCT), και του γεγονότος ότι στις προηγούμενες αναδρομικές μελέτες οι ασθενείς δεν είχαν λάβει τραστουζουμάμπη ή/και αναστολείς της αρωματάσης (AI), που μπορεί να μειώσουν τον κίνδυνο για στον καρκίνο ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό.

Νέα στοχευμένα φάρμακα μπορεί να μειώνουν τις τοπικές υποτροπές. Εντούτοις, η αποτελεσματικότητά τους στη μείωση καρκίνου στον ομόπλευρο ή ετερόπλευρο μαστό στο υποσύνολο του πληθυσμού με μεταλλάξεις *BRCA* είναι άγνωστη, δεδομένου ότι τα μακροπρόθεσμα στοιχεία παρακολούθησης δεν είναι ακόμη διαθέσιμα. Παρόλα αυτά, βασιζόμενοι στην κατάσταση HR/HER2 αυτών των ασθενών μπορούμε να έχουμε χρήσιμες πληροφορίες. Περίπου 10-24% των ασθενών *BRCA1* και 65-70% των ασθενών *BRCA2* έχουν ορμονο-θετικούς όγκους [91, 92] και μπορούν να ωφεληθούν από τους αναστολείς της αρωματάσης ή τη θεραπεία με ταμοξιφένη σχετικά με τον καρκίνο ομόπλευρου πάσχοντα μαστού ή στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών *BRCA1* ή *BRCA2* έχουν αρνητικούς όγκους για HER2 (97%) [91] και δεν μπορούν να λάβουν τραστουζουμάμπη, κανένα όφελος τοπικού ελέγχου δεν μπορεί να αναμένεται. Αυτά τα στοιχεία αποκαλύπτουν ότι το όφελος τοπικού ελέγχου που παρέχεται από τη στοχευμένη θεραπεία περιορίζεται σε μερικές μόνον ασθενείς ανάμεσα σε εκείνες με *BRCA* μεταλλάξεις. Κατά συνέπεια, για τις περισσότερες ασθενείς με *BRCA* μεταλλάξεις η επιθετική χειρουργική επέμβαση θα μπορούσε να εξεταστεί. Ο χρόνος στον οποίο διατίθεται ο γενετικός έλεγχος, δηλαδή πριν ή μετά το πέρας της θεραπείας, επηρεάζει τη χειρουργική απόφαση.

### **Χρονική στιγμή διενέργειας *BRCA* test**

Όταν ο γενετικός έλεγχος είναι διαθέσιμος πριν από την θεραπεία, οι ασθενείς με *BRCA* μεταλλάξεις πρέπει να επιλέξουν μεταξύ επέμβασης διατήρησης του μαστού (BCS) ή της ομόπλευρης μαστεκτομής του προσβληθέντος μαστού ή της αμφοτερόπλευρης μαστεκτομής. Για

τις ασθενείς με *BRCA1* ή *BRCA2* μεταλλάξεις και πρώιμο στάδιο I/II, και ορμονο-αρνητικό όγκο η αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή θα μπορούσε να εξεταστεί ως θεραπεία, ενώ για την ορμονο-θετική νόσο, ιδιαίτερα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν έναν αναστολέα της αρωματάσης, η επέμβαση διατήρησης του μαστού θα μπορούσε να συζητηθεί ως εναλλακτική προσέγγιση.

Όταν ο έλεγχος *BRCA* διατίθεται μετά από την ολοκλήρωση της θεραπείας στις θετικές στη μετάλλαξη γυναίκες, οι προληπτικές επιλογές πρέπει να περιλάβουν προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωοθηκεκτομή. Πράγματι, ασθενείς με *BRCA* μετάλλαξη που αντιμετωπίζουν, πέρα από τον κίνδυνο για καρκίνο ομόπλευρου πάσχοντα μαστού ή/και στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό, έναν πρόσθετο υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης γυναικολογικού καρκίνου (των ωοθηκών, σαλπίγγων ή αρχικό περιτοναϊκό καρκίνο) [3, 93] μπορούν να ωφεληθούν από προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωοθηκεκτομή. Ακόμα και αν η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωοθηκεκτομή θεωρείται σημαντική για να εμποδίσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού σε υγιείς θετικές στη μετάλλαξη *BRCA* γυναίκες και μειώνει τον κίνδυνο για καρκίνο ομόπλευρου πάσχοντα μαστού ή/και στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό στις ορμονο-θετικές *BRCA* ασθενείς, ο αντίκτυπός της στις ορμονο-αρνητικές ασθενείς είναι αβέβαιος [94].

Συνεπώς, για τις ασθενείς με *BRCA* μεταλλάξεις και ορμονο-αρνητική νόσο (ER/PR-), πρέπει να ληφθούν υπόψη τόσο για την πρόληψη καρκίνου στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό όσο και στην πρόληψη του καρκίνου ωοθηκών αντίστοιχα και η ετερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή για τις ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε μονόπλευρη μαστεκτομή στον πάσχοντα μαστό στην αρχική θεραπεία και η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωοθηκεκτομή. Για ασθενείς *BRCA* μεταλλάξεων με ορμονο-θετική νόσο (ER/PR+), η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωοθηκεκτομή και ο εντατικός έλεγχος συμπεριλαμβανομένης της MRI θα μπορούσαν να συζητηθούν ως εναλλακτική προσέγγιση για την αποφυγή της ετερόπλευρης προφυλακτικής μαστεκτομής.

Εντούτοις πρέπει να υπογραμμιστεί, ότι η ετερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή μειώνει κατά 50% τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού, αλλά δεν εξαλείφει αυτόν τον κίνδυνο και αυτό παρά τον εντατικό έλεγχο συμπεριλαμβανομένης της μαγνητικής τομογραφίας (MRI). Ένα ουσιαστικό ποσοστό αυτών των ασθενών θα διαγνωστεί με θετική νόσο στους λεμφαδένες ή προχωρημένο στάδιο καρκίνου μαστού [3]. Παρά την πρόοδο με την βασιζόμενη στον γενετικό έλεγχο προσαρμοσμένη στην ασθενή χειρουργική επέμβαση, που αποτελεί λιγότερο από 10% όλων των περιπτώσεων, δεν υπάρχει αυτήν την περίοδο κανένας επαρκής δείκτης για να καθοδηγήσει τη χειρουργική επέμβαση για τη μεγάλη πλειοψηφία των γυναικών με πρώιμο καρκίνο μαστού. Η εξατομικευμένη γενομική προσέγγιση με την ανάλυση ολόκληρου του γονιδιώματος παρέχει σημαντικές υποσχέσεις για να επιτευχθεί ο στόχος της εξατομικευμένης χειρουργικής επέμβασης του καρκίνου μαστού.

### **Επιλογή προληπτικής παρέμβασης**

Η επιλογή της πιο κατάλληλης προληπτικής στρατηγικής για τις γυναίκες με την οικογενή προδιάθεση σε ΚΚΜΩ δεν είναι ένας απλός στόχος. Η αξιολόγηση του κινδύνου, οι περιορισμοί του γενετικού ελέγχου, η αποτελεσματικότητα της μείωσης του κινδύνου και οι ανεπιθύμητες ενέργειες αυτών των παρεμβάσεων, καθώς επίσης και ο αντίκτυπός τους στην επιβίωση και στην ποιότητα ζωής, πρέπει να εξεταστούν προσεκτικά. Τα υπάρχοντα στοιχεία είναι κυρίως βασισμένα σε αναδρομικές μελέτες ή μεμονωμένα περιστατικά, αν και στην περίπτωση της ταμοξιφένης, τα δεδομένα έχουν ληφθεί από τυχαιοποιημένες διπλές τυφλές μελέτες [95, 96]. Παρά τους περιορισμούς αυτούς, προληπτική παρέμβαση για γυναίκες με *BRCA* μετάλλαξη απαιτείται επειγόντως, επειδή αυτές οι γυναίκες είναι πολύ υψηλού κινδύνου για να αναπτύξουν καρκίνο

μαστού-ωοθήκης σε νεαρή ηλικία. Επιπλέον, χωρίς επαρκή πρόληψη η θνησιμότητα για αυτές τις γυναίκες είναι υψηλή λόγω της καθυστερημένης διάγνωσης καρκίνου [97].

Ο **Πίνακας 3** συνοψίζει τα αποτελέσματα των χειρουργικών και μη-χειρουργικών παρεμβάσεων στην επιβίωση και την ποιότητα ζωής στις γυναίκες από οικογένειες με ΚΚΜΩ. Η προφυλακτική χειρουργική παρέμβαση παραμένει η αποτελεσματικότερη μορφή για τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου και της θνησιμότητας, αν και λείπει μια άμεση σύγκριση των χειρουργικών και μη-χειρουργικών προληπτικών παρεμβάσεων σε τυχαιοποιημένες μελέτες. Μεταξύ όλων των προληπτικών παρεμβάσεων που είναι διαθέσιμες σήμερα για τις γυναίκες με θετική εξέταση για *BRCAl* ή *BRCAl2* μετάλλαξη, η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή προσφέρει την υψηλότερη ολική προστασία καρκίνου με αποδεκτά επίπεδα παρενεργειών και ποιότητας ζωής.

Δεδομένου ότι η χειρουργική παρέμβαση προσφέρει προστασία κινδύνου περισσότερο από 90%, η ερώτηση κλειδί δεν είναι η επιλογή μεταξύ της χειρουργικής επέμβασης ή του ελέγχου αλλά ποιο είδος χειρουργικής επέμβασης πρέπει να πραγματοποιηθεί [84]. Η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή είναι ανώτερη από την προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή επειδή μειώνει ταυτόχρονα τον κίνδυνο καρκίνου στις ωοθήκες και στους μαστούς αλλά και τον κίνδυνο θνητότητας από καρκίνο [81]. Η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή συνδέεται επίσης με χαμηλότερη νοσηρότητα και παρενέργειες από ότι η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή. Δεδομένου ότι ο καρκίνος ωοθηκών εντοπίζεται αργότερα και σχετίζεται με μεγαλύτερη θνητότητα από τον καρκίνο μαστού, η λαπαροσκοπική προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή συστήνεται επί του παρόντος από τους περισσότερους ειδικούς στον τομέα της πρόληψης του συνδρόμου ΚΚΜΩ [75]. Αυτή η συναίνεση απεικονίζεται σε μια βορειοαμερικανική έρευνα μεταξύ γυναικών που είχαν θετικό *BRCAl* έλεγχο, στην οποία 60% υποβλήθηκε σε προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή, 25% σε προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή, και μόνο 12% έλαβαν ταμοξιφένη [76].

**Πίνακας 3. Χειρουργικές και μη-χειρουργικές παρεμβάσεις: ασφάλεια, μείωση της εμφάνισης καρκίνου και της θνησιμότητας, και αντίκτυπος στην ποιότητα ζωής σε φορείς *BRCA1/2* μεταλλάξεων.**

Αποτελεσματικότητα και ασφάλεια	Προφυλακτικό Χειρουργείο		Παρακολούθηση με ή χωρίς χημειοπροφύλαξη	Βιβλιογραφικές αναφορές
	Αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή	Αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή		
Μείωση στην επίπτωση του καρκίνου				
Καρκίνος μαστού	50% <sup>β</sup>	90%	<i>BRCA1</i> μετάλλαξη: μέτρια ή καμία επιρροή <sup>α</sup> <i>BRCA2</i> μετάλλαξη: Αποτελεσματική (~50% μείωση) <sup>α</sup>	[69-87]
Μείωση στην επίπτωση του καρκίνου ωθηκών και στην ολική επίπτωση καρκίνου	80–90%	0%	Έλεγχος: αποτυχία (καθυστερημένη διάγνωση) Πρωτοπαθής πρόληψη: Δεν είναι υπαρκτή	
<b>Μείωση στην θνησιμότητα<sup>γ</sup></b>				
Μείωση στην ολική θνησιμότητα (Καρκίνου μαστού-ωθηκής συνδυασμένα) σε σχέση με την αποφυγή προφυλακτικού χειρουργείου	HR 0.28 [95% CI 0.10–0.74]	Δεν είναι υπαρκτή	Δεν είναι υπαρκτή	[81]
Κίνδυνος καθυστερημένης διάγνωσης	Μαστός: μέτριος Ωθήκες: ελάχιστος	Μαστός: ελάχιστη Ωθήκες: πολύ υψηλός	Υψηλός	[40] [69-73, 75-84, 97]
Επιθετικότητα	Ελάχιστη (Λαπαροσκοπική) <sup>β</sup>	Υψηλή	Καμία	[98]
Νοσηρότητα	Χαμηλή (<4%) <sup>β</sup>	Μέτρια (10–30%) <sup>δ</sup>	Όχι	[83-98]
Φαρμακευτική αγωγή	Ναι (HRT) <sup>ε</sup>	Όχι	Ναι (χημειοπροφύλαξη)	[86, 97-100]
Ανεπιθύμητες ενέργειες που επηρεάζουν την ποιότητα της ζωής	Μέτρια <sup>β</sup>	Μέτρια	Ελάχιστη	[73, 84, 85]

<sup>α</sup> Η χημειοπροφύλαξη με ταμοξιφένη μειώνει τον κίνδυνο ER-θετικού καρκίνου μαστού στα υψηλού κινδύνου υγιή άτομα, αλλά το μέγεθος αυτού του οφέλους είναι μικρότερο από το προφυλακτικό χειρουργείο. <sup>β</sup> Τα πλεονεκτήματα της αμφοτερόπλευρης σαλπγγο-ωθηκεκτομής συγκρινόμενα με την αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή. <sup>γ</sup> Οι εκτιμήσεις βασίζονται σε μια μέση παρακολούθηση 3.1 ετών στην ομάδα με προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή και 2.1 ετών στην ομάδα χωρίς προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωθηκεκτομή. <sup>δ</sup> Συμπεριλαμβάνεται ανακατασκευή του μαστού. <sup>ε</sup> Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.  
Συντμήσεις: HR, συχνότητα κινδύνου; HRT, θεραπεία υποκατάστασης οιστρογόνων.

Η επιλογή της κατάλληλης στρατηγικής πρόληψης βασισμένης στην αξιολόγηση κινδύνου για τις γυναίκες που είχαν αρνητική εξέταση για *BRCA1/2* μετάλλαξη, είναι περίπλοκη λόγω της αβεβαιότητας της εκτίμησης κινδύνου. Για αυτές τις γυναίκες, η αξιολόγηση κινδύνου μπορεί να βελτιωθεί χρησιμοποιώντας τις περισσότερες αποτελεσματικές μεθόδους αναγνώρισης μιας μεγάλης γενετικής διαγραφής ή ενός διπλασιασμού (delete, duplication, genomic rearrangements, and copy-numbers changes) στα γονίδια *BRCA1* ή *BRCA2*, και με τον έλεγχο για μια μετάλλαξη *CHEK2* [21].

### Επιλογή του βέλτιστου χρόνου για χειρουργική επέμβαση

Η χειρουργική επέμβαση πρέπει να εκτελείται το συντομότερο δυνατόν σε γυναίκες με *BRCA* μετάλλαξη λόγω της πρώιμης έναρξης αυτού του καρκίνου. Ποια είναι η βέλτιστη χρονική επιλογή για την προφυλακτική χειρουργική επέμβαση; Αν και ο καρκίνος των ωθηκών εμφανίζεται σπάνια

σε προεμμηνόπαυσιες γυναίκες, η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγγο-ωθηκεκτομή αμέσως μετά από την τεκνοποίηση είναι πιθανό να μειώνει τον κίνδυνο καρκίνου μαστού, που είναι υψηλός σε αυτές τις γυναίκες [35, 71]. Μια μεγάλη αναδρομική μελέτη επιβεβαίωσε μια σημαντική ολική μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου μαστού μετά από προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγγο-ωθηκεκτομή σε ασθενείς *BRCA1/2* μετάλλαξης και έδειξε ότι η μείωση κινδύνου ήταν μεγαλύτερη εάν αυτή η επέμβαση πραγματοποιούνταν πριν την ηλικία των 40 ετών. Επιπλέον, αυτή η προστατευτική επίδραση παρέμεινε για 15 έτη μετά από τη προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγγο-ωθηκεκτομή [78]. Αν και ακριβέστερα δεδομένα απαιτούνται, η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγγο-ωθηκεκτομή φαίνεται να είναι μια κατάλληλη επιλογή για γυναίκες ηλικίας 35 ετών και μεγαλύτερες ή αμέσως μετά την ηλικία τεκνοποίησης.

### **Αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνο μαστού και *BRCA* μεταλλάξεις**

Οι τρέχουσες οδηγίες θεραπείας για τον καρκίνο του μαστού πρώιμου-σταδίου συνίστανται στην τοπική θεραπεία, δηλ. χειρουργική παρέμβαση με ή χωρίς ακτινοθεραπεία, και επικουρική συστηματική θεραπεία [100]. Η θεραπεία διατήρησης του μαστού (BCT) είναι μια αποδεκτή αρχική θεραπεία για τους όγκους πρώιμου-σταδίου ή μετά από προεγχειρητική χημειοθεραπεία για τους μεγαλύτερους ή τοπικά προχωρημένους καρκίνους μαστού. Όμως για τις ασθενείς με *BRCA* μετάλλαξη που είναι σε υψηλό κίνδυνο υποτροπής στον πάσχοντα μαστό (IBTR) ή καρκίνου στον ετερόπλευρο μαστό (CBC) [90, 101, 102] ή ανάπτυξης καρκίνου στις ωθήκες [103] μετά από θεραπεία διατήρησης του μαστού, προτείνονται ριζικότερες χειρουργικές επεμβάσεις. Πρόσφατα, οι Pierce και λοιποί συνέκριναν τις εκβάσεις 160 ασθενών με *BRCA1* ή *BRCA2* μετάλλαξη με καρκίνο μαστού με τις εκβάσεις 445 ασθενών της ομάδας ελέγχου με σποραδικό καρκίνο μαστού μετά από θεραπεία διατήρησης του μαστού [89]. Το ποσοστό του ετερόπλευρου καρκίνου μαστού 15 έτη μετά από θεραπεία διατήρησης του μαστού ήταν 39% στις ασθενείς με *BRCA1/2* μεταλλάξεις και 7% στην ομάδα ελέγχου ( $P < 0.001$ ). Αν και δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά σε υποτροπή στον πάσχοντα μαστό μεταξύ των ομάδων, η πολυπαραγοντική ανάλυση μεταβλητών παρουσίασε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό υποτροπής στον ομόπλευρο μαστό μεταξύ ασθενών με *BRCA* μετάλλαξη από ότι στην ομάδα ελέγχου όταν αφαιρέθηκαν από την ανάλυση οι ασθενείς με *BRCA* μετάλλαξη που είχαν υποβληθεί σε ωθηκεκτομή ( $P = 0.04$ ) [89]. Αυτά τα δεδομένα προτείνουν ότι μια εκτενέστερη χειρουργική διαδικασία από τη θεραπεία διατήρησης του μαστού, όπως η αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή, ή πρόσθετες θεραπείες πέρα από την ακτινοθεραπεία και την ταμοξιφένη θα μπορούσαν να εξεταστούν για τις ασθενείς με *BRCA* μετάλλαξη και διάγνωση καρκίνου μαστού για να μειωθεί ο κίνδυνος υποτροπής του καρκίνου μαστού.

### **Επικουρική ακτινοθεραπεία**

Η ακτινοβολία ολόκληρου του μαστού με 50 Gy συνολικά χορηγούμενη σε δόσεις σε 5-6 εβδομάδες με ή χωρίς ώθηση (boost) 16 Gy αποτελεί την standard (τυποποιημένη) επικουρική θεραπεία μετά από επέμβαση διατήρησης του μαστού [53]. Αυτή η θεραπευτική στρατηγική μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο τοπικοπεριοχικής υποτροπής και μπορεί να βελτιώσει επίσης τη γενική επιβίωση [45, 46]. Εντούτοις, η ακτινοβολία ολόκληρου του μαστού μπορεί να συνδέεται με όξιμη τοξικότητα στον πνεύμονα, στην καρδιά και ίσως επίσης στον ετερόπλευρο μαστό συμβάλλοντας στην καρκινογένεση. Πράγματι, μια τρέχουσα μεγάλη μελέτη ( $n=7.221$ ) από την Ολλανδία βρήκε αυξημένο κίνδυνο ετερόπλευρου καρκίνου μαστού για τις νέες ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό που ακτινοβολήθηκαν με κατ' εφαπτομένη τομές μαστών [104]. Για να μειωθούν αυτές οι ανεπιθύμητες ενέργειες από την ακτινοβολία ολόκληρου του μαστού, έχει αναπτυχθεί η μερική ακτινοβολία των μαστών. Εντούτοις, έως ότου προκύψουν στοιχεία από τρέχουσες τυχαίοποιημένες μελέτες, η μερική ακτινοβολία των μαστών δεν μπορεί να εφαρμοστεί στην καθημερινή κλινική πράξη [105]. Με την επιθετική χειρουργική όπως η αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή όταν έχει ένδειξη, μπορούν να αποφευχθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες της ακτινοβολίας.



### **Συστηματική συμπληρωματική θεραπεία**

Η απόφαση να χρησιμοποιηθεί η επικουρική συστηματική χημειοθεραπεία για τον καρκίνο μαστού πρώιμου-σταδίου λαμβάνεται βάσει των κλασσικών προγνωστικών παραγόντων όπως η ηλικία, η κατάσταση των λεμφαδένων, το μέγεθος του όγκου, ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας, η κατάσταση των οιστρογονικών/προγεστερονικών υποδοχέων και η κατάσταση του HER2. Οι *BRCAl* καρκίνοι μαστού έχουν χαρακτηριστικά που προμηνύουν μια δυσμενέστερη πρόγνωση, τείνουν να είναι χαμηλής διαφοροποίησης (66%), ER-αρνητικοί (90%) και HER2-αρνητικοί (97%) [92, 102]. Οι μεταστάσεις σε *BRCAl* καρκίνους παρουσιάζουν μια τάση προς αιματογενή παρά προς λεμφογενή διασπορά στους μασχαλιαίους λεμφαδένες και μια φτωχή πρόγνωση [101]. Οι *BRCAl2* όγκοι έχουν περισσότερο ευνοϊκά χαρακτηριστικά γνωρίσματα. Είναι υψηλού ή μέτριου βαθμού διαφοροποίησης (59%), ER-θετικοί (66%) και HER2-αρνητικοί (97%), στοιχεία τα οποία δείχνουν καλύτερη πρόγνωση [102].

Οι καρκίνοι ωοθηκών που αναπτύσσονται σε γυναίκες με *BRCAl/2* μεταλλάξεις είναι συνήθως ορώδη θηλωματώδη καρκινώματα, αν και μπορούν να εμφανιστούν καρκινώματα ενδομητρίου και εκ διαυγών-κυττάρων, ενώ σπάνια βλέπουμε τα βλεννώδη και οριακά καρκινώματα [106]. Κατά ενδιαφέροντα τρόπο, οι καρκίνοι ωοθηκών σε ασθενείς με *BRCAl/2* μετάλλαξη φαίνονται να εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης στην αρχική θεραπεία από τις ασθενείς που έχουν σποραδική νόσο, γεγονός το οποίο συμβάλλει προφανώς στην βελτιωμένη πρόγνωση [103].

### **Μη-χειρουργικές προληπτικές επιλογές**

Οι μη-χειρουργικές προληπτικές επιλογές περιλαμβάνουν τη χημειοπροφύλαξη, την επιτήρηση και την τροποποίηση των μη γενετικών παραγόντων κινδύνου. Ο προσδιορισμός και η αποφυγή των παραγόντων κινδύνου ενδεχομένως θα μπορούσαν να είναι χρήσιμοι σε γυναίκες με *BRCAl/2* μετάλλαξη. Το κανονικό βάρος, η σωματική άσκηση, η πρώιμη πρώτη εγκυμοσύνη και ο θηλασμός μπορούν να τροποποιήσουν τον κληρονομημένο κίνδυνο [107] και να καθυστερήσουν την πρώιμη έναρξη του καρκίνου του μαστού, [39], αλλά τα στοιχεία είναι ακόμα ανεπαρκή να υποστηρίξουν αυτήν την στρατηγική ως μόνη προληπτική παρέμβαση στις γυναίκες με *BRCAl* μετάλλαξη. Η χημειοπροφύλαξη μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου ενώ η ταυτόχρονη εντατική επιτήρηση επιτρέπει την πρώιμη ανίχνευση. Τα στοιχεία όσον αφορά τη φυσική εξέλιξη της νόσου δείχνουν ότι μερικές γυναίκες με *BRCAl/2* μετάλλαξη δεν θα αναπτύξουν ποτέ καρκίνο μαστού-ωοθηκών στη διάρκεια της ζωής τους, [41]. Όμως, η αναγνώριση αυτών των γυναικών είναι σήμερα ανέφικτη και η έρευνα επικεντρώνεται στην ανάπτυξη νέων βιοδεικτών με ικανότητα διάκρισης μεταξύ εκείνων που θα αναπτύξουν καρκίνο και εκείνων που δεν θα προσβληθούν από την νόσο όσον αφορά τις γυναίκες με *BRCAl/2* μετάλλαξη.

### **Παρακολούθηση**

Η στενή επιτήρηση αντί της προφυλακτικής χειρουργικής ικανοποιεί τις απαιτήσεις και τις επιθυμίες των γυναικών με *BRCAl* μεταλλάξεις.

Εκτός της ετήσιας μαστογραφίας ακόμη και σε ηλικία < 35 ετών που δεν επαρκεί για υψηλού κινδύνου γυναίκες [108-110]. Νέες στρατηγικές επιτήρησης έχουν αναπτυχθεί και συσταθεί.

Μια μεγάλη προοπτική μη τυχαιοποιημένη μελέτη 1.909 γυναικών υψηλού κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων 358 ασθενών με *BRCAl/2* μεταλλάξεις, αξιολόγησε την ευαισθησία της μαστογραφίας ή της μαγνητικής τομογραφίας μαστών (MRI) στην πρώιμη ανίχνευση όγκων [97]. Η MRI φάνηκε να είναι πιο ευαίσθητη από τη μαστογραφία στην ανίχνευση όγκων στις ασθενείς με κληρονομική προδιάθεση σε καρκίνο μαστού. Αν και η διακριτική ικανότητα της MRI ήταν σημαντικά καλύτερη από αυτή της μαστογραφίας ( $P < 0.05$ ), περίπου το 40% των ασθενών είχε συμμετοχή λεμφαδένων κατά την διάρκεια της διάγνωσης. Όμως η MRI αύξησε το ποσοστό λανθασμένων θετικών ευρημάτων και περιττών βιοψιών.

Οι τρέχουσες επιλογές για την έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου ωοθηκών περιλαμβάνουν το διακολπικό υπερηχογράφημα και την αξιολόγηση του βιοδείκτη CA-125, αλλά η ευαισθησία του γυναικολογικού ελέγχου είναι χαμηλή εξετάζοντας τη θανατηφόρα απειλή του καρκίνου των ωοθηκών [111]. Μια μη τυχαιοποιημένη μελέτη 1.610 εξετασθέντων γυναικών με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου ωοθηκών κατέδειξε ότι το διακολπικό υπερηχογράφημα που πραγματοποιείται σε πυκνά μεσοδιαστήματα μπορεί να ανιχνεύσει τον καρκίνο των ωοθηκών πρώιμου σταδίου στις γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό της ασθένειας [112]. Παρόλο ότι παρατηρήθηκε ένα υψηλό ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων, 3 στις 61 γυναίκες με παθολογικό έλεγχο διαγνώστηκαν με καρκίνο ωοθηκών. Αυτήν την περίοδο δεν έχει καθιερωθεί καμία στρατηγική έλεγχου με αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα σε γυναίκες με θετικό *BRCAl/2* τεστ [106, 113]. Σε μια μετανάλυση μελετών που δημοσιεύθηκαν μεταξύ 1998 και 2003, οι Hogg και Friedlander παρείχαν πειστικά στοιχεία ότι οι περισσότεροι καρκίνοι ωοθηκών στις γυναίκες με κληρονομούμενες *BRCAl/2* μεταλλάξεις ήταν υψηλής διαφοροποίησης ορώδεις καρκίνοι και ότι αυτές οι γυναίκες σπάνια ανακαλύφθηκαν σε πρώιμο στάδιο. Η όψιμη διάγνωση του καρκίνου ωοθηκών είναι κοινή μεταξύ ασθενών θετικών για *BRCA* και σχετίζεται με φτωχή επιβίωση [106].

### **Φαρμακολογική χημειοπροφύλαξη**

Η έρευνα στην χημειοπροφύλαξη στοχεύει στο να μειώσει ή ακόμα και να εξαλείψει τον κίνδυνο που κληρονόμησαν για καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών γυναίκες με *BRCA* μεταλλάξεις. Στις απρόσβλητες θετικές για *BRCA* γυναίκες θα μπορούσε να προσφερθεί η επιλογή της χημειοπροφύλαξης ή η δυνατότητα συμμετοχής σε πειραματικές μελέτες χημειοπροφύλαξης.

### **Διαμορφωτές εκλεκτικών οιστρογονικών υποδοχέων**

Το σηματοδοτικό μονοπάτι των οιστρογονικών υποδοχέων (ER) έχει έναν κύριο ρόλο στη γένεση και την πρόοδο των όγκων του μαστού και η παρεμπόδιση αυτού του μονοπατιού είναι επομένως μια ελκυστική θεραπευτική προσέγγιση [114]. Η ανάπτυξη του εκλεκτικού ρυθμιστή του οιστρογονικού υποδοχέα (SERM), της ταμοξιφένης, για τη θεραπεία όλων των σταδίων των ορμονο-θετικών καρκίνων μαστού έχουν οδηγήσει σε βελτιωμένη επιβίωση των ασθενών με καρκίνο μαστού. Στην αρχική πρόληψη, η ταμοξιφένη, στις υψηλού κινδύνου προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχει μειώσει την εμφάνιση καρκίνου μαστού κατά περίπου 50% [95, 96]. Βάσει αυτών των αποτελεσμάτων, έγινε η ταμοξιφένη το πρώτο φάρμακο που εγκρίθηκε από το FDA [US Food and Drug Administration (Οργανισμός Φαρμάκων και Τροφίμων των Η.Π.Α)] για τη χρήση ως προληπτικού φαρμάκου κατά του καρκίνου στις γυναίκες πολύ υψηλού κινδύνου. Μια μετανάλυση των αρχικών μελετών πρόληψης έδειξε μια ολική μείωση κατά 38% της επίπτωσης καρκίνου μαστού και μια μείωση 48% για τους ορμονο-θετικούς όγκους [115]. Η χημειοπροφύλαξη με ταμοξιφένη χρησιμοποιείται μόνο για τις γυναίκες υψηλού κινδύνου, λόγω των σχετικών ανεπιθύμητων ενεργειών όπως ο καρκίνος του ενδομητρίου και τα θρομβοεμβολικά επεισόδια [95, 96, 115].

Η ανάλυση των υποομάδων της μελέτης National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP)-P1 [95, 96] έδειξε ότι η ταμοξιφένη μείωσε την επίπτωση καρκίνου μαστού κατά 62% μεταξύ υγιών γυναικών θετικών για *BRCA2* αλλά απέτυχε να κάνει το ίδιο μεταξύ υγιών γυναικών με κληρονομούμενες *BRCAl* μεταλλάξεις όταν αρχίζει μετά την ηλικία των 35 ετών [116]. Αυτό το εύρημα συσχετίζεται καλά με την παρατήρηση ότι οι ασθενείς με *BRCA2* μεταλλάξεις έχουν κυρίως ορμονο-θετικούς όγκους ενώ εκείνες με *BRCAl* μεταλλάξεις έχουν κυρίως ορμονο-αρνητικούς όγκους [117, 118]. Η προφυλακτική χορήγηση ταμοξιφένης θα μπορούσε ίσως να ωφελήσει επίσης τις γυναίκες με *CHEK2* μετάλλαξη, οι οποίες είναι πιθανότερο να αναπτύξουν όγκους θετικούς για ορμονικούς υποδοχείς. Εν τούτοις, οι ανησυχίες σχετικά με τις συνοδές παρενέργειες αποθαρρύνουν την ευρεία εφαρμογή της ταμοξιφένης με αυτήν την ένδειξη [119, 120]. Μια δεύτερη μελέτη πρόληψης, που πραγματοποιήθηκε επίσης από το NSABP, συνέκρινε την ταμοξιφένη με την ραλοξιφένη, έναν άλλο εκλεκτικό ρυθμιστή του οιστρογονικού υποδοχέα με λιγότερες παρενέργειες. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι η ραλοξιφένη ήταν ισοδύναμη με την ταμοξιφένη στην πρόληψη του διηθητικού καρκίνου μαστού [121, 122]. Εάν η ραλοξιφένη εγκριθεί από το

FDA για τη μείωση κινδύνου εμφάνισης καρκίνου μαστού, οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες θα έχουν μια δεύτερη επιλογή να μειώσουν τον κίνδυνό τους [123].

### **Αναστολείς της Αρωματάσης**

Οι αναστολείς της αρωματάσης (AIs) θεωρούνται εναλλακτική λύση στα SERMs για τη θεραπεία του ορμονο-ευαίσθητου καρκίνου μαστού, και έχουν έως τώρα εξεταστεί σε μελέτες χημειοπροφύλαξης [124, 125]. Αυτοί οι παράγοντες φαίνεται να ξεπερνούν την ταμοξιφένη από άποψη και αυξημένης αποτελεσματικότητας και μειωμένης τοξικότητας, στη θεραπεία του προχωρημένου καρκίνου μαστού και επίσης στη προεγχειρητική χημειοθεραπεία στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [124, 126]. Η απώλεια οστικής μάζας που προκαλείται από τη χρήση AIs προκαλεί μια ανησυχία εξετάζοντας την παρατεταμένη χρήση τους σε κατά τ' άλλα υγιείς γυναίκες [127, 128]. Επιπλέον, θα πρέπει να υπογραμμιστεί ότι οι AIs θα είναι αποτελεσματικοί μόνο στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με συστηματική σύνθεση οιστρογόνων, και όχι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στις οποίες η σύνθεση οιστρογόνων ρυθμίζεται από το υποφυσιακά-ελεγχόμενο με μεσολάβηση γοναδοτροπινών, σύστημα αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης [129].

### **Ορμονικά αντισυλληπτικά**

Αν και η μακροπρόθεσμη χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών προτείνεται για τη μείωση του κινδύνου καρκίνου ωοθηκών μεταξύ των γυναικών που φέρνουν μεταλλάξεις *BRCA1* ή *BRCA2*, τα στοιχεία όσον αφορά την επίδραση των από του στόματος αντισυλληπτικών στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού είναι ελλιπή και δεν επιτρέπουν οποιαδήποτε σύσταση σχετικά με τη χρήση τους [130, 131].

### **Θεραπεία υποκατάστασης ορμονών μετά από προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή**

Δυστυχώς, η χειρουργικά προκληθείσα πρόωγη εμμηνόπαυση μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές εξάψεις, κολπική ξηρότητα, σεξουαλική δυσλειτουργία, διαταραχές ύπνου, και γνωστικές μεταβολές που μπορεί να έχουν επιπτώσεις στην ποιότητα ζωής. Αυτά τα συμπτώματα μπορούν να αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά με θεραπεία υποκατάστασης οιστρογόνων.

Όμως, αν και η θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογονικά φαρμακευτικά σκευάσματα ανακουφίζει από τα συμπτώματα της χειρουργικής εμμηνόπαυσης, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ο αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου στον μαστό. Σύγχρονες μελέτες σε γυναίκες με *BRCA1/2* μετάλλαξη που υποβλήθηκαν σε προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή

και έλαβαν βραχυπρόθεσμα ορμονική θεραπεία υποκατάστασης έδειξαν ότι όχι μόνο δεν αυξήθηκε σημαντικά ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου στον μαστό αλλά η ευεργετική επίδραση της αμφοτερόπλευρης σαλπγγο-ωοθηκεκτομή στην μείωση του κινδύνου καρκίνου μαστού διατηρήθηκε [100].

### **Μακροπρόθεσμες συνέπειες της προφυλακτικής αμφοτερόπλευρης σαλπγγο-ωοθηκεκτομής**

Μια περιγραφική μελέτη με 846 γυναίκες υψηλού κινδύνου διαπίστωσε ότι, αν και τα συμπτώματα από τη διακοπή των ορμονών συμπεριλαμβανομένης και της σεξουαλικής δυσλειτουργίας ήταν πιο συχνά μεταξύ των γυναικών με προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή από ότι μεταξύ εκείνων που υπόκεινται σε γυναικολογική παρακολούθηση δεν υπήρξε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες γενικά στην ποιότητας ζωής. Παρόλα αυτά η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπγγο-ωοθηκεκτομή συνδέθηκε με σημαντικά λιγότερη ανησυχία για καρκίνο μαστού-ωοθήκης, και από μια ευνοϊκότερη αντίληψη για κίνδυνο καρκίνου [132].

### **Στοχευμένη θεραπεία: Έχει επιπτώσεις στον τοπικό έλεγχο;**

Όπως αναφέρεται ανωτέρω πρόσφατες τυχαιοποιημένες μελέτες παρέχουν συσσωρευμένα στοιχεία που υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητα της σύγχρονης επικουρικής χημειοθεραπείας για να μειωθούν οι τοπικο-περιοχικές υποτροπές. Η ορμονική θεραπεία για τους ορμονοθετικούς (ER ή/και PR θετικότητα) όγκους), με την βοήθεια της ταμοξιφένης μειώνει τις τοπικές υποτροπές. Περαιτέρω μείωση παρατηρείται με συνέχιση της θεραπείας μετά από 3-ετία ή 5-ετία θεραπεία με ταμοξιφίνη με έναν αναστολέα της αρωματάσης [133, 134] και ακόμα υψηλότερη αποτελεσματικότητα με άμεση θεραπεία με αναστολείς της αρωματάσης (AIs). Πράγματι, η μελέτη με το Arimidex και την ταμοξιφίνη, μόνα τους ή σε συνδυασμό παρέχει στοιχεία για την υψηλότερη αποτελεσματικότητα του αναστολέα της αρωματάσης έναντι μόνο της ταμοξιφένης ή της ταμοξιφένης ακολουθούμενη από αναστολέα της αρωματάσης, στη μείωση του καρκίνου ομόπλευρου πάσχοντα μαστού ή/και του ετερόπλευρου μη προσβληθέντα μαστού [47]. Εντούτοις, αυτή η θεραπεία με AI περιορίζεται μόνο στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και έτσι οι νεότερες ασθενείς που αντιμετωπίζονται με ταμοξιφίνη διατρέχουν ενδεχομένως μεγαλύτερο κίνδυνο για τις τοπικές υποτροπές [47].

Οι τρέχουσες οδηγίες θεωρούν την κατάσταση ως προς το HER2 ως έναν βασικό παράγοντα για τις αποφάσεις θεραπείας [53]. Δεδομένου ότι οι θετικές-HER2 ασθενείς αποτελούν το 25% όλων των περιπτώσεων με ένα ποσοστό ανταπόκρισης στην τρανστουζουμάμπη 40%, είναι προφανές ότι μόνο 10% όλων των ασθενών ωφελούνται από μια τέτοια εξατομικευμένη θεραπεία. Φαίνεται ότι η καθοδηγούμενη από την κατάσταση του HER2 επικουρική στοχευμένη θεραπεία, πέρα από τη μείωση των απομακρυσμένων μεταστάσεων, μειώνει επίσης τις τοπικές υποτροπές (καρκίνος ομόπλευρου πάσχοντα μαστού ή ετερόπλευρου μη προσβληθέντα μαστού). Εντούτοις, τα δεδομένα είναι ακόμα περιορισμένα.

**Ο πίνακας 4** συνοψίζει την τοπικο-περιοχική υποτροπή και τον καρκίνο στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό ως πρώτα γεγονότα μετά από την θεραπεία. Η τρανστουζουμάμπη, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ενάντια στην θετική για HER2 νόσο, μείωσε αυτές τις τοπικές υποτροπές στις δύο μεγαλύτερες τυχαιοποιημένες μελέτες [48, 49]. Εντούτοις, πιο μακροχρόνια παρακολούθηση και νέες μελέτες για καρκίνο ομόπλευρου πάσχοντα μαστού ή στον ετερόπλευρο μη προσβληθέντα μαστό οδηγούν σε κατευθυντήριες οδηγίες, που απαιτούνται για να αξιολογηθούν ακριβώς τα ογκολογικά αποτελέσματα.

**Πίνακας 4. Σύστοιχη Τοπικοπεριοχική υποτροπή και ετερόπλευρος καρκίνος μαστού ως μεμονωμένα πρώτα γεγονότα μετά από θεραπεία για μη-μεταστατικό καρκίνο μαστού.**

Μελέτη	Αριθμός ασθενών	Έτη παρακολούθησης	Τοπική ή περιοχική υποτροπή		Ετερόπλευρος καρκίνος μαστού		Αναφορές
			Ομάδα ελέγχου	Τραστουζουμάμπη	Ομάδα ελέγχου	Τραστουζουμάμπη	
<b>HER2 Θετική</b>							
HERA	3,387	1	3.0%	1.6%	7(0.4%)	6 (0.4%)	[48]
B-31	1,736	2.4	4.0%	1.7%	6(0.7%)	2 (0.2%)	[50]
N9831	1,615	1.5	2.7%	1,5%	0	1 (0.12%)	[50]
Nyuyen* και συν.	109	5	8.4%*	N/A	N/A	N/A	[66]
<b>HER2 Αρνητική</b>							
(HER2/ER/PR-)	684	5	7.1%*	N/A	N/A	N/A	[66]

B-31: Μελέτη National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project; HERA: Μελέτη Herceptin Adjuvant; N9831: Μελέτη North Central Cancer Treatment Group; NA: μη διαθέσιμα στοιχεία.

\* Ανάδρομη μελέτη σε 792 ασθενείς με διηθητικό καρκίνο μαστού οι οποίες υποβλήθηκαν σε επέμβαση διατήρησης του μαστού στηριζόμενες στη μοριακή ταξινόμηση βάσει της έκφρασης του γενετικού προφίλ (αυλικός, HER2-like και βασικού τύπου) υπότυποι, με την κατάσταση του ER/PR και HER2. Καμία ασθενής θετική για HER2 νόσο δεν έλαβε τραστουζουμάμπη.

### Κίνδυνοι καρκίνου σε άλλες εντοπίσεις

Η προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωοθηκεκτομή μειώνει αποτελεσματικά όλους τους προαναφερθέντες κινδύνους, αλλά τι γίνεται με τους πιθανούς κινδύνους καρκίνου σε άλλες θέσεις;

Οι ασθενείς με *BRCA1* μετάλλαξη έχουν έναν πολύ υψηλό κίνδυνο καρκίνου μαστού-ωοθήκης και έχουν επίσης διπλάσιο κίνδυνο για καρκίνο παχέος εντέρου, τριπλάσιο κίνδυνο για καρκίνο παγκρέατος, τετραπλάσιο κίνδυνο για καρκίνο στομάχου και 120-πλάσιο κίνδυνο για καρκίνο σαλπίγγων, έναντι εκτιμήσεων που βασίζονται στο γενικό πληθυσμό [41]. Οι ασθενείς *BRCA2* μετάλλαξης έχουν μια αυξημένη επίπτωση καρκίνων παχέος εντέρου, οισοφάγου, παγκρέατος, στομάχου, και του αιμοποιητικού, αλλά τα δεδομένα είναι ανεπαρκή για ακριβείς εκτιμήσεις του μεγέθους αυτού του κινδύνου [133]. Είναι ακόμα άγνωστο εάν ο εντατικός έλεγχος γυναικών με *BRCA* μετάλλαξη είναι ευεργετικός για την έγκαιρη ανίχνευση αυτών των όγκων. Η επίπτωση των περιτοναϊκών ορώδων καρκινωμάτων έχει αναφερθεί ότι είναι 4.3% στα 20 έτη μετά από προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωοθηκεκτομή [40].

### Νέες θεραπευτικές έννοιες (PARP1)

Με τη διερεύνηση των αδυναμιών στα κύτταρα με έλλειψη *BRCA* μέσω της αναστολής της (διφωσφορο-ριβόζης της αδενοσίνης) πολυμεράσης 1 (PARP1) [ένζυμο επισκευής DNA], το σύνδρομο ΚΚΜΩ μπορεί να στοχευθεί αποτελεσματικά [134]. Το PARP1 είναι γνωστό ότι μεσολαβεί στην επισκευή των μονοκλωνικών σπασμάτων του DNA. Η προκλινική εργασία έχει δείξει ότι η αναστολή της λειτουργίας του PARP1 δίνει κύτταρα με έλλειψη *BRCA* επιρρεπή σε απόπτωση με την αναστολή της δυνατότητάς τους να επισκευάσουν τα μονοκλωνικά σπασίματα [135, 136]. Η εκτίμηση πως τέτοιες σύνθετες ενώσεις θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως προληπτικά φάρμακα υποστηρίζεται περαιτέρω από τις παρατηρήσεις ότι καρκινικά κύτταρα με ένα κανονικό αντίγραφο *BRCA1* ή *BRCA2* συμπεριφέρονται ως κύτταρα χωρίς μετάλλαξη (wild-type) και δεν εμφανίζουν οποιαδήποτε επιβλαβή αποτελέσματα των αναστολέων PARP1. Οι τρέχουσες κλινικές δοκιμές όπου οι αναστολείς PARP1 χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με κυτταροτοξικά φάρμακα δεν φαίνεται να συνδέονται με σημαντικές παρενέργειες [137].

### ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΝΕΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

Η νέα υψηλής-απόδοσης τεχνολογία επιτρέπει τώρα στις βασικές επιστήμες να εστιάσουν στην ανάπτυξη και την επικύρωση νέων προγνωστικών δεικτών καθώς και δεικτών ανταπόκρισης σε

συγκεκριμένη θεραπεία. Ελπίζεται ότι οι πρωτοποριακοί αυτοί δείκτες θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην επίτευξη της εξατομικευμένης πρόληψης και θεραπείας. Η εξατομικευμένη ιατρική αποτελεί σήμερα τον μεγαλύτερο στόχο των βιοιατρικών επιστημών για τον 21<sup>ο</sup> αιώνα που εάν επιτευχθεί θα βελτιώσει δραματικά την φροντίδα υγείας.

Η έρευνα για το μοριακό προφίλ ενός μεμονωμένου όγκου, η φαρμακογενομική και η αλληλουχία (sequencing) ολόκληρου του γονιδιώματος παρέχουν συναρπαστικά αποτελέσματα, αλλά αυτή τη στιγμή υπάρχει περιορισμένη κλινική επιτυχία.

Η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών του DNA (DNA microarrays) επέτρεψε την ταυτόχρονη ανάλυση της έκφρασης χιλιάδων γονιδίων. Οι μελέτες έκφρασης του γονιδιακού προφίλ έχουν προσδιορίσει μια νέα μοριακή ταξινόμηση και προγνωστικές υπογραφές γονιδίων. Ο καρκίνος του μαστού μπορεί να ομαδοποιηθεί σε τουλάχιστον τέσσερις υποκατηγορίες: αυλικός A (luminal A) και αυλικός B (luminal B) που αντιστοιχούν σε ορμονο-θετικούς όγκους, σε HER2-like (ορμονο-αρνητικό/HER2-θετικό), και βασικού τύπου (basal type) που αντιστοιχούν σε ER/PR/HER2-αρνητικούς όγκους γνωστοί και ως τριπλά αρνητικοί όγκοι [24, 138].

Αυτή η ομαδοποίηση θεωρείται ότι έχει διακριτά κλινικά αποτελέσματα και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την επιλογή ασθενών με καλύτερη ανταπόκριση σε θεραπεία [139]. Όμως λόγω της έλλειψης τυχαιοποιημένων μελετών, αυτή η νέα ταξινόμηση δεν έχει ακόμη επικυρωθεί και δεν βρίσκεται σε ευρεία κλινική χρήση.

Πρόσφατα, δύο μεγάλες αναδρομικές μελέτες έχουν αξιολογήσει την πιθανή χρησιμότητα αυτής της μοριακής ταξινόμησης για να προβλέψουν τους κινδύνους της τοπικοπεριοχικής υποτροπής. Οι Nguyen και λοιποί [66] και οι Kyndi και λοιποί [67] υπέβαλαν μια μελέτη σχετικά με τα στοιχεία της έκφρασης γονιδίων από 793 ασθενείς στις ΗΠΑ ο Nguyen και λοιποί, και από 1000 ασθενείς ως το τμήμα 82b/c της Δανέζικης τυχαιοποιημένης μελέτης ο Kyndi και λοιποί αντίστοιχα. Σε αυτές τις μελέτες, διαπιστώθηκε σημαντικά προγνωστική συσχέτιση και για την HER2-like (αντίστοιχη της HER2+) και την βασική (τριπλά αρνητική νόσο) (ER/PR/HER2-negative) υποκατηγορία (basal-like) στην πολυπαραγοντική ανάλυση, με έναν αυξημένο κίνδυνο τοπικοπεριοχικής υποτροπής έναντι των αυλικών (luminal A/B) υποκατηγοριών. Μετά από μια μέση παρακολούθηση 5 ετών μετά από επέμβαση διατήρησης του μαστού τα τοπικά ποσοστά υποτροπής ήταν 8.4% για την HER2-like και 7.1% για την basal-like υποκατηγορία like) [66].

Παρά τα υψηλότερα ποσοστά στην τοπικοπεριοχική υποτροπή, δεν υπάρχει αυτήν την περίοδο κανένα στοιχείο ότι αυτές οι ασθενείς με την HER2-like και την basal-like υποκατηγορία μπορούν να ωφεληθούν από μια επιθετικότερη χειρουργική αντιμετώπιση όπως η ολική μαστεκτομή για δύο κύριους λόγους: κατ' αρχάς, οι HER2-θετικές ασθενείς σε αυτές τις μελέτες δεν έλαβαν τον τρέχοντα χρησιμοποιούμενο παράγοντα τραστουζουμάμπη, ο οποίος μειώνει την τοπικοπεριοχική υποτροπή. Επομένως, είναι πιθανό ότι τα ποσοστά τοπικοπεριοχικής υποτροπής να ήταν χαμηλότερα αν προσθέταμε τραστουζουμάμπη [140]. Δεύτερον, η πρόγνωση της βασικού τύπου υποκατηγορίας είναι φτωχή [141]. Επομένως, είναι άγνωστο εάν ο καλύτερος τοπικός έλεγχος μπορεί να βελτιώσει τη γενική επιβίωση δεδομένου ότι οι περισσότερες από αυτές τις ασθενείς πεθαίνουν νωρίς από τη συστηματική νόσο προτού να αναπτύξουν τις τοπικές υποτροπές που απαιτούν συνήθως μια μακροπρόθεσμη περίοδο για να γίνουν κλινικά εμφανείς.

Οι μελέτες-έκφρασης του γονιδιακού προφίλ έχουν αναπτύξει διάφορες υπογραφές γονιδίων, δύο από τις οποίες έχουν εμπορευματοποιηθεί ήδη: ο έλεγχος 70 γονιδίων (MammaPrint) για την προσαρμογή της χημειοθεραπείας στις πρώιμου σταδίου αρνητικές για λεμφαδένες ασθενείς [142], και ο έλεγχος 21 γονιδίων (Oncotype DX) για τη λήψη αποφάσεων σε ασθενείς πρώιμου σταδίου με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς αλλά αρνητικές για λεμφαδένες, με την προσθήκη χημειοθεραπείας ή όχι στην ορμονική θεραπεία [143]. Δύο μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες φάσης

III, η μελέτη MINDACT και η μελέτη TAILORx, είναι εν εξελίξει για να εξετάσουν την κλινική χρησιμότητα αυτών των δύο γενετικών ελέγχων, αντίστοιχα.

Μετά από τον αρχικό ενθουσιασμό για τις αποφάσεις που βασίζονται στο γενετικό προφίλ για την εξατομικευμένη θεραπεία, υπάρχει τώρα η άποψη ότι σε μία προσπάθεια να προσαρμοστεί η εκτίμηση κινδύνου για την απομακρυσμένη ή την τοπικοπεριοχική υποτροπή, η έρευνα πρέπει να στραφεί στα γονίδια με τη μηχανιστική επίπτωση στον καρκίνο του μαστού παρά στα στοιχεία της γονιδιακής έκφρασης για την ανάπτυξη συμπαγών προγνωστικών παραγόντων των εκβάσεων [144, 145]. Επιπλέον, οι φαρμακογενετικές μελέτες που μελετούν το γονότυπο του CYP2D6 και άλλων σχετικών ενζύμων που εμπλέκονται στον γονοτυπικό μεταβολισμό της ταμοξιφένης μπορούν καλύτερα να καθοδηγήσουν την επιλογή της ενδοκρινικής θεραπείας για την εξατομικευμένη θεραπεία του καρκίνου του μαστού [146].

Παρά την πρόοδο με τους αναστολείς της αρωματάσης και τη τραστουζουμάμπη στον τοπικοπεριοχικό έλεγχο του όγκου, πολλές ερωτήσεις παραμένουν αναπάντητες. Πώς θα μπορούσαν να προσδιοριστούν οι μη ανταποκρινόμενες σε αυτά τα φάρμακα ασθενείς, που είναι πιθανόν να βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό; Ομοίως, οι HER2-αρνητικές και οι ορμονο-αρνητικές ασθενείς που δεν ωφελούνται από μια τέτοια θεραπεία διατρέχουν ενδεχομένως μεγαλύτερο κίνδυνο τοπικής υποτροπής; Τέλος, είναι αυτά τα στοχευμένα φάρμακα αποτελεσματικά στις ασθενείς που είναι φορείς κληρονομούμενων *BRCA* μεταλλάξεων;

## ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Γενικώς, τα τοπικά ποσοστά υποτροπών στην 5 ετία, μετά από χημειοθεραπεία είναι χαμηλά. Πράγματι, οι περισσότερες πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η επίπτωση για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό, αντίστοιχα, ως πρώτο γεγονός στα 5 έτη μετά από την κατάλληλη τοπική και επικουρική συστηματική χημειοθεραπεία είναι γενικά, χαμηλά, περίπου 5% για το κάθε ένα. Εντούτοις, η πιο μακροχρόνια παρακολούθηση από τις προηγούμενες μελέτες παρουσίασε υψηλότερα ποσοστά υποτροπής που κυμαίνονται μεταξύ 10 και 20% [57, 142]. Οι προηγούμενες μελέτες χωρίς γενετικό έλεγχο έχουν αναφέρει το νεαρό της ηλικίας της ασθενούς, το οικογενειακό ιστορικό και την έλλειψη συστηματικής θεραπείας ως παράγοντες κινδύνου και για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό, και τα θετικά όρια εκτομής για τοπική υποτροπή [45]. Αν και ο γενικός κίνδυνος είναι χαμηλός, συγκεκριμένα υποσύνολα ασθενών διατρέχουν υψηλό κίνδυνο τοπικών υποτροπών και μπορούν να ωφεληθούν από την επιθετική χειρουργική.

Ο γενετικός έλεγχος επιτρέπει τον προσδιορισμό της υποομάδας με τον υψηλότερο κίνδυνο για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό. Ο γενετικός έλεγχος διακρίνει τις γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού στις θετικές για *BRCA* μεταλλάξεις (θετικός έλεγχος) που έχουν γνωστό υψηλό κίνδυνο για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό, και αρνητικές για *BRCA* μεταλλάξεις (αρνητικός έλεγχος) για τις οποίες καμία ακριβής εκτίμηση κινδύνου δεν μπορεί να γίνει. Ασθενείς με *BRCA* μετάλλαξη αντιμετωπίζουν τον υψηλότερο κίνδυνο και για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό μετά από τη θεραπεία του πάσχοντος από καρκίνο μαστού [3, 85-87]. Ο κίνδυνος για καρκίνο στον ετερόπλευρο μαστό μεταξύ ασθενών *BRCA* μεταλλάξεων στη μελέτη των Metcalfe και λοιποί ήταν 3% ετησίως ή 29.5% σε 10 έτη μετά από ομόπλευρη μαστεκτομή. Η ετερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή ήταν πολύ αποτελεσματική στο να μειώσει αυτόν τον κίνδυνο περισσότερο από 97% [88]. Σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη, οι Pierce και λοιποί βρήκαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά ετερόπλευρου καρκίνου μαστού μετά από θεραπεία για καρκίνο μαστού μεταξύ ασθενών με *BRCA* μεταλλάξεις από ότι στις αρνητικές για *BRCA* μεταλλάξεις ασθενείς [89]. Τα ποσοστά του ομόπλευρου καρκίνου μαστού ήταν ομοίως υψηλότερα όταν οι γυναίκες με *BRCA* μεταλλάξεις που είχαν υποβληθεί σε προφυλακτική αμφοτερόπλευρη

σαλπιγγο-ωοθηκεκτομή (PBSO) αποκλείστηκαν από την ανάλυση [89]. Αυτά τα στοιχεία υποστηρίζουν μια κατευθυνόμενη ετερόπλευρη προφυλακτική μαστεκτομή για τις ασθενείς που είναι θετικοί για *BRCA* και εξηγούν τα συμπεράσματα μιας πιο πρόσφατης έρευνας: το ποσοστό ετερόπλευρης προφυλακτικής μαστεκτομής μεταξύ των ασθενών με *BRCA* μεταλλάξεις στις ΗΠΑ ήταν 49.3% [90].

Εντούτοις, δεν υπάρχει ακόμα καμία καθολική συμφωνία για την έκταση της χειρουργικής επέμβασης μεταξύ των γυναικών που είναι και ασθενείς και θετικές για *BRCA* μεταλλάξεις. Παραδείγματος χάριν, το ποσοστό της ετερόπλευρης προφυλακτικής μαστεκτομής στη Νορβηγία ήταν 0% [85]. Λόγω της έλλειψης τυχαιοποιημένων μελετών που συγκρίνουν την αποτελεσματικότητα της αμφοτερόπλευρης μαστεκτομής έναντι της επέμβασης διατήρησης του μαστού για τις ασθενείς με καρκίνο μαστού κατηγοριοποιημένες σε θετικές και αρνητικές για *BRCA* μεταλλάξεις, και η έλλειψη ενημέρωσης τόσο των ασθενών όσο και των ιατρών στην κλινική χρησιμότητα του γενετικού ελέγχου, εξηγεί αυτήν την ποικιλία στην έκταση της χειρουργικής επέμβασης.

Παρά την απουσία μιας τυχαιοποιημένης μελέτης αξιολόγησης, τα προκλινικά και κλινικά δεδομένα δεικνύουν την κλινική χρησιμότητα μιας επιθετικότερης χειρουργικής επέμβασης. Ασθενείς με *BRCA*-σχετιζόμενο καρκίνο μαστού ωφελούνται από την αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή παρά από την επέμβαση διατήρησης του μαστού [90]. Πώς μπορεί να εξηγηθεί βιολογικά ο κίνδυνος για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό μεταξύ γυναικών με *BRCA*; Υγιείς γυναίκες με θετικές *BRCA* μεταλλάξεις αντιμετωπίζουν έναν υψηλό κίνδυνο καρκίνου καθόλη τη διάρκεια της ζωής τους μέχρι 85% για καρκίνο μαστού (*BRCA1* ή *BRCA2*) και μέχρι 25% (*BRCA2*) και 60% (*BRCA1*) για καρκίνο ωοθηκών [3, 16]. Και τα δύο γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* έχουν έναν σημαντικό ρόλο στην επισκευή σπασμάτων της διπλής έλικας του DNA, την ενεργοποίηση των σημείων ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και τη συντήρηση της σταθερότητας των χρωμοσωμάτων [8, 12]. Δεν προκαλεί έκπληξη επομένως, ότι η απώλεια αυτών των λειτουργιών οδηγεί στον καρκίνο είτε στους άθικτους είτε στους υπολειπόμενους ιστούς μετά από χειρουργικές επεμβάσεις στο μαστό και στις ωοθήκες.

Η προφυλακτική χειρουργική επέμβαση είτε ως προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή (PBM) είτε ως προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπιγγο-ωοθηκεκτομή (PBSO) έχει θεωρηθεί από καιρό ως η αποτελεσματικότερη επέμβαση στην αρχική πρόληψη υγιών γυναικών με *BRCA* μεταλλάξεις [3, 8, 16]. Αυτή η κληρονομούμενη επιρρέπεια στον καρκίνο, που δεν μπορεί αυτήν την περίοδο να επισκευαστεί με γενετική παρέμβαση, προκαλεί το μετασχηματισμό των φυσιολογικών επιθηλιακών κυττάρων - στον υπολειπόμενο ιστό των μαστών μετά από τη θεραπεία - σε καρκινικά κύτταρα και την ανάπτυξη καρκίνου στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό.

Η κληρονομούμενη *BRCA* προδιάθεση εξηγεί μόνο ένα μέρος όλων των τοπικών υποτροπών μετά από τη θεραπεία για καρκίνο μαστού. Αυτή τη στιγμή, η πρόβλεψη για (IBC/CBC) καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό βασισμένη στους κλασσικούς κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες και η θεραπεία είναι ανακριβείς. Γενικά γίνεται αποδεκτό ότι χρειαζόμαστε ένα νέο συμπαγή δείκτη για να προσδιορίσουμε τις γυναίκες με υψηλό κίνδυνο για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό μεταξύ εκείνων με *BRCA*-αρνητικό έλεγχο ή με σποραδικό καρκίνο. Ποιος είναι ο πιο επιστημονικά λογικός τρόπος να προσδιοριστούν οι υψηλού κινδύνου ασθενείς για τις τοπικές υποτροπές;



## ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ ΟΛΟΚΛΗΡΟΥ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ

Ο καρκίνος είναι το αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Ο καρκίνος του μαστού είναι μια ιδιαίτερα σύνθετη ασθένεια που προκαλείται πιθανά από τις πολλαπλές παραλλαγές γονιδίων, τις αλληλεπιδράσεις γονιδίου-γονιδίου και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Μερικοί από τους καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο μαστού σχετικοί με τον τρόπο ζωής και το περιβάλλον, συμπεριλαμβανομένων μεταβλητών σχετικών με την εγκυμοσύνη, την εμμηνарχή και την εμμηνόπαυση, τη χρήση εξωγενών ορμονών, το ύψος, το βάρος, το δείκτη μάζας σώματος (BMI), και την πρόσληψη οινοπνεύματος επηρεάζουν την πορεία της ασθένειας και την επιβίωση [68]. Σύμφωνα με ένα προσφάτως προτεινόμενο πολυγονιδιακό μοντέλο, ένας μεγάλος αριθμός γονιδίων χαμηλής-διεισδυτικότητας περιλαμβάνονται στην καρκινογένεση του μαστού, αλλά μερικά μόνο από τα γονίδια έχουν προσδιοριστεί [18]. Κατά συνέπεια, ένας πλήρης απολογισμός της επιρρέπειας στην νόσο αναμένει τον προσδιορισμό αυτών των πολλαπλών παραλλαγών και των αλληλεπιδράσεών τους σε καλά σχεδιασμένες μελέτες.

Μετά από την ανακάλυψη των υψηλής-διεισδυτικότητας γονιδίων *BRCA1* και *BRCA2* στη δεκαετία του '90 [147, 148], ο έλεγχος για *BRCA* μπορεί να προσδιορίσει μόνο το 5-10% των περιπτώσεων καρκίνου μαστού προκαλούμενων από *BRCA* μεταλλάξεις. Η λογική έρευνα έχει στραφεί στον προσδιορισμό γενετικών παραγόντων κινδύνου για να εξηγήσει το υπόλοιπο 90% του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου. Οι υποψήφιες μελέτες γονιδίων μεταξύ πολλαπλά επηρεαζόμενων συγγενών από τον καρκίνο μαστού έχουν εμπλέξει τις σπάνιες παραλλαγές στα *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1* και *PALB2* στο υποσύνολο των οικογενειών με έλλειψη *BRCA* μεταλλάξεων αλλά, στις περισσότερες περιπτώσεις, η σπανιότητα και τα μικρά μεγέθη επίδρασης αυτών των συσχετισμών έχουν αποκλείσει την κλινική εφαρμογή [5].

Οι μελέτες ευρείας ανάλυσης του γονιδιώματος (GWAS) παρέχουν τώρα τη μεγάλη υπόσχεση για αμερόληπτο προσδιορισμό γονιδιακών παραλλαγών που περιλαμβάνονται στην έναρξη καρκίνου μαστού για το υπόλοιπο 20% των αρνητικών για *BRCA* περιπτώσεων οικογενούς καρκίνου και για το 70% των περιπτώσεων σποραδικού καρκίνου μαστού. Οι προσδιορισμένες παραλλαγές μπορούν επίσης να αξιολογηθούν για να προσδιορίσουν εάν τροποποιούν τον κίνδυνο καρκίνου μαστού μεταξύ γυναικών με *BRCA* μεταλλάξεις. Διάφορες ομάδες έχουν διεξάγει GWAS για επιλεγμένες οικογενείς περιπτώσεις καρκίνου μαστού *BRCA* μεταλλάξεων. Σε μια πρώτη μελέτη οι Easton και λοιποί έλεγξαν τον γονότυπο 227.876 μεμονωμένων πολυμορφισμών νουκλεοτιδίων (SNPs) σε 390 Ευρωπαϊκές ασθενείς [61] και σε μια δεύτερη μελέτη 249 Εβραίες Ashkenazi ελέγχθηκαν γονοτυπικά χρησιμοποιώντας 150.080 SNPs [62]. Σε τρίτη μελέτη, 1145 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με περιπτώσεις σποραδικού καρκίνου μαστού ευρωπαϊκής καταγωγής ελέγχθηκαν γονοτυπικά 528.173 SNPs [63]. Το λιγότερο επτά νέα γονίδια με διάφορα SNPs προσδιορίστηκαν για πρώτη φορά σε αυτές τις μελέτες. Τρία από αυτά τα SNPs, *FGFR2* (*rs2981482*), *TNRC9* (*rs3803662*) και *MAP3K1* (*rs889312*) και άλλο ένα SNP το *RAD51 135GC* συνδέθηκαν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού μεταξύ των *BRCA1*, *BRCA2* ή και των δύο μεταλλάξεων [19, 149].

Αν και ο επίτοπος *FGFR2* συνδέθηκε με καρκίνο μαστού και στις τρεις μελέτες υπήρξε ελάχιστη επικάλυψη σημαντικά σχετιζόμενων SNPs μεταξύ των μελετών. Οι παρατηρηθείσες διαφορές μπορούν να είναι το αποτέλεσμα της διαφορετικής καταγωγής πληθυσμών, του μεγέθους των δειγμάτων και των γονοτυπικών πλατφορμών.

### **Περιορισμοί & προκλήσεις**

Αυτή τη στιγμή, κανένας γενετικός έλεγχος με κλινική εφαρμογή δεν μπορεί να προκύψει από τις διαθέσιμες GWAS. Δεδομένου ότι οι γενετικές μελέτες συσχετισμού έχουν αποτύχει να

προσδιορίσουν περαιτέρω σημαντικά γονίδια καρκίνου μαστού [5], το προτεινόμενο πολυγενετικό μοντέλο που είναι ευρέως αποδεκτό σήμερα είναι ότι η ευαισθησία προέρχεται από έναν μεγάλο αριθμό επίτοπων, κάθε ένας με μια μικρή επίδραση στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού [149]. Αυτό το πρότυπο είναι σύμφωνο με τα συμπεράσματα των GWAS, οι οποίες έδειξαν ότι πολύ περισσότερα πρόσθετα αλληλόμορφα γονίδια και SNPs μπορούν να προσδιοριστούν από μελλοντικές GWAS [61-63]. Κατά συνέπεια, θα είναι σημαντικό να ψαχτεί όχι μόνο μία εξ' αυτών των γονιδιακών παραλλαγών, που παρέχει χωριστά μέτριο σχετικά κίνδυνο για καρκίνο μαστού, αλλά και για τα πολλαπλασιαστικά αποτελέσματα που περιλαμβάνουν αυτά τα αλληλόμορφα γονίδια, όπως επίσης και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών και των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου.

Οι διαθέσιμες GWAS περιορίζονται από την έλλειψη αξιολόγησης αυτών των αποτελεσμάτων των αλληλεπιδράσεων. Κατά συνέπεια, η κλινική χρησιμότητα των προσδιορισμένων γονιδίων χαμηλής διεισδυτικότητας είτε από τις γενετικές μελέτες συσχέτισης του γονιδιώματος, όπως παραδείγματος χάριν για το *CHEK2* [150] ή από GWAS [62] είναι περιορισμένη.

Η δομική γενομική παραλλαγή, πέρα από SNPs, μπορεί επίσης να διαδραματίσει έναν σημαντικό ρόλο στην ογκογένεση του μαστού. Αυτή τη στιγμή, εντούτοις, η ανάλυση ολόκληρου του γονιδιώματος για να αναγνωρίσει και να χαρακτηρίσει παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (CNVs) είναι ακριβή και χρονοβόρα. Παραδείγματος χάριν, η στρατηγική που χρησιμοποιείται από τους Korbel και λοιποί αυτήν την περίοδο απαιτεί 8 μήνες συνεχούς χρήσης μιας μηχανής DNA-συστοιχιών, με κόστος 200.000\$ για να λάβει δεδομένα όσον αφορά τις δομικές γενομικές παραλλαγές [59]. Εντούτοις, πρόσφατες τεχνολογικές εξελίξεις επιτρέπουν τώρα γενοτυπικές πλατφόρμες ενός εκατομμυρίου CNVs με λογικό κόστος.

Ένας άλλος περιορισμός είναι ο μεγάλος αριθμός χαμηλού κινδύνου αλληλόμορφων γονιδίων που εμπλέκονται στην έναρξη του καρκίνου μαστού. Η ομάδα του Vogelstein έλεγξε διαδοχικά 18.191 γονίδια και βρήκε 280 υποψήφια γονίδια καρκίνου εμπλεκόμενα στην έναρξη καρκίνου μαστού, ορθού και παχέος εντέρου [56]. Επομένως, τα γονίδια καρκίνου μπορούν να διαφέρουν μεταξύ των μεμονωμένων όγκων, αυτό θα απαιτήσει τον ακριβή χαρακτηρισμό αυτών των παραλλαγών σε κάθε μεμονωμένο όγκο για μια επόμενη καθοδηγημένη προληπτική ή θεραπευτική παρέμβαση. Εντούτοις, ακόμα και όταν θα ολοκληρωθεί ο κατάλογος γονιδίων του καρκίνου μαστού με το χαρακτηρισμό SNPs και CNVs που περιλαμβάνονται στον καρκίνο μαστού, το επόμενο εμπόδιο είναι να καθοριστεί ο ακριβής λειτουργικός ρόλος κάθε παραλλαγής γονιδίων στην καρκινογένεση του μαστού.

Ίσως, ένα από τα πιο περίπλοκα εμπόδια προς την εξατομικευμένη Ιατρική στην αντιμετώπιση του καρκίνου θα είναι η απαραίτητη κατανόηση της ακραίας πολυπλοκότητας της βιολογίας των δικτύων του καρκίνου [151]. Πράγματι, παρά τη χρήση της σύγχρονης τεχνολογίας, παραμένει άλυτο το πρόβλημα της πρόβλεψης του αποτελέσματος του ενδοκυτταρικού δικτύου των σηματοδοτικών μονοπατιών [152-154].

Τελικά, η διευκρίνιση του λειτουργικού ρόλου του μη-κωδικοποιούντος DNA αντιπροσωπεύει μια άλλη πρόκληση προς την εξατομικευμένη ογκολογία [155]. Η πλημμύρα βιοϊατρικών ανακαλύψεων κατά τη διάρκεια του περασμένου έτους στον τομέα της ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος και του προσδιορισμού νέων γενετικών παραλλαγών έχει οδηγήσει στη δημιουργία τουλάχιστον τριών νέων επιχειρήσεων γενομικής, οι οποίες για μερικές χιλιάδες δολάρια προσφέρουν τώρα έλεγχο DNA - μια μερική ανάλυση του γονιδιώματος - για την πρόβλεψη του κινδύνου ενός ατόμου να αναπτύξει μια σύνθετη καλοήγη ή κακοήγη ασθένεια [156, 157].

Αυτή τη στιγμή, εντούτοις, λόγω των περιορισμών που αναφέρθηκαν προηγουμένως, κανένας γενομικός έλεγχος δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη για να καθορίσει έναν ακριβή κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού σε μια γυναίκα. Οι Hunter, Khoury και Drazen, σε ένα

πρόσφατο άρθρο στο *New England Journal of Medicine* αναφέρουν ότι αυτήν την περίοδο μια ανάλυση του γονιδιώματος δεν μπορεί να υιοθετηθεί στην κλινική ιατρική πράξη [158].

## **ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΓΙΑ ΠΡΟΣΩΠΙΚΗ ΓΕΝΟΜΙΚΗ: ΠΡΟΣΔΟΚΙΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΚΛΗΣΕΙΣ**

Η τρέχουσα έρευνα ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος έχει με ακρίβεια και λογική εστιάσει σε τρία ευδιάκριτα υποσύνολα πληθυσμού στοχεύοντας στη βελτίωση της στρωματοποίησης κινδύνου. Νέες παραλλαγές γενετικού κινδύνου μπορούν να αυξήσουν περαιτέρω τη βασισμένη στο γενετικό έλεγχο εκτίμηση του κινδύνου για τις γυναίκες με *BRCA* μεταλλάξεις, και να βελτιώσει τη στρωματοποίηση κινδύνου μεταξύ των γυναικών με οικογενειακό ιστορικό και αρνητικό έλεγχο *BRCA* ή χωρίς οικογενειακό ιστορικό (σποραδικές περιπτώσεις).

Νέα γονίδια και SNPs έχουν προσδιοριστεί σε πρόσφατη GWAS χρησιμοποιώντας γονοτυπικές πλατφόρμες με περίπου 150.000 έως 500.000 SNPs. Με την τρέχουσα διαθεσιμότητα γονοτυπικών πλατφορμών με 1 εκατομμύριο SNPs και CNVs αναμένεται ότι ο αριθμός παραλλαγών γενετικού κινδύνου θα αυξηθεί εντυπωσιακά. Λαμβάνοντας υπόψη κατ' εκτίμηση έναν συνολικό αριθμό περίπου 7 έως 15 εκατομμυρίων SNPs στο γονιδίωμα μας [60] και την ταχεία τεχνολογική πρόοδο με την επόμενη γενεά συστοιχιών, αναμένεται ότι σε μερικά έτη, chips με μερικά εκατομμύρια γενετικών παραλλαγών θα είναι διαθέσιμα. Χρησιμοποιώντας αυτές τις νέες γονοτυπικές πλατφόρμες, που αντιπροσωπεύουν μια σχεδόν πλήρη χαρτογράφηση των παραλλαγών στο ανθρώπινο γονιδίωμα, θα αποκαλυφθούν οι περισσότεροι γενετικοί συσχετισμοί στον καρκίνο μαστού.

Και μετά τι ακολουθεί; Θα μπορούν οι γενετικοί έλεγχοι που περιέχουν τις περισσότερες γενετικές παραλλαγές του ανθρώπινου γονιδιώματος να χρησιμοποιηθούν στην κλινική πράξη ως γενετικά εργαλεία για γενετική διαλογή και πρόωμη εξατομικευμένη πρόληψη στον πληθυσμό; Θα μπορούσαν συγκρίσεις ανιχνεύσεων ολόκληρου του γονιδιώματος μεταξύ ασθενών με ή χωρίς υποτροπή και τον αναμενόμενο προσδιορισμό παραλλαγών κινδύνου μεταξύ αυτών των δύο πληθυσμών (με ή χωρίς υποτροπή) να έχει τις κλινικές επιπτώσεις στην εξατομικευμένη χειρουργική και στον τοπικοπεριοχικό έλεγχο;

Με βάση τα τρέχοντα διαθέσιμα δεδομένα [56, 57, 61-65, 159, 160] η απάντηση για την κλινική πράξη είναι μάλλον απογοητευτική. Έχει υπάρξει μια έκρηξη στη βιοϊατρική έρευνα μέσω της εμφάνισης νέων τεχνολογιών. Κατά τη διάρκεια των δύο τελευταίων ετών, οι GWAS έχουν προσδιορίσει περισσότερες από 100 νέες χρωμοσωμικές περιοχές στις οποίες περισσότερες από 165 νέες παραλλαγές DNA επηρεάζουν τον κίνδυνο κοινών ανθρώπινων ασθενειών και κλινικών φαινοτύπων [159]. Εντούτοις, αυτή την περίοδο, παρά την αρχική αισιοδοξία, συζητείται η κλινική επίπτωση αυτών των παραλλαγών κινδύνου [157].

Η αξιολόγηση των παραλλαγών γενετικού κινδύνου αντιπροσωπεύει ένα μόνο μέρος του γρίφου. Δεδομένου ότι όλες αυτές οι παραλλαγές ερμηνεύουν έναν μικρό σχετικό κίνδυνο μικρότερο του 2, δηλαδή φορείς αυτών των γενετικών παραλλαγών έχουν μόνο ένα διπλάσιο κίνδυνο από τους μη φορείς, [159] υπάρχει περιορισμένη αισιοδοξία. Πάντως, αυτή η τεχνολογική επανάσταση ανοίγει νέες λεωφόρους να ερευνηθούν και άλλα σημαντικά μέρη του γρίφου: κατ' αρχάς, να καταλάβουμε λόγω των λειτουργικών μελετών τον ακριβή ρόλο κάθε καρκινικού γονιδίου και των παραλλαγών του και τις αλληλεπιδράσεις τους στη σήμανση του δικτύου των μονοπατιών. Δεύτερον, να δώσουμε έμφαση στους ελλοχεύοντες μηχανισμούς αλληλεπιδράσεων μεταξύ όλων αυτών των παραλλαγών και των περιβαλλοντικών και των παραγόντων τρόπου ζωής σε συνδυασμό με τις επιδημιολογικές γενετικές μελέτες. Τρίτον, οι καθιερωμένοι συμπαγείς κλασικοί κλινικοπαθολογοανατομικοί παράγοντες πρέπει πάντα να εξετάζονται στο σχεδιασμό μελλοντικών προοπτικών μελετών.

### **Γενετικές παραλλαγές στην καρκινογένεση του μαστού και στην τοπική υποτροπή**

Όταν θα ολοκληρωθεί ο κατάλογος των παραλλαγών γενετικού κινδύνου και θα διατίθενται οι γονοτυπικές πλατφόρμες - ένα μάλλον «εύκολο» βήμα - το επόμενο πιο περίπλοκο βήμα θα είναι να εξεταστεί ποιοι συνδυασμοί αυτών των διαδραστικών παραλλαγών γονιδίων με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες οδηγούν σε αντίσταση στη θεραπεία και τοπικοπεριοχική υποτροπή.

Απαιτούνται προοπτικές μελέτες, μεγάλης κλίμακας, βασισμένες στον πληθυσμό, που να καταγράφουν τα χαρακτηριστικά των όγκων συμπεριλαμβανομένης της κατάστασης HR/HER2, σχετικά με την ασθενή και των παραγόντων τρόπου ζωής, το οικογενειακό ιστορικό και το αποτέλεσμα ελέγχου BRCA, και τη θεραπεία (χειρουργική επέμβαση, ακτινοβολία, εμπειρική κυτταροτοξική χημειοθεραπεία και στοχευμένη θεραπεία).

Η σύγκριση όλων αυτών των μεταβλητών μεταξύ των ασθενών με και χωρίς υποτροπή θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη ενός περίπλοκου, βασισμένου σε υπολογιστή, μαθηματικού προτύπου που να διακρίνει ασθενείς υψηλού κινδύνου για καρκίνο στον ομόπλευρο πάσχοντα μαστό ή/και στον ετερόπλευρο μαστό από εκείνους με χαμηλό κίνδυνο. Αυτό το πρότυπο θα επιτρέψει μια καθοδηγούμενη, προσαρμοσμένη στην ασθενή χειρουργική επέμβαση για να εμποδίσει τη τοπικοπεριοχική υποτροπή. Η εξατομικευμένη χειρουργική λήψη αποφάσεων θα επιτρέψει την επιθετική χειρουργική επέμβαση μόνο στις υψηλού κινδύνου ασθενείς ενώ οι χαμηλού κινδύνου ασθενείς θα θεραπεύονται με επέμβαση διατήρησης του μαστού. Αυτή η εξατομικευμένη χειρουργική προσέγγιση θα βελτιώσει τις ογκολογικές εκβάσεις, τη χειρουργική νοσηρότητα και τη γενικότερη ποιότητα επιβίωσης. Περιεκτικά πρωτόκολλα αναπτύσσονται και προτείνονται για την εξατομικευμένη πρόληψη και τη θεραπεία των συμπαγών όγκων, βασισμένα στις πιο πρόσφατες προόδους της εξατομικευμένης γενομικής [161]. Εντούτοις, πρέπει να υπογραμμιστεί πάλι ότι καμία από τις τεχνολογικές και επαναστατικές ανακαλύψεις της γενομικής δεν έχει μεταφερθεί ακόμα στην ευρεία κλινική πράξη.

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός του παρόντος εκπονήματος ήταν να εξετάσει ενδεχόμενη προγνωστική σημασία της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης συγκεκριμένων δεικτών, όπως Ki-67, Topoisomerase IIa, P53, και HER2, σε ασθενείς με καρκίνο μαστού και οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού.

Επιπλέον αναλύονται τα αποτελέσματα γενετικού ελέγχου των *BRCA1* και *BRCA2* γονιδίων σε γυναίκες της Ηπείρου ή και άλλων περιοχών με οικογενειακό ιστορικό. Τέλος με βάση την ανάλυση όλης της σύγχρονης βιβλιογραφίας παρουσιάζεται ένας πρωτότυπος αλγόριθμος όλων των ειδικών εξετάσεων όπως γενετικός έλεγχος, απεικονιστική ανάλυση και δείκτες σε ειδική χρονική συσχέτιση και συχνότητα που απαιτείται εξειδικευμένα για την παρακολούθηση γυναικών με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού ή ωοθήκης.

### Εισαγωγή

Η συστηματική θεραπευτική προσέγγιση γυναικών με καρκίνο μαστού περιλαμβάνει χημειοθεραπεία, ορμονοθεραπεία και βιολογικά στοχευμένη θεραπεία. Στην κλινική πράξη η απόφαση για το εάν χορηγηθεί συστηματική θεραπεία και ποια, καθορίζεται με βάση συγκεκριμένα κριτήρια. Στα κριτήρια αυτά περιλαμβάνονται προγνωστικοί και προβλεπτικοί δείκτες. Σκοπός των προγνωστικών δεικτών είναι να προβλέψουν την καλή πρόγνωση (μακροχρόνια επιβίωση) ή την κακή πρόγνωση που συνιστά υψηλό κίνδυνο μεταστατικής υποτροπής που συνήθως οδηγεί στον θάνατο της ασθενούς. Ασθενείς υψηλού κινδύνου πρέπει να αντιμετωπίζονται με συστηματική θεραπεία ενώ ασθενείς χαμηλού κινδύνου μπορεί να αποφύγουν την τοξικότητα της χημειοθεραπείας. Οι προβλεπτικοί δείκτες σκοπό έχουν την πρόβλεψη ανταπόκρισης και τοξικότητας σε συγκεκριμένο θεραπευτικό σχήμα ή σε μεμονωμένο φάρμακο πριν την εφαρμογή της θεραπείας.

Διεθνή πρότυπα (standards) και κατευθυντήριες οδηγίες (guidelines) από διεθνείς Οργανισμούς καθορίζουν σήμερα την κλινική απόφαση για συστηματική αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνο μαστού με βάση την τεκμηριωμένη Ιατρική (evidence-based medicine).

Η σύγχρονη συστηματική αντιμετώπιση ασθενών με πρώιμο καρκίνο μαστού βασίζεται στα εξής κριτήρια και προγνωστικούς παράγοντες: ηλικία ασθενούς, το μέγεθος του όγκου (T), την κατάσταση των λεμφαδένων (N), τον ιστολογικό βαθμό κακοήθειας (grade), την κατάσταση των ορμονικών υποδοχέων (ER/PR) και την κατάσταση HER2/neu (ενίσχυση [amplification] του γονιδίου ή υπερέκφραση της HER2/neu πρωτεΐνης). Χρήσιμα δεδομένα επίσης θεωρούνται η νεοπλασματική διήθηση αγγείων, λεμφαγγείων και νεύρων [52, 98].

Υπάρχει έλλειψη προγνωστικών δεικτών που να διακρίνουν μεταξύ ασθενών οι οποίες θα επωφεληθούν από τη χημειοθεραπεία και για τις οποίες αυτή η επιβλαβής θεραπεία δεν είναι απαραίτητη. Αυτό ισχύει σε μεγαλύτερο βαθμό για τις ασθενείς με κληρονομικό καρκίνο μαστού. Σχεδόν 40 χρόνια μετά την εισαγωγή του συστήματος αξιολόγησης Bloom–Richardson για τον ιστολογικό βαθμό και την πρόγνωση [162], οι Elston και Ellis μείωσαν σημαντικά την ποικιλία-αστάθεια της βαθμονόμησης του παρατηρητή με το να προσθέσουν τροποποιήσεις, συμπεριλαμβανομένης της ημιποσοτικής ποσοστιαία αξιολόγησης των τριών προγνωστικών παραμέτρων που χρησιμοποιούνταν στην αξιολόγηση των Bloom–Richardson: την έκταση των σωληνωδών σχηματισμών, την εμφάνιση πυρηνικού πλειομορφισμού, και την έκταση υπερχρωμογραφικών σχηματισμών – π.χ., μιτωτική δραστηριότητα [163-165]. Το τροποποιημένο σύστημα ταξινόμησης που αναπτύχθηκε από τους Elston και Ellis βελτίωσε σημαντικά την αναπαραχθισιμότητα της βαθμονόμησης. Πάντως, η ολική συνέπεια αυτού του συστήματος με την έννοια της ασυμφωνίας των παρατηρητών, περιγράφεται ακόμη ως μέτρια σε μερικές μελέτες [166, 167].

### **Ki-67**

Η εκτίμηση άλλων παραγόντων, όπως το αντιγόνο Ki-67, έχει επίσης καθιερωθεί στην κλινική πράξη για τον σποραδικό καρκίνο μαστού. Τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από αυξημένη μίτωση και πολλαπλασιασμό. Μεταξύ διάφορων δεικτών πολλαπλασιασμού, ο Ki 67 αξιολογείται ως η συχνότερη πρωτεΐνη στον καρκίνο μαστού. Το γεγονός ότι η πρωτεΐνη Ki 67 είναι παρούσα κατά τη διάρκεια όλων των ενεργών φάσεων του κυτταρικού κύκλου (G1, S, G2, και μίτωση), αλλά είναι απύσχα από τα ανενεργά κύτταρα (G0), την κάνει έναν άριστο δείκτη για τον καθορισμό της αύξησης στους ιστούς. Κατά τη διάρκεια της ενδιάμεσης φάσης, το αντιγόνο μπορεί να ανιχνευθεί αποκλειστικά μέσα στον πυρήνα, εναλλακτικά, κατά τη μίτωση, το μεγαλύτερο μέρος της πρωτεΐνης ανακατανέμεται στην επιφάνεια των χρωμοσωμάτων. Ο εντοπισμός της πρωτεΐνης Ki 67, καθώς επίσης και των διαφορετικών ισομερών της, θα μπορούσε να διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Εντούτοις, η ακριβής βιολογική λειτουργία της Ki 67 παραμένει ασαφής, ακόμη και 20 έτη μετά από την αρχική περιγραφή [168]. Σε πολλές μελέτες, η έκφραση αυτού του δείκτη συνδέθηκε με τη μειωμένη επιβίωση ελεύθερης-νόσου και μειωμένη ολική επιβίωση [169-171] στις ασθενείς με καρκίνο μαστού. Συσχετίζεται με μερικούς άλλους προγνωστικούς παράγοντες, αλλά η προγνωστική δύναμη του Ki-67 που σχετίζεται με την πρόγνωση φαίνεται ανεξάρτητη από τους άλλους παράγοντες [172]. Από όλους τους παράγοντες που έχουν εξεταστεί, ο ιστολογικός βαθμός είναι ο καθαρά σχετιζόμενος με την έκφραση του Ki-67 [173-184]. Πάντως, αυτό φαίνεται να έχει μικρή σχέση, καθώς ο βαθμός μίτωσης αποτελεί μέρος του συστήματος ταξινόμησης σε κάθε περίπτωση.

Αναφορικά με την κατάσταση του ορμονικού υποδοχέα, οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει μια αντίστροφη σχέση ανάμεσα στο Ki-67 και τον οιστρογονικό και τον προγεστερονικό υποδοχέα. [173, 181, 185] Η σχέση ανάμεσα στη κατάσταση του HER2/neu και του Ki-67 είναι αντίστροφη, αν και μερικές μελέτες έχουν δείξει μια θετική συσχέτιση, ενώ μερικές άλλες όχι [182, 186-188]. Αυτό μπορεί να οφείλεται στα μικρά δείγματα κάποιων μελετών, που οδηγούν σε ασυνεπή δεδομένα σχετικά με τη σχέση ανάμεσα στο Ki-67 και την λεμφαδενική κατάσταση και το στάδιο του όγκου.

Η αξία του Ki-67 ως προγνωστικού δείκτη για τον καρκίνο μαστού στην ανταπόκριση στην προεγχειρητική αντιορμονική θεραπεία και την χημειοθεραπεία έχει επίσης ερευνηθεί σε μελέτες που μελετούν την έκφραση του Ki-67 μετά από 2-16 εβδομάδες θεραπείας. Βρέθηκε ότι η μειωμένη έκφραση του Ki-67 σχετίζεται με θετική ανταπόκριση στη θεραπεία [182, 186-191].

### **TOP IIα**

Ένας δεύτερος παράγοντας που απέκτησε ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια είναι η Τοποϊσομεράση II (TOP IIα). Αυτή η πυρηνική πρωτεΐνη είναι υπεύθυνη για διάφορες φάσεις στην αντιγραφή του δεσοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) και γι' αυτό αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην μίτωση. Αυτό το πυρηνικό ένζυμο είναι μια από τις πέντε αναγνωρισμένες τοποϊσομεράσες που αλληλεπιδρούν με τη διπλή-έλικα του κυτταρικού DNA, διαδραματίζοντας κατά συνέπεια έναν σημαντικό ρόλο στον αναδιπλασιασμό, τη μεταγραφή, τον ανασυνδυασμό, τη συμπύκνωση ή το διαχωρισμό του DNA [192]. Οι Τοποϊσομεράσες αποτελούν στόχο πολλών αντιμιτωτικών και αντιπολλαπλασιαστικών φαρμάκων, που αποκαλούνται αναστολείς της τοποϊσομεράσης, εκ των οποίων οι ανθρακυκλίνες είναι κλινικά οι σημαντικότερες στον καρκίνο μαστού. Η ενίσχυση ή η πρωτεϊνική έκφραση του γονιδίου *top IIα* αναφέρεται επίσης πως είναι ένας αρνητικός προγνωστικός παράγοντας [193] και προβλέπει κυρίως την απάντηση στην ανθρακυκλίνη. Καθώς είναι ο κύριος στόχος των ανθρακυκλινών, μια ενίσχυση του γονιδίου *top IIα*, το οποίο βρίσκεται κοντά στο γονίδιο HER2 στο Χρωμόσωμα 17, ή μια υπερέκφραση βελτιώνει την απάντηση σε αυτή την κατηγορία φαρμάκων, η οποία επιβεβαιώθηκε τόσο in vitro Amplification and deletion of topoisomerase IIalpha associate with ErbB-2 amplification and affect sensitivity to topoisomerase II inhibitor doxorubicin in breast cancer [194] όσο και σε ασθενείς με προεγχειρητική χημειοθεραπεία [195, 196].

### ***TP53***

Τα πρώτα βήματα της καρκινογένεσης χαρακτηρίζονται από γενετικές αλλαγές. Μια δυσαναλογία μεταξύ των γονιδίων-υποκινητών και γονιδίων-καταστολέων των όγκων οδηγεί σε επιτάχυνση των μιτώσεων και πολλαπλασιασμό. Το *TP53* γονίδιο-καταστολέας όγκων, που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17, κωδικοποιεί την πυρηνική πρωτεΐνη p53, η οποία ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των κανονικών κυττάρων [197]. Στους κακοήθεις όγκους, ετερογενείς μορφές μεταλλάξεων μπορούν να βρεθούν [198]. Οι περισσότερες μεταλλάξεις στο *TP53* οδηγούν σε μια συσσώρευση μη λειτουργικής πρωτεΐνης στους πυρήνες των κυττάρων των όγκων, που αποτρέπει την απόπτωση και που οδηγεί σε προνομιούχο αύξηση των εξαλλαγμένων κυττάρων. Λόγω του μακρού χρόνου ημιζωής αυτών των πρωτεϊνών, μπορούν να ανιχνευθούν με ανοσοϊστοχημικές χρώσεις όπου στο 20% - 40% των καρκίνων μαστού παρουσιάζουν μεταλλάξεις στο γονίδιο *TP53* [199]. Αν και υπάρχει διαμάχη σχετικά με την καταλληλότερη μέθοδο για τον καθορισμό της κατάστασης του p53, πολλές μελέτες αποκάλυψαν ότι το γονίδιο *TP53* και οι σχετικές πρωτεϊνικές μεταλλάξεις έχουν αρνητική προγνωστική επίδραση στην ολική επιβίωση [200-202].

### ***HER2***

Τέλος, ένας από τους καλύτερα διερευνημένους βιολογικούς παράγοντες στον καρκίνο μαστού είναι ο υποδοχέας του ανθρώπινου επιθηλιακού παράγοντα αύξησης 2 (*HER2* ή *cerbB2*), που ανήκει σε μια οικογένεια τεσσάρων χαρακτηρισμένων υποκατηγοριών υποδοχέων αυξητικών παραγόντων. Ο *HER2* είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη 185 kDa που κωδικοποιείται από ένα γονίδιο στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 17. Το εξωκυττάριο τμήμα συνδέεται σε διαφορετικούς συνδέσμους ενώ το ενδοκυττάριο τμήμα μεσολαβεί στη μεταγωγή σημάτων στον πυρήνα με τη δραστηριότητα της κινάσης της τυροσίνης. Ο *HER2*, είναι ένας δείκτης των επιθετικών όγκων, προάγει την αυξημένη μίτωση, παρεμποδίζει την απόπτωση, προάγει την νεοαγγειογένεση, την μετανάστευση των ογκοκυττάρων και την διήθηση [203]. Αν και η προγνωστική ισχύς του *HER2* είναι υπό συζήτηση, οι περισσότερες μελέτες ανακάλυψαν έναν σημαντικό συσχετισμό μεταξύ της υπερέκφρασης ή της ενίσχυσης του *HER2* και της φτωχής επιβίωσης [204]. Επιπλέον, η υπερέκφραση του *HER2* προβλέπει μια φτωχή απάντηση στην αντιορμονική θεραπεία και στη θεραπεία με κυκλοφωσφαμίδη-μεθοτρεξάτη-φθοροουρακίλη (CMF), αν και καλύτερη απάντηση έχει παρουσιαστεί στη θεραπεία που βασίζεται στην ανθρακυκλίνη, στην ταξάνη και κυρίως, στην τραστουζουμάμπη [205].

### **Ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό και αρνητική εξέταση για *BRCA1/BRCA2***

Ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου μαστού σε γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού η /και ωοθήκης είναι γενικά διπλάσιος του κινδύνου που έχουν γυναίκες χωρίς κληρονομικό ιστορικό. Ο κίνδυνος αυτός αυξάνεται εάν μια γυναίκα έχει έναν συγγενή πρώτου-βαθμού με διάγνωση καρκίνου μαστού σε νεαρή ηλικία (< 40 ετών), ή εάν έχει 2 ή περισσότερους συγγενείς με καρκίνο μαστού ανεξαρτήτως της ηλικίας νόσησης [206]. Η μελέτη αυτή [206] ανέλυσε δεδομένα από 52 επιδημιολογικές μελέτες σχετικά με τους κινδύνους καρκίνου μαστού στους συγγενείς πρώτου-βαθμού. Η κατ' εκτίμηση συσσωρευτική επίπτωση καρκίνου μαστού μέχρι την ηλικία των 80 ετών για τα άτομα με μηδέν, έναν, και δύο πρώτου-βαθμού συγγενείς ήταν 7.8, 13.3, και 21.1%, αντίστοιχα [206].

Περίπου, 25% των ασθενών με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού φέρουν μια μετάλλαξη στο *BRCA1* ή *BRCA2* γονίδιο [207, 208]. Ως εκ τούτου, η πλειοψηφία των γυναικών με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού θα λάβει ένα αρνητικό αποτέλεσμα γενετικού ελέγχου. Για αυτές τις γυναίκες, η πλήρη γενετική συμβουλή μετά την λήψη ενός αρνητικού *BRCA1/2* αποτελέσματος είναι εξαιρετικά δύσκολη. Η προσέγγιση στην εκτίμηση κινδύνου εμφάνισης καρκίνου μαστού βασίζεται στην εξέταση του γενεαλογικού δέντρου και την αξιολόγηση άλλων παραγόντων κινδύνου. Θα πρέπει να διασφαλιστεί η αξιοπιστία του γενετικού ελέγχου. Για παράδειγμα σε ένα ποσοστό 10-20% υπάρχουν genomic rearrangements (γενωμικές αναδιατάξεις) που δεν ανιχνεύονται από τα περισσότερα εργαστήρια γιατί απαιτούν ειδική τεχνική. Συνεπώς επί

αρνητικού BRCA1/2 αποτελέσματος για SNPs θα πρέπει να αναλύεται σε ειδικά εργαστήρια και η εξέταση για genomic rearrangements.

### **Παρακολούθηση**

Η συλλογή δεδομένων παρακολούθησης για την ανάλυση ξεκίνησε τον Δεκέμβριο 2004 και σταμάτησε στις 31 Δεκεμβρίου 2008.

### **Μέθοδοι**

Τα κριτήρια για να συμπεριληφθεί μια γυναίκα στην παρούσα μελέτη βασίστηκαν στο οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού ή ωοθήκης. Η επιλογή βασίστηκε στον αριθμό συγγενών 1<sup>ου</sup>-3<sup>ου</sup> βαθμού συγγένειας και στη ηλικία διάγνωσης του καρκίνου. Διακρίνονται σύμφωνα με τις κατευθυντήριες συστάσεις-οδηγίες [209] οι εξής υποκατηγορίες που συμπεριελήφθησαν στην μελέτη: α) γυναίκες με 3 ή περισσότερες συγγενείς ανεξαρτήτως ηλικίας. β) εάν υπήρχαν μόνο 2 συγγενείς τότε θα πρέπει η μία τουλάχιστον να προσβλήθηκε από καρκίνο μαστού σε ηλικία < 50 ετών. γ) η περίπτωση ύπαρξης ενός μόνον 1<sup>ου</sup> βαθμού συγγενούς με διάγνωση σε ηλικία ≤ των 35 ετών. δ) ύπαρξη 2 συγγενών ο ένας εκ των οποίων είχε διάγνωση καρκίνου ωοθηκών έστω και εάν και οι 2 νόσησαν σε ηλικία > 50 ετών. ε) έστω και 1 μόνο συγγενής με καρκίνο ωοθηκών ανεξαρτήτως ηλικίας.

Όλες οι ασθενείς που ικανοποιούσαν αυτά τα κριτήρια και συμφώνησαν και έδωσαν γραπτή συγκατάθεση για λήψη δείγματος αίματος για γενετικό έλεγχο συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Στα επιλέξιμα άτομα φτιάχτηκε το γενεαλογικό τους δέντρο. Κάθε γενεαλογικό δέντρο χρονολογήθηκε την ημέρα στην οποία συλλέχθηκαν οι πληροφορίες. Η αρχική γυναίκα που προσήλθε και εισάχθηκε στην μελέτη ήταν το πρώτο πρόσωπο από την οικογένεια στην διαμόρφωση του γενεαλογικού δένδρου.

Τα συλλεχθέντα στοιχεία συμπεριέλαβαν την ηλικία, την ύπαρξη διάγνωσης καρκίνου στην ίδια την γυναίκα που εισήλθε στην μελέτη, προηγηθείσα τυχόν θεραπευτική ή προφυλακτική χειρουργική επέμβαση, και τη γενική κατάσταση. Σε περίπτωση που η αρχική ασθενής δεν ήταν εξοικειωμένη με το οικογενειακό ιστορικό με ικανοποιητικές λεπτομέρειες, της ζητήσαμε να προσδιορίσει ένα δεύτερο πρόσωπο στην οικογένεια που ήταν σε θέση να παρέχει τις πρόσθετες λεπτομέρειες.



**Πίνακας 5 κλινικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα ασθενών που διενεργήθηκε ανοσοϊστοχημικός έλεγχος**

Παράμετρος	Ομάδα Οικογενειακού Ιστορικού N (%)
Ιστολογικός βαθμός	
Καλή-διαφοροποίηση	1/21 (4.8)
Μέτρια-διαφοροποίηση	13/21 (61.9)
Φτωχή-διαφοροποίηση	7/21 (33.3)
Ιστολογικός υπότυπος	
Πορογενές	18/21 (85.7)
Λοβιακό	2/21 (9.5)
Σωληνώδες	1/21 (4.8)
Στάδιο T	
T1	7/21 (33.3)
T2	7/21 (33.3)
T3	4/21 (19.0)
T4	3/21 (14.3)
Μέγεθος όγκων	
Μέση τιμή ± ΜΔ	3.12 ± 1.72
Διάμεσος	2.6 (2.97)
Διακύμανση	0.9–6.0

#### **ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ & ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

Στα εξωτερικά ιατρεία της Πανεπιστημιακής Χειρουργικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων εξετάσαμε συνολικά 47 γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό κληρονομικότητας καρκίνου μαστού ή/και ωοθήκης. Από αυτές τις γυναίκες σε γενετικό έλεγχο με μερική ή πλήρη σάρωση των γονιδίων υποβλήθηκαν 19 γυναίκες που ικανοποιούσαν όλα τα κριτήρια.

#### **Γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό και πλήρη γενετικό έλεγχο για μεταλλάξεις BRCA1/2**

Στην παρούσα μελέτη ακολουθήθηκαν δύο τεχνικές ανίχνευσης μεταλλάξεων.

Η πρώτη περιελάμβανε γενετικό υλικό που απομονώθηκε από περιφερικό αίμα και πλήρη ανίχνευση ολόκληρης της κωδικοποιούσας περιοχής στα εξόνια 2, 3, 5-24 για το γονίδιο *BRCA1* και πλήρη ανίχνευση ολόκληρης της κωδικοποιούσας περιοχής στα εξόνια 2-27 για το γονίδιο *BRCA2* με ανάγνωση της αλληλουχίας του γενετικού υλικού (direct sequencing). Με την παραπάνω μεθοδολογία εντοπίζονται σημειακές μεταλλάξεις (point mutations):

- αντικατάσταση νουκλεοτιδίων (πολυμορφισμοί) [single-nucleotide-polymorphisms (SNPs) μεμονωμένοι πολυμορφισμοί νουκλεοτιδίων].
- μικρού μήκους ελλείψεις (small deletions),
- μικρού μήκους ενθέσεις (small insertions)

Δεν πραγματοποιήθηκε έλεγχος για ανεύρεση genomic rearrangements (γενωμικές αναδιατάξεις) ούτε για copy-number-variants (CNVs) [παραλλαγές αριθμού αντιγράφων]. Απαιτείται ειδική τεχνική και μέθοδος για ανίχνευση μεγάλων βλαβών όπως γενωμική αναδιάταξη του DNA που είναι εξαιρετικά εξειδικευμένη εξέταση που γίνεται σε ορισμένα μόνον Κέντρα του εξωτερικού. Όμως αποτελούν το 12-17% των περιπτώσεων αιτιολογικών *BRCA* μεταλλάξεων. Συνεπώς αποδεικνύεται για μια ακόμη φορά ότι η συμβουλευτική και η τελική απόφαση για προληπτική παρέμβαση είναι μια εξαιρετικά σύνθετη και περίπλοκη διεργασία που πρέπει να πραγματοποιείται από εξειδικευμένη ομάδα ειδικών επιστημόνων.

Με την τεχνική για ανεύρεση σημειακών μεταλλάξεων (point mutations) εξετάστηκαν 8 γυναίκες με θετικό οικογενειακό ιστορικό. Σε μία γυναίκα ανευρέθηκε αιτιολογική μετάλλαξη του γονιδίου *BRCA1* στο εξόνιο 5 (p.C61G).

<b>Πίνακας 6.</b> Στοιχεία γυναικών με θετικό οικογενειακό ιστορικό που διενεργήθηκε γενετικός έλεγχος		
<b>α.</b> Στοιχεία γυναικών που διενεργήθηκε πλήρης γενετικός έλεγχος		
<b>A/a</b>	<b>Όνοματεπώνυμο</b>	<b>Αποτέλεσμα γενετικού ελέγχου</b>
1	<b>Ξ.Α</b>	(-)
2	<b>Κ.Π</b>	(-)
3	<b>Σ.Α</b>	(+) εξόνιο 5 (p.C61G)
4	<b>Π.Α.</b>	(-)
5	<b>Α.Β.-Μ.</b>	(-) εξόνιο 11 (A524V) Άγνωστης σημασίας
6	<b>Ε.Μ.</b>	(-)
7	<b>Α.Γ.</b>	(-)
8	<b>Ι.Γ.</b>	(-)
<b>β.</b> Στοιχεία γυναικών που διενεργήθηκε μερικός γενετικός έλεγχος		
9	<b>Μ.Μ.</b>	(-)
10	<b>Α.Σ.</b>	(-)
11	<b>Λ.Α.</b>	(-)
12	<b>Κ.Μ.</b>	(-)
13	<b>Α.Κ.</b>	(-)
14	<b>Α.Μ.</b>	(-)
15	<b>Ε.Μ.</b>	(+) 2041insA
16	<b>Α.Μ.</b>	(+) 2041insA
17	<b>Ε.Π.</b>	(-)
18	<b>Β.Τ.</b>	(-)
19	<b>Μ.Κ.</b>	(+) 5382insC

#### **Στοχευμένος γενετικός έλεγχος**

Η δεύτερη τεχνική διενεργήθηκε σε 11 γυναίκες στα εξόνια 20 και 10 από τα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* αντίστοιχα. Συγκεκριμένα ελέγχθηκαν οι μεταλλάξεις (5382insC, G1738R, R1751X) για το *BRCA1* και (2041insA, 2024del5) για το *BRCA2* αντίστοιχα. Το γενετικό υλικό προήλθε από εξέταση περιφερικού αίματος εφόσον υπήρχαν οι προϋποθέσεις που αναφέρθηκαν για το οικογενειακό ιστορικό και την ενυπόγραφη συγκατάθεση της ασθενούς. Ο έλεγχος αυτός διενεργήθηκε από την ομάδα μοριακής γενετικής του βιοχημικού εργαστηρίου του ΠΓΝΙ. Σε δύο από αυτές τις γυναίκες διαπιστώθηκε μετάλλαξη του γονιδίου *BRCA2* (2041insA) η οποία δεν έχει παρατηρηθεί ξανά στα Βαλκάνια και σε μία γυναίκα μετάλλαξη στο *BRCA1* (5382insC). Συνολικά 3 γυναίκες ήταν θετικές για μετάλλαξη.

#### **Στοχευμένη ανίχνευση μεταλλάξεων στα γονίδια *BRCA1* & *BRCA2***

Ο έλεγχος για την ανεύρεση μεταλλάξεων στην αλληλουχία του DNA πραγματοποιήθηκε από την ομάδα μοριακής γενετικής του βιοχημικού εργαστηρίου του ΠΓΝΙ (Κ<sub>ο</sub> Γ. Κολιό, Κ<sub>α</sub> Χ. Καλογερά, Κ<sub>α</sub> Β. Ψοφάκη). Από δείγματα ολικού αίματος των ασθενών απομονώθηκε DNA από λεμφοκύτταρα περιφερειακού αίματος χρησιμοποιώντας ένα κιτ με την εμπορική συσκευασία QiaAmp DNA Mini Kit της εταιρείας Qiagen (Qiagen GmbH, Hilden, Γερμανία).

Σε όλα τα δείγματα DNA των ασθενών έγινε ενίσχυση με δύο ξεχωριστές αντιδράσεις PCR των εξονίων 20 και 10 από τα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* αντίστοιχα.

Κάθε αντίδραση PCR περιλαμβάνει: 1x PCR ρυθμιστικό διάλυμα (Invitrogen, Καλιφόρνια, Αμερική), 250 ng DNA, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen, Καλιφόρνια, Αμερική), 200 μM από μείγμα νουκλεοτιδίων (NuclMix: dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Invitrogen, Καλιφόρνια, Αμερική), πρόσθια πριμοδοτική αλληλουχία (primer 1) και αντίστροφη πριμοδοτική αλληλουχία (primer 2) 10 pmol/ μl η κάθε μία, Taq DNA Polymerase (1 U / μl) (Invitrogen, Καλιφόρνια, Αμερική) και dH<sub>2</sub>O μέχρι τελικό όγκο αντίδρασης 50μl.

Η πριμοδοτικές αλληλουχίες για κάθε PCR και το τελικό μέγεθος του προϊόντος καταγράφονται στον **πίνακα 7**.

#### **Πίνακας 7**

Γονίδιο	Πριμοδοτικές αλληλουχίες	Προϊόν PCR (bp)
BRCA1 (exon 20)	1: 5'-ATATGACGTGTCTGCTCC-3' 2: 5'-GGGAATCCAAATTACACAGC-3'	400
BRCA2 (exon 10)	1: 5'-CCTAAAGAGACTTTCAATGC-3' 2: 5'-AAACACAGAAGGAATCGTCAT-3'	442

Το πρόγραμμα της PCR στον κυκλοποιητή PTC-100™ (MJ Research Inc., Αμερική) και για τα δύο γονίδια είναι: 95°C για 10min, 10 κύκλοι με τα στάδια (94°C για 20sec, 55°C για 40sec, 72°C για 40sec), 30 κύκλοι με τα στάδια (94°C για 20sec, 70°C για 40sec, 72°C για 40sec) και 72°C για 2min.

Μετά το τέλος της ενίσχυσης με PCR, τα προϊόντα ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης 1% και καθαρίστηκαν με το ειδικό εμπορικό kit καθαρισμού προϊόντων PCR από αγαρόζη QIAquick Gel Extraction Kit της Qiagen (Qiagen GmbH, Hilden, Γερμανία).

Στη συνέχεια τα καθαρά πλέον προϊόντα PCR που αντιστοιχούν στα εξονία 20 και 10 των γονιδίων *BRCA1* και *BRCA2* αντίστοιχα, υποβλήθηκαν σε αλληλούχιση (sequencing) με την εμπορική συσκευασία αλληλούχισης του DNA (Thermo Sequenase Cyp5.5 Dye Terminator Cycle Sequencing Kit) της εταιρείας GE Healthcare (GE Healthcare Life Sciences, Λονδίνο, Ηνωμένο Βασίλειο) σύμφωνα με τις οδηγίες της εταιρείας παραγωγής.

Τέλος τα προϊόντα αλληλούχισης για κάθε γονίδιο και κάθε ασθενή υποβάλλονται σε κατακόρυφη ηλεκτροφόρηση, για περίπου 6 ώρες, σε πήκτωμα ουρίας-ακρυλαμίδιου 6M στον αυτόματο αναλυτή αλληλούχισης LI-COR DNA sequencer 4200 (LI-COR Inc., LONG READER 4200, Αμερική) όπου και συλλέγονται τα αποτελέσματα σε ειδικό φάκελο του αναλυτή.

## **ΟΙΚΟΓΕΝΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΜΑΣΤΟΥ – ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ**

### **Γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό χωρίς διενέργεια γενετικού ελέγχου για μεταλλάξεις *BRCA1/2***

Από 277 ασθενείς με καρκίνο μαστού που χειρουργήθηκαν στην Χειρουργική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων από το 2004 έως το 2008 σε 82, ανευρέθηκε οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού. Δεδομένα ήταν διαθέσιμα για 21 από αυτές τις ασθενείς με διηθητικό καρκίνο μαστού και κληρονομικό ιστορικό. Στις ασθενείς αυτές δεν ήταν εφικτή η διενέργεια γενετικού ελέγχου.

Η ανοσοϊστοχημική μέθοδος εφαρμόστηκε σε αρχειακό υλικό του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Ασθενείς με ομοιόμορφη ανοσοϊστοχημική χρώση για Ki-67 (*MIB-1*), Top IIa, και P53 αναγνωρίστηκαν από τη βάση δεδομένων. Ο δείκτης Ki-67 (*MIB-1*), η Top IIa, και η P53 εκτιμήθηκαν από παθολογοανατόμο (AM) βάσει πρωτοκόλλου ρουτίνας. Ο δείκτης πολλαπλασιασμού Ki-67 από *MIB-1*, η Top IIa, και η P53 συσχετίστηκε με την κατάσταση του ορμονικού υποδοχέα, την κατάσταση του HER2/neu,

την ηλικία, το στάδιο του όγκου και την πρόγνωση. Το υλικό ήταν μονιμοποιημένο σε διάλυμα ουδέτερης φορμόλης και εμβυθισμένο σε κύβο παραφίνης. Οι ιστοί κόπηκαν σε τομές πάχους 4μm. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος υπεροξειδάσης και το HRP-EnVision kit (DAKO, Δανία).

Τα βήματα που περιγράφονται πιο κάτω ήταν κοινά για όλα τα αντισώματα.

Τοποθέτηση των πλακιδίων με τις τομές παραφίνης πάχους 4μm σε κλίβανο θερμοκρασίας 60° C για 24 ώρες. Αποπαραφίνωση με εμβύθιση των τομών σε ξυλόλη για 20 λεπτά. Ενυδάτωση των τομών σε διαδοχικώς αραιούμενα (κατιόντα) διαλύματα αιθυλικής αλκοόλης. Έκπλυση με απεσταγμένο νερό.

Διαδικασία επεξεργασίας και αποκάλυψης του αναζητούμενου αντιγονικού επίτοπου. Η διαδικασία αφορούσε την εμβύθιση των τομών σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος (citrate buffer) και την τοποθέτησή τους σε φούρνο μικροκυμάτων στα 300w, για δύο κύκλους των 15 λεπτών έκαστος. Αναστολή της δραστηριότητας της ενδογενούς υπεροξειδάσης με την τοποθέτηση των τομών σε διάλυμα H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε απόλυτη μεθανόλη (0.01M), για 30 λεπτά. Έκπλυση των τομών με ρυθμιστικό διάλυμα tris-buffer-saline (TBS). Επικάλυψη της κάθε τομής με το αντίστοιχο αντίσωμα στην κατάλληλη αραιώση και επώαση του για τον απαιτούμενο χρόνο. Έκπλυση των τομών με ρυθμιστικό διάλυμα tris-buffer-saline (TBS). Επικάλυψη των τομών με το δευτερογενές αντίσωμα (EnVision/HRP) και επώαση τους για 30 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου. Έκπλυση των τομών με ρυθμιστικό διάλυμα tris-buffer-saline (TBS). Εφαρμογή χρωμογόνου (διαμινοβενζιδινοτετραϋδροχλωρίδιο-DAB). Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό. Αφυδάτωση των τομών σε διαλύματα αιθυλικής αλκοόλης διαδοχικώς αυξανόμενης συγκέντρωσης (ανιόντα). Έκπλυση των τομών με ξυλόλη. Επικάλυψη των τομών.

Η εκτίμηση των αποτελεσμάτων έγινε με την χρήση μικροσκοπίου φωτός από Παθολογοανατόμο (Α.Μ.).

Τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα ακόλουθα:

- Οιστρογονικοί υποδοχείς: μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού για ERα NCL-ER-6F11, Novocastra, Newcastle Upon Tyne, HB, έτοιμο προς χρήση.
- Προγεστερονικοί υποδοχείς: μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού για PR-1A4, Novocastra, Newcastle Upon Tyne, HB, έτοιμο προς χρήση.
- HER2: πολυκλωνικό HercepTest, (A0485, DAKO).
- MIB-1: μονοκλωνικό αντίσωμα για Ki-67, DAKO, αραιώση 1:25.
- P53: κλώνος DO-7, DAKO, αραιώση 1:150.
- Τοποϊσομεράση Πα: κλώνος Ki-S1, DAKO, αραιώση 1:100.

Για τους υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης η ανοσοϊστοχημική χρώση εκτιμήθηκε κατά τρόπο ημιποσοτικό, όπως έχει ήδη περιγραφεί [210]. Το ποσοστό των θετικών νεοπλασματικών κυττάρων καταγράφηκε ως Ρ. Η ένταση της ανοσοχρώσης (i) καταγράφηκε ως ακολούθως: 0= καμία ανοσοδραστικότητα, +1=χαμηλής έντασης χρώση, +2=χαμηλής έντασης χρώση, +3=μέσης έντασης χρώση, +4=έντονη χρώση. Με βάση τα δεδομένα υπολογίστηκε ένα ανοσοϊστοχημικό μέγεθος ως ακολούθως: (i+1)χΡi. Μέγεθος μεγαλύτερο από 50 θεωρήθηκε θετικό.

Η ανοσοχρώση για το HER2/neu έγινε βάση του HercepTest υπολογιστικού συστήματος που ίσχυε ως το 2008 (πίνακας 8).

### Πίνακας 8

Κατάταξη	Κριτήρια
0/αρνητικό	Μη μεμβρανική χρώση ή <10% των κυττάρων χρωσμένα
1+	Ατελής μεμβρανική χρώση σε >10% των κυττάρων
2+	Ασθενής ή μέτρια πλήρης μεμβρανική χρώση σε >10% των κυττάρων
3+	Ισχυρή και πλήρης μεμβρανική χρώση σε >10% των κυττάρων

Για τα αντισώματα Ki-67, p53 και Τοποϊσομεράση Πα εκτιμήθηκε το ποσοστό των νεοπλασματικών κυττάρων με θετική πυρηνική ανοσοχρώση και θετικά θεωρήθηκαν τα δείγματα όταν εκφράζανε το αντίσωμα με διάστημα εμπιστοσύνης μεγαλύτερο από 95%.

### Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SPSS (έκδοση 17.0, SPSS A.E., Σικάγο, Ιλλινόις, ΗΠΑ). Διενεργήθηκαν έλεγχοι T ώστε να διασφαλιστούν τα διαστήματα εμπιστοσύνης για καθέναν από τους βιοδείκτες. Έγινε έλεγχος κατά Kolmogorov-Smirnov για κάθε ένα δείγμα για να ελεγχθεί το είδος της κατανομής της κάθε μεταβλητής. Έγινε μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης (one-way ANOVA) για να ελεγχθεί η σημαντικότητα των μεταβλητών και τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν λόγω του μικρού όγκου του δείγματος με έλεγχο διμεταβλητής συσχέτισης. Οι συσχετίσεις μεταξύ των συγκεκριμένων ιστοπαθολογικών και κλινικών παραγόντων και της πρωτεϊνικής έκφρασης δεικτών αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τις ακριβείς δοκιμές του Fisher's exact tests για τη μελέτη των κατά περίπτωση δειγμάτων με  $p < 0.05$  να θεωρείται ως στατιστικά σημαντικό σε όλους τους ελέγχους.

**Πίνακας 9 Κλινικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα, και ανοσοφαινότυποι**

Περίπτωση	Ηλικία	Ιστολογία	Grade	Λεμφαδένες	Μέγεθος (εκ.)	HER2	ER	PR	TP53	Top Πα	Ki-67
1	28	Πορογενές	III	0/23	3.5X2	-	-	-	+	+	+
2	45	Σωληνώδες	I	0/14	1	-	+	+	+	+	+
3	44	Πορογενές	II	1/15	2	-	+	-	+	-	-
4	35	Πορογενές	III	7/18	1	-	-	-	+	+	+
5	37	Πορογενές	II	5/29	2.5X1	-	+	+	+	+	+
6	37	Πορογενές	III	11/19	5.5	-	-	-	-	-	-
7	38	Πορογενές	III	0/14	1	+	-	-	+	+	+
8	38	Πορογενές	II	0/16	5.5X4.7	-	-	-	+	+	+
9	38	Πορογενές	II	0/18	1.5	-	+	+	+	+	+
10	43	Πορογενές	III	6/14	2	-	-	-	+	-	-
11	41	Πορογενές	II	0/17	0.9	-	+	+	-	+	+
12	45	Πορογενές	III	5/15	5.5X3.5	+	+	+	-	-	+
13	28	Πορογενές	II	3/15	2.5	-	-	-	-	+	+
14	42	Πορογενές	III	13/25	6	-	-	-	+	+	+
15	38	Λοβιακό	II	10/22	4.5	+	+	-	-	-	-
16	36	Πορογενές	III	0/21	2	-	+	+	+	+	+
17	38	Πορογενές	II	0/15	2.8	-	+	+	+	+	+
18	61	Λοβιακό	III	0/25	5X3.5	-	+	-	-	+	+
19	28	Πορογενές	II	13/17	5X4	+	+	+	-	+	+
20	31	Πορογενές	III	0/16	2.5	-	-	-	+	+	+
21	35	Πορογενές	III	2/18	2.2	-	-	-	-	-	-

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### Κλινικά και παθολογο-ανατομικά χαρακτηριστικά ασθενών

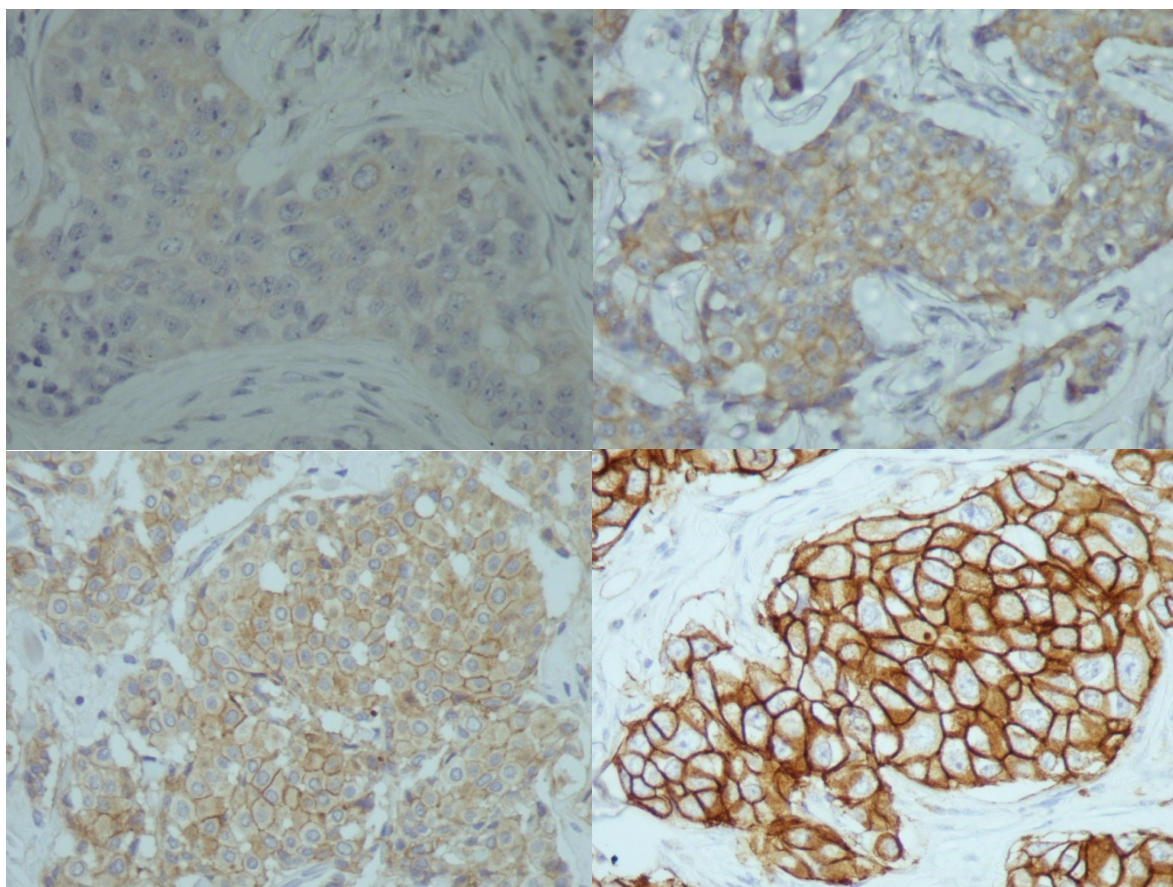
Τα κλινικά και παθολογο-ανατομικά χαρακτηριστικά αφορούν γυναίκες με τεκμηριωμένη ιστολογικά διάγνωση διηθητικού καρκίνου μαστού και κληρονομικό ιστορικό. Στις ασθενείς αυτές δεν ήταν εφικτή η διενέργεια BRCA test. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 38 έτη (28 έως 61). Η ιστολογική εξέταση έδειξε ότι από τις 21 ασθενείς, οι 7 ασθενείς (33.3%) είχαν όγκο στο αρχικό στάδιο pT1. Στις υπόλοιπες 14 ασθενείς η παθολογοανατομική (p) σταδιοποίηση έδειξε πιο προχωρημένα στάδια νόσου ως εξής: 7 ασθενείς pT2 (33.3%), 4 pT3 (19%), και 3 pT4 (14.3%). Επιπλέον, σε 11 ασθενείς (52.4%) διαπιστώθηκαν ιστολογικά μεταστάσεις στους λεμφαδένες (pN1, pN2, pN3) ενώ σε 10 (47.6%) δεν υπήρχαν μεταστάσεις (pN0) κατά την αρχική χειρουργική επέμβαση. Ο βαθμός διαφοροποίησης (grading: G) του καρκίνου ήταν: 1 (4.8%) ταξινομήθηκε ως G1, 13 (61.9%) ως G2, και 7 (33.3%) ως G3. Αναλυτικότερα βλέπουμε τον **πίνακα 9**.

Συγκρίνοντας τις ιστολογικές παραμέτρους, το μέγεθος του όγκου συσχετίστηκε σημαντικά με τη συμμετοχή των λεμφαδένων ( $p=0.024$ ), τον ιστολογικό βαθμό ( $p=0.03$ ) και το στάδιο N ( $p=0.013$ ), υπήρξε μια ανάστροφη συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους του όγκου και του ιστολογικού βαθμού (grade) ( $p=0.03$ ), μια σημαντική συσχέτιση των οιστρογονικών και των προγεστερονικών υποδοχέων ( $p=0.001$ ) αλλά και ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες ( $p=0.006$ ).

Δεδομένου ότι ήταν μια αναδρομική μελέτη, οι ασθενείς έλαβαν επικουρική θεραπεία σύμφωνα με τις προηγούμενες διεθνείς συστάσεις. Οι ασθενείς είχαν επικουρική χημειοθεραπεία, θεραπευτικές αγωγές που συνίστανται από CMF (10 ασθενείς), συνδυασμούς που περιέχουν ανθρακυκλίνη (6 ασθενείς), το συνδυασμό ανθρακυκλίνης/ταξάνης (4 ασθενείς) και ταξάνη σε άλλους συνδυασμούς (ένας ασθενής). Οκτώ ασθενείς έλαβαν αντιορμονική θεραπεία.

### **HER2 ανοσοϊστοχημεία και φθορισμός *in situ* υβριδοποίησης**

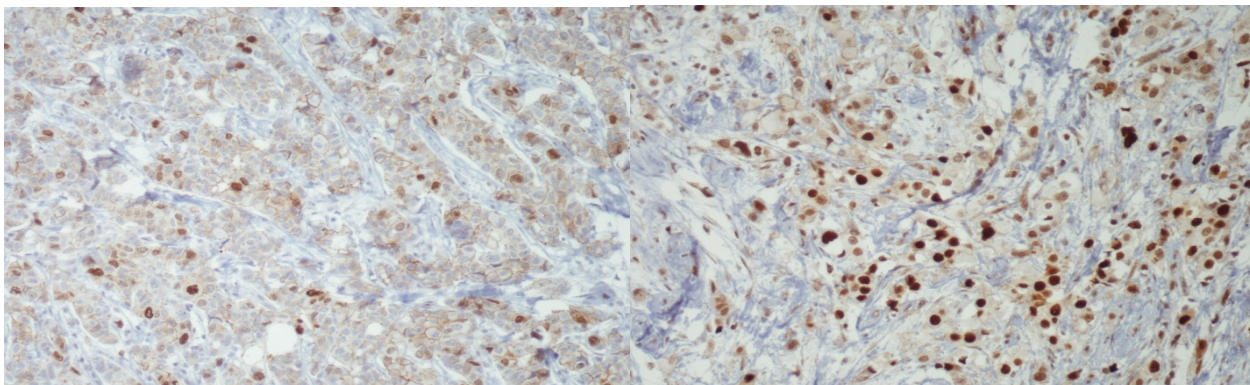
Συνολικά, 21 όγκοι μπόρεσαν να αξιολογηθούν για HER2 ανοσοϊστοχημικά. Από αυτούς, 9 όγκοι κατατάχθηκαν ως 0 (43.1%), 5 (23.8%) ως 1+, 4 (19.1%) ως 2+, και 3 (14.0%) ως 3+. Συνοπτικά, 17 (80.9%) όγκοι ήταν HER2 αρνητικοί (0, 1+, 2+), αξίζει να διευκρινιστεί εδώ ότι σε όλους τους όγκους που ήταν 2+ (4 συνολικά) έγινε ανάλυση FISH, ώστε να επιβεβαιωθεί η θετικότητα ή όχι της αρχικής εξέτασης, 3 όγκοι (75%) δεν παρουσίασαν καμία HER2 ενίσχυση, 1 ήταν θετικός (25%) με μια ενίσχυση  $\geq 2$ . Δηλαδή ειδικά για τους όγκους HER2 (2+) από τους 4 οι 3 ήταν αρνητικοί και ο ένας ήταν θετικός για HER2. Συνολικά 4 (19.1%) όγκοι ήταν HER2 θετικοί (2+, 3+). Διαπιστώσαμε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ μη-έκφρασης της HER2 ανοσοϊστοχημείας και έκφρασης της Top IIa ( $p=0.048$ ), Ki 67 ( $p = 0.031$ ) και τους οιστρογονικούς υποδοχείς ( $p=0.036$ ). Παρόμοια σχέση δεν βρήκαμε με τους τυποποιημένους ιστολογικούς δείκτες.



**Εικόνα 1.** Εικόνες από κύτταρα με HER2 χρώσεις

### **Τοποϊσομεράση Πα**

Χρησιμοποιήσαμε σαν κατώφλι τη χρώση του 15% τουλάχιστον του συνόλου των καρκινικών κυττάρων (με διάστημα ασφαλείας 95%). Συνολικά, 21 όγκοι μπόρεσαν να αξιολογηθούν για την έκφραση Top Πα. Η διάμεση τιμή έκφρασης ήταν 15% (5 έως 75). Η διάμεσος αυτή μέτρηση έχει χρησιμοποιηθεί ως κατώφλι επίσης από άλλους ερευνητές [211]. Η θετικότητα της Top Πα (>15%,  $n = 15$ , 71.4%) συσχετίστηκε σημαντικά με την αρνητικότητα των οιστρογονικών υποδοχέων ( $p = 0.026$ ), την έκφραση Ki 67 ( $p = 0.006$ ) και με την παρουσία μεταστάσεων στους λεμφαδένες ( $p = 0.024$ ). Επίσης, θετική συσχέτιση φάνηκε στις ασθενείς με θετική HER2 ανοσοϊστοχημεία ( $p = 0.006$ ).



**Εικόνα 2.** Εικόνες από κύτταρα με χρώσεις για Topoisomerase Πα

**Πίνακας 10. Χαρακτηριστικά ασθενών όγκων και συσχετίσεις με χρώση για Top Πα**

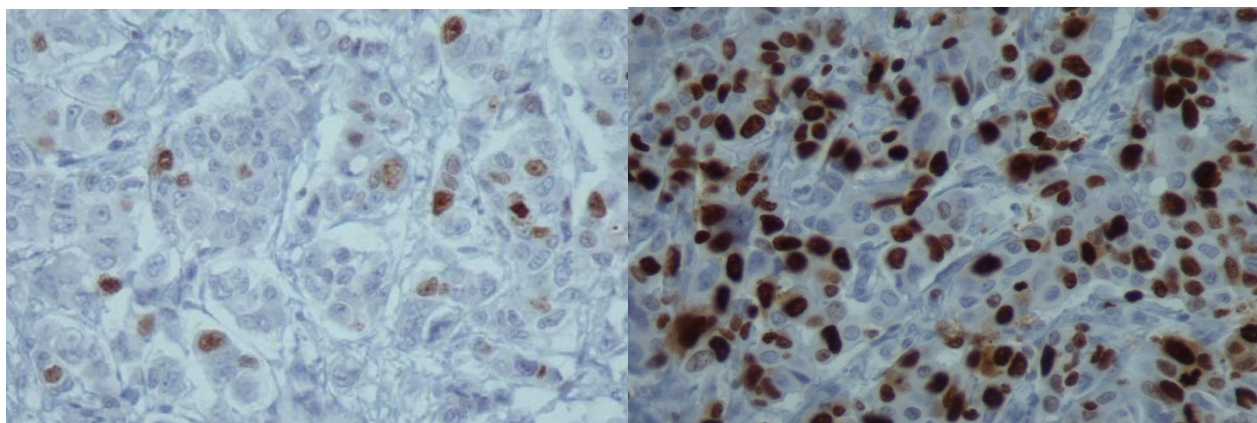
Χαρακτηριστικό		Top Πα <15	Top Πα >15	Σύνολο ν (%)	P αξία <sup>a</sup>
<b>PT</b>	1	0	5 (100%)	5 (100)	0.74
	2	3 (33.3%)	6 (66.6%)	9 (100)	
	3	1 (50%)	1 (50%)	2 (100)	
	4	2 (40%)	3 (60%)	5 (100)	
<b>PN</b>	0	0	10 (100%)	10 (100)	0.024
	1	2 (66.6%)	1 (33.3%)	3 (100)	
	2	2 (50%)	2 (50%)	4 (100)	
	3	2 (50%)	2 (50%)	4 (100)	
<b>Ιστολογία</b>	Πορογενές	4 (22.3%)	14 (77.7%)	18 (100)	
	Λοβιακό	1 (50%)	1 (50%)	2 (100)	
	Σωληνώδες	1 (100%)	0	1 (100)	
<b>Ιστολογικός βαθμός</b>	1	0	1 (100%)	1 (100)	0.706
	2	2 (22.3%)	7 (77.8%)	9 (100)	
	3	4 (36.4%)	7 (63.6%)	11 (100)	
<b>Κατάσταση ER</b>	Αρνητικός	3 (27.3%)	8 (72.7%)	11 (100)	0.026
	Θετικός	3 (30%)	7 (70%)	10 (100)	
<b>Κατάσταση PR</b>	Αρνητικός	5 (31.3%)	11 (68.7%)	16 (100)	0.953
	Θετικός	1 (20%)	4 (80%)	5 (100)	
<b>ER και PR</b>	ER+ PR+	1 (25%)	3 (75%)	4 (100)	0.163
	ER+ PR-	2 (33.3%)	4 (66.6%)	6 (100)	
	ER- PR+	0	1 (100%)	1 (100)	
	ER- PR-	3 (30%)	7 (70%)	10 (100)	
<b>HER2/neu</b>	Αρνητικός	2 (14.3%)	12 (85.7%)	14 (100)	0.006
	Θετικός	4 (57.2%)	3 (42.8%)	7 (100)	

ER, Οιστρογονικός υποδοχέας PR, προγεστερονικός υποδοχέας. <sup>a</sup> P αξία για τη δοκιμή Fisher's exact test.

### Ki 67

Στη μελέτη μας, όλα τα δείγματα ήταν κεχρωσμένα και παρουσίασαν έκφραση της πρωτεΐνης Ki-67 η οποία αποτελεί δείκτη κυττάρων που βρίσκονται σε κυτταρικό κύκλο, αν και η ένταση της χρώσης ήταν ικανοποιητική σε σχέση με άλλες μελέτες [211, 212] (διάμεσος 20% των κυττάρων). Οι όγκοι 21 ασθενών μπόρεσαν να αξιολογηθούν για την έκφραση Ki-67. Χρησιμοποιήσαμε ως κατώφλι τη χρώση του 30% τουλάχιστον των κυττάρων από αυτούς τους όγκους (με διάστημα ασφαλείας 95%). Οι όγκοι 21 ασθενών μπόρεσαν να αξιολογηθούν για Ki 67, εκ των οποίων 16 (76.2%) παρουσίασαν θετική χρώση (>30%). Η θετικότητα για Ki 67 (>30%) συσχετίστηκε με την αρνητικότητα των υποδοχέων οιστρογόνου ( $p=0.024$ ), με τους προγεστερονικούς υποδοχείς ( $p=0.037$ ). Επίσης υπήρξε σημαντικός συσχετισμός μεταξύ της έκφρασης Ki 67 και HER2 ( $p=0.014$ ).





**Εικόνα 3.** Εικόνες από κύτταρα με χρώσεις για Ki 67

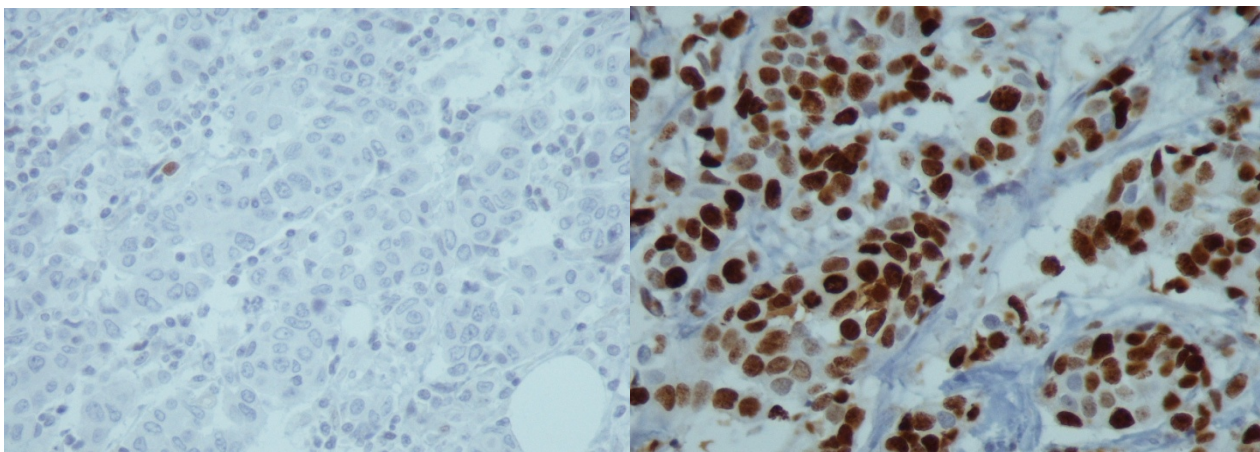
**Πίνακας 11.** Χαρακτηριστικά ασθενών όγκων και συσχετίσεις με χρώση για Ki-67

Χαρακτηριστικό		Ki-67 < 20%	Ki-67 > 20%	Σύνολο	ν	P αξία <sup>a</sup>
<b>PT</b>	1	1 (20%)	4 (80%)	5 (100)		0.11
	2	2 (22.3%)	7 (77.8%)	9 (100)		
	3	0	2 (100%)	2 (100)		
	4	0	4 (100%)	4 (100)		
<b>PN</b>	0	0	10 (100%)	10 (100)		0.68
	1	1 (33.3%)	2 (66.6%)	3 (100)		
	2	2 (50%)	2 (50%)	4 (100)		
	3	0	4 (100%)	4 (100)		
<b>Ιστολογία</b>	Πορογενές	3 (16.7%)	15 (83.3%)	18 (100)		
	Λοβιακό	0	2 (100%)	2 (100)		
	Σωληνώδες	0	1 (100%)	1 (100)		
<b>Ιστολογικός βαθμός</b>	1	0	1 (100%)	1 (100)		0.71
	2	0	9 (100%)	9 (100)		
	3	3 (27.3%)	8 (72.7%)	11 (100)		
<b>Κατάσταση ER</b>	Αρνητικό	3 (27.3%)	8 (72.7%)	11 (100)		0.024
	Θετικός	0	10 (100%)	10 (100)		
<b>Κατάσταση PR</b>	Αρνητικός	3 (18.7%)	13 (81.3%)	16 (100)		0.037
	Θετικός	0	5 (100%)	5 (100)		
<b>ER και PR</b>	ER+ PR+	0	4 (100%)	4 (100)		0.062
	ER+ PR-	0	6 (100%)	6 (100)		
	ER- PR+	0	1 (100%)	1 (100)		
	ER- PR-	3 (30%)	7 (70%)	10 (100)		
<b>HER2/neu</b>	Αρνητικός	2 (14.3%)	12 (85.7%)	14 (100)		0.014
	Θετικός	1 (14.3%)	6 (85.7%)	7 (100)		

ER, Οιστρογονικός υποδοχέας PR, προγεστερονικός υποδοχέας. <sup>a</sup> P αξία για τη δοκιμή Fisher's exact test.

### TP53

Το 20-40% των σποραδικών καρκίνων του μαστού παρουσιάζουν μεταλλάξεις στο γονίδιο *TP53*. Στη μελέτη μας, όλα τα δείγματα ήταν κεχρωσμένα και παρουσίασαν έκφραση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης p53, αν και η ένταση της χρώσης ήταν πολύ αδύνατη (διάμεσος 5% των κυττάρων). Οι όγκοι 21 ασθενών μπόρεσαν να αξιολογηθούν για την έκφραση p53. Χρησιμοποιώντας ως κατώφλι τουλάχιστον τη χρώση του 20% των κυττάρων (με διάστημα ασφαλείας 95%), 13 (61.9%) όγκοι παρουσίασαν αυξημένη χρώση. Η έκφραση p53 συσχετίστηκε με την αρνητική έκφραση του HER2 ( $p=0.039$ ), καθώς επίσης και με την αρνητικότητα των οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων ( $p=0.043$ ,  $p=0.022$ ), αλλά όχι με άλλες ιστολογικές παραμέτρους. Για όλους τους συσχετισμούς μεταξύ των παραγόντων βλέπετε τον **πίνακα 12**.



**Εικόνα 4.** Εικόνες από κύτταρα με χρώσεις για P53

**Πίνακας 12. Χαρακτηριστικά ασθενών όγκων και συσχετίσεις με χρώση για P53**

Χαρακτηριστικό		P53<10	P53>10	Σύνολο ν	P αξία <sup>a</sup>
<b>PT</b>	1	1 (20%)	4 (80%)	5 (100)	0.809
	2	2 (22.3%)	7 (77.8%)	9 (100)	
	3	0	2 (100%)	2 (100)	
	4	1 (20%)	4 (80%)	5 (100)	
<b>PN</b>	0	1 (10%)	9 (90%)	10 (100)	0.835
	1	2 (66.6%)	1 (33.3%)	3 (100)	
	2	1 (25%)	3 (75%)	4 (100)	
	3	0	4 (100%)	4 (100)	
<b>Ιστολογία</b>	Πορογενές	3 (16.7%)	15 (83.3%)	18 (100)	
	Λοβιακό	0	2 (100%)	2 (100)	
	Σωληνώδες	1 (100%)	0	1 (100)	
<b>Ιστολογικός βαθμός</b>	1	0	1 (100%)	1 (100)	0.353
	2	2 (22.3%)	7 (77.8%)	9 (100)	
	3	2 (18.2%)	9 (81.8%)	11 (100)	
<b>Κατάσταση ER</b>	Αρνητικός	2 (18.2%)	9 (81.8%)	11 (100)	0.043
	Θετικός	2 (20%)	8 (80%)	10 (100)	
<b>Κατάσταση PR</b>	Αρνητικός	3 (18.7%)	13 (81.3%)	16 (100)	0.022
	Θετικός	1 (20%)	4 (80%)	5 (100)	
<b>ER και PR</b>	ER+ PR+	1 (25%)	3 (75%)	4 (100)	0.072
	ER+ PR-	1 (16.7%)	5 (83.3%)	6 (100)	
	ER- PR+	0	1 (100%)	1 (100)	
	ER- PR-	2 (20%)	8 (80%)	10 (100)	
<b>HER2/neu</b>	Αρνητικός	3 (21.4%)	11 (78.6%)	14 (100)	0.039
	Θετικός	1 (14.3%)	6 (85.7%)	7 (100)	

ER, Οιστρογονικός υποδοχέας PR, προγεστερονικός υποδοχέας. <sup>a</sup> P αξία για τη δοκιμή Fisher's exact test.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### Ανοσοϊστοχημεία και βιοδείκτες

Διαπιστώνοντας μετά από εμπειριστατωμένη μελέτη και ανάλυση όλης της σύγχρονης βιβλιογραφίας την αναγκαιότητα προγνωστικών παραγόντων, εξετάσαμε εάν οι ανοσοϊστοχημικοί δείκτες Ki-67, HER2/neu, Top IIa, p53 συσχετίζονται με τους κλασσικούς παθολογοανατομικούς δείκτες σε ασθενείς με τεκμηριωμένη διάγνωση καρκίνου μαστού και οικογενειακό ιστορικό.

Στο υλικό μας η ανοσοϊστοχημική ανάλυση των δειγμάτων έδειξε ότι το 81% των ασθενών ήταν αρνητικές στην έκφραση του HER2 (HER2-negative), το 71.4% ήταν θετικές στην έκφραση της TopIIa, το 76.2% ήταν θετικές στην έκφραση του Ki-67, και το 62% ήταν θετικές στην έκφραση p53. Διαπιστώσαμε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της μη-έκφρασης του HER2 και έκφρασης της Top IIa ( $p=0.048$ ), του Ki 67 ( $p = 0.031$ ) και των οιστρογονικών υποδοχέων ( $p=0.036$ ). Στην βιβλιογραφία αναφέρεται ότι, το HER2, στην ομάδα των ασθενών αυτών με

οικογενειακό ιστορικό φαίνεται να είναι μάλλον ένας προδιαθεσικός παράγοντας για την αποτελεσματικότητα των διαφορετικών χημειοθεραπειών, συμπεριλαμβανομένης της τρανστουζουμάμπης [205], η οποία τρανστουζουμάμπη έχει ένδειξη να χορηγηθεί μόνο στο 19% που δείξαμε ότι ήταν θετικές στο HER2.

Η μελέτη μας είναι συμβατή με άλλες παρόμοιες έρευνες, δείχνοντας ότι το Ki 67 έχει πολύ ισχυρές συσχετίσεις με άλλους βιοδείκτες όπως η μη-έκφραση των ορμονικών και προγεστερονικών υποδοχέων [(p=0.024) και (p=0.037), αντίστοιχα], και η μη-έκφραση του HER2/neu. Όσον αφορά τη λειτουργία του Ki-67 δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. Προς το παρόν λίγα είναι γνωστά για το γονίδιο *MKI67* δηλαδή ότι εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 10q25 [213], η εντόπιση του στο κύτταρο είναι έντονα εξαρτώμενη από την φάση του κυτταρικού κύκλου αλλά περιορίζεται στα κυτοπλάσματα [214, 215], και η αναστολή του οδηγεί στην αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού [215, 216].

Όσον αφορά την θετική έκφραση της Top Πα σε ποσοστό >15% (n=15, 71.4%) διαπιστώσαμε σημαντική συσχέτιση με την αρνητικότητα των οιστρογονικών υποδοχέων (p = 0.026), και την έκφραση του Ki 67 (p= 0.006). Επίσης βρήκαμε συσχέτιση της Top Πα έκφρασης με τον σημαντικό προγνωστικό παράγοντα της κατάστασης των λεμφαδένων, και συγκεκριμένα με την παρουσία μεταστάσεων στους λεμφαδένες (p=0.024). Γεινιάζον στο *HER2* γονίδιο, το οποίο βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 17, είναι το γονίδιο που κωδικοποιεί την Top Πα. Το ένζυμο αυτό είναι ένα από τα πέντε μέχρι σήμερα αναγνωρισμένα τοποϊσομερή που αλληλεπιδρούν με τα κύτταρα διπλής έλικας του DNA, γεγονός που παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιγραφή του DNA, την μεταγραφή, τον ανασυνδυασμό, την συμύκνωση ή τον διαχωρισμό [192].

Μεταξύ των άλλων λειτουργιών, η Top Πα υποστηρίζει την αποσυσπείρωση του DNA, τον διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά τη διάρκεια της ανάφασης του κυτταρικού κύκλου και την αντιγραφή του DNA με τη δημιουργία μιας πύλης από πρωτεΐνη που συνδέεται με το DNA μέσω της οποίας περνάει μια άλλη άθικτη διπλή έλικα DNA [217]. Εξαιτίας αυτής της λειτουργίας, οι τοποϊσομεράσες ενεργούν ως στόχοι πολλών αντιμιτωτικών, αντιπολλαπλασιαστικών φαρμάκων, που ονομάζονται αναστολείς τοποϊσομεράσης, εκ των οποίων οι ανθρακυκλίνες είναι κλινικά οι πιο σημαντικές στον καρκίνο μαστού.

Η χημειοευαισθησία ή η αντίσταση στην ανθρακυκλίνη σε εξάρτηση από το επίπεδο της έκφρασης Top Πα έχει δείχθει in vitro καθώς και σε κλινικές μελέτες [218, 219]. Ο προσδιορισμός της έκφρασης Top Πα με ανοσοϊστοχημεία δεν ακολουθεί πρότυπα, όπως για το HER2, έτσι ώστε να υπάρχει ένα ευρύ φάσμα θετικών αποτελεσμάτων από 10,6% ως 32% [193, 220, 221]. Οι αναστολείς ανθρακυκλίνης της Top Πα χρησιμοποιούνται στους ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο των ωοθηκών και είναι κλινικά σημαντικότεροι στον σποραδικό καρκίνο μαστού, στον οποίο η υπερέκφραση ή η ενίσχυση Top Πα προβλέπει την καλύτερη απάντηση στη θεραπεία με ανθρακυκλίνη [222].

Τέλος η P53 φαίνεται να συσχετίζεται μόνο με την μη-έκφραση των ορμονικών υποδοχέων και με την μη-έκφραση του HER2.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα διαπιστώσαμε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ μη-έκφρασης της HER2 ανοσοϊστοχημείας και έκφρασης της Top Πα (p=0.048), Ki 67 (p = 0.031) και των οιστρογονικών υποδοχέων (p=0.036). Η θετικότητα της Top Πα συσχετίστηκε σημαντικά με την αρνητικότητα των οιστρογονικών υποδοχέων (p = 0.026), την έκφραση Ki 67 (p= 0.006) και την παρουσία θετικών (παρουσία μεταστάσεων) λεμφαδένων (p=0.024). Η θετικότητα του Ki 67 συσχετίστηκε με την αρνητικότητα των υποδοχέων οιστρογόνου (p=0.024) και των προγεστερονικών υποδοχέων (p=0.037). Η έκφραση p53 συσχετίστηκε με την αρνητική έκφραση

του HER2 ( $p=0.039$ ), καθώς επίσης και με την αρνητικότητα των οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων ( $p=0.043$ ,  $p=0.022$ ).

### Γενετικός έλεγχος

Σε ένα σύνολο 47 γυναικών με αναφερόμενο οικογενειακό ιστορικό, διαπιστώσαμε ότι οι 19 πληρούσαν τα κριτήρια κληρονομικότητας όπως περιγράφονται από τις διεθνείς οδηγίες και συστάσεις [209]. Στις περιπτώσεις αυτές ενδείκνυται ο γενετικός έλεγχος με σάρωση των γονιδίων *BRCA1* και *BRCA2* για ανεύρεση παθολογικών μεταλλάξεων που προκαλούν την νόσο [209]. Από τις 19 αυτές γυναίκες, 11 υποβλήθηκαν σε στοχευμένο μερικό γενετικό έλεγχο και 8 σε πλήρη αλληλουχία των εξόνων 2, 3, 5-24 για το γονίδιο *BRCA1* και πλήρη ανίχνευση ολόκληρης της κωδικοποιούσας περιοχής στα εξόνια 2-27 για το γονίδιο *BRCA2* με ανάγνωση της αλληλουχίας του γενετικού υλικού (direct sequencing). Επί συνόλου 19 δειγμάτων, συνολικά 4 δείγματα βρέθηκαν θετικά (21,05%) για αιτιολογικές μεταλλάξεις που προκαλούν καρκίνο μαστού ή/και ωοθήκης. Το ποσοστό αυτό είναι ιδιαίτερα υψηλό με βάση τα δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας και ενδεικτικό του γεγονότος ότι ακολουθήθηκαν πιστά και με ακρίβεια τα κριτήρια και οι συστάσεις διεθνών έγκυρων Οργανισμών.

### Γενετικός έλεγχος και χειρουργική αντιμετώπιση

Σήμερα, η BCS (επέμβαση διατήρησης του μαστού) αποτελεί την κλασσική κλινική πρακτική για τις γυναίκες με πρώιμο στάδιο κληρονομικού μη-*BRCA* ή σποραδικού καρκίνου μαστού και παραμένει στις συστάσεις και τις πρόσφατες οδηγίες. Η αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή μπορεί να εξεταστεί στις υψηλού κινδύνου γυναίκες με *BRCA* μεταλλάξεις. Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί, η απουσία στοιχείων από τυχαιοποιημένες μελέτες που να τεκμηριώνουν την υπεροχή της αμφοτερόπλευρης μαστεκτομής έναντι της BCS στις γυναίκες με μεταλλάξεις *BRCA*.

Η αναγκαιότητα προληπτικής στρατηγικής σε γυναίκες με *BRCA1/2* μεταλλάξεις έχει πλέον αναγνωριστεί ευρύτερα. Υπάρχει όμως αβεβαιότητα για την επιλογή της βέλτιστης ιατρικής παρέμβασης. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η PBSO (προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγγο-ωοθηκεκτομή) είναι ανώτερη από την PBM (προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή) ή την επιτήρηση σε γυναίκες με *BRCA1/2* μεταλλάξεις οι οποίες έχουν ολοκληρώσει την τεκνοποίηση. Η καλύτερη ηλικία προληπτικής PBSO φαίνεται να είναι η ηλικία των 35-40 ετών. Αρκετές όμως γυναίκες επιλέγουν PBM και η απόφαση αυτή δικαιολογείται από το οικογενειακό ιστορικό όταν δεν υπάρχει καμία περίπτωση καρκίνου ωοθηκών. Τέλος σε πολύ υψηλού κινδύνου οικογένειες με πολλαπλές περιπτώσεις καρκίνου και μαστού και ωοθηκών και θετικό *BRCA* test μπορεί να συζητηθεί ακόμη και επιθετική πρόληψη με PBSO και PBM.

### Αρνητικό *BRCA* test

Σε ποσοστό 75% οικογενειών με χαρακτηριστικά κληρονομικής μετάδοσης (κατά Mendel) καρκίνου μαστού, δεν ανιχνεύεται καμία μετάλλαξη *BRCA1* ή *BRCA2* [18, 223]. Για τις γυναίκες σε αυτές τις οικογένειες, παραμένουν ερωτήματα όσον αφορά τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου μαστού και την κατάλληλη στρατηγική πρόληψης. Σε αυτήν την μελέτη, αναφέρουμε ότι οι γυναίκες με σημαντικό οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού διατρέχουν υψηλό κίνδυνο καρκίνου μαστού έστω και με αρνητικό *BRCA* test, όταν δεν έχει ανιχνευθεί *BRCA* μετάλλαξη σε κανένα μέλος της οικογένειας.

Η στρατηγική που συνιστάται σήμερα για την πρόληψη γυναικών με σαφή οικογενειακό ιστορικό αλλά αρνητικό αποτέλεσμα για *BRCA1* και *BRCA2* μεταλλάξεις εξαρτάται σε ποια από τις κατηγορίες περιλαμβάνεται η συγκεκριμένη γυναίκα. Σε αρνητικό τεστ σε οικογένειες που δεν έχει ανιχνευτεί ποτέ *BRCA1* ή *BRCA2* μετάλλαξη τότε ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου στον μαστό είναι αυξημένος περίπου στο 4-πλάσιο του γενικού πληθυσμού φτάνοντας το 40% περίπου [4]. Συνεπώς απαιτείται ένταξη αυτών των γυναικών είτε σε ειδικό πρόγραμμα παρακολούθησης, είτε σε κλινικές μελέτες. Στις περιπτώσεις αυτές δεν συνιστάται προφυλακτική χειρουργική αλλά

εντατική επιτήρηση συμπεριλαμβανομένης MRI για να διαγνωστεί έγκυρα και πρώιμα καρκίνος μαστού σε αρχικό στάδιο νόσου. Αντίθετα όταν το τεστ της εξεταζόμενης γυναίκας είναι αρνητικό σε συγκεκριμένη *BRCAl* ή *BRCAl2* μετάλλαξη η οποία έχει προσδιοριστεί σε άλλο μέλος της οικογένειας, τότε η γυναίκα αυτή δεν διατρέχει υψηλό κίνδυνο γιατί σύμφωνα με τους κανόνες του Mendel ανήκει στο τυχερό 50% που δεν έχει κληρονομήσει την παθολογική μετάλλαξη. Συνεπώς ακολουθείται η συνήθης στρατηγική screening.

### **Έκταση χειρουργικής σε ασθενείς με καρκίνο μαστού**

Παρά τη συμμόρφωση στις πρόσφατες οδηγίες, ο κίνδυνος για IBC ή/και CBC (ομόπλευρη ή/και ετερόπλευρη υποτροπή καρκίνου μαστού) ως μεμονωμένο γεγονός μεταξύ των μακροπρόθεσμα επιζώντων μετά από θεραπεία για συγκεκριμένα υποσύνολα ασθενών με κληρονομικό μη-*BRCAl* καρκίνο αλλά και σποραδικό καρκίνο είναι ανησυχητικά υψηλός. Συμπαγείς δείκτες απαιτούνται επειγόντως για να προβλέψουν αυτές τις υψηλού κινδύνου ασθενείς, οι οποίες μπορούν να ωφεληθούν από την επιθετική χειρουργική επέμβαση.

Συμπερασματικά, στις γυναίκες από οικογένειες υψηλού κινδύνου καρκίνου μαστού στις οποίες δεν μπορεί να εντοπιστεί μια μετάλλαξη *BRCAl* ή *BRCAl2* απαιτείται διεξοδική συζήτηση και ανάλυση των πλεονεκτημάτων και μειονεκτημάτων μιας συντηρητικής ή επιθετικής χειρουργικής από μια εξειδικευμένη ομάδα ειδικών. Στην ιδανική περίπτωση η ομάδα περιλαμβάνει κλινικό γενετιστή, χειρουργό, ογκολόγο και παθολογοανατόμο όλοι με εμπειριστατωμένη γνώση στο ερευνητικό, επιστημονικό και κλινικό αυτό πεδίο με πλήρη γενετικό έλεγχο όχι μόνο με μεμονωμένους πολυμορφισμούς νουκλεοτιδίων (SNPs) αλλά και με γενωμικές αναδιατάξεις (genomic rearrangements) πριν την οριστική χειρουργική αντιμετώπιση.

### **Πρότυπο πρόγραμμα παρακολούθησης**

Με βάση όλα τα ανωτέρω αναπτύξαμε ένα ολοκληρωμένο πρότυπο πρόγραμμα εντατικής παρακολούθησης γυναικών με σημαντικό οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού και ωοθήκης. Το πρόγραμμα περιλαμβάνει γενετική και κλινική συμβουλευτική, γενετικό έλεγχο, εντατικό κλινικό και διαγνωστικό έλεγχο, πρόταση προληπτικής παρέμβασης και μακροχρόνια παρακολούθηση.

Λαμβάνοντας υπόψη όλη την υπάρχουσα σύγχρονη βιβλιογραφία και την δική μας δημοσιευμένη δουλειά παραθέτουμε στον κατωτέρω **Πίνακα 13** το πρωτότυπο πλήρες πρωτόκολλο κλινικής και εργαστηριακής παρακολούθησης γυναικών με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού ή/και ωοθήκης.

**Πίνακας 13. Προτυποποίηση εξετάσεων στην εντατική παρακολούθηση γυναικών με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού ή/και ωοθήκης**

ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
<b>A. ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ</b>	<input type="checkbox"/>
i) Υπογεγραμμένη συγκατάθεση	<input type="checkbox"/>
ii) Πλήρες scan <i>BRCA1, BRCA2</i>	<input type="checkbox"/>
iii) Μερική στοχευμένη αναζήτηση <i>BRCA1, BRCA2</i> μεταλλάξεων	<input type="checkbox"/>
<b>B. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ</b>	<input type="checkbox"/>
<b>1. ΜΑΣΤΟΣ</b>	<input type="checkbox"/>
α) Μαστογραφία	<input type="checkbox"/>
γ) U/S (Υπέρηχοι μαστών)	<input type="checkbox"/>
β) MRI (Μαγνητική μαστών)	<input type="checkbox"/>
<b>2. ΩΟΘΗΚΕΣ</b>	<input type="checkbox"/>
α) Ca 125	<input type="checkbox"/>
β) Διακολπικοί υπέρηχοι	<input type="checkbox"/>
γ) U/S κοιλίας	<input type="checkbox"/>
δ) CT κοιλίας – ωοθηκών	<input type="checkbox"/>
<b>Γ. ΦΥΣΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ</b>	<input type="checkbox"/>
	ΧΡΟΝΟΣ
	Κάθε 12 μήνες
	Κάθε 6 μήνες

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### Ανοσοϊστοχημεία και βιοδείκτες

Στην ομάδα με τις 21 ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό και χωρίς την διενέργεια γενετικού ελέγχου διαπιστώσαμε ότι το 81% των ασθενών ήταν αρνητικές στην έκφραση του HER2 (HER2-negative), το 71.4% ήταν θετικές στην έκφραση της TopIIa, το 76.2% ήταν θετικές στην έκφραση του Ki-67, και το 62% ήταν θετικές στην έκφραση p53.

- Σχετικά με την θετική έκφραση της Top IIa διαπιστώσαμε σημαντική συσχέτιση με την αρνητικότητα των οιστρογονικών υποδοχέων ( $p = 0.026$ ), καθώς και την παρουσία μεταστάσεων στους λεμφαδένες ( $p=0.024$ ), και μεταξύ της μη-έκφρασης του HER2 και έκφρασης της Top IIa ( $p=0.048$ )
- Αυτή η μελέτη βρήκε ότι ο Ki-67 έχει πολύ ισχυρές συσχετίσεις με κλασσικούς δείκτες όπως η αρνητική έκφραση των ορμονικών υποδοχέων [ $(p=0.024)$  και  $(p=0.037)$ , αντίστοιχα].
- Η P53 φαίνεται να συσχετίζεται μόνο με την κατάσταση των ορμονικών υποδοχέων και με την μη-έκφραση του HER2.
- Διαπιστώθηκε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της μη-έκφρασης του HER2 και του Ki 67 ( $p = 0.031$ ) και των οιστρογονικών υποδοχέων ( $p=0.036$ ). Δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση με τους υπόλοιπους κλασσικούς ιστολογικούς δείκτες.

### Γενετικός έλεγχος

Οικογενειακό ιστορικό και γενετικός έλεγχος καθορίζουν την προληπτική ή θεραπευτική στρατηγική γυναικών ή ασθενών αντίστοιχα με σημεία κληρονομικότητας καρκίνου μαστού και ωοθήκης. Το ποσοστό 21% θετικότητας σε αιτιολογικές μεταλλάξεις στα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* που διαπιστώσαμε στην μελέτη θεωρείται ιδιαίτερα υψηλό στην σύγχρονη διεθνή

βιβλιογραφία και αντικατοπτρίζει την πιστή συμμόρφωση στις σύγχρονες συστάσεις και οδηγίες διεθνών έγκυρων Οργανισμών.

Στην προληπτική στρατηγική παρέμβασης σε γυναίκες υψηλού κληρονομικού κινδύνου η προφυλακτική χειρουργική υπερέχει της επιτήρησης, αν και η τελική απόφαση είναι δύσκολη, σε γυναίκες με θετικό αποτέλεσμα για *BRCA1* ή *BRCA2* μεταλλάξεις. Αντίθετα σε μη-φορείς *BRCA1/2* μεταλλάξεων συνήθως συνιστάται εντατική επιτήρηση.

Στον θεραπευτικό τομέα ασθενών με διάγνωση καρκίνου μαστού και σαφή οικογενειακό ιστορικό η διενέργεια *BRCA1/2* γενετικού ελέγχου συνιστάται πριν την οριστική χειρουργική επέμβαση. Αν και σαφής τεκμηρίωση δεν έχει υπάρξει ακόμη, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ένα θετικό *BRCA1/2* αποτέλεσμα για μια ενδεχόμενη πιο επιθετική χειρουργική όπως αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή σε γυναίκες με διάγνωση ετερόπλευρου καρκίνου μαστού.

Με βάση όλα τα ανωτέρω αναπτύξαμε ένα ολοκληρωμένο πρότυπο πρόγραμμα εντατικής παρακολούθησης γυναικών με σημαντικό οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού και ωοθήκης. Η προσέγγιση αυτή μπορεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο για κλινικούς γενετιστές και γιατρούς που αναλαμβάνουν την παρακολούθηση γυναικών υψηλού κληρονομικού κινδύνου.

Τόσο η προληπτική στρατηγική παρέμβασης σε υγιείς γυναίκες υψηλού κινδύνου με σαφή οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού ή/και ωοθήκης όσο και η χειρουργική αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνο μαστού και σημαντικό κληρονομικό ιστορικό απαιτούν την αντιμετώπιση από ομάδα υψηλής εξειδίκευσης γιατρών, επιστημόνων και ερευνητών.







## **Περίληψη**

**Κληρονομικότητα και περιβάλλον αποτελούν την πηγή αιτιολογικών παραγόντων καρκινογένεσης. Σε ποσοστό 20-25% των γυναικών με διάγνωση καρκίνου μαστού υπάρχει σημαντικό οικογενειακό ιστορικό. Όμως μόνο στο 5-10% των ασθενών με καρκίνο μαστού μπορεί σήμερα να προσδιοριστεί με ακρίβεια ο γενετικός παράγοντας που προκαλεί την νόσο. Ο κληρονομικός αυτός καρκίνος μαστού οφείλεται σε κληρονομούμενες μεταλλάξεις στα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2*. Στην Ελλάδα, 250-500 περίπου γυναίκες που είναι φορείς αυτών των μεταλλάξεων προσβάλλονται ετησίως από καρκίνο μαστού.**

**Σε αυτή τη διδακτορική διατριβή διερευνάται η δυνατότητα, οι περιορισμοί και οι προκλήσεις του γενετικού ελέγχου στην προσπάθεια προληπτικής και θεραπευτικής χειρουργικής παρέμβασης του κληρονομικού και ευρύτερα του οικογενούς καρκίνου μαστού-ωοθήκης. Επιπλέον, εξετάζεται εάν οι Ki-67, Topoisomerase IIα, P53, και HER2 σε ασθενείς με καρκίνο μαστού και οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού θα μπορούσαν να έχουν προγνωστική κλινική χρησιμότητα. Συνοπτικά, σκοπός του παρόντος εκπονήματος είναι να συμβάλει, μέσω εξατομικευμένης προληπτικής ιατρικής, στην μείωση της συχνότητας και θνητότητας της νόσου στην χώρα μας.**

## **Summary**

**Heritability and environment are the source of causative factors of carcinogenesis. 20-25% of women diagnosed with breast cancer have a significant family history. However, only 5-10% of patients with breast cancer nowadays can accurately determine the genetic factor that causes the disease. These hereditary breast cancer cases owe to inherited mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. In Greece, about 250-500 women, who are carriers of these mutations, are affected each year from breast cancer.**

**This thesis investigates the possibility, the constraints, and challenges of genetic testing effort in preventive and curative surgical intervention, in inherited and generally the familial breast-ovarian cancer. In addition, we consider whether Ki-67, Topoisomerase IIα, P53, and HER2 in patients with breast cancer and positive family history of breast cancer could have prognostic clinical utility. In summary, the aim of this manuscript is to assist through individualized preventive medicine in reducing the incidence, and mortality of the disease in our country.**



## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.
2. Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. 2010 Sep-Oct;60(5):277-300.
3. Roukos DH, Briasoulis E. Individualized preventive and therapeutic management of hereditary breast ovarian cancer syndrome. *Nat Clin Pract Oncol*. 2007 Oct;4(10):578-90.
4. Metcalfe KA, Finch A, Poll A, et al. Breast cancer risks in women with a family history of breast or ovarian cancer who have tested negative for a brca1 or brca2 mutation. *Br J Cancer*. 2009 Jan 27;100(2):421-5.
5. Barnett GC, Shah M, Redman K, et al. Risk factors for the incidence of breast cancer: Do they affect survival from the disease? *J Clin Oncol*. 2008 Jul 10;26(20):3310-6.
6. Wacholder S, Hartge P, Prentice R, et al. Performance of common genetic variants in breast-cancer risk models. *N Engl J Med*. 2010 Mar 18;362(11):986-93.
7. Roukos DH. Genome-wide association studies: How predictable is a person's cancer risk? *Expert Rev Anticancer Ther*. 2009 Apr;9(4):389-92.
8. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature*. 2009 Apr 9;458(7239):719-24.
9. [No authors listed]. The human genome at ten. *Nature*. 2010 Apr 1;464(7289):649-50.
10. Collins F. Has the revolution arrived? *Nature*. 2010 Apr 1;464(7289):674-5.
11. Venter JC. Multiple personal genomes await. *Nature*. 2010 Apr 1;464(7289):676-7.
12. Roukos DH. Systems medicine: A real approach for future personalized oncology? *Pharmacogenomics*. 2010 Mar;11(3):283-7.
13. Roukos DH. Novel clinico-genome network modeling for revolutionizing genotype-phenotype-based personalized cancer care. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2010 Jan;10(1):33-48.
14. Nelson HD, Huffman LH, Fu R, et al. Genetic risk assessment and brca mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility: Systematic evidence review for the u.S. Preventive services task force. *Ann Intern Med*. 2005 Sep 6;143(5):362-79.
15. Kadouri L, Hubert A, Rotenberg Y, et al. Cancer risks in carriers of the brca1/2 ashkenazi founder mutations. *J Med Genet*. 2007 Jul;44(7):467-71.
16. Narod SA, Offit K. Prevention and management of hereditary breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Mar 10;23(8):1656-63.
17. Nathanson KL, Wooster R, Weber BL. Breast cancer genetics: What we know and what we need. *Nat Med*. 2001 May;7(5):552-6.
18. Pharoah PD, Antoniou A, Bobrow M, et al. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat Genet*. 2002 May;31(1):33-6.
19. Smith P, McGuffog L, Easton DF, et al. A genome wide linkage search for breast cancer susceptibility genes. *Genes Chromosomes Cancer*. 2006 Jul;45(7):646-55.
20. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to chek2(\*)1100delc in noncarriers of brca1 or brca2 mutations. *Nat Genet*. 2002 May;31(1):55-9.
21. Walsh T, Casadei S, Coats KH, et al. Spectrum of mutations in brca1, brca2, chek2, and tp53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA*. 2006 Mar 22;295(12):1379-88.
22. Schmidt MK, Tollenaar RA, de Kemp SR, et al. Breast cancer survival and tumor characteristics in premenopausal women carrying the chek2\*1100delc germline mutation. *J Clin Oncol*. 2007 Jan 1;25(1):64-9.
23. Weischer M, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, et al. Increased risk of breast cancer associated with chek2\*1100delc. *J Clin Oncol*. 2007 Jan 1;25(1):57-63.
24. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000 Aug 17;406(6797):747-52.

25. Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: Therapeutic options. *Lancet Oncol*. 2007 Mar;8(3):235-44.
26. Turner NC, Reis-Filho JS. Basal-like breast cancer and the brca1 phenotype. *Oncogene*. 2006 Sep 25;25(43):5846-53.
27. Ding L, Ellis MJ, Li S, et al. Genome remodelling in a basal-like breast cancer metastasis and xenograft. *Nature*. 2010 Apr 15;464(7291):999-1005.
28. Bane AL, Beck JC, Bleiweiss I, et al. Brca2 mutation-associated breast cancers exhibit a distinguishing phenotype based on morphology and molecular profiles from tissue microarrays. *Am J Surg Pathol*. 2007 Jan;31(1):121-8.
29. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2004 Dec 30;351(27):2817-26.
30. Buyse M, Loi S, van't Veer L, et al. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2006 Sep 6;98(17):1183-92.
31. Wolfberg AJ. Genes on the web--direct-to-consumer marketing of genetic testing. *N Engl J Med*. 2006 Aug 10;355(6):543-5.
32. Roche PA, Annas GJ. DNA testing, banking, and genetic privacy. *N Engl J Med*. 2006 Aug 10;355(6):545-6.
33. Smith A, Moran A, Boyd MC, et al. Phenocopies in brca1 and brca2 families: Evidence for modifier genes and implications for screening. *J Med Genet*. 2007 Jan;44(1):10-5.
34. [No authors listed]. Genetic risk assessment and brca mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility: Recommendation statement. *Ann Intern Med*. 2005 Sep 6;143(5):355-61.
35. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with brca1 or brca2 mutations detected in case series unselected for family history: A combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet*. 2003 May;72(5):1117-30.
36. van Dijk S, Timmermans DR, Meijers-Heijboer H, et al. Clinical characteristics affect the impact of an uninformative DNA test result: The course of worry and distress experienced by women who apply for genetic testing for breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006 Aug 1;24(22):3672-7.
37. Sauven P. Guidelines for the management of women at increased familial risk of breast cancer. *Eur J Cancer*. 2004 Mar;40(5):653-65.
38. (NCCN) NCCN. Nccn clinical practice guidelines in oncology version 1.2010. Genetic/familial high-risk assessment: Breast and ovarian. 2010.
39. King MC, Marks JH, Mandell JB, et al. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in brca1 and brca2. *Science*. 2003 Oct 24;302(5645):643-6.
40. Finch A, Beiner M, Lubinski J, et al. Salpingo-oophorectomy and the risk of ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancers in women with a brca1 or brca2 mutation. *JAMA*. 2006 Jul 12;296(2):185-92.
41. Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA, et al. Cancer risk estimates for brca1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. *J Natl Cancer Inst*. 2002 Sep 18;94(18):1365-72.
42. Barcnas CH, Hosain GM, Arun B, et al. Assessing brca carrier probabilities in extended families. *J Clin Oncol*. 2006 Jan 20;24(3):354-60.
43. Levy-Lahad E, Plon SE. Cancer. A risky business--assessing breast cancer risk. *Science*. 2003 Oct 24;302(5645):574-5.
44. Fisher B. Biological and clinical considerations regarding the use of surgery and chemotherapy in the treatment of primary breast cancer. *Cancer*. 1977 Jul;40(1 Suppl):574-87.
45. Clarke M, Collins R, Darby S, et al. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: An overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005 Dec 17;366(9503):2087-106.
46. Punglia RS, Morrow M, Winer EP, et al. Local therapy and survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2007 Jun 7;356(23):2399-405.

47. Forbes JF, Cuzick J, Buzdar A, et al. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 100-month analysis of the atac trial. *Lancet Oncol.* 2008 Jan;9(1):45-53.
48. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in her2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2005 Oct 20;353(16):1659-72.
49. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable her2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2005 Oct 20;353(16):1673-84.
50. Wapnir IL, Aebi S, Gelber S, et al. Progress on big 1-02/ibcsg 27-02/nsabp b-37, a prospective randomized trial evaluating chemotherapy after local therapy for isolated locoregional recurrences of breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2008 Nov;15(11):3227-31.
51. Tuttle TM, Habermann EB, Grund EH, et al. Increasing use of contralateral prophylactic mastectomy for breast cancer patients: A trend toward more aggressive surgical treatment. *J Clin Oncol.* 2007 Nov 20;25(33):5203-9.
52. Roukos DH. Linking contralateral breast cancer with genetics. *Radiother Oncol.* 2008 Feb;86(2):139-41.
53. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, et al. Progress and promise: Highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann Oncol.* 2007 Jul;18(7):1133-44.
54. Roukos DH. Prognosis of breast cancer in carriers of brca1 and brca2 mutations. *N Engl J Med.* 2007 Oct 11;357(15):1555-6; author reply 6.
55. Roukos DH, Murray S, Briasoulis E. Molecular genetic tools shape a roadmap towards a more accurate prognostic prediction and personalized management of cancer. *Cancer Biol Ther.* 2007 Mar;6(3):308-12.
56. Wood LD, Parsons DW, Jones S, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science.* 2007 Nov 16;318(5853):1108-13.
57. Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million snps. *Nature.* 2007 Oct 18;449(7164):851-61.
58. Lee C, Morton CC. Structural genomic variation and personalized medicine. *N Engl J Med.* 2008 Feb 14;358(7):740-1.
59. Korbel JO, Urban AE, Affourtit JP, et al. Paired-end mapping reveals extensive structural variation in the human genome. *Science.* 2007 Oct 19;318(5849):420-6.
60. Pennisi E. Breakthrough of the year. Human genetic variation. *Science.* 2007 Dec 21;318(5858):1842-3.
61. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature.* 2007 Jun 28;447(7148):1087-93.
62. Gold B, Kirchhoff T, Stefanov S, et al. Genome-wide association study provides evidence for a breast cancer risk locus at 6q22.33. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Mar 18;105(11):4340-5.
63. Hunter DJ, Kraft P, Jacobs KB, et al. A genome-wide association study identifies alleles in fgfr2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat Genet.* 2007 Jul;39(7):870-4.
64. Weir BA, Woo MS, Getz G, et al. Characterizing the cancer genome in lung adenocarcinoma. *Nature.* 2007 Dec 6;450(7171):893-8.
65. Zheng SL, Sun J, Wiklund F, et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N Engl J Med.* 2008 Feb 28;358(9):910-9.
66. Nguyen PL, Taghian AG, Katz MS, et al. Breast cancer subtype approximated by estrogen receptor, progesterone receptor, and her-2 is associated with local and distant recurrence after breast-conserving therapy. *J Clin Oncol.* 2008 May 10;26(14):2373-8.
67. Kyndi M, Sorensen FB, Knudsen H, et al. Estrogen receptor, progesterone receptor, her-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer: The danish breast cancer cooperative group. *J Clin Oncol.* 2008 Mar 20;26(9):1419-26.
68. Roukos DH, Kappas AM, Tsianos E. Role of surgery in the prophylaxis of hereditary cancer syndromes. *Ann Surg Oncol.* 2002 Aug;9(7):607-9.

69. Klaren HM, van't Veer LJ, van Leeuwen FE, et al. Potential for bias in studies on efficacy of prophylactic surgery for brca1 and brca2 mutation. *J Natl Cancer Inst.* 2003 Jul 2;95(13):941-7.
70. Meijers-Heijboer H, van Geel B, van Putten WL, et al. Breast cancer after prophylactic bilateral mastectomy in women with a brca1 or brca2 mutation. *N Engl J Med.* 2001 Jul 19;345(3):159-64.
71. Rebbeck TR, Friebel T, Lynch HT, et al. Bilateral prophylactic mastectomy reduces breast cancer risk in brca1 and brca2 mutation carriers: The prose study group. *J Clin Oncol.* 2004 Mar 15;22(6):1055-62.
72. Hartmann LC, Schaid DJ, Woods JE, et al. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in women with a family history of breast cancer. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):77-84.
73. Hartmann LC, Sellers TA, Schaid DJ, et al. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in brca1 and brca2 gene mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2001 Nov 7;93(21):1633-7.
74. Tercyak KP, Peshkin BN, Brogan BM, et al. Quality of life after contralateral prophylactic mastectomy in newly diagnosed high-risk breast cancer patients who underwent brca1/2 gene testing. *J Clin Oncol.* 2007 Jan 20;25(3):285-91.
75. Rubinstein WS. Surgical management of brca1 and brca2 carriers: Bitter choices slightly sweetened. *J Clin Oncol.* 2005 Nov 1;23(31):7772-4.
76. Narod SA, Foulkes WD. Brca1 and brca2: 1994 and beyond. *Nat Rev Cancer.* 2004 Sep;4(9):665-76.
77. Rebbeck TR, Levin AM, Eisen A, et al. Breast cancer risk after bilateral prophylactic oophorectomy in brca1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Sep 1;91(17):1475-9.
78. Eisen A, Lubinski J, Klijn J, et al. Breast cancer risk following bilateral oophorectomy in brca1 and brca2 mutation carriers: An international case-control study. *J Clin Oncol.* 2005 Oct 20;23(30):7491-6.
79. Struewing JP, Watson P, Easton DF, et al. Prophylactic oophorectomy in inherited breast/ovarian cancer families. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 1995(17):33-5.
80. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL, et al. Prophylactic oophorectomy in carriers of brca1 or brca2 mutations. *N Engl J Med.* 2002 May 23;346(21):1616-22.
81. Domchek SM, Friebel TM, Neuhausen SL, et al. Mortality after bilateral salpingo-oophorectomy in brca1 and brca2 mutation carriers: A prospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2006 Mar;7(3):223-9.
82. Brekelmans CT, Seynaeve C. Can bilateral prophylactic salpingo-oophorectomy reduce cancer mortality in carriers of a brca1 or brca2 mutation? *Lancet Oncol.* 2006 Mar;7(3):191-3.
83. Kauff ND, Satagopan JM, Robson ME, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy in women with a brca1 or brca2 mutation. *N Engl J Med.* 2002 May 23;346(21):1609-15.
84. Roukos DH, Agnanti NJ, Paraskeva E, et al. Approaching the dilemma between prophylactic bilateral mastectomy or oophorectomy for breast and ovarian cancer prevention in carriers of brca1 or brca2 mutations. *Ann Surg Oncol.* 2002 Dec;9(10):941-3.
85. Kramer JL, Velazquez IA, Chen BE, et al. Prophylactic oophorectomy reduces breast cancer penetrance during prospective, long-term follow-up of brca1 mutation carriers. *J Clin Oncol.* 2005 Dec 1;23(34):8629-35.
86. Armstrong K, Schwartz JS, Randall T, et al. Hormone replacement therapy and life expectancy after prophylactic oophorectomy in women with brca1/2 mutations: A decision analysis. *J Clin Oncol.* 2004 Mar 15;22(6):1045-54.
87. McLaughlin JR, Risch HA, Lubinski J, et al. Reproductive risk factors for ovarian cancer in carriers of brca1 or brca2 mutations: A case-control study. *Lancet Oncol.* 2007 Jan;8(1):26-34.
88. Metcalfe K, Lynch HT, Ghadirian P, et al. Contralateral breast cancer in brca1 and brca2 mutation carriers. *J Clin Oncol.* 2004 Jun 15;22(12):2328-35.
89. Pierce LJ, Levin AM, Rebbeck TR, et al. Ten-year multi-institutional results of breast-conserving surgery and radiotherapy in brca1/2-associated stage i/ii breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006 Jun 1;24(16):2437-43.



90. Metcalfe KA, Lubinski J, Ghadirian P, et al. Predictors of contralateral prophylactic mastectomy in women with a brca1 or brca2 mutation: The hereditary breast cancer clinical study group. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 1;26(7):1093-7.
91. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, et al. The pathology of familial breast cancer: Predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, her-2, and p53 in patients with mutations in brca1 and brca2. *J Clin Oncol*. 2002 May 1;20(9):2310-8.
92. Foulkes WD, Metcalfe K, Sun P, et al. Estrogen receptor status in brca1- and brca2-related breast cancer: The influence of age, grade, and histological type. *Clin Cancer Res*. 2004 Mar 15;10(6):2029-34.
93. Fatouros M, Baltoyiannis G, Roukos DH. The predominant role of surgery in the prevention and new trends in the surgical treatment of women with brca1/2 mutations. *Ann Surg Oncol*. 2008 Jan;15(1):21-33.
94. Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of brca1- and brca2-associated breast and gynecologic cancer: A multicenter, prospective study. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 10;26(8):1331-7.
95. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: Report of the national surgical adjuvant breast and bowel project p-1 study. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Sep 16;90(18):1371-88.
96. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, et al. Tamoxifen for the prevention of breast cancer: Current status of the national surgical adjuvant breast and bowel project p-1 study. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Nov 16;97(22):1652-62.
97. Kriege M, Brekelmans CT, Boetes C, et al. Efficacy of mri and mammography for breast-cancer screening in women with a familial or genetic predisposition. *N Engl J Med*. 2004 Jul 29;351(5):427-37.
98. Agnantis NJ, Paraskevaidis E, Roukos D. Preventing breast, ovarian cancer in brca carriers: Rational of prophylactic surgery and promises of surveillance. *Ann Surg Oncol*. 2004 Dec;11(12):1030-4.
99. Rebbeck TR, Friebel T, Wagner T, et al. Effect of short-term hormone replacement therapy on breast cancer risk reduction after bilateral prophylactic oophorectomy in brca1 and brca2 mutation carriers: The prose study group. *J Clin Oncol*. 2005 Nov 1;23(31):7804-10.
100. Beral V, Bull D, Reeves G. Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the million women study. *Lancet*. 2005 Apr 30-May 6;365(9470):1543-51.
101. de Bock GH, Tollenaar RA, Papelard H, et al. Clinical and pathological features of brca1 associated carcinomas in a hospital-based sample of dutch breast cancer patients. *Br J Cancer*. 2001 Nov 2;85(9):1347-50.
102. Veronesi A, de Giacomi C, Magri MD, et al. Familial breast cancer: Characteristics and outcome of brca 1-2 positive and negative cases. *BMC Cancer*. 2005;5:70.
103. Cass I, Baldwin RL, Varkey T, et al. Improved survival in women with brca-associated ovarian carcinoma. *Cancer*. 2003 May 1;97(9):2187-95.
104. Hooning MJ, Aleman BM, Hauptmann M, et al. Roles of radiotherapy and chemotherapy in the development of contralateral breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Dec 1;26(34):5561-8.
105. Offersen BV, Overgaard M, Kroman N, et al. Accelerated partial breast irradiation as part of breast conserving therapy of early breast carcinoma: A systematic review. *Radiother Oncol*. 2009 Jan;90(1):1-13.
106. Hogg R, Friedlander M. Biology of epithelial ovarian cancer: Implications for screening women at high genetic risk. *J Clin Oncol*. 2004 Apr 1;22(7):1315-27.
107. Narod SA. Modifiers of risk of hereditary breast cancer. *Oncogene*. 2006 Sep 25;25(43):5832-6.
108. Pichert G, Bolliger B, Buser K, et al. Evidence-based management options for women at increased breast/ovarian cancer risk. *Ann Oncol*. 2003 Jan;14(1):9-19.

109. Smith RA, Cokkinides V, Eyre HJ. American cancer society guidelines for the early detection of cancer, 2003. *CA Cancer J Clin.* 2003 Jan-Feb;53(1):27-43.
110. Komenaka IK, Ditkoff BA, Joseph KA, et al. The development of interval breast malignancies in patients with brca mutations. *Cancer.* 2004 May 15;100(10):2079-83.
111. Madalinska JB, van Beurden M, Bleiker EM, et al. Predictors of prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy compared with gynecologic screening use in brca1/2 mutation carriers. *J Clin Oncol.* 2007 Jan 20;25(3):301-7.
112. Bourne TH, Campbell S, Reynolds KM, et al. Screening for early familial ovarian cancer with transvaginal ultrasonography and colour blood flow imaging. *BMJ.* 1993 Apr 17;306(6884):1025-9.
113. Cannistra SA. Cancer of the ovary. *N Engl J Med.* 2004 Dec 9;351(24):2519-29.
114. Schiff R, Osborne CK. Endocrinology and hormone therapy in breast cancer: New insight into estrogen receptor-alpha function and its implication for endocrine therapy resistance in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2005;7(5):205-11.
115. Cuzick J, Powles T, Veronesi U, et al. Overview of the main outcomes in breast-cancer prevention trials. *Lancet.* 2003 Jan 25;361(9354):296-300.
116. King MC, Wieand S, Hale K, et al. Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in brca1 and brca2: National surgical adjuvant breast and bowel project (nsabp-p1) breast cancer prevention trial. *JAMA.* 2001 Nov 14;286(18):2251-6.
117. Kote-Jarai Z, Powles TJ, Mitchell G, et al. Brca1/brca2 mutation status and analysis of cancer family history in participants of the royal marsden hospital tamoxifen chemoprevention trial. *Cancer Lett.* 2007 Mar 18;247(2):259-65.
118. Bramley M, Clarke RB, Howell A, et al. Effects of oestrogens and anti-oestrogens on normal breast tissue from women bearing brca1 and brca2 mutations. *Br J Cancer.* 2006 Apr 10;94(7):1021-8.
119. Gogas H, Markopoulos C, Blamey R. Should women be advised to take prophylactic endocrine treatment outside of a clinical trial setting? *Ann Oncol.* 2005 Dec;16(12):1861-6.
120. Dunn BK, Wickerham DL, Ford LG. Prevention of hormone-related cancers: Breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005 Jan 10;23(2):357-67.
121. Vogel VG. Recent results from clinical trials using serms to reduce the risk of breast cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Nov;1089:127-42.
122. Vogel VG, Costantino JP, Wickerham DL, et al. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: The nsabp study of tamoxifen and raloxifene (star) p-2 trial. *JAMA.* 2006 Jun 21;295(23):2727-41.
123. Jordan VC. Serms: Meeting the promise of multifunctional medicines. *J Natl Cancer Inst.* 2007 Mar 7;99(5):350-6.
124. Goss PE, Strasser-Weippl K. Prevention strategies with aromatase inhibitors. *Clin Cancer Res.* 2004 Jan 1;10(1 Pt 2):372S-9S.
125. O'Regan RM. Chemoprevention of breast cancer. *Lancet.* 2006 Apr 29;367(9520):1382-3.
126. Mauri D, Pavlidis N, Polyzos NP, et al. Survival with aromatase inhibitors and inactivators versus standard hormonal therapy in advanced breast cancer: Meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2006 Sep 20;98(18):1285-91.
127. Lonning PE. Bone safety of aromatase inhibitors versus tamoxifen. *Int J Gynecol Cancer.* 2006;16 Suppl 2:518-20.
128. Chien AJ, Goss PE. Aromatase inhibitors and bone health in women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006 Nov 20;24(33):5305-12.
129. Altundag K, Ibrahim NK. Aromatase inhibitors in breast cancer: An overview. *Oncologist.* 2006 Jun;11(6):553-62.
130. Narod SA, Dube MP, Klijn J, et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer in brca1 and brca2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2002 Dec 4;94(23):1773-9.
131. Whittemore AS, Balise RR, Pharoah PD, et al. Oral contraceptive use and ovarian cancer risk among carriers of brca1 or brca2 mutations. *Br J Cancer.* 2004 Nov 29;91(11):1911-5.

132. Madalinska JB, Hollenstein J, Bleiker E, et al. Quality-of-life effects of prophylactic salpingo-oophorectomy versus gynecologic screening among women at increased risk of hereditary ovarian cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Oct 1;23(28):6890-8.
133. Berman DB, Costalas J, Schultz DC, et al. A common mutation in *brca2* that predisposes to a variety of cancers is found in both jewish ashkenazi and non-jewish individuals. *Cancer Res*. 1996 Aug 1;56(15):3409-14.
134. Brody LC. Treating cancer by targeting a weakness. *N Engl J Med*. 2005 Sep 1;353(9):949-50.
135. Hay T, Jenkins H, Sansom OJ, et al. Efficient deletion of normal *brca2*-deficient intestinal epithelium by poly(adp-ribose) polymerase inhibition models potential prophylactic therapy. *Cancer Res*. 2005 Nov 15;65(22):10145-8.
136. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, et al. Targeting the DNA repair defect in *brca* mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*. 2005 Apr 14;434(7035):917-21.
137. Plummer ER. Inhibition of poly(adp-ribose) polymerase in cancer. *Curr Opin Pharmacol*. 2006 Aug;6(4):364-8.
138. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jul 8;100(14):8418-23.
139. Sotiriou C, Piccart MJ. Taking gene-expression profiling to the clinic: When will molecular signatures become relevant to patient care? *Nat Rev Cancer*. 2007 Jul;7(7):545-53.
140. Roukos DH, Lykoudis E, Liakakos T. Genomics and challenges toward personalized breast cancer local control. *J Clin Oncol*. 2008 Sep 10;26(26):4360-1; author reply 1-2.
141. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: A critical review. *J Clin Oncol*. 2008 May 20;26(15):2568-81.
142. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2002 Dec 19;347(25):1999-2009.
143. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006 Aug 10;24(23):3726-34.
144. Huang CC, Bredel M. Use of gene signatures to improve risk estimation in cancer. *JAMA*. 2008 Apr 2;299(13):1605-6.
145. Roukos DH. Twenty-one-gene assay: Challenges and promises in translating personal genomics and whole-genome scans into personalized treatment of breast cancer. *J Clin Oncol*. 2009 Mar 10;27(8):1337-8; author reply 8-9.
146. Hayes DF, Stearns V, Rae J, et al. A model citizen? Is tamoxifen more effective than aromatase inhibitors if we pick the right patients? *J Natl Cancer Inst*. 2008 May 7;100(9):610-3.
147. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *brca1*. *Science*. 1994 Oct 7;266(5182):66-71.
148. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene *brca2*. *Nature*. 1995 Dec 21-28;378(6559):789-92.
149. Antoniou AC, Sinilnikova OM, Simard J, et al. *Rad51* 135g-->c modifies breast cancer risk among *brca2* mutation carriers: Results from a combined analysis of 19 studies. *Am J Hum Genet*. 2007 Dec;81(6):1186-200.
150. Offit K, Garber JE. Time to check *chek2* in families with breast cancer? *J Clin Oncol*. 2008 Feb 1;26(4):519-20.
151. Antoniou AC, Spurdle AB, Sinilnikova OM, et al. Common breast cancer-predisposition alleles are associated with breast cancer risk in *brca1* and *brca2* mutation carriers. *Am J Hum Genet*. 2008 Apr;82(4):937-48.
152. Friedman A, Perrimon N. Genetic screening for signal transduction in the era of network biology. *Cell*. 2007 Jan 26;128(2):225-31.
153. Jain RK, Duda DG, Clark JW, et al. Lessons from phase iii clinical trials on anti-vegf therapy for cancer. *Nat Clin Pract Oncol*. 2006 Jan;3(1):24-40.

154. Lobo NA, Shimono Y, Qian D, et al. The biology of cancer stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23:675-99.
155. Roukos DH. Her2 and response to paclitaxel in node-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2008 Jan 10;358(2):197; author reply 8.
156. Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the encode pilot project. *Nature.* 2007 Jun 14;447(7146):799-816.
157. Kaiser J. Breakthrough of the year. It's all about me. *Science.* 2007 Dec 21;318(5858):1843.
158. Hunter DJ, Khoury MJ, Drazen JM. Letting the genome out of the bottle--will we get our wish? *N Engl J Med.* 2008 Jan 10;358(2):105-7.
159. Manolio TA, Brooks LD, Collins FS. A hapmap harvest of insights into the genetics of common disease. *J Clin Invest.* 2008 May;118(5):1590-605.
160. Roukos DH. Innovative genomic-based model for personalized treatment of gastric cancer: Integrating current standards and new technologies. *Expert Rev Mol Diagn.* 2008 Jan;8(1):29-39.
161. Roukos DH. Assessing both genetic variation (snps/cnvs) and gene-environment interactions may lead to personalized gastric cancer prevention. *Expert Review of Molecular Diagnostics.* 2009 Jan;9(1):1-6.
162. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer.* 1957 Sep;11(3):359-77.
163. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991 Nov;19(5):403-10.
164. Elston EW, Ellis IO. Method for grading breast cancer. *J Clin Pathol.* 1993 Feb;46(2):189-90.
165. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & i. O. Ellis. *Histopathology* 1991; 19; 403-410. *Histopathology.* 2002 Sep;41(3A):151-2, discussion 2-3.
166. Boiesen P, Bendahl PO, Anagnostaki L, et al. Histologic grading in breast cancer--reproducibility between seven pathologic departments. South sweden breast cancer group. *Acta Oncol.* 2000;39(1):41-5.
167. Meyer JS, Alvarez C, Milikowski C, et al. Breast carcinoma malignancy grading by bloom-richardson system vs proliferation index: Reproducibility of grade and advantages of proliferation index. *Mod Pathol.* 2005 Aug;18(8):1067-78.
168. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer.* 1983 Jan 15;31(1):13-20.
169. Harbeck N, Dettmar P, Thomssen C, et al. Prognostic impact of tumor biological factors on survival in node-negative breast cancer. *Anticancer Res.* 1998 May-Jun;18(3C):2187-97.
170. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G, et al. Prognostic factors in node-negative breast cancer: A review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg.* 2002 Jan;235(1):10-26.
171. Rudolph P, MacGrogan G, Bonichon F, et al. Prognostic significance of ki-67 and topoisomerase iialpha expression in infiltrating ductal carcinoma of the breast. A multivariate analysis of 863 cases. *Breast Cancer Res Treat.* 1999 May;55(1):61-71.
172. Viale G, Regan MM, Mastropasqua MG, et al. Predictive value of tumor ki-67 expression in two randomized trials of adjuvant chemoendocrine therapy for node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2008 Feb 6;100(3):207-12.
173. Liu S, Edgerton SM, Moore DH, 2nd, et al. Measures of cell turnover (proliferation and apoptosis) and their association with survival in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2001 Jun;7(6):1716-23.

174. Moriki T, Takahashi T, Kataoka H, et al. Proliferation marker mib-1 correlates well with proliferative activity evaluated by brdu in breast cancer: An immunohistochemical study including correlation with pcna, p53, c-erb-2 and estrogen receptor status. *Pathol Int.* 1996 Dec;46(12):953-61.
175. Pierga JY, Leroyer A, Viehl P, et al. Long term prognostic value of growth fraction determination by ki-67 immunostaining in primary operable breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1996;37(1):57-64.
176. Pietiläinen T. The important prognostic value of ki-67 expression as determined by image analysis in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1996;122(11):687-92.
177. Pinder SE, Wencyk P, Sibbering DM, et al. Assessment of the new proliferation marker mib1 in breast carcinoma using image analysis: Associations with other prognostic factors and survival. *Br J Cancer.* 1995 Jan;71(1):146-9.
178. Rudas M, Gnant MF, Mittlbock M, et al. Thymidine labeling index and ki-67 growth fraction in breast cancer: Comparison and correlation with prognosis. *Breast Cancer Res Treat.* 1994;32(2):165-75.
179. Sahin AA, Ro J, Ro JY, et al. Ki-67 immunostaining in node-negative stage i/ii breast carcinoma. Significant correlation with prognosis. *Cancer.* 1991 Aug 1;68(3):549-57.
180. Sasaki K, Matsumura K, Murakami T, et al. Measurement of bromodeoxyuridine labeling index, ki-67 score and ag-nor count in breast carcinomas. Comparison with DNA ploidy. *Oncology.* 1992;49(2):147-53.
181. Spyrtos F, Ferrero-Pous M, Trassard M, et al. Correlation between mib-1 and other proliferation markers: Clinical implications of the mib-1 cutoff value. *Cancer.* 2002 Apr 15;94(8):2151-9.
182. Trihia H, Murray S, Price K, et al. Ki-67 expression in breast carcinoma: Its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors--a surrogate marker? *Cancer.* 2003 Mar 1;97(5):1321-31.
183. Weikel W, Beck T, Mitze M, et al. Immunohistochemical evaluation of growth fractions in human breast cancers using monoclonal antibody ki-67. *Breast Cancer Res Treat.* 1991 Aug;18(3):149-54.
184. Wintzer HO, Zipfel I, Schulte-Monting J, et al. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer.* 1991 Jan 15;67(2):421-8.
185. Brown RW, Allred CD, Clark GM, et al. Prognostic value of ki-67 compared to s-phase fraction in axillary node-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 1996 Mar;2(3):585-92.
186. Bottini A, Berruti A, Bersiga A, et al. Relationship between tumour shrinkage and reduction in ki67 expression after primary chemotherapy in human breast cancer. *Br J Cancer.* 2001 Oct 19;85(8):1106-12.
187. Nicholson RI, McClelland RA, Finlay P, et al. Relationship between egf-r, c-erb-2 protein expression and ki67 immunostaining in breast cancer and hormone sensitivity. *Eur J Cancer.* 1993;29A(7):1018-23.
188. Rudolph P, Olsson H, Bonatz G, et al. Correlation between p53, c-erb-2, and topoisomerase ii alpha expression, DNA ploidy, hormonal receptor status and proliferation in 356 node-negative breast carcinomas: Prognostic implications. *J Pathol.* 1999 Jan;187(2):207-16.
189. Chhieng DC, Rodriguez-Burford C, Meleth S, et al. Assessment of biomarker expression in predicting pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer. *Breast J.* 2007 Sep-Oct;13(5):534-5.
190. Dowsett M, Smith IE, Ebbs SR, et al. Prognostic value of ki67 expression after short-term presurgical endocrine therapy for primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2007 Jan 17;99(2):167-70.
191. Keam B, Im SA, Kim HJ, et al. Prognostic impact of clinicopathologic parameters in stage ii/iii breast cancer treated with neoadjuvant docetaxel and doxorubicin chemotherapy: Paradoxical features of the triple negative breast cancer. *BMC Cancer.* 2007;7:203.

192. Wang JC. Cellular roles of DNA topoisomerases: A molecular perspective. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002 Jun;3(6):430-40.
193. Depowski PL, Rosenthal SI, Brien TP, et al. Topoisomerase  $\alpha$  expression in breast cancer: Correlation with outcome variables. *Mod Pathol.* 2000 May;13(5):542-7.
194. Jarvinen TA, Tanner M, Rantanen V, et al. Amplification and deletion of topoisomerase  $\alpha$  associate with *erbB-2* amplification and affect sensitivity to topoisomerase II inhibitor doxorubicin in breast cancer. *Am J Pathol.* 2000 Mar;156(3):839-47.
195. MacGrogan G, Rudolph P, Mascarel Id I, et al. DNA topoisomerase  $\alpha$  expression and the response to primary chemotherapy in breast cancer. *Br J Cancer.* 2003 Aug 18;89(4):666-71.
196. Park K, Kim J, Lim S, et al. Topoisomerase II- $\alpha$  (topoII) and *her2* amplification in breast cancers and response to preoperative doxorubicin chemotherapy. *Eur J Cancer.* 2003 Mar;39(5):631-4.
197. 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 Feb 3;85(3):200-6.
198. Alsner J, Yilmaz M, Guldborg P, et al. Heterogeneity in the clinical phenotype of tp53 mutations in breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2000 Oct;6(10):3923-31.
199. Borresen-Dale AL. Tp53 and breast cancer. *Hum Mutat.* 2003 Mar;21(3):292-300.
200. Lai H, Ma F, Trapido E, et al. Spectrum of p53 tumor suppressor gene mutations and breast cancer survival. *Breast Cancer Res Treat.* 2004 Jan;83(1):57-66.
201. Overgaard J, Yilmaz M, Guldborg P, et al. Tp53 mutation is an independent prognostic marker for poor outcome in both node-negative and node-positive breast cancer. *Acta Oncol.* 2000;39(3):327-33.
202. Powell B, Soong R, Iacopetta B, et al. Prognostic significance of mutations to different structural and functional regions of the p53 gene in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2000 Feb;6(2):443-51.
203. Holbro T, Civenni G, Hynes NE. The *erbB* receptors and their role in cancer progression. *Exp Cell Res.* 2003 Mar 10;284(1):99-110.
204. Ross JS, Fletcher JA. The *her-2/neu* oncogene in breast cancer: Prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Stem Cells.* 1998;16(6):413-28.
205. Yarden Y. Biology of *her2* and its importance in breast cancer. *Oncology.* 2001;61 Suppl 2:1-13.
206. [No authors listed]. Familial breast cancer: Collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet.* 2001 Oct 27;358(9291):1389-99.
207. Shih HA, Couch FJ, Nathanson KL, et al. *Bra1* and *bra2* mutation frequency in women evaluated in a breast cancer risk evaluation clinic. *J Clin Oncol.* 2002 Feb 15;20(4):994-9.
208. Simard J, Dumont M, Moisan AM, et al. Evaluation of *bra1* and *bra2* mutation prevalence, risk prediction models and a multistep testing approach in french-canadian families with high risk of breast and ovarian cancer. *J Med Genet.* 2007 Feb;44(2):107-21.
209. NCCN. Nccn clinical practice guidelines in oncology. Breast cancer risk reduction v. 1.2011. 2011.
210. Stefanou D, Batistatou A, Briasoulis E, et al. Estrogen receptor beta (*erbeta*) expression in breast carcinomas is not correlated with estrogen receptor alpha (*eralpha*) and prognosis: The greek experience. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2004;25(4):457-61.
211. Pinto AE, Andre S, Laranjeira C, et al. Correlations of cell cycle regulators (p53, p21, *prb* and *mdm2*) and *c-erbB-2* with biological markers of proliferation and overall survival in breast cancer. *Pathology.* 2005 Feb;37(1):45-50.
212. Veronese SM, Maisano C, Scibilia J. Comparative prognostic value of *ki-67* and *mib-1* proliferation indices in breast cancer. *Anticancer Res.* 1995 Nov-Dec;15(6B):2717-22.
213. Fonatsch C, Duchrow M, Rieder H, et al. Assignment of the human *ki-67* gene (*mk167*) to 10q25-qter. *Genomics.* 1991 Oct;11(2):476-7.

214. Kill IR. Localisation of the ki-67 antigen within the nucleolus. Evidence for a fibrillar-deficient region of the dense fibrillar component. *J Cell Sci.* 1996 Jun;109 ( Pt 6):1253-63.
215. Starborg M, Gell K, Brundell E, et al. The murine ki-67 cell proliferation antigen accumulates in the nucleolar and heterochromatic regions of interphase cells and at the periphery of the mitotic chromosomes in a process essential for cell cycle progression. *J Cell Sci.* 1996 Jan;109 ( Pt 1):143-53.
216. Heidebrecht HJ, Buck F, Haas K, et al. Monoclonal antibodies ki-s3 and ki-s5 yield new data on the 'ki-67' proteins. *Cell Prolif.* 1996 Jul;29(7):413-25.
217. Cortes F, Pastor N, Mateos S, et al. Roles of DNA topoisomerases in chromosome segregation and mitosis. *Mutat Res.* 2003 Jan;543(1):59-66.
218. Di Leo A, Gancberg D, Larsimont D, et al. Her-2 amplification and topoisomerase ii $\alpha$  gene aberrations as predictive markers in node-positive breast cancer patients randomly treated either with an anthracycline-based therapy or with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res.* 2002 May;8(5):1107-16.
219. Jarvinen TA, Liu ET. Her-2/neu and topoisomerase ii $\alpha$  in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2003 Apr;78(3):299-311.
220. Hellemans P, van Dam PA, Geyskens M, et al. Immunohistochemical study of topoisomerase ii- $\alpha$  expression in primary ductal carcinoma of the breast. *J Clin Pathol.* 1995 Feb;48(2):147-50.
221. Jarvinen TA, Kononen J, Pelto-Huikko M, et al. Expression of topoisomerase ii $\alpha$  is associated with rapid cell proliferation, aneuploidy, and c-erbB2 overexpression in breast cancer. *Am J Pathol.* 1996 Jun;148(6):2073-82.
222. Durbecq V, Paesmans M, Cardoso F, et al. Topoisomerase-ii  $\alpha$  expression as a predictive marker in a population of advanced breast cancer patients randomly treated either with single-agent doxorubicin or single-agent docetaxel. *Mol Cancer Ther.* 2004 Oct;3(10):1207-14.
223. Politopoulos I, Gibson J, Tapper W, et al. Genome-wide association of breast cancer: Composite likelihood with imputed genotypes. *Eur J Hum Genet.* 2011 Feb;19(2):194-9.





