



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**Β' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ ΚΟΥΡΑΚΛΗΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΗΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ ΣΤΗΝ
ΚΑΛΟΗΘΗ ΚΑΙ ΚΑΚΟΗΘΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**

ΠΕΤΡΟΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΥΔΗΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

Περιεχόμενα

Στοιχεία διατριβής	4
Ευχαριστίες	5
Βιογραφικό σημείωμα	8
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	23
ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	23
Πρώτο τρίμηνο της κύησης.....	24
Δεύτερο τρίμηνο της κύησης.....	24
Τρίτο τρίμηνο της κύησης.....	25
Η ανάπτυξη του μαστού κατά τη νηπιακή ηλικία.....	26
Η ανάπτυξη του μαστού στην εφηβεία	26
Κυτταρικές μεταβολές κατά την ανάπτυξη του μαστού	27
Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ.....	28
Χειρουργική στον καρκίνο του μαστού.....	30
Χημειοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού	31
Ακτινοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού	32
Βιολογική/ανοσολογική θεραπεία στον καρκίνο του μαστού.....	33
Ορμονοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού	33
ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	36
Από τον πορογενή in situ στο διηθητικό καρκίνο του μαστού.....	38
ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	40
Στεροειδογένεση	41
Ο οιστρογονικός υποδοχέας (ER).....	43
Ο προγεστερονικός υποδοχέας (PR)	43
Ο ανδρογονικός υποδοχέας (AR)	44
ΑΝΑΤΟΜΙΑ, ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ	45
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ.....	46
Θυρεοειδής και αμφιβληστροειδής.....	47
Θυρεοειδής και σύνδρομο DOWN.....	47
Θυρεοειδής και κυτταρικός μεταβολισμός	48
Θυρεοειδής και γνωσιακή λειτουργία.....	49
Θυρεοειδής και νευρικό σύστημα.....	49
Θυρεοειδής και καρδιά.....	50
Θυρεοειδής και οστά.....	50
Θυρεοειδής, κύηση και γονιμότητα.....	51

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ (Thyroid hormone receptors, TRs)	52
Δομή και βιολογικές δράσεις των υποδοχέων της θυρεορμόνης.....	52
Βιολογικές δράσεις του TRα – πειραματικά δεδομένα	55
TRs ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΜΑΣΤΟΥ	58
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	62
Εισαγωγή.....	62
Υλικό και μέθοδος	63
Ανοσοϊστοχημεία.....	64
Ανάλυση εικόνας	65
Στατιστική ανάλυση.....	66
Αποτελέσματα.....	67
Συζήτηση των αποτελεσμάτων	70
Βιβλιογραφία.....	73

Στοιχεία διατριβής

Θέμα

Μελέτη των υποδοχέων της θυρεοειδικής ορμόνης στην καλοήθη και κακοήθη παθολογία του μαστού

Υποβολή θέματος 05/11/2011

Ορισμός Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής 27/09/2017

Αριθμός Πρωτοκόλλου ορισμού επταμελούς εξεταστικής επιτροπής
1718002641/27.09.2017

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Γεώργιος Χ. Σωτηρόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, επιβλέπων μέλος

Γρηγόριος Κουράκλης, Καθηγητής

Κωνσταντίνος Κόντζογλου, Αναπληρωτής Καθηγητής

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Γεώργιος Χ. Σωτηρόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής

Γρηγόριος Κουράκλης, Καθηγητής

Κωνσταντίνος Κόντζογλου, Αναπληρωτής Καθηγητής

Δημήτριος Μαντάς, Αναπληρωτής Καθηγητής

Δημήτριος Δημητρούλης, Επίκουρος Καθηγητής

Νικόλαος Αρκαδόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής

Μιχαήλ Κοντός, Επίκουρος Καθηγητής

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμά:

Τον Αναπ. Καθ. κ. Γεώργιο Σωτηρόπουλο για την αμέριστη υποστήριξη, καθοδήγηση και υπομονή του καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής.

Το Διευθυντή μου, Καθηγητή κ. Γρηγόριο Κουράκλη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για την πολύτιμη στήριξή του κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσής μου στην Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική.

Τον Αναπ. Καθ. κ. Κωνσταντίνο Κόντζογλου για την αγάπη που μου ενέπνευσε για τη χειρουργική μαστού.

Τα μέλη ΔΕΠ της Β' Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής του Λαϊκού Νοσοκομείου.

Τον καλό φίλο και συνάδελφο Γιώργο Αγρογιάννη και την τεχνολόγο Μαρία Κεμερλή για την απaráμιλλη τεχνική και επιστημονική τους υποστήριξη.

Την οικογένειά μου για την αγάπη τους και τη συμπαράστασή τους σε κάθε μου βήμα.

Ευχαριστώ επίσης τους: Ash, Tibor, Hisham, Michael, Arnie, Τάσο, Δημήτρη, Μάνο, Άννα, Μαρία, Γιώργο, Γιάννη, Εύα, Βαγγέλη, Κώστα, Αντρέα, Ευγένιο, Χρήστο και τους Judy Versus.








Αφιερώνεται

Στη σύντροφό μου, Αριστέα

Στα παιδιά μου, Φίλιππο και Μάγια

Στους γονείς μου

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,
 ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
 ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
 ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
 ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΉΓΗΣΑΣΘ
 ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
 Ν ΊΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
 ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
 ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΡΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΊΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
 ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ
 ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΘΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
 ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
 ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
 ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
 ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟ
 ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ
 ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΜΟ
 ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
 ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ.  ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
 ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
 ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
 ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ.  ΑΓΝΩΣ Δ
 Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
 ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ.  ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
 ΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
 ΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ.  ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
 ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
 ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ
 ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΔΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
 ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
 ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.  Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,
 Η ΙΔΩ, Η ΔΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β
 ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
 ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
 ΙΑΥΤΑ.  ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
 Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
 ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
 ΔΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
 ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

Βιογραφικό σημείωμα

Πέτρος Χαραλαμπούδης MD PhD FRCS FEBS

Ογκοπλαστικός Χειρουργός Μαστού

Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής Μαστού

Γενικά στοιχεία

Διεύθυνση κατοικίας: Ground Floor Flat 1, 35 Kings Avenue, London N10 1PA,
United Kingdom

Ημερομηνία γέννησης: 06/09/1982

Τηλέφωνο: 00447510833660

Οικογενειακή κατάσταση: έγγαμος με δύο παιδιά

Email 1: Petros.Charalampoudis@gstt.nhs.uk

Email 2: petros.charalampoudis.laiko@gmail.com

Email 3: petros.charalampoudis@gmail.com

Επαγγελματική εμπειρία

01/12/2016-σήμερα: Consultant Oncoplastic Breast Surgeon, Guy's and Saint Thomas' NHS Foundation Trust, London, UK

01/12/2016-σήμερα: Honorary Consultant Oncoplastic Breast Surgeon, Lewisham and Greenwich NHS Foundation Trust, London, UK

01/09/2015-σήμερα: Honorary Clinical Lecturer (Clinical Assistant Professor) in Breast Surgery, Division of Cancer Studies, King's College London, London, UK

08/09/2014-01/12/2016: Senior Clinical Fellow in Breast Surgery, Breast Unit, Guy's and Saint Thomas' NHS Foundation Trust, London, United Kingdom

08/09/2015-01/12/2016: Honorary Senior Clinical Fellow, Breast Unit, University Hospital Lewisham, NHS, London, United Kingdom

02/2014-08/2014: Ειδικευμένος Γενικός Χειρουργός, Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Διευθυντής: Καθηγητής Γρηγόριος Κουράκλης

11/2013-12/2013: Επισκέπτης ειδικευόμενος Χειρουργικής, Hautepierre Hospital, Strasbourg Medical School, Strasbourg, France

01/2010-01/2014: Ειδικευόμενος Γενικός Χειρουργός, Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Λαϊκό Νοσοκομείο, Διευθυντής: Καθηγητής Γρηγόριος Κουράκλης

09/2007-09/2009: Ειδικότητα Γενικής Χειρουργικής, Saint Joseph and Warquignies Hospital, Catholic University of Louvain, Belgium

01/2007-05/2007: FY2 MD, St. Luc University Hospital, Brussels, Belgium

07/2005-08/2005: Clinical Observer, Surgical Critical Care Unit, Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA

Εκπαίδευση

09/2016: 3η Θέση στις Ευρωπαϊκές Εξετάσεις Χειρουργικής Μαστού (FEBS, UEMS), Fellow of the European Board of Breast Surgery, Krakow, Poland

2012-2017: Διδακτορική Διατριβή – Υποδοχείς θυρεορμόνης και καρκίνος του μαστού
Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

02/2014: 1η θέση στις εξετάσεις για τη λήψη της Χειρουργικής ειδικότητας

2007-2014: Ειδικότητα Χειρουργικής, UCL (Belgium), ΕΚΠΑ, Ελλάδα

2000-2006: Πτυχίο Ιατρικής Αθηνών 7.34/10

2000: Αποφοίτηση με Άριστα από το Λεόντειο Λύκειο Πατησίων, Αθήνα

Ερευνητική δραστηριότητα

09/2015-σήμερα: Honorary Clinical Lecturer, Research, Division of Cancer Studies, King's College London

2014- σήμερα: Breast Unit, GSTT, Participation in the Unit's Academic and Research Portfolio – Clinical Trials, Audits, Peer-review manuscript preparation, data collection and interpretation, research meetings

2010-σήμερα: Research Fellow, EU funding, 'The POM Consortium - PIK3CA Oncogenic Mutations in Breast and Colon Cancers: Targeted Development of Anticancer Drugs, Biomedical Research Foundation, 'Academy of Athens'.

Διεθνείς δημοσιεύσεις

Charalampoudis P, Karakatsanis A, Neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer; invaluable surgical tool in the systemic era, Lancet Oncology (accepted)

Spartalis E, Tsilimigras DI, **Charalampoudis P**, Karachaliou GS, Moris D, Athanasiou A, Spartalis M, Bolkas V, Dimitroulis D, Nikiteas N. The "Yin and Yang" of Platelet-rich Plasma in Breast Reconstruction After Mastectomy or Lumpectomy for Breast Cancer. Anticancer Res. 2017 Dec;37(12):6557-6562. Review.

Charalampoudis P, Markopoulos C, Kovacs T. Controversies and recommendations regarding sentinel lymph node biopsy in primary breast cancer: A comprehensive review of current data. Eur J Surg Oncol. 2018 Jan;44(1):5-14. doi: 10.1016/j.ejso.2017.10.215. Epub 2017 Nov 13. Review.

Tang SS, Kaptanis S, Haddow JB, Mondani G, Elsberger B, Tasoulis MK, Obondo C, Johns N, Ismail W, Syed A, Kissias P, Venn M, Sundaramoorthy S, Irwin G, Sami AS, Elfadl D, Baggaley A, Remoundos DD, Langlands F, **Charalampoudis P**, Barber Z, Hamilton-Burke WLS, Khan A, Sirianni C, Merker LAG, Saha S, Lane RA, Chopra S,

Dupré S, Manning AT, St John ER, Musbahi A, Dlamini N, McArdle CL, Wright C, Murphy JO, Aggarwal R, Dordea M, Bosch K, Egbeare D, Osman H, Tayeh S, Razi F, Iqbal J, Ledwidge SFC, Albert V, Masannat Y. Current margin practice and effect on re-excision rates following the publication of the SSO-ASTRO consensus and ABS consensus guidelines: a national prospective study of 2858 women undergoing breast-conserving therapy in the UK and Ireland. *Eur J Cancer*. 2017 Oct;84:315-324. doi: 10.1016/j.ejca.2017.07.032. Epub 2017 Aug 30.

Peek MCL, Ahmed M, Scudder J, Baker R, **Charalampoudis P**, Pinder SE, Douek M; HIFU-F Collaborators. High-intensity focused ultrasound in the treatment of breast fibroadenomata (HIFU-F trial). *Int J Hyperthermia*. 2017 Oct 2:1-8. doi: 10.1080/02656736.2017.1373865

Sotiropoulos GC, Machairas N, Kostakis ID, Stamopoulos P, **Charalampoudis P**, Kykalos S, Kouraklis G, Mantas D Early Experience in Starting a Laparoscopic Liver Resection Program in Greece. *JLS*. 2017 Jan-Mar;21(1). pii: e2016.00110. doi: 10.4293/JLS.2016.00110.

Charalampoudis P, Agrogiannis G, Kontzoglou K, Kouraklis G, Sotiropoulos GC, Thyroid hormone receptor alpha expression in ductal invasive breast cancer: an immunohistochemical study with digital slide image analysis, *Eur J Surg Oncol*. 2017 Aug;43(8):1428-1432. doi: 10.1016/j.ejso.2017.05.012. Epub 2017 May 25.

Machairas N, **Charalampoudis P**, Molmenti EP, Kykalos S, Tsaparas P, Stamopoulos P, Sotiropoulos GC. The value of staging laparoscopy in gastric cancer. *Ann Gastroenterol*. 2017;30(3):287-294. doi: 10.20524/aog.2017.0133. Epub 2017 Mar 16. Review.

Kovacs T, **Charalampoudis P**, Hout BAI, Dumitru D, Kothari A. Results from the BRIOS randomised trial. *Lancet Oncol.* 2017 Apr;18(4):e190. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30165-1

Saporito F, **Charalampoudis P**, Kinney M, Knox S. Operative management of dermatofibrosarcoma protuberans of the breast. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2017 Jan;30(1):128-129

Peek M, **Charalampoudis P**, Douek M, Blue dye for identification of sentinel nodes in breast cancer and malignant melanoma: a systematic review and meta-analysis, *Future Oncol.* 2017 Feb;13(5):455-467. doi: 10.2217/fon-2016-0255. Epub 2016 Aug 31. Review.

Peek MCL, Ahmed M, Scudder, Baker R, Pinder SE, Douek M, on behalf of the HIFU-F Trialists' Collaborative, High intensity focused ultrasound in the treatment of breast fibroadenomata: Results of the HIFU-F feasibility trial, *International Journal of Hyperthermia 2016 – **Charalampoudis P** as citable collaborator*

Charalampoudis P, Sotiropoulos GC, Kykalos S, Stamopoulos P, Kouraklis G, Trifocal colorectal cancer, *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2016 Oct;29(4):391-392.

Kykalos S, Mantas D, **Charalampoudis P**, Markopoulos C, Incidence of inactive allele CYP2D6*4 between Greek women suffering from hormone-sensitive breast cancer, *Eur J Gyn Onc*, in press

Charalampoudis P, Mantas D, Sotiropoulos GC, Dimitroulis D, Kouraklis G, Markopoulos C, Surgery for liver metastases from breast cancer, *Future Oncol.* 2015;11(10):1519-30. doi: 10.2217/fon.15.43. Review.

Markopoulos C, **Charalampoudis P**, Karayannis E, Antonopoulou Z, Mantas D, Inflammatory myofibroblastic pseudotumor of the breast, *Case Rep Surg.* 2015; 2015:705127

Charalampoudis P, Kostakis ID, Doula C, Mantas D, A tricky occurrence of Bochdalek's hernia, *BMJ Case Rep*. 2015 Mar 24;2015.

Mantas D, Tsaparas P, **Charalampoudis P**, Gogas H et al, Emergency Surgery for metastatic melanoma, *Int J Surg Oncol*. 2014;2014:987170.

Spartalis ED, **Charalampoudis P**, Kandilis AN et al, A Case of Retroperitoneal Castleman's Disease and an Update on the Latest Evidence. *Case Rep Surg*. 2014;2014:643746

Kostakis ID, Machairas N, Damaskos C, **Charalampoudis P**, Doula C, Tsaparas P et al, Platelet indices and neutrophil and lymphocyte ratio in adults with acute appendicitis, *S Afr J Surg*. 2016 Mar;54(1):29-33.

Mantas D, Kandilis A, **Charalampoudis P**, Nonfunctioning symptomatic paraganglioma: Is there an optimal follow-up for patients with extra-adrenal benign paragangliomas? *Surg Case Rep*. 2014 Sep 5;2014(9).

Charalampoudis P, Spartalis ED, Is screening mammography falling out of the ropes? eComment on 'Twenty five year follow-up for breast cancer incidence and mortality of the Canadian National Breast Screening Study: randomised screening trial', by Miller AB et al. *BMJ* 2014, bmj.com

Charalampoudis P, Ferdin F, Therasse A, Carotid endarterectomy in a low volume vascular centre, *Acta Chir Belg* (2011) 111, 364-365

Charalampoudis P, Right lower quadrant abdominal pain in a patient with prior ventriculoperitoneal shunting. Consider the tip! *Case Report Med*. 2012;2012:253027

Dimitroulis D, Lainas P, **Charalampoudis P**, Karatzas T, Delladetsima I, Sakellariou S, Karidis N, Kouraklis G, Co-existence of hepatocellular adenoma and focal nodular hyperplasia in a young female, *World J Hepatol*. 2012 Nov 27;4(11):314-8

Psathas E, Lioudaki S, Karantonis FF, **Charalampoudis P**, Papadopoulos O, Klonaris C. Management of a complicated ruptured infected pseudoaneurysm of the femoral artery in a drug addict. Case Report Vasc Med. 2012;2012:434768

Psathas ED, Lioudaki S, Doulaptsis M, **Charalampoudis P**, Klonaris C, Verikokos C. Clinical manifestations of aortocaval fistulas in ruptured abdominal aortic aneurysm: report of two cases. Case Rep Surg. 2012;2012:123081.

Charalampoudis P, Dimitroulis D, Spartalis E, Vergadis C, Stofas A, Karatzas T. Giant pancreatic incidentaloma: Report of a case and literature review. Int J Surg Case Rep. 2012;3(8):362-5.

Karatzas T, Dimitroulis D, **Charalampoudis P**, Misiakos EP, Vasileiadis I, Kouraklis G. Management of cystic and solid pancreatic incidentalomas: A review analysis J BUON. 2013 Jan-Mar;18(1):17-24.

Spartalis ED, Karatzas T, **Charalampoudis P**, Vergadis C, Dimitroulis D, Neglected papillary thyroid carcinoma seven years after initial diagnosis. Case Rep Oncol Med. 2013;2013:148973

Sotiropoulos GC, Stamopoulos P, **Charalampoudis P**, Molmenti EP, Voutsarakis A, Kouraklis G, Totally laparoscopic left hepatectomy using the torsional ultrasonic scalpel, World J Gastroenterology, 2013 September 21; 19(35): 5929-5932

Sotiropoulos GC, **Charalampoudis P**, Angelopoulou MK, Kouraklis G. Acute leukemoid reaction associated with liver surgery for metastatic colorectal cancer. Int J Colorectal Dis. 2013 Sep 20

Dimitroulis D, **Charalampoudis P**, Lainas P, Papanikolaou IG, Kykalos S, Kouraklis G, Focal Nodular Hyperplasia and Hepatocellular Adenoma: Current views Acta Chir Belg, 2013, 113, 162-169

Mantas D, **Charalampoudis P**, Nikiteas N. FAP related periampullary adenocarcinoma. Int J Surg Case Rep. 2013;4(8):684-6

Charalampoudis P, Sotiropoulos GC Surgery for giant primary neuroendocrine carcinoma of the liver, J Gastrointestinal Surgery 2013 Oct 22.

Charalampoudis P, Dimitroulis D, Katsargyris A, Patsouras D, Anastasiou I, Kouraklis G, Primary enteric-type mucinous adenocarcinoma of the urethra in a patient with ulcerative colitis, Int Surg. 2014 Sep-Oct;99(5):669-72.

Mantas D, **Charalampoudis P**, Preoperative biliary drainage in patients with distal obstruction due to pancreatic head cancer-a review, Int J Endocrin Oncology, 2014 (1) 1-6.

Charalampoudis P, Ferdin F, Therasse A, Fastrez J, Interest of peroperative arteriography to control the quality of lower limb revascularization, Acta Chir Belg Supplement (2008), 108

Ελληνικές Δημοσιεύσεις

Charalampoudis P, Svolou E, Tsaparas P, Voutsarakis A, Dimitroulis D, Kouraklis G, Unifocal retroperitoneal Castleman Disease-Surgery Quiz, Archives of Hellenic Medicine 2013;30(1):119-120

Spartalis ED, **Charalampoudis P**, Kampolis C, Karagkiouzis G, Tomos P, Kouraklis G Thoracic Surgery Quiz: Bullous Lung Disease, Archives of Hellenic Medicine 2013;30(3):373-374

Spartalis ED, **Charalampoudis P**, Kampolis C, Karagkiouzis G, Tomos P, Kouraklis G, Thoracic Surgery Quiz: Retrotracheal Diving Goiter, Archives of Hellenic Medicine 2013;30(2):250-252

Συγγραφή κεφαλαίων σε βιβλία

Charalampoudis P. Kovacs T. (2018) Surgery to the Breast: Mastectomy. In: Wyld L., Markopoulos C., Leidenius M., Senkus-Konefka E. (eds) Breast Cancer Management for Surgeons. Springer, Cham

Charalampoudis P., Douek M, Assessing outcomes following surgery, Recent Advances in Surgery 38, Jaypee Brothers Editions

Audit

Reg No 6466: IBRA-2 National Audit on Breast reconstruction, Lead Investigator, Guy's Hospital Breast Unit, Data collection starting July 1st 2016

Reg no 5935: Axillary nodal volume of disease in patients with node positive breast cancer on USS FNA after axillary node clearance – data collection complete, manuscript drafting

National Margins Audit (Breast Surgery), UK, 2016 principal investigator, Guy's Hospital – data collection completed May 2016, published

Reg No 6062: Compliance with including the implant label/sticker on operation notes of implant reconstruction

Reg.No 5225: Sentinel Node Biopsy in DCIS, GSTT

Reg.No 5226: VTE Chemical Prophylaxis in Breast Surgery, GSTT

Παρουσιάσεις σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια

2014: **Charalampoudis P.** Axillary management-a tricky case on the post-Z11 era?, ESO/ESSO Masterclass in Breast Cancer Surgery, Ermatingen, Switzerland

2013: **Charalampoudis P.** Sotiropoulos GC, Modern surgery of liver tumors, ELIGAST congress, Athens, Greece

2013: Sotiropoulos GC, Spartalis ED, **Charalampoudis P**, Kouraklis G, Palliative hepatojejunostomy, Panhellenic hepatology congress, May 2013, Rhodes, Greece

2013: Sotiropoulos GC, **Charalampoudis P**, Kouraklis G, Caudate lobectomy, Panhellenic hepatology congress, May 2013, Rhodes, Greece

2013: Sotiropoulos GC, **Charalampoudis P**, Voutsarakis A, Kouraklis G, Laparoscopic hepatectomy, Panhellenic hepatology congress, May 2013, Rhodes, Greece

2013: Sotiropoulos GC, **Charalampoudis P**, Kouraklis G, Klatskin mimicking tumor, Panhellenic hepatology congress, May 2013, Rhodes, Greece

2013: Sotiropoulos GC, **Charalampoudis P**, Kouraklis G Co-existence of FNH and intrahepatic cholangiocarcinoma, Panhellenic hepatology congress, May 2013, Rhodes, Greece

2013: Sotiropoulos GC, Tsaparas P, Fouzas I, **Charalampoudis P**, Vernadakis S, Paul A, Kouraklis G. Fatal outcome after liver transplantation following iatrogenic bile duct injury during cholecystectomy: Case report and literature review. 17th Panhellenic Transplantation Meeting, Athens 1/11/13-3/11/13

2013: Vernadakis S, Fouzas I, Paul A, **Charalampoudis P**, Treckmann J, Gerken G, Baba HA, Sotiropoulos GC. Liver transplantation for liver malignancy in Wilson disease, 17th Panhellenic Transplantation Meeting, Athens 1/11/13-3/11/13

2013: Sotiropoulos GC, **Charalampoudis P**, Machairas N, Kouraklis G, The role of basiliximab in induction schemes for kidney transplant, 17th Panhellenic Transplantation Meeting, Athens 1/11/13-3/11/13

2011: Antoniou E, Vernicos P, Labadariou K, Smyrnis, **Charalampoudis P**, Kandyliis A et al. Our experience on patients with acute liver failure who underwent orthotopic liver transplantation, 7th ELITA Congress, Innsbruck

2008: Charalampoudis P, Ferdin F, Therasse A, Fastrez J, Should we perform routine preoperative arteriography during limb revascularization surgery? 8th BSW, Oostende, Belgique

Courses – Meetings – Διδακτική εμπειρία

2015-2016: Διδάσκων - Seminar Series on Concepts and Principles of Oncoplastic Breast Surgery – Member of Teaching Faculty (Lead: Mr Tibor Kovacs, Consultant oncoplastic breast surgeon)

Σεπ 2016: Educational Supervision (Training the Trainers Course), GSTT, London UK

Ιούλ 2016: Oncoplastic Breast Surgery and ADM reconstruction course, GSTT, ESSO, King's College London

09-11 Ιουλ 2015: Oncoplastic Breast Surgery and ADM reconstruction course, GSTT, ESSO, King's College London

14 Ιουλ 2015: Clinical Supervision (Training the Trainers) Course, GSTT

8 Μαϊ 2015: ABS, Association of Breast Surgery, the 3rd London Regional Symposium, GSTT

Μαϊ 2015: Safeguarding Children & Young Adults - Level 2 (POCA 2), SOVA - Safeguarding of Vulnerable Adults - Level 2 (POVA 2), Safeguarding Children & Young Adults - Level 3 (POCA 3), Equality, Diversity & Inclusion

Μαϊ 2015: fire safety, infection control, lone worker, handling of violence and aggression, Caldicott Protocols (Information Governance, Data Protection and Caldicott Protocol), complaint & conflict resolution training, health & safety including risk incident reporting, COSHH (Control of Substances Hazardous to Health regulation) Training Programme, RIDDOR (Reporting of Injuries, Diseases & Dangerous Occurrences Regulations)

Απρ 2015: ETFT e-course; modules: Hospital introduction to training, emotional intelligence, hospital DOPS, hospital mini-CEX, hospital CBD, hospital MSF, Simulation, Clinical Leadership

09/12/2014: King's Health Partners Clinical Trials Office; Good clinical practice and the medicines for human use (clinical trials) regulations

2014: University of Wisconsin-Madison, enduring material: Evolution of Breast Cancer, 0.25 AMA-PRA CME credits, e-course.

Sep 2014: Basic Life Support Course, BLS

2014: ESO/ESSO Masterclass in Breast Cancer Surgery, Ermatingen, Switzerland

2014: Breast Cancer Meeting (Hellenic Society of Mastology): changes in practice, Athens, Greece

2013: HPB Surgery course, European Association for HPB Surgery

2006: European Pediatric Life Support Course (EPLS)

2006: Basic Life Support (BLS) course

2006: Basic Life Support (BLS) instructor course

Συμμετοχή σε διεθνή και ελληνικά περιοδικά

Editor: Continuous Medical Education, Surgery, Archives of Hellenic Medicine

Reviewer: Aesthetic Plastic Surgery, The Journal of Cardiovascular Surgery, Clinical Cases Journal, SAGE Open Medical Case Reports, Pancreatology, Journal of Applied Sciences International, Minerva Chirurgica, EJSO

Συμμετοχή σε επιστημονικές εταιρίες και οργανισμούς

Fellow of the European Board of Surgery (Breast Division, UEMS, FEBS)

Fellow of the Royal College of Surgeons of England (FRCS)

Deputy, Clinical Governance, Breast Unit, Guy's and Saint Thomas' NHS Foundation Trust, London, United Kingdom

General Medical Council, no.6154338, Full registration with a license to practice/Specialist Register for General Surgery

Athens Medical Association

European Society of Mastology (EUSOMA)

Royal Belgian Society for Surgery

European Society of Surgical Oncology (ESSO)

European School of Oncology (ESO)

European Young Surgeons and Alumni Club (ESSO-EYSAC)

Γλώσσες

Ελληνική (μητρική)

English (Full professional proficiency and license to teach-Ministry of Education, Greece), Cambridge Certificate of Proficiency in English

French/Français (Full professional proficiency and license to teach-Ministry of Education, Greece), Diplôme Approfondi de Langue Française, DALF

ENGLISH ABSTRACT

BACKGROUND: In breast cancer, hormonal receptors hold promise for developing novel targeted therapies. The thyroid exerts its actions via the thyroid hormone receptors alpha and beta. The clinical significance of the expression of thyroid hormone receptors in breast cancer is unclear.

MATERIAL AND METHODS: We studied thyroid hormone receptor alpha (TRa) expression in 82 samples from 41 women with ductal invasive breast cancer and no thyroid disease. We performed quantitative immunohistochemistry with digital image analysis and correlated TRa expression with clinicopathological parameters.

RESULTS: TRa was expressed in both normal breast epithelium and breast cancer, but expression in breast cancer was significantly lower. TRa was expressed significantly less in larger and grade III tumors. Conversely, breast cancers with lymphovascular invasion showed increased TRa expression compared to cancers without lymphovascular invasion. TRa expression was not significantly different between node-positive and node-negative breast cancers, or among different hormonal profiles and intrinsic subtypes.

DISCUSSION: This is the first-in-human study to combine quantitative immunohistochemistry with image analysis to study TRa expression in women with ductal invasive breast cancer and no clinical or biochemical evidence of thyroid dysfunction. We confirm that TRa is expressed in both normal and malignant breast epithelium and suggest that TRa expression is downregulated during breast carcinogenesis. Larger and higher-grade breast cancers demonstrate partial loss in TRa expression. Alterations in TRa expression take place even in the absence of clinical or biochemical thyroid disease. The underlying mechanism of these findings and their potential significance in survival and relapse mandate further research

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ

Στον καρκίνο του μαστού, οι ορμονικοί υποδοχείς διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στην ανάπτυξη νέων, στοχευμένων θεραπειών. Ο θυρεοειδής αδένας ασκεί την επίδρασή του στους ιστούς-στόχους μέσω των ορμονικών υποδοχέων TRa/TRb. Η κλινική σημασία της έκφρασης των υποδοχέων αυτών στον καρκίνο του μαστού είναι άγνωστη.

Στην παρούσα διατριβή, μελετήσαμε την έκφραση του υποδοχέα TRa σε 82 δείγματα ληφθέντα από 41 γυναίκες με διηθητικό πορογενή καρκίνο μαστού και απουσία κλινικής και βιοχημικής θυρεοειδοπάθειας. Πραγματοποιήσαμε ποσοτική ανοσοϊστοχημεία με ψηφιακή ανάλυση εικόνας και συσχέτισαμε την έκφραση του υποδοχέα με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους.

Ο TRa βρέθηκε να εκφράζεται τόσο στον καλοήθη όσο και στον κακοήθη μαζικό αδένα. Ο TRa εκφράστηκε στατιστικά σημαντικά λιγότερο σε μεγαλύτερους και πτωχότερης διαφοροποίησης όγκους. Αντίθετα, όγκοι με λεμφαγγειακή διήθηση κατέδειξαν υψηλότερη έκφραση του υποδοχέα. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση έκφρασης ως προς τη λεμφαδενική μετάσταση ή το ορμονικό προφίλ των όγκων.

Η παρούσα διατριβή αποτελεί την πρώτη μελέτη σε ανθρώπινο ιστό που συνδύασε ποσοτική ανοσοϊστοχημεία με ψηφιακή ανάλυση εικόνας για να μελετήσει την έκφραση του TRa σε ασθενείς με καρκίνο μαστού και απουσία θυρεοειδικής νόσου. Επιβεβαιώσαμε ότι ο υποδοχέας εκφράζεται στον καλοήθη και κακοήθη μαζικό αδένα ακόμα και σε πλήρη απουσία θυρεοειδοπάθειας. Η μελέτη κατέδειξε στατιστικά σημαντική κατωρύθμιση του υποδοχέα κατά την καρκινογένεση του μαστού. Μεγαλύτεροι και πτωχότερης διαφοροποίησης καρκίνοι μαστού εκφράζουν μερική απώλεια του TRa. Η σημασία αυτών ευρημάτων σε σχέση με την επιβίωση και την υποτροπή χρήζει περαιτέρω έρευνας.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Ο ανθρώπινος μαστός αποτελείται από παρεγχυματικά και στρωματικά στοιχεία(1). Το παρέγχυμα του μαστού συναποτελείται από ένα δίκτυο πόρων που καταλήγουν με διακλαδώσεις στα εκκριτικά λόβια. Από την άλλη πλευρά, το μαζικό στρωματικό στοιχείο αποτελείται βασικά από λιπώδη ιστό, που παρέχει υποστήριξη για την ανάπτυξη του παρεγχύματος. Οι δομικές αυτές μονάδες του μαζικού αδένου αναγνωρίζονται ανατομικά ήδη από την εμβρυική ζωή(2). Η διαδικασία ανάπτυξης των εκκριτικών πόρων ξεκινά στο έμβρυο, παραταύτα παύεται κατά τη διάρκεια της πρώιμης παιδικής ηλικίας για να επανεκκινήσει κατά την εφηβεία υπό την επίδραση των ορμονικών μεταβολών που ενορχηστρώνουν την περαιτέρω δομική και λειτουργική του διαφοροποίηση. Υπό ορμονικό έλεγχο, πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις επισυμβαίνουν, με τελικό αποτέλεσμα τη διαμόρφωση του ώριμου μαζικού αδένου(3).

Κατά τη διάρκεια της εμβρυικής ζωής, δύο είναι οι βασικές αναπτυξιακές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα όσον αφορά στην ανάπτυξη του μαζικού αδένου: η διαμόρφωση του *πρώιμου μαστού (mammary bud)* και η ανάπτυξη του *στοιχειώδους μαστού (rudimentary mammary gland, rudimentary breast)*(4). Τα πρώτα στάδια της εμβρυογένεσης είναι κατά μεγάλο ποσοστό ανεξάρτητα από την ορμονική επίδραση. Οι ορμόνες αναλαμβάνουν αναπτυξιακό ρόλο κατά το *δεύτερο* τρίμηνο της κύησης. Οι περισσότερες πληροφορίες που έχουμε συλλέξει γύρω από την ανάπτυξη του μαστού στην εμβρυική ζωή προέρχονται από μελέτες σε τρωκτικά. Αξίζει τέλος να σημειωθεί ότι τα αρχικά στάδια της μορφογένεσης του μαστού είναι παρόμοια και στα δύο φύλα.(1,2,5)

Πρώτο τρίμηνο της κύησης

Ήδη κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης, περιγράφονται στο έμβρυο πρόδρομα κύτταρα με ειδική διαφοροποίηση προς το μαζικό αδένα. Κατά την 35η ημέρα της ενδομητρίου ζωής, παρατηρείται συσσώρευση τέτοιων κυττάρων στο επιθήλιο της θωρακικής χώρας, κατά μήκος της πρόδρομης μορφής της *γαλακτοφόρου γραμμής*. Οι γραμμές αυτές είναι διακριτές και αναπτύσσονται άμφω από τη μασχαλιαία χώρα έως τη βουβωνική περιοχή(4). Στις περιοχές αυτές μπορούν να παρατηρηθούν *έκτοπες θηλές (supernumerary nipples)* κατά την ενήλικη ζωή, ως κατάλοιπα αυτής της μορφογενετικής διαδικασίας(6,7). Κατά το τέλος του πρώτου τριμήνου, οι πρώτοι μαστοί αρχίζουν να αναπτύσσονται στο υποκείμενο μεσέγγυμα και οι δομές αυτές μεταναστεύουν με αργό ρυθμό από τη ραχιαία στην κοιλιακή θέση. Στο τέλος του πρώτου τριμήνου, ο διακριτός πρώιμος μαστός παρατηρείται στο επίπεδο της αρχέγονης δερμίδας (χόριο). Παράλληλα, τα μεσεγγυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε ινοβλάστες, λεία μυϊκά κύτταρα, τριχοειδή ενδοθηλιακά κύτταρα και λιποκύτταρα(8).

Δεύτερο τρίμηνο της κύησης

Κατά τη διάρκεια του δευτέρου τριμήνου, δευτερογενείς επιθηλιακές διογκώσεις αναπτύσσονται από τον κυρίως πρώιμο μαστό. Κάθε δευτερογενής διογκωση αναπτύσσεται κάθετα εντός του μεσεγγύματος και αποτελεί την αρχέγονη δομή από την οποία συντελείται η έναρξη της ανάπτυξης και διακλάδωσης των γαλακτοφόρων πόρων(8). Τα επιθηλιακά κύτταρα που επενδύουν τους γαλακτοφόρους πόρους διατάσσονται σε δύο στρώματα: το επιπολής στρώμα κυττάρων επιτελεί την εκκριτική λειτουργία ενώ το βασικό, εν τω βάθει στρώμα διαφοροποιείται σταδιακά σε μυοεπιθηλιακά κύτταρα(8,9). Κατά τους πρώτους 6 μήνες της εμβρυϊκής ζωής, το βασικό μορφογενετικό σκαρίφημα του μαζικού αδένα έχει διαμορφωθεί. Κατά το τέλος

του δεύτερου τριμήνου, παρατηρείται μια καλώς διαφοροποιημένη σωληνώδης αρχιτεκτονική επί εδάφους πυκνού ινοσυνδετικού ιστού(10).

Τρίτο τρίμηνο της κύησης

Κατά το τρίτο τρίμηνο, επισυμβαίνει η διακλάδωση και η περαιτέρω ανάπτυξη του πρώιμου σε στοιχειώδη μαστό(3,11). Η επικρατούσα ανατομική άποψη υποστηρίζει ότι περί το τρίτο τρίμηνο, ο μαστός αποτελείται κατά βάση από πόρους διατεταγμένους εντός του πυκνού στρώματος, ενώ η ανάπτυξη των λοβίων επέρχεται αργότερα. Η επιδερμίδα στην περιοχή της μελλοντικής θηλής διαμορφώνεται **στο θηλαίο πεδίο (άλω)** και πίσω από τη δομή αυτή, οι γαλακτοφόροι πόροι συνεχονται στα γαλακτοφόρα φύματα της υποθηλαίας άλω. Η ανάπτυξη μικτών εξωδερματικών και μεσοδερματικών στοιχείων θα συνδιαμορφώσει τη μελλοντική αρχιτεκτονική δομή της θηλής(12). Στη διαδικασία αυτή συνεπικουρούν λείες μύες ίνες σε κυκλωτερή αλλά και επιμήκη διάταξη. Κατά τα τελευταία στάδια της κύησης, ο χαλαρός ινοσυνδετικός ιστός αυξάνει την αγγειώσή του μέσω αγγειογένεσης. Υπό την ορμονική επίδραση σε αυτό το στάδιο, ο εμβρυικός μαστός μπορεί να επιδεικνύει μια πρώιμη εκκριτική λειτουργία. Περί το τέλος της κύησης, σηματοδοτείται η έναρξη της ανάπτυξης 15-20 μαζικών λοβίων καθώς και **των συνδέσμων του Cooper**, οι οποίοι αποτελούν προσεκβολές της εν τω βάθει θωρακικής περιτονίας και επικουρούν την αγκύρωση του μαζικού αδένου τόσο επί του μείζονος θωρακικού μυός όσο και επί του υπερκείμενου δέρματος. Στη χειρουργική ανατομία, οι σύνδεσμοι αυτοί επικαθορίζουν **το χειρουργικό πλάνο της μαστεκτομής**(13–15).

Η ανάπτυξη του μαστού κατά τη νηπιακή ηλικία

Κατά τα δύο πρώτα χρόνια της ζωής του νηπίου, ο μαστός υφίσταται κρίσιμες μορφολογικές και εξελικτικές μεταβολές(16). Ο φυσιολογικός αδένας παραμένει λειτουργικά ανενεργός περίπου έως την έναρξη της εφηβείας. Κατά τη γέννηση του νεογνού, ο μαστός είναι ψηλαφητός με άλλοτε άλλη πυκνότητα και ποσότητα μαζικού αδένου και μικρές έως καθόλου διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα. Τα μειούμενα επίπεδα των μητρικών οιστρογόνων στο νεογνό διεγείρουν τη νεογνική υπόφυση να παράγει προλακτίνη η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ετερόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη αύξηση του μεγέθους του αδένου και παροδική εκκριτική λειτουργία σε έως 70% των περιπτώσεων(17–19). Ο μαζικός αδένος εμμένει περισσότερο χρόνο στα θήλεα από ότι στα άρρενα νήπια λόγω της παραγωγής οιστραδιόλης από τα θήλεα νήπια. Αμέσως μετά τον τοκετό, οι θηλές εκστρέφονται λόγω της ανάπτυξης του υποκείμενου μεσοδέρματος ενώ το στρώμα επιδεικνύει αυξημένη αγγειογενετική δραστηριότητα. Η μορφολογική διαδικασία ωρίμανσης του νηπιακού μαστού έως τα δύο πρώτα έτη της ζωής έχει περιγραφεί με ακρίβεια. Τα μορφολογικά αυτά γεγονότα συνίστανται κυρίως στην αδενική διαφοροποίηση, τη διακλάδωση και διαμόρφωση των λοβίων, και τη λειτουργική ωρίμανση που χαρακτηρίζεται από την εκκριτική ικανότητα του επενδυτικού επιθηλίου(7,20).

Η ανάπτυξη του μαστού στην εφηβεία

Ο *Tanner* περιέγραψε με ακρίβεια τα καλώς πλέον αποδεκτά στάδια της ανάπτυξης του μαστού κατά την εφηβεία(21). Κατά την προεφηβεία, **το πρώτο στάδιο (στάδιο 1 κατά Tanner)** συνίσταται στην έγερση των θηλωδών σχηματισμών. Σε αυτό το σημείο, δεν παρατηρείται επιπρόσθετη στρωματική ανάπτυξη ή παρεγχυματική αύξηση πάνω από τα επίπεδα ανάπτυξης που ήδη συντελέστηκαν κατά τη νηπιακή ηλικία. Η ανάπτυξη του μαστού στα θήλεα, αποτελεί συνήθως το πρώτο δευτερογενές

χαρακτηριστικό του φύλου που αναπτύσσεται, 6 μήνες περίπου νωρίτερα από την έναρξη αύξησης της τριχοφυΐας. Παρόλο που η έκκριση οιστρογόνων κατά την εφηβική περίοδο αποτελεί άμεσο διεγέρτη της ανάπτυξης του μαστού, η δράση των οιστρογόνων σε αυτό το στάδιο εξαρτάται από την υποφυσιική παραγωγή της αυξητικής ορμόνης και τη συνακόλουθη επίδραση του IGF-1 στο μαζικό αδένιο. Απουσία ανάπτυξης του μαστού σε κορίτσια άνω των 14 ετών χρήζει ενδοκρινολογικής διερεύνησης(22–25).

Το στάδιο 2 κατά Tanner συνίσταται στη διαμόρφωση του πρώιμου μαστού (breast bud) με έγερση της θηλής και αύξηση της διαμέτρου της θηλαίας άλω. Το *στάδιο 3 κατά Tanner* χαρακτηρίζεται από περαιτέρω αύξηση του μεγέθους του εφηβικού μαστού και συντελείται περί τα 12 έτη της ζωής. Κατά το *στάδιο 4* ο μαστός αποκτά τον κυρίως όγκο και την καμπυλότητά του. Ακολουθεί το *στάδιο 5*, κατά το οποίο η θηλή και η άλω αποκτούν σαφή όρια σε σχέση με το κυρίως σώμα του μαστού(26).

Κυτταρικές μεταβολές κατά την ανάπτυξη του μαστού

Τα πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα διαφοροποιούνται σε στρωματικά και παρεγχυματικά στοιχεία. Στο κυτταρικό επίπεδο, τόσο οι στρωματικές όσο και οι παρεγχυματικές εξελικτικές μεταβολές λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Έχει παρατηρηθεί ότι η αύξηση του ινώδους και λιπώδους ιστού του στρώματος προηγείται των μεταβολών στο δίκτυο των πόρων(27). Το επιθήλιο διαμορφώνεται σε μια διακλαδιζόμενη δομή αποτελούμενη από δύο κυτταρικές στιβάδες (όπως περιγράψαμε και παραπάνω): η εν τω βάθει στιβάδα αποτελεί τη βασική μεμβράνη ενώ η επιπολής το εκκριτικό γαλακτοφόρο επιθήλιο των πόρων(28). Η επιμήκυνση των πόρων και οι δαιδαλώδεις, πολύπλοκες διακλαδώσεις του δικτύου

οδηγούν στη δημιουργία και ανάπτυξη των *κυρίων, τμηματικών και υποτμηματικών πόρων*. Οι υποτμηματικοί πόροι καταλήγουν στους τελικούς πόρους και τελικά στα *λοβίδια* του μαστού(29). Το υποσύνολο των λοβιδίων που συνδέονται με έναν τελικό πόρο συναποτελούν μια ενιαία δομική, ανατομική και λειτουργική μονάδα, *την τελική πορολοβιακή μονάδα (terminal ductal lobular unit, TDLU)*, που αποτελεί την αφετηρία των μεταπλαστικών και δυσπλαστικών μεταβολών που μπορούν να οδηγήσουν στην καρκινογένεση του μαστού(30,31).

Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Ο καρκίνος του μαστού είναι μια *παγκόσμια επιδημία*(32,33). Κάθε χρόνο περίπου 1.5 εκατομμύρια γυναίκες διαγιγνώσκονται με τη νόσο (λαμβάνοντας υπόψη όλα τα κλινικά στάδια). Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τη συχνότερη κακοήθεια στο Δυτικό Κόσμο και συγχρόνως τη δεύτερη σε επίπτωση αιτία θανάτου από καρκίνο-ακολουθώντας στη δεύτερη θέση πίσω από τον καρκίνο του πνεύμονα. Το σύνολο της θεραπευτικής αντιμετώπισης του καρκίνου του μαστού συμπεριλαμβάνει ένα πολύπλοκο - σε άλλοτε άλλη διαδοχή - συνδυασμό τοπικής χειρουργικής θεραπείας, ακτινοθεραπείας, χημειοθεραπείας καθώς και σύγχρονες ανοσοθεραπείες με χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων(34).

Σε μεγάλο τμήμα του σύγχρονου κόσμου, ο καρκίνος του μαστού επιδεικνύει διαρκώς αυξανόμενη επίπτωση - που αποδίδεται εν μέρει στην ευρεία υιοθέτηση του προληπτικού μαστογραφικού ελέγχου(34). Παρά όμως τις δραματικές εξελίξεις στα διαγνωστικά και θεραπευτικά πρωτόκολλα που έχουν αναπτυχθεί στη σύγχρονη Δύση, μεγάλο μέρος του γυναικείου πληθυσμού έχει μειωμένη πρόσβαση στη μοντέρνα διάγνωση και θεραπεία. Κατά συνέπεια διαγιγνώσκεται συχνά σε προχωρημένο

κλινικό στάδιο επηρεάζοντας αρνητικά την πρόγνωση και την επιβίωση από τη νόσο(35,36).

Ένα από τα χαρακτηριστικά της δραματικής προόδου που συντελείται τα τελευταία χρόνια στο πεδίο της ογκολογίας μαστού συνίσταται στο μοριακό profiling που έχει να επιδείξει 4 διαφορετικές υποομάδες καρκίνων μαστού(37). Όπως θα δούμε παρακάτω, στόχος της νέας αυτής διάκρισης - σε αντιδιαστολή με την κλασική ιστοπαθολογική κατηγοριοποίηση που γνωρίζουμε εδώ και δεκαετίες - δεν είναι τόσο η περιγραφική μικροσκοπική ανατομική των νέων υπομορφών, όσο η διερεύνηση της διαφορικής ανταπόκρισης των υπομορφών αυτών στις συνδυασμένες συστηματικές θεραπείες, είτε στο προεγχειρητικό, ή το μετεγχειρητικό στάδιο(38–40).

Από τη σύγχρονη παγκόσμια εμπειρία προκύπτει ότι πάνω από 70% των γυναικών διαγιγνώσκονται με *πρώιμο καρκίνο μαστού (early breast cancer)*, ο οποίος θεωρείται σε μεγάλο βαθμό ιάσιμος(41–43). Παραταύτα, ένα 30% περίπου των γυναικών παρουσιάζονται με κλινική διάγνωση προχωρημένου καρκίνου του μαστού (advanced breast cancer), ο οποίος ακόμα και στις μέρες μας αντιμετωπίζεται μεν αλλά δε θεωρείται ιάσιμος(44,45). Από το συνολικό πληθυσμό ασθενών με προχωρημένο καρκίνο μαστού, περίπου το ένα τρίτο διαγιγνώσκεται με απομεμακρυσμένες μεταστάσεις και έχει πολύ κακή πρόγνωση(46–48). Στον προχωρημένο καρκίνο μαστού, ο πρωταρχικός στόχος είναι η επιμήκυνση του προσδόκιμου και της ποιότητας ζωής. Νέα αισιόδοξα στοιχεία προκύπτουν τελευταίως σε σχέση με το μεταστατικό καρκίνο μαστού. Μια νέα υποομάδα ασθενών με ολιγομεταστατικό φορτίο δείχνει βελτιωμένα ποσοστά επιβίωσης όταν υπόκειται σε επιθετικό συνδυασμό χειρουργικών και συστηματικών θεραπειών(49–53).

Με βάση τα επιδημιολογικά και στατιστικά στοιχεία δεκαετιών, είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε ότι η επίπτωση του καρκίνου του μαστού αυξάνει με την ηλικία,

η επιθετικότητα της νόσου όμως παρουσιάζεται αντιστρόφως ανάλογη. Χάρη στην εκτεταμένη εφαρμογή του προληπτικού κλινικού και μαστογραφικού ελέγχου στη Δύση, όλο και περισσότερες νέες γυναίκες (<40) ασθενείς διαγιγνώσκονται με τη νόσο(54). Οι νέες γυναίκες με καρκίνο μαστού επιδεικνύουν αυξημένα ποσοστά υποτροπής, μετάστασης και θανάτου από τη νόσο, κύριως γιατί η βιολογική συμπεριφορά και τα ορμονικά προφίλ των ασθενών αυτών (ER-, Her-2+, TNBC, high grade) προδιαθέτουν σε πιο επιθετική κλινική πορεία και αντοχή στις συστηματικές θεραπείες πρώτης γραμμής(55,56). Οι νέες γυναίκες με καρκίνο μαστού είναι συνήθως προεμμηνοπαυσιακές και οι συστηματικές θεραπείες μπορεί να προκαλέσουν αμηνόρροια και υπογονιμότητα, συμβάλλοντας αρνητικά στην ποιότητα ζωής των ασθενών αυτών(57–59). Οι νέες γυναίκες επίσης, ειδικότερα αυτές με τριπλό αρνητικό καρκίνο μαστού (TNBC), είναι πιο πιθανό να εμφανίζουν μεταλλάξεις των γονιδίων **BRCA1 και BRCA2**, γεγονός που επικαθορίζει σε μεγάλο βαθμό εκτεταμένες επεμβάσεις όπως αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή και η σαλπινγο-ωοθηκεκτομή(60–64).

Χειρουργική στον καρκίνο του μαστού

Παρά τις εντυπωσιακές και εκτεταμένες εξελίξεις της συστηματικής θεραπείας του καρκίνου του μαστού, η χειρουργική εξαίρεση του όγκου σε υγιή όρια αποτελεί ακόμα και σήμερα τον ακρογωνιαίο λίθο της αντιμετώπισης της νόσου(65). Καθώς το αντικείμενο της παρούσης διατριβής αφορά περισσότερο σε ορμόνες και τους υποδοχείς τους, θα αναφερθούμε μόνο σύντομα στη χειρουργική του καρκίνου του μαστού. Ιστορικά, η ριζική μαστεκτομή (με ολική εξαίρεση του μαζικού αδένου, συμπεριλαμβανομένων και των δύο θωρακικών μυών, μείζονος και ελάσσονος, του δέρματος του μαστού, της θηλής και της θηλαίας άλω) με πλήρη λεμφαδενικό καθαρισμό της μασχάλης (μαστεκτομή Halsted), εφαρμόστηκε έως και τα μέσα περίπου του εικοστού αιώνα(66,67). Στη συνέχεια σημαντικές μελέτες έδειξαν ότι η

τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή (muscle sparing) οδηγεί σε ισοδύναμα ογκολογικά αποτελέσματα αποφεύγοντας τα ακρωτηριαστικά φαινόμενα της ριζικής μαστεκτομής(68). Λίγο αργότερα, στα μέσα της δεκαετίας του 1970-1980, στοιχεία από προοπτικές τυχαιοποιημένες μελέτες έδειξαν ότι η χειρουργική διατήρησης του μαστού είναι ισοδύναμη ογκολογικά με την ολική μαστεκτομή, αρκεί ο όγκος να εξαιρεθεί επί υγιών ορίων και να δοθεί ολική ακτινοβολή στον εναπομείναντα μαστό(69–71). Παράλληλα, η επανάσταση της τεχνικής του λεμφαδένα φρουρού έδειξε πως η συντηρητικότερη χειρουργική του καρκίνου μαστού είναι ισοδύναμη ογκολογικά σε κατάλληλα επιλεγμένους ασθενείς(72–74). Τα τελευταία χρόνια, η ογκοπλαστική χειρουργική και η άμεση αποκατάσταση μετά από μαστεκτομή (με διατήρηση του δέρματος και της θηλής) αποτελούν νέα τεχνικά όπλα στη φαρέτρα του ολοκληρωμένου χειρουργού μαστού(75–80).

Χημειοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού

Η χημειοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού αποτελεί βασική επιλογή σε πολλές περιπτώσεις ακόμα και πρώιμου καρκίνου, καθώς σύγχρονες μελέτες έχουν δείξει ότι η πολυχημειοθεραπεία είτε στο προεγχειρητικό ή στο μετεγχειρητικό στάδιο της αντιμετώπισης, μειώνει τουλάχιστο κατά 10% τον κίνδυνο θανάτου από τη νόσο(81,82). Κλασικές ενδείξεις για χημειοθεραπεία αποτελούν οι καρκίνοι με θετικούς λεμφαδένες, όγκοι >5 εκατοστά σε διάμετρο, όγκοι Grade II/Grade III, κυρίως σε νέες ασθενείς (<50 ετών), τριπλοί αρνητικοί καρκίνοι (με πλήρη αντοχή στην ορμονοθεραπεία) καθώς και προεγχειρητική χημειοθεραπεία για τη μετατροπή της μαστεκτομής σε διατήρηση του μαστού ως χειρουργική επιλογή(83,84). Τα κλασικά σχήματα που χρησιμοποιήθηκαν για δεκαετίες (CMF, Κυκλοφωσφαμίδη, μεθοτρεξάτη και 5-φθοριουρακίλη) έχουν εν πολλοίς δώσει τη θέση τους σε σχήματα με βάση τις *ταξάνες (δοξεταξέλη και πακλιταξέλη)* σε συνδυασμό με επιρουβικίνη και

κυκλοσφωφαμίδη(85,86). Δεν είναι υπερβολή να πούμε ότι η σύγχρονη χημειοθεραπεία του καρκίνου του μαστού σφραγίστηκε από τη χρήση των ταξανών. Χημειοθεραπευτικά σχήματα με βάση την πλατίνα χρησιμοποιούνται επίσης σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού που φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο BRCA1(87–89).

Ακτινοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού

Η ακτινοθεραπεία αποτελεί κύρια θεραπευτική επικουρική επιλογή σε όλες τις επεμβάσεις διατήρησης του μαστού (ογκεκτομή και ογκοπλαστικές μαστοπλαστικές), προκειμένου να ελεγχθεί και να περιοριστεί η νόσος τοπικά(90,91). Η ακτινοβόληση του μαστού (ολική ακτινοβόληση) με 40Gy/15 δόσεις ή με 50Gy/25 δόσεις **μειώνει κατά 50% το ποσοστό τοπικής υποτροπής της νόσου στον ομόπλευρο μαστό (*ipsilateral in-breast recurrence*)**(92). Όσον αφορά στις ασθενείς, οι οποίες έχουν υποβληθεί σε ολική αφαίρεση του μαστού (μαστεκτομή), η ακτινοθεραπεία συστήνεται συνήθως εάν ο όγκος που έχει αφαιρεθεί είναι μεγαλύτερος των 5 εκατοστών (T3 όγκοι), σε όρια εκτομής πλησίων της νόσου, σε ασθενείς <35 ετών (σχετική ένδειξη), σε 1-3 διηθημένους λεμφαδένες (σχετική ένδειξη) και σε ύπαρξη >4 θετικών μασχαλιαίων λεμφαδένων (απόλυτη ένδειξη), και σε τοπικά προχωρημένους καρκίνους (Locally advanced, inflammatory breast cancer)(93,94). Η ακτινοθεραπεία αποσκοπεί στην καταστροφή των καρκινικών κυττάρων που δεν ανιχνεύονται τοπικά στο μαστό κατά την τοπική ευρεία εκτομή ή στην ουλή της μαστεκτομής. Κατά τη διάρκεια της ακτινοβολίας τα καρκινικά κύτταρα προσβάλλονται σε μεγαλύτερο βαθμό από τα φυσιολογικά κύτταρα(95). Η ακτινοθεραπεία του μαστού, συνήθως δεν προκαλεί παρενέργειες, με τις περισσότερες ασθενείς να εμφανίζουν κάποιου βαθμού κόπωση και ερυθρότητα στο δέρμα. Περιστασιακά, οι πιο μακροπρόθεσμες παρενέργειες περιλαμβάνουν αυξημένη μελάγχρωση του δέρματος και ελαφριά σκλήρυνση του ιστού(96).

Βιολογική/ανοσολογική θεραπεία στον καρκίνο του μαστού

Τα μονοκλωνικά αντισώματα και οι αναστολείς της τυροσινικής κινάσης είναι δύο τύποι στοχευμένης θεραπείας, που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού(97). Τα αντισώματα αυτά αναστέλλουν την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων(56,98). **Η τραστοζουμάμπη (*trastuzumab, Herceptin*)** είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που αναστέλλει τη δράση του αυξητικού παράγοντα **Her-2 (*cerb-b2*)**, ο οποίος αποτελεί κύριο παράγοντα κυτταρικής σήμανσης για την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του μαστού(99). Η προσθήκη της τραστοζουμάμπης στη συμβατική χημειοθεραπεία ως επικουρική αγωγή μειώνει κατά 50% το ποσοστό υποτροπής(100). Η λαπατινίμπη (*lapatinib*) είναι ένας αναστολέας της τυροσινικής κινάσης που αναστέλλει τη δράση τόσο της πρωτεΐνης Her-2 όσο και του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR)(101). Έχει ένδειξη χορήγησης σε όγκους Her-2+ που δεν ανταποκρίνονται στην αγωγή με Herceptin(102). Οι PARP αναστολείς (*olaparib*) είναι ένα είδος στοχευμένης θεραπείας που αναστέλλει την επιδιόρθωση του DNA των καρκινικών κυττάρων μέσω αναστολής της PARP (*poly-ADP-ribose polymerase*) στα καρκινικά κύτταρα(103,104). Τα τελευταία χρόνια, η **περτουζουμάμπη (*Perjeta*)** έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε ασθενείς με υψηλού κινδύνου Her-2 positive καρκίνους μαστού, ως συνεπικουρική θεραπεία (*dual blockade*) είτε προεγχειρητικά ή μετεγχειρητικά, καθώς και σε περιπτώσεις προχωρημένου ή μεταστατικού καρκίνου του μαστού που είναι Her-2 θετικός(105,106).

Ορμονοθεραπεία στον καρκίνο του μαστού

Η ορμονοθεραπεία σε ER+ καρκίνους μαστού αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο της συστηματικής θεραπείας της νόσου εδώ και δεκαετίες(107). Τα συχνότερα φάρμακα που χορηγούνται για αυτό το σκοπό είναι η ταμοξιφένη (ή ραλοξιφένη στις ΗΠΑ), η

λετροζόλη, η αναστροζόλη και η εξεμεστάνη(108). Η **ταμοξιφένη** ανήκει στους SERMs (selective estrogen receptor modulators, εκλεκτικούς τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων) και αποτελεί το βαθύτερα και πιο εκτεταμένα μελετημένο φάρμακο της ενδοκρινικής θεραπείας (στο εξής ΕΘ)(109,110). Η ταμοξιφένη θεωρείται οστεοπροστατευτική αλλά σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο θρομβοεμβολικού επεισοδίου και καρκίνου (ή σαρκώματος) του ενδομητρίου(111–113). Η **λετροζόλη, η αναστροζόλη και η εξεμεστάνη** αποτελούν αντιοιστρογονικούς παράγοντες (αναστολείς της αρωματάσης) και σχετίζονται με έντονη οστεοπωρωτική/οστεοπενική δράση καθώς και αρθραλγία/μυαλγία σε άλλοτε άλλο βαθμό(114,115). Ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με λετροζόλη ή αναστροζόλη συνήθως λαμβάνουν βιταμίνη D και ασβέστιο σε συνδυασμό ή όχι με διφωσφονικά ώστε να εξισορροπούν την οστεοπενική δράση της ΕΘ(116,117).

Η χορήγηση ορμονικής θεραπείας ενδείκνυται σε ασθενείς με πρώιμο καρκίνο μαστού που εκφράζει θετικούς οιστρογονικούς και/ή προγεστερονικούς υποδοχείς(107,118). Όταν τίθεται ένδειξη χημειοθεραπείας για τον καρκίνο του μαστού, η ενδοκρινική θεραπεία πρέπει να χορηγείται μετά το πέρας της χημειοθεραπείας. Επιπροσθέτως, σε ασθενείς με θετικούς Her-2 καρκίνους μαστού, η ΕΘ μπορεί να χορηγηθεί ταυτόχρονα με το trastuzumab αλλά όχι με τη χημειοθεραπεία(119,120).

Σε ασθενείς με καρκίνο μαστού και 15ετή παρακολούθηση, η χορήγηση ταμοξιφένης επί 5 έτη προσέφερε 11.8% απόλυτη ελάττωση του κινδύνου υποτροπής και 9.2% μείωση της θνητότητας σε ασθενείς με ER+ καρκίνους μαστού(121). Η απόλυτη βελτίωση στη θνητότητα ήταν 12.6% σε ασθενείς με θετικούς λεμφαδένες και 5.3% σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες, ανεξαρτήτως της ηλικίας, της χορήγησης χημειοθεραπείας ή της δόσης της ταμοξιφένης που χορηγήθηκε. Η ελάττωση του

κινδύνου υποτροπής και θανάτου από τη νόσο ήταν διπλάσια στις ασθενείς που έλαβαν ΕΘ για 5 έτη σε σύγκριση με ασθενείς που έλαβαν ΕΘ για 1-2 έτη(121). Επίσης, οι ασθενείς που έλαβαν ΕΘ παρουσίασαν 50% ελάττωση του κινδύνου ανάπτυξης νέου καρκίνου στον ετερόπλευρο μαστό, σε σύγκριση με ασθενείς που δεν έλαβαν ΕΘ(121,122).

Μέχρι τώρα η κλασική ενδεικνυόμενη διάρκεια χορήγησης ταμοξιφένης είναι 5 έτη. Τα αποτελέσματα των μελετών *ATLAS/AttoM* έδειξαν περαιτέρω βελτίωση του κινδύνου υποτροπής όταν η ταμοξιφένη χορηγείται για 10 έτη(123). Οι μελέτες αυτές έδωσαν πρόσφατα το έναυσμα για την ενθάρρυνση της εκτεταμένης ΕΘ (extended ET) σε επιλεγμένες ασθενείς υψηλού ρίσκου, όπως ασθενείς <40 ετών, με θετικούς λεμφαδένες, Grade III καρκίνους ή όγκους T3/T4, και LVI (λεμφαγγειακή διήθηση)(123,124). Σε προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς, ο συνδυασμός καταστολής των ωοθηκών με συγχορήγηση ταμοξιφένης έχει μελετηθεί σε αντιδιαστολή με χορήγηση ταμοξιφένης μόνο για 5 έτη, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα(125). Ιστορικά, η ωοθηκεκτομή έχει δείξει ότι βελτιώνει την κλινική πορεία ασθενών με ER+ καρκίνους μαστού, έχει όμως το σημαντικό μειονέκτημα ότι προκαλεί μη αναστρέψιμη απώλεια της ωοθηκικής λειτουργίας. Στη βάση αυτή, έχουν αναπτυχθεί τα ανάλογα της έκκρισης γοναδοτροπινών, όπως η *γοσερελίνη*, τα οποία χορηγούνται σε δόση 3.6 mg υποδορίως μηνιαίως για 2 έτη σε συνδυασμό με την προτεινόμενη ΕΘ(126–128).

Για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η ΕΘ θα πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστο έναν αναστολέα της αρωματάσης ως μέρος του θεραπευτικού πρωτοκόλλου(129). Το σύνηθες σχήμα είναι 2 χρόνια χορήγησης λετροζόλης/αναστροζόλης ακολουθούμενα από 3 έτη ταμοξιφένης. Ασθενείς με ιστορικό θρομβοεμβολικής νόσου ή συμπτώματα από το ενδομήτριο και ασθενείς που δεν ανέχονται καλά τη θεραπεία λόγω οστεοπενικών συμπτωμάτων, υπόκεινται σε

εναλλακτικά σχήματα με άλλοτε άλλους παράγοντες (switch)(130). Ο στόχος πάντως θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 5 έτη συνολικής ΕΘ είτε σε προ- ή σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ορμονοευαίσθητο καρκίνο μαστού(131).

ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Το αρχικό ιστολογικό δόγμα ότι οι διακριτές ιστολογικές μορφές του καρκίνου του μαστού αναδύονται από αντίστοιχα διακριτές ανατομικές μονάδες στο μαζικό αδένιο αμφισβητήθηκε για πρώτη φορά το 1973 από τους *Wellings και Jensen*, οι οποίοι έδειξαν ότι η πλειονότητα των καρκίνων μαστού αναδύεται από μια κοινής προέλευσης μικροσκοπική ανωμαλία στην τελική πορο-λοβιακή μονάδα του μαζικού αδένιο (TDLU, terminal ductal lobular unit)(132,133). Από το σύνολο των διακριτών ιστολογικών μορφών του καρκίνου του μαστού, ο συχνότερος είναι ο πορογενής διηθητικός (ductal invasive NST, no special type or NOS, not otherwise specified), με τον οποίο θα ασχοληθούμε στο ειδικό μέρος της παρούσης διατριβής, ο οποίος και αποτελεί έως και το 85% των ιστολογικών διαγνώσεων διηθητικού καρκίνου του μαστού(134). Αξίζει να σημειωθεί ότι η χειρουργική αντιμετώπιση του διηθητικού καρκίνου του μαστού δεν εξαρτάται από τον ιστολογικό τύπο ούτε το βαθμό διαφοροποίησης(135,136). Αντίθετα, συγκεκριμένοι ιστολογικοί τύποι σχετίζονται με πολύ καλές προγνώσεις (όπως για παράδειγμα μικροί grade I tubular καρκίνοι ή εγκυστωμένοι θηλώδεις), ενώ άλλοι μπορεί να σχετίζονται με χειρότερες κλινικές πορείες λόγω ιστολογικής επιθετικότητας και ορμονικού προφίλ(137,138).

Κλασικά, σε μια διάγνωση διηθητικού καρκίνου του μαστού, πρέπει να αναφέρονται οι εξής παράμετροι: μέγεθος σε χιλιοστά, Grade, ιστολογικός υπότυπος, ER έκφραση, PgR έκφραση και Her-2 έκφραση. Μερικά κέντρα αναφέρουν και το

Ki67 ως παράμετρο ρουτίνας αλλά το cutoff value δεν είναι ισότιμα αποδεκτό από όλους(139,140).

Τα τελευταία χρόνια, η μικροσκοπική ανάλυση του καρκίνου του μαστού παρουσίασε επαναστατικά δεδομένα. Οι *Perou et al* έβαλαν τα θεμέλια για το σύγχρονο μοριακό profiling του καρκίνου του μαστού με την ιστορική πλέον δημοσίευσή τους το 2000(141). Στη μελέτη αυτή, οι συγγραφείς πραγματοποίησαν cDNA microarray analysis σε 38 διηθητικούς καρκίνους μαστού, 1 DCIS, 1 ινοαδένωμα και 3 δείγματα

από φυσιολογικό μαζικό αδένωμα και πρότειναν **4 μοριακές ‘οικογένειες’ καρκίνου μαστού:**

1. Luminal A breast cancer - ER positive and Her2 negative, with low Ki67
2. Luminal B breast cancer - ER positive and Her2 negative with high Ki67 OR ER positive and Her2 positive
3. Her-2 amplified breast cancer - ER negative and Her-2 positive
4. Basal-like (triple negative) breast cancer

Η διάκριση αυτή άλλαξε τον τρόπο με τον οποίο αντιμετωπίζουμε σήμερα τον καρκίνο του μαστού, όχι τόσο σε σχέση με τη χειρουργική του θεραπεία, αλλά περισσότερο διότι το κάθε μοριακό προφίλ δείχνει διαφορετική ανταπόκριση στη συστηματική θεραπεία. Έτσι, περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι οι τύποι 1 και 2 ανταποκρίνονται καλά σε ΕΘ αλλά όχι σε χημειοθεραπεία, ενώ οι τύποι 3 και 4 το αντίστροφο(37,142,143).

Παραταύτα, οι κλασικοί ιστολογικοί τύποι του καρκίνου του μαστού με βάση τα μικροσκοπικά τους χαρακτηριστικά χρησιμοποιούνται ακόμα στην κλινική πράξη. Ο διηθητικός πορογενής καρκίνος του μαστού αποτελεί το συχνότερο διηθητικό

ιστολογικό τύπο και αυτός θα αποτελέσει το αντικείμενο στο ειδικό μέρος της παρούσης διατριβής.

Από τον πορογενή *in situ* στο διηθητικό καρκίνο του μαστού

Το DCIS του μαστού χαρακτηρίζεται από σημαντική ετερογένεια, σε ό,τι αφορά στη μορφολογία, στην ανοσοϊστοχημεία, στα μοριακά αποτυπώματα και στην κλινική του έκφραση(146,147). Για μερικές ασθενείς, η χειρουργική εξαίρεση επί υγιών ορίων θα αποτελέσει επαρκή θεραπεία, όμως ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών θα υποτροπιάσουν μετά από απλή χειρουργική θεραπεία χωρίς ακτινοβολήση του μαστού. Με βάση τις σύγχρονες οδηγίες, ασθενείς κάτω των 70 ετών με DCIS οποιουδήποτε grade και διατήρηση του μαστού, υποβάλλονται σε ολική ακτινοβολήση του μαστού μετά την επέμβαση (Δόση 40 Gy σε 15 δόσεις ή 50 Gy σε 25 δόσεις). Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε μαστεκτομή για αμιγές DCIS δεν χρειάζεται ακτινοβολήση του θώρακα(148,149).

Τα τελευταία χρόνια εξελίσσεται εκτεταμένη έρευνα με σκοπό να ταυτοποιήσει τα μοριακά γεγονότα που χαρακτηρίζουν τη μετάβαση του φυσιολογικού μαζικού επιθηλίου στα DCIS (*in situ*) και IDC (*invasive*, διηθητικός καρκίνος μαστού)(150). Επιθηλιακά κύτταρα, μυοεπιθηλιακά κύτταρα καθώς και στρωματικά κύτταρα υπόκεινται σε μεταβολές στην γονιδιακή έκφραση, βήμα πολύ σημαντικό στη διαδικασία της καρκινογένεσης του μαστού. Επιγενετικές τροποποιήσεις, όπως η μεθυλίωση του DNA και μεταβολές στο microRNA, διαδραματίζουν βαρύνοντα ρόλο στα γενετικά αυτά γεγονότα. Μοριακές τεχνικές που αρχικά εφαρμόστηκαν στο διηθητικό καρκίνο με σκοπό να αποκρυσταλλώσουν την ιστολογική του ετερογένεια, εφαρμόζονται στο DCIS με επιτυχία τα τελευταία χρόνια. Στο μέλλον, η ταξινόμηση του DCIS αναμένεται να ενσωματώνει το μοριακό profiling ακολουθώντας το

παράδειγμα του διηθητικού καρκίνου, δίνοντας έτσι την ευκαιρία στο θεράποντα να εξατομικεύει τη θεραπεία (προγνωστικοί δείκτες τοπικής υποτροπής)(151).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην έρευνα για το DCIS αποτελεί η μελέτη της ικανότητας των κυττάρων να διηθούν και αναπτύσσονται στο στρώμα και ως εκ τούτου να αποκτούν μεταστατικό δυναμικό, διαμορφώνοντας το διηθητικό καρκίνο του μαστού. Όλα αυτά τα βήματα είναι κρίσιμα καθώς η βασική αρχή της θεραπείας του DCIS είναι η πρόληψη μετάβασής του σε διηθητικό καρκίνο. Η θνητότητα από DCIS είναι 0% εξ ορισμού καθώς η *in situ* νόσος δεν μπορεί να δώσει μεταστάσεις(152). Η κρίσιμη μεταβολή στο κυτταρικό επίπεδο που χαρακτηρίζει τη μετάβαση από DCIS σε IDC είναι *η απώλεια των μυοεπιθηλιακών κυττάρων στο διηθητικό καρκίνο*(153). Τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα είναι γνωστό ότι διαφέρουν στη βιολογική τους συμπεριφορά και κυτταρική πορεία ανάμεσα στο *in situ* και διηθητικό καρκίνωμα του μαστού. Στο DCIS, συμπεριφέρονται περισσότερο ως ογκοκασταλτικά κύτταρα, ως αναστολείς της διήθησης του επιθηλίου καθώς και ως αναστολείς της αγγειογένεσης. Η απώλεια των μυοεπιθηλιακών κυττάρων ελέγχεται με δείκτες όπως το p63, η καλπονίνη, η ακτίνη του λείου μυός, το CD10, η κυτταροκερατίνη 5/6, η πρωτεΐνη S100 καθώς και η βαρείας αλύσου μυοσίνη(154).

Δύο είναι οι θεωρίες που έχουν διατυπωθεί όσον αφορά στην απώλεια των μυοεπιθηλιακών κυττάρων κατά τη μετάβαση από DCIS σε IDC. Η πρώτη θεωρία υποστηρίζει ότι ένας κλώνος κυττάρων που έχει δυνατότητα τοπικής διήθησης επιλέγεται και αναπαράγεται από το επιθήλιο ώστε να επεκταθεί μέσα στο στρώμα(155). Με βάση τη δεύτερη θεωρία, τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα στο DCIS σωρεύουν τοπικά στρωματικά φλεγμονώδη κύτταρα μέσω κυτταρικής επικοινωνίας και προσκόλλησης με τελικό αποτέλεσμα τη διάρρηξη και διήθηση της βασικής μεμβράνης. Το έναυσμα για την προσκόλληση αυτή δίδεται από φαινοτυπικές

μεταβολές στο μυοεπιθηλιακό κύτταρο του DCIS. Πολλά γονίδια που παρουσιάζουν ειδικότητα στο φυσιολογικό μυοεπιθηλιακό κύτταρο όπως τα CTK14, CTK17, OXTR και EGFR, έχει δειχθεί ότι απουσιάζουν ή επιδεικνύουν δραματικά μειωμένη έκφραση στο μυοεπιθήλιο του DCIS(156).

Είναι επίσης γνωστό ότι τα στρωματικά κύτταρα στον καρκίνο του μαστού εκκρίνουν παράγοντες όπως VEGF, ιντερλευκίνη-6 και ιντερλευκίνη-8, οι οποίοι προάγουν την αγγειογένεση και την ανάπτυξη καρκίνου στο μαζικό αδένα(157). Οι *Allinen et al* διεξήγαγαν μια μελέτη μοριακής ταξινόμησης κάθε κυτταρικού τύπου στο φυσιολογικό μαζικό αδένα, το DCIS και το διηθητικό καρκίνο του μαστού σε μια προσπάθεια καλύτερης κατανόησης του μηχανισμού της μετάβασης από την *in situ* στη διηθητική μορφή της νόσου. Οι ερευνητές κατέληξαν ότι παρατηρούνται μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση σε όλους τους τύπους κυττάρων που εμπλέκονται στη διαδικασία αυτή, με πρωτεργάτη όμως το μυοεπιθηλιακό κύτταρο(158).

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Ένας βιολογικός δείκτης, ή βιοδείκτης (biomarker), αποτελεί ένα χαρακτηριστικό το οποίο μπορεί αντικειμενικά να μετρηθεί και να αξιολογηθεί σε σχέση με την επίδρασή του ή το αποτέλεσμα μιας βιολογικής διεργασίας, μιας παθολογικής εξεργασίας ή μιας φαρμακολογικής παρέμβασης(159–161). Η ανακάλυψη και ανάπτυξη των βιοδεικτών στη σύγχρονη ιατρική και βασική έρευνα, αποτελεί κρίσιμο τομέα της σύγχρονης ογκολογίας. Η μοντέρνα βασική έρευνα έχει να επιδείξει μια μυριάδα βιοδεικτών που η χρησιμότητά τους έχει δειχθεί σε εκτεταμένες κλινικές μελέτες. Ανάμεσα στους διάφορους τύπους βιοδεικτών, οι κυτταρικοί υποδοχείς διαδραματίζουν ένα ξεχωριστό ρόλο ως διαγνωστικοί ή και προγνωστικοί βιολογικοί δείκτες στη σύγχρονη έρευνα και θεραπεία του καρκίνου(162,163). Στον

καρκίνο του μαστού, οι οιστρογονικοί και προγεστερονικοί υποδοχείς, καθώς και οι υποδοχείς του Her-2 αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα βιοδεικτών που λειτουργούν προγνωστικά για τη νόσο, αλλά και η έκφραση των οποίων μας δίνει σημαντικές πληροφορίες για το δυναμικό ανταπόκρισης της νόσου στις συστηματικές θεραπείες(164,165).

Οι βιοδείκτες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διάγνωση και θεραπεία των ασθενών με καρκίνο μαστού. Μετά από μια διάγνωση καρκίνου του μαστού, τα σύγχρονα μοριακά profilings βιοδεικτών όπως το Oncotype Dx ή το uPA/PAI-1 μπορούν να χρησιμοποιηθούν ώστε να δώσουν πληροφορίες σχετικά με την πρόγνωση και πιθανή ανταπόκριση ασθενών με ER+ καρκίνους με αρνητικούς λεμφαδένες και να προσδιορίσουν το όφελος από τη χημειοθεραπεία(166,167). Άλλα γονιδιακά tests βασισμένα σε σύγχρονους βιοδείκτες (PAM50-ROR, Breast Cancer Index, EndoPredict) προσδιορίζουν την πιθανότητα ανάπτυξης όψιμης υποτροπής της νόσου και καθοδηγούν τα σχήματα ΕΘ σε ασθενείς που λαμβάνουν εκτεταμένη ορμονοθεραπεία(168–170). Σε μια διάγνωση καρκίνου μαστού, οι υποδοχείς που έως τώρα αναλύονται υποχρεωτικά είναι ο ER που καθορίζει αν η ασθενής ωφελείται ή όχι από ορμονοθεραπεία καθώς και ο Her-2 που προσδιορίζει το όφελος από στοχευμένη ανοσοθεραπεία με trastuzumab και τα σύγχρονά του φάρμακα (lapatinib, pertuzumab, ado-trastuzumab emtansine)(171). Τέλος, βιοδείκτες του ορού όπως τα CA 15-3 και CEA έχουν θέση στην παρακολούθηση ασθενών με προχωρημένη νόσο που λαμβάνουν συστηματικές θεραπείες 1ης ή 2ης γραμμής(172).

Στεροειδογένεση

Το σύνολο των στεροειδών ορμονών παράγονται από τη **C27 χοληστερόλη**(173). Η κύρια πηγή χοληστερόλης που απαιτείται για τη σύνθεση των

στεροειδών ορμονών (στεροειδογένεση) είναι η LDL χοληστερόλη(174). Η χοληστερόλη μεταβολίζεται σε 21-, 19- και 18- ανθρακικές στεροειδείς ορμόνες, αντίστοιχα(175). Το πρώτο βήμα της ωοθηκικής στεροειδογένεσης στον άνθρωπο είναι η μετακίνηση της χοληστερόλης εντός του μιτοχονδρίου. Το βήμα αυτό καταλύεται από την πρωτεΐνη *StAR* που κωδικοποιείται από το γονίδιο *STAR*(176). Στη συνέχεια η χοληστερόλη μετατρέπεται σε πρεγνενολόνη, μια διαδικασία που καταλύεται από μια πλαγίας αλύσου πρωτεΐνη κάθαρσης. Η πρεγνενολόνη αποτελεί το πρόδρομο μόριο για όλες τις στεροειδείς ορμόνες. Μεταβολίζεται από διάφορα ένζυμα, και υπό τη δράση της 17-υδροξυλάσης (που κωδικοποιείται από το γονίδιο *CYP17A1*) μετατρέπεται σε προγεστερόνη ή ανδροστενεδιόνη. Η ανδροστενεδιόνη στη συνέχεια μεταβολίζεται στα υπόλοιπα ανδρογόνα και οιστρογόνα(177).

Τα οιστρογόνα είναι από τα λίγα αρωματικά οργανικά μακρομόρια στον άνθρωπο. Η δομή τους ανήκει στα C18 στεροειδή και αποτελούνται από ένα βενζολικό δακτύλιο, 18 άνθρακες, και μια υδροξυλομάδα ή κετονομάδα (στην περίπτωση της 17β-οιστραδιόλης ή της οιστρόνης, αντίστοιχα)(178). Τα κυρίως κυκλοφορούντα οιστρογόνα είναι η οιστραδιόλη, η οιστρόνη και η οιστριόλη(179). Παρόλο που η οιστριόλη είναι το κυρίως οιστρογόνο στην κύηση, η οιστραδιόλη αποτελεί την περισσότερο βιολογικώς δραστήρια οιστρογονική ορμόνη, και εκκρίνεται κυρίως από τα κοκκιώδη κύτταρα της ωοθήκης, ενώ η έκλυσή της ρυθμίζεται από την FSH(180).

Στις προεμμηνόπαυσιες γυναίκες, η οιστραδιόλη συντίθεται στις ωοθήκες και αποτελεί το κυρίως οιστρογόνο, ενώ η οιστρόνη αποτελεί το πιο άφθονο οιστρογόνο των περιφερικών (εξω-ωοθηκικών) ιστών(181). Η **αρωματάση**, που κωδικοποιείται από το γονίδιο *CYP19A1*, ρυθμίζει τον καταρράκτη μετατροπής των ανδρογόνων σε οιστρογόνα(182). Ως εκ τούτου, η στοχευμένη αναστολή του με

φάρμακα (λετροζόλη, αναστροζόλη) αποτελεί σημαντική θεραπευτική επιλογή σε ER εξαρτώμενες ασθένειες όπως ο καρκίνος του μαστού(183,184).

Ο οιστρογονικός υποδοχέας (ER)

Η βιολογική δράση των οιστρογόνων ασκείται μέσω δύο διακριτών οιστρογονικών υποδοχέων, του ERa και του ERb, που αμφότεροι ανήκουν στην πυρηνική υπεροικογένεια των μεταγραφικών παραγόντων(185). Ο οιστρογονικός υποδοχέας περιέχει διάφορες λειτουργικές περιοχές πρόσδεσης, εκ των οποίων σημαντικότερο είναι το *σύμπλεγμα DNA πρόσδεσης DBD*(186). Η μεταγραφική ενεργοποίηση επιτελείται από δύο περαιτέρω λειτουργικές περιοχές, την AF1 και την AF2. Και οι δύο αυτές περιοχές ελκύουν και προσδένουν ρυθμιστικά πρωτεϊνικά συμπλέγματα επηρεάζοντας τον υποδοχέα πρόσδεσης του DNA(187). Και οι δύο υπότυποι του οιστρογονικού υποδοχέα μοιράζονται σε μεγάλο βαθμό ομολογία αλληλουχίας, εκτός από τις αμινοτελικές τους περιοχές(188).

Ο προγεστερονικός υποδοχέας (PR)

Η μείωση της έκφρασης του προγεστερονικού υποδοχέα σε ασθενείς με ER θετικούς καρκίνους μαστού μεταφράζεται σε επιδείνωση της πρόγνωσης και πιθανή δευτεροπαθή αντοχή στην ΕΘ(189). Σύγχρονα δεδομένα δείχνουν ότι η ενεργοποίηση του προγεστερονικού υποδοχέα στα καρκινικά κύτταρα του μαστού αναστέλλει την καρκινογένεση μέσω τροποποίησης στην πρόσδεση και τη μεταγραφική δραστηριότητα της ERa χρωματίνης(190). Ο προγεστερονικός υποδοχέας φαίνεται ότι υφίσταται ενδογενή ρύθμιση από τον ERa υποδοχέα αλλά ο μηχανισμός αυτής της διαδικασίας δεν έχει αποκρυσταλλωθεί πλήρως έως και σήμερα. Εν τη απουσία έκφρασης του προγεστερονικού υποδοχέα η λοβιακή ανάπτυξη αναστέλλεται ενώ

αντίθετα η διαδικασία διακλαδιζόμενης ανάπτυξης των πόρων εντός του μαζικού αδένου παραμένει ενεργός(191). Με βάση τα μοντέρνα δεδομένα από τη βασική έρευνα, είναι ξεκάθαρο ότι η δραστηριότητα του προγεστερονικού υποδοχέα ρυθμίζεται γραμμικά από τον ERα υποδοχέα(192).

Σήμερα, γνωρίζουμε ότι η πλειονότητα των PR+ κυττάρων ενέχουν δραστηριότητα 'αισθητήρα' και ανταποκρίνονται στην P διέγερση μέσω παρακρινούς κυτταρικής επικοινωνίας(193). Επίσης, έχει προταθεί η υπόθεση ότι η P διέγερση σε αυτές τις περιπτώσεις μπορεί να λάβει χώρα μέσω αυτοκρινούς ρύθμισης (εκτός από την παρακρινή) στο φυσιολογικό μαζικό αδένου(194). Κατ' επέκταση, η μεταβολή από την αυτοκρινή στην παρακρινή ρυθμιστική λειτουργία του προγεστερονικού υποδοχέα λειτουργεί ως έναυσμα πρώιμης ογκογένεσης(195).

Ο ανδρογονικός υποδοχέας (AR)

Ως πυρηνικός υποδοχέας, ο AR αποτελείται από τέσσερις διακριτές περιοχές που καθορίζουν τη δραστηριότητά του(196). Η κυρίως περιοχή ενεργότητας είναι το αμινοτελικό του άκρο που εμπλέκει μια ποικιλία προσδετικών περιοχών για μεταγραφικούς παράγοντες, παρουσιάζει δε μεγάλη ομολογία όσον αφορά στην περιοχή AF1 (που περιγράφει και στον οιστρογονικό υποδοχέα)(197). Το καρβοξυτελικό άκρο του επίσης, παίζει σημαντικό ρόλο στην έλκυση ενεργών προσδετικών μορίων όπως η τεστοστερόνη και η 5α-διυδροστερόνη. Στον καρκίνο του μαστού, ο AR επιδεικνύει σημαντική αύξηση της έκφρασης στην πρώιμη αλλά και μεταστατική μορφή της νόσου(198). Μάλιστα, τελευταία δεδομένα προτείνουν ένα πολλά υποσχόμενο υπότυπο τριπλού αρνητικού καρκίνου του μαστού που εκφράζει τον AR και ως εκ τούτου αποτελεί δυνητικά θεραπευτικό στόχο. Ενδιαφέρον δε είναι ότι οι πορογενείς διηθητικοί καρκίνοι του μαστού εκφράζουν τον AR εντονότερα από τους λοβιακούς διηθητικούς υπότυπους(199). Το γεγονός αυτό μπορεί εν μέρει να

εξηγηθεί λόγω του σπανιότερου τριπλού αρνητικού φαινότυπου (basal-like) στα λοβιακά καρκινώματα του μαστού(200).

ΑΝΑΤΟΜΙΑ, ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ

Η ανάπτυξη του θυρεοειδούς αδένου συντελείται από την τρίτη έως την ενδέκατη εβδομάδα της κύησης(201–203). Η πρόιμη ανατομική δομή του αδένου εμφανίζεται ως επιθηλιακή προσεκβολή στο έδαφος του φάρυγγα σε ουραία σχέση ως προς το *πρώτο και δεύτερο φαρυγγικό κόλπωμα*(204). Το σημείο έναρξης της ανατομικής ανάπτυξης του αδένου θα αποτελέσει το μελλοντικό τυφλό τρήμα. Τελικά ο αδένος κατέρχεται στο έδαφος του φάρυγγα έμπροσθεν του υοειδούς οστού και λαμβάνει την τελική του θέση μπροστά από την τραχεία περί την έβδομη εβδομάδα της κύησης(205).

Περί το τέλος του τρίτου μήνα της κύησης, ο εμβρυϊκός θυρεοειδής αδένος ενσωματώνει στοιχειακό ιώδιο και παράγει/εκκρίνει θυρεορμόνη περί την 12η εβδομάδα(206). Ο θυρεοειδής στον ενήλικα ζυγίζει περίπου 25 γραμμάρια και αποτελείται από δύο λοβούς που συνεχονται στον ισθμό. Ο αδένος καλύπτεται από λεπτή ινώδη κάψα και εδράζεται επί τα εντός των 2 καρωτιδικών θηκών. Μια τοπική ανατομική πύκνωση της εν τω βάθει τραχηλικής περιτονίας αποτελεί το σύνδεσμο του Berry που καθλώνει το θυρεοειδή επί της τραχείας(207). Ο πυραμοειδής λοβός αποτελεί εμβρυϊκό κατάλοιπο του θυρεογλωσσικού πόρου και μπορεί να καθλώνεται επί του υοειδούς οστού μέσω μια λεπτής ινώδους ταινίας(208).

Ο θυρεοειδής αδένος λαμβάνει την αιμάτωσή του από την άνω και κάτω θυρεοειδική αρτηρία που παρουσιάζουν ανατομική σταθερότητα(209). Ένα τρίτο αρτηριακό στέλεχος (thyroidal ima artery) μπορεί να υποκαθιστά την κάτω θυρεοειδική αρτηρία ως κύρια πηγή αιμάτωσης(210). Το φλεβικό/λεμφικό δίκτυο αναπτύσσεται

κατά παραλληλία και αντιστοιχία προς τα αρτηρικά στελέχη, με επιπρόσθετο φλεβικό στέλεχος τη μέση θυρεοειδική φλέβα που εκβάλλει στη έσω σφαγίτιδα(211).

Η ανατομία του πνευμονογαστρικού νεύρου όπως τη γνωρίζουμε σήμερα περιγράφηκε από τους *Vesalius* και *Willis* κατά τον 16ο και 17ο αιώνα, αντίστοιχα(212). Οι τραχηλικοί κλάδοι του πνευμονογαστρικού νεύρου δίνουν τους παλίνδρομους και τους άνω λαρυγγικούς κλάδους, που έχουν μεγάλη σημασία στη χειρουργική ανατομία του θυρεοειδούς αδένος. Εντός του τραχήλου τα παλίνδρομα λαρυγγικά νεύρα πορεύονται εντός της καρωτιδικής θήκης μαζί με την κοινή καρωτίδα και τη έσω σφαγίτιδα φλέβα(213). Η ανατομία των παραθυρεοειδών αδένων καθώς και του θύμου δε θα περιγραφεί αναλυτικά καθώς απομακρύνεται από το σκοπό της παρούσης διατριβής.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ ΑΔΕΝΑ

Ο θυρεοειδής, μέσω της δράσης των θυρεοειδικών ορμονών, ελέγχει και ρυθμίζει μια μυριάδα κυτταρικών δραστηριοτήτων, μεταβολικών και αναπτυξιακών διεργασιών πρακτικά σε κάθε ιστό-στόχο του ανθρώπινου οργανισμού(214). Η κύρια δράση του θυρεοειδούς στους ιστούς-στόχους ασκείται *μέσω της T3*, η οποία επιδεικνύει δραστικότητα 4 με 5 φορές μεγαλύτερη από αυτή της T4. Στους περιφερικούς ιστούς η T4 μεταβολίζεται στην ενεργό T4 μέσω αποϊωδίωσης. Όπως θα δούμε αναλυτικά παρακάτω, η δράση της θυρεοερόνης (T3) επάγεται *μέσω των υποδοχέων της θυρεοειδικής ορμόνης (TRs)*(215).

Η T3 ασκεί πλειότροπη δράση στην ανάπτυξη και την ομοιόσταση(216). Τα κυκλοφορούντα επίπεδα T3 και T4 στον ενήλικα είναι συνήθως πολύ σταθερά(217). Ο υπερθυρεοειδισμός, συχνά απότοκο της νόσου Graves, προκαλεί βρογχοκήλη, περιοφθαλμικό οίδημα, απώλεια βάρους, ταχυκαρδία, αρρυθμίες, αίσθημα παλμών,

μυική αδυναμία και οστεοπόρωση(218). Από την άλλη πλευρά, ο υποθυρεοειδισμός σχετίζεται κλινικά με βρογχοκήλη, μυξοίδημα, κόπωση, θερμοστατικές διαταραχές, λέπτυνση των μαλλιών, κατάθλιψη, ξηροδερμία, βραδυκαρδία και δυσκοιλιότητα(219).

Θυρεοειδής και αμφιβληστροειδής

Στον αμφιβληστροειδή, η θυρεορμόνη παίζει κεντρικό ρόλο στην έκφραση της οψίνης των κωνίων. Η θυρεορμόνη αναστέλλει την έκφραση της S οψίνης και ρυθμίζει την οξύτητα των φωτοϋποδοχέων. Νεότερα δεδομένα από μικροσκοπικές μελέτες εμπλέκουν απευθείας τη θυρεορμόνη με το δυναμικό επιβίωσης των κωνίων ανεξάρτητα από το βιοχημικό μονοπάτι της οψίνης. Υπερδιέγερση των κωνίων με θυρεορμόνη σε πειραματικά μοντέλα προκαλεί νέκρωση των εξειδικευμένων αυτών κυττάρων(220).

Θυρεοειδής και σύνδρομο DOWN

Η θυρεοειδική δυσλειτουργία αποτελεί την τυπικότερη ενδοκρινική διαταραχή στο σύνδρομο Down. Ασθενείς με το σύνδρομο παρουσιάζουν μεγάλα ποσοστά υπερ- και υποθυρεοειδισμού. Νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι οι ασθενείς με το σύνδρομο υφίστανται μεγάλο βαθμό οξειδωτικού stress το οποίο σχετίζεται βιοχημικά με τη θυρεοειδική λειτουργία όπως θα δούμε και παρακάτω. Στα άτομα με το σύνδρομο (τρισωμία 21), το γονίδιο της υπεροξειδικής δισμουτάσης του Cu/Zn (SOD1) εδράζεται στο χρωμόσωμα 21 και υπερεκφράζεται με αποτέλεσμα να αυξάνεται η παραγωγή των ελεύθερων ριζών (ROS) που επάγουν την οξειδωτική καταστροφή του DNA, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων(221).

Θυρεοειδής και κυτταρικός μεταβολισμός

Η θυρεορμόνη ασκεί πλειάδα δράσεων στα μιτοχόνδρια και στα βιοχημικά μονοπάτια του ενεργειακού μεταβολισμού στο κύτταρο. Η πλειονότητα των μεταβολικών δράσεων της θυρεορμόνης ασκείται εμμέσως από τη μιτοχονδριακή βιογένεση και την αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης. Η θυρεορμόνη επιταχύνει την κατανάλωση οξυγόνου με αποτέλεσμα την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (που όπως προαναφέραμε συνιστούν θεμέλιο συστατικό του οξειδωτικού stress σε μια μυριάδα παθήσεων) οι οποίες με τη σειρά τους διεγείρουν την ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων (kB, signal transducer/activator of transcription 3). Σε αυτό το βιοχημικό καταρράκτη το κύτταρο αντιδρά αυξάνοντας το ομοιοστατικό του δυναμικό μέσω αντιφλεγμονώδους και αντιαποπτωτικής δράσης πρωτεϊνών. Ο παραπάνω μηχανισμός έχει παρατηρηθεί κατά τη μελέτη της ισχαιμίας-επαναιμάτωσης του ήπατος αλλά και εξωηπατικών ιστών σε πειραματικά μοντέλα επιβεβαιώνοντας τον κεντρικό ρόλο της θυρεορμόνης στο μονοπάτι αυτό(216,222).

Το κυρίως εκκριτικό προϊόν του θυρεοειδούς αδένος είναι η L-θυροξίνη, που επιτελεί αντιαποπττικό ρόλο σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις σε πειραματικά μοντέλα καρκινικών κυττάρων. Μια από τις καλά μελετημένες αντιαποπτωτικές λειτουργίες της T4 είναι η ενεργοποίηση του p53 μέσω φωσφορυλίωσης. Η θυρεορμόνη επίσης ελαττώνει την κυτταρική αφθονία και ασκεί ρυθμιστικό ρόλο στις πρωτεολυτικές κασπάσες και το σύμπλεγμα BAX, πρωτεΐνες κλειδιά του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Όπως προαναφέρθηκε, η T4 στους περιφερικούς ιστούς στόχους υφίσταται αποϊωδίσωση σε T3, που ασκεί την πολυποίκιλη δράση της μέσω των TRs και επιδεικνύει έως και πέντε φορές μεγαλύτερη ενεργότητα από τη θυροξίνη (T4)(206,223).

Θυρεοειδής και γνωσιακή λειτουργία

Η λειτουργία του θυρεοειδούς ασκεί σημαντικότερο ρόλο στη διάθεση και τη γνωσιακή λειτουργία. Τις τελευταίες δεκατίες, η βασική και κλινική έρευνα έχει επιχειρήσει να αποκρυσταλλώσει τους μηχανισμούς της δράσης αυτής. Η επίδραση στη διάθεση και γνωσιακή λειτουργία παρατηρείται από άκρη σε άκρη του φάσματος της θυρεοειδοπάθειας. Έχειδειχθεί ότι η θεραπεία του υπερθυρεοειδισμού αλλά και του υποθυρεοειδισμού μπορεί να έχει θεαματικά αποτελέσματα όσον αφορά στη βελτίωση των συμπτωμάτων από τη διάθεση και τη γνωσιακή σφαίρα. Ωστόσο, μέρος της διαταραχής αυτής μπορεί να μην υποστρέψει πλήρως, ειδικά μετά από θεραπευτική ρύθμιση του υποθυρεοειδισμού. Ορμόνη - κλειδί για αυτές τις διαταραχές έχει θεωρηθεί η ελεύθερα κυκλοφορούσα θυροξίνη (Free T4)(224,225).

Θυρεοειδής και νευρικό σύστημα

Η θυρεορμόνη ασκεί ποικίλες δράσεις στην επιβίωση, ωρίμανση και διαφοροποίηση των αρχέγονων νευρικών κυττάρων κατά την περιγεννητική περίοδο. Μελέτες έχουν δείξει ότι η θυρεορμόνη διατηρεί σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο στη λειτουργία και φυσιολογία του ενήλικου εγκεφάλου. Ο υποδοχέας TRα, που θα αναλυθεί παρακάτω, και αποτελεί το αντικείμενο του ειδικού μέρους της παρούσης διατριβής, ρυθμίζει την επιβίωση και απόπτωση των αρχέγονων νευρικών κυττάρων ενώ ασκεί επίσης ρυθμιστική επιρροή στη φυσιολογία των νευρωνικών δικτύων. Από ανατομικής άποψης, η δράση αυτή εστιάζεται κυρίως στην υποκκλώδη ζώνη του ιπποκάμπου(226).

Θυρεοειδής και καρδιά

Μια από τις πιο κεφαλαιώδεις και καλά μελετημένες δράσεις του θυρεοειδούς είναι η δράση του στην καρδιακή λειτουργία και φυσιολογία. Οι θυρεοορμόνες ρυθμίζουν τη έκφραση της ΑΤΡάσης του δικτυωτού ενδοπλασματικού δικτύου και της φωσφολαμπάνης(227). Συνολικά, ο υπερθυρεοειδισμός χαρακτηρίζεται από αύξηση του όγκου παλμού, της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου και του κλάσματος εξώθησης. Αντίθετα, κατά τον υποθυρεοειδισμό, ο καρδιακός ρυθμός ελαττώνεται και παρατηρείται επιμήκυνση της διάρκειας συστολής και της πρώιμης διαστολής. Το καρδιακό μεταφόρτιο αυξάνεται, ενώ σημειώνεται ελάττωση των χρονότροπων και ινότροπων λειτουργιών(228–235).

Ο υποκλινικός υποθυρεοειδισμός, που εμφανίζει αυξημένη επίπτωση στους ασθενείς >65 ετών, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ισχαιμικής καρδιοπάθειας και θνητότητας από τη νόσο(233). Ο κίνδυνος μάλιστα από ισχαιμική καρδιοπάθεια και κοιλιακή μαρμαρυγή είναι μεγαλύτερος σε ασθενείς με πολύ χαμηλή θυρεοτροπίνη του ορού. Τέλος, φάρμακα όπως η αμιωδαρόνη μπορούν να προκαλέσουν είτε υπο- ή υπερθυρεοειδισμό, ενώ και οι δύο διαταραχές συνδέονται εν πολλοίς με την υψηλή συγκέντρωση ιωδίου στο φάρμακο αυτό(236).

Θυρεοειδής και οστά

Η δράση των θυρεοορμονών στον οστικό μεταβολισμό είναι επίσης καλώς μελετημένη. Ο υπερθυρεοειδισμός κατά την παιδική ηλικία αυξάνει την επιμετάλλωση του οστού και επιταχύνει την ωρίμανση της επίφυσης, ενώ στους ενήλικες επάγει οστική απώλεια και απορρόφηση μέσω της δραστηριότητας των οστεοκλαστών. Από την άλλη, η θυρεοειδική δυσλειτουργία έχει σχετιστεί με ρευματολογικά νοσήματα, και ιδιαίτερα έχει μελετηθεί in vivo η επίδραση της θυρεοειδικής δυσλειτουργίας στη

ρευματοειδή αρθρίτιδα, που επάγεται μέσω γενωμικών δράσεων και γονιδιακών πολυμορφισμών(237).

Θυρεοειδής, κύηση και γονιμότητα

Η θυρεοειδική δυσλειτουργία αποτελεί τη δεύτερη σε συχνότητα ενδοκρινική διαταραχή σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, πίσω από το σακχαρώδη διαβήτη(238). Η δυσλειτουργία του αδένου στην κύηση και κατ'επέκταση η διαταραχή στο προφίλ των κυκλοφορούντων θυρεοειδικών ορμονών αυξάνει την επίπτωση της αποβολής, της υπέρτασης στην κύηση, της αποκόλλησης του πλακούντα, του πρόωρου τοκετού και της περιγεννητικής νεογνικής εγκεφαλικής βλάβης. Το ιώδιο της μητροπλακουντικής κυκλοφορίας ρυθμίζεται από το συμμεταφορέα νατρίου/ιωδίου (sodium/iodide symporter, NIS)(239).

Κατά την κύηση, τα κύρια γεγονότα που λαμβάνουν χώρα σε σχέση με τη θυρεοειδική λειτουργία είναι τα εξής:

[α] αύξηση της θυρεοσφαιρίνης του ορού

[β] απευθείας διέγερση του μητρικού θυρεοειδούς αδένου από την ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη

[γ] τροποποίηση του περιφερικού μεταβολισμού των μητρικών θυρεοορμονών και

[δ] μεταβολές στη μητρική δεξαμενή ιωδίου(240).

Η επίπτωση της κλινικά σημαντικής θυρεοειδικής δυσλειτουργίας στην κύηση είναι 1-2%. Αναμένονται όμως περισσότερες περιπτώσεις υποκλινικού υπο- και υπερθυρεοειδισμού. Η ανεπάρκεια ιωδίου σχετίζεται με αύξηση της επίπτωσης των θυρεοειδικών όζων, ενώ ανεπάρκεια των θυρεοορμονών από τη μητροπλακουντική κυκλοφορία οδηγεί σε μη αναστρέψιμη εγκεφαλική βλάβη καθώς και σε αυξημένες πιθανότητες για κρετινισμό(241).

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΗΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ (Thyroid hormone receptors, TRs)

Δομή και βιολογικές δράσεις των υποδοχέων της θυρεορμόνης

Η ταυτοποίηση των υποδοχέων των θυρεοειδικών ορμονών (TR) αρχικά βασίστηκε σε μελέτες μοριακής πρόσδεσης. Το κυρίως προσδετικό μόριο στον TR είναι η **3,5,3' - τριωδο-L-θυρονίνη (T3)**(215). Όπως έχουμε προαναφέρει, η παραγωγή της T3 λαμβάνει χώρα κυρίως από αποϊώδωση της T4 στο θυρεοειδή αδένα και τους περιφερικούς ιστούς. Οι περισσότεροι μάλιστα μεταβολίτες της T3 και T4 αποτελούν αδύναμους προσδέτες στον TR, εκτός από το 3,3,5'-τριωδο-θυρεοξικό οξύ, που είναι όμως παρόν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στον ορό(228).

Οι TRs κωδικοποιούνται από **τα γονίδια NR1A1/THRA (για τον TRα) και NR1A2/THRB (για τον TRβ)**. Το γονίδιο του TRα αρχικά ταυτοποιήθηκε στα πουλερικά ως κυτταρικό ομόλογο του ογκογονιδίου v-erbA. Το γονίδιο για τον TRβ κωδικοποιήθηκε από βιβλιοθήκες cDNA αρουραίων. Πέραν τούτου, το γονίδιο *THRB* έχει επίσης κλωνοποιηθεί από cDNA βιβλιοθήκες ανθρώπινου γονιδιώματος. Η έκφραση του THRA στους ιστούς είναι συνολικά αφθονότερη από εκείνη του THRB(242). Το THRA εκφράζεται σε αφθονία στο ήπαρ, την υπόφυση, το έσω ους, τον αμφιβληστροειδή και διάφορες περιοχές του εγκεφάλου(243). Το promoter γονίδιο του THRA διαθέτει ένα προσδετικό στοιχείο ανταπόκρισης στον 'ορφανό' υποδοχέα NR3B1 και το 3' άκρο του επικαλύπτει το γονίδιο RevErbAa (NR1D1) - εξ' ου και η κυτταρική ομολογία με το ογκογονίδιο v-erbA όπως προαναφέρθηκε στην αρχή του κεφαλαίου. Το βιολογικό αποτέλεσμα αυτών των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του γονιδίου THRA δεν έχουν αποκρυσταλλωθεί πλήρως. Έχει προταθεί ότι η αλληλεπικάλυψη στο 3' άκρο θα μπορούσε να εξηγήσει μερικώς την κερκάρδια μεταβολή στην έκφραση του υποδοχέα-ισομορφής TRα2 στο ανθρώπινο ήπαρ(244).

Τα γονίδια THRA και THRB κωδικοποιούν τις μείζονες ισομορφές του υποδοχέα (TRα1, TRβ1 και TRβ2). Ο υποδοχέας TRβ3 είναι ειδικός για τον αρουραίο και δεν έχει ταυτοποιηθεί στον άνθρωπο. Οι υπόλοιπες ισομορφές του υποδοχέα εκφράζονται σε διάφορους ιστούς αλλά είναι ‘ορφανοί’ - δεν έχει δηλαδή ταυτοποιηθεί κανένας προσδέτης(245). Οι υποδοχείς αυτοί είναι οι TRα2, TRα3, TRΔα1, TRΔα2, και ο ειδικός για τον αρουραίο TRΔβ3). Τα mRNA των TRα2 και TRα3 επάγονται από εναλλακτικό (alternative) splicing και διαφέρουν στο C άκρο τους. Οι TRΔα1 και TRΔα2 αποτελούν προϊόντα τμήσης των TRα1 και TRα2, αντιστοίχως, και μεταφράζονται από mRNA που εδράζεται σε ένα επαγωγικό τμήμα στο ιντρόνιο 7. Όλες οι ‘ορφανές’ ισομορφές του υποδοχέα αναστέλλουν την T3-επαγόμενη μεταγραφική ενεργοποίηση αλλά οι υποκείμενοι μηχανισμοί παραμένουν ασαφείς(242,246).

Δεδομένα από in vitro μελέτες δείχνουν ότι ο TR δρα κυρίως ως ετεροδιμερές με το RXR (retinoid X receptor, υποδοχέας των ρετινοειδών), παρόλο που έχουν μελετηθεί επίσης ομοδιμερή TRβ1 αλλά και ετεροδιμερή του TR με τον υποδοχέα του ρετινοϊκού οξέος(247). Η πρόσδεση του DNA στα ετεροδιμερή TR/RXR είναι ανεξάρτητη από προσδέτη και επιδεικνύει ενεργότητα σε στοιχεία DR-4 (5'-AGGTCANNNAGGTCA-3') καθώς και ανάστροφα παλίνδρομα στοιχεία (inverted palindromes)(248).

Μελέτες με κρυσταλλογραφία X έχουν αποκαλύψει τη δομή της περιοχής που είναι υπεύθυνη για την πρόσδεση του αγωνιστή στον TR(249). Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι κατά τη διάρκεια της πρόσδεσης της T3 η καρβοξυτελική έλικα-12 του υποδοχέα αναδιπλούται εντός του σκαριφήματος που σχηματίζεται από τις έλικες 3,4 και 5 - δημιουργώντας έτσι μια επιφάνεια με υδρόβοφες ιδιότητες. Η επιφάνεια αυτή επιτελεί το διμερισμό TR/RXR(250).

Οι μεταλλάξεις του γονιδίου THRB έχουν μελετηθεί *in vitro* και *in vivo*. Αντίθετα είναι αξιοσημείωτο, ότι μεταλλάξεις στο γονίδιο THRA δεν έχουν παρατηρηθεί *in vivo*, και ως εκ τούτου έχει προταθεί ότι οι τελευταίες πιθανό να σχετίζονται με διαταραχές ασύμβατες με τη ζωή ή με ασυνήθη κλινικά σύνδρομα(251).

Η καλύτερα μελετημένη μετάλλαξη του THRB είναι αυτή που προκαλεί το σύνδρομο αντίστασης στη θυρεομόνη (RTH syndrome)(252). Η νόσος θεωρείται πολύμορφη και κληρονομείται με αυτόσωμο επικρατή τρόπο. Οι μεταλλάξεις του συνδρόμου αφορούν στην περιοχή πρόσδεσης και μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 3 διακριτές μεταλλάξεις (AA234-282, 310-353, και 429-461). Η κλινική πορεία της νόσου προσομοιάζει σε υπερθυρεοειδισμό, που οφείλεται σε αυξημένα επίπεδα T3 και T4 στον ορό, ενώ τα κλινικά συμπτώματα του υπερθυρεοδισμού είναι εμφανή κυρίως σε ιστούς που εκφράζουν TRα(253). Για παράδειγμα, η νόσος εκδηλώνεται με ταχυκαρδία, αφού τα κύτταρα του μυοκαρδίου εκφράζουν κυρίως TRα. Αντίθετα, σε ιστούς που εκφράζουν TRβ κατά κύριο λόγο, όπως στο ήπαρ, η νόσος προσομοιάζει περισσότερο στον υποθυρεοειδισμό(254).

Ο TRα1 αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της ανάπτυξης του περιφερικούς ιστούς κατά της πρώτες εβδομάδες της νεογνικής ζωής. Οι 3 αυτές εβδομάδες χαρακτηρίζονται από απότομη αύξηση στη συγκέντρωση της T3 στον ορό και παρουσιάζουν αναλογίες με την αμφίβια μεταμόρφωση(255). Σε αυτό το σημείο, η T3 ελέγχει το remodelling του εντέρου, την ανάπτυξη της παραγκεφαλίδας, την σπληνική ερυθροποίηση και την οστική ανάπτυξη, λειτουργίες που επάγονται μέσω ενεργοποίησης του TRα1. Ο TRα1 επίσης μείζονα ρόλο στην καρδιακή λειτουργία και τη θερμογένεση(256). Ο TRβ1 αποτελεί τη βασική ισομορφή που ρυθμίζει την ηπατική λειτουργία και την ανάπτυξη της ακοής, και μαζί με τον TRβ2 συμμετέχει στον άξονα

υποθαλάμου - υπόφυσης - θυρεοειδούς αδένου(257). Παράλληλα, ο TRβ2 επιδρά στα κωνία του αμφιβληστροειδούς και ενέχει ρόλο στην κοχλιακή λειτουργία(258).

Βιολογικές δράσεις του TRα – πειραματικά δεδομένα

Τα πειραματικά δεδομένα ως προς τις ισομορφές TRα1 και TRα2 και τη διαφορική τους λειτουργία είναι περιορισμένα(259). Ο TRα1 είναι ικανός να προσδέσει τη θυρεορμόνη και επομένως να διαμεσολαβεί τη βιολογική της δράση στους ιστούς-στόχους(260). Αντίθετα, ο TRα2 (όπως ήδη προαναφέρθηκε στη μοριακή δομή) δεν έχει ικανότητα προσδέτη και ουσιαστικά δρα ως αδύναμος ανταγωνιστής της T3 επαγόμενης μεταγραφής(261).

Οι *Ortega et al* μελέτησαν την έκφραση των TRα1/α2 στο λιπώδη ιστό σε μια προσπάθεια να αποσαφηνίσουν τον πιθανό τους ρόλο στις περιοχικές διαφορές εναπόθεσης λίπους(262). Τα ευρήματα τους είναι ενδιαφέροντα υπό την έννοια ότι το mRNA των TRα και TRα1 βρέθηκε να εκφάζεται 1.46 φορές περισσότερο στο υποδόριο από ότι στο σπλαχνικό λίπος. Οι ερευνητές πρότειναν ότι οι TRα/α1 φαίνεται να επηρεάζουν ανωρυθμιστικά την εναπόθεση λίπους στον υποδόριο χώρο σε παχύσαρκους ασθενείς(262).

Οι *Goumidi et al* διερεύνησαν τη σχέση των πολυμορφισμών στο γονίδιο THRA σε ασθενείς με νόσο Alzheimer(263). Οι συγγραφείς ανέλυσαν 5 πολυμορφισμούς στο THRA καλύπτοντας τις πιο συνήθεις ποικιλομορφίες στο γονίδιο στη μελέτη *Lille AD* (710 περιπτώσεις και 597 μάρτυρες). Οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι τα υποκείμενα τις μελέτης που επεδείκνυαν τον γονότυπο *rs939348-TT* είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο αναπτυξης νόσου του Alzheimer σε σχέση με τα υποκείμενα που δεν έφεραν το συγκεκριμένο γονότυπο. Οι μελετητές σχολίασαν ότι απαιτείται σπουδή μεγαλύτερης γονιδιακής δεξαμενης για να αποδειχθεί ο συσχετισμός μεταξύ πολυμορφισμών στο THRA και της νόσου(263).

Όπως έχουμε προαναφέρει, η θυρεορμόνη διαδραματίζει ουσιαστική δράση στην ανάπτυξη του εγκεφάλου και η δράση της αυτή διαμεσολαβείται κυρίως από τον TRα1. Οι Wallis *et al* δημιούργησαν ένα πειραματικό μοντέλο σε ποντίκια ώστε να αποκρυσταλλώσουν την έκφραση του TRα1 κατά την εμβρυϊκή και πρόιμη νεογνική αναπτυξιακή φάση του εγκεφάλου(264). Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων, ο TRα1 εντοπίστηκε στα μεταμιτωτικά κύτταρα του φλοιού και στον εμβρυϊκό τηλεγκέφαλο και η έκφρασή του φάνηκε να προηγείται της έκφρασης της νευρονικής πρωτεΐνης NeuN. Παράλληλα, ο TRα1 βρέθηκε να εκφράζεται στα υπό ανάπτυξη κύτταρα του Purkinje αλλά όχι στα αντίστοιχα ώριμα κύτταρα της σειράς. Η γλοιακή έκφραση του υποδοχέα εντοπίστηκε στα τανυκύτταρα του υποθαλάμου και της παρεγκεφαλίδας(264).

Όπως έχουμε τονίσει και παραπάνω, η θυρεορμόνη ασκεί κρίσιμο ρόλο στην καρδιακή φυσιολογία. Η δράση της T3 στο μυοκάρδιο έχει τη δυνατότητα να περιορίσει τη βλάβη από ισχαιμία επαναϊμάτωσης μέσω μιας λεπτής εξισορρόπησης προ-αποπτωτικών και προ-επιβιωτικών μονοπατιών σήμανσης. Ακριβώς αυτή η ανταπόκριση στο μυοκαρδιακό τραύμα διαμεσολαβείται από τον TRα1(265). Επιπρόσθετα, η αλληλεπίδραση μεταξύ της σήμανσης της stress-επαγόμενης κινάσης και του TRα1 δείχνει να επιδρά στην ικανότητα επούλωσης του μυοκαρδίου μετά από ισχαιμία. Τα δεδομένα αυτά έχουν υποστηριχθεί από ευρήματα στην καρδιοχειρουργική, την καρδιακή μεταμόσχευση και τη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας με ανάλογα της θυρεορμόνης(266).

Μια νέα γενετική διαταραχή έχει πρόσφατα αποκρυσταλλωθεί και σχετίζεται με μετάλλαξη στον THRA(242). Όπως έχουμε προαναφέρει, οι μεταλλάξεις στον TRα που είναι συμβατές με τη ζωή παρατηρούνται σπάνια και ως εκ τούτου παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Τα παιδιά με τη συγκεκριμένη μετάλλαξη επιδεικνύουν σε

διάφορο βαθμό μαθησιακή διαταραχή αλλά και δυσκοιλιότητα, αλλά παρουσιάζουν σχετικά σταθερά σημαντικό βαθμό σκελετική δυσπλασία(267). Σε μια προσπάθεια να αναστραφεί αυτό το φαινόμενο, ερευνητές στην παιδιατρική αναπτυξιολογία έχουν χορηγήσει άλλοτε άλλου βαθμού συμπληρωματικές θεραπείες με T4, αλλά η ανταπόκριση τόσο στη σκελετική ανάπτυξη όσο και στα συμπτώματα του υποθυρεοειδισμού είναι ποικίλα. Παράλληλα, πειραματικά μοντέλα σε ποντίκια με γονότυπο THRA(PV/+) εκφράζουν παρόμοιες διαταραχές και ως εκ τούτου αποτελούν άριστο μοντέλο πειραματικής επαλήθευσης των ανωτέρω(256).

Οι *Furuya et al* διερεύνησαν το ρόλο του TRα στην ανάπτυξη των β κυττάρων του παγκρέατος που παράγουν ινσουλίνη, στην ανεπάρκεια των οποίων οφείλεται ο διαβήτης τύπου II(268). Οι ερευνητές επιμόλυναν κύτταρα RIN5F με ανασυνδυασμένο πλασμίδιο που εμπεριείχε TRα και παρατήρησαν ότι η διαδικασία αυτή αύξησε την έκφραση της κυκλίνης D τόσο στο μεταγραφικό όσο και το μεταφραστικό επίπεδο. Επιπρόσθετα, η ενδοπαγκρεατική χορήγηση ανασυνδυασμένου υποδοχέα TRα οδήγησε σε αποκατάσταση της νησιδιακής λειτουργίας και αύξησε τη μάζα των β κυττάρων(269).

Οι *Mochizuki et al* διερεύνησαν την έκφραση του TRα στη νήστιδα σε αναπτυσσόμενα μοντέλα ποντικών, παρατήρησαν δε ότι η έκφραση του TRα mRNA και του λόγου TRα1/TRα2 mRNA αυξήθηκε κατά 2 φορές από την 5η έως τη 13η ημέρα της ζωής στα πειραματικά μοντέλα(261). Το ποσοστό έκφρασης αντίθετα του TRα2 mRNA παρέμεινε αναλλοίωτο κατά την ίδια περίοδο. Παράλληλα, οι μελετητές παρατήρησαν ότι κατά τις ημέρες 5-13 της ζωής, οι διαμεμβρανικοί μεταφορείς εξόζης στη νήστιδα αύξηθηκαν σε αριθμό, παράλληλα προς την προαναφερθείσα αύξηση της μεταγραφής του THRA στα νηστιδικά κύτταρα. Έτσι, η ομάδα συμπέρανε ότι υπάρχει

συχέτιση του υποδοχέα και της ανάπτυξης των μεταφορέων εξόζης στα κύτταρα της νήστιδας κατά τις πρώτες ημέρες ζωής του μοντέλου(261).

TRs ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΜΑΣΤΟΥ

Οι *Guigon et al* διερεύνησαν το ρόλο των μεταλλάξεων στον TRβ στο δυναμικό ανάπτυξης όγκων στο μαστό(270). Προς την κατεύθυνση αυτή, ανέπτυξαν knockout ποντίκια με μετάλλαξη στο γονίδιο THRβ (THRβ^{kn} mice). Παρόλο που στα ενήλικα θηλυκά ποντίκια με μηδενικές κυήσεις, ένα μόνον αλληλίο του THRβ^{kn} δεν οδήγησε σε ανάπτυξη όγκων/υπερπλαστικής μεταβολής στο μαστό, στα ποντίκια με 2 μεταλλαγμένα αλληλία του γονιδίου, 36% των περιπτώσεων ανέπτυξαν υπερπλαστικές αλλαγές στο μαζικό αδέν. Όταν τα δύο αλληλία συνδυάστηκαν σε μοντέλα ποντικών με υψηλό δυναμικό καρκίνου μαστού (Pten^{+/-}), η συμπαρουσία των μεταλλαγμένων αλληλίων του THRβ^{kn} οδήγησε σε αύξηση κατά 60% της υπερπλασίας στο μαστό. Όσον αφορά στο μηχανισμό, οι συγγραφείς προτείνουν ότι η T3 κατέστειλε το μονοπάτι σήμανσης του STAT5 οδηγώντας σε ελάττωση την STAT5-επαγόμενη μεταγραφική δραστηριότητα σε κύτταρα που εξέφραζαν το μεταλλαγμένο TRβ(270).

Οι *Ditsch et al* ήταν ουσιαστικά οι πρώτοι που μελέτησαν την ανοσοϊστοχημική έκφραση των TRs στον καρκίνο του μαστού(271). Η ομάδα ασθενών είναι ετερογενής ως προς τα ιστολογικά προφίλ, εντούτοις τα αποτελέσματα είναι ενδιαφέροντα. Οι ερευνητές μελέτησαν την έκφραση συνδυασμένων αντισωμάτων TRα1/α2, συνδυασμένων TRβ1/β2 αλλά και την έκφραση του καθενός από τα 4 αντισώματα ξεχωριστά σε 82 ασθενείς με διάγνωση σποραδικού καρκίνου του μαστού. Οι ασθενείς δεν ήταν ομοιογενείς ως προς τη θυρεοειδοπάθεια (το θυρεοειδικό προφίλ τους ήταν άγνωστο στη μελέτη). Επίσης, οι ιστολογικοί υπότυποι των καρκίνων του μαστού εμφάνιζαν ποικιλία στο δείγμα. Ως προς τα αποτελέσματα, και ο TRα αλλά και ο TRβ εκφράστηκαν στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων. Ο υποδοχέας με τη συχνότερη

έκφραση στα καρκινικά κύτταρα ήταν ο TRβ2 ενώ στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ο TRα2 βρέθηκε να είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την ελεύθερη νόσο και συνολική επιβίωση. Οι ασθενείς με χαμηλή έκφραση του TRα2 επέδειξαν χειρότερη επιβίωση(271).

Οι *Gu et al* μελέτησαν την έκφραση του TRβ σε κυτταρικές σειρές τριπλού αρνητικού καρκίνου μαστού(272). Όπως έχουμε προαναφέρει, ο TNBC σχετίζεται με το μοριακό προφίλ του basal-like (non luminal) μοριακού υπότυπου και ανταποκρίνεται στη χημειοθεραπεία αλλά όχι στην ΕΘ. Οι τριπλοί αρνητικοί καρκίνοι τείνουν να έχουν χειρότερη πρόγνωση και πιο προχωρημένα κυτταρικά (grade) και κλινικά (stage) στάδια. Οι ερευνητές προκάλεσαν knockdown του TRβ στις κυτταρικές αυτές σειρές και παρατήρησαν ελαττωμένη ανταπόκριση στη δοξορουβικίνη και τη δοξεταξέλη, κλασικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα στο TNBC. Όταν στις knockdown σειρές εφαρμόστηκε αγωνιστής του TRβ, η ευαισθησία στη χημειοθεραπεία αποκαταστάθηκε. Οι συγγραφείς σημείωσαν ότι το μονοπάτι σήμανσης cAMP/PKA εμπλέκεται στη ρύθμιση της αντοχής στη χημειοθεραπεία από τον TRβ(272).

Με πηγή τη βάση δεδομένων *Cancer Genome Atlas (TCGA)*, μερικοί καρκίνοι μαστού μπορεί να φέρουν μεταβολές στον αριθμό αντιγράφων του THRA, ενώ σε άλλους, τα επίπεδα του mRNA υφίστανται ανωρύθμιση(273). Επιπρόσθετα, έχει δειχθεί η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ανωρύθμισης των THRA mRNA και της θετικότητας του υποδοχέα Her-2(274).

Οι *Conde et al* έδειξαν ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υψηλής έκφρασης του TRα και της ελεύθερης νόσου επιβίωσης σε 52 γυναίκες με διηθητικό καρκίνο του μαστού, αλλά οι 2 διαφορετικές υπομορφές του υποδοχέα δεν μελετήθηκαν σε αυτό το πρωτόκολλο(275).

Η μεγαλύτερη κλινική μελέτη μέχρι σήμερα έρχεται από τους *Jezrak et al* οι οποίοι μελέτησαν την ανοσοϊστοχημική έκφραση των υποδοχέων TRa1/a2 σε 130 γυναίκες με διηθητικό καρκίνο του μαστού(276). Ακόμα και σε αυτή τη μελέτη, δεν έγινε διάκριση μεταξύ ιστολογικών υπότυπων καρκίνου μαστού ενώ επίσης δεν έχει σχολιαστεί αν κάποιες από τις ασθενείς ήταν δυσθυρεοειδικές κατά τη διάγνωση. Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν: καρκίνοι < 1 εκατοστό, λήψη προεγχειρητικής χημειοθεραπείας και φορείς μετάλλαξης στα γονίδια BRCA. Οι ασθενείς με χαμηλή έκφραση TRa2 είχαν χειρότερη 5ετή επιβίωση (συμφωνώντας με τη μελέτη του *Ditsch*) από ασθενείς με υψηλότερη έκφραση του υποδοχέα(271,276). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ο υποδοχέας παρέμεινε ανεξάρτητος προγνωστικός παράγων για τη συνολική επιβίωση. Τέλος, ασθενείς με το συνδυασμό χαμηλής έκφρασης TRa1 και υψηλής έκφρασης TRa2 παρουσίασαν τα καλύτερα ποσοστά 5-ετούς επιβίωσης, παρόλο που το υποσύνολο των ασθενών ήταν μικρό (12 ασθενείς). Οι συγγραφείς διατύπωσαν την ενδιαφέρουσα υπόθεση (για μελλοντικές μελέτες) ότι αρνητική ρύθμιση του TRa1 ή θετική ρύθμιση του TRa2 ή συνδυασμός τους - με χρήση αντίστοιχων αγωνιστών και ανταγωνιστών - θα μπορούσε θεωρητικά να προκαλέσει ένα 'ευνοϊκό' προφίλ υποδοχέων θυρεοειδικής ορμόνης σε γυναίκες με ήδη διαγνωσμένο καρκίνο μαστού και να επηρεάσει θετικά την επιβίωσή τους(276).

Σε αντιδιαστολή με τα αποτελέσματα των προαναφερθεισών μελετών, οι *Alyusuf et al* μελέτησαν την έκφραση του TRa1 στο κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα 146 μικτών περιπτώσεων καλοήθους και κακοήθους παθολογίας του μαζικού αδένου - καρκίνος, ινοαδενώματα, μαζικός αδένας με μεταβολές από το θηλασμό και φυσιολογικός μαστός(277). Συνδυασμένη έκφραση του υποδοχέα βρέθηκε σε 47.6%, 63.4%, 64.3%, και 58.3% στις ομάδες με καλοήγη παθολογία, ινοκυστική κατάσταση, ινοαδενώματα και μεταβολές από το θηλασμό αντίστοιχα, σε αντίθεση με μόνο 17.4%

έκφραση στις περιπτώσεις καρκίνου του μαστού. Παρόλο που η έκφραση του υποδοχέα στα καρκινικά κύτταρα ήταν σαφώς μειωμένη σε σχέση με άλλες μελέτες, εν τούτοις αυτή είναι η πρώτη μελέτη που συνέκρινε την έκφραση ενός από τους υποδοχείς μεταξύ καλοήθους και κακοήθους μαστικού αδένου(277).

Οι *Li et al* διερεύνησαν το ρόλο της απώλειας της ετεροζυγότητας στο βραχύ τμήμα του χρωμοσώματος 3, και συγκεκριμένα την απώλεια του αλληλίου 3p24.3 στον καρκίνο του μαστού(278). Η απώλεια της ετεροζυγότητας στο βραχύ τμήμα του 3 παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις συμπαγών κακοήθων όγκων. Στον καρκίνο του μαστού, η απώλεια στο 3p επισυμβαίνει τόσο στα κύτταρα που έχουν ήδη υποστεί κακοήθη εξαλλαγή σε διηθητικό καρκίνο, όσο και στα παραπλήσια φυσιολογικά κύτταρα του μαστικού αδένου. Η απώλεια συγκεκριμένα του αλληλίου στη θέση 3p24.3 συμπεριλαμβάνει και το γονίδιο που κωδικοποιεί τον TRβ1. Στη μελέτη αυτή, οι ερευνητές παρατήρησαν διάφορους βαθμούς υπερμεθυλίωσης του TRβ1 και στις 11 περιπτώσεις καρκίνου μαστού που μελετήθηκαν. Επιπρόσθετα, η υπερμεθυλίωση επισυνέβη και σε περιφερικό υγιή ιστό παραπλεύρως του καρκίνου. Αυτή ήταν η πρώτη παρατήρηση πειραματικής ελάττωσης της μεταγραφής του TRβ1 κατά την εξαλλαγή σε καρκινικά κύτταρα στο μαστό(278).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Όπως είδαμε στο γενικό μέρος, τόσο η συσχέτιση μεταξύ της θυρεοειδικής νόσου και του καρκίνου του μαστού, όσο και η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης των θυρεοειδικών υποδοχέων και του καρκίνου του μαστού παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευρίνηστη. Οι μελέτες συσχέτισης των υποδοχέων της θυρεοειδικής ορμόνης και του καρκίνου του μαστού είναι περιορισμένες. Επιπλέον, καμία από αυτές δεν αναφέρει λεπτομέρειες όσον αφορά στο θυρεοειδικό status των ασθενών. Για την παρούσα διατριβή επιλέξαμε τον υποδοχέα TRa (για λόγους οικονομίας της έρευνας δεν μελετήθηκε και ο TRb) ενώ για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία επιλέξαμε ομάδα ασθενών που παρουσίαζαν ομοιογένεια ως προς τον υπότυπο καρκίνου (διηθητικός πορογενής, ο συχνότερος) και ως προς τη θυρεοειδική λειτουργία (όλες οι ασθενείς ήταν κλινικά και εργαστηριακά ευθυροειδικές).

Στην παρούσα μελέτη λοιπόν εξετάσαμε την ιστική έκφραση του υποδοχέα της θυρεοειδικής ορμόνης TRa στο διηθητικό καρκίνο του μαστού, συνδυάζοντας ανοσοϊστοχημεία με ψηφιακή ανάλυση εικόνας. Πραγματοποιήθηκε συσχέτιση της έντασης χρώσης και έκφρασης του υποδοχέα σε καρκινικό και παραπλήσιο φυσιολογικό μαζικό αδένα. Επίσης έγινε συσχέτιση μεταξύ της ιστικής έκφρασης του υποδοχέα στον καρκίνο του μαστού με διάφορες κλινικοπαθολογικές παραμέτρους, όπως θα δούμε αναλυτικά παρακάτω.

Υλικό και μέθοδος

Σαράντα μία (41) ασθενείς με καρκίνο μαστού που υπεβλήθησαν σε χειρουργική αντιμετώπιση της νόσου στη Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών (Λαϊκό Νοσοκομείο) από το 2012 έως το 2014 απετέλεσαν το υλικό της μελέτης. Οι ασθενείς είχαν διαγνωστεί με διηθητικό πορογενή καρκίνο με βιοψία κόπτουσας βελόνης, προεγχειρητικά, υπό υπερηχογραφική ή μαστογραφική καθοδήγηση. Όλες οι ασθενείς ήταν κλινικά και βιοχημικά ευθυροειδικές. Ασθενείς με ενεργή θυρεοειδική νόσο, με κλινικά ψηλαφητά οζίδια στο θυρεοειδή, με διαταραγμένη θυρεοειδική βιοχημεία, με ιστολογικό υπότυπο διαφορετικό από διηθητικό πορογενές ή με ατομικό ιστορικό καρκίνου του θυρεοειδούς ή ενδοκρινοπάθειας, αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Η παρουσία DCIS ή LCIS σε συνύπαρξη με το διηθητικό πορογενή καρκίνο δεν αποτέλεσε κριτήριο αποκλεισμού. Όλες οι ασθενείς υπεβλήθησαν στην ενδεδειγμένη χειρουργική αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού (ογκεκτομή ή μαστεκτομή και λεμφαδένας φρουρός ή μασχαλιαίος λεμφαδενικός καθαρισμός ή δειγματοληψία μασχάλης). Σε περίπτωση που στο τελικό ιστολογικό παρασκεύασμα αναγνωριζόταν διαφορετικός υπότυπος καρκίνου του μαστού από διηθητικό πορογενές, η ασθενής αποκλειόταν από τη μελέτη.

Δύο blocks παραφίνης, μονιμοποιημένα σε φορμαλίνη, ένα με κακοήγη ιστό και ένα με παράπλευρο φυσιολογικό μαζικό αδένα, παρελήφθησαν από κάθε ασθενή για το σκοπό της μελέτης. Επιπλέον, από κάθε ασθενή, ελήφθησαν αχρωμάτιστα πλακάκια από τα αντίστοιχα blocks. Η ιστολογική ανάλυση ρουτίνας πραγματοποιήθηκε με χρήση αιματοξυλίνης και ηωσίνης, σε συμφωνία με το τοπικό πρωτόκολλο του 1^{ου} εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομίας του Πανεπιστημίου Αθηνών. Η παθολογική σταδιοποίηση πραγματοποιήθηκε με βάση την έβδομη έκδοση του TNM (TNM Classification of Malignant Tumors, for the Union for International

Cancer Control, UICC)(279). Η μελέτη ενεκρίθη από την Επιτροπή Δεοντολογίας και Ιατρικής Ηθικής του Λαϊκού Νοσοκομείου και συμφωνεί με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι. Όλες οι ασθενείς υπέγραψαν συγκατάθεση πριν από τη συμμετοχή στη μελέτη, μετά από ενδελεχή ενημέρωσή τους για το πρωτόκολλο της διατριβής. Τα κλινικά και παθολογικά χαρακτηριστικά που συνελέγησαν είχαν ως εξής: ηλικία, μέγεθος πρωτοπαθούς όγκου, διήθηση μασχαλιαίων λεμφαδένων, αριθμός διηθημένων λεμφαδένων στη μασχάλη, βαθμός διαφοροποίησης, στάδιο, υποδοχείς οιστρογόνων, υποδοχείς Her-2 και λεμφαγγειακή διήθηση.

Ανοσοϊστοχημεία

Τα ιστικά δείγματα που παρελήφθησαν από τις μαστεκτομές και τις ογκεκτομές εμβαπτίσθηκαν σε διάλυμα 10% φορμαλίνης αμέσως μετά τη χειρουργική εξαίρεση. Όλα τα δείγματα ιστού υπέστησαν επεξεργασία με μια σειρά διαλυμάτων αλκοόλης, ξυλένης και παραφίνης μέσα σε 24 ώρες από τη χειρουργική επέμβαση. Στη συνέχεια, ελήφθησαν τομές σε μικροτόμο, πάχους 4 μικρομέτρων και στη συνέχεια οι τομές υπεβλήθησαν σε απο-παραφινολοποίηση με τη χρήση ξυλένης. Οι τομές υποβλήθηκαν σε επανενυδάτωση με αλκοόλη. Η λήψη του αντιγόνου πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ενός ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού οξέος με pH 6 στους 90 βαθμούς Κελσίου για 30 λεπτά της ώρας. Έπειτα, 3% διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου εφαρμόστηκε στις τομές για πέντε λεπτά της ώρας. Ακολούθως, ένα μπλοκ πρωτεΐνης ελεύθερο ορού (Dako, Glostrup, Denmark) εφαρμόστηκε στις τομές για 30 λεπτά και στη συνέχεια οι τομές εμβαπτίσθηκαν για 8 ώρες, στους 4 βαθμούς Κελσίου, σε διάλυμα που περιείχε τον υποδοχέα της θυρεοειδικής ορμόνης TRa (a mouse monoclonal IgG1 antibody raised against a N-terminal peptide of TRa1/a2 of human origin, product code sc-56873, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, USA, provided at 100μl), ως

μονοκλωνικό αντίσωμα μυός έναντι του αμινοτελικού άκρου του πεπτιδίου TRa1/TRa2, ανθρώπινης προέλευσης, σε διάλυση 1:100 στο ελεύθερο ορού πρωτεϊνικό μπλοκ. Περίπου 24 ώρες μετά την εμφύτευση των τομών στον υποδοχέα, οι τομές υπεβλήθησαν σε στάγδην χρώση με Link, στρεπταβιδίνη και διαμινοβενζιδίνη (DAB) για 30 λεπτά, με τη διαδοχή που αναφέρθησαν. Ακολούθως, οι τομές καλύφθηκαν με αιματοξυλίνη για 5 λεπτά και πραγματοποιήθηκε βύθιση σε διάλυμα έκπλυσης 10 φορές. Τελικά, οι τομές αναρτήθηκαν και καλύφθηκαν με μέσο υδατώδους βάσης. Ως θετικός μάρτυρας για την ιστολογική μελέτη χρησιμοποιήθηκε ανθρώπινος ιστός πλακούντα, ενώ η απάλειψη του πρωτογενούς αντισώματος χρησιμοποιήθηκε ως αρνητικός μάρτυρας.

Ανάλυση εικόνας

Η ψηφιακή ανάλυση εικόνας έλαβε χώρα για το 100% των δειγμάτων μέσα σε 4 εβδομάδες από την ανοσοϊστοχημεία με το αντίσωμα του TRa. Για την ανάλυση εικόνας χρησιμοποιήθηκε το open source software Fiji/Image J σε υπολογιστή Apple Macbook. Για την ανάπτυξη της τεχνικής ανάλυσης της εικόνας από την ψηφιοποίηση των τομών, βασιστήκαμε στη δημοσίευση των Nguyen et al που περιέγραψαν αναλυτικά τη μέθοδο για την ανοσοϊστοχημεία σε οιστρογονικούς υποδοχείς στον καρκίνο του μαστού(280). Για να υπερπηδήσουμε το εμπόδιο της πιθανής ετερογένειας στις εντάσεις από διαφορετικές περιοχές του ίδιου slide, υπολογίσαμε τη μέση αμοιβαία ένταση (mean reciprocal intensity, mean RI), σε μία συγκεκριμένη περιοχή ενδιαφέροντος εντός της τομής (region of interest, ROI). Κάθε slide φωτογραφήθηκε με 40x οπτικό zoom με την ψηφιακή φωτογραφική Nikon DS-2 MW (Nikon, Tokyo, Japan), προσδεμένη σε ένα μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου (Nikon Eclipse 80i; Nikon, Tokyo, Japan). Όλες οι εικόνες αποθηκεύτηκαν σε μορφή JPEG. Μια ομοιογενής σε

μέγεθος περιοχή ενδιαφέροντος τοποθετούνταν πάνω από τους πυρήνες χρησιμοποιώντας το εργαλείο σχεδίασης του προγράμματος και στη συνέχεια παράγαμε, για κάθε slide, μια τυπική εικόνα RBG (red-green-blue), μέσω της τεχνικής περιελιγμού DAB (DAB-specific colour deconvolution). Η μέση ένταση χρώσης υπολογίστηκε μέσω της λειτουργίας “Measure” στο πρόγραμμα, κάτω από τη μπάρα εργαλείων “Analyze”. Δεδομένου ότι η μέγιστη τιμή έντασης χρώσης μιας εικόνας RGB είναι 250, αφαιρέσαμε τη μέση τιμή έντασης κάθε ROI ανά slide από το 250, παράγοντας έτσι μια τιμή αμοιβαίας έντασης για κάθε slide, που ήταν ευθέως ανάλογη με την ένταση του χρωμογενούς στην τομή.

Στατιστική ανάλυση

Η δοκιμασία Shapiro-Wilk εφαρμόστηκε ώστε να εξετάσουμε αν τα δεδομένα είχαν ομαλή (Gauss) κατανομή. Το t-test χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση 2 ομάδων δεδομένων με ομαλή κατανομή. Η δοκιμασία Pearson correlation coefficient εφαρμόστηκε για να συγκρίνει 2 ποσοτικές μεταβλητές. Η δοκιμασία point biserial correlation coefficient συνέκρινε μεταξύ μιας ποσοτικής και μιας διχότομης μεταβλητής. Τέλος, η ανάλυση ANOVA χρησιμοποιήθηκε για να συγκρίνει πολλαπλές ομάδες δεδομένων με ποσοτικές μεταβλητές. Οι διαφορές θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές αν $p < 0.05$ για όλες τις δοκιμασίες.

Αποτελέσματα

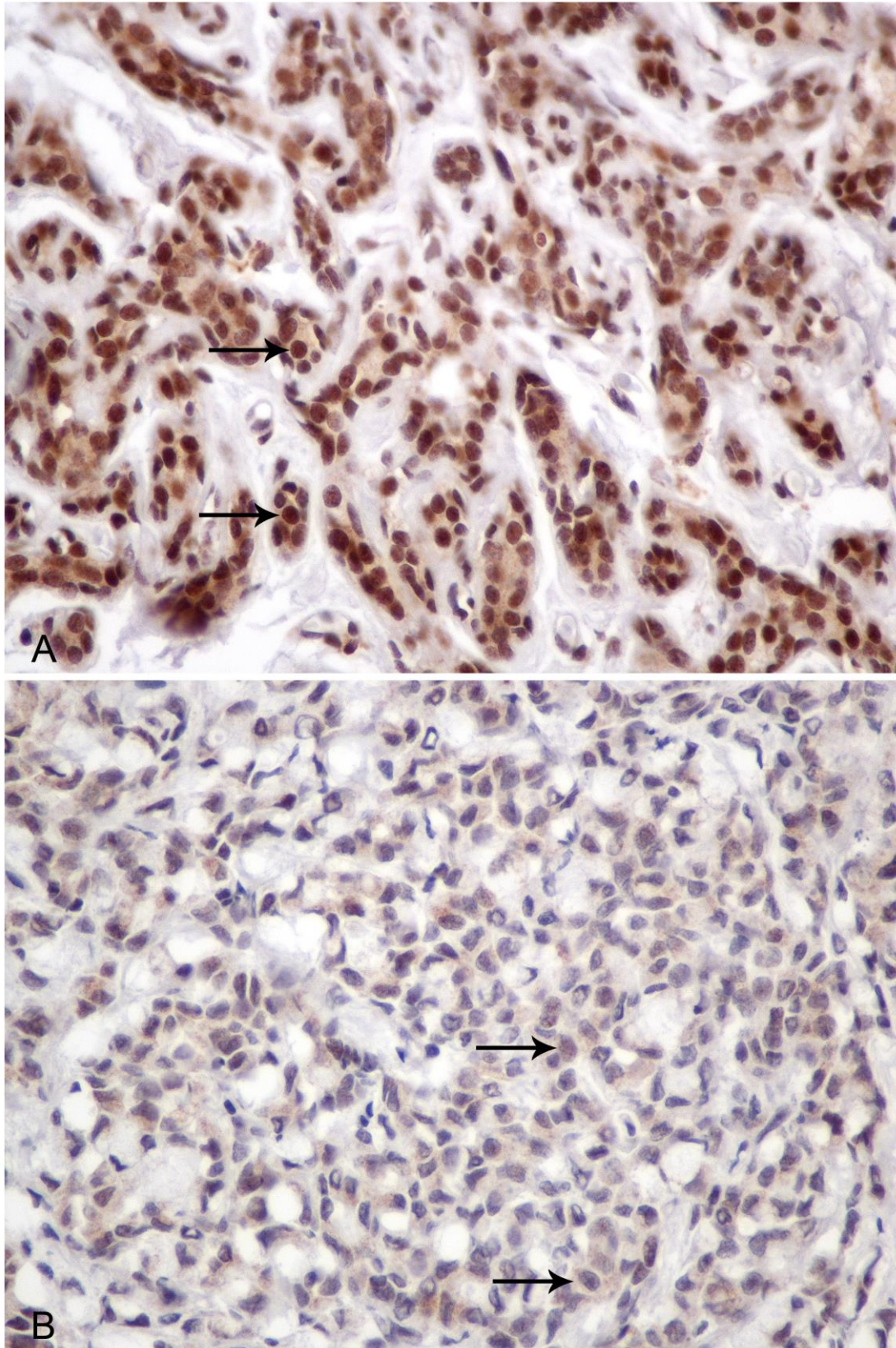
Σαράντα μία [41] γυναίκες (82 δείγματα ιστού, 41 από κακοήθεια και 41 από γειτονικό φυσιολογικό μαζικό αδένα), με μέση ηλικία 50 ετών (εύρος 30-89) συμμετείχαν στη μελέτη. Το μέσο μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου του μαστού ήταν 26.8 χιλιοστά (εύρος 4-110). Δεκαπέντε [15/41] ασθενείς (36.58%) είχαν θετικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες ενώ οι υπόλοιπες 26 ασθενείς (63.42%) ήταν αρνητικές για λεμφαδενική διήθηση. Είκοσι [20] ασθενείς (48.78%) υπεβλήθησαν σε ογκεκτομή και 21 σε μαστεκτομή (51.21%). Ο μέσος αριθμός παρασκευασθέντων λεμφαδένων ήταν 16 (εύρος 2-37). Ο μέσος αριθμός θετικών λεμφαδένων ήταν 1.53 (εύρος 0-17). Δεκατρείς [13] ασθενείς παρουσίασαν λεμφαδενική διήθηση (31.7%) και 28 όχι (68.3%). Όσον αφορά στο βαθμό διαφοροποίησης των καρκίνων, 22 γυναίκες είχαν grade I/II καρκίνους (53.65%), ενώ οι υπόλοιπες 19 ασθενείς είχαν grade III καρκίνους (46.34%). Δεκαοκτώ [18] ασθενείς ήταν ER+/Her-2- (43.9%), 5 ασθενείς ήταν ER+/Her-2+ (12.1%), 12 ασθενείς ήταν ER-/Her-2- (29.2%) και τέλος 6 ασθενείς ήταν ER-/Her-2+ (14.6%).

Ο TRa βρέθηκε να εκφράζεται στους πυρήνες των φυσιολογικών και κακοήθων κυττάρων του μαζικού αδένα, όμως η έκφρασή του ήταν στατιστικά σημαντικά ελαττωμένη στον καρκίνο σε σύγκριση με τον παρακείμενο φυσιολογικό μαζικό αδένα (καρκίνος μαστού, Mean RI 81.7, SD 16.9, 95% CI 75.2-88.2, φυσιολογικό παρέγχυμα Mean RI 94.1, SD 24.2. 95% CI 87.6-100.6), $p=0.008529$.

Η έκφραση του TRa εμφάνισε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου του μαστού ($r=-0.3182$, $p=0.0426$). Η έκφραση του υποδοχέα ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στους όγκους με λεμφαγγειακή διήθηση, σε σύγκριση με τους όγκους χωρίς λεμφαγγειακή διήθηση (LVI+Mean RI 90.46 vs. LVI-77.64, $p=0.0222$).

Οι καρκίνοι Grade III παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά ελαττωμένη έκφραση TRa σε σύγκριση με τους Grade I/II καρκίνους μαστού (Rpb= -0.69, Mean RI 69.3 vs. 92.4, $p<0.0001$).

Η έκφραση του υποδοχέα εμφάνισε ασθενή αρνητική συσχέτιση με την ηλικία των ασθενών, χωρίς όμως η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική ($r=-0.230$, $p=0.1479$). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση του TRa ανάμεσα στους ασθενείς με θετικούς και αρνητικούς λεμφαδένες ($p=0.0684$), ή σε σχέση με τον αριθμό των διηθημένων λεμφαδένων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση του υποδοχέα μεταξύ των ER+ και ER- καρκίνων ($p=0.104$), ή μεταξύ των Her-2+ και Her-2- καρκίνων ($p=0.113$). Τέλος, η ανάλυση της έκφρασης του υποδοχέα ανάμεσα στους μοριακούς υπότυπους στην ομάδα (ER+/Her-2+ vs. ER+/Her-2- vs. ER-/Her-2- vs. ER-/Her-2+), δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά.



Διθητικό πορογενές καρκίνωμα, Grade II (A) και Grade III (B). Τα βέλη δείχνουν έντονη έκφραση (A) και μέτρια προς χαμηλή έκφραση (B) του TRa. Χρώση διαμινοβενζιδίνης, μεγέθυνση x400.

Συζήτηση των αποτελεσμάτων

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη στη βιβλιογραφία που μελετά την κυτταρική έκφραση του υποδοχέα της θυρεοειδικής ορμόνης TRa σε ομοιογενή ομάδα ασθενών με διηθητικό πορογενή καρκίνο του μαστού. Είναι επίσης η πρώτη μελέτη που διερευνά τη συσχέτιση της έκφρασης του υποδοχέα σε ένα ομοιογενές δείγμα με κοινή ιστολογική διάγνωση και σε απουσία ενεργής θυρεοειδοπάθειας.

Στη μελέτη μας, η έκφραση του TRa ήταν παρούσα στον πυρήνα τόσο του φυσιολογικού, όσο και του καρκινικού μαζικού αδένου, η δε έκφραση παρουσιάστηκε σημαντικά ελαττωμένη στον καρκινικό ιστό. Επιπλέον, μεγαλύτεροι και χαμηλότερης διαφοροποίησης καρκίνοι έτειναν να εκφράζουν λιγότερο TRa στον πυρήνα, ενώ παραδόξως, οι ασθενείς με λεμφαγγειακή διήθηση παρουσίαζαν υψηλότερη έκφραση του υποδοχέα από τις ασθενείς με απουσία λεμφαγγειακής διήθησης. Διαφαίνεται λοιπόν από τα αποτελέσματα ότι, με εξαίρεση τη λεμφαγγειακή διήθηση, η έκφραση του TRa εμφανίζει μερική απώλεια/ελάττωση κατά την καρκινογένεση του μαζικού αδένου, και είναι σημαντικά μειωμένη σε μεγαλύτερους και πιο επιθετικούς καρκίνους ως προς το grade. Από την άλλη, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης του υποδοχέα με την ηλικία των ασθενών, ή με το ορμονικό προφίλ και το λεμφαδενικό status.

Οι *Guigon et al* διερεύνησαν το ρόλο των μεταλλάξεων στον TRβ στο δυναμικό ανάπτυξης όγκων στο μαστό. Προς την κατεύθυνση αυτή, ανέπτυξαν knockout ποντίκια με μετάλλαξη στο γονίδιο THRB (THRB^{kn} mice)(270). Παρόλο που στα ενήλικα θηλυκά ποντίκια με μηδενικές κηλίδες, ένα μόνον αλληλίο του THRB^{kn} δεν οδήγησε σε ανάπτυξη όγκων/υπερπλαστικής μεταβολής στο μαστό, εντούτοις στα ποντίκια με 2 μεταλλαγμένα αλληλία του γονιδίου, 36% των περιπτώσεων ανέπτυξαν υπερπλαστικές αλλαγές στο μαζικό αδένου. Όταν τα δύο αλληλία συνδυάστηκαν σε

μοντέλα ποντικών με υψηλό δυναμικό καρκίνου μαστού (Pten+/-), η συμπαρουσία των μεταλλαγμένων αλληλίων του THRB γ ν οδήγησε σε αύξηση κατά 60% της υπερπλασίας στο μαστό (270). Οι *Ditsch et al* μελέτησαν την έκφραση συνδυασμένων αντισωμάτων TR α 1/ α 2, συνδυασμένων TR β 1/ β 2 αλλά και την έκφραση του καθενός από τα 4 αντισώματα ξεχωριστά σε 82 ασθενείς με διάγνωση σποραδικού καρκίνου του μαστού. Οι ασθενείς δεν ήταν ομοιογενείς ως προς τη θυρεοειδοπάθεια (το θυρεοειδικό προφίλ τους ήταν άγνωστο στη μελέτη). Επίσης, οι ιστολογικοί υπότυποι των καρκίνων του μαστού εμφάνιζαν ποικιλία στο δείγμα. Ως προς τα αποτελέσματα, και ο TR α αλλά και ο TR β εκφράστηκαν στον πυρήνα των καρκινικών κυττάρων. Οι ασθενείς με χαμηλή έκφραση του TR α 2 επέδειξαν χειρότερη επιβίωση(271). Οι *Gu et al* μελέτησαν την έκφραση του TR β σε κυτταρικές σειρές τριπλού αρνητικού καρκίνου μαστού. Οι τριπλοί αρνητικοί καρκίνοι τείνουν να έχουν χειρότερη πρόγνωση και πιο προχωρημένα κυτταρικά (grade) και κλινικά (stage) στάδια. Οι ερευνητές προκάλεσαν knockdown του TR β στις κυτταρικές αυτές σειρές και παρατήρησαν ελαττωμένη ανταπόκριση στη δοξορουβικίνη και τη δοξεταξέλη, κλασικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα στο TNBC. Όταν στις knockdown σειρές εφαρμόστηκε αγωνιστής του TR β , η ευαισθησία στη χημειοθεραπεία αποκαταστάθηκε(272). Οι *Conde et al* έδειξαν ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υψηλής έκφρασης του TR α και της ελεύθερης νόσου επιβίωσης σε 52 γυναίκες με διηθητικό καρκίνο του μαστού, αλλά οι 2 διαφορετικές υπομορφές του υποδοχέα δεν μελετήθηκαν σε αυτό το πρωτόκολλο(275). Στη μελέτη των *Jezrak et al*, οι ασθενείς με χαμηλή έκφραση TR α 2 είχαν χειρότερη 5ετή επιβίωση (συμφωνώντας με τη μελέτη του *Ditsch*) από ασθενείς με υψηλότερη έκφραση του υποδοχέα(276). Οι *Alyusuf et al* μελέτησαν την έκφραση του TR α 1 στο κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα 146 μικτών περιπτώσεων καλοήθους και κακοήθους παθολογίας του μαζικού αδένα - καρκίνος, ινοαδενώματα, μαζικός

αδένας με μεταβολές από το θηλασμό και φυσιολογικός μαστός. Συνδυασμένη έκφραση του υποδοχέα βρέθηκε σε 47.6%, 63.4%, 64.3%, and 58.3% στις ομάδες με καλοήγη παθολογία, ινοκυστική κατάσταση, ινοαδενώματα και μεταβολές από το θηλασμό αντίστοιχα, σε αντίθεση με μόνο 17.4% έκφραση στις περιπτώσεις καρκίνου του μαστού(277).

Συνολικά λοιπόν, τα αποτελέσματα της μελέτης μας εν πολλοίς επαληθεύουν την σχετική βιβλιογραφία ως προς το γεγονός ότι ο υποδοχέας TRa εμφανίζει μερική απώλεια στην πυρηνική έκφραση κατά τη μετάβαση από το φυσιολογικό μαζικό επιθήλιο στον καρκίνο του μαστού. Επίσης, όπως ήδη διαφαινόταν από τη σχετική βιβλιογραφία, όγκοι με χειρότερη πρόγνωση ως το προς μέγεθος και το grade, εκφράζουν στατιστικά σημαντικά λιγότερο TRa από μικρότερους και πρωιμότερους σε grade καρκίνους. Από την άλλη, δεν βρέθηκε συσχέτιση της έκφρασης του υποδοχέα με το ορμονικό προφίλ ή τη λεμφαγγειακή διήθηση των όγκων. Τέλος, δεν παρουσιάζουμε ευρήματα σε σχέση με την επιβίωση ή την υποτροπή στις ασθενείς αυτές, εργασία που θα αποτελέσει αντικείμενο σε μερικά χρόνια, έχοντας στη διάθεσή μας επαρκές follow-up. Παρόλο που δεν έχει αποκρυσταλλωθεί ακόμα, ο ρόλος του θυρεοειδούς αδένα μέσω της δράσης του επί των υποδοχέων της θυρεορμόνης, φαίνεται να διαδραματίζει ρόλο κατά την καρκινογένεση του μαστού, ακόμα και επι απουσίας κλινικής θυρεοειδοπάθειας.

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

EJSO xx (2017) 1–5

EJSO

the Journal of Cancer Surgery

www.ejsso.com

Thyroid hormone receptor alpha (TRa) tissue expression in ductal invasive breast cancer: A study combining quantitative immunohistochemistry with digital slide image analysis[☆]

P. Charalampoudis^{a,b,c,*}, G. Agrogiannis^{d,e}, K. Kontzoglou^a,
G. Kouraklis^a, G.C. Sotiropoulos^a

^aBreast Unit, Second Propedeutic Department of Surgery, Laiko Hospital, Athens University School of Medicine, Athens, Greece

^bBreast Unit, Guy's and Saint Thomas' NHS Foundation Trust, London, United Kingdom

^cDivision of Cancer Studies, King's College London, United Kingdom

^dFirst Department of Pathology, Athens University School of Medicine, Athens, Greece

Accepted 11 May 2017

Available online ■ ■ ■

Abstract

Background: In breast cancer, hormonal receptors hold promise for developing novel targeted therapies. The thyroid exerts its actions via the thyroid hormone receptors alpha and beta. The clinical significance of the expression of thyroid hormone receptors in breast cancer is unclear.

Material and methods: We studied thyroid hormone receptor alpha (TRa) expression in 82 samples from 41 women with ductal invasive breast cancer and no thyroid disease. We performed quantitative immunohistochemistry with digital image analysis and correlated TRa expression with clinicopathological parameters.

Results: TRa was expressed in both normal breast epithelium and breast cancer, but expression in breast cancer was significantly lower. TRa was expressed significantly less in larger and grade III tumors. Conversely, breast cancers with lymphovascular invasion showed increased TRa expression compared to cancers without lymphovascular invasion. TRa expression was not significantly different between node-positive and node-negative breast cancers, or among different hormonal profiles and intrinsic subtypes.

Discussion: This is the first-in-human study to combine quantitative immunohistochemistry with image analysis to study TRa expression in women with ductal invasive breast cancer and no clinical or biochemical evidence of thyroid dysfunction. We confirm that TRa is expressed in both normal and malignant breast epithelium and suggest that TRa expression is downregulated during breast carcinogenesis. Larger and higher grade breast cancers demonstrate partial loss in TRa expression. Alterations in TRa expression take place even in the absence of clinical or biochemical thyroid disease. The underlying mechanism of these findings and their potential significance in survival and relapse mandate further research.

© 2017 Elsevier Ltd, BASO – The Association for Cancer Surgery, and the European Society of Surgical Oncology. All rights reserved.

Keywords: Breast cancer; Thyroid hormone receptor alpha; Tri-iodothyronine; Immunohistochemistry; Image analysis; Tissue expression; Ductal invasive breast carcinoma

Βιβλιογραφία

1. Bakic P. MO-FG-209-03: Simulation of Breast Anatomy at the Cellular Scale. *Med Phys.* 2016 Jun;43(6):3715.
2. Seltzer V. The breast: embryology, development, and anatomy. *Clin Obstet Gynecol.* 1994 Dec;37(4):879–80.
3. Pandya S, Moore RG. Breast development and anatomy. *Clin Obstet Gynecol.* 2011 Mar;54(1):91–5.
4. Morehead JR. Anatomy and embryology of the breast. *Clin Obstet Gynecol.* 1982 Jun;25(2):353–7.
5. Gavenonis SC. Breast MR imaging: normal anatomy. *Magn Reson Imaging Clin N Am.* 2011 Aug;19(3):507–519; viii.

6. Stone K, Wheeler A. A Review of Anatomy, Physiology, and Benign Pathology of the Nipple. *Ann Surg Oncol*. 2015 Oct;22(10):3236–40.
7. Zucca-Matthes G, Urban C, Vallejo A. Anatomy of the nipple and breast ducts. *Gland Surg*. 2016 Feb;5(1):32–6.
8. Ellis H, Colborn GL, Skandalakis JE. Surgical embryology and anatomy of the breast and its related anatomic structures. *Surg Clin North Am*. 1993 Aug;73(4):611–32.
9. Lemaine V, Simmons PS. The adolescent female: Breast and reproductive embryology and anatomy. *Clin Anat N Y N*. 2013 Jan;26(1):22–8.
10. Riva D. [Embryology, anatomy and histology of the female breast]. *Lo Sper*. 1954 Aug 15;104(7–8):165–209.
11. Böcker W, Hungermann D, Decker T. [Anatomy of the breast]. *Pathol*. 2009 Feb;30(1):6–12.
12. van Deventer PV, Page BJ, Graewe FR. Vascular anatomy of the breast and nipple-areola complex. *Plast Reconstr Surg*. 2008 May;121(5):1860-1861-1862.
13. Brinkman RJ, Hage JJ. Andreas Vesalius' 500th Anniversary: First Description of the Mammary Suspensory Ligaments. *World J Surg*. 2016 Sep;40(9):2144–8.
14. O'Connell RL, Rusby JE. Anatomy relevant to conservative mastectomy. *Gland Surg*. 2015 Dec;4(6):476–83.
15. Jesinger RA. Breast anatomy for the interventionalist. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2014 Mar;17(1):3–9.
16. Tot T, Tabár L, Dean PB. The pressing need for better histologic-mammographic correlation of the many variations in normal breast anatomy. *Virchows Arch Int J Pathol*. 2000 Oct;437(4):338–44.
17. Javed A, Lteif A. Development of the human breast. *Semin Plast Surg*. 2013 Feb;27(1):5–12.
18. Aso T. New aspects of prolactin in human reproductive physiology. Overview. *Horm Res*. 1991;35 Suppl 1:3–4.
19. Flückiger E, del Pozo E, von Werder K. Prolactin. Physiology, pharmacology and clinical findings. *Monogr Endocrinol*. 1982;23:1–224.
20. Calaf G, Alvarado M, Bonney G, Amfoh K, Russo J. Influence of lobular development on breast epithelial-cell proliferation and steroid-hormone receptor content. *Int J Oncol*. 1995 Dec;7(6):1285–8.
21. Fugl L, Hagen CP, Mieritz MG, Tinggaard J, Fallentin E, Main KM, et al. Glandular breast tissue volume by magnetic resonance imaging in 100 healthy

- peripubertal girls: evaluation of clinical Tanner staging. *Pediatr Res*. 2016 Oct;80(4):526–30.
22. Giugno S, Risso P, Ocampo D, Rahman G, Rubinstein DAV. Vulvovaginitis in a pediatric population: relationship among etiologic agents, age and Tanner staging of breast development. *Arch Argent Pediatr*. 2014 Feb;112(1):65–70.
 23. Al Marzouqi F, Michot C, Dos Santos S, Bonnefont J-P, Bodemer C, Hadj-Rabia S. Bilateral amastia in a female with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Br J Dermatol*. 2014 Sep;171(3):671–3.
 24. Dutta D, Mukhopadhyay S, Chowdhury S. Lack of thelarche as the presenting feature of bilateral congenital amastia. *Indian J Pediatr*. 2014 Aug;81(8):842–3.
 25. Patil LGC, Shivanna NH, Benakappa N, Ravindranath H, Bhat R. Congenital amastia. *Indian J Pediatr*. 2013 Oct;80(10):870–1.
 26. Rosenbloom AL, Rohrs HJ, Haller MJ, Malasanos TH. Tanner stage 4 breast development in adults: forensic implications. *Pediatrics*. 2012 Oct;130(4):e978–981.
 27. Gabrielson M, Chiesa F, Paulsson J, Strell C, Behmer C, Rönnow K, et al. Amount of stroma is associated with mammographic density and stromal expression of oestrogen receptor in normal breast tissues. *Breast Cancer Res Treat*. 2016 Jul;158(2):253–61.
 28. Morsing M, Klitgaard MC, Jafari A, Villadsen R, Kassem M, Petersen OW, et al. Evidence of two distinct functionally specialized fibroblast lineages in breast stroma. *Breast Cancer Res BCR*. 2016 Nov 3;18(1):108.
 29. Winslow S, Lindquist KE, Edsjö A, Larsson C. The expression pattern of matrix-producing tumor stroma is of prognostic importance in breast cancer. *BMC Cancer*. 2016 Nov 4;16(1):841.
 30. Stirling JW, Chandler JA. The fine structure of the normal, resting terminal ductal-lobular unit of the female breast. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1976 Dec 27;372(3):205–26.
 31. Wellings SR. A hypothesis of the origin of human breast cancer from the terminal ductal lobular unit. *Pathol Res Pract*. 1980;166(4):515–35.
 32. Uzan S, Gaudet R. [Breast cancer: epidemiology, pathological anatomy, detection, diagnosis, course, principles of the treatment]. *Rev Prat*. 1998 Apr 1;48(7):787–96.
 33. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*. 2014 Feb;64(1):52–62.
 34. Fan J, Van Houten HK, Shah ND. Impact of the U.S. Preventive Services Task Force update for breast cancer screening on mammography utilization in women age 40 to 49. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Sep 20;30(27_suppl):5.

35. Grumet S, Lagmay-Fuentes P, Jacob L, Terzo A, Puma A, Hwang S. Short-term outcomes of implementation of a computer-based breast cancer risk assessment program during screening mammography. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Dec;30(34_suppl):298.
36. Morman NA, Byrne L, Collins C, Reynolds K, Bell JG. Breast Cancer Risk Assessment at the Time of Screening Mammography: Perceptions and Clinical Management Outcomes for Women at High Risk. *J Genet Couns*. 2017 Jan 26;
37. Heng YJ, Lester SC, Tse GM, Factor RE, Allison KH, Collins LC, et al. The molecular basis of breast cancer pathological phenotypes. *J Pathol*. 2017 Feb;241(3):375–91.
38. Bianchini G, Qi Y, Alvarez RH, Iwamoto T, Coutant C, Ibrahim NK, et al. Molecular anatomy of breast cancer stroma and its prognostic value in estrogen receptor-positive and -negative cancers. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Oct 1;28(28):4316–23.
39. Friedigkeit N, Hartmaier RJ, Chen Y, Vareslija D, Basudan A, Watters RJ, et al. Intrinsic Subtype Switching and Acquired ERBB2/HER2 Amplifications and Mutations in Breast Cancer Brain Metastases. *JAMA Oncol*. 2016 Dec 7;
40. Wei S, Siegal GP. Metastatic Organotropism: An Intrinsic Property of Breast Cancer Molecular Subtypes. *Adv Anat Pathol*. 2017 Jan 16;
41. Gandhi S, Verma S, Ethier J-L, Simmons C, Burnett H, Alibhai SMH. A systematic review and quality appraisal of international guidelines for early breast cancer systemic therapy: Are recommendations sensitive to different global resources? *Breast Edinb Scotl*. 2015 Aug;24(4):309–17.
42. Del Barco S, Ciruelos E, Tusquets I, Ruiz M, Barnadas A, SEOM. SEOM clinical guidelines for the systemic treatment of early breast cancer 2013. *Clin Transl Oncol Off Publ Fed Span Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex*. 2013 Dec;15(12):1011–7.
43. Brown R, Knopf KB. Improving quality of early breast cancer care with a predictive test for taxane response. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Dec;30(34_suppl):146.
44. Cardoso F, Costa A, Senkus E, Aapro M, André F, Barrios CH, et al. 3rd ESO-ESMO international consensus guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 3). *Breast Edinb Scotl*. 2017 Feb;31:244–59.
45. Johnston SRD. Enhancing Endocrine Therapy for Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer: Cotargeting Signaling Pathways. *J Natl Cancer Inst*. 2015 Oct;107(10).
46. Yamamoto-Ibusuki M, Arnedos M, André F. Targeted therapies for ER+/HER2- metastatic breast cancer. *BMC Med*. 2015 Jun 9;13:137.

47. Gao X, Mehta S, Wang Z, Faria C, Schwartzberg LS. Indirect costs associated with metastatic breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Sep 20;30(27_suppl):74.
48. Smith ML, Abidoye OO, Lalla D. Impacts of toxicity on patient treatment choices for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Dec;30(34_suppl):18.
49. Barral M, Auperin A, Hakime A, Cartier V, Tacher V, Otmezguine Y, et al. Percutaneous Thermal Ablation of Breast Cancer Metastases in Oligometastatic Patients. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2016 Jun;39(6):885–93.
50. Drazer MW, Salama JK, Hahn OM, Weichselbaum RR, Chmura SJ. Stereotactic body radiotherapy for oligometastatic breast cancer: a new standard of care, or a medical reversal in waiting? *Expert Rev Anticancer Ther*. 2016 Jun;16(6):625–32.
51. Saha P, Amico AL, Olopade OI. Long-Term Disease-Free Survival in a Young Patient With Hormone Receptor-Positive Breast Cancer and Oligometastatic Disease in the Brain. *Clin Breast Cancer*. 2016 Jun;16(3):e61-63.
52. Steenbruggen TG, Linn SC, Rodenhuis S, Sonke GS. Ongoing Remission Nineteen Years after High-dose Chemotherapy for Oligometastatic Breast Cancer; What Can We Learn from this Patient? *Cureus*. 2015 Dec 24;7(12):e433.
53. Charalampoudis P, Mantas D, Sotiropoulos GC, Dimitroulis D, Kouraklis G, Markopoulos C. Surgery for liver metastases from breast cancer. *Future Oncol Lond Engl*. 2015;11(10):1519–30.
54. Partridge AH, Pagani O, Abulkhair O, Aebi S, Amant F, Azim HA, et al. First international consensus guidelines for breast cancer in young women (BCY1). *Breast Edinb Scotl*. 2014 Jun;23(3):209–20.
55. Henry NL, Hayes DF. Can biology trump anatomy? Do all node-positive patients with breast cancer need chemotherapy? *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2007 Jun 20;25(18):2501–3.
56. Lichtensztajn D, Keegan THM, Leung RW, Shema SJ, Hershman DL, Kushi LH, et al. Patterns and predictors of chemotherapy and trastuzumab use for early-stage breast cancer in Kaiser Permanente Northern California, 2004-2007. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Dec;30(34_suppl):256.
57. Kim H, Han W, Ku SY, Suh CS, Kim SH, Choi YM. Feature of amenorrhea in postoperative tamoxifen users with breast cancer. *J Gynecol Oncol*. 2016 Oct 27;e10.
58. Liem GS, Mo FKF, Pang E, Suen JJS, Tang NLS, Lee KM, et al. Chemotherapy-Related Amenorrhea and Menopause in Young Chinese Breast Cancer Patients: Analysis on Incidence, Risk Factors and Serum Hormone Profiles. *PloS One*. 2015;10(10):e0140842.

59. Zavos A, Valachis A. Risk of chemotherapy-induced amenorrhea in patients with breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol Stockh Swed*. 2016 Jun;55(6):664–70.
60. Boudin L, Gonçalves A, Sabatier R, Moretta J, Sfumato P, Asseeva P, et al. Highly favorable outcome in BRCA-mutated metastatic breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Jan 16;
61. Carmichael H, Matsen C, Freer P, Kohlmann W, Stein M, Buys SS, et al. Breast cancer screening of pregnant and breastfeeding women with BRCA mutations. *Breast Cancer Res Treat*. 2017 Jan 30;
62. Takada M, Nagai S, Haruta M, Sugino RP, Tozuka K, Takei H, et al. BRCA1 Alterations with Additional Defects in DNA Damage Response Genes May Confer Chemoresistance to BRCA-like Breast Cancers Treated with Neoadjuvant Chemotherapy. *Genes Chromosomes Cancer*. 2017 Jan 25;
63. Holman LL, Friedman S, Daniels MS, Sun CC, Lu KH. Acceptability of prophylactic salpingectomy with delayed oophorectomy as risk-reducing surgery among BRCA mutation carriers. *Gynecol Oncol*. 2014 May;133(2):283–6.
64. Kwon JS, Tinker A, Pansegrau G, McAlpine J, Housty M, McCullum M, et al. Prophylactic salpingectomy and delayed oophorectomy as an alternative for BRCA mutation carriers. *Obstet Gynecol*. 2013 Jan;121(1):14–24.
65. Mansfield SA, Abdel-Rasoul M, Terando AM, Agnese DM. Timing of Breast Cancer Surgery-How Much Does It Matter? *Breast J*. 2017 Jan 24;
66. Ghossain A, Ghossain MA. History of mastectomy before and after Halsted. *J Med Liban*. 2009 Jun;57(2):65–71.
67. Tsoucalas G, Kousoulis AA, Vladimirov L, Androutsos G. A Halsted mastectomy 21 years before Halsted. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 Nov;130(2):709–10.
68. Fisher B, Jeong J-H, Anderson S, Bryant J, Fisher ER, Wolmark N. Twenty-five-year follow-up of a randomized trial comparing radical mastectomy, total mastectomy, and total mastectomy followed by irradiation. *N Engl J Med*. 2002 Aug 22;347(8):567–75.
69. Veronesi U, Luini A, Galimberti V, Zurrada S. Conservation approaches for the management of stage I/II carcinoma of the breast: Milan Cancer Institute trials. *World J Surg*. 1994 Feb;18(1):70–5.
70. Veronesi U, Luini A, Del Vecchio M, Greco M, Galimberti V, Merson M, et al. Radiotherapy after breast-preserving surgery in women with localized cancer of the breast. *N Engl J Med*. 1993 Jun 3;328(22):1587–91.
71. Veronesi U, Salvadori B, Luini A, Banfi A, Zucali R, Del Vecchio M, et al. Conservative treatment of early breast cancer. Long-term results of 1232 cases

- treated with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy. *Ann Surg.* 1990 Mar;211(3):250–9.
72. Krag DN. Minimal access surgery for staging regional lymph nodes: the sentinel-node concept. *Curr Probl Surg.* 1998 Nov;35(11):951–1016.
 73. Krag D, Weaver D, Ashikaga T, Moffat F, Klimberg VS, Shriver C, et al. The sentinel node in breast cancer--a multicenter validation study. *N Engl J Med.* 1998 Oct 1;339(14):941–6.
 74. Gulec SA, Moffat FL, Carroll RG, Serafini AN, Sfakianakis GN, Allen L, et al. Sentinel lymph node localization in early breast cancer. *J Nucl Med Off Publ Soc Nucl Med.* 1998 Aug;39(8):1388–93.
 75. Karian LS, Therattil PJ, Wey PD, Nini KT. Delay techniques for nipple-sparing mastectomy: A systematic review. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg JPRAS.* 2017 Feb;70(2):236–42.
 76. Mota BS, Riera R, Ricci MD, Barrett J, de Castria TB, Atallah ÁN, et al. Nipple- and areola-sparing mastectomy for the treatment of breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016 29;11:CD008932.
 77. Macmillan RD, McCulley SJ. Oncoplastic Breast Surgery: What, When and for Whom? *Curr Breast Cancer Rep.* 2016;8:112–7.
 78. Noguchi M, Yokoi-Noguchi M, Ohno Y, Morioka E, Nakano Y, Kosaka T, et al. Oncoplastic breast conserving surgery: Volume replacement vs. volume displacement. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* 2016 Jul;42(7):926–34.
 79. Savalia NB, Silverstein MJ. Oncoplastic breast reconstruction: Patient selection and surgical techniques. *J Surg Oncol.* 2016 Jun;113(8):875–82.
 80. Yiannakopoulou EC, Mathelin C. Oncoplastic breast conserving surgery and oncological outcome: Systematic review. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* 2016 May;42(5):625–30.
 81. Cole BF, Gelber RD, Gelber S, Coates AS, Goldhirsch A. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised clinical trials with quality-adjusted survival analysis. *Lancet Lond Engl.* 2001 Jul 28;358(9278):277–86.
 82. Nabholz JM, Smylie M, Mackey J, Au HJ, Tonkin K, Au R, et al. Docetaxel and anthracycline polychemotherapy in the treatment of breast cancer. *Semin Oncol.* 1999 Jun;26(3 Suppl 8):47–52.
 83. Jinno H, Sakata M, Hayashida T, Takahashi M, Sato T, Seki H, et al. Primary systemic chemotherapy of breast cancer: indication and predictive factors. *Breast Cancer Tokyo Jpn.* 2011 Apr;18(2):74–9.
 84. Masood S. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancers. *Womens Health Lond Engl.* 2016 Sep;12(5):480–91.

85. Alken S, Kelly CM. Benefit risk assessment and update on the use of docetaxel in the management of breast cancer. *Cancer Manag Res.* 2013 Oct 14;5:357–65.
86. Carbognin L, Sperduti I, Nortilli R, Brunelli M, Vicentini C, Pellini F, et al. Balancing activity and tolerability of neoadjuvant paclitaxel- and docetaxel-based chemotherapy for HER2-positive early stage breast cancer: sensitivity analysis of randomized trials. *Cancer Treat Rev.* 2015 Mar;41(3):262–70.
87. Gerratana L, Fanotto V, Pelizzari G, Agostinetto E, Puglisi F. Do platinum salts fit all triple negative breast cancers? *Cancer Treat Rev.* 2016 Jul;48:34–41.
88. Petrelli F, Barni S, Bregni G, de Braud F, Di Cosimo S. Platinum salts in advanced breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Breast Cancer Res Treat.* 2016 Dec;160(3):425–37.
89. Yang Y, Xie Y, Xian L. Breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) predict clinical outcome in platinum- and taxal-based chemotherapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients: a system review and meta-analysis. *J Exp Clin Cancer Res CR.* 2013 Mar 15;32:15.
90. Bartelink H. The changing landscape in radiotherapy for breast cancer: Lessons from long term follow-up in some European breast cancer trials. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol.* 2016 Dec;121(3):348–56.
91. Krug D, Baumann R, Budach W, Dunst J, Feyer P, Fietkau R, et al. Current controversies in radiotherapy for breast cancer. *Radiat Oncol Lond Engl.* 2017 Jan 23;12(1):25.
92. O’Rorke MA, Murray LJ, Brand JS, Bhoo-Pathy N. The value of adjuvant radiotherapy on survival and recurrence in triple-negative breast cancer: A systematic review and meta-analysis of 5507 patients. *Cancer Treat Rev.* 2016 Jun;47:12–21.
93. Gez E. Postmastectomy radiotherapy in breast cancer with high risk of relapse: current and future approaches. *Future Oncol Lond Engl.* 2005 Dec;1(6):767–9.
94. Livi L, Meattini I, Di Cataldo V, Cardillo CDL, Scotti V, Sanchez L, et al. Postmastectomy radiotherapy in breast cancer adjuvant treatment. *Minerva Chir.* 2010 Oct;65(5):527–36.
95. Clarke M, Collins R, Darby S, Davies C, Elphinstone P, Evans V, 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 Lond Engl.* 2005 Dec 17;366(9503):2087–106.
96. Raj KA, Marks LB, Prosnitz RG. Late effects of breast radiotherapy in young women. *Breast Dis.* 2005 2006;23:53–65.
97. Sanchez K, Page D, McArthur HL. Immunotherapy in breast cancer: An overview of modern checkpoint blockade strategies and vaccines. *Curr Probl Cancer.* 2016 Aug;40(2–4):151–62.

98. Haq R, Gulasingam P. Duration of trastuzumab in patients with HER2-positive metastatic breast cancer in prolonged remission. *Curr Oncol Tor Ont.* 2016 Apr;23(2):91–5.
99. Recondo G, de la Vega M, Galanternik F, Díaz-Cantón E, Leone BA, Leone JP. Novel approaches to target HER2-positive breast cancer: trastuzumab emtansine. *Cancer Manag Res.* 2016;8:57–65.
100. Wahid M, Mandal RK, Dar SA, Jawed A, Lohani M, Areeshi MY, et al. Therapeutic potential and critical analysis of trastuzumab and bevacizumab in combination with different chemotherapeutic agents against metastatic breast/colorectal cancer affecting various endpoints. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016 Aug;104:124–30.
101. D’Amato V, Raimondo L, Formisano L, Giuliano M, De Placido S, Rosa R, et al. Mechanisms of lapatinib resistance in HER2-driven breast cancer. *Cancer Treat Rev.* 2015 Dec;41(10):877–83.
102. Wang H. Lapatinib for the treatment of breast cancer in the People’s Republic of China. *OncoTargets Ther.* 2014;7:1367–73.
103. Matulonis UA, Wulf GM, Barry WT, Birrer M, Westin SN, Farooq S, et al. Phase I dose escalation study of the PI3kinase pathway inhibitor BKM120 and the oral poly (ADP ribose) polymerase (PARP) inhibitor olaparib for the treatment of high grade serous ovarian and breast cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2016 Dec 19;
104. Roviello G, Milani M, Gobbi A, Dester M, Cappelletti MR, Allevi G, et al. A Phase II study of olaparib in breast cancer patients: biological evaluation from a “window of opportunity” trial. *Future Oncol Lond Engl.* 2016 Oct;12(19):2189–93.
105. Gao J, Swain SM. Pertuzumab for the treatment of breast cancer: a safety review. *Expert Opin Drug Saf.* 2016 Jun;15(6):853–63.
106. Gollamudi J, Parvani JG, Schiemann WP, Vinayak S. Neoadjuvant therapy for early-stage breast cancer: the clinical utility of pertuzumab. *Cancer Manag Res.* 2016;8:21–31.
107. Blok EJ, Derks MGM, van der Hoeven JJM, van de Velde CJH, Kroep JR. Extended adjuvant endocrine therapy in hormone-receptor positive early breast cancer: current and future evidence. *Cancer Treat Rev.* 2015 Mar;41(3):271–6.
108. Chlebowski RT, Pan K, Col NF. Ovarian suppression in combination endocrine adjuvant therapy in premenopausal women with early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2017 Jan;161(2):185–90.
109. De Marchi T, Foekens JA, Umar A, Martens JWM. Endocrine therapy resistance in estrogen receptor (ER)-positive breast cancer. *Drug Discov Today.* 2016 Jul;21(7):1181–8.

110. Ali S, Rasool M, Chaoudhry H, N Pushparaj P, Jha P, Hafiz A, et al. Molecular mechanisms and mode of tamoxifen resistance in breast cancer. *Bioinformation*. 2016;12(3):135–9.
111. Inoue D. [Effects of SERMs on bone health. Raloxifene effects on breast cancer and cardiovascular events]. *Clin Calcium*. 2010 Mar;20(3):331–8.
112. Ko SS, Jordan VC. Treatment of osteoporosis and reduction in risk of invasive breast cancer in postmenopausal women with raloxifene. *Expert Opin Pharmacother*. 2011 Mar;12(4):657–74.
113. Vogel VG. Update on raloxifene: role in reducing the risk of invasive breast cancer in postmenopausal women. *Breast Cancer Dove Med Press*. 2011 Oct 20;3:127–37.
114. Lintermans A, Neven P. Safety of aromatase inhibitor therapy in breast cancer. *Expert Opin Drug Saf*. 2015 Aug;14(8):1201–11.
115. Daldorff S, Mathiesen RMR, Yri OE, Ødegård HP, Geisler J. Cotargeting of CYP-19 (aromatase) and emerging, pivotal signalling pathways in metastatic breast cancer. *Br J Cancer*. 2017 Jan 3;116(1):10–20.
116. Junker N, Nielsen DL, Kamby C. [Biphosphonates in breast cancer--based on a Cochrane meta-analysis]. *Ugeskr Laeger*. 2007 Sep 10;169(37):3108–11.
117. Lortholary A, Alleaume C, Pein F, Larra F. [Osteolytic metastases of breast cancer and biphosphonates]. *Rev Med Interne*. 1992 Jun;13(3):238–42.
118. Johnston SRD. Enhancing Endocrine Therapy for Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer: Cotargeting Signaling Pathways. *J Natl Cancer Inst*. 2015 Oct;107(10).
119. Zhang C, Wang L, Wang L, Cui S. A Retrospective Study on the Efficacy of Trastuzumab in HER2-Positive and Tamoxifen-Refractory Breast Cancer with Brain Metastasis. *BioDrugs Clin Immunother Biopharm Gene Ther*. 2016 Feb;30(1):33–40.
120. Koay DC, Zerillo C, Narayan M, Harris LN, DiGiovanna MP. Anti-tumor effects of retinoids combined with trastuzumab or tamoxifen in breast cancer cells: induction of apoptosis by retinoid/trastuzumab combinations. *Breast Cancer Res BCR*. 2010;12(4):R62.
121. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Dowsett M, Forbes JF, Bradley R, Ingle J, Aihara T, et al. Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. *Lancet Lond Engl*. 2015 Oct 3;386(10001):1341–52.
122. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Peto R, Davies C, Godwin J, Gray R, Pan HC, et al. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet Lond Engl*. 2012 Feb 4;379(9814):432–44.

123. Ferguson MJ, Dewar JA. Tamoxifen beyond 5 years--patients' decisions regarding entry to the aTTom trial. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2002 Sep;38(14):1857-9.
124. Rea D, Handley K, Bowden SJ, Perry P, Earl HM, Poole CJ, et al. aTTom: Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years in 6,953 women with early breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013 Jun 20;31(18_suppl):5.
125. Dees EC, Davidson NE. Ovarian ablation as adjuvant therapy for breast cancer. *Semin Oncol*. 2001 Aug;28(4):322-31.
126. Cheer SM, Plosker GL, Simpson D, Wagstaff AJ. Goserelin: a review of its use in the treatment of early breast cancer in premenopausal and perimenopausal women. *Drugs*. 2005;65(18):2639-55.
127. Hill N, Madarnas Y. Failure of ovarian ablation with goserelin in a premenopausal breast cancer patient resulting in pregnancy: a case report and review of the literature. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 Aug;129(1):265-8.
128. Rody A, Loibl S, von Minckwitz G, Kaufmann M. Use of goserelin in the treatment of breast cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2005 Aug;5(4):591-604.
129. Sini V, Cinieri S, Conte P, De Laurentiis M, Leo AD, Tondini C, et al. Endocrine therapy in post-menopausal women with metastatic breast cancer: From literature and guidelines to clinical practice. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016 Apr;100:57-68.
130. Verma S, Jackisch C. Comparing guidelines for adjuvant endocrine therapy in postmenopausal women with breast cancer: a coming of age. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2011 Feb;11(2):277-86.
131. Thuerlimann B, Koeberle D, Senn H-J. Guidelines for the adjuvant treatment of postmenopausal women with endocrine-responsive breast cancer: past, present and future recommendations. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2007 Jan;43(1):46-52.
132. Veta M, van Diest PJ, Kornegoor R, Huisman A, Viergever MA, Pluim JPW. Automatic nuclei segmentation in H&E stained breast cancer histopathology images. *PloS One*. 2013;8(7):e70221.
133. Veta M, Pluim JPW, van Diest PJ, Viergever MA. Breast cancer histopathology image analysis: a review. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2014 May;61(5):1400-11.
134. Horlings HM, Weigelt B, Anderson EM, Lambros MB, Mackay A, Natrajan R, et al. Genomic profiling of histological special types of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2013 Nov;142(2):257-69.

135. Kaygusuz EI, Cetiner H, Yavuz H. Clinico-pathological significance of extra-nodal spread in special types of breast cancer. *Cancer Biol Med*. 2014 Jun;11(2):116–22.
136. Ohashi R, Matsubara M, Watarai Y, Yanagihara K, Yamashita K, Tsuchiya S-I, et al. Diagnostic value of fine needle aspiration and core needle biopsy in special types of breast cancer. *Breast Cancer Tokyo Jpn*. 2016 Jul;23(4):675–83.
137. Leal C, Costa I, Fonseca D, Lopes P, Bento MJ, Lopes C. Intracystic (encysted) papillary carcinoma of the breast: a clinical, pathological, and immunohistochemical study. *Hum Pathol*. 1998 Oct;29(10):1097–104.
138. Vigorita V, Bertucci Zoccali M, Martinez Miguez M, Ave Seijas MJ, Fernandez Martin R, Casal Nuñez EJ, et al. Giant Intracystic (Encysted) Papillary Carcinoma of the Breast. *Breast J*. 2015 Oct;21(5):555–7.
139. Allison KH, Abraham LA, Weaver DL, Tosteson ANA, Nelson HD, Onega T, et al. Trends in breast biopsy pathology diagnoses among women undergoing mammography in the United States: a report from the Breast Cancer Surveillance Consortium. *Cancer*. 2015 May 1;121(9):1369–78.
140. Beikman S, Gordon P, Ferrari S, Siegel M, Zalewski MA, Rosenzweig MQ. Understanding the implications of the breast cancer pathology report: a case study. *J Adv Pract Oncol*. 2013 May;4(3):176–81.
141. Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000 Aug 17;406(6797):747–52.
142. Chung CH, Bernard PS, Perou CM. Molecular portraits and the family tree of cancer. *Nat Genet*. 2002 Dec;32 Suppl:533–40.
143. Ciriello G, Gatza ML, Beck AH, Wilkerson MD, Rhie SK, Pastore A, et al. Comprehensive Molecular Portraits of Invasive Lobular Breast Cancer. *Cell*. 2015 Oct 8;163(2):506–19.
144. Hanby AM. The pathology of breast cancer and the role of the histopathology laboratory. *Clin Oncol R Coll Radiol G B*. 2005 Jun;17(4):234–9.
145. Bose S. Triple-negative Breast Carcinoma: Morphologic and Molecular Subtypes. *Adv Anat Pathol*. 2015 Sep;22(5):306–13.
146. Viale G, Slaets L, de Snoo FA, Bogaerts J, Russo L, van't Veer L, et al. Discordant assessment of tumor biomarkers by histopathological and molecular assays in the EORTC randomized controlled 10041/BIG 03-04 MINDACT trial breast cancer : Intratumoral heterogeneity and DCIS or normal tissue components are unlikely to be the cause of discordance. *Breast Cancer Res Treat*. 2016 Feb;155(3):463–9.
147. Van Bockstal M, Lambein K, Denys H, Braems G, Nuyts A, Van den Broecke R, et al. Histopathological characterization of ductal carcinoma in situ (DCIS)

- of the breast according to HER2 amplification status and molecular subtype. *Virchows Arch Int J Pathol*. 2014 Sep;465(3):275–89.
148. Rashtian A, Iganej S, Amy Liu I-L, Natarajan S. Close or positive margins after mastectomy for DCIS: pattern of relapse and potential indications for radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008 Nov 15;72(4):1016–20.
 149. Frank S, Dupont A, Teixeira L, Porcher R, De Roquancourt A, Giacchetti S, et al. Ductal carcinoma in situ (DCIS) treated by mastectomy, or local excision with or without radiotherapy: A monocentric, retrospective study of 608 women. *Breast Edinb Scotl*. 2016 Feb;25:51–6.
 150. Shaker H, Bundred NJ, Albadry H, Nicholson S, Castle J, Lumsden LJ, et al. PO-21 - Stromal fibroblasts in preinvasive breast cancer (ductal carcinoma in situ, DCIS) demonstrate a cancer-like procoagulant phenotypic switch that may facilitate invasion. *Thromb Res*. 2016 Apr;140 Suppl 1:S184.
 151. Wisner DJ, Hwang ES, Chang CB, Tso HH, Joe BN, Lessing JN, et al. Features of occult invasion in biopsy-proven DCIS at breast MRI. *Breast J*. 2013 Dec;19(6):650–8.
 152. Boekel NB, Schaapveld M, Gietema JA, Rutgers EJT, Versteegh MIM, Visser O, et al. Cardiovascular morbidity and mortality after treatment for ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Inst*. 2014 Aug;106(8).
 153. Shousha S, Forbes G, Hopkins I, Wright JA. CD10-positive myoepithelial cells are usually prominent around in situ lobular neoplasia of the breast and much less prominent or absent in DCIS. *J Clin Pathol*. 2016 Aug;69(8):702–5.
 154. Allen MD, Marshall JF, Jones JL. $\alpha\beta6$ Expression in myoepithelial cells: a novel marker for predicting DCIS progression with therapeutic potential. *Cancer Res*. 2014 Nov 1;74(21):5942–7.
 155. Rane SU, Mirza H, Grigoriadis A, Pinder SE. Selection and evolution in the genomic landscape of copy number alterations in ductal carcinoma in situ (DCIS) and its progression to invasive carcinoma of ductal/no special type: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2015 Aug;153(1):101–21.
 156. Kurbel S. In search of triple-negative DCIS: tumor-type dependent model of breast cancer progression from DCIS to the invasive cancer. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2013 Feb;34(1):1–7.
 157. Perrone G, Santini D, Vincenzi B, Zagami M, La Cesa A, Bianchi A, et al. COX-2 expression in DCIS: correlation with VEGF, HER-2/neu, prognostic molecular markers and clinicopathological features. *Histopathology*. 2005 May;46(5):561–8.
 158. Allinen M, Beroukhi R, Cai L, Brennan C, Lahti-Domenici J, Huang H, et al. Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer. *Cancer Cell*. 2004 Jul;6(1):17–32.

159. Berghuis AMS, Koffijberg H, Prakash J, Terstappen LWMM, IJzerman MJ. Detecting Blood-Based Biomarkers in Metastatic Breast Cancer: A Systematic Review of Their Current Status and Clinical Utility. *Int J Mol Sci.* 2017 Feb 9;18(2).
160. Yip C, Foidart P, Somja J, Truong A, Lienard M, Feyereisen E, et al. MT4-MMP and EGFR expression levels are key biomarkers for breast cancer patient response to chemotherapy and erlotinib. *Br J Cancer.* 2017 Feb 14;
161. Lee JD, Cai Q, Shu XO, Nechuta SJ. The Role of Biomarkers of Oxidative Stress in Breast Cancer Risk and Prognosis: A Systematic Review of the Epidemiologic Literature. *J Womens Health 2002.* 2017 Feb 2;
162. Honma N, Horii R, Ito Y, Saji S, Younes M, Iwase T, et al. Differences in clinical importance of Bcl-2 in breast cancer according to hormone receptors status or adjuvant endocrine therapy. *BMC Cancer.* 2015 Oct 15;15:698.
163. Trahearn N, Tsang YW, Cree IA, Snead D, Epstein D, Rajpoot N. Simultaneous automatic scoring and co-registration of hormone receptors in tumor areas in whole slide images of breast cancer tissue slides. *Cytom Part J Int Soc Anal Cytol.* 2016 Dec 23;
164. Basak Oven Ustaalioglu B, Aker Vardar F, Bilici A, Gurleyik G, Erkol B, Kefeli U, et al. Clinical importance of discordance of hormone receptors and Her2/neu status after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J BUON Off J Balk Union Oncol.* 2014 Dec;19(4):879–86.
165. Mirmalek SA, Hajilou M, Salimi Tabatabaee SA, Parsa Y, Yadollah-Damavandi S, Parsa T. Prevalence of HER-2 and Hormone Receptors and P53 Mutations in the Pathologic Specimens of Breast Cancer Patients. *Int J Breast Cancer.* 2014;2014:564308.
166. Luporsi E, Bellocq J-P, Barrière J, Bonastre J, Chetrit J, Le Corroller A-G, et al. [uPA/PAI-1, Oncotype DX™, MammaPrint®). Prognosis and predictive values for clinical utility in breast cancer management]. *Bull Cancer (Paris).* 2015 Sep;102(9):719–29.
167. Bellocq J-P, Luporsi E, Barrière J, Bonastre J, Chetrit J, Le Corroller A-G, et al. [uPA/PAI-1, Oncotype DX™, MammaPrint®). Prognosis and predictive values for clinical utility in breast cancer management]. *Ann Pathol.* 2014 Oct;34(5):349–51.
168. Li H, Zhu Y, Burnside ES, Drukker K, Hoadley KA, Fan C, et al. MR Imaging Radiomics Signatures for Predicting the Risk of Breast Cancer Recurrence as Given by Research Versions of MammaPrint, Oncotype DX, and PAM50 Gene Assays. *Radiology.* 2016 Nov;281(2):382–91.
169. Sestak I, Zhang Y, Schroeder BE, Schnabel CA, Dowsett M, Cuzick J, et al. Cross-Stratification and Differential Risk by Breast Cancer Index and Recurrence Score in Women with Hormone Receptor-Positive Lymph Node-

- Negative Early-Stage Breast Cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2016 Oct 15;22(20):5043–8.
170. Sgroi DC, Chapman J-AW, Badovinac-Crnjevic T, Zarella E, Binns S, Zhang Y, et al. Assessment of the prognostic and predictive utility of the Breast Cancer Index (BCI): an NCIC CTG MA.14 study. *Breast Cancer Res BCR*. 2016 Jan 4;18(1):1.
 171. Hao S, Tian W, Gao B, Jiang Y, Zhang X, Zhang S, et al. Does dual HER-2 blockade treatment increase the risk of severe toxicities of special interests in breast cancer patients: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Oncotarget*. 2017 Feb 10;
 172. Tang S, Zhou F, Sun Y, Wei L, Zhu S, Yang R, et al. CEA in breast ductal secretions as a promising biomarker for the diagnosis of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Tokyo Jpn*. 2016 Nov;23(6):813–9.
 173. Stocco DM, Zhao AH, Tu LN, Morohaku K, Selvaraj V. A brief history of the search for the protein(s) involved in the acute regulation of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 2017 Feb 5;441:7–16.
 174. Ridker PM, Mora S, Rose L, JUPITER Trial Study Group. Percent reduction in LDL cholesterol following high-intensity statin therapy: potential implications for guidelines and for the prescription of emerging lipid-lowering agents. *Eur Heart J*. 2016 May 1;37(17):1373–9.
 175. Ribas V, García-Ruiz C, Fernández-Checa JC. Mitochondria, cholesterol and cancer cell metabolism. *Clin Transl Med*. 2016 Dec;5(1):22.
 176. Jefcoate CR, Lee J, Cherradi N, Takemori H, Duan H. cAMP stimulation of StAR expression and cholesterol metabolism is modulated by co-expression of labile suppressors of transcription and mRNA turnover. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 Apr 10;336(1–2):53–62.
 177. Yoshimoto FK, Auchus RJ. The diverse chemistry of cytochrome P450 17A1 (P450c17, CYP17A1). *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015 Jul;151:52–65.
 178. Huss JM, Garbacz WG, Xie W. Constitutive activities of estrogen-related receptors: Transcriptional regulation of metabolism by the ERR pathways in health and disease. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Sep;1852(9):1912–27.
 179. Clegg DJ. Minireview: the year in review of estrogen regulation of metabolism. *Mol Endocrinol Baltim Md*. 2012 Dec;26(12):1957–60.
 180. Faulds MH, Zhao C, Dahlman-Wright K, Gustafsson J-Å. The diversity of sex steroid action: regulation of metabolism by estrogen signaling. *J Endocrinol*. 2012 Jan;212(1):3–12.
 181. Mueck AO, Seeger H, Lippert TH. Estradiol metabolism and malignant disease. *Maturitas*. 2002 Sep 30;43(1):1–10.

182. Zahid H, Simpson ER, Brown KA. Inflammation, dysregulated metabolism and aromatase in obesity and breast cancer. *Curr Opin Pharmacol*. 2016 Dec;31:90–6.
183. Torrisi R, Rota S, Losurdo A, Zuradelli M, Masci G, Santoro A. Aromatase inhibitors in premenopause: Great expectations fulfilled? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016 Nov;107:82–9.
184. Tiboni GM, Ponzano A. Fetal safety profile of aromatase inhibitors: Animal data. *Reprod Toxicol Elmsford N*. 2016 Dec;66:84–92.
185. Farzaneh S, Zarghi A. Estrogen Receptor Ligands: A Review (2013-2015). *Sci Pharm*. 2016 Apr 13;84(3):409–27.
186. Heger Z, Zitka O, Krizkova S, Beklova M, Kizek R, Adam V. Molecular biology of beta-estradiol-estrogen receptor complex binding to estrogen response element and the effect on cell proliferation. *Neuro Endocrinol Lett*. 2013;34 Suppl 2:123–9.
187. Schmieder PK, Ankley G, Mekenyan O, Walker JD, Bradbury S. Quantitative structure-activity relationship models for prediction of estrogen receptor binding affinity of structurally diverse chemicals. *Environ Toxicol Chem*. 2003 Aug;22(8):1844–54.
188. Fortunati N, Fissore F, Comba A, Becchis M, Catalano MG, Fazzari A, et al. Sex steroid-binding protein and its membrane receptor in estrogen-dependent breast cancer: biological and pathophysiological impact. *Horm Res*. 1996;45(3–5):202–6.
189. Nordenskjöld A, Fohlin H, Fornander T, Löfdahl B, Skoog L, Stål O. Progesterone receptor positivity is a predictor of long-term benefit from adjuvant tamoxifen treatment of estrogen receptor positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2016 Nov;160(2):313–22.
190. Lim E, Palmieri C, Tilley WD. Renewed interest in the progesterone receptor in breast cancer. *Br J Cancer*. 2016 Oct 11;115(8):909–11.
191. Ahmed SS, Thike AA, Zhang K, Lim JCT, Tan PH. Clinicopathological characteristics of oestrogen receptor negative, progesterone receptor positive breast cancers: re-evaluating subsets within this group. *J Clin Pathol*. 2016 Sep 9;
192. Hertz DL, Henry NL, Kidwell KM, Thomas D, Goddard A, Azzouz F, et al. ESR1 and PGR polymorphisms are associated with estrogen and progesterone receptor expression in breast tumors. *Physiol Genomics*. 2016 Sep 1;48(9):688–98.
193. Clare SE, Gupta A, Choi M, Ranjan M, Lee O, Wang J, et al. Progesterone receptor blockade in human breast cancer cells decreases cell cycle progression through G2/M by repressing G2/M genes. *BMC Cancer*. 2016 May 23;16:326.

194. Graham JD, Roman SD, McGowan E, Sutherland RL, Clarke CL. Preferential stimulation of human progesterone receptor B expression by estrogen in T-47D human breast cancer cells. *J Biol Chem*. 1995 Dec 22;270(51):30693–700.
195. Lee O, Choi M-R, Christov K, Ivancic D, Khan SA. Progesterone receptor antagonism inhibits progesterone-related carcinogenesis and suppresses tumor cell proliferation. *Cancer Lett*. 2016 01;376(2):310–7.
196. Bozovic-Spasojevic I, Zardavas D, Brohée S, Ameye L, Fumagalli D, Ades F, et al. The prognostic role of androgen receptor in patients with early stage breast cancer: A meta-analysis of clinical and gene expression data. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2016 Nov 9;
197. Asano Y, Kashiwagi S, Goto W, Tanaka S, Morisaki T, Takashima T, et al. Expression and Clinical Significance of Androgen Receptor in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancers*. 2017 Jan 6;9(1).
198. Severson TM, Zwart W. A review of estrogen receptor/androgen receptor genomics in male breast cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2017 Mar;24(3):R27–34.
199. Kim J-Y, Park K, Lee E, Jung HH, Ahn JS, Im Y-H, et al. The effect of androgen receptor expression on clinical characterization of metastatic breast cancer. *Oncotarget*. 2017 Jan 31;8(5):8693–706.
200. Ohashi R, Matsubara M, Watarai Y, Yanagihara K, Yamashita K, Tsuchiya S-I, et al. Pleomorphic lobular carcinoma of the breast: a comparison of cytopathological features with other lobular carcinoma variants. *Cytopathol Off J Br Soc Clin Cytol*. 2016 Aug 3;
201. Policeni BA, Smoker WRK, Reede DL. Anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands. *Semin Ultrasound CT MR*. 2012 Apr;33(2):104–14.
202. Organ GM, Organ CH. Thyroid gland and surgery of the thyroglossal duct: exercise in applied embryology. *World J Surg*. 2000 Aug;24(8):886–90.
203. Kovalenko AE. [Contemporary concepts of embryology and surgical anatomy of the thyroid gland]. *Klin Khir*. 1999;(8):38–42.
204. Sugiyama S. The embryology of the human thyroid gland including ultimobranchial body and others related. *Ergeb Anat Entwicklungsgesch*. 1971;44(2):3–111.
205. Mansberger AR, Wei JP. Surgical embryology and anatomy of the thyroid and parathyroid glands. *Surg Clin North Am*. 1993 Aug;73(4):727–46.
206. Luo J, Hendryx M, Dinh P, He K. Association of Iodine and Iron with Thyroid Function. *Biol Trace Elem Res*. 2017 Feb 3;
207. Sasou S, Nakamura S, Kurihara H. Suspensory ligament of Berry: its relationship to recurrent laryngeal nerve and anatomic examination of 24 autopsies. *Head Neck*. 1998 Dec;20(8):695–8.

208. Sinos G, Sakorafas GH. Pyramidal lobe of the thyroid: anatomical considerations of importance in thyroid cancer surgery. *Oncol Res Treat.* 2015;38(6):309–10.
209. Won S-Y. Anatomical considerations of the superior thyroid artery: its origins, variations, and position relative to the hyoid bone and thyroid cartilage. *Anat Cell Biol.* 2016 Jun;49(2):138–42.
210. Vasović L, Arsić S, Vlajković S, Zdravković D. Morphological aspect of the thyroid ima artery in human fetuses. *Ital J Anat Embryol Arch Ital Anat Ed Embriologia.* 2004 Dec;109(4):189–97.
211. Dionigi G, Congiu T, Rovera F, Boni L. The middle thyroid vein: anatomical and surgical aspects. *World J Surg.* 2010 Mar;34(3):514–20.
212. Dionigi G, Chiang F-Y, Rausei S, Wu C-W, Boni L, Lee K-W, et al. Surgical anatomy and neurophysiology of the vagus nerve (VN) for standardised intraoperative neuromonitoring (IONM) of the inferior laryngeal nerve (ILN) during thyroidectomy. *Langenbecks Arch Surg.* 2010 Sep;395(7):893–9.
213. Polednak AP. Relationship of the Recurrent Laryngeal Nerve to the Inferior Thyroid Artery: A Comparison of Findings from Two Systematic Reviews. *Clin Anat N Y N.* 2017 Feb 14;
214. Taylor PN, Razvi S, Pearce SH, Dayan CM. Clinical review: A review of the clinical consequences of variation in thyroid function within the reference range. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Sep;98(9):3562–71.
215. Flamant F, Baxter JD, Forrest D, Refetoff S, Samuels H, Scanlan TS, et al. International Union of Pharmacology. LIX. The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily: thyroid hormone receptors. *Pharmacol Rev.* 2006 Dec;58(4):705–11.
216. McAninch EA, Bianco AC. Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism. *Ann N Y Acad Sci.* 2014 Apr;1311:77–87.
217. Kelly T, Denmark L, Lieberman DZ. Elevated levels of circulating thyroid hormone do not cause the medical sequelae of hyperthyroidism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2016 Nov 3;71:1–6.
218. Devereaux D, Tewelde SZ. Hyperthyroidism and thyrotoxicosis. *Emerg Med Clin North Am.* 2014 May;32(2):277–92.
219. Dubbs SB, Spangler R. Hypothyroidism: causes, killers, and life-saving treatments. *Emerg Med Clin North Am.* 2014 May;32(2):303–17.
220. Glaschke A, Weiland J, Del Turco D, Steiner M, Peichl L, Glösmann M. Thyroid hormone controls cone opsin expression in the retina of adult rodents. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2011 Mar 30;31(13):4844–51.
221. King K, O’Gorman C, Gallagher S. Thyroid dysfunction in children with Down syndrome: a literature review. *Ir J Med Sci.* 2014 Mar;183(1):1–6.

222. Vaitkus JA, Farrar JS, Celi FS. Thyroid Hormone Mediated Modulation of Energy Expenditure. *Int J Mol Sci*. 2015 Jul 16;16(7):16158–75.
223. Lin H-Y, Glinsky GV, Mousa SA, Davis PJ. Thyroid hormone and anti-apoptosis in tumor cells. *Oncotarget*. 2015 Jun 20;6(17):14735–43.
224. Ritchie M, Yeap BB. Thyroid hormone: Influences on mood and cognition in adults. *Maturitas*. 2015 Jun;81(2):266–75.
225. Samuels MH. Thyroid disease and cognition. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014 Jun;43(2):529–43.
226. Feldman AZ, Shrestha RT, Hennessey JV. Neuropsychiatric manifestations of thyroid disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2013 Sep;42(3):453–76.
227. Belakavadi M, Saunders J, Weisleder N, Raghava PS, Fondell JD. Repression of cardiac phospholamban gene expression is mediated by thyroid hormone receptor- α 1 and involves targeted covalent histone modifications. *Endocrinology*. 2010 Jun;151(6):2946–56.
228. Sabatino L, Gliozheni E, Molinaro S, Bonotti A, Azzolina S, Popoff G, et al. Thyroid hormone receptor and IGF1/IGFR systems: possible relations in the human heart. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. 2007 Sep;61(8):457–62.
229. Marvisi M, Balzarini L, Mancini C, Mouzakiti P. Thyroid gland and pulmonary hypertension. What's the link? *Panminerva Med*. 2013 Mar;55(1):93–7.
230. Mancini A, Raimondo S, Di Segni C, Persano M, Gadotti G, Silvestrini A, et al. Thyroid hormones and antioxidant systems: focus on oxidative stress in cardiovascular and pulmonary diseases. *Int J Mol Sci*. 2013 Dec 9;14(12):23893–909.
231. Grais IM, Sowers JR. Thyroid and the heart. *Am J Med*. 2014 Aug;127(8):691–8.
232. Danzi S, Klein I. Thyroid disease and the cardiovascular system. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014 Jun;43(2):517–28.
233. Chaker L, Baumgartner C, Ikram MA, Dehghan A, Medici M, Visser WE, et al. Subclinical thyroid dysfunction and the risk of stroke: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol*. 2014 Nov;29(11):791–800.
234. Jabbar A, Razvi S. Thyroid disease and vascular risk. *Clin Med Lond Engl*. 2014 Dec;14 Suppl 6:s29-32.
235. Vargas-Uricoechea H, Bonelo-Perdomo A, Sierra-Torres CH. Effects of thyroid hormones on the heart. *Clin E Investig En Arterioscler Publicacion Of Soc Espanola Arterioscler*. 2014 Dec;26(6):296–309.
236. Zhong B, Wang Y, Zhang G, Wang Z. Environmental Iodine Content, Female Sex and Age Are Associated with New-Onset Amiodarone-Induced

- Hypothyroidism: A Systematic Review and Meta-Analysis of Adverse Reactions of Amiodarone on the Thyroid. *Cardiology*. 2016;134(3):366–71.
237. Cardoso LF, Maciel LMZ, Paula FJA de. The multiple effects of thyroid disorders on bone and mineral metabolism. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014 Jul;58(5):452–63.
238. Cooper DS, Laurberg P. Hyperthyroidism in pregnancy. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2013 Nov;1(3):238–49.
239. Medici M, Korevaar TIM, Visser WE, Visser TJ, Peeters RP. Thyroid function in pregnancy: what is normal? *Clin Chem*. 2015 May;61(5):704–13.
240. Teng W, Shan Z, Patil-Sisodia K, Cooper DS. Hypothyroidism in pregnancy. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2013 Nov;1(3):228–37.
241. Pearce EN. Thyroid disorders during pregnancy and postpartum. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2015 Jul;29(5):700–6.
242. Kijima H, Kubo M, Ishizuka T, Kakinuma M, Koike T. A novel missense mutation in the thyroid hormone receptor beta gene in a kindred with resistance to thyroid hormone. *Hum Genet*. 1996 Mar;97(3):407–8.
243. Eckey M, Moehren U, Baniahmad A. Gene silencing by the thyroid hormone receptor. *Mol Cell Endocrinol*. 2003 Dec 31;213(1):13–22.
244. Hashimoto K, Mori M. Crosstalk of thyroid hormone receptor and liver X receptor in lipid metabolism and beyond [Review]. *Endocr J*. 2011;58(11):921–30.
245. Huang Y-H, Liao C-H, Chen R-N, Liao C-J, Lin K-H. Human testicular orphan receptor 4 enhances thyroid hormone receptor signaling. *J Cell Physiol*. 2010 Feb;222(2):347–56.
246. Wagner RL, Apriletti JW, McGrath ME, West BL, Baxter JD, Fletterick RJ. A structural role for hormone in the thyroid hormone receptor. *Nature*. 1995 Dec 14;378(6558):690–7.
247. Mengeling BJ, Furlow JD. Pituitary specific retinoid-X receptor ligand interactions with thyroid hormone receptor signaling revealed by high throughput reporter and endogenous gene responses. *Toxicol Vitro Int J Publ Assoc BIBRA*. 2015 Oct;29(7):1609–18.
248. Schröder M, Carlberg C. Thyroid hormone and retinoic acid receptors form heterodimers with retinoid X receptors on direct repeats, palindromes, and inverted palindromes. *DNA Cell Biol*. 1994 Apr;13(4):333–41.
249. Wang F-F, Yang W, Shi Y-H, Cheng X-R, Le G-W. Structure-based approach for the study of thyroid hormone receptor binding affinity and subtype selectivity. *J Biomol Struct Dyn*. 2016 Oct;34(10):2251–67.

250. Politi R, Rusyn I, Tropsha A. Prediction of binding affinity and efficacy of thyroid hormone receptor ligands using QSAR and structure-based modeling methods. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014 Oct 1;280(1):177–89.
251. Nagaya T, Kopp P, Kitajima K, Jameson JL, Seo H. Second zinc finger mutants of thyroid hormone receptor selectively preserve DNA binding and heterodimerization but eliminate transcriptional activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 May 15;222(2):524–30.
252. Neamțu C, Țupea C, Păun D, Hoiescu A, Ghemigian A, Refetoff S, et al. A new TR β mutation in resistance to thyroid hormone syndrome. *Horm Athens Greece*. 2016 Oct;15(4):534–9.
253. Martinez B, Ortiz RM. Thyroid Hormone Regulation and Insulin Resistance: Insights From Animals Naturally Adapted to Fasting. *Physiol Bethesda Md*. 2017 Mar;32(2):141–51.
254. Jameson JL. Mechanisms by which thyroid hormone receptor mutations cause clinical syndromes of resistance to thyroid hormone. *Thyroid Off J Am Thyroid Assoc*. 1994;4(4):485–92.
255. Vattai A, Ziegelmüller B, Kost B, Kuhn C, Hofmann S, Bayer B, et al. The expression of thyroid hormone receptors (THR) is regulated by the progesterone receptor system in first trimester placental tissue and in BeWo cells in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015 Dec;195:31–9.
256. Bassett JHD, Harvey CB, Williams GR. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. *Mol Cell Endocrinol*. 2003 Dec 31;213(1):1–11.
257. Zhao R-L, Sun B, Liu Y, Li J-H, Xiong W-L, Liang D-C, et al. Cloning and identification of a novel thyroid hormone receptor β isoform expressed in the pituitary gland. *Mol Cell Biochem*. 2014 Apr;389(1–2):141–50.
258. Ng L, Cordas E, Wu X, Vella KR, Hollenberg AN, Forrest D. Age-Related Hearing Loss and Degeneration of Cochlear Hair Cells in Mice Lacking Thyroid Hormone Receptor β 1. *Endocrinology*. 2015 Oct;156(10):3853–65.
259. Schroeder A, Jimenez R, Young B, Privalsky ML. The ability of thyroid hormone receptors to sense t4 as an agonist depends on receptor isoform and on cellular cofactors. *Mol Endocrinol Baltim Md*. 2014 May;28(5):745–57.
260. Fondell JD, Brunel F, Hisatake K, Roeder RG. Unliganded thyroid hormone receptor alpha can target TATA-binding protein for transcriptional repression. *Mol Cell Biol*. 1996 Jan;16(1):281–7.
261. Mochizuki K, Yagi E, Sakaguchi N, Mochizuki H, Takabe S, Kuranuki S, et al. The critical period for thyroid hormone responsiveness through thyroid hormone receptor isoform alpha in the postnatal small intestine. *Biochim Biophys Acta*. 2007 Apr;1770(4):609–16.

262. Ortega FJ, Moreno-Navarrete JM, Ribas V, Esteve E, Rodriguez-Hermosa JJ, Ruiz B, et al. Subcutaneous fat shows higher thyroid hormone receptor-alpha gene expression than omental fat. *Obes Silver Spring Md.* 2009 Dec;17(12):2134–41.
263. Goumidi L, Flamant F, Lendon C, Galimberti D, Pasquier F, Scarpini E, et al. Study of thyroid hormone receptor alpha gene polymorphisms on Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2011 Apr;32(4):624–30.
264. Wallis K, Dudazy S, van Hogerlinden M, Nordström K, Mittag J, Vennström B. The thyroid hormone receptor alpha1 protein is expressed in embryonic postmitotic neurons and persists in most adult neurons. *Mol Endocrinol Baltim Md.* 2010 Oct;24(10):1904–16.
265. Rajagopalan V, Gerdes AM. Role of thyroid hormones in ventricular remodeling. *Curr Heart Fail Rep.* 2015 Apr;12(2):141–9.
266. Suarez J, Wang H, Scott BT, Ling H, Makino A, Swanson E, et al. In vivo selective expression of thyroid hormone receptor $\alpha 1$ in endothelial cells attenuates myocardial injury in experimental myocardial infarction in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2014 Aug 1;307(3):R340-346.
267. Frye RE, Wynne R, Rose S, Slattery J, Delhey L, Tippett M, et al. Thyroid dysfunction in children with autism spectrum disorder is associated with folate receptor alpha autoimmune disorder. *J Neuroendocrinol.* 2017 Feb 15;
268. Furuya F, Shimura H, Asami K, Ichijo S, Takahashi K, Kaneshige M, et al. Ligand-bound thyroid hormone receptor contributes to reprogramming of pancreatic acinar cells into insulin-producing cells. *J Biol Chem.* 2013 May 31;288(22):16155–66.
269. Furuya F, Shimura H, Yamashita S, Endo T, Kobayashi T. Liganded thyroid hormone receptor-alpha enhances proliferation of pancreatic beta-cells. *J Biol Chem.* 2010 Aug 6;285(32):24477–86.
270. Guigon CJ, Kim DW, Willingham MC, Cheng S-Y. Mutation of thyroid hormone receptor- β in mice predisposes to the development of mammary tumors. *Oncogene.* 2011 Jul 28;30(30):3381–90.
271. Ditsch N, Toth B, Himsl I, Lenhard M, Ochsenkühn R, Friese K, et al. Thyroid hormone receptor (TR)alpha and TRbeta expression in breast cancer. *Histol Histopathol.* 2013;28(2):227–37.
272. Gu G, Gelsomino L, Covington KR, Beyer AR, Wang J, Rechoum Y, et al. Targeting thyroid hormone receptor beta in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2015 Apr;150(3):535–45.
273. Chang JT-H, Wang F, Chapin W, Huang RS. Identification of MicroRNAs as Breast Cancer Prognosis Markers through the Cancer Genome Atlas. *PloS One.* 2016;11(12):e0168284.

274. Ma CX, Ellis MJ. The Cancer Genome Atlas: clinical applications for breast cancer. *Oncol Williston Park N.* 2013 Dec;27(12):1263–9, 1274–9.
275. Conde I, Paniagua R, Zamora J, Blázquez MJ, Fraile B, Ruiz A, et al. Influence of thyroid hormone receptors on breast cancer cell proliferation. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2006 Jan;17(1):60–4.
276. Jerzak KJ, Cockburn J, Pond GR, Pritchard KI, Narod SA, Dhesy-Thind SK, et al. Thyroid hormone receptor α in breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *Breast Cancer Res Treat.* 2015 Jan;149(1):293–301.
277. Alyusuf RH, Matouq JA, Taha S, Wazir JF. The pattern of expression and role of triiodothyronine (T3) receptors and type I 5'-deiodinase in breast carcinomas, benign breast diseases, lactational change, and normal breast epithelium. *Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM.* 2014 Aug;22(7):518–23.
278. Li Z, Meng ZH, Chandrasekaran R, Kuo W-L, Collins CC, Gray JW, et al. Biallelic inactivation of the thyroid hormone receptor beta1 gene in early stage breast cancer. *Cancer Res.* 2002 Apr 1;62(7):1939–43.
279. Uehiro N, Horii R, Iwase T, Tanabe M, Sakai T, Morizono H, et al. Validation study of the UICC TNM classification of malignant tumors, seventh edition, in breast cancer. *Breast Cancer Tokyo Jpn.* 2014 Nov;21(6):748–53.
280. Nguyen D, Nguyen D. Quantifying chromogen intensity in immunohistochemistry via reciprocal intensity. *Protoc Exch [Internet].* 2013 Dec 20 [cited 2017 Jan 15]; Available from: <http://www.nature.com/protocolexchange/protocols/2931>

