



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**Α΄ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**Γ.Ν.Α. «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΛΟΥΤΡΑΔΗΣ**

***“Η ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΝΔΡΟΓΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ (AR)  
ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΑΡΩΜΑΤΑΣΗΣ (P450 AROM), ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ  
ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΜΑΣΤΟΥ ΒΑΣΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ (BASAL LIKE BREAST CANCER)  
ΚΑΙ ΤΡΙΠΛΗ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΝΟΣΟΪΠΟΔΟΧΕΩΝ:  
ER/ PGR/ HER2 (TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER TUMORS)”  
(ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ & ΚΛΙΝΙΚΗ-ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ )***

**Διδακτορική Διατριβή**

**ΑΡΓΥΡΙΟΣ Ι. ΓΙΑΝΝΟΣ**

**ΙΑΤΡΟΣ ΜΑΙΕΥΤΗΡΑΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ**

**ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΜΑΣΤΟΥ**

## Γενικές πληροφορίες

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής	5 Νοεμβρίου 2010
Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής	1. Ομότιμος Καθηγητής Μ/Γ, Α. Αντσακλής 2. Καθηγητής Μ/Γ, Α. Ροδολάκης 3. Αναπλ. Καθηγητής Μ/Γ, Κ. Δημητρακάκης
Ημερομηνία κατάθεσης Α' προόδου	Απρίλιος 2012
Ημερομηνία κατάθεσης Β' προόδου	Αύγουστος 2013
Ημερομηνία κατάθεσης Γ' προόδου	Δεκέμβριος 2017

Αρ. πρωτοκόλλου 7μελούς Επιτροπής:	1718018482, 13/2/2018, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
Μέλη 7μελούς Επιτροπής:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Καθ. Δ. ΛΟΥΤΡΑΔΗΣ</li> <li>2. Καθ. Α. ΡΟΔΟΛΑΚΗΣ</li> <li>3. Αν. Καθ. Κ. ΔΗΜΗΤΡΑΚΑΚΗΣ</li> <li>4. Αν. Καθ. Φ. ΖΑΓΟΥΡΗ</li> <li>5. Επ. Καθ. Δ. ΧΑΪΔΟΠΟΥΛΟΣ</li> <li>6. Επ. Καθ. Θ. ΠΑΝΟΣΚΑΛΤΣΗΣ</li> <li>7. Επ. Καθ. Ν. ΘΩΜΑΚΟΣ</li> </ol>

**Δημοσίευση από την παρούσα διδακτορική διατριβή:**

**Giannos A.**, Filipits M, Zagouri F, Brandstetter A, Tsigginou A, Sotiropoulou M, Papaspyrou I, Sergeantanis TN, Psaltopoulou T, Rodolakis A, Antsaklis A, Dimopoulos MA, Dimitrakakis C.

**Expression of ARs in triple negative breast cancer tumors: a potential prognostic factor?**

*Onco Targets Ther.* 2015 Jul 23;8:1843-7.

ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ


 ΜΗΥΜΙ ΑΠΟΛΛΑΝΑ 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 ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ  
 ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ  
 ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΛΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ  
 ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,  
 ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΘΗΤΕΙΝ, 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 ΛΡ  
 ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ  
 ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ  
 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 ΦΘΟΡΟΝ 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  
 ΗΕΙΟΣ ΤΗΣΔΕ, ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ  
 ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ  
 ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ, Τ  
 ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ  
 ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ  
 ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ, Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,  
 Η ΙΔΩ, Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β  
 ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α 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.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου και τις ειλικρινείς θερμές ευχαριστίες μου:

- πρωτίστως με μεγάλη εκτίμηση, στον αξιότιμο καθηγητή της έδρας της Α΄ Μ/Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Δ. Λουτράδη,
- στον υπεύθυνο επιβλέποντα Καθηγητή κ. Αλέξανδρο Ροδολάκη για την υπομονή του και την διαρκή πρόθυμη αρωγή του, που βοήθησαν στην ευόδωση της εργασίας μου,
- στους αγαπητούς καθηγητές μου στην τριμελή επιτροπή του διδακτορικού μου: Ομ. Καθηγητή κ. Α. Αντσακλή για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση του θέματος της διατριβής μου και ιδιαίτερα στον Αναπλ. Καθηγητή κ. Κ. Δημητρακάκη για την μοναδική διδακτική του θέρμη, την αγάπη του για τα νοσήματα του μαστού και την άμεση ευφάνταστη συνδρομή του στην ολοκλήρωση της διατριβής μου, με γόνιμα λιτά σχόλια & παρατηρήσεις,
- Ευχαριστίες στην Αναπλ. Καθηγήτρια Παθολογικής Ογκολογίας κ. Φ. Ζαγουρή για την λίαν εποικοδομητική συνδρομή της μαζί με τους άξιους ερευνητές του Παθολογοανατομικού εργαστηρίου της Αυστρίας στη Βιέννη M. Filipits, A. Brandstetter,
- Ευχαριστίες θερμές σε όλο το προσωπικό και την γραμματεία του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του νοσ. Αλεξάνδρα, ιδιαίτερα στις διευθύντριες κ. Σ. Μαρκάκη, κ. Ε. Παπασπύρου, κ. Μ. Σωτηροπούλου και ειδικά στους Τεχνολόγους Ιατρικών Εργαστηρίων κ. Β. Παύλου και Β. Σδρένια, για την φιλόξενη αποδοχή της προσπάθειας μου, την απaráμιλλη προθυμία τους και την επιστημονικά άρτια οργάνωση του ιστολογικού υλικού της διατριβής μου. Ευχαριστίες, επίσης, και στον Ιατρό Θ. Σεργεντάνη για την άρτια στατιστική ανάλυση των δεδομένων,
- τέλος, «de profundis» την μεγάλη ευγνωμοσύνη μου και την αγάπη μου στην σύντροφο της ζωής μου Κωνσταντίνα, για την «βοήθεια & ανοχή» στις πολλές ώρες μελέτης & απουσίας μου από κοντά της, «επ' αγαθό της κοινής μας ζωής»!

**Αφιέρωση:**

**Στην λατρεμένη και μονάκριβη κόρη μου Γεωργία-Ζωή!**



**«ΗΝ ΓΑΡ ΠΑΡΗ ΦΙΛΑΝΘΡΩΠΗ ΠΑΡΕΣΤΙ ΚΑΙ ΦΙΛΟΤΕΧΝΙΗ»**

Εκεί όπου υπάρχει αγάπη για τον άνθρωπο υπάρχει και αγάπη για την (ιατρική) τέχνη

**ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ - ΑΡΧΕΣ**

## Περιεχόμενα

<b>A. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ .....</b>	<b>9</b>
<b>B. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>21</b>
1. Στοιχεία Ανατομίας και Ιστολογίας του μαστού .....	21
1.1. Ανατομία του μαστού .....	21
1.2. Ιστολογία του μαστού.....	23
2. Καρκίνος μαστού - Επιδημιολογία .....	24
2.1. Επιδημιολογία και Παράγοντες Κινδύνου .....	24
2.2 Γενετική Επιδημιολογία καρκίνου μαστού.....	28
3. Ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού .....	32
3.1 Ορισμός και Επιδημιολογία του τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού ...	32
3.2. Μοριακοί υπότυποι του TNBC. ....	33
3.3. Η έννοια του «Βασικού τύπου» καρκίνου του μαστού .....	36
4. Υποδοχείς ανδρογόνων και καρκίνος μαστού .....	38
4.1. Μοριακή φυσιολογία των ανδρογόνων στο μαστό.....	38
4.2. Ανδρογόνα και καρκίνος του μαστού.....	42
4.3. Προγνωστικός ρόλος των AR στον καρκίνο του μαστού.....	46
5. Υποδοχείς ανδρογόνων, αρωματάση και τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού	53
5.1. Στόχευση υποδοχέων στους TNBC: AR και άλλοι υποδοχείς.....	53
5.2. Έκφραση των AR στον TNBC: πιθανός προγνωστικός ρόλος .....	56
5.3. Μοριακές αλληλεπιδράσεις των AR στον TNBC.....	63
5.4. Έκφραση των AR σε TNBC: απεικονιστικές προεκτάσεις .....	66
5.5. Θεραπευτικές προεκτάσεις των AR στον TNBC.....	67
5.6. Η σημασία της αρωματάσης στον TNBC.....	70

<b>Γ. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>72</b>
1. Εισαγωγή και Σκοπός .....	72
2. Ασθενείς και Μέθοδος .....	75
2.1. Συμμετέχουσες ασθενείς.....	75
2.2. Ανοσοϊστοχημεία.....	75
3. Αποτελέσματα.....	78
<b>4. Συζήτηση .....</b>	<b>80</b>
<b>Δ. ΠΙΝΑΚΕΣ .....</b>	<b>84</b>
<b>Ε. ΕΙΚΟΝΕΣ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΑ .....</b>	<b>88</b>
<b>ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>108</b>
<b>Ζ. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>128</b>
<b>Η. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....</b>	<b>129</b>
<b>ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ .....</b>	<b>129</b>
<b>&amp; 3η ΠΡΟΟΔΟΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΕΚΠΑ</b>	



## **A. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

### **ΑΡΓΥΡΙΟΣ Ι. ΓΙΑΝΝΟΣ**

**ΜΑΙΕΥΤΗΡΑΣ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ, ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΜΑΣΤΟΥ  
ΕΠΙΜΕΛΗΤΗΣ Β, Γ.Ν. ΑΘΗΝΩΝ “ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ”  
Α΄ Μ/Γ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ, ΜΟΝΑΔΑ ΜΑΣΤΟΥ**

Δ/ση κατοικίας : **Ν. Τσουρουκτσόγλου 10, ΤΚ 143 42, Ν. Φιλαδέλφεια**  
Τηλ. επικοινωνίας : **210 2525563, 6977549311**  
email : **arisgiannos@yahoo.gr**

### **ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ**

Ημερομηνία γεννήσεως : **18 Ιουνίου 1967**  
Τόπος γέννησης : **Αθήνα**  
Τόπος καταγωγής : **Νήσος Αγ. Ευστράτιος, Νομός Λέσβου**  
Υπηκοότητα : **Ελληνική**  
Οικογενειακή κατάσταση : **Έγγαμος με ένα τέκνο**

### **ΒΑΣΙΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ**

**-Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο (ΕΚΠΑ) Αθηνών**

Πτυχίο Ιατρικής Σχολής (2003) – Λίαν Καλώς (7,80)

**-Ανώτατο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΑΤΕΙ) Αθηνών**

Πτυχίο Τεχνολόγου Ιατρικών Εργαστηρίων (1991) – Άριστα (9,06)

**-Σχολή Ανθρωπιστικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας**

Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης

Πτυχίο Παιδαγωγικής Ακαδημίας Λαμίας (1987) – Άριστα (9,20)

**-3ο Γενικό Λύκειο Παλαιού Φαλήρου**

Απολυτήριο Γενικού Λυκείου (1985) – Άριστα (19)

## ΕΠΙΜΟΡΦΩΤΙΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ

- **2003**  
**Σεμινάριο Πληροφορικής** με θέμα:  
 «Γραμματειακή Υποστήριξη Γραφείου Νοσηλευτικού Οργανισμού»  
 και αντικείμενο την εκμάθηση των Windows XP και Ms Word XP.  
 Διάρκεια 20 ώρες. Επιμορφωτικά σεμινάρια Η/Υ, Core Level,  
 System Συμβουλευτική Α.Ε, Νοσοκομείο «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ».
- **1998**  
**Επιμορφωτικό Σεμινάριο Δημόσιας Διοίκησης** με θέμα:  
 «Εισαγωγική Διοικητική Εκπαίδευση». Διάρκεια: 70 ώρες.  
 Ινστιτούτο Επιμόρφωσης ( Ι.Ν.Ε.Π ), του Εθνικού Κέντρου  
 Δημόσιας Διοίκησης ( Ε.Κ.Δ.Δ ). Επίδοση: Αρίστη.
- **1990**  
**Σεμινάριο Πληροφορικής** με θέμα:  
 «Χειρισμός Ηλεκτρονικών Υπολογιστών», Διάρκεια: 90 ώρες, Αναπτυξιακός  
 Σύνδεσμος Δήμων Δυτικής Αθήνας (ΑΣΔΑ ), Νομαρχία Δυτικής Αττικής.
- **1989-2017**  
**Παρακολούθηση Ιατρικών Σεμιναρίων και Συνεδρίων.**  
 Θέματα: «Γενικής Χειρουργικής Μαστού», Μαιευτικής & Γυναικολογίας,  
 Γυναικολογικής Ογκολογίας & Ενδοκρινολογίας.

## ΚΛΙΝΙΚΗ & ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ (1989-2017) (ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ ):

- **Επιμελητής Μ-Γυναικολόγος, Μονάδα Μαστού, Γεν. Νοσ. Αθηνών**  
**“ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ”**  
 1<sup>η</sup> Μαιευτική Γυναικολογική Κλινική Παν/μίου Αθηνών  
 (Μάρτιος 2012 – Σήμερα: Μάρτιος 2018) ( 6 έτη & 1 μήνας )
- **Ειδικευόμενος Ιατρός Μ/Γυναικολογίας, Γεν. Νοσ. Αθηνών “ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ”**  
 1<sup>η</sup> Μαιευτική Γυναικολογική Κλινική Παν/μίου Αθηνών  
 (Ιανουάριος 2006 – Ιούλιος 2010) ( 4 έτη )
- **Κλινική εμπειρία – πρακτική, 2<sup>η</sup> Χειρ/κή Μονάδα Μαστού, Γεν. Νοσ. Αθηνών**  
**“ΑΓΙΟΣ ΣΑΒΒΑΣ”**  
 Γενικό Αντικαρκινικό Ογκολογικό Νοσ. Αθηνών “ΑΓΙΟΣ ΣΑΒΒΑΣ”  
 (Νοέμβριος 2007 – Οκτώβριος 2008) ( 1 έτος )

- **Ειδικευόμενος Ιατρός Γενικής Χειρουργικής, Μονάδα Μαστού, Γεν. Νοσ. Αθηνών “ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ”**

1<sup>η</sup> Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Παν/μίου Αθηνών  
(Νοέμβριος 2004 – Νοέμβριος 2005) ( 1 έτος )

- **Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων, Γεν. Νοσ. Αθηνών “ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ”**

Παθολογοανατομικό Τμήμα Γυναικολογικής Ογκολογίας και Ανοσοϊστοχημικό εργαστήριο Νοσ. “ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ”  
(Νοέμβριος 1998 – Νοέμβριος 2004) ( 6 έτη )

### ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ (1989-2017):

#### α) Διδακτορική διατριβή :

**-Υποψήφιος Διδάκτορας (PhD) Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Αθηνών (ΕΚΠΑ).**  
**( τελική 3<sup>η</sup> πρόοδος: ολοκλήρωσης & παρουσίασης διατριβής, 12<sup>ος</sup> / 2017 )**

Α΄ Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, ΓΝ «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»

Επιβλέπων: Καθηγητής Α. Ροδολάκης. (ΑΠ: 11004 / 2010) 26.7.2010

Απόφαση Γεν.Συνέλευσης **–Ορισμός υποψήφιου διδάκτορα με Θέμα:**

«Η ανοσοϊστοχημική μελέτη των ανδρογονικών υποδοχέων(AR) & της ενζυμικής αρωματάσης (P450 AROM), σε ασθενείς με καρκίνο μαστού βασικού τύπου (basal like breast cancer) & τριπλή αρνητική έκφραση ανοσουποδοχέων ER/Pgr/Her2new (triple negative breast cancer tumors) Εργαστηρ/κή διερεύνηση & κλινικοπαθολογική συσχέτιση»

#### β) Επιστημονικές εργασίες CITATION INDEX (ξενόγλωσσα περιοδικά): (8 οκτώ)

#### γ) Συμμετοχή οργάνωση συνεδρίων: (3 τρία)

**δ) Συμμετοχή σε επιστημονικές εκδηλώσεις, ομιλίες, διαλέξεις (συμπόσια, συνέδρια):** (6 έξι)

1. Μελέτη των βασικού τύπου (basal like) τριπλά αρνητικών (triple negative) καρκίνων του μαστού. 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο (EXEM) Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρίας Μαστού. 25 Ιουνίου 2010, Astir Palace Hotel, Αθήνα
2. Επιπλοκές των θεραπειών Ca μαστού: στις πολύ νέες και στις ηλικιωμένες γυναίκες. «Διλήμματα & Αντιθέσεις για τον Καρκίνο του Μαστού σε Ακραίες Ηλικίες» 4-5 Απριλίου 2014, Αμφιθέατρο Νοσοκομείου ΙΑΣΩ, Αθήνα
3. Κληρονομικότητα στον καρκίνο του μαστού. 4ο Συνέδριο Καρκίνου Μαστού. 30-31 Ιανουαρίου 2015, Ξενοδοχείο Hilton Athens, Αθήνα
4. Γενετική συμβουλευτική διαχείριση ασθενών με μεταλλάξεις. 5ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο ΕΓΕΠΑΜ. 27 Ιουνίου 2015, Αμφιθέατρο Νοσοκομείου ΙΑΣΩ, Αθήνα
5. Στοιχεία ενημέρωσης και πρόληψης στον καρκίνο του μαστού. 2016 Συνέδριο Υγειονομικών Τεχνολόγων Παρασκευαστών (ΣΥΝΤΕΠΑ). 8 Απριλίου 2016, Αθήνα.
6. Προφύλαξη γυναικών από καρκίνο μαστού. Μείωση της συχνότητας και της θνησιμότητας της νόσου – Συστάσεις «Βασικές γνώσεις παθήσεων μαστού στη Γυναικολογία». 9 Δεκεμβρίου 2017. Σεμινάριο ΕΓΕΠΑΜ και Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης, Ηράκλειο.

**ε) Επιστημονικές εργασίες – δημοσιεύσεις συνέδρια:** (26 εικοσιέξι)

**-Ξενογλωσσα διεθνή περιοδικά:** (7 επτά)

**-Διεθνή συνέδρια – πρακτικά διεθνών συνεδρίων:** (8 οκτώ)

**-Δημοσιεύσεις σε ελληνικά συνέδρια:** (13 δεκατρείς)

**στ) Μέλος Επιστημονικών εταιρειών:** (4 τέσσερις )

**ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ - 1989-2017 ( ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ ):**

**Ως εκπαιδευόμενος:**

**1) Μετεκπαίδευση ( εσωτερικό )**

**- 2010 - 2011**

**Ελληνική Σχολή Μαστολογίας**, 1<sup>η</sup> Σειρά Μετεκπαιδευτικών Σεμιναρίων (Υπό αιγίδα: Υπουργείου Εθνικής Παιδείας & Senologic International Society).

**- 2010**

**ALSO (Advanced Life Support in Obstetrics) GR,**

Aretaieion Hospital, Athens 30-5-2010

- 2015

**Μεταπτυχιακό (Msc) Δίπλωμα Ειδίκευσης.**

Α΄ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρικής Σχολής Αθηνών

Επιστημονικός Υπεύθυνος: Καθηγητής Ε. Πατσούρης.

(ΦΕΚ 2561/τ.Β΄/18.12.2008 ) Πρόγραμμα Σεπτεμβρίου 2011. (29-4-2015)

**Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών με Θέμα:** «ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ

ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΚΛΙΝΙΚΟΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ»

Άριστα ( 9,2 )

**2) Παρακολούθηση μετεκπαιδευτικών σεμιναρίων (1989-2017):**

**α) Ελληνικά:** ( 173 )

**β) Διεθνή:** ( 11 )

**2004 - 2011**

-«Μετεκπαιδευτικά μαθήματα», Εκπαιδευτικό Πρόγραμμα (Τρι / Παρ)

**Α΄ Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.**

Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών«ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»(206/μόρια)

-«Διαλέξεις συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης στη Μαιευτική Γυναικολογία»,

Εκπαιδευτικό Πρόγραμμα (Τρίτες απογ.εβδ/ας)

**Β΄ Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.**

Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ» (98/μόρια)

-«Εκπαιδευτικές εκδηλώσεις - Διαλέξεις», (Ετήσιες ημερίδες)

**Γ΄ Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.**

Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ»

**2011 - 2017**

-«Μετεκπαιδευτικά μαθήματα», Ενιαίο Μετεκπαιδευτικό Πρόγραμμα (Τρι / Παρ)

**Α΄, Β΄, Γ΄ Μαιευτικών & Γυναικολογικών Κλινικών του Πανεπιστημίου**

**Αθηνών.** Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ», Πανεπιστημιακό

Νοσοκομείο «ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ», Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ»

**ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ - 1989-2017 ( ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ ):**

**Ως εκπαιδευτής (αντικείμενο – φορείς εκπαίδευσης):**

**2010 - 2017**

- Συμβολή στην εκπαίδευση των Φοιτητών Ιατρικής και των Μαιών της **Α' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής, Γ.Ν. Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»** «Ειδικό Τμήμα Μαστού»

Ομιλίες, Διαλέξεις:

- **Ομιλίες στα Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα της Α' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής, Γ.Ν. Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»:**

1. Ερμηνεία λεξικού BI-RADS TM στη διαγνωστική απεικόνιση παθήσεων μαστού. 22 Φεβρουαρίου 2013, Αμφιθέατρο Γ.Ν.Α. Αλεξάνδρα, Αθήνα
2. Μαιευτικά επείγοντα. Κατακράτηση πλακούντα. 17-18 Ιανουαρίου 2015, Αμφιθέατρο Γ.Ν.Α. Αλεξάνδρα, Αθήνα
3. Πλήρης λεμφαδενικός καθαρισμός μασχάλης (ALND). 4 Νοεμβρίου 2016, Αμφιθέατρο Γ.Ν.Α. Αλεξάνδρα, Αθήνα

- **Μετεκπαιδευτικά Σεμινάρια της Α' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής, Γ.Ν. Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»:**

1. Αντισύλληψη κατά τη γαλουχία. 9<sup>ο</sup> Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Μητρικού Θηλασμού. 15-19 Ιουνίου 2015, Αμφιθέατρο Γ.Ν.Α. Αλεξάνδρα, Αθήνα
2. Τακτικό σεμινάριο θηλασμού. Δεκατρείς (13) ομιλίες για θηλασμό:
  - α. Αμηνόρροια της λοχείας
  - β. Ειδικά θέματα αντενδείξεων γαλουχίας
  - γ. Φάρμακα και θηλασμός

- **Ομιλίες σε Δημόσιους & Ιδιωτικούς Φορείς, Δήμους & Εκπαιδευτήρια:**

«Πρόληψη ενημέρωση και Γενετική συμβουλευτική για τον καρκίνο μαστού»:  
 Δήμος Νέας Φιλαδέλφειας, Δήμος Αχαρνών (Θρακομακεδόνες),  
 Εκπαιδευτήρια και Πολιτιστικό Κέντρο Δήμου Νέας Φιλαδέλφειας, Νέας Ιωνίας  
 και Νέας Χαλκηδόνος (4 τέσσερις)

**2009 - 2010**

Συμβολή στην εκπαίδευση των Φοιτητών Ιατρικής και των Μαιών της **Α' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής, Γ.Ν. Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»** «Ειδικά Μαιευτικά & Γυναικολογικά Τμήματα» (Βραχείας νοσηλείας, Υστεροσκοπήσεων, Ουρογυναικολογίας, Κολποσκόπησης, Λαπαροσκοπικής χειρουργικής, Εμμηνόπαυσης, Παιδικής-Εφηβικής γυναικολογίας, Καθ' ἑξιν αποβολών, IVF, Οικογενειακού προγραμματισμού)

**Ομιλίες Αμφιθεάτρου, Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα,**

Γ.Ν. Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ» Μαθήματα Παρασκευής. Θέματα:

1. «Evidence Based Medicine - EBM». ( Πως διαβάζουμε & γράφουμε Ιατρικές εργασίες) 7.5.2009
2. «Καρκίνος τραχήλου μήτρας & εγκυμοσύνη / κύηση».21.5.2009
3. «Θρομβοπροφύλαξη ασθενών με Γυναικολογικό καρκίνο». 2.10.2009

**2008 - 2009**

Συμβολή στην εκπαίδευση των Φοιτητών Ιατρικής και των Μαιών της **Α' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής, Γ.Ν. Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»** «Γυναικολογικά Τμήματα». (Γυναικολογικών καλοήθων παθήσεων & Γυναικολογικής Ογκολογίας)

**Ομιλίες Αμφιθεάτρου, Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα**

Γ.Ν. Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ» Μαθήματα Πέμπτης. Θέματα:

1. «Καρκίνος Μαστού & κύηση». (Παρουσίαση περιστατικού, Συζήτηση-σχόλια) 3.4.2008
2. «Σύγκριση υστερεκτομίας ή εμβολισμού μητριάας αρτηρίας, σε ινομυώματα μήτρας». ( Μελέτη: Oxford Univ.+St.Marys, Manch/er, UK ) 4.6.2008
3. «Κολπική αιμόρροια + κύηση». (Αιμορραγίες 1<sup>ο</sup>, 2<sup>ο</sup>, 3<sup>ο</sup> τρίμηνου κύησης) 18.6.2008
4. «Καλοήθεις παθήσεις μαστού». (& Ειδικά θέματα μαστού) 30.10.2008

**2006 - 2007**

Συμβολή στην εκπαίδευση των Φοιτητών Ιατρικής και των Μαιών της **Α' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής, Γ.Ν. Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»** «Αίθουσα Τοκετών & Μαιευτικά Τμήματα»

(Λεχιδών, Παθολογίας κύησης - Κυήσεων υψηλού κινδύνου, Εξ.Μαιευτικών ιατρείων, Υπερήχων).

Ομιλία Αμφιθεάτρου,Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα

Γ.Ν.Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ» Μαθήματα Πέμπτης.

Θέμα: «Ορολογία – Ενδείξεις υποβοηθούμενου τοκετού». (Νέο Ιστορικό Αίθουσας Τοκετών) 2.11.2006

**2004 - 2005**

Συμβολή στην εκπαίδευση των Φοιτητών Ιατρικής της **Α' Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Γ. Ν. Αθηνών «ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ».**

Θέματα: α.«Αντιμετώπιση χειρουργικών ασθενών - θάλαμοι Νοσηλείας & εξωτερικά ιατρεία» β.«Επίδειξη τεχνικών βιοψίας μαστού Mammoctome», στο Ειδικό Τμήμα Μαστού της κλινικής.

**2004**

Εκπαιδευτής στο **Δημόσιο Ινστιτούτο Επαγγελματικής Κατάρτισης «Ι.Ε.Κ.- ΑΡΓΥΡΟΥΠΟΛΗΣ», ΟΕΕΚ:** Οργανισμός Εκπαίδευσης & Επαγγελματικής Κατάρτισης του ΥΠ.Ε.Π.Θ. Υπεύθυνος θεωρητικών διδασκαλιών, Μάθημα: «Ιολογία & Μυκητολογία».Εαρινό εξάμηνο σπουδών 2004.

ΜΜ

**1998 - 2003**

Συμβολή στην εκπαίδευση, στο **Παθολογοανατομικό Εργαστήριο του Γ.Ν.Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»,** των επισκεπτών Σπουδαστών, τελειοφοίτων ΙΕΚ & ΤΕΙ της ημεδαπής και αντιστοίχων Σχολών της αλλοδαπής (Σουηδίας, Φινλανδίας-ευρωπαϊκά προγράμματα μορφωτικών ανταλλαγών φοιτητών). Μαθήματα: επαγγελματικής νοσοκ/ακής κατάρτισης «Αρχές λειτουργίας Παθολογοανατομικού εργαστηρίου, επίδειξη ιστολογικών ανοσοϊστοχημικών τεχνικών και χρώσεων»



## ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

**Αριστεία – Έπαινοι: (ΙΚΥ)** Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών ( 2 φορές )

**Βραβεύσεις επιστημονικών εργασιών:** Συνέδρια ( 4 φορές )

## ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά και Γαλλικά

## ΣΥΣΤΑΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΟΛΕΣ

**Στη διάθεσή σας (15).**

Επισυνάπτονται επιστολές, από το χρονικό διάστημα των βασικών σπουδών και της επαγγελματικής εμπειρίας:

**Καθηγητής: Γ. Κρεατσάς,** Β΄ Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, Νοσοκομείο «ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ», π. Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Αθηνών (Dean's Letter), π. Αντιπρύτανης Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Καθηγητής: Α. Αντσακλής,** Α΄ Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, Νοσοκομείο «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ», Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Καθηγητής: Δ. Μπότσης,** Β΄ Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, Νοσοκομείο «ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ», Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Επ.Καθηγητής: Γ. Σακελλαρόπουλος ( Tutor ),** Α΄ Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, Νοσοκομείο «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ», Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Ομ.Καθηγητής: Ι. Μπράμης,** Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Νοσοκομείο «ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ», Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Καθηγητής: Γ. Ζωγράφος,** Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Τμήμα Μαστού, Νοσοκομείο «ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ», Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Αν. Καθηγητής: Β. Κατεργιαννάκης**, Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Νοσοκομείο «ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ», Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

---

**Δρ. Σ. Μαρκάκη**, π. Διευθύντρια Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ».

---

**Καθηγητής: Ν. Παπαδόπουλος**, Εδρα & Εργαστήριο Περιγραφικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

**Καθηγητής: Χ. Κίττας**, Εδρα & Εργαστήριο Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

**Καθηγητής: Π. Δάβαρης**, Εδρα & Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

**Αν. Καθηγήτρια: Χ. Καραγεωργίου**, Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

---

**Καθηγήτρια: Ε. Καλκάνη-Μπουσιάκου**, Εδρα-Τομέας Μικροβιολογίας Ιολογίας, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Τ.Ε.Ι Αθηνών.

**Καθηγητής: Ι. Πισπίνης**, Εδρα-Τομέας Μικροβιολογίας-Κλινική Χημείας Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Τ.Ε.Ι Αθηνών.

**Καθηγήτρια: Α. Φερδερίγου**, Τομέας Κλινικής Βιοχημείας, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Τ.Ε.Ι Αθηνών.

---

## ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΑΡΘΡΑ

1. Douskos A, **Giannos A**, Stavrou S, Sotiropoulou M, Feida E, Dimitrakakis C, Drakakis P, Rodolakis A.

A unique case of total metastatic lobular breast carcinoma, originating from diffused microcalcifications, presented in a postmenopausal woman, without clinical manifestations.

Int J Surg Case Rep. 2018 [Epub ahead of print]

2. **Giannos A**, Stavrou S, Gkali C, Chra E, Marinopoulos S, Chalazonitis A, Dimitrakakis C, Drakakis P

A prepubertal giant juvenile fibroadenoma in a 12-years old girl. Case report and brief literature review.

Int J Surg Case Rep Dec. 2017 (in press) PubMed Central.

3. **Giannos A**, Stavrou S, Goumalatsos N, Fragkoulidis G, Chra E, Argiropoulos D, Loutradis D, Drakakis P.

Mesenteric cysts and mesenteric venous thrombosis leading to intestinal necrosis in pregnancy managed with laparotomy: a case report and review of the literature.

J Med Case Rep. 2017 Jul 7;11(1):184. doi: 10.1186/s13256-017-1320-5.

4. Gkali C, **Giannos A**, Primetis E, Chalazonitis A, Anastasiadi T, Feida E, Sotiropoulou M, Dimitrakakis C, Antoniou A.

Giant Juvenile Fibroadenoma in a 12-Year-Old Girl: Ultrasonography, Elastography, Clinical, and Pathology Findings of This Rare Type of Fibroadenoma.

Ultrasound Q. 2017 Mar;33(1):51-54.

5. Gkali CA, Chalazonitis AN, Feida E, Sotiropoulou M, **Giannos A**, Tsigginou A, Dimitrakakis C.  
Breast Elastography: How We Do It.  
Ultrasound Q. 2015 Dec;31(4):255-61.
  
6. **Giannos A**, Filipits M, Zagouri F, Brandstetter A, Tsigginou A, Sotiropoulou M, Papaspyrou I, Sergentanis TN, Psaltopoulou T, Rodolakis A, Antsaklis A, Dimopoulos MA, Dimitrakakis C.  
Expression of ARs in triple negative breast cancer tumors: a potential prognostic factor?  
Onco Targets Ther. 2015 Jul 23;8:1843-7.
  
7. Gkali CA, Chalazonitis AN, Feida E, **Giannos A**, Sotiropoulou M, Dimitrakakis C, Loutradis D.  
Primary Non-Hodgkin Lymphoma of the Breast: Ultrasonography, Elastography, Digital Mammography, Contrast-Enhanced Digital Mammography, and Pathology Findings.  
Ultrasound Q. 2015 Dec;31(4):279-82.
  
8. Zagouri F, Bago-Horvath Z, Rössler F, Brandstetter A, Bartsch R, Papadimitriou CA, Dimitrakakis C, Tsigginou A, Papaspyrou I, **Giannos A**, Dimopoulos MA, Filipits M.  
High MET expression is an adverse prognostic factor in patients with triple-negative breast cancer.  
Br J Cancer. 2013 Mar 19;108(5):1100-5.

## **B. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **1. Στοιχεία Ανατομίας και Ιστολογίας του μαστού**

#### **1.1. Ανατομία του μαστού**

Η λειτουργία των μαστικών αδένων είναι η έκκριση του γάλακτος. Στη γυναίκα πριν την ανάπτυξή τους, οι μαστικοί αδένες είναι παρόμοιοι με του άνδρα. Κατά την ήβη, υπό την επίδραση των ορμονών του φύλου, οι μαστικοί αδένες της γυναίκας μεγαλώνουν και αποκτούν το ημισφαιρικό τους σχήμα. Οι πόροι των αδένων επιμηκύνονται και η εναπόθεση λίπους συνεισφέρει στην αύξηση του μεγέθους του μαστού.

Η βάση του μαστού εκτείνεται από τη δεύτερη ως την έκτη πλευρά, από το έξω χείλος του στέρνου ως τη μέση μασχαλιαία γραμμή. Ο μαστικός αδένας, κατά το μεγαλύτερο μέρος του βρίσκεται μέσα στην επιπολής περιτονία. Ένα μικρό του μέρος, γνωστό ως μασχαλιαία απόφυση (ουρά του μαστού) εκτείνεται προς τα άνω και έξω, διαπερνά την εν τω βάθει περιτονία αντίστοιχα προς το κάτω χείλος του μείζονος θωρακικού μυός και έρχεται σε στενή σχέση με τα μασχαλιαία αγγεία.

Δεκαπέντε ως είκοσι λοβοί απαρτίζουν το μαστικό αδένα. Οι λοβοί διατάσσονται ακτινοειδώς γύρω από τη θηλή. Ο κύριος πόρος κάθε λοβού εκβάλλει ανεξάρτητα στην κορυφή της θηλής και λίγο πριν την εκβολή του εμφανίζει το διευρυσμένο γαλακτοφόρο κόλπο. Τα διαφραγμάτια του άνω τμήματος του μαστικού αδένα είναι καλά ανεπτυγμένα και χρησιμεύουν ως κρεμαστήριοι σύνδεσμοι, εκτεινόμενα από το δέρμα ως την εν τω βάθει περιτονία. Ο μαστικός αδένας χωρίζεται από την περιτονία που καλύπτει τους υποκείμενους μυς με χαλαρό συνδετικό ιστό που είναι γνωστός ως οπισθομαστικός χώρος.

Η βάση της θηλής περιβάλλεται από κυκλική περιοχή βαθυχρωματικού δέρματος, η οποία ονομάζεται θηλαία άλως. Μικρά οζίδια εμφανίζονται στη θηλαία

άλω από τους υποκείμενους αλwaiούς αδένες. Στη νεαρή γυναίκα οι μαστοί τείνουν να προβάλλουν προς τα εμπρός, από κυκλική βάση. Στις ηλικιωμένες γυναίκες οι μαστοί κρέμονται προς τα κάτω. Σημειώνεται ότι οι μαστοί φθάνουν στο μέγιστο μέγεθός τους κατά το θηλασμό.

Ο μαστός αιματώνεται από διαπιτραίνοντες κλάδους της έσω μαστικής αρτηρίας και των μεσοπλευρίων αρτηριών. Η μασχαλιαία αρτηρία αρδεύει επίσης τον αδένα μέσω της πλάγιας θωρακικής και της ακρωμιοθωρακικής αρτηρίας. Οι φλέβες αντιστοιχούν προς τις αρτηρίες.

Η λεμφική αποχέτευση του μαστού έχει σημαντική κλινική αξία λόγω της εξάπλωσης του καρκίνου του μαστού προς τα λεμφογάγγλια. Τα λεμφοφόρα τριχοειδή του μαστού αναστομώνονται και σχηματίζουν δίκτυο το οποίο κατά της μέση γραμμή συνεχίζεται με το δίκτυο του ετερόπλευρου μαστού, ενώ προς τα κάτω συνεχίζεται με το δίκτυο του κοιλιακού τοιχώματος. Τα απαγωγά λεμφαγγεία του δικτύου συνοδεύουν τα αγγεία που αρδεύουν τον αδένα. Η λέμφος από την έξω μοίρα του αδένα αποχετεύεται προς τα πρόσθια μασχαλιαία ή θωρακικά λεμφογάγγλια, η λέμφος από την έσω μοίρα προς τα λεμφογάγγλια που βρίσκονται κατά μήκος της έσω μαστικής αρτηρίας, ενώ λίγα λεμφαγγεία ακολουθούν τις οπίσθιες μεσοπλευρίες αρτηρίες και εκβάλλουν στα οπίσθια μεσοπλευρία λεμφογάγγλια. Το δίκτυο υπό την θηλαία άλw και το υπομαστικό δίκτυο (στην περιτονία που καλύπτει το μείζονα θωρακικό μυ) δεν θεωρείται ότι έχουν ιδιαίτερη σημασία για τη λεμφική αποχέτευση του μαστού [1].

## 1.2. Ιστολογία του μαστού

Κάθε λοβός του μαστού αποτελεί ένα εκτεταμένο σύστημα πολυδιακλαδιζόμενων μεγάλων πόρων που εισχωρούν βαθιά στον ινολιπώδη ιστό. Κάθε πόρος επενδύεται από μία εσωτερική, συνεχή στιβάδα κυβοειδών ή κυλινδρικών επιθηλιακών κυττάρων, με ωοειδής πυρήνες και από μια εξωτερική ασυνεχή στιβάδα μυοεπιθηλιακών κυττάρων με διαυγές κυτταρόπλασμα.

Οι πόροι περιβάλλονται από αραιό ινοκολλαγόνωδη στηρικτικό ιστό, ο οποίος περιέχει πλούσιο τριχοειδικό δίκτυο και ελαστικές ίνες. Οι ελαστικές ίνες απουσιάζουν από το ινώδες έλυτρο των μικρών περιφερικών κλάδων των πόρων.

Το σύστημα των μεγάλων μαστικών πόρων καταλήγει τυφλά σε ένα δίκτυο μικρών τελικών σωληναρίων. Το δίκτυο τελικών σωληναρίων μαζί με το σύστοιχο τελικό πόρο ονομάζεται μαστικό λόβιο. Οι τελικοί πόροι διαθέτουν ενδολοβιακό και εξωλοβιακό τμήμα. Γύρω από τους ενδολοβιακούς τελικούς πόρους και τα τελικά σωληνάρια παρατηρείται χαλαρός στηρικτικός συνδετικός ιστός πλούσιος σε τριχοειδή αγγεία, με λίγα λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και σιτευτικά κύτταρα. Στην περιφέρεια ο ινοκολλαγόνωδης στηρικτικός ιστός αναμειγνύεται με λιπώδη ιστό [2].

## 2. Καρκίνος μαστού - Επιδημιολογία

### 2.1. Επιδημιολογία και Παράγοντες Κινδύνου

Σύμφωνα με τα νεότερα δεδομένα της βάσης Surveillance Epidemiology and End Results Program (SEER) των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής [3], το 12.4% των γυναικών θα διαγνωστούν με καρκίνο του μαστού κάποια στιγμή στη ζωή τους, όπως κατέδειξε η επεξεργασία δεδομένων των ετών 2011-2013. Με βάση τα δεδομένα αυτά, ο καρκίνος μαστού αποτελεί το συχνότερο τύπο καρκίνου στις γυναίκες. Η ίδια βάση έδειξε ότι ο αριθμός νέων περιστατικών καρκίνου μαστού στις γυναίκες ήταν 125.0 ανά 100,000 γυναίκες ανά έτος. Αντίστοιχα, ο αριθμός των θανάτων ήταν 21.5 ανά 100,000 γυναίκες ανά έτος. Οι ανωτέρω υπολογισμοί είναι προσαρμοσμένοι για την ηλικία (age-adjusted) και βασίζονται στην επεξεργασία των δεδομένων των ετών 2009-2013 της βάσης SEER. Υπολογίζεται ότι κατά το έτος 2013, 3,053,450 γυναίκες με καρκίνο μαστού ζούσαν στις ΗΠΑ.

Η διάμεση ηλικία διάγνωσης καρκίνου του μαστού είναι τα 62 έτη. Ως προς τις ηλικιακές κλάσεις, το ποσοστό διάγνωσης επιμερίζεται σε 25.7% για την ομάδα 55-64, ακολουθούμενο από 22.6% για την ομάδα 65-74, 21.3% για την ομάδα 45-54, 14.0% για την ομάδα 75-84, 8.9% για την ομάδα 35-44, 5.7% για την ομάδα >84 και μόλις 1.8% για τις ηλικίες κάτω των 35 ετών.

Ο καρκίνος μαστού στις ΗΠΑ συχνότερα διαγιγνώσκεται εντοπισμένος (61%), ενώ σε ποσοστό 31% διαγιγνώσκεται όταν έχει ήδη διασπαρεί στους λεμφαδένες. Σε ποσοστό 6% ο καρκίνος έχει ήδη δώσει μεταστάσεις κατά τη διάγνωση. Η πενταετής επιβίωση του καρκίνου του μαστού είναι 89.7%, σύμφωνα με τα δεδομένα του SEER για τα έτη 2006-2012. Τα αντίστοιχα ποσοστά ανά στάδιο είναι 98.8% για τον εντοπισμένο καρκίνο μαστού, 85.2% για τα περιστατικά που έχουν διασπαρεί στους λεμφαδένες και 26.3% για τα περιστατικά που έχουν εμφανίσει μετάσταση. Σύμφωνα με στατιστικά μοντέλα, ενώ η επίπτωση του καρκίνου μαστού στις ΗΠΑ έχει



παραμένει σταθερή κατά τα τελευταία 10 έτη, η θνησιμότητα από καρκίνο μαστού ελαττώνεται κατά 1.9% ανά έτος κατά την περίοδο 2004-2013 [3].

Πλήθος παραγόντων έχουν αναγνωριστεί ως παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού. Μετα-ανάλυση η οποία συνέλεξε δεδομένα σε επίπεδο ατόμου (individual data) από 117 επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης οι οποίες περιέλαβαν 118,964 γυναίκες με διηθητικό καρκίνο μαστού και 306,091 γυναίκες χωρίς τη νόσο, παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, δεδομένου ότι υπολόγισε προσαρμοσμένους σχετικούς κινδύνους (adjusted relative risks ,RRs) οι οποίοι αφορούσαν στην εμμηναρχή και την εμμηνόπαυση συνολικά. Η μετα-ανάλυση έδειξε ότι ο κίνδυνος καρκίνου του μαστού αυξάνεται κατά 1.050 (95% CI: 1.044-1.057,  $p < 0.0001$ ) για κάθε έτος νεότερης εμμηναρχής, και ανεξάρτητα κατά 1.029 (95% CI: 1.025-1.032;  $p < 0.0001$ ), για κάθε έτος γηραιότερης εμμηνόπαυσης. Στην ίδια μετα-ανάλυση οι προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες είχαν υψηλότερο κίνδυνο καρκίνου μαστού σε σχέση με τις μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες ίδιας ηλικίας (RR στις ηλικίες 45-54 ετών 1.43, 1.33-1.52,  $p < 0.001$ ). Οι προαναφερθείσες συσχετίσεις εξασθενούσαν αυξανόμενης της παχυσαρκίας των μετεμμηνόπαυσιακών γυναικών, όμως δεν τροποποιούνταν από το έτος γέννησης της μητέρας, την εθνότητα, το ιστορικό τεκνοποιίας, το κάπνισμα, την κατανάλωση αλκοόλ ή τη λήψη αντισυλληπτικών. Οι συσχετίσεις ήταν ισχυρότερες για το λοβιακό σε σχέση με τον πορογενή καρκίνο του μαστού ( $p < 0.006$  για κάθε σύγκριση). Η επίδραση της εμμηνόπαυσης ήταν ισχυρότερη για τους ER-θετικούς όγκους σε σχέση με τους ER-αρνητικούς ( $p < 0.01$ ). Η μετα-ανάλυση συμπέρανε ότι οι ενδογενείς ορμόνες των ωοθηκών συνδέονται στενότερα με το λοβιακό καρκίνο του μαστού και πρωτίστως με τον ER-θετικό υπότυπο [4].

Σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του μαστού είναι το ατομικό ιστορικό προηγηθέντος καρκίνου μαστού πορογενούς καρκινώματος in situ (DCIS), ή

λοβιακού καρκινώματος in situ (LCIS) [5], το ατομικό ιστορικό καλοήθων νεοπλασμάτων του μαστού, οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού σε συγγενή πρώτου βαθμού (μητέρα, κόρη, αδελφή), η παρουσία πυκνών μαστών στη μαστογραφία [6], η παχυσαρκία [7,8], η λήψη θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης [9], η ατεκνία [10], η ακτινοθεραπεία στο θώρακα, η κατανάλωση αλκοόλ [11,12], καθώς επίσης γενετική επιβάρυνση, η οποία αναπτύσσεται εκτενέστερα παρακάτω.

Απεναντίας, υπάρχουν παράγοντες οι οποίοι προστατεύουν από την εμφάνιση καρκίνου του μαστού. Εκείνοι περιλαμβάνουν την εγκυμοσύνη σε νεαρή ηλικία, τη σωματική δραστηριότητα [13,14] και το θηλασμό [15,16]. Για το θηλασμό ειδικά αξίζει να αναφερθεί ότι πρόσφατη μετα-ανάλυση 27 μελετών έδειξε ισχυρότερη προστατευτική επίδραση για τον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού, συγκριτικά με την πιθανή επίδραση που εκείνος έχει στους καρκίνους μαστού που είναι θετικοί στους ορμονικούς υποδοχείς [15]. Η ωοθηκεκτομή επίσης ελαττώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.

Το πορογενές καρκίνωμα in situ (ductal carcinoma in situ, DCIS) του μαστού είναι ο πιο κοινός τύπος μη διηθητικού καρκίνου του μαστού, ενώ επίσης θεωρείται άμεση πρόδρομη αλλοίωση (direct precursor) του διηθητικού καρκίνου του μαστού [17,18]. Η τοπική υποτροπή στους ασθενείς με DCIS αποτελεί σημαντικό πρόβλημα, δεδομένου ότι η διήθηση κατά την υποτροπή έχει σχετιστεί με αυξημένη συχνότητα μετάστασης και θνησιμότητας [19,20]. Πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες αναζητούν τρόπους ταυτοποίησης των ασθενών που είναι σε αυξημένο κίνδυνο υποτροπής του DCIS, ως σημαντική προτεραιότητα.

Τα προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου (screening) στα εξελεγμένα συστήματα υγείας [17] έχουν οδηγήσει σε αύξηση της επίπτωσης του DCIS το οποίο ανιχνεύεται είτε μέσω της μαστογραφίας είτε μέσω βιοπτικών μεθόδων [21,22]. Η χειρουργική βιοψία παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για την έκταση της αλλοίωσης, τα

ορία της, τον πολυεστιακό ή πολυκεντρικό της χαρακτήρα, το βαθμό ιστολογικής κακοήθειας και την ανοσοϊστοχημική έκφραση υποδοχέων (υποδοχείς οιστρογόνων και προφεστερόνης, υποδοχέας HER2) καθώς επίσης το ρυθμό πολλαπλασιασμού της αλλοίωσης, ο οποίος εκφράζεται με το δείκτη Ki-67. Τα εν λόγω ευρήματα μπορούν να βοηθήσουν τον κλινικό στις αποφάσεις του για τη θεραπεία (χειρουργική, επικουρική ακτινοθεραπεία, χορήγηση ταμοξιφαίνης) και την πρόγνωση του DCIS [23]. Για παράδειγμα, ο προγνωστικός δείκτης κατά Van Nuys είναι ένα καλά τεκμηριωμένο πλαίσιο, το οποίο στην αρχική του εκδοχή (1996) συνδύαζε τρεις προβλεπτικούς παράγοντες για την τοπική υποτροπή, ήτοι το μέγεθος όγκου, το εύρος των ορίων και η παθολογοανατομική ταξινόμηση [24,25]. Επτά χρόνια αργότερα, το επικαιροποιημένο προγνωστικό σύστημα University of Southern California/Van Nuys επίσης συμπεριέλαβε την ηλικία των ασθενών ως αντίστροφα συσχετιζόμενο παράγοντα. Οι ασθενείς με DCIS με ενδιάμεσα scores μπορούν να θεραπευτούν μόνο με εκτομή, ενώ οι ασθενείς με υψηλά scores (10 ή υψηλότερα) πρέπει να εξετάζονται για περαιτέρω θεραπεία (ακτινοβολήση ολόκληρου του μαστού, μαστεκτομή, ταμοξιφαίνη) [26,27].

Πρόσφατη μελέτη, η οποία εξέτασε 108,196 ασθενείς με DCIS στη βάση Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) έδειξε ότι η 20-ετής θνησιμότητα λόγω καρκίνου του μαστού ήταν 3.3% (95% CI, 3.0%-3.6%) και ανέδειξε ως σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για θάνατο από καρκίνο του μαστού μετά τη διάγνωση του DCIS την ηλικία κατά τη διάγνωση και τη μαύρη φυλή [28]. Νεότερα πολυγονιδιακά προγνωστικά συστήματα έχουν πλέον εισέλθει δυναμικά στην Επιδημιολογία του DCIS [29,30]. Έχουν δημοσιευθεί όμως και αντικρουόμενα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία, δεδομένου ότι ορισμένες μελέτες έχουν υποστηρίξει την αξία βιολογικών δεικτών στην πρόβλεψη της υποτροπής του DCIS [31,32], ενώ άλλες μελέτες δεν έχουν καταδείξει προβλεπτική σημασία [33]. Το Oncotype DX

DCIS Score (DS) έχει φανεί να προβλέπει αξιόπιστα τον κίνδυνο της τοπικής υποτροπής σε ασθενείς με DCIS οι οποίοι αντιμετωπίζονται με χειρουργική τεχνική η οποία διατηρεί το μαστό (BCS alone) [34].

## 2.2 Γενετική Επιδημιολογία καρκίνου μαστού

Σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό, γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού έχουν αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση της νόσου. Ο κίνδυνος ποικίλλει ανάλογα με τον αριθμό των προσβεβλημένων συγγενών, το βαθμό συγγένειας και την ηλικία διάγνωσης. Έχουν μάλιστα αναπτυχθεί ειδικά εργαλεία για την αξιολόγηση του κινδύνου [35-37]. Θεωρείται ότι η κληρονομική επιβάρυνση ευθύνεται για 5% με 10% του συνόλου του καρκίνου του μαστού, ενώ οι μεταλλάξεις διαφέρουν ανάλογα με τη φυλή και την εθνοτική ομάδα.

Γυναίκες οι οποίες φέρουν μεταλλάξεις σε γονίδια όπως τα BRCA1 και BRCA2 εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού. Οι εν λόγω γυναίκες επίσης εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο για άλλους καρκίνους, όπως τον καρκίνο των ωοθηκών. Σύμφωνα με την American Cancer Society, τα κριτήρια για την ένταξη μιας γυναίκας σε ομάδα υψηλού κληρονομικού κινδύνου είναι: γυναίκες με γνωστή μετάλλαξη στα γονίδια BRCA1 ή BRCA2 ή οι μη ηλεγμένες πρώτου βαθμού συγγενείς αυτών, γυναίκες με γενετικά σύνδρομα (Li-Fraumeni, Cowden, Peutz-Jeghers, Bannayan-Riley-Ruvalcaba) και οι συγγενείς πρώτου βαθμού αυτών, καθώς επίσης γυναίκες που έχουν κίνδυνο ανάπτυξης ίσο ή μεγαλύτερο από 20-25% σύμφωνα με το σύστημα BRCAPRO ή άλλα μοντέλα οικογενειακού ιστορικού [38]. Ελαφρώς τροποποιημένα κριτήρια εμφανίζονται σε άλλους οργανισμούς, όπως π.χ. τα UK NICE guidelines [39].

Ο καρκίνος του μαστού που αναπτύσσεται σε γυναίκες φορείς μεταλλάξεων στο BRCA1 είναι συχνά τριπλά αρνητικός και έχει την τάση να αναπτύσσεται ταχέως, με όρια καλώς περιγεγραμμένα, γεγονός που καθιστά τη μαστογραφική του διάγνωση δυσχερή. Δεδομένου ότι οι γυναίκες που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο BRCA2 μπορεί να έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά από τις φορείς μεταλλάξεων στο γονίδιο BRCA1 [40], έχει προταθεί εξατομικευμένος προσυμπτωματικός έλεγχος ανάλογα με τον τύπο γενετικής μετάλλαξης.

Οι παλαιότερες κατευθυντήριες γραμμές θεωρούσαν ότι οι γυναίκες υψηλού κληρονομικού κινδύνου για καρκίνο του μαστού πρέπει να ελέγχονται με κλινική εξέταση και ετήσια μαστογραφία αρχής γενομένης από την ηλικία των 25-30 ετών [41]. Εντούτοις, ο προσυμπτωματικός έλεγχος με τη χρήση μόνο μαστογραφίας έχει δείξει ότι έχει χαμηλή ευαισθησία, η οποία κυμαίνεται ανάμεσα σε 14% και 59% σε αυτές τις τόσο νέες γυναίκες, γεγονός το οποίο σημαίνει ότι μεγάλο ποσοστό των καρκίνων (που μπορεί να φτάνει ως τα δύο τρίτα αυτών) δεν διαγιγνώσκονται έγκαιρα και ανιχνεύονται ως ενδιάμεσοι καρκίνοι (interval cancers) πριν την επόμενη επίσκεψη για προσυμπτωματικό έλεγχο [42]. Τα αποτελέσματα προοπτικών μελετών έχουν δείξει ότι η μαγνητική τομογραφία (MRI) μαστού έχει καλύτερη αποτελεσματικότητα στην ανίχνευση του καρκίνου του μαστού σε γυναίκες υψηλού κληρονομικού κινδύνου, σε σχέση με τη μαστογραφία [43], με αποτέλεσμα διεθνείς επιστημονικοί φορείς να την έχουν υιοθετήσει για τον έλεγχο των συγκεκριμένων γυναικών [44]. Η MRI, σε συνδυασμό μάλιστα με τη μαστογραφία σε ετήσια βάση, αποτελεί αποτελεσματικό πρωτόκολλο [45]. Εντούτοις, υπάρχει διχογνωμία για το κατά πόσον ο έλεγχος σε ετήσια βάση είναι επαρκής, ειδικά για τις φορείς BRCA1 μεταλλάξεων, δεδομένου ότι 2-14% των γυναικών παρουσιάζονται με ψηλαφητούς interval όγκους μετά από αρνητική μαστογραφία κατά το τελευταίο έτος [46-49],

γεγονός το οποίο πιθανόν σχετίζεται με τον πολύ υψηλό δείκτη πολλαπλασιασμού των τριπλά αρνητικών όγκων.

Οι Κατευθυντήριες Οδηγίες της EUSOMA (European Society of Breast Cancer Specialists) οι οποίες εκδόθηκαν το 2010, έχουν υπογραμμίσει το ρόλο της γενετικής συμβουλευτικής στην αξιολόγηση των γυναικών υψηλού κληρονομικού κινδύνου για καρκίνο του μαστού. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες αυτές Οδηγίες, οι γυναίκες υψηλού κινδύνου περιλαμβάνουν φορείς μεταλλάξεων των γονιδίων BRCA1, BRCA2, TP53, τους συγγενείς πρώτου βαθμού αυτών και γυναίκες από μη ελεγμένες οικογένειες με κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου μαστού ίσο με 20-30%. Οι Οδηγίες αυτές υποδεικνύουν ότι πρέπει να παρέχεται ετήσια MRI στις γυναίκες αυτές, σε εγκαταστάσεις και προγράμματα που να τηρούν αυστηρές προδιαγραφές. Η ηλικία έναρξης πρέπει να ξεκινάει μεταξύ των 20 και 30 ετών, ανάλογα με τον τύπο της μετάλλαξης. Η ετήσια MRI επίσης πραγματοποιείται σε γυναίκες που έχουν ήδη διαγνωστεί με καρκίνο μαστού. MRI μαστού επίσης πρέπει να πραγματοποιείται εντός τριών μηνών πριν την προφυλακτική μαστεκτομή για την ανίχνευση ήδη υπάρχοντος καρκίνου. Η απλή μαστογραφία, λόγω των ακτίνων Χ, πρέπει να αποφεύγεται σε γυναίκες-φορείς μεταλλάξεων της TP53 και σε γυναίκες μικρότερες των 35 ετών [50].

Στα ACR Appropriateness Criteria for Breast Cancer Screening [51], η μαστογραφία ξεκινά στην ηλικία των 25-30 ετών ή 10 έτη πριν την ηλικία διάγνωσης σε συγγενή πρώτου βαθμού, όμως η ηλικία έναρξης δεν πρέπει να είναι μικρότερη των 25 ετών. Η μαστογραφία και η MRI θεωρούνται συμπληρωματικές εξετάσεις, και πρέπει αμφότερες να πραγματοποιούνται. Το υπερηχογράφημα μπορεί να πραγματοποιηθεί όταν μια ασθενής δεν μπορεί να υποβληθεί σε MRI.

Φαίνεται λοιπόν ότι ο καρκίνος του μαστού σε γυναίκες με ισχυρή κληρονομική προδιάθεση έχει ιδιαίτερα ακτινολογικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά,

συγκρινόμενος με τον καρκίνο στο γενικό πληθυσμό. Ο πολυδιάστατος έλεγχος, με συνδυασμό μαστογραφίας και MRI φαίνεται εξαιρετικά υποσχόμενος.

### 3. Ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού

#### 3.1 Ορισμός και Επιδημιολογία του τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού

Ο τριπλά-αρνητικός καρκίνος του μαστού (Triple-negative breast cancer, TNBC) είναι ο υπότυπος καρκίνου του μαστού, ο οποίος χαρακτηρίζεται από την απουσία ανιχνεύσιμου υποδοχέα οιστρογόνων (ER), υποδοχέα προγεστερόνης (PR) και την έλλειψη ενίσχυσης του γονιδίου για τον υποδοχέα 2 του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2) [52]. Αποτελεί ομάδα ετερογενή και αντιστοιχεί περίπου στο 10-20% [53-57] του συνόλου των καρκίνων του μαστού.

Οι TNBC είναι περισσότερο συχνόι σε νεότερες ασθενείς, σε φορείς BRCA1 μεταλλάξεων, αλλά και σε συγκεκριμένες εθνοτικές ομάδες (Αφροαμερικανές και ισπανόφωνες γυναίκες), σε σύγκριση με τις Καυκάσιες γυναίκες. Έχει καταδειχθεί ότι οι Αφροαμερικανές γυναίκες έχουν διπλάσιες πιθανότητες να αναπτύξουν TNBC, γεγονός που υπογραμμίζει ότι το γονιδιακό υπόβαθρο έχει εξέχουσα σημασία για τη διαφοροποίηση της συγκεκριμένης ομάδας όγκων [53,58,59].

Ο TNBC συνοδεύεται από χειρότερα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά κατά τη διάγνωση, όπως υψηλότερο ιστολογικό βαθμό κακοήθειας, λεμφαδενική διήθηση και μεγαλύτερο μέγεθος όγκου [60]. Είναι υπότυπος περισσότερο επιθετικός, ο οποίος ακολουθείται από υψηλότερα ποσοστά υποτροπής και μειωμένη συνολική επιβίωση στη μεταστατική νόσο [60].

Οι ασθενείς με TNBC, οι οποίες έχουν υπολειμματική νόσο μετά από τη χημειοθεραπεία, έχουν σημαντικά χειρότερη επιβίωση και υψηλότερα ποσοστά υποτροπής μέσα στα 3 πρώτα έτη μετά τη θεραπεία [61,62], με διακριτό πρότυπο μεταστάσεων σε σχέση με τον μη TNBC (**Εικόνα 1**) και πρωιμότερη εμφάνιση



απομακρυσμένης υποτροπής (**Εικόνα 2**) [63]. Παρά τη γενικά κακή έκβαση, υπάρχει και ένα υποσύνολο των ασθενών, όπως εκείνες που επιτυγχάνουν πλήρη παθολογοανατομική απόκριση (pathological complete response, pCR) μετά από προεγχειρητική χημειοθεραπεία (neoadjuvant), οι οποίες έχουν ποσοστά επιβίωσης παρόμοια με εκείνα των άλλων υποτύπων καρκίνου του μαστού [61].

Μορφολογικά, οι περισσότεροι TNBC όγκοι είναι διηθητικά πορογενή καρκινώματα (εκείνα αποτελούν περίπου το 90% των TNBC όγκων). Όμως, η ετερογένεια των TNBC είναι σημαντική, καθώς απαντάται υψηλός επιπολασμός σπάνιων ιστοπαθολογικών υποτύπων, όπως μεταπλαστικό, μυελοειδές, αδενοειδές κυστικό και αποκρινές καρκίνωμα [57,64].

### 3.2. Μοριακοί υπότυποι του TNBC.

Μετα-ανάλυση 21 μελετών [62] εξέτασε ενδελεχώς το προφίλ έκφρασης 587 TNBC χρησιμοποιώντας δίτροπο (bimodal) φιλτράρισμα, ώστε να απομακρυνθούν οι PR(+), ER(+) και HER(+) όγκοι από τις αναλύσεις. Η μετα-ανάλυση αποκάλυψε τουλάχιστον έξι διακριτούς μοριακούς υποτύπους TNBC με διαφορετικό βιολογικό υπόβαθρο, που περιλαμβάνουν:

- δύο «βασικού τύπου» (BL1 και BL2) υποτύπους,
- έναν ανοσοτροποποιητικό (IM) υπότυπο,
- ένα μεσεγχυματικό (M) υπότυπο,
- ένα υπότυπο μεσεγχυματικού-βλαστικού χαρακτήρα (mesenchymal stem, MSL) και
- έναν υπότυπο «τύπου υποδοχέα ανδρογόνων του αυλού» (Luminal androgen receptor, LAR) [62] (**Εικόνα 4**).

Ο υπότυπος BL1 είναι σε σημαντικά εμπλουτισμένος σε συστατικά της μοριακής οδού της κυτταρικής διαίρεσης, όπως και σε οδούς απόκρισης στη βλάβη του DNA (ATR / BRCA οδοί). Ο υπότυπος BL2 εμφανίζει διακριτές γενετικές ανωμαλίες, που περιλαμβάνουν τις οδούς μεταγωγής σήματος αυξητικών παραγόντων (EGF, NGF, MET, Wnt / β-κατενίνη και IGF1R οδοί), τη γλυκόλυση, τη γλυκονεογένεση και την έκφραση των μυοεπιθηλιακών δεικτών (TP63 και MME). Ο υπότυπος IM είναι εμπλουτισμένος σε γενετικές ανωμαλίες, οι οποίες σχετίζονται με ανοσολογικές κυτταρικές διεργασίες και σηματοδοτικές οδούς του ανοσοποιητικού συστήματος. Αμφότεροι οι M και MSL υπότυποι χαρακτηρίζονται από γονίδια που εμπλέκονται στην κινητικότητα, εξωκυτάρια θεμέλια ουσία, μονοπάτια κυτταρικής διαφοροποίησης και γονίδια που σχετίζονται με την επιθηλιο-μεσεγχυματική μετατροπή (epithelial-mesenchymal transition, EMT). Ο υπότυπος MSL διαφέρει καθώς εκφράζει χαμηλά επίπεδα γονιδίων πολλαπλασιασμού και είναι εμπλουτισμένος σε γονίδια που σχετίζονται με τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα. Ο υπότυπος LAR εμφανίζει πρότυπα γονιδιακής έκφρασης αυλικού τύπου και είναι σε μεγάλο βαθμό εμπλουτισμένος ως προς γονίδια που εμπλέκονται στη σύνθεση στεροειδών και το μεταβολισμό ανδρογόνων / οιστρογόνων. Μεταξύ αυτών συμπεριλαμβάνονται τα υψηλά επίπεδα των AR, των γονιδίων-στόχων και συν-ενεργοποιητών τους [52].

Αντιστοιχώντας τα προαναφερθέντα στο επίπεδο των κυτταρικών σειρών, πέντε από τις επτά κυτταρικές σειρές που εμφανίζουν BRCA1/2 μεταλλάξεις ταξινομούνται στους BL1 και BL2 υποτύπους. Οι κυτταρικές σειρές που έχουν ταξινομηθεί ως MSL έχουν αποδιαφοροποιημένη μορφολογία, παρατηρούμενη σε καρκινώματα μαστού καθώς επίσης και σε μεταπλαστικά / αναπλαστικά καρκινώματα. Οι κυτταρικές σειρές LAR έχουν υψηλά επίπεδα AR, τόσο σε επίπεδο RNA όσο και πρωτεϊνικής έκφρασης. Οι κυτταρικές σειρές εμφανίζουν διαφορετική

ευαισθησία στη cis-πλατίνη (οι BL1 κυτταρικές σειρές και οι BRCA1/2 - μεταλλαγμένες είναι πιο ευαίσθητες), στον αναστολέα abl/src dasatinib (M και MSL κυτταρικές σειρές ιδιαίτερα ευαίσθητες), στον αναστολέα PI3K/mTOR NVP-BEZ235 (M, MSL και LAR κυτταρικές σειρές πιο ευαίσθητες) και στη βικαλουταμίδη (μόνο LAR κυτταρικές σειρές εμφανίζουν ευαισθησία). Τα εν λόγω μοντέλα κυτταρικών σειρών έχουν ιδιαίτερη σημασία για μελλοντικές προκλινικές μελέτες που θα αξιολογούν παράγοντες στόχευσης της σηματοδότησης αυξητικών παραγόντων και οδών κυτταρικής διαφοροποίησης.

Οι μοριακοί υπότυποι φαίνεται επίσης να έχουν προβλεπτική σημασία σε κλινικό επίπεδο. Πρόσφατη μελέτη [65] με αναδρομικό σχεδιασμό σε 130 TNBC βιοψίες, που ελήφθησαν πριν από την προεγχειρητική (neoadjuvant) χημειοθεραπεία αποτελούμενη από ανθρακυκλίνη και ταξάνη παρείχε ενδιαφέροντα ευρήματα. Ειδικότερα, ενώ η συνολική pCR απόκριση ήταν 28%, οι απαντήσεις διέφεραν σημαντικά ανά υπότυπο: ο υπότυπος BL1 επέτυχε το υψηλότερο ποσοστό pCR (52%), ενώ οι BL2, LAR και MSL υπότυποι είχαν τη φτωχότερη ανταπόκριση (0%, 10% και 23%, αντίστοιχα) [65].

Πρόσφατα, μια νέα μοριακή ταξινόμηση δημοσιεύθηκε [66], η οποία βασίστηκε σε αναλύσεις προφίλ RNA και DNA που διεξήχθησαν σε 198 TNBC όγκους στο Baylor College of Medicine. Ένα σύνολο δεδομένων 7 δημοσίως προσβάσιμων μελετών TNBC χρησιμοποιήθηκε για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων. Ο αριθμός αντιγράφων DNA, η ελεύθερη νόσου επιβίωση (DFS) και η ειδική για τη νόσο επιβίωση (disease-specific survival, DSS) αναλύθηκαν ξεχωριστά με τη χρήση αυτών των δεδομένων. Η νεότερη αυτή ταξινόμηση εντόπισε και επιβεβαίωσε τέσσερις διακριτούς TNBC υποτύπους:

(1) υπότυπος του αυλού-AR (LAR)

(2) μεσεγυχματικός (MES)

(3) βασικού τύπου με ανοσοκαταστολή (BLIS)

(4) βασικού τύπου με ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού (BLIA).

Από τους ανωτέρω μοριακούς υποτύπους, η πρόγνωση ήταν χειρότερη για BLIS όγκους και καλύτερη για BLIA όγκους τόσο ως προς τη DFS όσο και την DSS. Με βάση την ανάλυση αριθμού αντιγράφων DNA, προέκυψαν δύο μεγάλες ομάδες (LAR και MES / BLIS / BLIA) υποδεικνύοντας συγκεκριμένο πρότυπο ενισχύσεως γονιδίων (π.χ. FGFR2 στην ομάδα BLIS).

Η μελέτη επίσης ταυτοποίησε πιθανούς υπότυπο-ειδικούς στόχους και ειδικότερα **(Εικόνα 4)**:

- 1) LAR: υποδοχέας ανδρογόνων και στην κυτταρική επιφάνεια MUC 1 βλέννη,
- 2) MES: υποδοχείς του αυξητικού παράγοντα PDGF (υποδοχέα A, C-Kit),
- 3) BLIS: ένα μόριο καταστολής του ανοσοποιητικού (VTCN1) και
- 4) BLIA: μόρια μεταγωγής σήματος Stat και κυτοκίνες.

Το πεδίο της μοριακής ταξινόμησης των TNBC είναι ταχέως εξελισσόμενο. Νέες πληροφορίες έρχονται αδιάλειπτα στο φως, ενώ η διαρκής κριτική επανεξέταση των δεδομένων βελτιώνει την ερμηνεία και αναδεικνύει περιορισμούς των παλαιότερα δημοσιευμένων μοριακών μελετών.

### 3.3. Η έννοια του «Βασικού τύπου» καρκίνου του μαστού

Ως βασικά κύτταρα του μαστού ορίζονται ως τα κύτταρα σε βασική θέση, σε γεινίαση με τη βασική μεμβράνη [67]. Το επιστημονικό ενδιαφέρον για τα βασικά κύτταρα προκλήθηκε εξαιτίας του γεγονότος ότι μικροσυστοιχίες γονιδιακής έκφρασης (gene expression microarray profiling) έδειξαν πως μοριακά, ο καρκίνος του μαστού διακρίνεται σε πέντε υποτύπους, με έναν από αυτούς να εμφανίζει «βασικού τύπου» γονιδιακή έκφραση [68].

Οι όγκοι κατηγοριοποιούνται ως «βασικού τύπου» λόγω της έκφρασης των γονιδίων που βρέθηκαν στα φυσιολογικά βασικά / μυοεπιθηλιακά κύτταρα του μαστού, συμπεριλαμβανομένων υψηλού μοριακού βάρους βασικών κυτοκερατινών (CKs, CK5/6, CK14 και CK17) [69]. Οι «βασικού τύπου» καρκίνοι του μαστού τείνουν να εμφανίζονται σε νεότερες ασθενείς, συχνά φιλοξενούν TP53 μεταλλάξεις, είναι υψηλού grade και είναι γενικά πιο επιθετικοί [70]. Ενώ όμως οι «βασικού τύπου» καρκίνοι του μαστού αποτελούνται σε μεγάλο βαθμό από TNBCs, οι ταξινομήσεις αυτές δεν μπορούν να θεωρηθούν συνώνυμες. Οι αρχικές μελέτες που αξιολογούσαν τα προφίλ της γονιδιακής έκφρασης στους TNBC όγκους και στους «βασικού τύπου» αρχικά υποστήριζαν ταύτιση των δύο όρων, δεδομένου ότι ενίοτε η ανοσοϊστοχημεία ψευδώς ταξινομούσε ως αρνητικούς, όγκους που ήταν στην πραγματικότητα ER(+) HER2(+) [52,71].

Αξιολόγηση όμως των καρκίνων βάσει της γονιδιακής έκφρασης κατέδειξε ότι οι «βασικού τύπου» καρκίνοι είναι ER, PR και HER2 θετικοί σε διάφορους βαθμούς (15-54%) [72]. Αντίστοιχα, η ατελής επικάλυψη μεταξύ TNBC και «βασικού τύπου» καρκίνων επιβεβαιώθηκε από τους Bastien et al [73], οι οποίοι έδειξαν ότι το 57% των TNBCs ήταν «βασικού τύπου». Η πλειονότητα των όγκων με «βασικού τύπου» γονιδιακή έκφραση είναι λοιπόν TNBCs, αλλά δεν είναι όλα τα TNBCs «βασικού τύπου». Ως εκ τούτου, οι δύο όροι πρέπει εννοιολογικά να διακρίνονται με προσοχή **(Εικόνα 3)**.

## 4. Υποδοχείς ανδρογόνων και καρκίνος μαστού

### 4.1. Μοριακή φυσιολογία των ανδρογόνων στο μαστό

Στα θήλεα άτομα, τα ανδρογόνα παράγονται από τις ωοθήκες και τα επινεφρίδια [74]. Τα κύρια ανδρογόνα σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είναι DHEAS, DHEA, ανδροστενεδιόνη, τεστοστερόνη και διυδροτεστοστερόνη. Σημειώνεται ότι οι AR έχουν υψηλή συνάφεια μόνο με τα δύο τελευταία ανδρογονικά μόρια.

Το 50% της κυκλοφορούσας τεστοστερόνης παράγεται από τις ωοθήκες και τα επινεφρίδια και απελευθερώνονται απευθείας στο αίμα. Το υπόλοιπο 50% συντίθεται από επινεφριδιακά ανδρογόνα σε άλλα μέρη του σώματος (π.χ. στο λιπώδη ιστό) [74]. Η αρωματάση είναι το ένζυμο το οποίο μεταβολίζει την τεστοστερόνη σε οιστραδιόλη και την ανδροστενεδιόνη σε οιστρόνη. Η οιστρόνη μπορεί επίσης να μετατραπεί σε οιστραδιόλη, μετατροπή η οποία καταλύεται από τη 17β-υδροξυστεροειδο-αφυδρογονάση [75].

Σε περίπτωση απουσίας του συνδέτη, οι υποδοχείς AR και ERα παραμένουν σε μια ανενεργό κατάσταση μέσω της σύνδεσης με συμπλέγματα πρωτεϊνών θερμικού σοκ [76,77]. Με τη δέσμευση του συνδέτη, οι υποδοχείς υποβάλλονται σε μία διαμορφωτική μεταβολή, που επάγει τον πυρηνικό εντοπισμό, το διμερισμό και τη δέσμευση στο DNA. Η ομοιότητα στις σηματοδοτικές οδούς AR και ERα υπογραμμίζεται περαιτέρω από το γεγονός ότι και οι δύο υποδοχείς προσλαμβάνουν μια σειρά από συμπαραγόντες, μερικοί από τους οποίους είναι κοινοί για τις δύο οδούς, καθώς και ο γενικός μηχανισμός μεταγραφής, ώστε να ακολουθήσει η μεταγραφή.

Οι υποδοχείς των στεροειδών αλληλεπιδρούν με το DNA μέσω ειδικών αλληλουχιών και ειδικών στοιχείων απόκρισης σε ορμόνες, τα οποία αποτελούνται

από μια ανεστραμμένη επανάληψη της κύριας αλληλουχίας αναγνώρισης. Σημειώνεται ότι οι επαναλήψεις νδιαχωρίζονται από 3 bp, π.χ. στην περίπτωση των ER η σύνδεση γίνεται με μία ανεστραμμένη επανάληψη του 5'-AGGTCA-3' [78]. Οι AR δεσμεύονται σε μια ατελή ανεστραμμένη επανάληψη της βασικής αλληλουχίας αναγνώρισης 5'-AGAACA-3' [79,80]. Σημειώνεται ότι αυτή η αλληλουχία δεν είναι ειδική για τους AR, δεδομένου ότι οι υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών (GR), αλατοκορτικοειδών (MR) και PR συνδέονται επίσης με τέτοια στοιχεία απόκρισης [81]. Παρ' όλα αυτά, έχουν εντοπιστεί ειδικά στοιχεία απόκρισης για τους AR και αποτελούνται από άμεσες επαναλήψεις της βασικής αλληλουχίας αναγνώρισης [82].

Εκτός από την γενωμική δραστηριότητα τους, οι AR και ERα μπορούν να μεταγάγουν σήμα στην κυτταρική μεμβράνη και να ενεργοποιήσουν με αυτόν τον τρόπο οδούς σηματοδότησης. Για παράδειγμα, οι AR και ERα μπορούν να σχηματίσουν τριμερή σύμπλοκα με το c-Src και με το μόριο ρυθμιστή της μη γενωμικής δραστηριότητας του υποδοχέα οιστρογόνων (MNAR, modulator of non-genomic activity of oestrogen receptor) [83]. Πρόσδεση του συνδέτη στους υποδοχείς έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του c-Src και την επακόλουθη ενεργοποίηση των σηματοδοτικών οδών, συμπεριλαμβανομένης της οδού των MAP κινασών. Η ιδιαίτερη χρησιμότητα της μη γενωμικής σηματοδότησης έγκειται στο γεγονός ότι επιτρέπει μια πιο ταχεία κυτταρική απόκριση σε ερεθίσματα σε σύγκριση με την κλασική, γενωμική οδό [84].

Σύμφωνα με πολυάριθμες μελέτες, οι AR και ERα αναστέλλουν ο ένας τη δραστηριότητα του άλλου και υπάρχουν πολλαπλοί μηχανισμοί των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των υποδοχέων (**Εικόνα 5**). Για παράδειγμα, οι Panet-Raymond et al. [85] έδειξαν ότι, με την παρουσία της E2, το N-τελικό άκρο των AR μπορεί να αλληλεπιδράσει με τη περιοχή σύνδεσης των ERα LBD, και ότι αυτή η αλληλεπίδραση είναι ανασταλτική για τη μεταγραφική δραστηριότητα των δύο

υποδοχέων, γεγονός το οποίο αποδεικνύει ότι η άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ των υποδοχέων παρεμποδίζει τη σηματοδότηση. Δοκιμασίες μετατόπισης ηλεκτροφορητικής κινητικότητας και μελέτες ανοσοκαταβύθισης χρωματίνης έδειξαν επίσης ότι οι AR μπορεί να συνδεθούν με απαντητικές αλληλουχίες των οιστρογόνων [86].

Η διαμόλυνση κυττάρων καρκίνου μαστού με την περιοχή AR δέσμευσης DNA ήταν αρκετή για να αναστείλει τη δραστικότητα των ERα, γεγονός το οποίο υποδεικνύει τον άμεσο ανταγωνισμό για τις θέσεις δέσμευσης, καθώς επίσης ένα μηχανισμό αλληλοπαρεμβολών μεταξύ των οδών. Αναφέρεται επίσης ότι οι μεταγραφικές δραστηριότητες των AR και ERα, επηρεάζονται από κοινούς συμπαράγοντες [87]. Για παράδειγμα, το μόριο ARA70, ένας πολύ γνωστός συμπαράγοντας για τους AR, μπορεί επίσης να λειτουργήσει ως συνενεργοποιητής του ERα και ο ανταγωνισμός για τους εν λόγω παράγοντες είναι πιθανό να επιδρά στη σηματοδότηση των υποδοχέων [88]. Δεδομένου ότι οι AR και ERα αλληλεπιδρούν με κοινά μόρια-εταίρους για τη ρύθμιση οδών σηματοδότησης στην κυτταρική μεμβράνη, ο ανταγωνισμός για πρωτεΐνες ικριώματος, όπως ο MNAR, μπορεί να ρυθμίζει την μη γενωμική δραστικότητα αυτών των υποδοχέων.

Κατά τη γέννηση, ο μαζικός αδέννας αποτελείται από υποτυπώδες πορογενές σύστημα, που συνεχίζει να αυξάνεται σε αναλογία με το σώμα μέχρι την εφηβεία, οπότε και συμβαίνει η σημαντική ανάπτυξη. Σε αυτό το στάδιο, οι ERα είναι το κλειδί ρύθμισης για τη μορφογένεση των πόρων, όπως έχει προσδιοριστεί από μελέτες των μοντέλων knockout ποντικών [89]. Ανοσοϊστοχημικά, σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, μόνο το 10% των επιθηλιακών κυττάρων σε κυψελίδες και μεσολόβιους πόρους χρωματίζονται θετικά για ERα, και φαίνεται, ότι σε απόκριση προς τα οιστρογόνα, τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν παρακρινείς παράγοντες, που διεγείρουν τα γειτονικά ER-αρνητικά κύτταρα σε πολλαπλασιασμό.



Ωστόσο, υψηλότερο ποσοστό (20%) των κυττάρων χρωματίζονται θετικά για τους AR [90], γεγονός που υπογραμμίζει ότι οι AR παίζουν ρόλο στη ρύθμιση της κανονικής ανάπτυξης του μαστού. Για παράδειγμα, το ποντίκι knockout τύπου *Ar* εμφανίζει μειωμένη διακλάδωση πόρων, μειωμένη λοβιοκυψελιδική ανάπτυξη και λιγότερες κυψελίδες παράγουν γάλα στον μαστικό αδένα [91]. Η χορήγηση 5α-διυδροτεστοστερόνης ή του αντιανδρογόνου φλουταμίδη σε θηλυκούς ποντικούς μεταβάλλει την ανάπτυξη / μορφολογία του μαζικού αδένα, με διέγερση της οδού AR, με αποτέλεσμα μειωμένη έκταση του πόρου σε ζώα στα μέσα της εφηβείας [92]. Αντίστοιχες μελέτες σε πιθήκους *rhesus*, που έχουν υποστεί ωθηκεκτομή έδειξαν ότι η θεραπεία τεστοστερόνης ήταν σε θέση να αναστείλει τον επαγόμενο από E2 πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού [93]. Συμπερασματικά, έχει φανεί ότι στο φυσιολογικό μαστό, η δραστικότητα των AR είναι σε θέση να εξισορροπήσει τον E2-επαγόμενο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, συνεισφέροντας στη σωστή ανάπτυξή του [91].

## 4.2. Ανδρογόνα και καρκίνος του μαστού

Τα ανδρογόνα έχουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του καρκίνου του μαστού. Σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες, ο κίνδυνος καρκίνου του μαστού αυξάνεται σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με υψηλά επίπεδα οιστρογόνων καθώς και σε γυναίκες με υψηλά επίπεδα ανδρογόνων [94,95]. Η προοπτική μελέτη Nurses' Health Study, η οποία ανέλυσε δεδομένα από 11.169 γυναίκες, έδειξε πως το υψηλότερο επίπεδο θειϊκής δεϋδροεπιανδροστερόνης συνδυαζόταν με διπλασιασμό της πιθανότητας εμφάνισης καρκίνου του μαστού (πολυμεταβλητός RR = 2,15; 95% CI = 1,11-4,17) [95]. Σε συμφωνία με την προαναφερθείσα έρευνα, η μελέτη Study of Osteoporotic Fractures Research Group, έδειξε τριπλασιασμό του κίνδυνου για καρκίνο του μαστού σε γυναίκες με υψηλότερη συγκέντρωση της ελεύθερης τεστοστερόνης σε σύγκριση με εκείνες με χαμηλότερη συγκέντρωση [94].

Εκτός από τις επιδημιολογικές μελέτες, πειραματικές έρευνες σε ζωικά πρότυπα έχουν δείξει ότι τα ανδρογόνα μπορεί να επάγουν καρκινογένεση στο μαστό. Η τεστοστερόνη σε συνδυασμό με οιστρογόνα μπορεί να προκαλέσει υψηλή συχνότητα εμφάνισης καρκινώματος του μαστού και η χορήγηση της φλουταμίδης μπορεί να αναστείλει τις αλλαγές που προκαλούνται από τα ανδρογόνα. [96,97] Παρομοίως, οι Boccuzzi et al. [98] έδειξαν ότι η φλουταμίδη αναστέλλει την ανάπτυξη όγκων του μαστού αρουραίου, εύρημα το οποίο υποστηρίζει τη συμμετοχή των υποδοχέων ανδρογόνων στην καρκινογένεση στο μαστό.

Ο μηχανισμός με τον οποίο τα ανδρογόνα συμβάλλουν στην καρκινογένεση στο μαστό δεν έχει ακόμα γίνει πλήρως διαλευκανθεί. Η πλειονότητα των *in vitro* μελετών έχουν καταδείξει ότι η δράση των AR είναι ανασταλτική για τον πολλαπλασιασμό των κυτταρικών σειρών [93,99-104]. Ωστόσο, ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι τα ανδρογόνα έχουν προ-πολλαπλασιαστική δράση [105-107]. Φαίνεται λοιπόν ότι τα

ανδρογόνα μπορούν να παίζουν έναν πολύπλευρο ρόλο στον καρκίνο του μαστού. Μπορούν να επάγουν μια ανασταλτική της ανάπτυξης απόκριση σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού, οι οποίες εκφράζουν ER, PR και AR, όπως οι T-47-D και ZR-75-1, ενώ ανασταλτικές για την αύξηση επιδράσεις έχουν παρατηρηθεί στα ER(+) και PR(+) MCF-7 κύτταρα [108].

Από την άλλη πλευρά, σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού, που δεν εκφράζουν ER και PR, αλλά εξακολουθούν να είναι θετικές για AR, τα ανδρογόνα μπορούν να εμφανίζουν ευοδωτική για τον πολλαπλασιασμό επίδραση. Ως εκ τούτου, οι αλληλεπιδράσεις με συν-παράγοντες και συν-καταστολείς (**Εικόνα 6**) έχουν προταθεί ως εξαιρετικά ουσιώδεις για τις τελικές επιδράσεις των ανδρογόνων στον καρκίνο του μαστού.

Ανάμεσα στους μηχανισμούς με τους οποίους τα ανδρογόνα μπορούν να ευοδώνουν την καρινογένεση στο μαστό, μπορεί να αναφερθεί η αλληλεπίδραση ανάμεσα στον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) και των AR στο επίπεδο των ενεργοποιούμενων από τα μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών (MAPK), καθώς και η εξάρτηση της AR σηματοδότησεως από την πρωτεΐνη p21 [109].

Ειδικότερα, οι ερευνητές εξέτασαν ανθρώπινες επιθηλιακές κυτταρικές σειρές μαστού, τόσο καρκινικές όσο και μη καρκινικές, αρνητικές για ERα και PR, τις οποίες μέσω γενετικής μηχανικής ώθησαν να εκφράσουν AR, επιτρέποντας έτσι την άμεση μελέτη της AR σηματοδότησης. Κλωνοποίησαν ένα πλήρους μήκους cDNA των ανθρώπινων AR, και εξέφρασαν αυτό το διαγονίδιο σε MCF-10A μη-ογκογονικά επιθηλιακά κύτταρα ανθρώπινου μαστού και MDA-MB-231 καρκινικά κύτταρα ανθρώπινου μαστού. Χαρακτήρισαν τις απαντήσεις προς τον AR συνδέτη χρησιμοποιώντας μια σειρά δοκιμασιών, και χρησιμοποίησαν ισογονιδιακές MCF10A p21 knock-out κυτταρικές σειρές, που εκφράζουν AR για να αποδειχθεί η απαίτηση

για p21 στη μεσολάβηση της πολλαπλασιαστικής απόκρισης της AR σηματοδότησης σε ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού.

Η ίδια μελέτη βρήκε ότι η υπερενεργοποίηση του MAP μονοπατιού ταυτόχρονα από τον AR και τον υποδοχέα EGFR οδήγησε σε μια ανασταλτική της ανάπτυξης απόκριση, ενώ η MAPK ενεργοποίηση είτε μόνο από AR είτε μόνο από EGFR οδήγησε σε κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Επιπροσθέτως, η μελέτη με γονίδιο p21 knock-out επιβεβαίωσε, ότι η AR σηματοδότηση / ενεργοποίηση της οδού MAPK εξαρτάται από το p21. Οι ερευνητές κατέληξαν, ότι το νέο αυτό μοντέλο για την ανάλυση της AR σηματοδότησης, σε ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα μαστού, όπου λείπει η έκφραση ERα / PR, παρέχει ένα πειραματικό σύστημα χωρίς τις πιθανές συγχυτικές επιδράσεις αυτών και αποδίδει ένα διπλό ρόλο της AR σηματοδότησης σε ανθρώπινα κύτταρα καρκίνου του μαστού. Δεδομένου ότι, προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει, ότι περίπου το 40% των καρκίνων του μαστού μπορεί να στερούνται την έκφραση p21, οι ερευνητές υποστήριξαν την ύπαρξη περιορισμών ως προς την πιθανή αποτελεσματικότητα των AR ως πιθανού στόχου για θεραπεία του καρκίνου του μαστού [109].

Τονίζεται επίσης ότι το γονίδιο BRCA1 αποτελεί συνενεργοποιητή του AR [110]. Συγκεκριμένα, σε μεταμολυσμένες (transfected) κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού αλλά και καρκίνου του προστάτη, το BRCA1 μπόρεσε να επαγάγει την AR-εξαρτώμενη μετενεργοποίηση ενός γονιδίου ανταποκριτή, προερχόμενου από την προβασίνη. Οι επιδράσεις του BRCA1 διαμεσολαβούνταν μέσω της αμινοτελικής περιοχής ενεργοποίησης (AF-1) του υποδοχέα. Συν-μεταμόλυνση με p160 συνενεργοποιητές ενίσχυσε σημαντικά την επαγόμενη από το BRCA1 ενίσχυση της AR σηματοδότησης.

Επιπλέον, δείχθηκε πως το BRCA1 αλληλεπιδρά φυσικά, τόσο με τον AR όσο και με το συνενεργοποιητή p160, που είναι γνωστός ως αλληλεπιδρώσα πρωτεΐνη με

τον υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών – 1 (glucocorticoid receptor interacting protein 1). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν, ότι το BRCA1 μπορεί να διαμορφώνει άμεσα τη σηματοδότηση μέσω AR και, ως εκ τούτου, μπορεί να έχει επιπτώσεις στο ρυθμιζόμενο από τα ανδρογόνα πολλαπλασιασμό των φυσιολογικών αλλά και των κακοήθων κυττάρων [110].

### 4.3. Προγνωστικός ρόλος των AR στον καρκίνο του μαστού

Παρά το γεγονός ότι οι ERα διαδραματίζουν καίριο ρόλο στην επαγωγή της ανάπτυξης καρκίνου του μαστού, οι πιο συχνά εκφραζόμενοι ορμονικοί υποδοχείς σε *in situ*, διηθητική και μεταστατική νόσο είναι οι AR [75]. Μελέτες έκφρασης των AR στον καρκίνο του μαστού έχουν δείξει ότι οι AR εκφράζονται στο 70-90% των περιπτώσεων διηθητικού καρκίνου του μαστού [111-114], ήτοι στην πλειοψηφία των ER-θετικών όγκων [115,116]. Μάλιστα, οι Farmer et al. [117] πρότειναν κατάταξη του καρκίνου του μαστού σε τρεις μεγάλες υποκατηγορίες, με βάση την παρουσία ή την απουσία των ERα και AR: αυλού (ERα + AR +), βασικό (ERα- ένδειξη AR) και μοριακά αποκρινούς (ERα- AR +).

Οι Brys et al. [116] συμπεριέλαβαν 67 πρωτοπαθείς όγκους του μαστού και 8 δείγματα φυσιολογικού μαστού, ως ομάδα ελέγχου, οι οποίοι αναλύθηκαν για την έκφραση AR σε επίπεδο mRNA και σε επίπεδο πρωτεΐνης, χρησιμοποιώντας RT-PCR και Western blot, αντιστοίχως. Εξέτασαν επιπρόσθετα τη συσχέτιση της έκφρασης AR με το μέγεθος του όγκου και την κατάσταση των μασχαλιαίων λεμφαδένων. Η μελέτη ανίχνευσε έκφραση των AR σε 66% (44/67) και 51% (34/67) από τους καρκίνους που μελετήθηκαν με RT-PCR και Western blot, αντιστοίχως. Επιβεβαιώθηκε η αναμενόμενη σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του γονιδίου AR και των επιπέδων της πρωτεΐνης AR στους πυρήνες των δειγμάτων καρκινώματος. Ο αριθμός των θετικών δειγμάτων και το επίπεδο του AR mRNA ήταν σημαντικά υψηλότερα στα δείγματα του καρκίνου σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου, ενώ καμία έκφραση της πρωτεΐνης AR δεν ανιχνεύθηκε στο φυσιολογικό μαστό. Το επίπεδο έκφρασης του γονιδίου AR όσο και η πρωτεΐνη AR σε πυρήνες βρέθηκε να συσχετίζεται θετικά με τη διήθηση του όγκου. Από τα δείγματα καρκίνου του μαστού, το 44,8% (30/67) ήταν ER-, PR- και AR-θετικά, ενώ το 14,9% (10/67) ήταν αρνητικά

για τους υποδοχείς στεροειδών ορμονών. Ωστόσο, το 18% (12/67) των πρωτοπαθών όγκων του μαστού που ήταν αρνητικοί για ER και PR ήταν θετικοί για AR [116].

Οι **Kuennen-Boumeester et al.** [115] μελέτησαν ενδελεχώς την κλινική σημασία της παρουσίας των AR σε καρκινώματα του μαστού, αλλά και τη συσχέτισή τους με κλινικές και ιστολογικές παραμέτρους σε 153 περιστατικά πρωτοπαθών καρκινωμάτων μαστού (μέση παρακολούθηση: 46 μήνες). Τα επίπεδα ER και PR προσδιορίστηκαν σε παρασκευάσματα κυτοσολίου με τη χρήση ανοσοενζυμικών προσδιορισμών, αλλά και ανοσοϊστοχημείας σε τομές κρουστάτη, ενώ τα επίπεδα AR και Ki-67 προσδιορίστηκαν μόνο ανοσοϊστοχημικά. Τα δεδομένα αναλύθηκαν με μονομεταβλητά και πολυμεταβλητά μοντέλα. 94/153 (61%) καρκινώματα του μαστού ήταν ER(+) PR(+) AR(+), ενώ 14 περιστατικά ήταν θετικά μόνο για το AR.

Όλοι οι όγκοι grade III (n = 17) ήταν αρνητικοί για τους υποδοχείς στεροειδών και 14 (76%) αυτών των περιπτώσεων έδειξαν υψηλές τιμές Ki-67, που υποδηλώνουν περισσότερο επιθετική συμπεριφορά. Στη μονοπαραγοντική ανάλυση, η έκφραση AR, καθώς και ER, το μέγεθος του όγκου, η κατάσταση των λεμφαδένων, ο βαθμός κακοήθειας και η έκφραση Ki-67 αποδείχθηκαν στατιστικά σημαντικοί προγνωστικοί παράγοντες για την ελεύθερη νόσου επιβίωση (DFS). Όμως η πολυπαραγοντική ανάλυση, έδειξε ως μόνους ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες για την DFS την κατάσταση των λεμφαδένων, το μέγεθος του όγκου και την κατάσταση των ER. Η εν λόγω μελέτη συμπέρανε ότι η έκφραση των AR συγκαταλέγεται ανάμεσα σε απλές ιστολογικές και κυτταρικές βιολογικές παράμετροι, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση ασθενών υψηλού και χαμηλού κινδύνου και μπορούν να παράσχουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τις επιλογές θεραπείας [115].

Οι **Gonzalez-Angulo et al.** [118] δεν χρησιμοποίησαν ανοσοϊστοχημεία, αλλά πρωτεϊνικές συστοιχίες αντίστροφης φάσης (reverse-phase protein arrays) για τη

μέτρηση των επιπέδων AR. Επίσης αξιοποίησαν τη φασματοσκοπία μάζας για την ανίχνευση μεταλλάξεων PIK3CA. Γραμμικά μοντέλα παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν για να προσδιοριστεί εάν τα επίπεδα AR διέφεραν ανάλογα με τον υπότυπο του όγκου και την κατάσταση μετάλλαξης PIK3CA, ενώ η δοκιμασία t-test δύο δειγμάτων υιοθετήθηκε για να εξεταστούν οι κατά ζεύγη διαφορές. Οι διαφορές στην πιθανότητα επιβίωσης αξιολογήθηκαν με τη χρήση Kaplan-Meier καμπυλών και δοκιμασία log-rank. Η μελέτη διαπίστωσε σημαντικές διαφορές στα επίπεδα AR μεταξύ διαφορετικών υποτύπων καρκίνου του μαστού. Υψηλότερα επίπεδα AR παρατηρήθηκαν σε θετικά για υποδοχείς οιστρογόνων περιστατικά ή/και θετικά για υποδοχείς προγεστερόνης, καθώς και μεταξύ περιστατικών, που έφεραν ή όχι μετάλλαξη PIK3CA ( $p < 0,0001$  για τις δύο συγκρίσεις). Τα επίπεδα AR ήταν σημαντικά υψηλότερα σε όγκους του μαστού με μεταλλάξεις στην περιοχή κινάσης PIK3CA έναντι όγκων «άγριου τύπου» ή με PIK3CA ελικοειδείς μεταλλάξεις ( $p = 0,017$  και  $p < 0,0001$ , αντίστοιχα). Αντιστοίχως, μια στατιστική τάση ( $p = 0,07$ ) βρέθηκε προς υψηλότερη έκφραση AR στους μεταλλαγμένους για PIK3CA έναντι PIK3CA «άγριου τύπου» TNBC. Σε 347 συνολικά ασθενείς, τα επίπεδα AR ήταν ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας της επιβίωσης χωρίς υποτροπή ( $p = 0,0002$ ) και της συνολικής επιβίωσης ( $p = 0,004$ ). Τα υψηλά AR επίπεδα συσχετιζόνταν με σημαντικά βελτιωμένη επιβίωση χωρίς υποτροπή σε 207 ασθενείς με πρώιμου σταδίου όγκους, θετικούς για υποδοχείς οιστρογόνων / προγεστερόνης μετά από επικουρική ορμονοθεραπεία. Οι ερευνητές συνήγαγαν ότι τα επίπεδα AR μπορούν να αποτελέσουν προγνωστικό δείκτη στον καρκίνο του μαστού και παράλληλα να αποτελέσουν αξιόλογο δείκτη απόφασης κατά τον καθορισμό της θεραπευτικής στρατηγικής [118].

Οι **Ogawa et al.** [119] αξιολόγησαν την έκφραση των AR σε 227 περιστατικά πρωτοπαθούς καρκίνου του μαστού χρησιμοποιώντας ανοσοϊστοχημεία. Αναλύθηκε



επίσης η συσχέτιση της έκφρασης AR με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και βιοδείκτες. Η έκφραση των AR εκτιμήθηκε ημιποσοτικά, και θετικοί θεωρήθηκαν όγκοι με περισσότερο από 10% βαμμένα κύτταρα. AR-θετικότητα εμφάνιζαν συχνότερα οι μικρότεροι όγκοι ( $p=0,045$ ), οι όγκοι αρνητικοί για λεμφαδενικές μεταστάσεις ( $p=0,045$ ), οι όγκοι σκιρρώδους (scirrhous) τύπου ( $p<0,0001$ ), οι όγκοι χαμηλού grade ( $p=0.0001$ ), και οι p53-αρνητικοί όγκοι ( $p=0,0097$ ). Αν και η έκφραση των AR δεν σχετιζόταν με την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση, 79% των περιπτώσεων της υψηλής έκφρασης AR (>50% χρώση των κυττάρων) αφορούσαν σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η έκφραση των AR συσχετιζόταν με την έκφραση ER ( $p=0,027$ ) και PR ( $p=0,016$ ), αλλά δεν παρουσίασε συσχέτιση με την έκφραση του υποδοχέα (HER2). Όσον αφορά τη συνέκφραση των ορμονικών υποδοχέων, 18 από τις 42 περιπτώσεις τριπλά-αρνητικών (ER / PR / Her2-αρνητικών) όγκων (43%) ήταν AR-θετικοί. Οι συγγραφείς υποστήριξαν πως η εκτίμηση της έκφρασης των AR μπορεί να οδηγήσει σε νέες στρατηγικές θεραπείας για τον καρκίνο του μαστού, ιδιαίτερα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και κατέληξαν πως η έκφραση των AR σχετίζεται με χαμηλής κακοήθειας καρκινώματα του μαστού. [119].

Οι **Hu et al.** [111] αξιοποίησαν τη μεγάλη προοπτική μελέτη Nurses' Health Study (NHS) για να εξετάσουν τη συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης των AR και της επιβίωσης από τον καρκίνο του μαστού. Στην εν λόγω προοπτική επιδημιολογική μελέτη συμμετείχαν μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με σταδίου I, II και III καρκινώματα μαστού, διεγνωσθέντα μεταξύ 1976 και 1997, και οι οποίες παρακολουθήθηκαν από την ημερομηνία της διάγνωσης της νόσου μέχρι την 1η Ιανουαρίου 2008. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση μεθόδων Kaplan-Meier και με Cox αναλογικά μοντέλα κινδύνου, για να προσδιοριστεί η συσχέτιση της κατάστασης AR με την επιβίωση, λαμβάνοντας υπόψη την επίδραση μιας σειράς συγχυτικών παραγόντων. Μεταξύ 1467 καρκίνων του μαστού, στην εν λόγω μελέτη, το 78,7%

ήταν AR-θετικοί. Ειδικότερα, μεταξύ των 1164 θετικών περιπτώσεων για τους υποδοχείς οιστρογόνων (ER), το 88,0% ήταν θετικό και για τους AR. Η AR θετικότητα συσχετίστηκε με σημαντική μείωση της θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού (HR, 0,68, 95% CI, 0,47 έως 0,99) και της συνολικής θνησιμότητας (HR, 0,70 95% CI, 0,53 έως 0,91) μετά από προσαρμογή ως προς τους συγχυτικούς παράγοντες. Αντίθετα, στις γυναίκες με ER-αρνητικούς όγκους (303 περιπτώσεις), μόνο το 42,9% ήταν θετικές για AR και παρατηρήθηκε μια μη στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της κατάστασης AR και θνησιμότητας από τη νόσο (HR, 1,59, 95% CI, 0,94 έως 2,68). Οι ερευνητές συμπέραναν πως η επίδραση της έκφρασης των AR στην επιβίωση από καρκίνο του μαστού εξαρτάται από την κατάσταση των οιστρογονικών υποδοχέων. Ειδικότερα, η έκφραση AR φάνηκε να σχετίζεται με μία πιο ευνοϊκή πρόγνωση μεταξύ των γυναικών με ER-θετικούς όγκους. Σύμφωνα με τους ερευνητές, ο προσδιορισμός της κατάστασης των AR μπορεί να παρέχει πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με ευκαιρίες για στοχευμένη θεραπεία, καθώς επίσης για την πρόγνωση για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με καρκίνο του μαστού [111].

Οι **Park et al.** [112] μελέτησαν την έκφραση των AR χρησιμοποιώντας ανοσοϊστοχημεία σε 413 περιστατικά καρκίνου του μαστού και ανέλυσαν τη σχέση μεταξύ AR και κλινικοεργαστηριακών παραμέτρων, θεωρώντας όγκους με  $\geq 10\%$  των κυττάρων πυρηνική χρώση θετικούς για AR. Το ποσοστό εκφράσεως του AR ήταν 72,9%, υψηλότερο μάλιστα από εκείνο των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης. Η έκφραση των AR ήταν σημαντική σε ασθενείς χωρίς αυξημένα επίπεδα καρκινικού αντιγόνου Ca15-3 στον ορό προεγχειρητικά, μικρότερο μέγεθος του όγκου, χαμηλότερο ιστολογικό βαθμό κακοήθειας, θετικούς ορμονικούς υποδοχείς και μη τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού. Παρ' όλα αυτά, η έκφραση AR παρατηρήθηκε στο 35% των TNBC. Ο μεταπλαστικός, μυελοειδής και βλενώδης τύπος καρκινωμάτων παρουσίασε μικρότερη έκφραση AR. Στην υποομάδα ER

αρνητικών όγκων, ο AR συσχετίστηκε σημαντικά με την υπερέκφραση του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER-2). Η εν λόγω μελέτη συμπέρανε πως ο AR εκφράζεται σε σημαντικό ποσοστό των καρκίνων του μαστού, ενώ συνδέεται με χαμηλότερο φορτίο του όγκου και ευνοϊκή διαφοροποίηση. Η μελέτη υπογράμμισε επίσης, πως πρέπει οι μελλοντικές μελέτες να εξετάσουν κατά πόσον σε ER-αρνητικούς όγκους η έκφραση των AR συνδέεται με HER-2 σηματοδότηση.

Οι **Qi et al.** [113] εξέτασαν 980 διαδοχικά περιστατικά καρκινωμάτων μαστού. Οι ερευνητές κατέδειξαν ότι οι AR εκφραζόταν πιο συχνά (77%) από τους ER (61%) και PR (60%) στα καρκινώματα του μαστού. Παρατήρησαν επίσης, ότι η έκφραση AR συνδεόταν με ER και PR έκφραση ( $p < 0,0001$ ), με μικρό μέγεθος του όγκου ( $p = 0.0324$ ) και χαμηλή Ki-67 έκφραση ( $p = 0.0013$ ), ενώ έκφραση AR βρέθηκε στο 65% των ER αρνητικών όγκων. Η έκφραση των AR συνδεόταν με έκφραση PR και Ki-67, σε ER αρνητικούς όγκους, αλλά όχι σε ER θετικούς όγκους. Σημειώθηκε επίσης ότι η AR έκφραση ήταν υψηλότερη σε υποτύπους με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (αυλικού τύπου A, B 80% και 86% αντίστοιχα), αλλά χαμηλότερη σε ER αρνητικούς υποτύπους [HER2, τριπλά αρνητικούς, και τριπλά αρνητικούς EFGR θετικούς υποτύπους, 52% -66%], με πάνω από το 50% των TNBC όγκων να εκφράζουν τους AR. Οι συγγραφείς συμπέραναν, πως τα περισσότερα καρκινώματα μαστού εκφράζουν AR από ό,τι ER και PR, συμπεριλαμβανομένων σημαντικών αριθμών των ER αρνητικών και TNBC όγκων, για τους οποίους οι AR θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως ένας πιθανός θεραπευτικός στόχος.

Σημειώνεται ότι πρόσφατη μετα-ανάλυση συνέθεσε τα επιμέρους αντιφατικά αποτελέσματα προσθέτοντας και ασθενείς από το νοσοκομείο των συγγραφέων που την τέλεσαν. Η έκφραση των AR σε όγκους του μαστού ήταν δείκτης καλύτερης επιβίωσης ελεύθερης νόσου (HR 0.52, 95% CI 0,43 - 0,64, **Εικόνα 7**). Στην ανάλυση

υποομάδων, οι AR θα μπορούσαν να προβλέψουν την ελεύθερη νόσου επιβίωση σε ER-θετικούς ασθενείς (HR 0.45, 95% CI 0,34 - 0,59), ER αρνητικούς ασθενείς (HR 0.42, 95% CI 0,26 - 0,67), και TNBC (HR 0,40, 95% CI 0,23 - 0,69). Το αντίστοιχο διάγραμμα δάσους (forest plot) παρουσιάζεται στην **Εικόνα 8**.

Επιπλέον, σε ασθενείς με ER θετικό καρκίνο του μαστού, η έκφραση των AR θα μπορούσε να προβλέψει και καλύτερη συνολική επιβίωση (OS, HR 0.39, 95% CI 0,19 - 0,82). Όμως στον TNBC, η μετα-ανάλυση δεν κατέληξε σε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση των AR και τη συνολική επιβίωση (HR 1.17, 95% CI 0,60 – 2,28) [120].

## 5. Υποδοχείς ανδρογόνων, αρωματάση και τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού

### 5.1. Στόχευση υποδοχέων στους TNBC: AR και άλλοι υποδοχείς.

Η ανάπτυξη ειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων και μικρομοριακών αναστολέων κινασών έχει βελτιώσει σημαντικά τη συνολική επιβίωση στον HER2(+) καρκίνο του μαστού. Ως προς τους TNBC, διάφοροι υποδοχείς αυξητικών παραγόντων και προσδέτες υπερεκφράζονται, ωστόσο τα αποτελέσματα από κλινικές δοκιμές, που αποσκοπούν στη θεραπευτική στόχευση μοριακών παραγόντων δεν υπήρξαν ενθαρρυντικά. Η ετερογένεια των TNBCs μεταξύ των ομάδων ασθενών μπορεί να συνέβαλαν στα αρνητικά αποτελέσματα πολλών από αυτές τις μελέτες. Χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων υποδοχέων είναι ο AR, ο EGFR, ο VEGFR και ο FGFR (**Εικόνα 9**).

Τουλάχιστον 10-15% των TNBC εκφράζουν τους AR [64,121]. Αντίστοιχα, έχουν εντοπιστεί ER-, AR+ όγκοι που παρουσιάζουν μη βασική γονιδιακή έκφραση, αποτελώντας τον μοριακό αποκρινή υπότυπο [117]. Χρησιμοποιώντας την ανάλυση γονιδιακής έκφρασης, οι Lehmann et al. εντόπισαν ότι ένα παρόμοιο ποσοστό (12%) των TNBCs είναι σε υψηλό βαθμό εμπλουτισμένοι σε AR και γονίδια-στόχους αυτών, ενώ παρουσιάζουν γονιδιακή έκφραση αυλικού τύπου [52]. Επιπλέον, τα μοντέλα κυτταρικών σειρών του υποτύπου LAR ήταν εν μέρει εξαρτώμενα από την AR σηματοδότηση, αφού η διαμεσολαβούμενη από siRNA knockdown των AR ή φαρμακολογική αναστολή των AR με βικαλουταμίδα (bicalutamide) μείωναν σε μεγάλο βαθμό τη βιωσιμότητα των κυττάρων και την ανάπτυξη του όγκου [62,122].

Εκτός από την εξάρτηση από τους AR, όλες οι κυτταρικές σειρές LAR TNBC που έχουν αναλυθεί φιλοξενούν μια ενεργοποιητική μετάλλαξη της κινάσης του

γονιδίου PIK3CA (H1047R) και εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε αναστολείς PIK3CA έναντι άλλων υποτύπων [62,67,122]. Δεδομένου ότι η πρωτεΐνη AR είναι ένα καλό υποκατάστατο για τον υπότυπο LAR, μπορεί μελλοντικά να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης για την επιλογή των ασθενών με TNBC σε κλινικές δοκιμές διερεύνησης της αποτελεσματικότητας στόχευσης AR και PI3K. Επί του παρόντος υπάρχει μια κλινική δοκιμή (NCT00468715 / TBCRC011) στην οποία η βικαλουταμίδη ως μονοθεραπεία παρείχε ένα ποσοστό κλινικού όφελος 19% σε μεταστατικό AR+, ER-/PR- καρκίνο μαστού [123].

Σε αντίθεση με άλλους υποτύπους TNBC, ο υπότυπος LAR φαίνεται να είναι μάλλον χημειοανθεκτικός σε μοντέλα κυτταρικών σειρών αλλά και αναδρομικές αναλύσεις κλινικών μελετών. Στην προοπτική μελέτη φάσης III GeparTrio αναλύονται core βιοψίες από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο του μαστού που έλαβαν θεραπεία με neoadjuvant δοξορουβικίνη / κυκλοφωσφαμίδη / δοσεταξέλη (ACT). Η μελέτη αναδεικνύει μια μη αναμενόμενη αποσύνδεση μεταξύ pCR και επιβίωσης [124]. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι ενώ AR+ ασθενείς στο σύνολό τους έχουν καλύτερη επιβίωση ελεύθερης νόσου (AR(+) 86% έναντι AR(-) 66%) και καλύτερη συνολική επιβίωση (95% έναντι 76%), οι ασθενείς εμφάνιζαν μειωμένη ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία, με pCR 13% έναντι 25%. Ένα παρόμοιο εύρημα αναφέρθηκε από μια αναδρομική ανάλυση βιοψιών TNBC, που ελήφθησαν πριν από την προεγχειρητική (neoadjuvant) χημειοθεραπεία ανθρακυκλίνης και ταξάνης, στην οποία η μοριακή υποτυποποίηση TNBC εμφάνισε διαφορετικά ποσοστά pCR [65,70]. Ειδικά οι όγκοι LAR είχαν μια σημαντικά μειωμένη απόκριση σε συμπληρωματική χημειοθεραπεία (pCR 10% έναντι 28%). Ο εντοπισμός ασθενών AR(+) TNBC βρίσκεται σε στενή συνάρτηση με τη δυνητική αντιμετώπιση αυτών των ασθενών με στοχευμένες θεραπείες, ενώ παράλληλα σε τέτοια περίπτωση θα αποφεύγεται η

τοξικότητα, που σχετίζεται με τη χημειοθεραπεία, πολλώ μάλλον δεδομένου πως οι ασθενείς αυτές είναι λιγότερο πιθανό να ανταποκριθούν.

Μία γενετική αλλοίωση που συμβαίνει στην πλειονότητα των TNBCs είναι μετάλλαξη ή απώλεια του TP53. Από τις 102 περιπτώσεις TNBC στο Cancer Genome Atlas (TCGA), 68% έχουν TP53 μεταλλάξεις επιπρόσθετα με ομόζυγη έλλειψη του γονιδίου (3%) ή MDM2/4 ενίσχυση (7%) [125,126]. Αντίστοιχα, πρόσφατη μελέτη [122] έδειξε σε σειρά 104 TNBC όγκων ότι οι μεταλλάξεις TP53 είναι το πιο συχνό κλωνικό γεγονός (53,8%), ακολουθούμενες από μεταλλάξεις PIK3CA (10,7%). Λιγότερο σπάνια ανιχνεύθηκε ένας ευρύς κατάλογος μεταλλάξεων σε γονίδια που άπτονται του κυτταροσκελετού, του σχήματος των κυττάρων και της κινητικότητας των πρωτεϊνών. Οι τελευταίες αυτές γενετικές αλλοιώσεις συνέβησαν σε πολύ χαμηλότερες συχνότητες. Εντούτοις, η απουσία ανίχνευσης ενός στοχεύσιμου ογκογόνου με υψηλή συχνότητα έχει παρεμποδίσει την ανάπτυξη επιτυχών θεραπευτικών στρατηγικών για τον TNBC.

## 5.2. Έκφραση των AR στον TNBC: πιθανός προγνωστικός ρόλος

Η βιβλιογραφία έχει αναφέρει ποικιλία ποσοστών έκφρασης των AR (Πίνακας 1) Οι **McGhan et al.** έδειξαν 23% ποσοστό έκφρασης [127], οι **Gasparini et al.** 24,8% [128], οι **Luo et al.** 27,7% [129], οι **Sutton et al.** 31,4% [130], οι **Mrklic et al.** 32,5% [131], οι **Park et al.** 35% [112], οι **Safapour et al.** 36% [132], οι **Thike et al.** 38% [133], **Ogawa et al.** 43% [119], ο **Abd-Elazeem** 51,8% [134], ενώ οι **Qi et al.** 53,2% [113]. Παρ' όλα αυτά, μερικές φορές και χαμηλότερα ποσοστά έκφρασης των AR στους TNBC έχουν αναφερθεί, με τους **Tang et al.** να παρουσιάζουν 12,6% ποσοστό RA ανοσοθετικότητας στη σειρά τους [135], οι **Rakha et al.** 13% [136], οι **Choi et al.** 17,7% [137], οι **Pistelli et al.** 18,8% [138], ενώ οι **Gonzalez-Angulo** ανέφεραν σε ποσοστό 16,5% την έκφραση των AR, μέσω της μεθόδου πρωτεϊνικών συστοιχιών αντίστροφης φάσης [118].

Οι μελέτες των **Ogawa et al.** [119], **Gonzalez-Angulo** [118], **Park et al.** [112], **Qi et al.** [113] εστίασαν κυρίως στο προγνωστικό ρόλο των AR συνολικά στον καρκίνο του μαστού, και όχι ειδικότερα στους TNBC, και για αυτό αναλύθηκαν σε προηγούμενο αντίστοιχο χωρίο που αφορούσε στον καρκίνο του μαστού εν γένει. .

Οι **Sutton et al.** [130] ανέλυσαν την έκφραση των AR με ανοσοϊστοχημεία σε 121 περιπτώσεις TNBC. 39 περιπτώσεις είχαν απομακρυσμένη μεταστατική νόσο και 82 είχαν μόνο τοποπεριοχική ασθένεια. Οι AR ήταν θετικοί σε 38 (31,4%) από τις 121 περιπτώσεις. Μεταξύ των AR-θετικών TNBC, οι απομακρυσμένες μεταστάσεις συσχείζονταν σημαντικά με χαμηλότερη έκφραση των AR σε σύγκριση με τις περιπτώσεις με μόνο τοποπεριοχική νόσο, ενώ παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση της έκφρασης των AR με την έκφραση του Ki-67. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν, ότι η μειωμένη έκφραση των AR στον πρωτοπαθή όγκο μπορεί να



είναι προγνωστική της απομακρυσμένης μεταστατικής νόσου και υποστηρίζουν την πιθανή προγνωστική αξία της έκφρασης AR στις ασθενείς με TNBC.

Οι **Mrklic et al.** [131] αξιολόγησαν την ανοσοϊστοχημική έκφραση των AR σε ασθενείς με TNBC, καθώς επίσης με βασικού-τύπου (basal-like, BL) ανοσοφαινότυπο, BL μορφολογία, σε συνδυασμό με συμβατικούς κλινικοπαθολογοανατομικούς παράγοντες και την πιθανή προγνωστική σημασία τους. Η μελέτη συμπεριέλαβε 83 ασθενείς. Οι τομές χρωματίστηκαν ανοσοϊστοχημικά για υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης, HER2, CK5 / 6, CK14, EGFR, Ki-67 και AR. Από τα 83 δείγματα TNBC, 32,5% εμφάνισαν θετική ανοσοϊστοχημική χρώση για AR, 66,3% είχαν BL ανοσοφαινότυπο, και 48,2% είχαν BL μορφολογία. Θετική ανοσοϊστοχημική χρώση AR συσχετιζόταν αντίστροφα με υψηλότερο κλινικό στάδιο, εντονότερη μιτωτική δραστηριότητα, υψηλότερο ιστολογικό βαθμό κακοήθειας και υψηλότερο δείκτη πολλαπλασιασμού, όπως εκείνος μετρήθηκε με το Ki-67. Σημαντικά περισσότεροι AR αρνητικοί όγκοι παρατηρήθηκαν μεταξύ των όγκων με BL ανοσοφαινότυπο και BL μορφολογία. Δεν υπήρχε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των θετικών AR όγκων και την επιβίωση (ελεύθερη νόσου και συνολική). Οι ερευνητές εστίασαν στο εύρημα, πως περισσότερο από το ένα τρίτο των TNBC ήταν AR-θετικοί, και αυτό κατά τους ερευνητές δύναται να αποτελεί μια ευκαιρία για μια νέα στοχευμένη θεραπεία στον TNBC.

Οι **Rakha et al.** [136] μελέτησαν 1726 περιπτώσεις με διηθητικό καρκίνο του μαστού. Από εκείνες, 282 περιστατικά (16,3%) παρουσίασαν ένα τριπλό-αρνητικό φαινότυπο (ανεξάρτητα από την έκφραση του EGFR ή βασικών κυτοκερατινών) και αποτέλεσαν τη βάση της μελέτης. Η μέση συνολική επιβίωση ήταν 54 μήνες και ο μέσος χρόνος ελεύθερης συμβαμάτων επιβίωσης ήταν 49 μήνες (εύρος, 1-146 μήνες). Σε σύγκριση με non-TNBC, ο TNBC φαινότυπος συσχετίστηκε με μεγαλύτερο μέγεθος, υψηλό βαθμό κακοήθειας (grade 3) ανάπτυξη υποτροπής και

απομακρυσμένη μετάσταση, αλλά και φτωχότερο Προγνωστικό Δείκτη Nottingham. Ο TNBC συσχετιζόταν με φτωχότερη πρόγνωση, τόσο όσον αφορά τη συνολική επιβίωση όσο και την ελεύθερη νόσου επιβίωση. Στη συνολική σειρά των TNBC, η απουσία της έκφρασης των AR συσχετίστηκε με υψηλότερο ιστολογικό βαθμό κακοήθειας ( $p < .001$ ), υποτροπή ( $p=0.038$ ) και απομακρυσμένη μετάσταση ( $p=0.049$ ). Η ανάλυση επιβίωσης έδειξε ότι η έλλειψη έκφρασης AR, η λεμφαδενική διήθηση, και το μέγεθος του όγκου, σχετίζονταν αρνητικά τόσο με το ελεύθερο νόσου διάστημα όσο και με τη συνολική επιβίωση, Όμως, κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση, η οποία συνεκτίμησε την ηλικία, το μέγεθος του όγκου, τη λεμφαδενική διήθηση, την έκφραση των AR και τον βασικού τύπου φαινότυπο, η στατιστική σημαντικότητα για τους AR χάθηκε και τελικά οι μόνες μεταβλητές, που αποτέλεσαν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες ήταν το μέγεθος του όγκου και η λεμφαδενική διήθηση. Παρόμοια αποτελέσματα έλαβαν οι ερευνητές όταν υποδιαίρεσαν το δείγμα τους σε ασθενείς με διηθημένους ή μη λεμφαδένες [136].

Οι **Luo et al.** [129] διερεύνησαν την έκφραση των AR και τη σχέση τους με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους, εστιάζοντας ιδιαίτερα στους TNBC. Η έκφραση των AR προσδιορίστηκε ανοσοϊστοχημικά σε 137 περιπτώσεις TNBC και 132 περιπτώσεις μη TNBC. Αναλύθηκαν οι σχέσεις ανάμεσα στην έκφραση AR, με τα κλινικοπαθολογικά δεδομένα και την πρόγνωση. Το συνολικό ποσοστό 5ετούς επιβίωσης ήταν 78,8% στα TNBC περιστατικά και 83,3% σε μη-TNBC περιστατικά. Παρατηρήθηκε πως η θετική έκφραση AR ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε TNBC σε σύγκριση με μη-TNBC (27,7% έναντι 83,3%,  $p<0,001$ ). Η έκφραση AR συσχετίστηκε με την κατάσταση εμμηνόπαυσης ( $p=0,009$ ), τον ιστολογικό βαθμό κακοήθειας ( $p = 0,023$ ), τη λεμφαδενική διήθηση ( $p=0,005$ ), την ελεύθερη νόσου επιβίωση 5 ετών ( $p = 0,025$ ) και την 5-ετή συνολική επιβίωση ( $p = 0,018$ ) σε TNBC, αλλά δεν συσχετίστηκε με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και την επιβίωση σε μη-TNBC. Βάσει των

ευρημάτων τους, οι ερευνητές κατέληξαν πως η έκφραση των AR σχετίζεται με τη βιολογική συμπεριφορά του TNBC, καθώς παίζει ένα ρόλο στην ενδοκρινή θεραπεία του νεοπλάσματος, και έχει επίσης και προγνωστικό ρόλο.

Οι **Gasparini et al.** [128] εξέτασαν την έκφραση των AR με ανοσοϊστοχημική ανάλυση σε 678 καρκίνους του μαστού, συμπεριλαμβανομένων 396 TNBC. Εξετάστηκαν επίσης 50 λεμφαδενικές μεταστάσεις. Αξιολογήθηκε η συσχέτιση της έκφρασης με κλινικά (φυλή, επιβίωση) και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά. Το προφίλ έκφρασης mRNA μικροσυστοιχιών μελετήθηκε σε 160 TNBCs, και αναλύθηκαν οι διαφορές ανάλογα με την κατάσταση των AR. Στους TNBC όγκους, το ποσοστό των AR-θετικών περιπτώσεων ήταν χαμηλότερο (24,8% έναντι 81,6% των μη-TNBC όγκων), ειδικά στις Αφροαμερικανές γυναίκες (16,7% έναντι 25,5% των καρκίνων των λευκών γυναικών). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στην έκφραση των AR σε πρωτοπαθείς όγκους σε σχέση με τις αντίστοιχες μεταστατικές εστίες. Στη μελέτη μικροσυστοιχιών, η έκφραση τριών γονιδίων (HER4, TNFSF10, CDK6) παρουσίασε σημαντική απορρύθμιση σε συνδυασμό με την κατάσταση των υποδοχέων των ανδρογόνων. Ειδικότερα το μόριο CDK6, ένας νέος θεραπευτικός στόχος σε TNBC όγκους, έδειξε σημαντικά υψηλότερο επίπεδο έκφρασης σε AR-αρνητικές περιπτώσεις ( $p < 0,01$ ). Η έκφραση των AR παρουσίασε αντίστροφη συσχέτιση με το βαθμό ιστολογικής κακοήθειας αλλά και συσχέτιση με καλύτερη επιβίωση. Η μελέτη επιβεβαίωσε την προγνωστική επίδραση της έκφρασης των AR στο μη-βασικού τύπου TNBC, και πρότεινε τη στόχευση νέων μοριακών οδών που σχετίζονται με τους AR στους προαναφερθέντες ασθενείς [128].

Οι **McGhan et al.** [127] κατασκεύασαν μια ιστική μικροσυστοιχία χρησιμοποιώντας ιστούς που ελήφθησαν από 119 ασθενείς με πρωτοπαθή TNBC και μελέτησαν την έκφραση των AR. Άλλοι τύποι ιστού που ελήφθησαν ήταν υποτροπιάζουσες βλάβες TNBC, φυσιολογικός ιστός μαστού, παρακείμενα *in situ*

πορογενή καρκινώματα (DCIS), λεμφαδενικές (LN) και απομακρυσμένες μεταστάσεις. Ως θετική έκφραση των AR ορίστηκε η  $\geq 10\%$  πυρηνική χρώση. Επιθηλιακός ιστός ήταν παρών και μπορούσε να εκτιμηθεί σε 94 ασθενείς TNBC με ένα σύνολο από 177 δείγματα ιστού. Η έκφραση των AR στα TNBC ήταν σε 22 από τα 94 (23%). Η έκφραση των AR ήταν υψηλότερη σε φυσιολογικό ιστό του μαστού (88%) και στα παρακείμενα DCIS (73% συνολικά). Όλες οι λεμφαδενικές μεταστάσεις από AR-θετικούς ασθενείς TNBC ήταν επίσης θετικές για τους AR. Επιπλέον, κανένας AR-αρνητικός με TNBC ασθενής δεν είχε AR-θετικούς λεμφαδένες. Η έκφραση AR συσχετιζόταν με τη μεγάλη ηλικία των ασθενών (63 έναντι 57 ετών αντίστοιχα,  $p = 0,051$ ) και με τις λεμφαδενικές μεταστάσεις ( $p = 0,033$ ). Η τοποπεριοχική υποτροπή και συνολική / της συγκεκριμένης νόσου επιβίωση ήταν παρόμοιες μεταξύ AR-θετικών και AR-αρνητικών ασθενών, αν και πιο προχωρημένο στάδιο της νόσου σημειώθηκε στους AR-θετικούς ασθενείς. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, η παρουσία των λεμφαδενικών μεταστάσεων συσχετιζόταν με φτωχότερη επιβίωση χωρίς υποτροπή σε AR-θετικούς ασθενείς (αναλογία κινδύνου, 4.34,  $p = 0,031$ ). Οι ερευνητές κατέληξαν, πως οι AR εκφράζονται στο φυσιολογικό μαστό, και η έκφραση μειώνεται με την πρόοδο προς DCIS και διηθητικό καρκίνο. Οι AR-θετικοί TNBC ήταν πιο συχνοί σε ηλικιωμένους ασθενείς και είχαν μια υψηλότερη τάση για λεμφαδενικές μεταστάσεις. Ο AR-θετικός TNBC πιθανώς να αντιπροσωπεύει έναν υπότυπο με μοναδικά χαρακτηριστικά, που μπορεί να είναι επιδέχεται θεραπεία με εναλλακτικές στοχευμένες θεραπείες για τον καρκίνο του μαστού.

Οι **Pistelli et al.** [138] μελέτησαν τη συσχέτιση της έκφρασης AR με κλινικές, παθολογοανατομικές παραμέτρους, μοριακά χαρακτηριστικά και την πρόγνωση πρώιμου TNBC. Οι όγκοι θεωρήθηκαν θετικοί για την έκφραση AR στις περιπτώσεις με  $>10\%$  πυρηνική χρώση. Η επιβίωση αξιολογήθηκε με τη μέθοδο Kaplan-Meier, και έγινε μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση. 81 ασθενείς με TNBC, που

διαγνώστηκαν από τον Ιανουάριο 2006 έως το Δεκέμβριο του 2011 συμπεριελήφθησαν στην ανάλυση. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες χρωματίστηκαν ανοσοϊστοχημικά για υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης, HER-2, Ki-67, ALDH1, E-καντχερίνη και AR. Από τα 81 δείγματα TNBC, 18,8% εμφάνισαν θετική ανοσοχρώση για AR, ενώ 23,5% και 44,4% των ασθενών ήταν αρνητικές για E-καδχερίνη και ALDH1, αντίστοιχα. Η θετική ανοσοχρώση AR συσχετιζόταν αντιστρόφως με υψηλότερο Ki-67 ( $p < 0,0001$ ) και με λεμφο-αγγειακή διήθηση ( $p = 0,01$ ), αλλά όχι με τις άλλες μεταβλητές. Η μονοπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης έδειξε, ότι η έκφραση του AR δεν συσχετιζόταν με την ελεύθερη νόσου επιβίωση ( $p = 0,72$ ) ή με τη συνολική επιβίωση ( $p = 0,93$ ). Οι ερευνητές κατέληξαν, ότι η έκφραση των AR συνδέεται με ορισμένα βιολογικά χαρακτηριστικά των TNBC, όπως Ki-67 και λεμφο-αγγειακή διήθηση. Παρ' όλα αυτά η προγνωστική σημασία των AR δεν τεκμηριώθηκε στην ανάλυσή τους. Ωστόσο, οι ερευνητές υπογράμμισαν την αξία περαιτέρω προοπτικών μελετών επί του θέματος.

Οι **Thike et al.** [133] εξέτασαν ανοσοϊστοχημικά την έκφραση των AR, των δεικτών βασικού τύπου (CK14, 34βE12) και του EGFR σε 699 διηθητικά TNBC, σε ιστοικές μικροσυστοιχίες, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο στρεπταβιδίνης-βιοτίνης, ενώ επίσης συσχέτισαν τα ευρήματα με την κλινική έκβαση. Θετική έκφραση των AR ορίστηκε η χρώση του 1% ή περισσότερο των πυρήνων των κυττάρων του όγκου. Τα αποτελέσματα που αφορούσαν στην επιβίωση εκτιμήθηκαν με τη μέθοδο Kaplan-Meier και συγκρίθηκαν μεταξύ των ομάδων με τη στατιστική δοκιμασία log-rank. Cox μοντέλα αναλογικού κινδύνου χρησιμοποιήθηκαν για να προσδιοριστεί η επίδραση της έκφρασης των υποδοχέων AR στην επιβίωση. Ανοσοϊστοχημική θετικότητα για τους AR παρατηρήθηκε στο 38% των όγκων, με την αναλογία των θετικών κυττάρων στους όγκους να κυμαίνεται από 1 έως 95% (μέσος όρος 29%, μέση τιμή 10%). Έκφραση των υποδοχέων των ανδρογόνων σχετίστηκε αντίστροφα με τον ιστολογικό

βαθμό κακοήθειας και το μιτωτικό δείκτη. Οι δείκτες CK14, 34βE12 και EGFR επιβεβαίωσαν ότι το 85% των περιπτώσεων ήταν βασικού τύπου, χωρίς σημαντική συσχέτιση του βασικού ανοσοφαινότυπου με την έκφραση των AR. Η ελεύθερη νόσου επιβίωση ήταν σημαντικά καλύτερη σε AR-θετικά TNBC, με μια τάση και για αντίστοιχη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης.

Οι **Choi et al.** [137] εξέτασαν την ανοσοϊστοχημική έκφραση των AR σε μια μεγάλη σειρά περιπτώσεων TNBC και αναζήτησαν τις συσχετίσεις της έκφρασής τους με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά και την κλινική έκβαση. Έκφραση των AR βρέθηκε στο 17,7% (87/492) των TNBCs. Θετική έκφραση των AR συσχετιζόταν σημαντικά με τη μεγάλη ηλικία ( $p < 0,001$ ), αποκρινή ιστολογία ( $p = 0,001$ ) και χαμηλότερο ιστολογικό βαθμό κακοήθειας ( $p < 0,001$ ). Η έκφραση των AR ήταν προγνωστικός παράγοντας για τη συνολική επιβίωση, τόσο στη μονομεταβλητή ( $p = 0,026$ ) όσο και την πολυμεταβλητή ( $p = 0,008$ ) ανάλυση. Στην υποομάδα που ήταν αρνητική για λεμφαδενική διήθηση ( $n = 316$ ), η έκφραση των AR ήταν σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για χειρότερη συνολική και ελεύθερη νόσου επιβίωση τόσο στις μονομεταβλητές ( $p = 0,028$  και  $0,011$ ) και στις πολυμεταβλητές ( $p = 0,024$  και  $0,01$ , αντίστοιχα) αναλύσεις. Η έκφραση των AR ήταν επίσης προγνωστικός παράγοντας στην pT1 υποομάδα (συνολική επιβίωση,  $p = 0,007$ , ελεύθερη νόσου επιβίωση,  $p = 0,01$ ). Ωστόσο, αυτή η προγνωστική αξία της δεν παρατηρήθηκε σε TNBC ασθενείς με λεμφαδενικές μεταστάσεις ή μέγεθος όγκου μεγαλύτερο από pT1. Οι ερευνητές συμπέραναν, πως τα AR-εκφράζοντα TNBC αντιπροσωπεύουν μια ξεχωριστή υποομάδα με κακή έκβαση, και αναφέρθηκαν στον ανδρογονικό αποκλεισμό του καρκίνου του μαστού ως μια πιθανή ορμονική θεραπεία για τους ασθενείς αυτούς.

Οι **Safarpour et al.** [132] εξέτασαν 400 διαδοχικά περιστατικά καρκινωμάτων αναφορικά με την έκφραση ER, PR, AR και HER-2. Η συχνότητα της θετικότητας των

AR, μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, καταγράφηκε στην μορφολογία των AR+ TNBCs. Η έκφραση του Ki67 αξιολογήθηκε σε επιλεγμένη ομάδα των περιπτώσεων. Οι κατευθυντήριες γραμμές της ASCO / CAP χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των διαφόρων βιοδεικτών. Από τους 400 όγκους, 32 (8%) καρκινώματα ήταν τετραπλά αρνητικοί (ER-, PR-, AR-, HER2-), ενώ 50 όγκοι (12,5%) ήταν τριπλά αρνητικοί (ER-, PR-, HER2-). 18 (36%) από τους TNBC ήταν AR θετικοί και 10 (55%) από αυτούς ήταν κλασικά αποκρινή καρκινώματα. 14 περιπτώσεις, όλες αποκρινή καρκινώματα, ήταν AR και HER2 θετικά. Όλα τα 32 τετραπλά καρκινώματα ήταν ελάχιστα διαφοροποιημένα και είχαν την υψηλότερη έκφραση του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67. Με βάση το σχετικά υψηλό ποσοστό των AR+ όγκων (36%) μεταξύ των 50 TNBC, οι ερευνητές υποστήριξαν ως εξέταση ρουτίνας την εκτίμηση της έκφρασης των AR σε όλες τις περιπτώσεις καρκινωμάτων TNBCs και αποκρινών καρκινωμάτων ως δυνητικά καθοριστική για θεραπευτικούς στόχους.

### 5.3. Μοριακές αλληλεπιδράσεις των AR στον TNBC

Νεότερες μελέτες εξετάζουν τους AR σε συνδυασμό με άλλα μόρια στον TNBC. Οι **Tang et al.** [135] αξιολόγησαν την έκφραση των AR και της E-καντχερίνης, σε συνδυασμό με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους σε TNBC, συμπεριλαμβάνοντας 127 ασθενείς με TNBC. Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις για AR και E-καντχερίνη διεξήχθησαν και βρέθηκε ότι σε ασθενείς με TNBC, οι AR εκφραζόταν σε 16 (12,6%) περιπτώσεις, ενώ η E-καντχερίνη εκφραζόταν σε 41 (33,0%) περιπτώσεις. Η έκφραση των AR συνδεόταν με το βαθμό κακοήθειας του όγκου ( $p= 0,004$ ) και την κατάσταση της εμμηνόπαυσης ( $p = 0,017$ ), ενώ η έκφραση E-καντχερίνης σχετιζόταν με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων ( $p = 0,016$ ). Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι το μέγεθος του όγκου, ο βαθμός κακοήθειας του όγκου, η κατάσταση των λεμφαδένων, και η E-καντχερίνη ήταν προγνωστικοί παράγοντες για

το ελεύθερο νόσου διάστημα και τη συνολική επιβίωση. Σε σύγκριση με τους AR-θετικούς ασθενείς, οι AR-αρνητικοί ασθενείς παρουσίασαν σημαντικά φτωχότερα αποτελέσματα σε σχέση με το ελεύθερου νόσου διάστημα ( $p=0,047$ ) και τη συνολική επιβίωση ( $p=0,038$ ). Ασθενείς αρνητικοί στην E-καντχερίνη παρουσίασαν μικρότερο ελεύθερο νόσου διάστημα ( $p=0,016$ ) και φτωχότερη συνολική επιβίωση ( $p=0,012$ ) από ό,τι ασθενείς θετικοί στην E-καντχερίνη. Το προφίλ έκφρασης AR-θετικών και E-καντχερίνη-αρνητικών όγκων συσχετίστηκε με υποτροπή ή μετάσταση ( $P=0,036$ ). Επιπλέον, αυξανόμενη της πυρηνικής έκφρασης των AR (25% έναντι 33,3%,  $P=0,361$ ), σημειώθηκε μειωμένη έκφραση της E-καντχερίνης, στα δείγματα TNBC. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν, ότι ο συνδυασμός της έκφρασης των AR και E-καντχερίνης θα μπορούσε να είναι ένας χρήσιμος προγνωστικός δείκτης στον TNBC.

Η μελέτη του **Abd-Elazeem** [134] προσδιόρισε τις κλινικοπαθολογικές συσχετίσεις και την προγνωστική αξία της έκφρασης της κλαουδίνης 4, καθώς επίσης διερεύνησε τη συσχέτισή της με την έκφραση των AR και του Ki-67, σε TNBC όγκους. Κύβιοι παραφίνης ελήφθησαν από 56 γυναίκες ασθενείς με πρωτοπαθείς διηθητικούς πορογενείς TNBC όγκους, και αναλύθηκαν για την ανοσοϊστοχημική έκφραση των δεικτών κλαουδίνη 4, AR, και Ki-67. Υψηλά επίπεδα έκφρασης κλαουδίνης 4 ανιχνεύθηκαν στο 66,1% των περιπτώσεων TNBC. Υπήρξε μια σημαντική θετική συσχέτιση με την ηλικία, το μέγεθος του όγκου, το βαθμό κακοήθειας, τη λεμφαδενική διήθηση, τη μετάσταση, και την έκφραση Ki-67 (όλα τα  $P < .05$ ) και αρνητική συσχέτιση με την έκφραση των AR ( $p < .001$ ). Θετικότητα για την έκφραση των AR σημειώθηκε σε 29 περιπτώσεις (51,8%), με παράλληλη στατιστικά αρνητική συσχέτιση με τις όλες τις παραμέτρους, που μελετήθηκαν (κλινικοπαθολογικές, κλαουδίνη 4 και ποσοστό Ki-67). Οι ερευνητές κατέληξαν, ότι υψηλή έκφραση κλαουδίνης 4, αρνητική έκφραση AR, και υψηλός δείκτης Ki-67 θα μπορούσε να παρέχει μια ισχυρή προγνωστική φάρετρα με την οποία θα



διαφοροποιηθούν οι ασθενείς με χειρότερη έκβαση μεταξύ των ασθενών με TNBC. Επιπλέον, στοχευμένες θεραπείες στην κλαουδίνη 4 ή τους AR προτάθηκαν από τους ερευνητές ως ενδιαφέρον αντικείμενο μελλοντικών μελετών [134].

Μόριο στενά σχετιζόμενο με τους AR είναι η κινάση PI3K. Οι **Lehmann et al.** [139] προσδιόρισαν τη συχνότητα ενεργοποιητικών μεταλλάξεων PIK3CA σε κλινικές περιπτώσεις AR + αλλά και AR- TNBC. Χρησιμοποιώντας κυτταρικές σειρές AR+ TNBC και μοντέλα ξενομοσχευμάτων αξιολόγησαν επίσης την αποτελεσματικότητα των αναστολέων της PI3K, που χρησιμοποιήθηκαν μόνοι ή σε συνδυασμό με έναν ανταγωνιστή AR, επί της ανάπτυξης των κυττάρων του όγκου και τη βιωσιμότητα. Οι ερευνητές παρατήρησαν, πως οι μεταλλάξεις της PIK3CA ήταν πολύ κλωνικές, πιο συχνές σε AR+ όγκους σε σχέση με AR- TNBC (40% έναντι 4%), και συχνά σχετιζόταν με την ταυτόχρονη ενίσχυση της θέσεως PIK3CA. Οι PI3K / mTOR αναστολείς είχαν αθροιστική δράση ανασταλτική της ανάπτυξης, όταν συνδυάζονταν με τη γενετική ή φαρμακολογική AR στόχευση σε κύτταρα AR + TNBC. Αναφορικά με το συνδυασμό της βικαλουταμίδης +/- τον αναστολέα παν-PI3K GDC-0941 ή το διπλό αναστολέα της PI3K / mTOR GDC-0980 σε μελέτες ξενομοσχεύματος όγκου, και πάλι παρατηρήθηκαν αθροιστικά αποτελέσματα. Ενώ λοιπόν, περίπου το ένα τρίτο των ασθενών TNBC ανταποκρίνεται στη νεοεπικουρική / επικουρική χημειοθεραπεία, οι ασθενείς με AR + TNBC είναι πολύ λιγότερο πιθανό να επωφεληθούν από το ισχύον πρότυπο των αγωγών χημειοθεραπείας. Υπό το φως αυτής της γνώσης, οι ερευνητές έδειξαν τον υποσχόμενο ρόλο για συνδυαστική θεραπεία με αναστολείς PI3K με έναν ανταγωνιστή AR. Υπό το φως αυτών των ευρημάτων, η χρήση των ανταγωνιστών AR σε συνδυασμό με αναστολείς PI3K / mTOR φαίνεται εξαιρετικά ενδιαφέροντα [139].

Οι **Cuenca-Lopez et al.** [140] χρησιμοποίησαν ανθρώπινα δείγματα TNBC για να αξιολογηθεί η έκφραση των AR με συστοιχίες Western blot και φωσφο-

πρωτεομικών κινασών που αναγνωρίζουν μεμβρανικούς υποδοχείς τυροσινικής κινάσης και downstream μεσολαβητές. Επιπρόσθετα, Western blots σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές διεξήχθησαν για να αναλυθεί η έκφραση και ενεργοποίηση των επιμέρους πρωτεϊνών. Φάρμακα κατά αυτών των κινασών σε διαφορετικές συνθήκες χρησιμοποιήθηκαν για να μετρηθεί η έκφραση των AR. PCR διεξήχθη για να αξιολογηθούν οι αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου AR μετά από θεραπευτική διαμόρφωση αυτών των οδών. Οι AR βρέθηκαν παρόντες σε ένα υποσύνολο TNBC και η έκφρασή τους συσχετίστηκε με ενεργοποιημένο EGFR και PDGFRβ τόσο στα ανθρώπινα δείγματα όσο και τις κυτταρικές σειρές. Αναστολή της PI3K / mTOR οδού σε TNBC κυτταρικές σειρές μείωσε σημαντικά την έκφραση των AR. Η ταυτόχρονη χορήγηση του αντι-ανδρογόνου βικαλουταμίδης με αναστολείς EGFR, PDGFRβ και / 2 Erk1, μείωσε την ποσότητα των AR σε σύγκριση με κάθε παράγοντα που δίδεται μόνος, και είχε αθροιστική αντι-πολλαπλασιαστική δράση. Χορήγηση της διυδροτεστοστερόνης αύξησε την έκφραση των AR που δεν είχε τροποποιηθεί με την αναστολή της PI3K / mTOR ή Erk1 / 2 οδών. Η έκφραση των AR ήταν μετα-μεταγραφικά ρυθμιζόμενη από την PI3K ή Erk1 / 2 αναστολή. Οι ερευνητές συμπερασματικά πρότειναν το συνδυασμό της βικαλουταμίδης με αναστολείς του EGFR, PDGFRβ ή Erk1 / 2 ως δυνητικό θεραπευτικό σχήμα υπό αξιολόγηση [140].

#### **5.4. Έκφραση των AR σε TNBC: απεικονιστικές προεκτάσεις**

Οι **Bae et al.** [141] εξέτασαν αν οι TNBC με και χωρίς έκφραση AR έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά απεικόνισης στη μαστογραφία, το υπερηχογράφημα μαστού και στη μαγνητική τομογραφία του μαστού. Οι ερευνητές μελέτησαν την έκφραση των AR ανοσοϊστοχημικά σε 125 ασθενείς με TNBC από διαδοχική σειρά 1086 διηθητικών καρκίνων του μαστού. Δύο έμπειροι ακτινολόγοι, οι οποίοι δεν γνώριζαν τα κλινικοπαθολογοανατομικά ευρήματα επανεξέτασαν όλες τις

απεικονιστικές εξετάσεις με τη χρήση του λεξικού BI-RADS. Τα απεικονιστικά και παθολογικά χαρακτηριστικά του 33 AR-θετικών TNBCs συγκρίθηκαν με εκείνα των 92 AR-αρνητικών TNBCs. Η παρουσία των μαστογραφικών αποπιτανώσεων με ή χωρίς μάζα ( $p < 0,001$ ), η μη ενίσχυση μάζας στη μαγνητική τομογραφία ( $p < 0,001$ ), και οι μάζες με ακανόνιστο σχήμα ή ακανθωτά περιθώρια στον υπέρηχο ( $p < 0,001$  και  $p = 0,002$ ) και στη μαγνητική τομογραφία ( $p = 0,001$  και  $p < 0,001$ ) συσχετίζονταν σημαντικά με AR-θετικά περιστατικά TNBC. Σε σύγκριση με τα AR-αρνητικά TNBC, τα AR-θετικά TNBC ήταν πιο πιθανό να έχουν συνιστώσα πορογενούς καρκινώματος *in situ* (59,8% έναντι 90,9%,  $p = 0,001$ ) και χαμηλή Ki-67 έκφραση (30,4% έναντι 51,5%,  $p = 0.030$ ). Φάνηκε συνεπώς ότι οι AR-θετικοί και αρνητικοί TNBCs έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά κατά την απεικόνιση. Η χρήση περισσότερων της μίας απεικονιστικών μεθόδων μπορεί να βοηθήσει στην πρόβλεψη της κατάστασης του υποδοχέα ανδρογόνων σε TNBC, σε σχέση με τα ευρήματα μιας μεμονωμένης μεθόδου. Μάλιστα ορισμένα απεικονιστικά ευρήματα μπορεί να είναι χρήσιμα για να προβλέψουν την κατάσταση των AR σε TNBC, δεδομένου πως ο θετικός για τους AR TNBC συνδέεται με αποπιτανώσεις, ακανθωτές μάζες, και μη ενίσχυση της μάζας[141].

### 5.5. Θεραπευτικές προεκτάσεις των AR στον TNBC

Οι θεραπευτικές επιλογές για τον TNBC συνοψίζονται στην **Εικόνα 10** και αφορούν στη χημειοθεραπεία με βάση ανθρακυκλίνες, ταξάνες και καρβοπλατίνη/cis-πλατίνη.

Με βάση την πληθώρα μελετών, που έχει παρουσιαστεί στα προηγούμενα κεφάλαια, αναμένονται με ενδιαφέρον τα αποτελέσματα της μελέτης «**Safety and Efficacy Study of Enzalutamide in Patients With Advanced, Androgen Receptor-Positive, Triple Negative Breast Cancer (NCT 01889238)**», η οποία

βρίσκεται υπό εξέλιξη [142]. Η εν λόγω μελέτη Φάσης 2 αποσκοπεί στο να μεταφράσει σε κλινικό όφελος τα αποτελέσματα των μελετών παρατήρησης στο TNBC. Η μελέτη ξεκίνησε το Μάιο του 2013 και αναμένεται να ολοκληρωθεί το Δεκέμβριο του 2017. Στην πολυκεντρική αυτή μελέτη η ουσία enzalutamide (**Εικόνα 11**) χορηγείται σε δόση 160 mg ως τέσσερα μαλακά καψάκια ζελατίνης από του στόματος μία φορά ημερησίως. Τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη είναι

- Γυναίκες τουλάχιστον 18 ετών

- AR + TNBC όγκοι

- Διαθεσιμότητα ενός αντιπροσωπευτικού δείγματος του όγκου

- Μετρήσιμη νόσος ή μη μετρήσιμη νόσος μόνο στα οστά

- Eastern Cooperative Oncology Group κατάσταση (ECOG) 0 ή 1.

Τα κριτήρια αποκλεισμού από την υπό συζήτηση μελέτη είναι:

- Οποιαδήποτε σοβαρή ταυτόχρονη νόσος και λοίμωξη

- Οποιαδήποτε κατάσταση ή αιτία που επηρεάζει την ικανότητα του ασθενούς να συμμετάσχει στη μελέτη, που μπορεί να προκαλέσει αδικαιολόγητο κίνδυνο, ή περιπλέκει την ερμηνεία των δεδομένων ασφαλείας

- Τρέχουσα ή προηγούμενη θεραπεία εγκεφαλικών μεταστάσεων ή ενεργός λεπτομηνιγγική νόσος

- Τρέχουσα θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης

- Τοπική θεραπεία παρηγορητικής ακτινοβολίας μέσα σε 7 ημέρες πριν από την ημέρα 1

- Ιστορικό άλλου επιθετικού καρκίνου εντός 5 ετών από την ημέρα 1

- Απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων  $<1.500 / \mu\text{L}$ , αριθμός αιμοπεταλίων  $<75.000 / \mu\text{L}$ , ή αιμοσφαιρίνη  $<9 \text{ g} / \text{dL}$  ( $5.6 \text{ mmol} / \text{L}$ ) κατά την επίσκεψη διαλογής

- Κρεατινίνη  $> 1,5$  φορές το ULN κατά την επίσκεψη ελέγχου

-Ιστορικό επιληπτικών σπασμών ή οποιαδήποτε κατάσταση, που μπορεί να προδιαθέτουν σε επιληπτικούς σπασμούς

-Κλινικά σημαντική καρδιαγγειακή νόσος

-Ενεργός γαστρεντερική διαταραχή, που επηρεάζει την απορρόφηση

-Σημαντική χειρουργική επέμβαση μέσα σε 4 εβδομάδες πριν από την ημέρα 1

-Θεραπεία με οποιονδήποτε εμπορικώς διαθέσιμο αντικαρκινικό παράγοντα εντός 14 ημερών πριν από την ημέρα 1

-Θεραπεία με οποιονδήποτε δοκιμαζόμενο παράγοντα μέσα σε 2 εβδομάδες πριν από την ημέρα 1

-Θεραπεία με οποιοδήποτε από τα ακόλουθα φάρμακα εντός 2 εβδομάδων πριν από την ημέρα 1: οιστρογόνα, συμπεριλαμβανομένης της θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης, ανδρογόνα (τεστοστερόνη, dihydroepiandrosterone κλπ), συστηματικώς ραδιονουκλεΐδια (π.χ., σαμάριο ή στρόντιο), ανοσοθεραπεία διά εμβολιασμού

-Υπογλυκαιμικό επεισόδιο, που απαιτεί ιατρική παρέμβαση, ενώ είναι σε θεραπεία με ινσουλίνη εντός 12 μηνών πριν από την ημέρα 1

-Αντίδραση υπερευαισθησίας στο δραστικό φαρμακευτικό συστατικό ή σε οποιοδήποτε από τα συστατικά της κάψουλας, συμπεριλαμβανομένης Labrasol, βουτυλιωμένης υδροξυανισόλης και βουτυλιωμένου υδροξυτολουόλιου.

Ως κύριο καταληκτικό σημείο (outcome) της μελέτης έχει οριστεί το κλινικό όφελος (clinical benefit), σε χρόνο  $\geq 16$  εβδομάδων, ενώ ως δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία έχουν οριστεί το κλινικό όφελος (clinical benefit), σε χρόνο  $\geq 24$  εβδομάδων, το ποσοστό καλύτερης αντικειμενικής απόκρισης (Best Objective Response Rate, χρόνος  $\geq 16$  εβδομάδων), η διάρκεια της απόκρισης (χρόνος  $\geq 16$  εβδομάδων), ο χρόνος της απόκρισης (χρόνος  $\geq 16$  εβδομάδων), η επιβίωση ελεύθερη προόδου νόσου (χρόνος  $\geq 16$  εβδομάδων), και φαρμακοκινητικά δεδομένα

(Cthrough του ενεργού μεταβολίτη N-desmethyl-enzalutamide, χρόνος  $\geq 16$  εβδομάδων).

Πειραματικά δεδομένα από κυτταρικές σειρές υποδεικνύουν τη σημασία επίσης νέων μορίων της τάξης SARMs (selective androgen receptor modulators), όμως η κλινική τους αποτελεσματικότητα αναμένεται να αξιολογηθεί στο μέλλον [143].

## 5.6. Η σημασία της αρωματάσης στον TNBC

Συγκεκριμένες αρωματάσες (P450arom) εκφράζουν τη δράση τους στα νεοπλασματικά κύτταρα των όγκων του μαστού, αποτελώντας ενζυμικά κλειδιά στη στεροειδογένεση των όγκων αυτών. Η in situ βιοσύνθεση των ορμονών του φύλου στον καρκίνο του μαστού μπορεί να ενέχει ιδιαίτερη σημασία. Οι υψηλές συγκεντρώσεις των κυκλοφορούντων ανενεργών στεροειδών, όπως η θειϊκή οιστρόνη και η ανδροστενδιόνη είναι προγονικά υποστρώματα για την τοπική παραγωγή οιστρογόνων ή/και ανδρογόνων στα καρκινώματα του μαστού. Βιοδραστικά στεροειδή του φύλου, όπως η οιστραδιόλη και η 5α-διυδροτεστοστερόνη παράγονται τοπικά και επιδρούν στα κύτταρα του καρκινώματος δια μέσου των υποδοχέων οιστρογόνων και ανδρογόνων, αντίστοιχα (**Εικόνα 12**). Στον εν λόγω τοπικό μετασχηματισμό, η αρωματάση διαδραματίζει κομβικό ρόλο [144]. Η αναστολή της αρωματάσης μπορεί λοιπόν να εμποδίσει ζωτικές ενδογενείς λειτουργίες για την αύξηση των καρκινικών κυττάρων των όγκων του μαστού, γεγονός που έχει ανοίξει νέους δρόμους στοχευμένων θεραπευτικών χειρισμών.

Πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη εξέτασε **κοόρτη 81 ασθενών με TNBC στην Ιαπωνία** και αξιολόγησε τη σημασία του μεταβολισμού των οιστρογόνων (αρωματάση, 17-βητα-υδροξυ-στεροειδο-αφυδρογονάσες 1, 2 και 6) στην εν λόγω νοσολογική οντότητα. Κατά την εξέταση των αλληλεπιδράσεων επί τη βάσει της πρωτεϊνικής έκφρασης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της

έκφρασης της αρωματάσης με την οδό των ανδρογόνων ( $p < 0.05$ ) στις ασθενείς με TNBC. Εξαιτίας της παρατηρούμενης αυτής συσχέτισης και της πιθανής σημασίας στις θεραπείες που στοχεύουν στην οδό των ανδρογόνων στον TNBC, οι συγγραφείς προχώρησαν σε *in vitro* μελέτη και παρατήρησαν την επαγόμενη από τα ανδρογόνα έκφραση της αρωματάσης και του ER $\beta$  σε ορισμένες κυτταρικές σειρές οι οποίες εξέφραζαν τους ανδρογονικούς υποδοχείς (MDA-MB-453, SUM-185-PE and MFM-223) [145]. Εντούτοις τα δεδομένα είναι εξαιρετικά πρώιμα και ο πιθανός ρόλος της αρωματάσης στον TNBC δεν έχει αποσαφηνιστεί.

## Γ. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 1. Εισαγωγή και Σκοπός

Ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού (TNBC) είναι οντότητα η οποία χαρακτηρίζεται από την έλλειψη έκφρασης των οιστρογονικών υποδοχέων (ER), των προγεστερονικών υποδοχέων (PR) και του HER2 (human epidermal growth factor receptor 2). Ο TNBC χαρακτηρίζεται από πτωχή πρόγνωση [146,147] καθώς επίσης και συχνές μεταστάσεις στους πνεύμονες και τον εγκέφαλο [148,149]. Η χημειοθεραπεία αποτελεί τη διαθέσιμη δραστική θεραπευτική επιλογή για τον τύπο αυτό του καρκίνου του μαστού.

Ανοσοϊστοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι υποδοχείς ανδρογόνων (ARs) are εκφράζονται περίπου στο 70-90% του διηθητικού καρκίνου του μαστού [111-114], όμως ο ρόλος τους στην παθογένεση του μαστού, καθώς επίσης οι εμπλεκόμενοι βιοχημικοί μηχανισμοί, δεν έχουν πλήρως διαλευκανθεί. Έχει προταθεί ότι τα ανδρογόνα διαμεσολαβούν πολύπλευρες λειτουργίες: μπορούν να επάγουν ανασταλτική της αύξησης απόκριση σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού που εκφράζουν τους ER, PR και AR, όπως οι T-47-D και ZR-75-1, ενώ έχουν επίσης παρατηρηθεί επιδράσεις ευοδωτικές της ανάπτυξης στα ER(+) και PR(+) MCF-7 κύτταρα [108].

Εντούτοις, σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού που δεν εκφράζουν τους ER και PR, αλλά είναι θετικές στους AR, τα ανδρογόνα μπορούν να επάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Φαίνεται λοιπόν ότι οι τελικές επιδράσεις των ανδρογόνων στον καρκίνο του μαστού μπορεί να επηρεάζονται από περίπλοκες αλληλεπιδράσεις με συμπαραγόντες (co-factors) και συν-ανασταλτές (co-repressors) [108]. Αναφορικά με πιθανούς συμπαραγόντες, οι Garay et al. υπογράμμισαν την αλληλεπίδραση ανάμεσα στις οδούς του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού



παράγοντα (EGFR) και των ανδρογονικών υποδοχέων στο επίπεδο των ενεργοποιούμενων από τα μιτογόνα κινασών (mitogen-activated protein kinase (MAPK), καθώς επίσης την εξάρτηση της μεταγωγής σήματος των AR από την πρωτεΐνη p21 [109].

Ποικίλες μελέτες έχουν εξετάσει το ρόλο των ARs ως προς την πρόγνωση του καρκίνου του μαστού, με αντικρουόμενα ευρήματα. Οι Kuenen-Boumeester et al. έδειξαν ότι η έκφραση των AR συσχετιζόταν με βελτιωμένη επιβίωση ελεύθερη νόσου κατά τη μονοπαραγοντική ανάλυση, όμως η συσχέτιση έχασε τη σημαντικότητά της κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση [115]. Η προοπτική μελέτη Nurses Health Study έδειξε μη σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση των AR και το θάνατο από καρκίνο του μαστού [111]. Έχει επίσης βρεθεί ότι η θετικότητα για τους AR συσχετίζεται με έλλειψη λεμφαδενικής διήθησης [119], μικρότερο μέγεθος όγκου [112,119], χαμηλό βαθμό ιστολογικής κακοήθειας [112,119], μη αυξημένα επίπεδα του καρκινικού αντιγόνου 15-3 στον ορό [112] και αρνητική p53-negativity [119].

Αντικρουόμενα ευρήματα αναφορικά με το ρόλο της έκφρασης των AR έχουν αναφερθεί και από τις μελέτες που διερεύνησαν ειδικά τους TNBC. Οι Mrklic et al. υποστήριξαν ότι η έκφραση των AR συσχετίζεται αντιστρόφως με υψηλότερο κλινικό στάδιο, ιστολογικό βαθμό κακοήθειας, μιτωτικό score και το δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67, αλλά όχι με την επιβίωση ελεύθερη νόσου ή τη συνολική επιβίωση [131]. Αντιθέτως, η φωλεασμένη ανάλυση εντός της κοόρτης Nurses Health Study υποστήριξε ότι οι ασθενείς με AR-θετικό TNBC είχαν στατιστικά σημαντική και αύξηση (κατά 83%) στη συνολική θνησιμότητα σε σχέση με τις γυναίκες με AR-αρνητικούς όγκους [111].

Με δεδομένα τα αντιφατικά ευρήματα των πρϋπαρχουσών μελετών, η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στη διερεύνηση του πιθανού προγνωστικού ρόλου της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των ανδρογονικών υποδοχέων στον τριπλά αρνητικό

καρκίνο του μαστού. Δευτερευόντως διερευνήθηκε και η πιθανή έκφραση της αρωματάσης P450 AROM (mouse IgG 2a, Aromatase 376-390), Acris, στους τριπλά αρνητικούς καρκίνους του μαστού. Πιθανή ανάδειξη προγνωστικού ρόλου των υποδοχέων των ανδρογόνων στον TNBC θα έχει ιδιαίτερη σημασία, δεδομένου ότι θα μπορούσε να ανοίξει το δρόμο για νέες στοχευμένες θεραπείες σε αυτόν τον πληθυσμό γυναικών, για τις οποίες οι τρέχουσες θεραπευτικές επιλογές είναι εξαιρετικά περιορισμένες.

## 2. Ασθενείς και Μέθοδος

### 2.1. Συμμετέχουσες ασθενείς

Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη νοσηλεύθηκαν κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 9 ετών (2002-2010) στην Κλινική Μαιευτικής και Γυναικολογίας, στο τριτοβάθμιο Κέντρο αναφοράς Νοσοκομείο "Αλεξάνδρα". 90 συνεχόμενες περιπτώσεις, όλες λευκές γυναίκες, με τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού, εντοπίστηκαν μέσα από μια λεπτομερή βάση δεδομένων, αφού τελέστηκε κεντρικά ιστολογική εξέταση και επιβεβαίωση όλων των περιστατικών.

Οι πληροφορίες αναφορικά με την ηλικία, το στάδιο, το βαθμό κακοήθειας, το μέγεθος του όγκου, τη λεμφαδενική διήθηση και τον ιστολογικό υπότυπο ελήφθησαν από τα κλινικά αρχεία των ασθενών. Οι ιστοπαθολογικές μεταβλητές αξιολογήθηκαν από δύο ανεξάρτητους παθολογοανατόμους.

Γραπτή συγκατάθεση ελήφθη από όλες τις συμμετέχουσες στη μελέτη. Η μελέτη αυτή είναι σύμφωνη με τη Διακήρυξη του Ελσίνκι και έχει εγκριθεί από την Αρμόδια Επιτροπή της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

### 2.2. Ανοσοϊστοχημεία

Προκειμένου να επιβεβαιωθεί η τριπλά αρνητική φύση των περιστατικών, χρησιμοποιήθηκαν τα αντισώματα **PgR (636, Dako)**, **ER (ID5, Dako)** and **HER2 (CB11, Novocastra™)**. Τομές πάχους 4 μm κόπηκαν από μονιμοποιημένους με φορμαλίνη και ενσωματωμένους σε παραφίνη ιστούς. Οι τομές του ιστού αποπαραφιντοποιήθηκαν σε ξυλόλιο και ενυδατώθηκαν σε διαβαθμισμένα διαλύματα αιθανόλης. Στη συνέχεια, αυτοί υποβλήθηκαν σε προεπεξεργασία για την ενίσχυση

της ανάκτησης αντιγόνου. Πρωτογενή αντισώματα ενάντια στους PgR, ER and HER2 χρησιμοποιήθηκαν στο σύστημα EnVision + System-HRP (DAB) (DakoCytomation, Glostrup, Denmark). Η ανοσοϊστοχημεία διενεργήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Η ανοσοϊστοχημεία για τους AR πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο Έρευνας για τον Καρκίνο, Ιατρικό Πανεπιστήμιο της Βιέννης, χρησιμοποιώντας ένα προτυποποιημένο πρωτόκολλο. Αρχικά οι τομές ιστού αποπαραφιντοποιήθηκαν και αφυδατώθηκαν. Τα slides επώαστηκαν σε in 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> για 10 λεπτά για να μειωθεί η μη ειδική χρώση υποβάθρου. Στη συνέχεια, τα δείγματα θερμάνθηκαν για 10 λεπτά σε ρυθμιστικό διάλυμα 1 mM EDTA (pH 8.0) σε δοχείο υπό πίεση για την ανάκτηση του επίτοπου. Τα δείγματα επώαστηκαν με το σύστημα Ultra V Block (UltraVision LP detection system, Lab Vision Corp.) σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά για να παρεμποδιστεί η χρώση του υποβάθρου. Ακολούθησε επώαση για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με **ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού ειδικό για AR (AR441, Dako)**. Για την ανίχνευση δέσμησης αντισώματος, το σύστημα ανίχνευσης UltraVision LP detection system (Lab Vision Corporation) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η εμφάνιση του χρώματος τελέστηκε με 3-3'-διαμινοβενζιδίνη και διεξήχθη επίσης αντιχρωματισμός με αιματοξυλίνη. Τομές καρκίνου του μαστού που ήταν γνωστό ότι εκφράζουν AR χρησιμοποιήθηκαν ως θετικοί μάρτυρες. Δευτερευόντως, ανοσοϊστοχημικά εξετάστηκε και η έκφραση της **αρωματάσης P450 AROM (mouse IgG 2a, Aromatase 376-390), Acris**, κατά την οποία χρησιμοποιήθηκε ως θετικός μάρτυρας ιστός πλακούντα.

Η έκφραση των AR αξιολογήθηκε σε τυφλό τρόπο αναφορικά με τα κλινικά δεδομένα των ασθενών. Τουλάχιστον 100 κύτταρα όγκου αξιολογήθηκαν για κάθε ασθενή. Η ανοσοχρώση ποσοτικοποιήθηκε με βάση την ένταση της πυρηνικής

χρώσης καθώς και το ποσοστό των κυττάρων του όγκου που ήταν AR-θετικά χρησιμοποιώντας το σκορ Allred.

### **2.3. Στατιστική ανάλυση**

Για την αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ της συνολικής επιβίωσης και της έκφρασης των AR, μια τυποποιημένη προσέγγιση σε δύο στάδια ακολουθήθηκε: μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης, η οποία τελέστηκε με μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική παλινδρόμηση κατά Cox, αντίστοιχα. Μια εναλλακτική προσέγγιση, όπου το AR Allred σκορ αντιμετωπίστηκε ως συνεχής μεταβλητή, επίσης ακολουθήθηκε, προκειμένου να διερευνηθεί η αναπαραγωγικότητα των τυχόν ευρημάτων.

Εκτός από τη συνολική ανάλυση, τελέστηκε υποανάλυση στον πιο διαδεδομένο ιστολογικό υπότυπο, δηλαδή το πορογενές TNBC. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του ειδικού στατιστικού λογισμικού STATA/SE version 13 (Stata Corporation, College Station, TX, USA).

### 3. Αποτελέσματα

Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2** και στον **Πίνακα 3**, ξεχωριστά ανάλογα με την υποκατηγορία έκφρασης AR. **Η έκφραση των AR** δεν συσχετιζόταν με το στάδιο ( $p=0,444$ ), το βαθμό ιστολογικής κακοήθειας ( $p=0,696$ ), τον ιστολογικό υπότυπο ( $p>0,999$ ), το μέγεθος του όγκου ( $p=0,087$ ), τη λεμφαδενική διήθηση ( $p=0,080$ ), την ηλικία κατά τη διάγνωση ( $p=0,105$ ), την έκφραση του Ki67 ( $p=0,698$ ) και την έκφραση της p53 ( $p=0,735$ ). Το 48,9% των ασθενών έλαβαν χημειοθεραπεία με βάση ανθρακυκλίνες και ταξάνες, το 24,4% έλαβε χημειοθεραπεία με βάση ανθρακυκλίνη, το 12,2% χημειοθεραπεία με βάση ταξάνη, 6,7% το σχήμα CMF, ενώ 7,8% δεν έλαβαν χημειοθεραπεία. Στο δείγμα της μελέτης δεν υπήρχαν περιπτώσεις μεταστατικών καρκινωμάτων. Ως εκ τούτου, η σχετική ανάλυση δεν τελέστηκε.

Αναφορικά με **την έκφραση της αρωματάσης** P450 AROM (mouse IgG 2a, Aromatase 376-390), Acris, εκείνη ανιχνεύθηκε αρνητική σε όλα τα περιστατικά, με την εξαίρεση μίας ασθενούς. Λόγω της εξαιρετικής σπανιότητας της θετικότητας στην αρωματάση, δεν τελέστηκαν στατιστικές αναλύσεις επί της έκφρασής της.

Οι **Εικόνες 13, 14 και 15** παρουσιάζουν περιστατικά με υψηλή έκφραση AR, ενώ η **Εικόνα 16** παρουσιάζει περιστατικό αρνητικό για τους AR. Στις **Εικόνες 17 και 18** παρουσιάζονται περιστατικά αρνητικά για την έκφραση αρωματάσης, ενώ στην **Εικόνα 19** παρουσιάζεται το περιστατικό που ήταν θετικό στην αρωματάση.

Η υποανάλυση στα πορογενή TNBC ( $n=67$ ) αναπαρήγαγε την έλλειψη συσχετίσεων. Η έκφραση AR δεν συσχετιζόταν με το στάδιο ( $p=0,391$ ), το βαθμό ιστολογικής κακοήθειας ( $p=0,092$ ), το μέγεθος του όγκου ( $p=0,195$ ), τη λεμφαδενική διήθηση ( $p=0,119$ ), την ηλικία κατά τη διάγνωση ( $p=0,091$ ), την έκφραση του δείκτη Ki67 ( $p=0,393$ ) και την έκφραση της πρωτεΐνης p53 ( $p=0,853$ ).

Η διάμεση παρακολούθηση (που ορίστηκε ως η διάμεση παρακολούθηση μεταξύ των ασθενών που δεν πέθαναν) ήταν 87 μήνες και η 5-ετής συνολική επιβίωση ήταν 84,0%. Κατά τη μονοπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης, η έκφραση των AR δεν συσχετίστηκε με τη συνολική επιβίωση, είτε όταν αντιμετωπίστηκε ως διχότομη μεταβλητή (μονοπαραγοντικό HR=1,13, 95%CI: 0,47-2,69,  $p=0,784$  για τη θετικότητα στους AR vs. έλλειψη έκφρασης) είτε ως συνεχής μεταβλητή (μονοπαραγοντικό HR=0,99, 95%CI: 0,85-1,14,  $p=0,871$  για αύξηση κατά μία μονάδα στο Allred score) στο σύνολο του TNBC δείγματος. Η **Εικόνα 20** παρουσιάζει τις καμπύλες Kaplan-Meier για τη συνολική επιβίωση στα AR-θετικά και AR-αρνητικά περιστατικά.

Τα αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής παλινδρόμησης κατά Cox παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4**. Εκτός από συσχέτιση ανάμεσα σε πτωχότερη επιβίωση και περισσότερο προχωρημένο στάδιο (πολυμεταβλητό HR=2,82, 95%CI: 1,33-5,99,  $p=0,007$  για αύξηση κατά ένα επίπεδο), δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις με το βαθμό κακοήθειας, την ηλικία κατά τη διάγνωση, και την ανοσοθετικότητα για τους AR (πολυμεταβλητό HR=0,66, 95%CI: 0,26-1,70,  $p=0,393$ , vs. έλλειψη έκφρασης). Η εφαρμογή εναλλακτικού μοντέλου στο οποίο το AR Allred score αντιμετωπίστηκε ως συνεχής μεταβλητή αναπαρήγαγε την έλλειψη συσχέτισης με τη συνολική επιβίωση (πολυμεταβλητό HR=0,89, 95%CI: 0,75-1,04,  $p=0,136$  για αύξηση του Allred score κατά μία μονάδα).

Η υποανάλυση στα πορογενή καρκινώματα παρομοίως οδήγησε σε μη σημαντικές συσχετίσεις σε αμφότερες τις προσεγγίσεις της ανοσοέκφρασης των AR (πολυμεταβλητό HR=0,73, 95%CI: 0,24-2,28,  $p=0,593$  για την προσέγγιση μέσω διχότομης μεταβλητής και πολυμεταβλητό HR=0,91, 95%CI: 0,76-1,09,  $p=0,289$  για την προσέγγιση μέσω συνεχούς μεταβλητής).

## 4. Συζήτηση

Τα κύρια ευρήματα της παρούσας διατριβής αφορούν στην έλλειψη σημαντικής προγνωστικής επίδρασης της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των AR στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού. Η έκφραση των AR δεν συσχετιζόταν με το στάδιο, το βαθμό κακοήθειας, τον ιστολογικό υπότυπο, το μέγεθος του όγκου, τη λεμφαδενική διήθηση, την ηλικία κατά τη διάγνωση, την έκφραση του Ki67 και της p53, καθώς επίσης με τη συνολική επιβίωση. Η έλλειψη συσχέτισης ήταν αναπαραγώγιμη στην υποομάδα των πορογενών καρκινωμάτων.

Η δημοσιευμένη βιβλιογραφία έχει παράσχει αντιφατικά ευρήματα αναφορικά με την πιθανό προγνωστικό ρόλο της έκφρασης των AR στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού (**Πίνακας 1**). Σε συμφωνία με τα ευρήματά μας, οι Mrklic et al. έχουν υποστηρίξει ότι η έκφραση των AR δεν συσχετίζεται με τη συνολική επιβίωση και την επιβίωση ελεύθερη νόσου, όμως η μελέτη τους υπέδειξε έμμεσο προγνωστικό ρόλο, δεδομένου ότι η έκφραση των AR συσχετιζόταν αντίστροφα με υψηλότερο μιτωτικό δείκτη, το κλινικό στάδιο, τον βαθμό ιστολογικής κακοήθειας και την έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού Ki-67 [131]. Παρόμοιο πρότυπο αναδείχθηκε από τη μελέτη των Rakha et al., στην οποία η πολυμεταβλητή ανάλυση δεν κατέδειξε ανεξάρτητο προγνωστικό ρόλο της έκφρασης των AR στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού, παρά τις συσχετίσεις με το βαθμό κακοήθειας, την πιθανότητα υποτροπής και τις απομακρυσμένες μεταστάσεις [136]. Σε συμφωνία με τα ευρήματα της παρούσας διατριβής, και έχοντας υιοθετήσει προχωρημένη μεθοδολογία (πρωτεϊνικές συστοιχίες αντίστροφης φάσης) για τον προσδιορισμό των επιπέδων των AR, οι Gonzalez-Angulo et al. υποστήριξαν ότι η έκφραση των AR δεν συσχετίζεται με τη συνολική και την ελεύθερη υποτροπής επιβίωση σε ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο μαστού, παρά μια οριακή τάση προς υψηλότερη έκφραση των AR σε ασθενείς με μεταλλάξεις της PIK3CA [118].



Σε αντίθεση με την έλλειψη συσχέτισης που διαπιστώθηκε στο δείγμα μας, οι Luo et al. έχουν υποστηρίξει πολυδιάστατο ευνοϊκό προγνωστικό ρόλο της έκφρασης των AR, δεδομένου ότι η έκφρασή τους συσχετιζόταν με το βαθμό κακοήθειας, την κατάσταση των λεμφαδένων, την επιβίωση ελεύθερη νόσου και τη συνολική επιβίωση στη δική τους σειρά ασθενών με τριπλά αρνητικό καρκίνο μαστού [129]. Διευρύνοντας την προοπτική, οι Agoff et al. εξέτασαν ER-αρνητικά περιστατικά καρκίνου μαστού, υπογραμμίζοντας συσχέτιση της έκφρασης των AR με καλύτερη επιβίωση ελεύθερη νόσου, χαμηλότερο βαθμό κακοήθειας και μικρότερο μέγεθος όγκου [150]. Αντιθέτως, η έκφραση των AR έχει περιγραφεί ως αρνητικός προγνωστικός δείκτης στην ανάλυση εντός των πλαισίων της Nurses Health Study [111].

Τα ποσοστά θετικότητας για AR (ίση με 50%) στη δική μας σειρά ασθενών με τριπλά αρνητικό καρκίνο μαστού συμφωνούν με τη βιβλιογραφία. Οι Luo et al έδειξαν 27,7% ανοσοθετικότητα για τους AR [129], οι Mrklic et al. 32,5% [131], οι Park et al. 35% [112], οι Ogawa et al. 43% [119] και οι Qi et al. 53,2% [113]. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί και χαμηλότερα ποσοστά έκφρασης AR στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού: οι Rakha et al. ανέφεραν 13% ανοσοθετικότητα για AR στη δική τους σειρά ασθενών [136] και οι Gonzalez-Angulo ανέφεραν υψηλά επίπεδα AR στο 16,5% των ασθενών, χρησιμοποιώντας πρωτεϊνικές συστοιχίες αντίστροφης φάσης [118].

Η στόχευση των AR με ορμονοθεραπεία βασιζόμενη σε ανδρογόνα θα ήταν ελκυστική θεραπευτική επιλογή σε ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο μαστού, όμως τα παρόντα στοιχεία που υποδεικνύουν την έλλειψη συσχέτισης με την επιβίωση δεν υποστηρίζουν την προοπτική στοχευμένης θεραπείας για τους AR (εκτός των αναμενόμενων ενθαρρυντικών έως τώρα αποτελεσμάτων της μελέτης με την ουσία Enzalutamide) [142] (**Εικόνα 11**). Οι μηχανισμοί που υπόκεινται στην έλλειψη συσχέτισης δεν είναι απολύτως γνωστοί. Είναι όμως γνωστό ότι οι ARs

φαίνεται να ασκούν πολύπλευρες επιδράσεις στον καρκίνο του μαστού και οι ταυτόχρονες αλληλεπιδράσεις τους με συμπαραγόντες (co-factors) και συνανασταλτές (co-repressors) [108] φαίνεται τα περιορίζουν τη συνισταμένη των δράσεων τους στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού. Οι αναλύσεις υποομάδων βάσει της έκφρασης των πιθανών συμπαραγόντων μπορούν να παράσχουν ενδιαφέροντα αποτελέσματα στις μελλοντικές μελέτες.

Παρά την πρωτοτυπία της παρούσας μελέτης, ορισμένοι περιορισμοί πρέπει να δηλωθούν και να συζητηθούν. Η ποσοτικοποίηση της έκφρασης των AR τελέστηκε μέσω ανοσοϊστοχημείας και είναι λοιπόν επιθυμητό τα παρόντα αποτελέσματα να επαληθευθούν περαιτέρω με περισσότερο εξειδικευμένες τεχνικές όπως η ανοσοαποτύπωση κατά Western (Western blot) Εντούτοις, αξίζει να τονιστεί ότι τα αποτελέσματα των εναλλακτικών αναλύσεων στις οποίες η έκφραση των AR αντιμετωπίστηκε ως συνεχής μεταβλητή (Allred score) αναπαρήγαγε τα αποτελέσματα της κύριας ανάλυσης.

Επιπροσθέτως, η ελεύθερη νόσου επιβίωση (disease-free survival) δεν ήταν διαθέσιμη για το σύνολο του δείγματός μας, και για αυτό το λόγο η αναπαραγωγιμότητα των ευρημάτων που αφορούσαν στη συνολική επιβίωση δεν μπορούσε να επιβεβαιωθεί και για την ελεύθερη νόσου επιβίωση. Πληροφορίες αναφορικά με επιπρόσθετους μοριακούς δείκτες που συσχετίζονται με την έκφραση των AR, όπως οι μεταλλάξεις της PIK3CA, δεν ήταν διαθέσιμες στη μελέτη μας. Αξίζει τέλος να σημειωθεί ότι τα παρόντα αποτελέσματα πρέπει να διερευνηθούν και να μελετηθούν ενδελεχώς σε μεγαλύτερα δείγματα, δεδομένου ότι το σχετικά μικρό δείγμα της παρούσας μελέτες μπορεί να περιορίσει τη στατιστική ισχύ της ανάλυσής μας.

Συμπερασματικά, η έκφραση των AR δεν φάνηκε να ενέχει προγνωστική δράση στις ασθενείς με TNBC, καθώς δεν συσχετιζόταν ούτε με κλινικοπαθολογικές

παραμέτρους ούτε με τη συνολική επιβίωση. Οι μελλοντικές μελέτες πρέπει να εφαρμόσουν νεότερες τεχνικές ποσοτικοποίησης της έκφρασης των AR, ώστε να επιβεβαιώσουν περαιτέρω τα παρόντα ευρήματα και να διερευνήσουν τους πιθανούς υποκείμενους μηχανισμούς, τους συμπαράγοντες και τις συμμετέχουσες μοριακές οδούς.

## Δ. ΠΙΝΑΚΕΣ

**Πίνακας 1.** Σύνοψη των κυριότερων μελετών που εξέτασαν την έκφραση των AR στον TNBC.

Μελέτη	n	Έκφραση των AR	Κύρια ευρήματα
Rakha, 2007	282	13%	Η έλλειψη έκφρασης AR σχετιζόταν αρνητικά τόσο με το ελεύθερο νόσου διάστημα όσο και με τη συνολική επιβίωση. Κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση η στατιστική σημαντικότητα για τους AR χάθηκε.
Luo, 2010	137	27,7%	Η έκφραση AR συσχετίστηκε με την κατάσταση εμμηνόπαυσης, το grade, τη λεμφαδενική διήθηση, την ελεύθερη νόσου επιβίωση 5 ετών και την 5-ετή συνολική επιβίωση.
Sutton, 2012	121	31,4%	Οι απομακρυσμένες μεταστάσεις συσχετιζόταν σημαντικά με χαμηλότερη έκφραση των AR. Η έκφραση των AR συσχετιζόταν αρνητικά με την έκφραση Ki-67
Mrklic, 2013	83	32,5%	Θετική ανοσοϊστοχημική χρώση AR συσχετιζόταν αντίστροφα με υψηλότερο κλινικό στάδιο, υψηλότερη μιτωτική δραστηριότητα, υψηλότερο grade και Ki-67. Σημαντικά περισσότεροι AR αρνητικοί όγκοι παρατηρήθηκαν μεταξύ των όγκων με BL μορφολογία. Δεν υπήρχε σημαντική συσχέτιση με ελεύθερη νόσου ή συνολική επιβίωση.
Gasparini, 2014	396	24,8%	Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στην έκφραση των AR σε πρωτοπαθείς όγκους σε σχέση με τις αντίστοιχες μεταστατικές εστίες. Έκφραση AR: αντίστροφη συσχέτιση με το grade και συσχέτιση με καλύτερη επιβίωση.
McGhan, 2014	119	23%	Οι AR εκφράζονται στο φυσιολογικό μαστό, και η έκφραση μειώνεται με την πρόοδο προς DCIS και διηθητικό καρκίνο. Οι AR-θετικοί TNBC ήταν πιο συχνοί σε ηλικιωμένους ασθενείς και είχαν μια υψηλότερη τάση για λεμφαδενικές μεταστάσεις.
Pistelli, 2014	81	18,8%	AR συσχετιζόταν αντιστρόφως με Ki-67 και με λεμφο-αγγειακή διήθηση. Η έκφραση του AR δεν συσχετιζόταν με την ελεύθερη νόσου ή συνολική επιβίωση.
Safarpour, 2014	50	36%	Λόγω συχνής έκφρασης, οι ερευνητές υποστήριξαν ως εξέταση ρουτίνας την εκτίμηση της έκφρασης των AR σε όλες τις περιπτώσεις TNBCs και αποκρινών καρκινωμάτων . Οι τετραπλά αρνητικοί (ER-, PR-, AR-, HER2-) όγκοι είχαν την υψηλότερη έκφραση Ki-67
Thike, 2014	699	38%	Έκφραση των AR σχετίστηκε αντίστροφα με το grade και το μιτωτικό δείκτη. Η ελεύθερη νόσου επιβίωση ήταν σημαντικά καλύτερη σε AR-θετικά TNBC, με μια τάση και για αντίστοιχη βελτίωση της συνολικής επιβίωσης.
Choi, 2015	492	17,7%	Θετική έκφραση των AR έδειξε σημαντική συσχέτιση με τη μεγάλη ηλικία, αποκρινή ιστολογία και χαμηλότερο grade. Η έκφραση των AR ήταν προγνωστικός παράγοντας για τη συνολική επιβίωση.

**Πίνακας 2.** Περιγραφή των ασθενών που περιελήφθησαν στη μελέτη – κατηγορικές μεταβλητές. Τα p-values αφορούν στην εξέταση των διαφορών ανάμεσα στα AR-θετικά και AR-αρνητικά περιστατικά.

	AR-αρνητικά περιστατικά	AR-θετικά περιστατικά	p
<b>Κατηγορικές μεταβλητές</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	
Στάδιο			0,444 <sup>CT</sup>
<i>I</i>	8 (17,8)	9 (20,0)	
<i>II</i>	27 (60,0)	20 (44,4)	
<i>III</i>	10 (22,2)	16 (35,6)	
Βαθμός κακοήθειας			0,696 <sup>CT</sup>
<i>1</i>	2 (4,9)	0 (0,0)	
<i>2</i>	3 (7,3)	9 (20,9)	
<i>3</i>	36 (87,8)	34 (79,1)	
Ιστολογικός υπότυπος			>0,999 <sup>F</sup>
<i>Πορογενή</i>	33 (73,3)	34 (75,6)	
<i>Λοβιακά</i>	6 (6,7)	3 (6,7)	
<i>Άλλα</i>	9 (20,0)	8 (17,8)	
Μέγεθος του όγκου			0,087 <sup>CT</sup>
<i>T1</i>	9 (20,0)	18 (40,0)	
<i>T2</i>	29 (64,4)	23 (51,1)	
<i>T3</i>	5 (11,1)	2 (4,4)	
<i>T4</i>	2 (4,4)	2 (4,4)	
Λεμφαδενική διήθηση			0,080 <sup>CT</sup>
<i>N0</i>	31 (68,9)	22 (48,9)	
<i>N1</i>	4 (8,9)	7 (15,6)	
<i>N2</i>	4 (8,9)	5 (11,1)	
<i>N3</i>	6 (13,3)	11 (24,4)	

<sup>CT</sup>p-value από τη δοκιμασία  $\chi^2$  for trend, <sup>F</sup>p-value από τη δοκιμασία Fisher's exact test

**Πίνακας 3.** Περιγραφή των ασθενών που περιελήφθησαν στη μελέτη – συνεχείς μεταβλητές. Τα p-values αφορούν στην εξέταση των διαφορών ανάμεσα στα AR-θετικά και AR-αρνητικά περιστατικά.

	<b>AR-αρνητικά περιστατικά</b>	<b>AR-θετικά περιστατικά</b>	
<b>Συνεχείς μεταβλητές</b>	<b>Μέση τιμή±SD</b>	<b>Μέση τιμή±SD</b>	<b>p</b>
Ηλικία κατά τη διάγνωση (έτη)	53,9±15,1	59,4±12,7	0,105 <sup>M</sup>
Ki67 έκφραση (%)	34,9±21,2	38,1±27,3	0,698 <sup>M</sup>
P53 έκφραση (%)	40,8±40,2	36,6±46,0	0,735 <sup>M</sup>

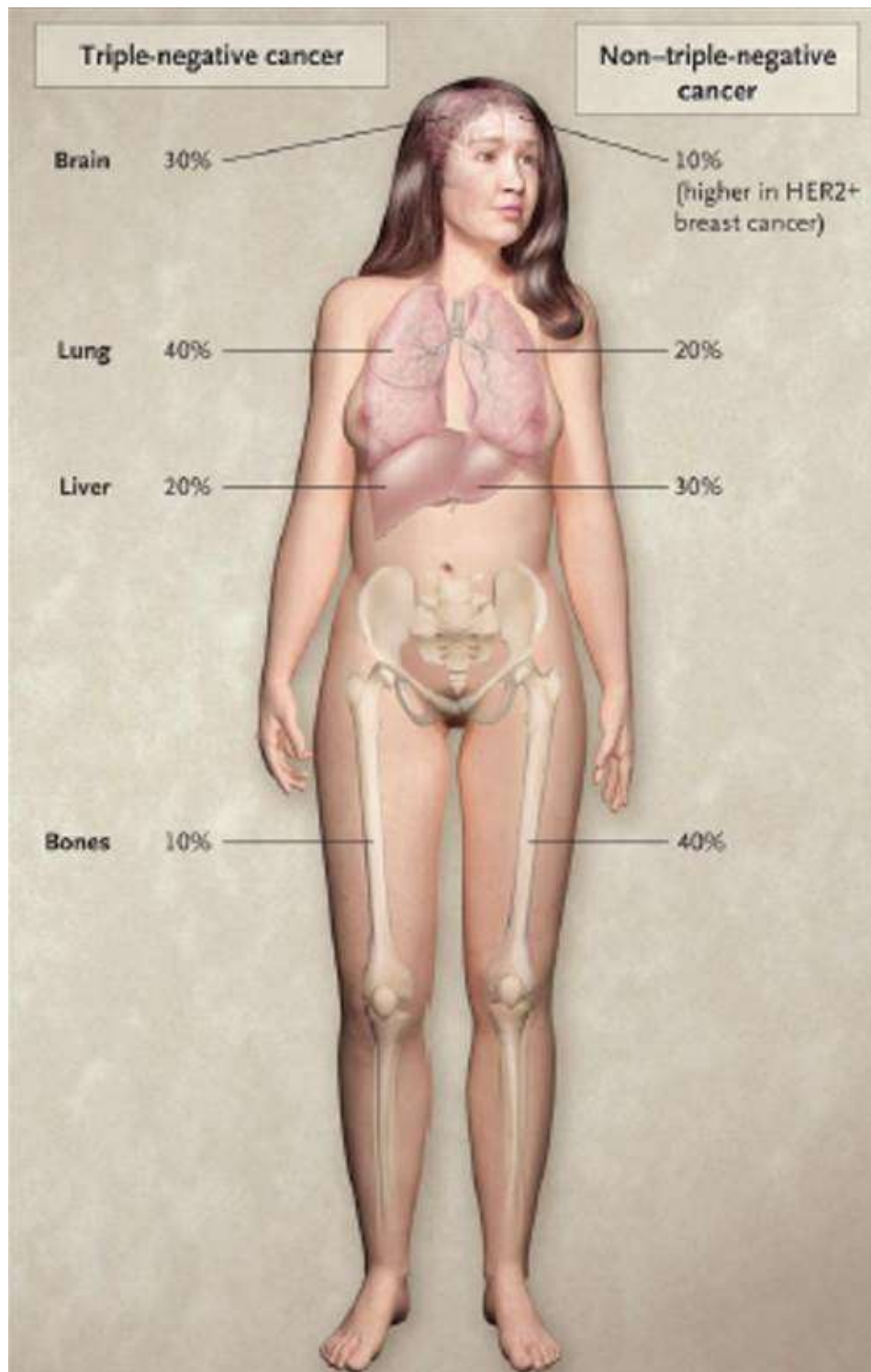
<sup>M</sup>p-value από τη δοκιμασία Mann-Whitney-Wilcoxon test για ανεξάρτητα δείγματα

**Πίνακας 4.** Αποτελέσματα της πολυμεταβλητής παλινδρόμησης κατά Cox για τη συνολική επιβίωση. HR: hazard ratio (πηλίκιο κινδύνου), 95% CI: διάστημα εμπιστοσύνης κατά 95%. Τα έντονα κελιά υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις.

Μεταβλητές	Κατηγορία σύγκρισης ή βήμα αύξησης	HR (95% CI)	p-value
AR θετικότητα	Ναι vs. όχι	0,66 (0,26-1,70)	0,393
Στάδιο	Αύξηση κατά ένα επίπεδο	<b>2,82 (1,33-5,99)</b>	0,007
Βαθμός κακοήθειας	Αύξηση κατά ένα επίπεδο	0,60 (0,24-1,51)	0,282
Ηλικία κατά τη διάγνωση	Αύξηση κατά ένα έτος	1,02 (0,99-1,06)	0,241

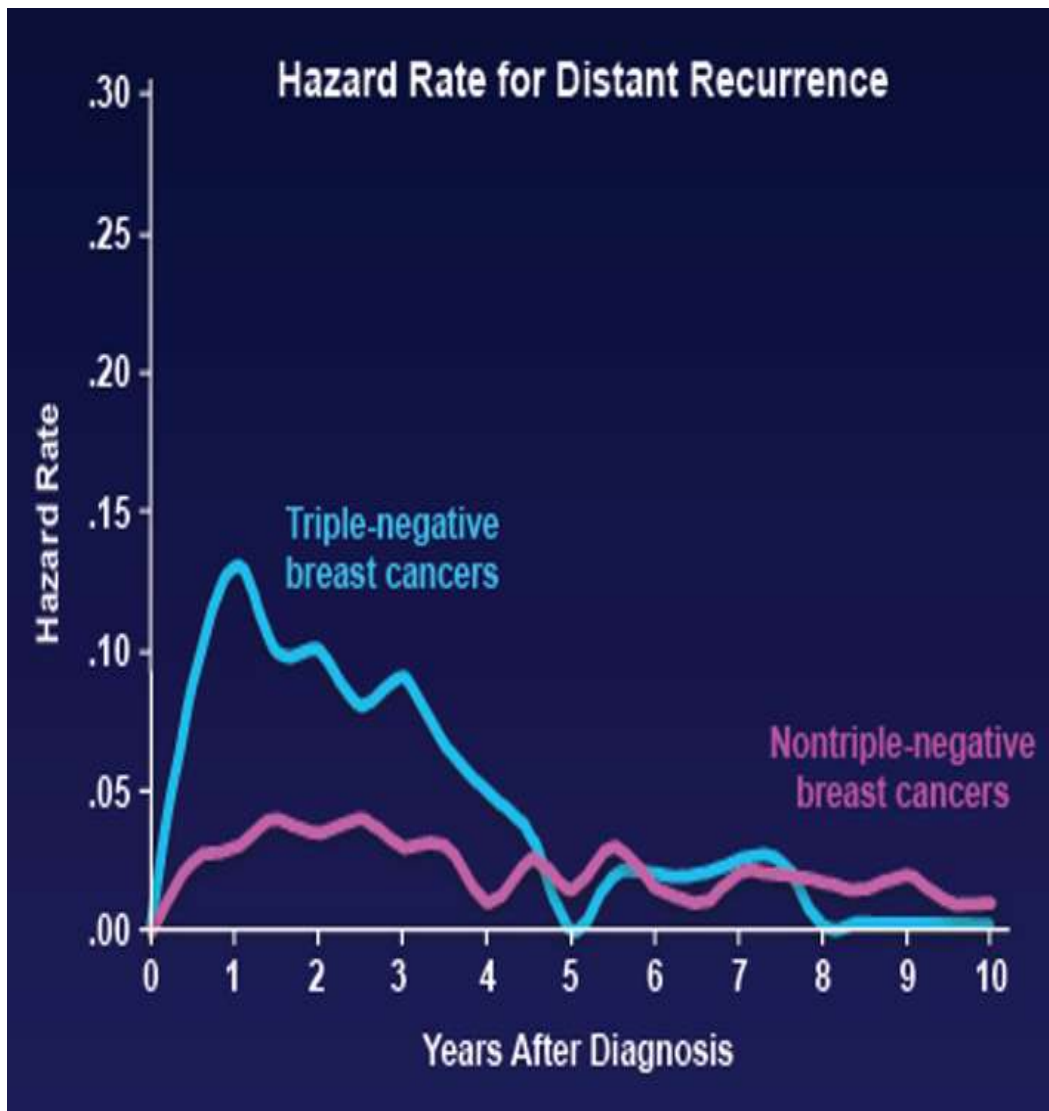
## Ε. ΕΙΚΟΝΕΣ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΑ

**Εικόνα 1.** Συγκριτική απεικόνιση των μεταστατικών προτύπων στον TNBC και το μη TNBC (εικόνα από [63]).

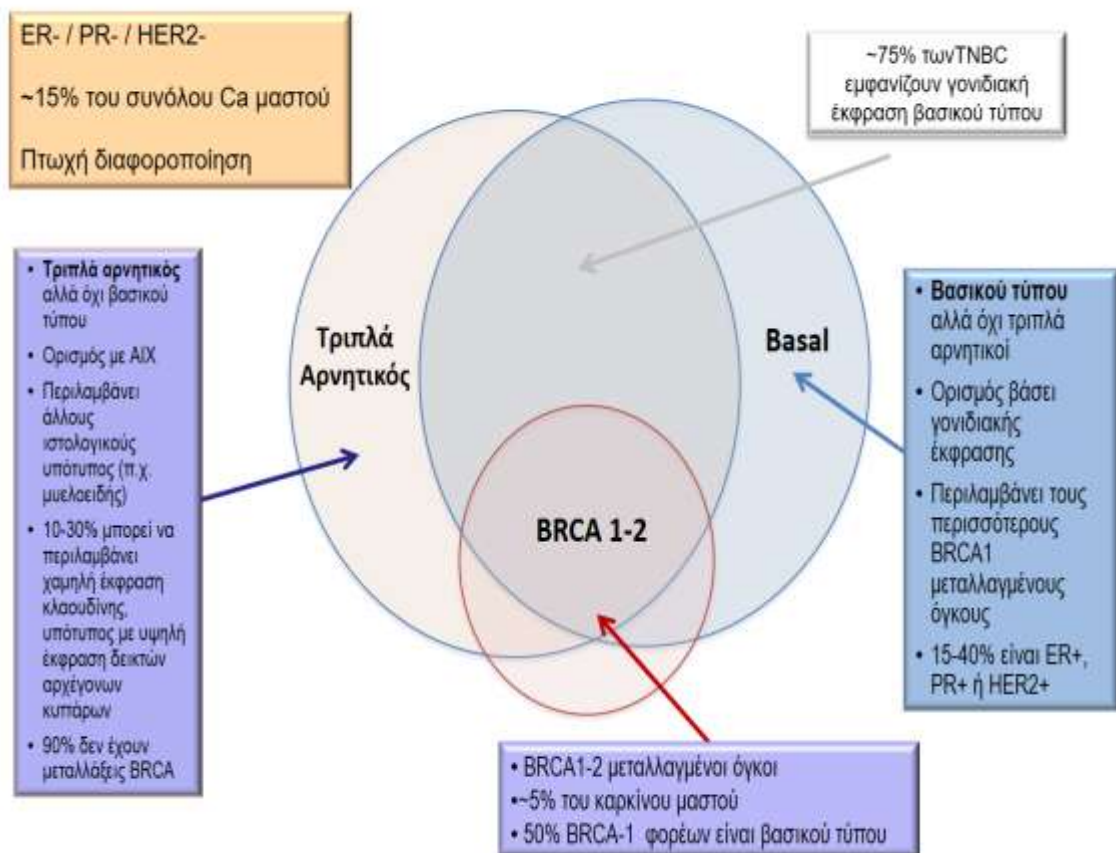




**Εικόνα 2.** Σχηματική απεικόνιση της πρωιμότερης εμφάνισης απομακρυσμένης υποτροπής στον TNBC σε σχέση με τον μη TNBC (εικόνα τροποποιημένη από [63]).



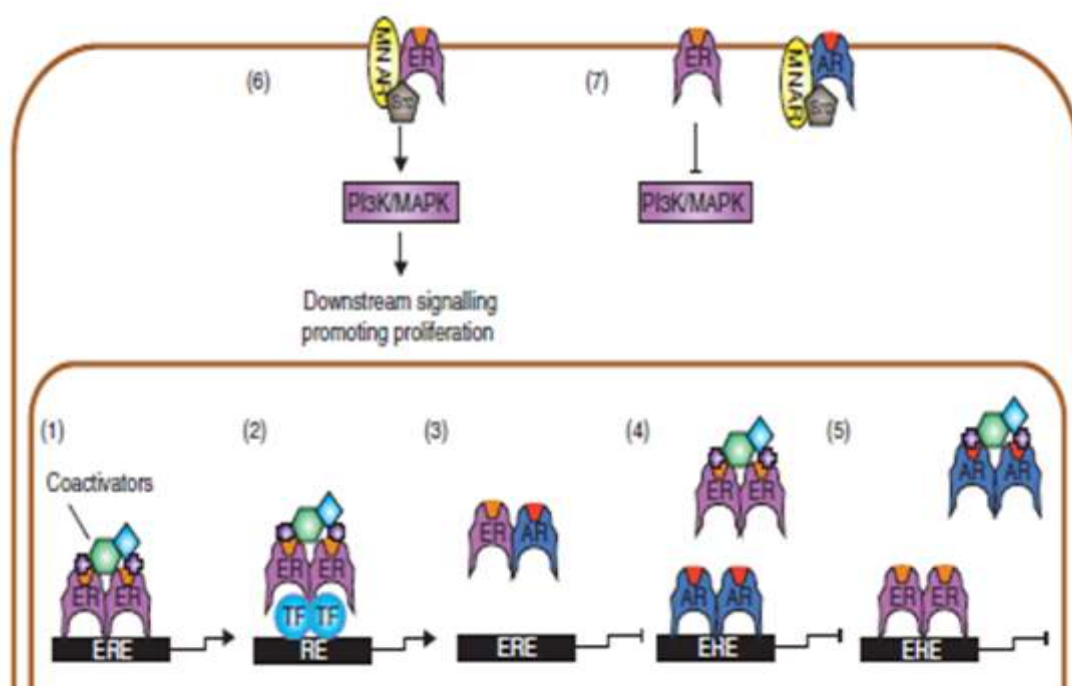
**Εικόνα 3.** Σχηματική απεικόνιση της μερικής αλληλεπικάλυψης των οντοτήτων TNBC, βασικού τύπου και BRCA-μεταλλαγμένων καρκίνων μαστού



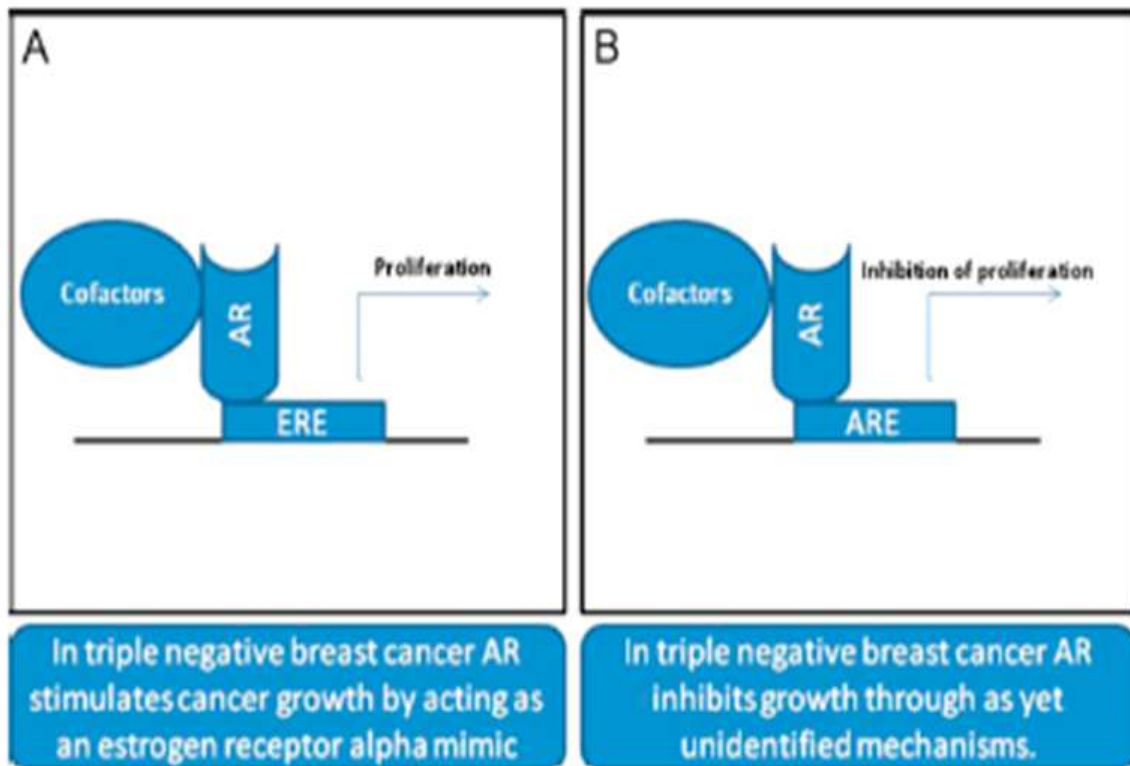
**Εικόνα 4.** Σχηματική απεικόνιση 6 διακριτών μοριακών υποτύπων TNBC με διαφορετικό βιολογικό υπόβαθρο (εικόνα από [62]).



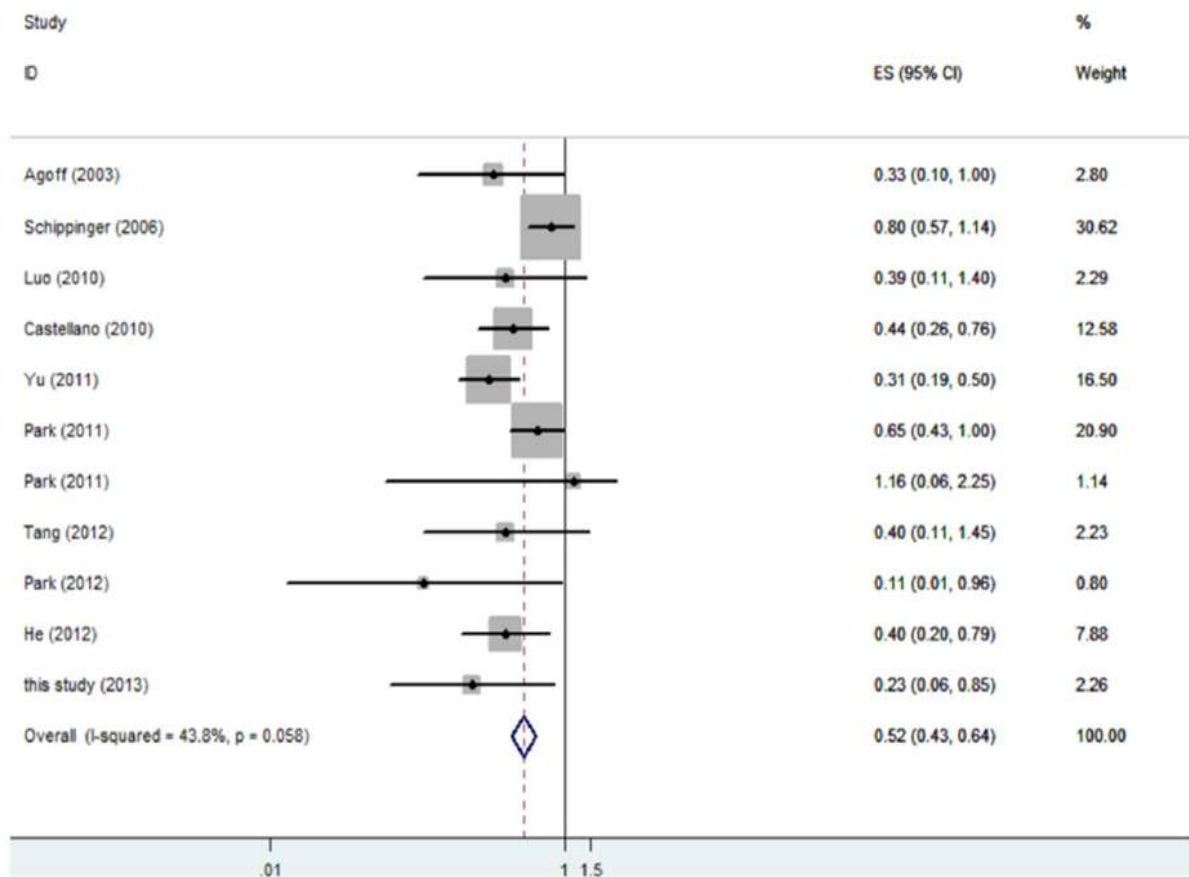
**Εικόνα 5.** Σχηματική περιγραφή των αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στις οδούς μεταγωγής σήματος του AR και ERα (εικόνα από [75]).



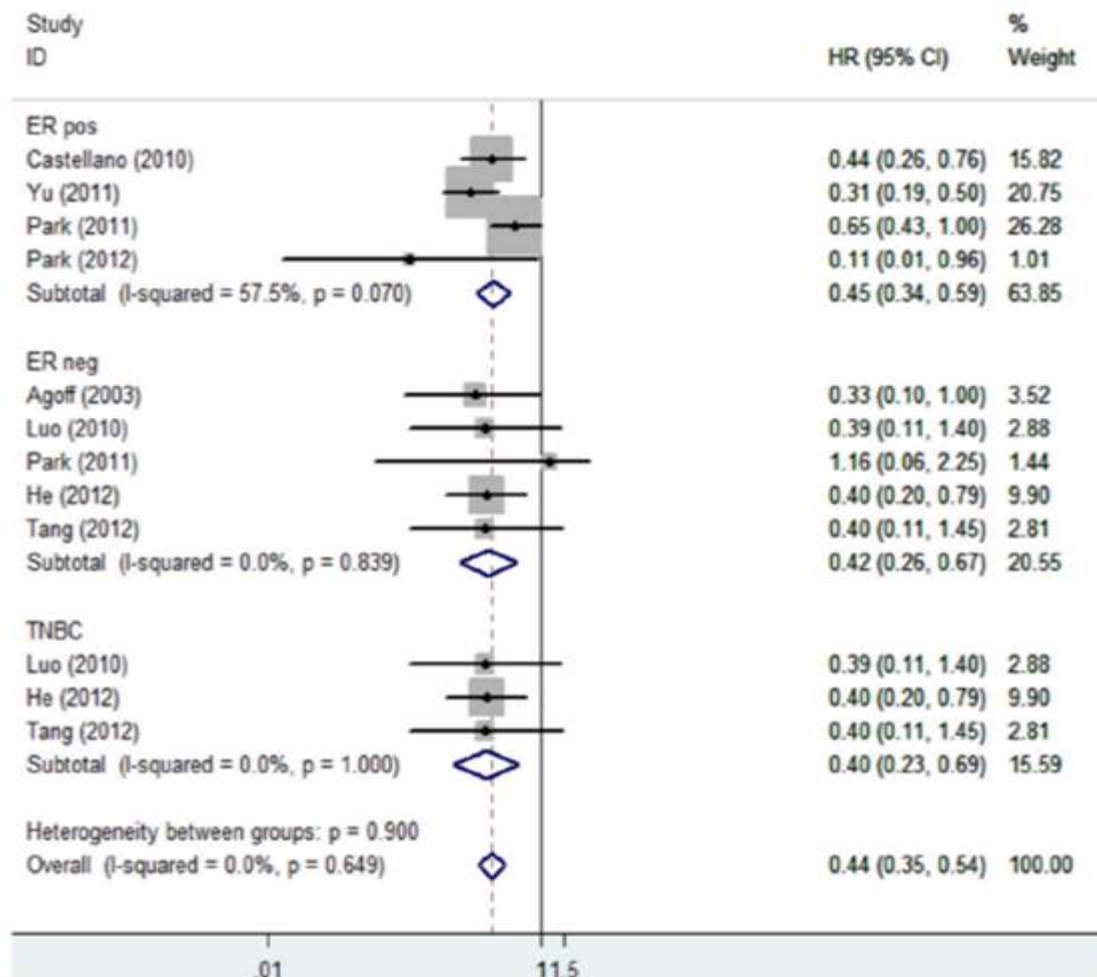
**Εικόνα 6.** Σχηματική απεικόνιση της τροποποιητικής επίδρασης των συμπαράγοντων του AR στον TNBC (εικόνα από [151]).



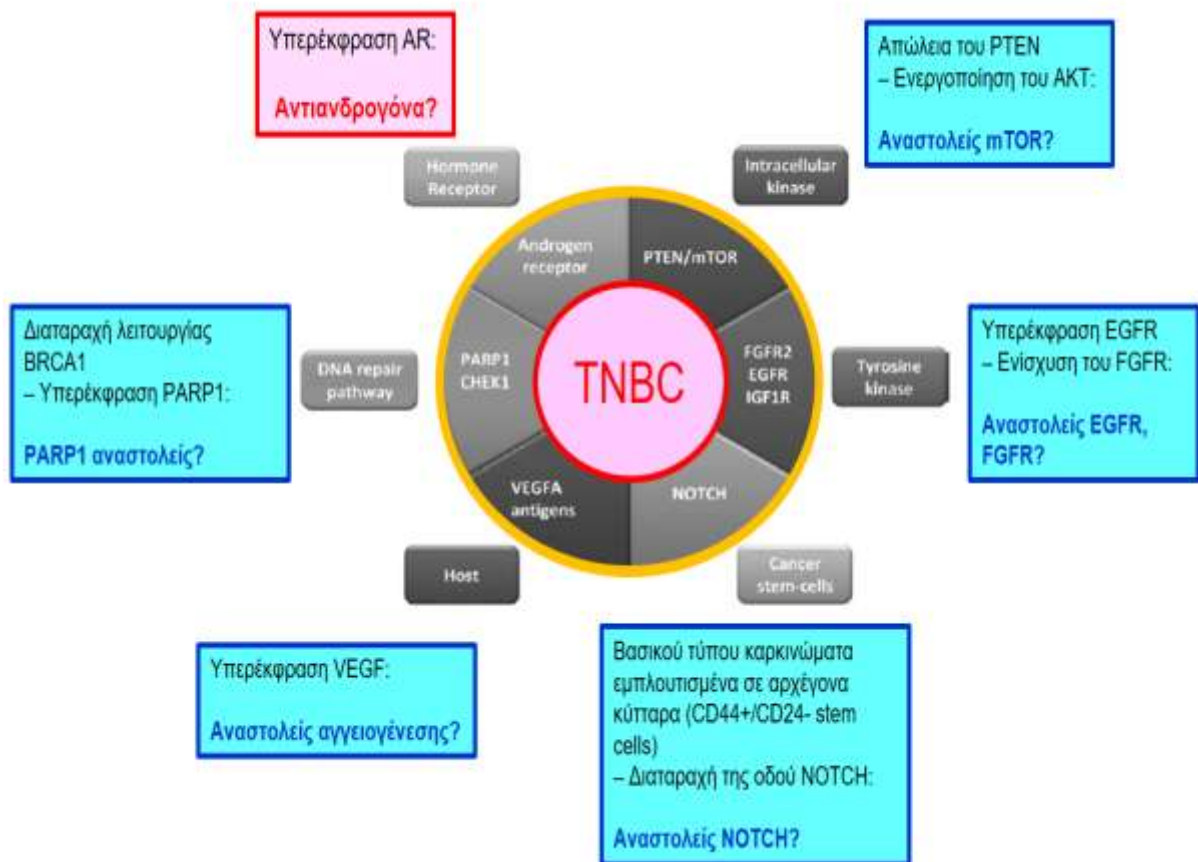
**Εικόνα 7.** Διάγραμμα δάσους (forest plot) όπου παρουσιάζεται η σύνθεση των αποτελεσμάτων 11 μελετών, που εξετάζουν τη συσχέτιση της έκφρασης των AR στον καρκίνο του μαστού και την ελεύθερη νόσου επιβίωση (εικόνα από [120]).



**Εικόνα 8.** Διάγραμμα δάσους (forest plot), όπου παρουσιάζεται η σύνθεση των αποτελεσμάτων μελετών, που εξετάζουν τη συσχέτιση της έκφραση των AR στον καρκίνο του μαστού και την ελεύθερη νόσου επιβίωση, ανά υπότυπο καρκίνου του μαστού. Στο κατώτερο τμήμα της εικόνας εξετάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν στον TNBC [120].

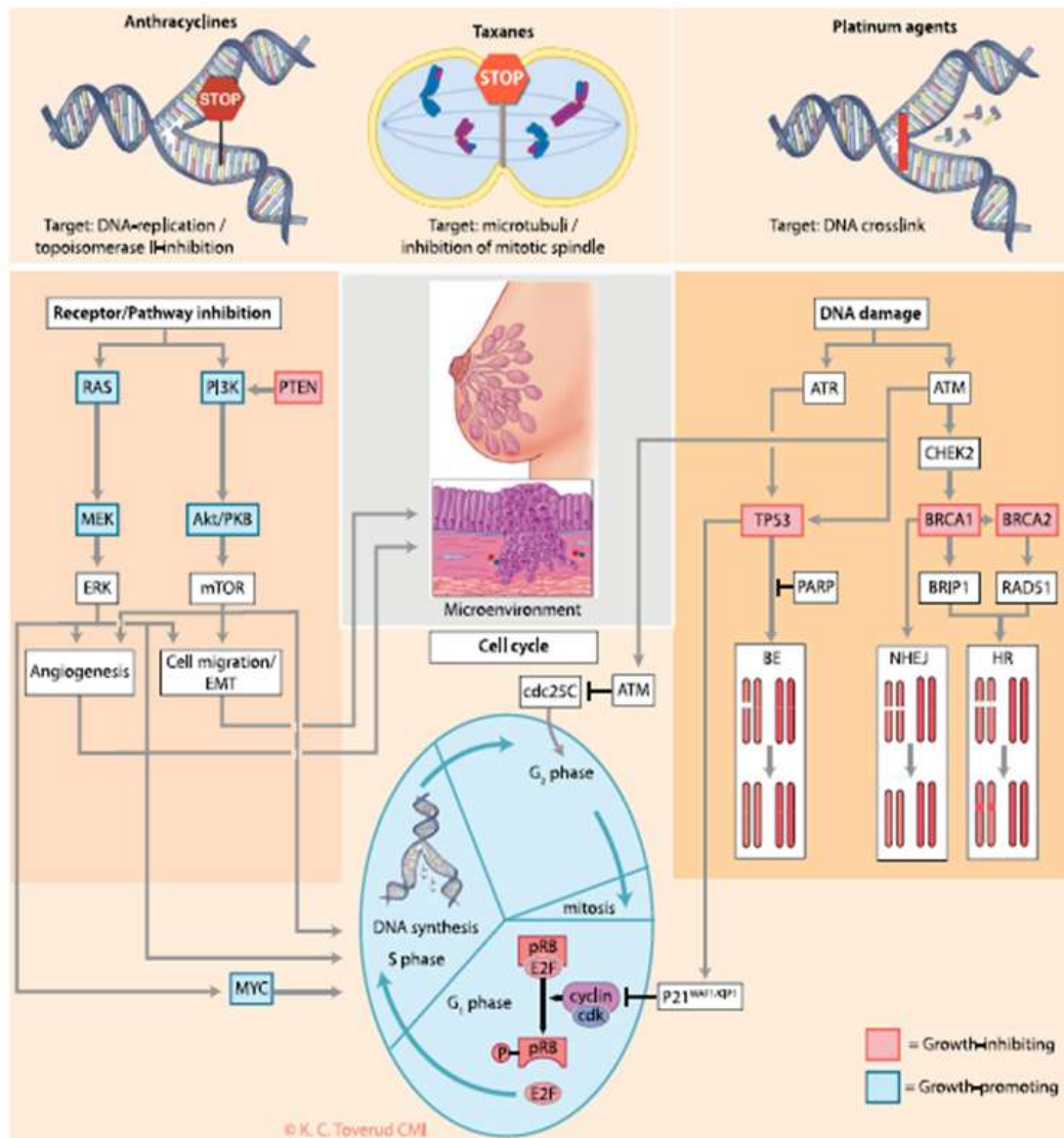


**Εικόνα 9.** Μοριακά μονοπάτια -- υποψήφιοι θεραπευτικοί στόχοι στον TNBC.

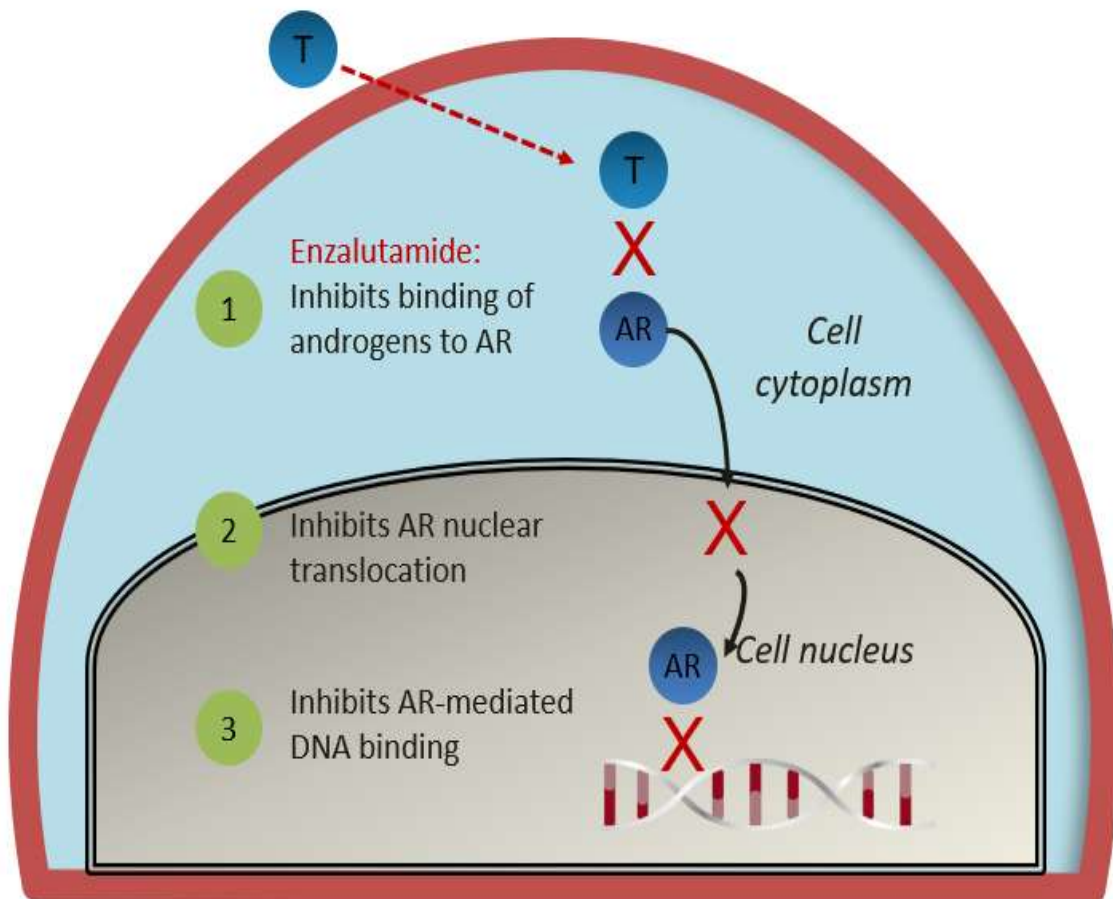




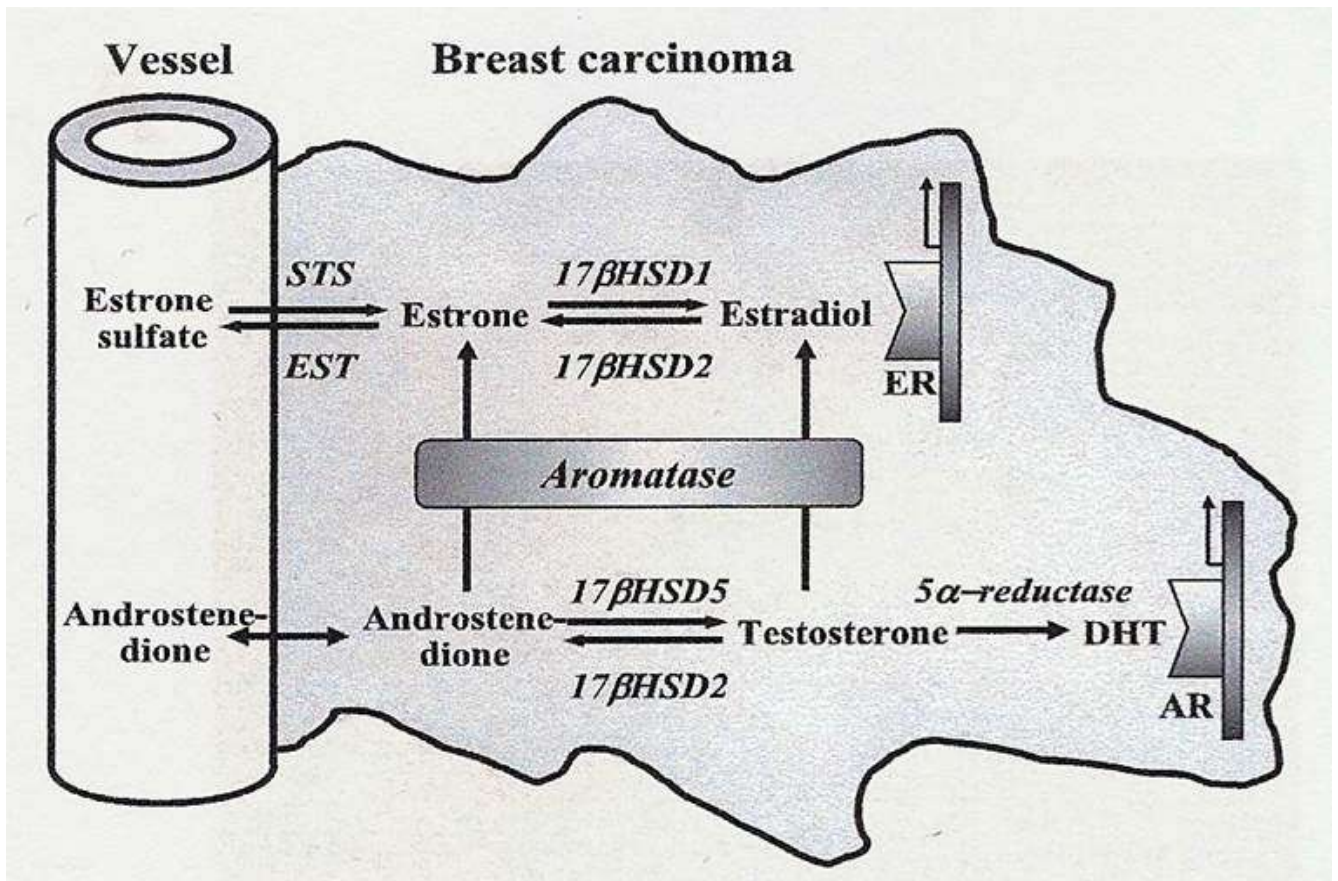
**Εικόνα 10.** Σύνοψη των θεραπευτικών επιλογών για τον TNBC, καθώς επίσης μοριακών οδών οι οποίες ενδέχεται να αποτελέσουν θεραπευτικό στόχο στο μέλλον (εικόνα από το άρθρο [152]).



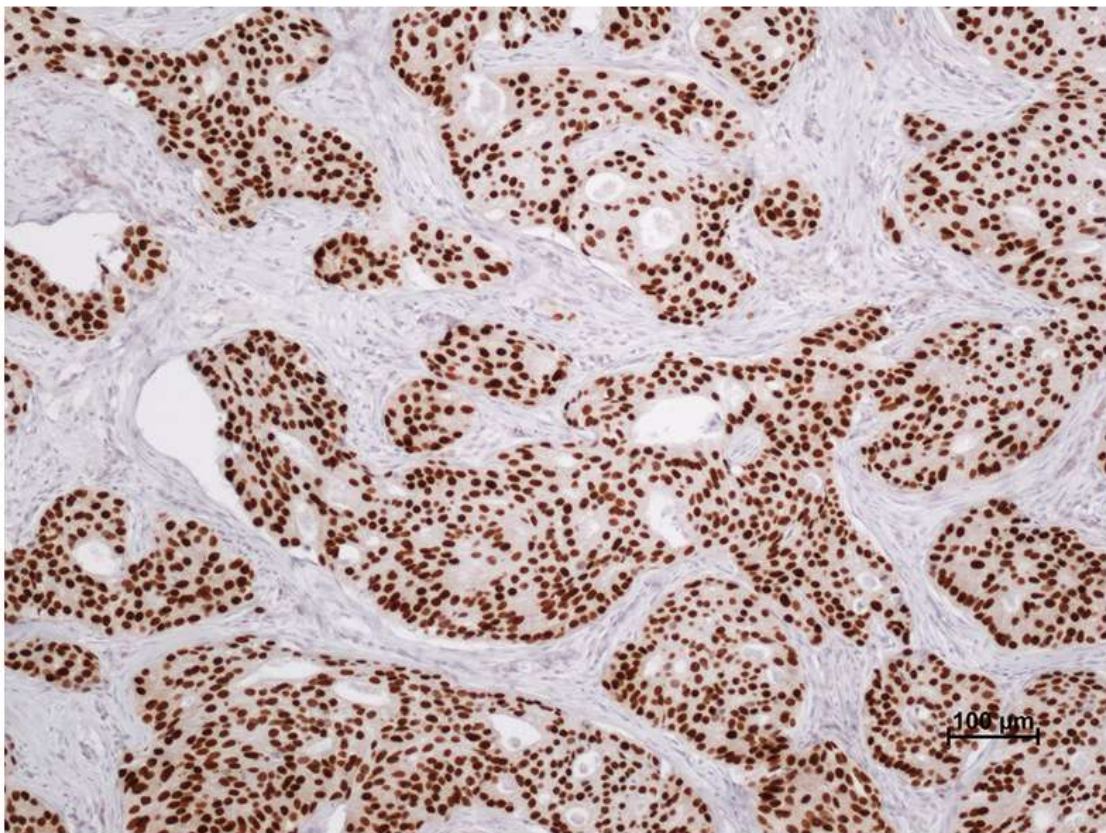
**Εικόνα 11.** Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού δράσης της enzalutamide (πηγή: clinicaloptions.com)



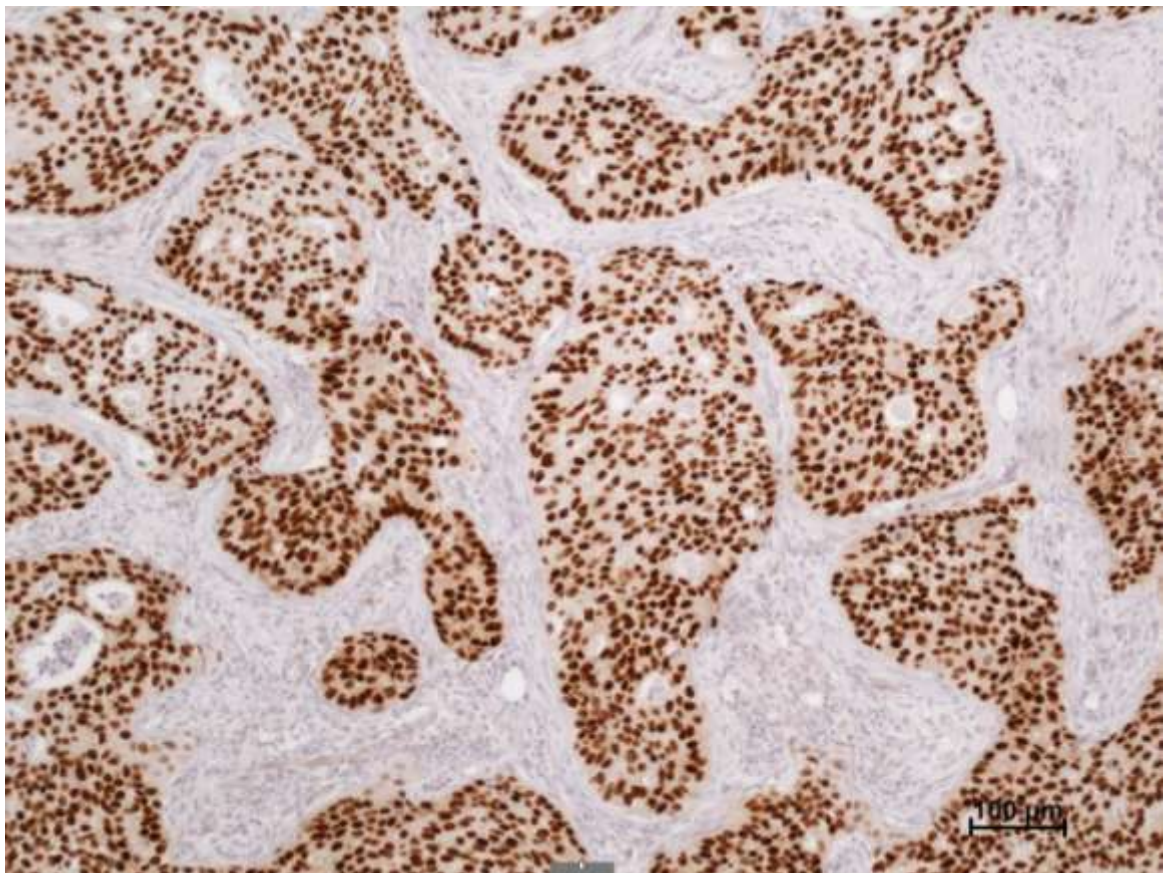
**Εικόνα 12.** Η σημασία της τοπικής παραγωγής στεροειδών ορμονών του φύλου στον καρκίνο του μαστού. Διαφαίνεται ο κεντρικός ρόλος της αρωματάσης (εικόνα από [144]).



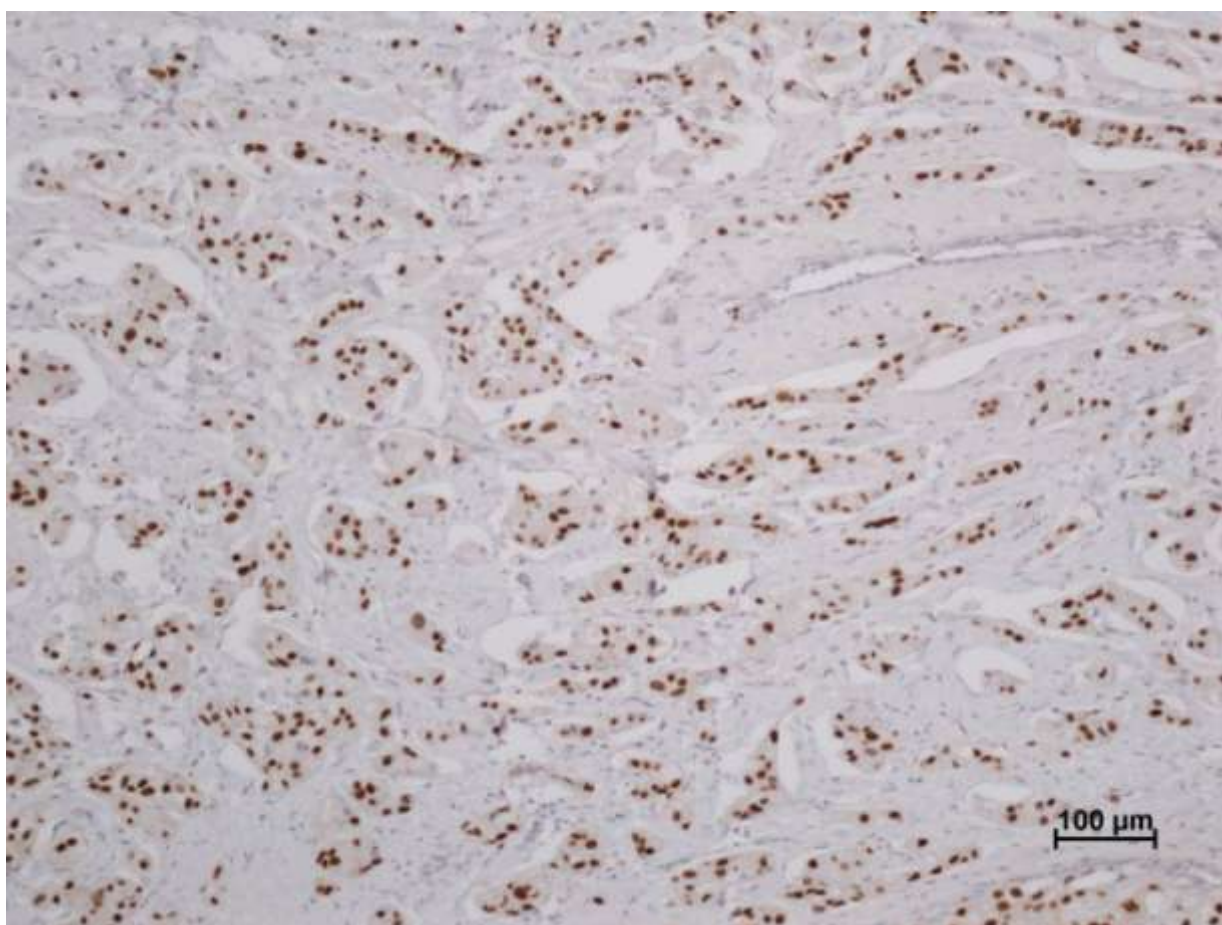
**Εικόνα 13.** Παράδειγμα AR ανοσοχρώσης. Απεικονίζεται ένα δείγμα TNBC με υψηλή έκφραση AR. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .



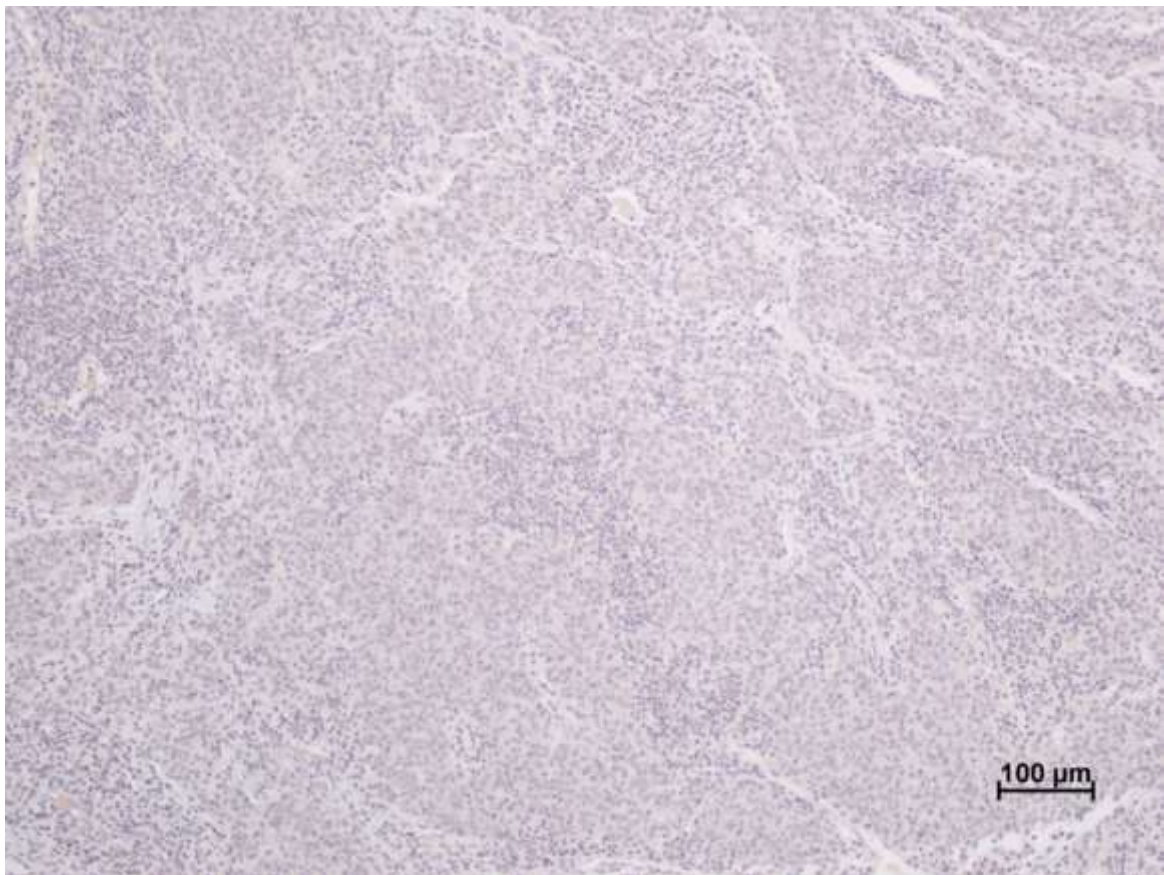
**Εικόνα 14.** Παράδειγμα AR ανοσοχρώσης. Απεικονίζεται ένα δείγμα TNBC με υψηλή έκφραση AR. Bar = 100 μm.



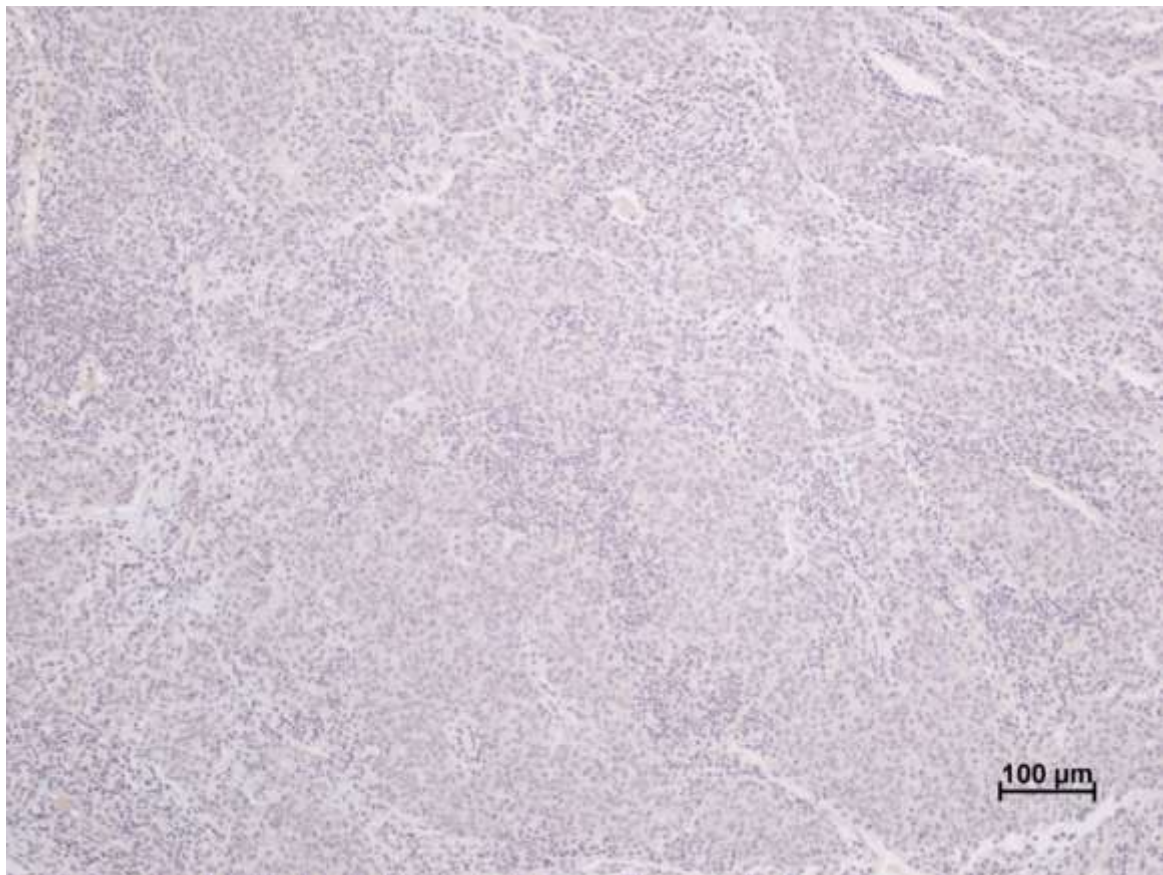
**Εικόνα 15.** Παράδειγμα AR ανοσοχρώσης. Απεικονίζεται ένα δείγμα TNBC θετικό στους AR. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .



**Εικόνα 16.** Παράδειγμα AR ανοσοχρώσης. Απεικονίζεται ένα δείγμα TNBC αρνητικό στους AR. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .



**Εικόνα 17.** Παράδειγμα ανοσοχρώσης για την αρωμάση. Απεικονίζεται περιστατικό TNBC αρνητικό στην αρωμάση. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .

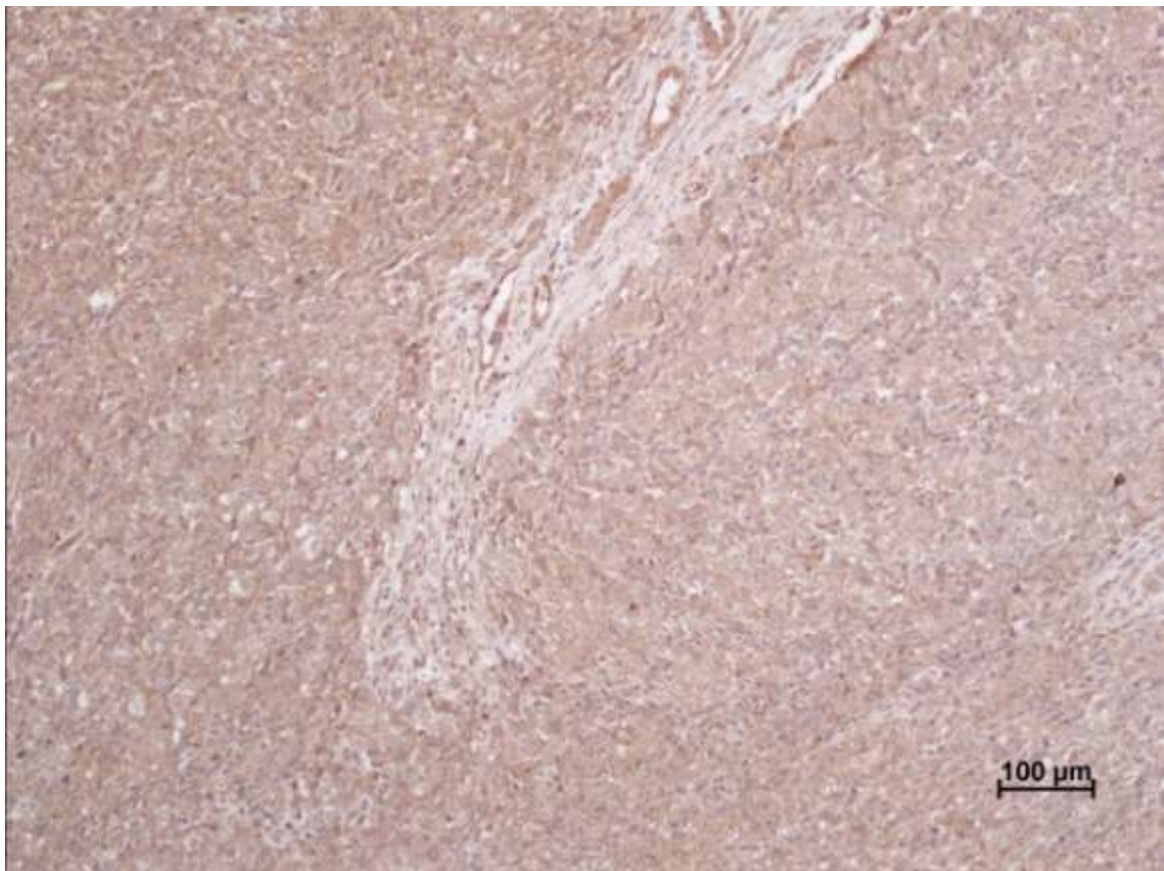




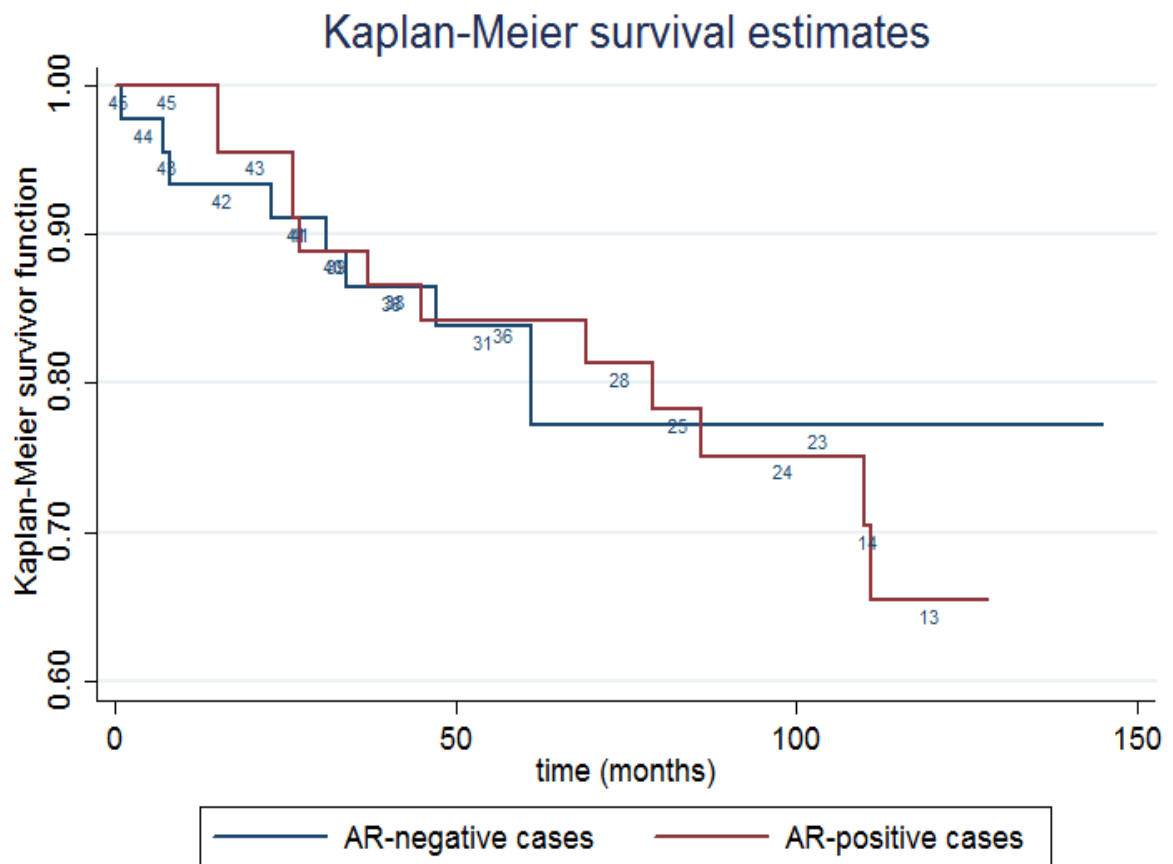
**Εικόνα 18.** Παράδειγμα ανοσοχρώσης για την αρωματάση. Απεικονίζεται περιστατικό TNBC αρνητικό στην αρωματάση. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .



**Εικόνα 19.** Παράδειγμα ανοσοχρώσης για την αρωματάση. Απεικονίζεται περιστατικό TNBC θετικό στην αρωματάση. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .



**Εικόνα 20.** Καμπύλες Kaplan-Meier για τη συνολική επιβίωση στα AR-θετικά και AR-αρνητικά περιστατικά.



## ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Snell RS. *Clinical Anatomy. 7th Edition*. Baltimore, MD: Lippincott Williams and Wilkins 2003.
- [2] Lowe J, Anderson P. *Stevens & Lowe's Human Histology. 4th Edition*. Philadelphia, PA: Mosby Ltd. 2014
- [3] Surveillance Epidemiology and End Results Program. SEER Stat Fact Sheets: Female Breast Cancer. 2016. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>
- [4] Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast C. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol*. 2012;13: 1141-51.
- [5] Levi F, Te VC, Randimbison L, La Vecchia C. Cancer risk in women with previous breast cancer. *Ann Oncol*. 2003;14: 71-3.
- [6] Varghese JS, Thompson DJ, Michailidou K, Lindstrom S, Turnbull C, Brown J, Leyland J, Warren RM, Luben RN, Loos RJ, Wareham NJ, Rommens J, Paterson AD, Martin LJ, Vachon CM, Scott CG, Atkinson EJ, Couch FJ, Apicella C, Southey MC et al. Mammographic breast density and breast cancer: evidence of a shared genetic basis. *Cancer Res*. 2012;72: 1478-84.
- [7] Kyrgiou M, Kalliala I, Markozannes G, Gunter MJ, Paraskevaidis E, Gabra H, Martin-Hirsch P, Tsilidis KK. Adiposity and cancer at major anatomical sites: umbrella review of the literature. *BMJ*. 2017;356: j477.
- [8] Chen GC, Chen SJ, Zhang R, Hidayat K, Qin JB, Zhang YS, Qin LQ. Central obesity and risks of pre- and postmenopausal breast cancer: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *Obes Rev*. 2016;17: 1167-77.

- [9] Marjoribanks J, Farquhar C, Roberts H, Lethaby A, Lee J. Long-term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;1: CD004143.
- [10] Cetin I, Cozzi V, Antonazzo P. Infertility as a cancer risk factor - a review. *Placenta.* 2008;29 Suppl B: 169-77.
- [11] Jayasekara H, MacInnis RJ, Room R, English DR. Long-Term Alcohol Consumption and Breast, Upper Aero-Digestive Tract and Colorectal Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Alcohol Alcohol.* 2016;51: 315-30.
- [12] Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, Scotti L, Jenab M, Turati F, Pasquali E, Pelucchi C, Galeone C, Bellocco R, Negri E, Corrao G, Boffetta P, La Vecchia C. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer.* 2015;112: 580-93.
- [13] Neilson HK, Farris MS, Stone CR, Vaska MM, Brenner DR, Friedenreich CM. Moderate-vigorous recreational physical activity and breast cancer risk, stratified by menopause status: a systematic review and meta-analysis. *Menopause.* 2017;24: 322-44.
- [14] Kyu HH, Bachman VF, Alexander LT, Mumford JE, Afshin A, Estep K, Veerman JL, Delwiche K, Iannarone ML, Moyer ML, Cercy K, Vos T, Murray CJ, Forouzanfar MH. Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke events: systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *BMJ.* 2016;354: i3857.
- [15] Islami F, Liu Y, Jemal A, Zhou J, Weiderpass E, Colditz G, Boffetta P, Weiss M. Breastfeeding and breast cancer risk by receptor status--a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol.* 2015;26: 2398-407.
- [16] Unar-Munguia M, Torres-Mejia G, Colchero MA, Gonzalez de Cosio T. Breastfeeding Mode and Risk of Breast Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis. *J Hum Lact.* 2017;33: 422-34.

- [17] Ernster VL, Ballard-Barbash R, Barlow WE, Zheng Y, Weaver DL, Cutter G, Yankaskas BC, Rosenberg R, Carney PA, Kerlikowske K, Taplin SH, Urban N, Geller BM. Detection of ductal carcinoma in situ in women undergoing screening mammography. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94: 1546-54.
- [18] Holland R, Peterse JL, Millis RR, Eusebi V, Faverly D, van de Vijver MJ, Zafrani B. Ductal carcinoma in situ: a proposal for a new classification. *Semin Diagn Pathol.* 1994;11: 167-80.
- [19] Silverstein MJ, Lagios MD, Martino S, Lewinsky BS, Craig PH, Beron PJ, Gamagami P, Waisman JR. Outcome after invasive local recurrence in patients with ductal carcinoma in situ of the breast. *J Clin Oncol.* 1998;16: 1367-73.
- [20] Solin LJ, Fourquet A, McCormick B, Haffty B, Recht A, Schultz DJ, Barrett W, Fowble BL, Kuske R, Taylor M, et al. Salvage treatment for local recurrence following breast-conserving surgery and definitive irradiation for ductal carcinoma in situ (intraductal carcinoma) of the breast. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1994;30: 3-9.
- [21] Kerlikowske K. Epidemiology of ductal carcinoma in situ. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2010;2010: 139-41.
- [22] Zografos GC, Zagouri F, Sergentanis TN, Nonni A, Koulocheri D, Fotou M, Panopoulou E, Pararas N, Fotiadis C, Bramis J. Minimizing underestimation rate of microcalcifications excised via vacuum-assisted breast biopsy: a blind study. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;109: 397-402.
- [23] Boxer MM, Delaney GP, Chua BH. A review of the management of ductal carcinoma in situ following breast conserving surgery. *Breast.* 2013;22: 1019-25.
- [24] Silverstein MJ, Lagios MD, Craig PH, Waisman JR, Lewinsky BS, Colburn WJ, Poller DN. A prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer.* 1996;77: 2267-74.

- [25] Silverstein MJ, Lagios MD, Groshen S, Waisman JR, Lewinsky BS, Martino S, Gamagami P, Colburn WJ. The influence of margin width on local control of ductal carcinoma in situ of the breast. *N Engl J Med.* 1999;340: 1455-61.
- [26] Silverstein MJ. The University of Southern California/Van Nuys prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. *Am J Surg.* 2003;186: 337-43.
- [27] Silverstein MJ, Lagios MD. Choosing treatment for patients with ductal carcinoma in situ: fine tuning the University of Southern California/Van Nuys Prognostic Index. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2010;2010: 193-6.
- [28] Narod SA, Iqbal J, Giannakeas V, Sopik V, Sun P. Breast Cancer Mortality After a Diagnosis of Ductal Carcinoma In Situ. *JAMA Oncol.* 2015;1: 888-96.
- [29] Solin LJ, Gray R, Baehner FL, Butler SM, Hughes LL, Yoshizawa C, Cherbavaz DB, Shak S, Page DL, Sledge GW, Jr., Davidson NE, Ingle JN, Perez EA, Wood WC, Sparano JA, Badve S. A multigene expression assay to predict local recurrence risk for ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105: 701-10.
- [30] Benson JR, Wishart GC. Predictors of recurrence for ductal carcinoma in situ after breast-conserving surgery. *Lancet Oncol.* 2013;14: e348-57.
- [31] Provenzano E, Hopper JL, Giles GG, Marr G, Venter DJ, Armes JE. Biological markers that predict clinical recurrence in ductal carcinoma in situ of the breast. *Eur J Cancer.* 2003;39: 622-30.
- [32] Ringberg A, Anagnostaki L, Anderson H, Idvall I, Ferno M. Cell biological factors in ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast-relationship to ipsilateral local recurrence and histopathological characteristics. *Eur J Cancer.* 2001;37: 1514-22.
- [33] Cornfield DB, Palazzo JP, Schwartz GF, Goonewardene SA, Kovatich AJ, Chervoneva I, Hyslop T, Schwarting R. The prognostic significance of multiple morphologic features and biologic markers in ductal carcinoma in situ of the breast: a study of a large cohort of patients treated with surgery alone. *Cancer.* 2004;100: 2317-27.

- [34] Rakovitch E, Nofech-Mozes S, Hanna W, Baehner FL, Saskin R, Butler SM, Tuck A, Sengupta S, Elavathil L, Jani PA, Bonin M, Chang MC, Robertson SJ, Slodkowska E, Fong C, Anderson JM, Jamshidian F, Miller DP, Cherbavaz DB, Shak S et al. A population-based validation study of the DCIS Score predicting recurrence risk in individuals treated by breast-conserving surgery alone. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;152: 389-98.
- [35] Antoniou AC, Pharoah PP, Smith P, Easton DF. The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancer. *Br J Cancer.* 2004;91: 1580-90.
- [36] Collins IM, Bickerstaffe A, Ranaweera T, Maddumarachchi S, Keogh L, Emery J, Mann GB, Butow P, Weideman P, Steel E, Trainer A, Bressel M, Hopper JL, Cuzick J, Antoniou AC, Phillips KA. iPrevent((R)): a tailored, web-based, decision support tool for breast cancer risk assessment and management. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;156: 171-82.
- [37] Cuzick J. Assessing risk for breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2008;10 Suppl 4: S13.
- [38] Saslow D, Boetes C, Burke W, Harms S, Leach MO, Lehman CD, Morris E, Pisano E, Schnall M, Sener S, Smith RA, Warner E, Yaffe M, Andrews KS, Russell CA, American Cancer Society Breast Cancer Advisory G. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. *CA Cancer J Clin.* 2007;57: 75-89.
- [39] National Institute for Health and Care Excellence. Familial breast cancer: Classification and care of people at risk of familial breast cancer and management of breast cancer and related risks in people with a family history of breast cancer. Update of clinical guideline 14 and 41. (Clinical guideline 164.). 2013. <http://guidance.nice.org.uk/CG164>
- [40] Lakhani SR. The pathology of familial breast cancer: Morphological aspects. *Breast Cancer Res.* 1999;1: 31-5.



- [41] Pichert G, Bolliger B, Buser K, Pagani O, Swiss Institute for Applied Cancer Research Network for Cancer Predisposition T, Counseling. Evidence-based management options for women at increased breast/ovarian cancer risk. *Ann Oncol*. 2003;14: 9-19.
- [42] Brekelmans CT, Seynaeve C, Bartels CC, Tilanus-Linthorst MM, Meijers-Heijboer EJ, Crepin CM, van Geel AA, Menke M, Verhoog LC, van den Ouweland A, Obdeijn IM, Klijn JG, Rotterdam Committee for M, Genetic C. Effectiveness of breast cancer surveillance in BRCA1/2 gene mutation carriers and women with high familial risk. *J Clin Oncol*. 2001;19: 924-30.
- [43] Leach MO, Boggis CR, Dixon AK, Easton DF, Eeles RA, Evans DG, Gilbert FJ, Griebisch I, Hoff RJ, Kessar P, Lakhani SR, Moss SM, Nerurkar A, Padhani AR, Pointon LJ, Thompson D, Warren RM, group Ms. Screening with magnetic resonance imaging and mammography of a UK population at high familial risk of breast cancer: a prospective multicentre cohort study (MARIBS). *Lancet*. 2005;365: 1769-78.
- [44] Sung JS, Stamler S, Brooks J, Kaplan J, Huang T, Dershaw DD, Lee CH, Morris EA, Comstock CE. Breast Cancers Detected at Screening MR Imaging and Mammography in Patients at High Risk: Method of Detection Reflects Tumor Histopathologic Results. *Radiology*. 2016: 151419.
- [45] Kuhl CK, Schrading S, Leutner CC, Morakkabati-Spitz N, Wardelmann E, Fimmers R, Kuhn W, Schild HH. Mammography, breast ultrasound, and magnetic resonance imaging for surveillance of women at high familial risk for breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23: 8469-76.
- [46] Chereau E, Uzan C, Balleyguier C, Chevalier J, de Paillerets BB, Caron O, Rimareix F, Mathieu MC, Koskas M, Bourgier C, Andre F, Dromain C, Delaloge S. Characteristics, treatment, and outcome of breast cancers diagnosed in BRCA1 and BRCA2 gene mutation carriers in intensive screening programs including magnetic resonance imaging. *Clin Breast Cancer*. 2010;10: 113-8.

- [47] Kriege M, Brekelmans CT, Boetes C, Besnard PE, Zonderland HM, Obdeijn IM, Manoliu RA, Kok T, Peterse H, Tilanus-Linthorst MM, Muller SH, Meijer S, Oosterwijk JC, Beex LV, Tollenaar RA, de Koning HJ, Rutgers EJ, Klijn JG, Magnetic Resonance Imaging Screening Study G. Efficacy of MRI and mammography for breast-cancer screening in women with a familial or genetic predisposition. *N Engl J Med.* 2004;351: 427-37.
- [48] Passaperuma K, Warner E, Causer PA, Hill KA, Messner S, Wong JW, Jong RA, Wright FC, Yaffe MJ, Ramsay EA, Balasingham S, Verity L, Eisen A, Curpen B, Shumak R, Plewes DB, Narod SA. Long-term results of screening with magnetic resonance imaging in women with BRCA mutations. *Br J Cancer.* 2012;107: 24-30.
- [49] Tilanus-Linthorst MM, Obdeijn IM, Hop WC, Causer PA, Leach MO, Warner E, Pointon L, Hill K, Klijn JG, Warren RM, Gilbert FJ. BRCA1 mutation and young age predict fast breast cancer growth in the Dutch, United Kingdom, and Canadian magnetic resonance imaging screening trials. *Clin Cancer Res.* 2007;13: 7357-62.
- [50] Sardanelli F, Boetes C, Borisch B, Decker T, Federico M, Gilbert FJ, Helbich T, Heywang-Kobrunner SH, Kaiser WA, Kerin MJ, Mansel RE, Marotti L, Martincich L, Mauriac L, Meijers-Heijboer H, Orecchia R, Panizza P, Ponti A, Purushotham AD, Regitnig P et al. Magnetic resonance imaging of the breast: recommendations from the EUSOMA working group. *Eur J Cancer.* 2010;46: 1296-316.
- [51] Mainiero MB, Lourenco A, Mahoney MC, Newell MS, Bailey L, Barke LD, D'Orsi C, Harvey JA, Hayes MK, Huynh PT, Jokich PM, Lee SJ, Lehman CD, Mankoff DA, Nepute JA, Patel SB, Reynolds HE, Sutherland ML, Haffty BG. ACR Appropriateness Criteria Breast Cancer Screening. *J Am Coll Radiol.* 2013;10: 11-4.
- [52] Lehmann BD, Pietenpol JA. Identification and use of biomarkers in treatment strategies for triple-negative breast cancer subtypes. *J Pathol.* 2014;232: 142-50.
- [53] Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-

negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer*. 2007;109: 1721-8.

[54] Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, Cheang MC, Gelmon K, Nielsen TO, Blomqvist C, Heikkila P, Heikkinen T, Nevanlinna H, Akslen LA, Begin LR, Foulkes WD, Couch FJ, Wang X, Cafourek V, Olson JE et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med*. 2010;7: e1000279.

[55] Curtis C, Shah SP, Chin SF, Turashvili G, Rueda OM, Dunning MJ, Speed D, Lynch AG, Samarajiwa S, Yuan Y, Graf S, Ha G, Haffari G, Bashashati A, Russell R, McKinney S, Langerod A, Green A, Provenzano E, Wishart G et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature*. 2012;486: 346-52.

[56] Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012;490: 61-70.

[57] Montagna E, Maisonneuve P, Rotmensz N, Cancellato G, Iorfida M, Balduzzi A, Galimberti V, Veronesi P, Luini A, Pruneri G, Bottiglieri L, Mastropasqua MG, Goldhirsch A, Viale G, Colleoni M. Heterogeneity of triple-negative breast cancer: histologic subtyping to inform the outcome. *Clin Breast Cancer*. 2013;13: 31-9.

[58] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, Karaca G, Troester MA, Tse CK, Edmiston S, Deming SL, Geradts J, Cheang MC, Nielsen TO, Moorman PG, Earp HS, Millikan RC. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 2006;295: 2492-502.

[59] Lund MJ, Trivers KF, Porter PL, Coates RJ, Leyland-Jones B, Brawley OW, Flagg EW, O'Regan RM, Gabram SG, Eley JW. Race and triple negative threats to breast cancer survival: a population-based study in Atlanta, GA. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;113: 357-70.

- [60] Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, Lickley LA, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res.* 2007;13: 4429-34.
- [61] Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, Andre F, Tordai A, Mejia JA, Symmans WF, Gonzalez-Angulo AM, Hennessy B, Green M, Cristofanilli M, Hortobagyi GN, Pusztai L. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26: 1275-81.
- [62] Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, Pietenpol JA. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest.* 2011;121: 2750-67.
- [63] Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2010;363: 1938-48.
- [64] Criscitiello C, Azim HA, Jr., Schouten PC, Linn SC, Sotiriou C. Understanding the biology of triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2012;23 Suppl 6: vi13-8.
- [65] Masuda H, Baggerly KA, Wang Y, Zhang Y, Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F, Valero V, Lehmann BD, Pietenpol JA, Hortobagyi GN, Symmans WF, Ueno NT. Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes. *Clin Cancer Res.* 2013;19: 5533-40.
- [66] Burstein MD, Tsimelzon A, Poage GM, Covington KR, Contreras A, Fuqua S, Savage M, Osborne CK, Hilsenbeck SG, Chang JC, Mills GB, Lau CC, Brown PH. Comprehensive Genomic Analysis Identifies Novel Subtypes and Targets of Triple-negative Breast Cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21: 1688-98.
- [67] Nagle RB, Bocker W, Davis JR, Heid HW, Kaufmann M, Lucas DO, Jarasch ED. Characterization of breast carcinomas by two monoclonal antibodies distinguishing myoepithelial from luminal epithelial cells. *J Histochem Cytochem.* 1986;34: 869-81.
- [68] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX,

Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406: 747-52.

[69] Gusterson BA, Ross DT, Heath VJ, Stein T. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2005;7: 143-8.

[70] Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Lonning PE, Borresen-Dale AL. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98: 10869-74.

[71] Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, Weigelt B, Peterse H, Bartelink H, van de Vijver MJ. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res*. 2007;9: R65.

[72] Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology*. 2008;52: 108-18.

[73] Bastien RR, Rodriguez-Lescure A, Ebbert MT, Prat A, Munarriz B, Rowe L, Miller P, Ruiz-Borrego M, Anderson D, Lyons B, Alvarez I, Dowell T, Wall D, Segui MA, Barley L, Boucher KM, Alba E, Pappas L, Davis CA, Aranda I et al. PAM50 breast cancer subtyping by RT-qPCR and concordance with standard clinical molecular markers. *BMC Med Genomics*. 2012;5: 44.

[74] Burger HG. Androgen production in women. *Fertil Steril*. 2002;77 Suppl 4: S3-5.

[75] Fioretti FM, Sita-Lumsden A, Bevan CL, Brooke GN. Revising the role of the androgen receptor in breast cancer. *J Mol Endocrinol*. 2014;52: R257-65.

[76] Pratt WB, Toft DO. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr Rev*. 1997;18: 306-60.

- [77] Le Romancer M, Poulard C, Cohen P, Sentis S, Renoir JM, Corbo L. Cracking the estrogen receptor's posttranslational code in breast tumors. *Endocr Rev.* 2011;32: 597-622.
- [78] Carroll JS, Meyer CA, Song J, Li W, Geistlinger TR, Eeckhoute J, Brodsky AS, Keeton EK, Fertuck KC, Hall GF, Wang Q, Bekiranov S, Sementchenko V, Fox EA, Silver PA, Gingeras TR, Liu XS, Brown M. Genome-wide analysis of estrogen receptor binding sites. *Nat Genet.* 2006;38: 1289-97.
- [79] Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell.* 1989;56: 335-44.
- [80] Massie CE, Lynch A, Ramos-Montoya A, Boren J, Stark R, Fazli L, Warren A, Scott H, Madhu B, Sharma N, Bon H, Zecchini V, Smith DM, Denicola GM, Mathews N, Osborne M, Hadfield J, Macarthur S, Adryan B, Lyons SK et al. The androgen receptor fuels prostate cancer by regulating central metabolism and biosynthesis. *EMBO J.* 2011;30: 2719-33.
- [81] Glass CK. Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers, and heterodimers. *Endocr Rev.* 1994;15: 391-407.
- [82] Claessens F, Verrijdt G, Schoenmakers E, Haelens A, Peeters B, Verhoeven G, Rombauts W. Selective DNA binding by the androgen receptor as a mechanism for hormone-specific gene regulation. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2001;76: 23-30.
- [83] Unni E, Sun S, Nan B, McPhaul MJ, Cheskis B, Mancini MA, Marcelli M. Changes in androgen receptor nongenotropic signaling correlate with transition of LNCaP cells to androgen independence. *Cancer Res.* 2004;64: 7156-68.
- [84] Falkenstein E, Tillmann HC, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multiple actions of steroid hormones--a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev.* 2000;52: 513-56.
- [85] Panet-Raymond V, Gottlieb B, Beitel LK, Pinsky L, Trifiro MA. Interactions between androgen and estrogen receptors and the effects on their transactivational properties. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;167: 139-50.

- [86] Peters AA, Buchanan G, Ricciardelli C, Bianco-Miotto T, Centenera MM, Harris JM, Jindal S, Segara D, Jia L, Moore NL, Henshall SM, Birrell SN, Coetzee GA, Sutherland RL, Butler LM, Tilley WD. Androgen receptor inhibits estrogen receptor-alpha activity and is prognostic in breast cancer. *Cancer Res.* 2009;69: 6131-40.
- [87] Risbridger GP, Davis ID, Birrell SN, Tilley WD. Breast and prostate cancer: more similar than different. *Nat Rev Cancer.* 2010;10: 205-12.
- [88] Lanzino M, De Amicis F, McPhaul MJ, Marsico S, Panno ML, Ando S. Endogenous coactivator ARA70 interacts with estrogen receptor alpha (ERalpha) and modulates the functional ERalpha/androgen receptor interplay in MCF-7 cells. *J Biol Chem.* 2005;280: 20421-30.
- [89] Macias H, Hinck L. Mammary gland development. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2012;1: 533-57.
- [90] Li S, Han B, Liu G, Ouellet J, Labrie F, Pelletier G. Immunocytochemical localization of sex steroid hormone receptors in normal human mammary gland. *J Histochem Cytochem.* 2010;58: 509-15.
- [91] Yeh S, Hu YC, Wang PH, Xie C, Xu Q, Tsai MY, Dong Z, Wang RS, Lee TH, Chang C. Abnormal mammary gland development and growth retardation in female mice and MCF7 breast cancer cells lacking androgen receptor. *J Exp Med.* 2003;198: 1899-908.
- [92] Peters AA, Ingman WV, Tilley WD, Butler LM. Differential effects of exogenous androgen and an androgen receptor antagonist in the peri- and postpubertal murine mammary gland. *Endocrinology.* 2011;152: 3728-37.
- [93] Zhou J, Ng S, Adesanya-Famuiya O, Anderson K, Bondy CA. Testosterone inhibits estrogen-induced mammary epithelial proliferation and suppresses estrogen receptor expression. *FASEB J.* 2000;14: 1725-30.
- [94] Cauley JA, Lucas FL, Kuller LH, Stone K, Browner W, Cummings SR. Elevated serum estradiol and testosterone concentrations are associated with a high risk for

breast cancer. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann Intern Med.* 1999;130: 270-7.

[95] Hankinson SE, Willett WC, Manson JE, Colditz GA, Hunter DJ, Spiegelman D, Barbieri RL, Speizer FE. Plasma sex steroid hormone levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90: 1292-9.

[96] Wong YC, Xie B. The role of androgens in mammary carcinogenesis. *Ital J Anat Embryol.* 2001;106: 111-25.

[97] Xie B, Tsao SW, Wong YC. Sex hormone-induced mammary carcinogenesis in female noble rats: the role of androgens. *Carcinogenesis.* 1999;20: 1597-606.

[98] Boccuzzi G, Tamagno E, Brignardello E, Di Monaco M, Aragno M, Danni O. Growth inhibition of DMBA-induced rat mammary carcinomas by the antiandrogen flutamide. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1995;121: 150-4.

[99] Ortmann J, Prifti S, Bohlmann MK, Rehberger-Schneider S, Strowitzki T, Rabe T. Testosterone and 5 alpha-dihydrotestosterone inhibit in vitro growth of human breast cancer cell lines. *Gynecol Endocrinol.* 2002;16: 113-20.

[100] Dimitrakakis C, Zhou J, Wang J, Belanger A, LaBrie F, Cheng C, Powell D, Bondy C. A physiologic role for testosterone in limiting estrogenic stimulation of the breast. *Menopause.* 2003;10: 292-8.

[101] Greeve MA, Allan RK, Harvey JM, Bentel JM. Inhibition of MCF-7 breast cancer cell proliferation by 5alpha-dihydrotestosterone; a role for p21(Cip1/Waf1). *J Mol Endocrinol.* 2004;32: 793-810.

[102] Macedo LF, Guo Z, Tilghman SL, Sabnis GJ, Qiu Y, Brodie A. Role of androgens on MCF-7 breast cancer cell growth and on the inhibitory effect of letrozole. *Cancer Res.* 2006;66: 7775-82.

[103] Cops EJ, Bianco-Miotto T, Moore NL, Clarke CL, Birrell SN, Butler LM, Tilley WD. Antiproliferative actions of the synthetic androgen, mibolerone, in breast cancer cells are



mediated by both androgen and progesterone receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;110: 236-43.

[104] McNamara KM, Yoda T, Nurani AM, Shibahara Y, Miki Y, Wang L, Nakamura Y, Suzuki K, Yang Y, Abe E, Hirakawa H, Suzuki T, Nemoto N, Miyashita M, Tamaki K, Ishida T, Brown KA, Ohuchi N, Sasano H. Androgenic pathways in the progression of triple-negative breast carcinoma: a comparison between aggressive and non-aggressive subtypes. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;145: 281-93.

[105] Birrell SN, Bentel JM, Hickey TE, Ricciardelli C, Weger MA, Horsfall DJ, Tilley WD. Androgens induce divergent proliferative responses in human breast cancer cell lines. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;52: 459-67.

[106] Maggiolini M, Donze O, Jeannin E, Ando S, Picard D. Adrenal androgens stimulate the proliferation of breast cancer cells as direct activators of estrogen receptor alpha. *Cancer Res.* 1999;59: 4864-9.

[107] Lin HY, Sun M, Lin C, Tang HY, London D, Shih A, Davis FB, Davis PJ. Androgen-induced human breast cancer cell proliferation is mediated by discrete mechanisms in estrogen receptor-alpha-positive and -negative breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2009;113: 182-8.

[108] Birrell SN, Hall RE, Tilley WD. Role of the androgen receptor in human breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 1998;3: 95-103.

[109] Garay JP, Karakas B, Abukhdeir AM, Cosgrove DP, Gustin JP, Higgins MJ, Konishi H, Konishi Y, Luring J, Mohseni M, Wang GM, Jelovac D, Weeraratna A, Sherman Baust CA, Morin PJ, Toubaji A, Meeker A, De Marzo AM, Lewis G, Subhawong A et al. The growth response to androgen receptor signaling in ERalpha-negative human breast cells is dependent on p21 and mediated by MAPK activation. *Breast Cancer Res.* 2012;14: R27.

- [110] Park JJ, Irvine RA, Buchanan G, Koh SS, Park JM, Tilley WD, Stallcup MR, Press MF, Coetzee GA. Breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) is a coactivator of the androgen receptor. *Cancer Res.* 2000;60: 5946-9.
- [111] Hu R, Dawood S, Holmes MD, Collins LC, Schnitt SJ, Cole K, Marotti JD, Hankinson SE, Colditz GA, Tamimi RM. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women. *Clin Cancer Res.* 2011;17: 1867-74.
- [112] Park S, Koo J, Park HS, Kim JH, Choi SY, Lee JH, Park BW, Lee KS. Expression of androgen receptors in primary breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21: 488-92.
- [113] Qi JP, Yang YL, Zhu H, Wang J, Jia Y, Liu N, Song YJ, Zan LK, Zhang X, Zhou M, Gu YH, Liu T, Hicks DG, Tang P. Expression of the androgen receptor and its correlation with molecular subtypes in 980 chinese breast cancer patients. *Breast Cancer (Auckl).* 2012;6: 1-8.
- [114] Soreide JA, Lea OA, Varhaug JE, Skarstein A, Kvinnsland S. Androgen receptors in operable breast cancer: relation to other steroid hormone receptors, correlations to prognostic factors and predictive value for effect of adjuvant tamoxifen treatment. *Eur J Surg Oncol.* 1992;18: 112-8.
- [115] Kuenen-Boumeester V, Van der Kwast TH, Claassen CC, Look MP, Liem GS, Klijn JG, Henzen-Logmans SC. The clinical significance of androgen receptors in breast cancer and their relation to histological and cell biological parameters. *Eur J Cancer.* 1996;32A: 1560-5.
- [116] Brys M, Wojcik M, Romanowicz-Makowska H, Krajewska WM. Androgen receptor status in female breast cancer: RT-PCR and Western blot studies. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2002;128: 85-90.
- [117] Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, Tubiana-Hulin M, Fumoleau P, Larsimont D, Macgrogan G, Bergh J, Cameron D, Goldstein D, Duss S, Nicoulaz AL, Brisken C, Fiche M, Delorenzi M, Iggo R. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene.* 2005;24: 4660-71.

- [118] Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, Palla SL, Carey M, Agarwal R, Meric-Berstam F, Traina TA, Hudis C, Hortobagyi GN, Gerald WL, Mills GB, Hennessey BT. Androgen receptor levels and association with PIK3CA mutations and prognosis in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15: 2472-8.
- [119] Ogawa Y, Hai E, Matsumoto K, Ikeda K, Tokunaga S, Nagahara H, Sakurai K, Inoue T, Nishiguchi Y. Androgen receptor expression in breast cancer: relationship with clinicopathological factors and biomarkers. *Int J Clin Oncol.* 2008;13: 431-5.
- [120] Qu Q, Mao Y, Fei XC, Shen KW. The impact of androgen receptor expression on breast cancer survival: a retrospective study and meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8: e82650.
- [121] Gucalp A, Traina TA. Triple-negative breast cancer: role of the androgen receptor. *Cancer J.* 2010;16: 62-5.
- [122] Shah SP, Roth A, Goya R, Oloumi A, Ha G, Zhao Y, Turashvili G, Ding J, Tse K, Haffari G, Bashashati A, Prentice LM, Khattra J, Burleigh A, Yap D, Bernard V, McPherson A, Shumansky K, Crisan A, Giuliany R et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers. *Nature.* 2012;486: 395-9.
- [123] Gucalp A, Tolaney S, Isakoff SJ, Ingle JN, Liu MC, Carey LA, Blackwell K, Rugo H, Nabell L, Forero A, Stearns V, Doane AS, Danso M, Moynahan ME, Momen LF, Gonzalez JM, Akhtar A, Giri DD, Patil S, Feigin KN et al. Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res.* 2013;19: 5505-12.
- [124] Loibl S, Muller BM, von Minckwitz G, Schwabe M, Roller M, Darb-Esfahani S, Ataseven B, du Bois A, Fissler-Eckhoff A, Gerber B, Kulmer U, Alles JU, Mehta K, Denkert C. Androgen receptor expression in primary breast cancer and its predictive and prognostic value in patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;130: 477-87.

- [125] Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Gross B, Sumer SO, Sun Y, Jacobsen A, Sinha R, Larsson E, Cerami E, Sander C, Schultz N. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal*. 2013;6: pl1.
- [126] Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, Jacobsen A, Byrne CJ, Heuer ML, Larsson E, Antipin Y, Reva B, Goldberg AP, Sander C, Schultz N. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2: 401-4.
- [127] McGhan LJ, McCullough AE, Protheroe CA, Dueck AC, Lee JJ, Nunez-Nateras R, Castle EP, Gray RJ, Wasif N, Goetz MP, Hawse JR, Henry TJ, Barrett MT, Cunliffe HE, Pockaj BA. Androgen receptor-positive triple negative breast cancer: a unique breast cancer subtype. *Ann Surg Oncol*. 2014;21: 361-7.
- [128] Gasparini P, Fassan M, Cascione L, Guler G, Balci S, Irkkan C, Paisie C, Lovat F, Morrison C, Zhang J, Scarpa A, Croce CM, Shapiro CL, Huebner K. Androgen receptor status is a prognostic marker in non-basal triple negative breast cancers and determines novel therapeutic options. *PLoS One*. 2014;9: e88525.
- [129] Luo X, Shi YX, Li ZM, Jiang WQ. Expression and clinical significance of androgen receptor in triple negative breast cancer. *Chin J Cancer*. 2010;29: 585-90.
- [130] Sutton LM, Cao D, Sarode V, Molberg KH, Torgbe K, Haley B, Peng Y. Decreased androgen receptor expression is associated with distant metastases in patients with androgen receptor-expressing triple-negative breast carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2012;138: 511-6.
- [131] Mrklic I, Pogorelic Z, Capkun V, Tomic S. Expression of androgen receptors in triple negative breast carcinomas. *Acta Histochem*. 2013;115: 344-8.
- [132] Safarpour D, Pakneshan S, Tavassoli FA. Androgen receptor (AR) expression in 400 breast carcinomas: is routine AR assessment justified? *Am J Cancer Res*. 2014;4: 353-68.

- [133] Thike AA, Yong-Zheng Chong L, Cheok PY, Li HH, Wai-Cheong Yip G, Huat Bay B, Tse GM, Iqbal J, Tan PH. Loss of androgen receptor expression predicts early recurrence in triple-negative and basal-like breast cancer. *Mod Pathol*. 2014;27: 352-60.
- [134] Abd-Elazeem MA, Abd-Elazeem MA. Claudin 4 expression in triple-negative breast cancer: correlation with androgen receptors and Ki-67 expression. *Ann Diagn Pathol*. 2015;19: 37-42.
- [135] Tang D, Xu S, Zhang Q, Zhao W. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer. *Med Oncol*. 2012;29: 526-33.
- [136] Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer*. 2007;109: 25-32.
- [137] Choi JE, Kang SH, Lee SJ, Bae YK. Androgen Receptor Expression Predicts Decreased Survival in Early Stage Triple-Negative Breast Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2015;22: 82-9.
- [138] Pistelli M, Caramanti M, Biscotti T, Santinelli A, Pagliacci A, De Lisa M, Ballatore Z, Ridolfi F, Maccaroni E, Bracci R, Berardi R, Battelli N, Cascinu S. Androgen receptor expression in early triple-negative breast cancer: clinical significance and prognostic associations. *Cancers (Basel)*. 2014;6: 1351-62.
- [139] Lehmann BD, Bauer JA, Schafer JM, Pendleton CS, Tang L, Johnson KC, Chen X, Balko JM, Gomez H, Arteaga CL, Mills GB, Sanders ME, Pietersen JA. PIK3CA mutations in androgen receptor-positive triple negative breast cancer confer sensitivity to the combination of PI3K and androgen receptor inhibitors. *Breast Cancer Res*. 2014;16: 406.
- [140] Cuenca-Lopez MD, Montero JC, Morales JC, Prat A, Pandiella A, Ocana A. Phospho-kinase profile of triple negative breast cancer and androgen receptor signaling. *BMC Cancer*. 2014;14: 302.

- [141] Bae MS, Park SY, Song SE, Kim WH, Lee SH, Han W, Park IA, Noh DY, Moon WK. Heterogeneity of triple-negative breast cancer: mammographic, US, and MR imaging features according to androgen receptor expression. *Eur Radiol.* 2015;25: 419-27.
- [142] Clinicaltrials.gov. Safety and Efficacy Study of Enzalutamide in Patients With Advanced, Androgen Receptor-Positive, Triple Negative Breast Cancer (NCT01889238). 2014. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01889238>
- [143] Narayanan R, Ahn S, Cheney MD, Yepuru M, Miller DD, Steiner MS, Dalton JT. Selective androgen receptor modulators (SARMs) negatively regulate triple-negative breast cancer growth and epithelial:mesenchymal stem cell signaling. *PLoS One.* 2014;9: e103202.
- [144] Suzuki T, Miki Y, Akahira J, Moriya T, Ohuchi N, Sasano H. Aromatase in human breast carcinoma as a key regulator of intratumoral sex steroid concentrations. *Endocr J.* 2008;55: 455-63.
- [145] McNamara KM, Oguro S, Omata F, Kikuchi K, Guestini F, Suzuki K, Yang Y, Abe E, Hirakawa H, Brown KA, Takanori I, Ohuchi N, Sasano H. The presence and impact of estrogen metabolism on the biology of triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2017;161: 213-27.
- [146] van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R, Haas P, Kallioniemi O, Kononen J, Torhorst J, Sauter G, Zuber M, Kochli OR, Mross F, Dieterich H, Seitz R, Ross D, Botstein D, Brown P. Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol.* 2002;161: 1991-6.
- [147] Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, Hess KR, Stec J, Ayers M, Wagner P, Morandi P, Fan C, Rabiul I, Ross JS, Hortobagyi GN, Pusztai L. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2005;11: 5678-85.

- [148] Hicks DG, Short SM, Prescott NL, Tarr SM, Coleman KA, Yoder BJ, Crowe JP, Choueiri TK, Dawson AE, Budd GT, Tubbs RR, Casey G, Weil RJ. Breast cancers with brain metastases are more likely to be estrogen receptor negative, express the basal cytokeratin CK5/6, and overexpress HER2 or EGFR. *Am J Surg Pathol.* 2006;30: 1097-104.
- [149] Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K, Jones C, Gillett CE, Hanby A, Easton D, Lakhani SR. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res.* 2007;9: R4.
- [150] Agoff SN, Swanson PE, Linden H, Hawes SE, Lawton TJ. Androgen receptor expression in estrogen receptor-negative breast cancer. Immunohistochemical, clinical, and prognostic associations. *Am J Clin Pathol.* 2003;120: 725-31.
- [151] McNamara KM, Yoda T, Takagi K, Miki Y, Suzuki T, Sasano H. Androgen receptor in triple negative breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;133: 66-76.
- [152] Engebraaten O, Vollan HK, Borresen-Dale AL. Triple-negative breast cancer and the need for new therapeutic targets. *Am J Pathol.* 2013;183: 1064-74.

## **Z. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Δεδομένων των αντιφατικών μελετών που έχουν δημοσιευθεί στη βιβλιογραφία, η παρούσα διδακτορική διατριβή αποσκοπεί στην αξιολόγηση του πιθανού προγνωστικού ρόλου της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των υποδοχέων των ανδρογόνων (androgen receptors, AR) στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού. Η μελέτη περιέλαβε 90 ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού. Στις ασθενείς εξετάστηκαν οι συσχετίσεις ανάμεσα στην έκφραση των AR (ποσοτικοποιημένη ως score κατά Allred), τις κλινικοπαθολογικές παραμέτρους (στάδιο, βαθμός κακοήθειας, ιστολογικός υπότυπος, μέγεθος του όγκου, λεμφαδενική διήθηση, ηλικία κατά τη διάγνωση, έκφραση του Ki67 και της p53) και τη συνολική επιβίωση. Η μελέτη κατέδειξε ότι η έκφραση των AR δεν συσχετιζόταν με το στάδιο, το βαθμό κακοήθειας, τον ιστολογικό υπότυπο, το μέγεθος του όγκου, τη λεμφαδενική διήθηση, την ηλικία κατά τη διάγνωση, την έκφραση του Ki67 και της p53. Επίσης, η έκφραση των AR δεν συσχετιζόταν με τη συνολική επιβίωση στη μονομεταβλητή ή την πολυμεταβλητή παλινδρόμηση κατά Cox (πολυμεταβλητό πηλίκο κινδύνου, hazard ratio =0.66, 95% διάστημα εμπιστοσύνης: 0.26-1.70, P=0.393). Συμπερασματικά, η έκφραση των AR δεν φαίνεται να έχει προγνωστική σημασία στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού.



## Η. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

In light of the controversial published literature, this thesis aims to examine the potential prognostic role of androgen receptor (AR) immunohistochemical expression in triple negative breast cancer (TNBC). Ninety patients with TNBC were included in this thesis; the associations between AR expression (Allred score), clinicopathological variables (stage, grade, histological subtype, tumor size, nodal status, age at diagnosis, Ki67 expression, and p53 expression), and overall survival were evaluated. The study showed that AR expression was not associated with stage, grade, histological subtype, tumor size, nodal status, age at diagnosis, Ki67 expression, and p53 expression. AR immunopositivity was not associated with overall survival either at the univariate or at the multivariate Cox regression analysis (multivariate hazard ratio =0.66, 95% confidence interval: 0.26-1.70, P=0.393). In conclusion, AR expression does not seem to play a prognostic role in TNBC.