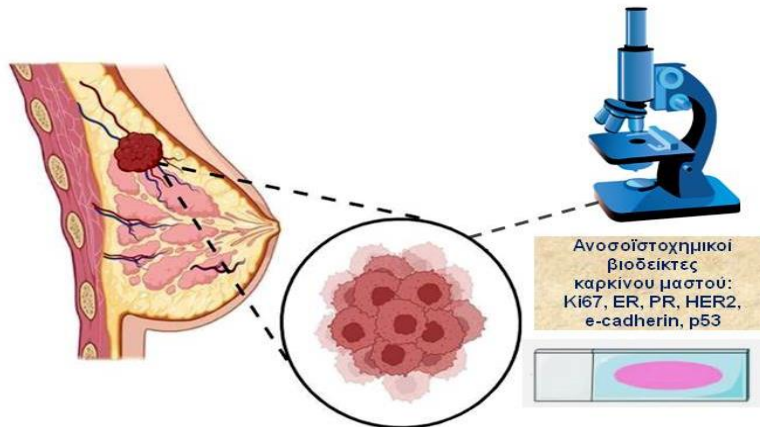




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ
Διευθυντής: Καθηγητής Ν. Καβαντζάς

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Αναδρομική μελέτη προγνωστικών δεικτών
στον καρκίνο του μαστού»



ΠΕΤΡΟΣ Γ. ΠΑΠΑΛΕΞΗΣ
ΙΑΤΡΟΣ

Αθήνα, 2024

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΑΘΗΝΩΝ

ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ,

Α' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Νικόλαος Καβαντζάς

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Αναδρομική μελέτη προγνωστικών δεικτών
στον καρκίνο του μαστού»**

υπό

ΠΕΤΡΟΥ Γ. ΠΑΠΑΛΕΞΗ

ΙΑΤΡΟΥ

Αθήνα, 2024

© Πέτρος Παπαλέξης, 2024

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή, της Σχολής Επιστημών Υγείας, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202, παρ. 2, όπως ισχύει).

**«Αναδρομική μελέτη προγνωστικών δεικτών
στον καρκίνο του μαστού»**

ΠΕΤΡΟΥ Γ. ΠΑΠΑΛΕΞΗ

A. Ημερομηνία αίτησης εκπόνησης διδακτορικής διατριβής: 23/12/2015

B. Ημερομηνία ορισμού 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 23/3/2016

Γ. Μέλη της 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1) **Δρ. Γεωργία-Ελένη Θωμοπούλου**, Αν. Καθηγήτρια Κυτταρολογίας Ιατρικής Σχολής Αθηνών (Επιβλέπουσα)

2) **Δρ. Ανδρέας Χρ. Λάζαρης**, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Αθηνών

3) **Δρ. Αφροδίτη Νόννη**, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Αθηνών.

Δ. Ημερομηνία ορισμού θέματος διδακτορικής διατριβής: 12/12/2018

Ε. Ημερομηνία κατάθεσης διδακτορικής διατριβής: 24/03/2024

Τα παραπάνω στοιχεία επικυρώνονται με την υπογραφή του/της γραμματέως και τη σφραγίδα της Ιατρικής Σχολής Αθηνών.

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΚΠΑ:


Καθηγητής Νικόλαος Φ. Αρκαδόπουλος

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

- 1) **Δρ. Γεωργία-Ελένη Θωμοπούλου**, Αν. Καθηγήτρια Κυτταρολογίας Ιατρικής Σχολής Αθηνών, Διευθύντρια Εργαστηρίου Διαγνωστικής Κυτταρολογίας Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»(Επιβλέπουσα),
- 2) **Δρ. Ανδρέας Χρ. Λάζαρης**, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Αθηνών,
- 3) **Δρ. Αφροδίτη Νόννη**, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Αθηνών,
- 4) **Δρ. Νικόλαος Καβαντζάς**, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Αθηνών, Διευθυντής Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής ΕΚΠΑ,
- 5) **Δρ. Ειρήνη Θυμαρά**, Αν. Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής Αθηνών,
- 6) **Δρ. Γεώργιος Κ. Ζωγράφος**, Ομότιμος Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, τ. Αντιπρύτανης Ε.Κ.Π.Α.,
- 7) **Δρ. Ευσταθία Γ. Παπαγεωργίου**, Καθηγήτρια Ανώτερων Μαθηματικών με έμφαση στις Τεχνολογικές και Βιοϊατρικές Εφαρμογές, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής (ΠΑΔΑ), τ. Αντιπρύτανης ΠΑ.Δ.Α., Μέλος Συμβουλίου Διοίκησης ΠΑ.Δ.Α.

Βαθμός Διδακτορικής Διατριβής: Άριστα (ομόφωνα)

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ



ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ ΟΡΚΟΣ

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἵστορας ποιεύμενος, ἐπιτελεᾶ ποιήσεις κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν ὄρκον τόνδε καὶ συγγραφὴν τήνδε. ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἑμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρῆζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ οὗτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρῃσι, καὶ διδάσειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρῆζωσι μαθήσασθαι, ἄνευ μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἑμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμῆ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγραμμένοισί τε καὶ ὠρῖστέμοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρῆσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν, ἐπὶ ἀληθείᾳ δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρῃσιν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ περὶ σὸν φθόριον δώσω. Ἄγνῳς δὲ καὶ ὄσιος διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκκωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρῆσιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὁκόσας ὣν ἐσίω, ἐξελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἔων πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφοροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμαίων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ὣν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἢ μὴ κρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔσω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελεᾶ ποιέοντι, καὶ μὴ συγχεόντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπισορκούντι, τάναντία τούτων.

Μετάφραση Ιπποκρατικού Όρκου

"Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην πανάκεια και σ' όλους τους Θεούς επικαλούμενος την μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτό τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό. Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτή την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί μου τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας.

Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τ' αδέρφια μου και να τους διδάξω την τέχνη αυτή αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο και να μεταδώσω με παραγγελίες, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σ' αυτούς που έχουν ορκισθεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο και να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω. Και να μη δώσω ποτέ σε κανένα, έστω κι αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή. Ομοίως να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για ν' αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου και την τέχνη μου καθαρή και αγνή. Και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους αλλά ν' αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς. Και σ' όποια σπίτια κι αν μπω, να μπω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους. Και ό,τι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το τηρήσω μυστικό. Αν τον όρκο μου αυτό τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είτε ν' απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά".

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στην επιβλέπουσα καθηγήτρια της διδακτορικής μου διατριβής, **κ. Γεωργία-Ελένη Θωμοπούλου**, Αν. Καθηγήτρια, καθώς και στους Καθηγητές, μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: **κ. Ανδρέα Λάζαρη και Αφροδίτη Νόννη**, για τις πολύ εύστοχες παρατηρήσεις, επισημάνσεις, διορθώσεις τους και για την αμέριστη βοήθειά τους, συμβάλλοντας ιδιαίτερα στην επιτυχή ολοκλήρωση αυτής της διδακτορικής διατριβής, στους οποίους είμαι ευγνώμων.

Τις θερμές ευχαριστίες μου στην αγαπημένη μου συνάδελφο και φίλη, Βάσω Γεωργακοπούλου, για τη βοήθειά της στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων της μελέτης μας και για τη διαχρονική στήριξη και φιλία της!!!

Ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλο το προσωπικό του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, της Ιατρικής Σχολής Αθηνών και ιδιαίτερα στις κυρίες Ειρήνη Θεοχάρη και Όλγα Βούλγαρη για τη βοήθειά τους στην εκπαίδευση και παρουσίαση της μεθόδου της ανοσοϊστοχημείας, αλλά και στις κυρίες της γραμματείας για τη συμβολή τους στην ομαδοποίηση και ταξινόμηση των ιστολογικών εκθέσεων που χρησιμοποιήθηκαν για τους σκοπούς της μελέτης μας!!

Κλείνοντας, τις πιο θερμές μου ευχαριστίες στα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής της διδακτορικής διατριβής για τη συμμετοχή τους αυτή, καθώς και στον αγαπημένο μου φίλο και συνεργάτη, Δημήτριο Κεραμυδά, για τη διαχρονική του φιλία, στήριξη και επιστημονική συνεργασία!!

Την αμέριστη ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου για τη διαχρονική της στήριξη, στις ακαδημαϊκές μου σπουδές, στις προσπάθειες και στα όνειρά μου!!

Η διατριβή αυτή αφιερώνεται σε όλες τις γυναίκες που πάσχουν από καρκίνο του μαστού και πρέπει και αξίζουν να βγουν νικήτριες στη μάχη με τον καρκίνο, να κερδίσουν και πάλι τη ζωή με υγεία, αισιοδοξία, δύναμη και πολλά χαμόγελα!!!

Εις τελειότητα του ανθρώπου τρία δει συνδράμειν: φύσιν, μάθησιν και άσκησιν.

(Πλάτων, 427-347 π.Χ.)

Κάλλιον το προλαμβάνειν ή το θεραπεύειν.

(Ιπποκράτης, 460-370 π.Χ., πατέρας της Ιατρικής Επιστήμης)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΝΟΠΤΙΚΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	10
Εισαγωγή	17
Σκοπός διδακτορικής διατριβής.....	20
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	21
Κεφάλαιο 1^ο: Ανατομία-Φυσιολογία-Ιστολογία μαστού	22
1.1 Ανατομία του μαστού	22
1.2 Φυσιολογία του μαστού.....	25
1.3 Ανάπτυξη μαστού κατά τη διάρκεια της ήβης.....	25
1.4 Ιστολογία μαστού.....	26
1.5 Λειτουργία των μαστών.....	27
1.6 Καλοήθειες αλλοιώσεις του μαστού	28
Κεφάλαιο 2^ο: Καρκίνος του μαστού	31
2.1 Επιδημιολογία καρκίνου του μαστού	31
2.2 Παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του μαστού.....	34
2.3 Συμπτώματα καρκίνου του μαστού	38
2.4 Τύποι καρκίνου του μαστού	40
2.5 Σταδιοποίηση καρκίνου μαστού κατά TNM	47
σύστημα-Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης	
2.5.1 Στάδια καρκίνου του μαστού	47
2.5.2 Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης	49
2.5.3 Προσδιορισμός του Βαθμού Κακοήθειας (Grading)	50
2.6 Μοριακοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού.....	54
2.7 Μοριακή ταξινόμηση καρκίνου του μαστού	55
2.8 Διάγνωση καρκίνου μαστού	58
2.8.1 Υπερηχογράφημα μαστών	60
2.8.2 Μαγνητική τομογραφία μαστών (MRI)	61
2.8.3 Βιοψία ογκόμορφων αλλοιώσεων του μαστού	62
2.9 Βιοδείκτες καρκίνου του μαστού.....	62
2.10 Πρόγνωση του καρκίνου του μαστού	78

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	84
Μεθοδολογία.....	85
Κριτήρια ένταξης ασθενών της μελέτης.....	88
Συλλογή δεδομένων	88
Εισαγωγή στην ανοσοϊστοχημεία	89
Αντισώματα	90
Πολυκλωνικά αντισώματα.....	90
Μονοκλωνικά αντισώματα	91
Βασική ανοσοχημεία	92
Τίτλος αντισωμάτων	92
I. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΧΡΩΣΗΣ	95
1.1 Αποπαραφίνωση, ενυδάτωση και αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων.....	95
1.2 Δέσμευση ενδογενούς υπεροξειδάσης.....	95
1.3 Αντισώματα	95
1.4 Χρωμογόνο και αντίχρωση.....	97
1.5 Αφυδάτωση και κάλυψη	97
1.6 Ανοσοϊστοχημική ανάλυση	97
1.7 Προσδιορισμός θετικής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης:.....	98
Συζήτηση.....	137
Συμπεράσματα	144
Περίληψη	146
Abstract.....	148
Βιβλιογραφία	150

- ΣΥΝΟΠΤΙΚΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ -

Πέτρος Γ. Παπαλέξης, Ιατρός



ΌΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ: **ΓΕΩΡΓΙΟΣ**, ΌΝΟΜΑ ΜΗΤΡΟΣ: **ΜΑΡΙΝΑ**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ-ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: **01/05/1982, ΑΘΗΝΑ**

<https://www.linkedin.com/in/petros-papalexis-7925a39b/>

Επαγγελματική-Επιστημονική Θέση:

- Ιατρός Ειδικευόμενος Ενδοκρινολογίας-Διαβήτη-Μεταβολισμού ΓΝΑ «Λαϊκό», (12^{ος} 2021 έως σήμερα).
- Ιατρός, απόφοιτος Ιατρικής Σχολής Θεσσαλονίκης, Α.Π.Θ., Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων Γ.Ν.Α. «Λαϊκό», Αθήνα
- Καθηγητής Εθνικού Κέντρου Δημόσιας Διοίκησης και Αυτοδιοίκησης από το 2019 έως σήμερα (γνωστικό αντικείμενο: Υγεία & Ασφάλεια στην Εργασία).
- Ακαδημαϊκός Υπότροφος, Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής (2016-σήμερα).
- Μέλος Ελληνικής Συμβουλευτικής Επιτροπής για τη διεθνή πιστοποίηση ASCP_i, Αμερικανικής Εταιρείας Κλινικής Παθολογίας (ASCP_i Greek Advisory Board).
- Κριτής-Αξιολογητής επιστημονικών δημοσιεύσεων των Διεθνών Επιστημονικών περιοδικών **Human & Experimental Toxicology, Cureus, Life, Diagnostics, Nutrients**.
- Διδάσκων Μεταπτυχιακών Προγραμμάτων Ιατρικής Σχολής Αθηνών και τ. ΑΤΕΙ-Αθήνας, τ. Έκτακτος Καθηγητής ΑΤΕΙ-Αθήνας και ΑΤΕΙ-Θεσσαλίας.
- Καθηγητής Δημοσίων ΙΕΚ Νομού Αττικής

Σπουδές:

- Υποψήφιος Διδάκτορας Ιατρικής Σχολής Αθηνών στο επιστημονικό πεδίο του καρκίνου του μαστού (από 23 Μαρτίου 2016 έως σήμερα).
- Ιατρός, Πτυχιούχος Ιατρικής Σχολής Θεσσαλονίκης Α.Π.Θ., Βαθμός Πτυχίου: «Λίαν Καλώς», έτος κτήσης: 2016.
- Κάτοχος M.Sc, Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης «Περιβάλλον & Υγεία- Διαχείριση Περιβαλλοντικών Θεμάτων με Επιπτώσεις στην Υγεία», Ιατρική Σχολή Παν/μιου Αθηνών. Βαθμός Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης: «Λίαν Καλώς», έτος κτήσης: 2011.
- Κάτοχος M.Sc, Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης «Μοριακή Ιατρική», Κατεύθυνση «Προηγμένη Μοριακή Διαγνωστική», Ιατρική Σχολή Παν/μιου Αθηνών. Βαθμός Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης: «Λίαν Καλώς», έτος κτήσης: 2009.
- Πτυχιούχος Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων Ανώτατου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Αθήνας (Τ.Ε.Ι. Αθήνας), B.Sc, Σχολή Επιστημών Υγείας & Πρόνοιας, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων. Βαθμός Πτυχίου: «Άριστα 8,96», έτος κτήσης: 2005.
- Πιστοποιητικό Επιμόρφωσης: Πιστοποιητικό Επιμόρφωσης Τμήματος Οικονομικών Πανεπιστημίου Αθηνών, με τίτλο: «Pre-Medical Management Programme» (2019).
- Πιστοποιητικό Επιμόρφωσης «Η Ιατρική μέσα από το Μικροσκόπιο» (7 Μαΐου 2018), με γενικό βαθμό: «Άριστα», Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Πιστοποιητικό Επιμόρφωσης Εκπαιδευτικού Προγράμματος με τίτλο: «Εκπαίδευση Εκπαιδευτών Ενηλίκων: Πρόγραμμα Ολοκληρωμένης Εκπαίδευσης και άσκησης με μικροδιδασκαλίες» (20 Απριλίου 2017), με γενικό βαθμό: «Άριστα», Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Απολυτήριο Ενιαίου Λυκείου: 1^ο Ενιαίο Λύκειο Παπάγου, Κατεύθυνση: Θετική, έτος αποφοίτησης: 2000.

Ξένες Γλώσσες:

-Αγγλική Γλώσσα: Άριστη γνώση. Γερμανική Γλώσσα: Πολύ καλή γνώση.

Συμμετοχή σε Ερευνητικά προγράμματα:

1. Εκτέλεση PCR μεθόδου σε δείγματα τραχήλου μήτρας, επιλογή primers, εκτέλεση εργαστηριακών δοκιμασιών, ως μέλος Ερευνητικής Ομάδας, στα πλαίσια του Ερευνητικού Προγράμματος με τίτλο: «**Μοριακή Τυποποίηση ιών HPV σχετιζόμενων με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και συσχέτιση με ογκογονίδια και άλλες λοιμώξεις. Ολοκληρωμένη έρευνα**», 1/7/2006-30/9/2006, Τ.Ε.Ι.-Αθήνας/ Επιτροπή Εκπαίδευσης & Ερευνών/ Ειδικός Λογαριασμός Κονδυλίων Έρευνας/ Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Ερευνητικό Πρόγραμμα: «**Αθηνά 2004**».
2. Μέλος Ερευνητικής Ομάδας, (συλλογή-εργαστηριακή επεξεργασία βιολογικών δειγμάτων, διανομή και συλλογή δομημένων ερωτηματολογίων του ερευνητικού έργου, στατιστική επεξεργασία και ανάλυση των δεδομένων) του Ερευνητικού Προγράμματος με τίτλο: «**Διερεύνηση του επιπολασμού των ανθρωπίνων θηλωματοϊών (HPV) στη στοματική κοιλότητα και το στοματοφάρυγγα σε Ελληνικό πληθυσμό**». Μάρτιος 2014-Φεβρουάριος 2016 (διάρκεια: 2 έτη), Επιτροπή Ερευνών Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, αρ. έγκρισης ερευνητικού έργου: 90922.
 - Επιστημονικές Δημοσιεύσεις σε Διεθνή Περιοδικά & Εκπαιδευτικά Ιδρύματα με κριτές:70, h-index: 10, i10-index: 10, Συνολικά citations: 419.
 - Δημοσιεύσεις-Παρουσιάσεις σε Πρακτικά Πανελληνίων – Διεθνών – Πανευρωπαϊκών Επιστημονικών Συνεδρίων-Συνεχιζόμενη Ιατρική Εκπαίδευση: Άνω των 100 ομιλιών-παραουσιάσεων-αναρτημένων ανακοινώσεων σε συνέδρια. Περισσότερα από 400 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης, Πρόεδρος και μέλος Οργανωτικών και Επιστημονικών Επιτροπών σε αρκετά Πανελλήνια και Ευρωπαϊκά Συνέδρια.
 - Βραβεύσεις Επιστημονικών Συνεδρίων-Τιμητικές Διακρίσεις-Έπαινοι: 32
 - Παρακολούθηση Πανελληνίων-Πανευρωπαϊκών-Παγκόσμιων Συνεδρίων Ημερίδων-Σεμιναρίων: Άνω των 200.

➤ **Οργανωτικές / διαχειριστικές δεξιότητες:**

- ✓ Μέλος Επιστημονικού Συμβουλίου ΓΝΑ «Λαϊκό», από το έτος: 2021-σήμερα.
- ✓ Αν. Μέλος Δ.Σ. Π.Ν.Α. «Σπηλιοπούλειο-Η Αγία Ελένη, από 12/2/2021-σήμερα (αριθμ. Γ4β/Γ.Π.οικ.:7978).
- ✓ Μέλος Επιτροπής Εκπαίδευσης Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών από 1^ο/2023-σήμερα (<https://www.isathens.gr/images/eggrafa/EPITROPES ISA 2023.pdf>)
- ✓ Μέλος Επιτροπής Ειδικευομένων Ελληνικής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας από τον 5^ο/2023-σήμερα.
- ✓ Αν. Μέλος Δ.Σ. Γενικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης «Ιπποκράτειο» για τη 2ετία 2014-2016 (ΦΕΚ: 465/1 Αυγούστου 2014, αρ. πρωτ. απόφασης Υπουργείου Υγείας: ΔΥ1δ/Γ.Π.20006).
- ✓ Τακτικό μέλος Δ.Σ. Δημοτικού Οργανισμού Πολιτισμού, Αθλητισμού & Περιβάλλοντος Δήμου Παπάγου-Χολαργού (ΔΟΠΑΠ), (Οκτώβριος 2016-Μάρτιος 2017).
- ✓ Αντιπρόεδρος Γ' Ελληνικής Εταιρείας Έρευνας για την Πρόληψη του Καρκίνου (ΕΕΕΠΚΑ), ΑΜΚΕ (<https://www.cprgreece.org/>).
- ✓ τ. Πρόεδρος-Γενικός Γραμματέας Πανελλήνιας Επιστημονικής Ένωσης Τεχνολόγων Ιατρικών Εργαστηρίων (ΠΕΤΙΕ).
- ✓ Μέλος Εκτελεστικής Επιτροπής (Διοίκησης) Εθνικού Συμβουλίου Νεολαίας (Ε.ΣΥ.Ν.).
- ✓ Πρόεδρος-μέλος Οργανωτικών και μέλος Επιστημονικών Επιτροπών διαφόρων ελληνικών και ευρωπαϊκών επιστημονικών Συνεδρίων.

➤ **Ειδικές Γνώσεις- Γνώσεις Η/Υ:**

- Πτυχίο αναγνωρισμένου Καθηγητή της Microsoft (Microsoft Office Specialist Master Instructor). Πτυχίο Master Πληροφορικής, Microsoft Office User Specialist Master. Πτυχίο αναγνωρισμένου Καθηγητή της Certiport (IC³ Authorized Instructor) στις εφαρμογές Η/Υ και στο Διαδίκτυο.
- 2 Διπλώματα αναγνωρισμένου παροχέα βασικής καρδιοαναπνευστικής αναζωογόνησης και αυτόματης εξωτερικής απινίδωσης (BLS-AED PROVIDER) από το Ευρωπαϊκό Συμβούλιο Καρδιοπνευμονικής Αναζωογόνησης, 2005 & 2013.

- Πιστοποιητικό επιμόρφωσης στον καρκίνο του μαστού, Yale University USA, 2017.
 - Πιστοποιητικό επιμόρφωσης στον ιό Zika, London School of Hygiene & Tropical Medicine, 2016.
- **Τακτικό μέλος 11 Πανελληνίων Επιστημονικών Εταιρειών:**
- τ. Πρόεδρος Δ.Σ. Πανελλήνιας Ένωσης Τεχνολόγων Ιατρικών Εργαστηρίων (ΠΕΤΙΕ) για τη 2ετία: 2020-2022, Πρόεδρος Επιστημονικής Επιτροπής της ΠΕΤΙΕ: «Μοριακής Βιολογίας- Γενετικής - Αναγεννητικής Ιατρικής».
 - Εκπρόσωπος της Ελλάδας στην Ευρωπαϊκή Ένωση Βιοϊατρικών Επιστημόνων (EPBS), από το 2015 έως σήμερα.
 - Τακτικό μέλος Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών
 - Δόκιμο μέλος Ελληνικής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας
 - Αντεπιστέλλον μέλος της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας.
 - Τακτικό μέλος Ελληνικής Εταιρείας Τοξικολογίας, Ελληνικής Εταιρείας Φαρμακολογίας, Ελληνικής Ιατρικής Εταιρείας μελέτης Ψυχοσωματικών προβλημάτων, Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Εξαρτησιογόνων Ουσιών (ΕΕΜΕΟ), Ελληνικής Εταιρείας Δεικτών Καρκίνου και Στοχευμένης Θεραπείας, Επιστημονικής Εταιρείας Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος, Επιστημονικού Συλλόγου Νέων Ιατρών Ελλάδος, Ελληνικής Εταιρείας Ιολογίας.
- **Κοινωνική δραστηριότητα:**
1. Μέλος Διοίκησης Εθνικού Συμβουλίου Νεολαίας (ΕΣΥΝ).
 2. Τακτικό μέλος Ελληνικού Ερυθρού Σταυρού (Παράρτημα: Παπάγου-Χολαργού)
 3. Διευθυντής Επιμόρφωσης του Ελληνικού Οργανισμού κατά της Διαφθοράς από το 2016 έως σήμερα (<http://www.hellenicanticorruption.org/>).
 4. Εθελοντής Αιμοδότης-Εθελοντής Δότης Αιμοπεταλίων.
 5. Επίσημος Συνοδός ομογενών ανηλίκων παιδιών Γενικής Γραμματείας Αποδήμου Ελληνισμού, Υπουργείο Εξωτερικών, 2008-2009.
 6. Εθελοντής Ολυμπιακών & Παραολυμπιακών Αγώνων της Αθήνας, «Αθήνα 2004».
 7. Εθελοντής «Γιατρών του Κόσμου».

8. Τακτικό μέλος Δ.Σ. Συλλόγου Φοιτητών Ιατρικής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (ΣΦΙΑΠΘ) & Τακτικό μέλος Γενικής Συνέλευσης Τμήματος Ιατρικής Θεσσαλονίκης.

9. Τακτικό μέλος Συλλόγου Αποφοίτων Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Λοιπές δεξιότητες:

- ✓ Ιατρική κάλυψη αθλητικών εκδηλώσεων.
- ✓ Πεζοπορία, κολύμβηση, ποδόσφαιρο, επεξεργασία φωτογραφίας.

Πρόσφατες επιστημονικές δημοσιεύσεις:

- 1) Bougea A, Georgakopoulou VE, Lempesis IG, Fotakopoulos G, **Papalexis P**, Sklapani P, Trakas N, Spandidos DA, Angelopoulou E. Role of microRNAs in cognitive decline related to COVID-19 (Review). *Exp Ther Med*. 2024 Feb 14;27(4):139. doi: 10.3892/etm.2024.12427.
- 2) Korkontzelos I, Kyrochristou G, Stefanou S, Spyropoulou K, Mpourazanis G, Theodorou DJ, Papanikolaou A, Korkontzelou PD, Georgakopoulou VE, **Papalexis P**. Splenic Rupture in an Elective Cesarean Section: A Possible Iatrogenic Event. *Cureus*. 2023 Nov 7;15(11):e48478. doi: 10.7759/cureus.48478.
- 3) Lempesis IG, Georgakopoulou VE, **Papalexis P**, Chrousos GP, Spandidos DA. Role of stress in the pathogenesis of cancer (Review). *Int J Oncol*. 2023 Nov;63(5):124. doi: 10.3892/ijo.2023.5572.
- 4) Georgakopoulou VE, Mathioudakis N, **Papalexis P**, Aravantinou-Fatorou A, Tarantinos K, Sklapani P, Trakas N, Spandidos DA, Fotakopoulos G. Factors related to morbidity and mortality of meningiomas resection-associated venous thromboembolism (Review). *Mol Clin Oncol*. 2023 Jul 19;19(3):70. doi: 10.3892/mco.2023.2666.
- 5) Mathioudakis N, Georgakopoulou VE, Paterakis K, **Papalexis P**, Sklapani P, Trakas N, Spandidos DA, Fotakopoulos G. Effect of circulating miR-126 levels on intracranial aneurysms and their predictive value for the rupture of aneurysms: A systematic review and meta-analysis. *Exp Ther Med*. 2023 Jul 10;26(2):411. doi: 10.3892/etm.2023.12110.
- 6) Mytareli C, Ziogas DC, Karampela A, **Papalexis P**, Siampanopoulou V, Lafioniatis A, Benopoulou O, Gogas H, Angelousi A. The Uncharted Landscape

- of Rare Endocrine Immune-Related Adverse Events. *Cancers (Basel)*. 2023 Mar 28;15(7):2016. doi: 10.3390/cancers15072016.
- 7) Lempesis IG, Karlafti E, **Papalexis P**, Fotakopoulos G, Tarantinos K, Lekakis V, Papadakos SP, Cholongitas E, Georgakopoulou VE. COVID-19 and liver injury in individuals with obesity. *World J Gastroenterol*. 2023 Feb 14;29(6):908-916. doi: 10.3748/wjg.v29.i6.908.
 - 8) Fotakopoulos G, Georgakopoulou VE, Spandidos DA, **Papalexis P**, Angelopoulou E, Aravantinou-Fatorou A, Trakas N, Trakas I, Brotis AG. Role of miR-200 family in brain metastases: A systematic review. *Mol Clin Oncol*. 2023 Jan 25;18(3):15. doi: 10.3892/mco.2023.2611.
 - 9) Taskou C, Sarantaki A, Beloukas A, Georgakopoulou VE, Daskalakis G, **Papalexis P**, Lykeridou A. Knowledge and Attitudes of Healthcare Professionals Regarding Perinatal Influenza Vaccination during the COVID-19 Pandemic. *Vaccines (Basel)*. 2023 Jan 12;11(1):168. doi: 10.3390/vaccines11010168.
 - 10) Angelousi A, **Papalexis P**, Karampela A, Marra M, Misthos D, Ziogas D, Gogas H. Diabetes insipidus: A rare endocrine complication of immune check point inhibitors: A case report and literature review. *Exp Ther Med*. 2022 Nov 16;25(1):10. doi: 10.3892/etm.2022.11709.
 - 11) Karlafti E, Paramythiotis D, Pantazi K, Georgakopoulou VE, Kaiafa G, **Papalexis P**, Protopapas AA, Ztriva E, Fyntanidou V, Savopoulos C. Drug-Induced Liver Injury in Hospitalized Patients during SARS-CoV-2 Infection. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Dec 15;58(12):1848. doi: 10.3390/medicina58121848.
 - 12) Georgakopoulou VE, Makrodimitri S, Triantafyllou M, Samara S, Voutsinas PM, Anastasopoulou A, Papageorgiou CV, Spandidos DA, Gkoufa A, **Papalexis P**, Xenou E, Chelidonis G, Sklapani P, Trakas N, Sipsas NV. Immature granulocytes: Innovative biomarker for SARS-CoV-2 infection. *Mol Med Rep*. 2022 Jul;26(1):217. doi: 10.3892/mmr.2022.12733.

Εισαγωγή:

Ο καρκίνος του μαστού είναι σοβαρή και δυνητικά θανατηφόρα νόσος και είναι η πιο συχνή κακοήθεια στο γυναικείο πληθυσμό. Η νόσος στον γυναικείο πληθυσμό εμφανίζει επίπτωση 26% (182.480 καινούρια περιστατικά καρκίνου του μαστού ανά έτος στις Η.Π.Α.) του συνόλου των νέων περιπτώσεων με κακοήγη νεοπλασία και θνησιμότητα 15%, αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη αιτία των θανάτων από κακοήθεις νεοπλασίες στις γυναίκες της μέσης ηλικίας, ενώ αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου στις ηλικίες των 40-44 ετών (Jemal A, et al. 2008).

Στην Ελλάδα, αντιμετωπίζονται περίπου 4.000 νέες περιπτώσεις καρκίνου του μαστού κάθε χρόνο. Η επίπτωση του καρκίνου του μαστού αυξάνει με την ηλικία, με εντονότερο ρυθμό αύξησης στην ηλικία των 45-55 ετών και ηπιότερο στις επόμενες δεκαετίες (WHO-IARC, 2008).

Στην Ευρώπη, η επίπτωση του καρκίνου του μαστού παρουσιάζει αυξητικές τάσεις από το 1960 και μετά, κυρίως σε γυναίκες 50-69 ετών. Το φαινόμενο της αύξησης της επίπτωσης του καρκίνου του μαστού αποδίδεται στην ευρεία εφαρμογή της μαστογραφίας, ως προσυμπτωματικού ελέγχου και στην καθιέρωση της χρήσης ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης από μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Hery C., Ferlay J., Boniol M., Autier P. 2008).

Στην πλειονότητα των Ευρωπαϊκών χωρών, η θνησιμότητα από καρκίνο του μαστού παρουσίαζε αυξητικές τάσεις μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1980- αρχές 1990. Στη συνέχεια, η θνησιμότητα άρχισε να μειώνεται στις περισσότερες Ευρωπαϊκές χώρες, ως αποτέλεσμα της ευρείας εφαρμογής του προσυμπτωματικού ελέγχου και της αποτελεσματικότερης θεραπείας του καρκίνου του μαστού.

Στην Ελλάδα, για το έτος 2006, η σταθμισμένη για την ηλικία επίπτωση του καρκίνου του μαστού είναι 81,8/100.000 και η σταθμισμένη για την ηλικία θνησιμότητα 21,7/100.000 (Ferlay J., Autier P., Boniol M., Heanue M., Colombet M., Boyle P. 2007).

Εδραιωμένοι κλινικοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού θεωρούνται το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου, η διήθηση ή όχι στους λεμφαδένες, ο ιστολογικός τύπος και ο βαθμός ιστολογικής διαφοροποίησης καθώς και η διήθηση αιμοφόρων αγγείων ή λεμφαγγείων κατά την αρχική μικροσκοπική εξέταση του πρωτοπαθούς όγκου (Ζαφράκας, et al., 2009).

Οι νεότεροι μοριακοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού διακρίνονται με βάση τα βιολογικά χαρακτηριστικά που προσδίδουν στον πρωτοπαθή

όγκο. Η ανίχνευση με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας τεσσάρων δεικτών, των υποδοχέων οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR), της ογκοπρωτεΐνης HER2 (c-erbB2) και του Ki67 (MIB1), είναι αναπόσπαστο στοιχείο της διαγνωστικής Παθολογικής Ανατομικής (Hammond & Hayes, 2010).

Από τους δείκτες αυτούς, ο περισσότερο εδραιωμένος είναι η υπερέκφραση του γονιδίου ERBB2 ή HER2. Κύρια δράση του αποτελεί, η προαγωγή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και η υπερέκφραση πρωτεϊνών που ελέγχουν τη διηθητική και μεταστατική ικανότητα του πρωτοπαθούς όγκου (Ζαφράκας, et al., 2009). Η μοριακή ταξινόμηση της νόσου έγινε με βάση τη γονιδιακή έκφραση, σε τέσσερις υποτύπους και προκύπτει από συνδυασμούς των βιοδεικτών ER, PR και HER2, (Bettaieb, et al., 2017).

Το καρκίνωμα του μαστού διαιρείται ιστολογικά σε δύο κύριες κατηγορίες: καρκίνωμα *in situ*, όπου εμπλέκεται μόνο το επιθηλιακό στοιχείο του οργάνου και το διηθητικό καρκίνωμα, όπου υφίσταται διάσπαση της βασικής μεμβράνης και διήθηση του υποκείμενου υποστρώματος. Οι δύο κατηγορίες καρκίνου του μαστού, *in situ* και διηθητικό, υφίστανται περαιτέρω υποδιαίρεση σε πορογενές καρκίνωμα και λοβιακό καρκίνωμα. Οι όροι αυτοί υποδηλώνουν ότι ο όγκος εξορμάται από τους πόρους ή από τα λόβια του μαστού, αντιστοίχως. Όμως, πολλές μελέτες δείχνουν ότι και οι δύο τύποι καρκινώματος του μαστού (πορογενές και λοβιακό) εξορμούνται από την τελική πορολοβιακή μονάδα (Harris JR, Lippman ME, Veronesi U, Willett W. 1992) και ότι οι όροι πορογενές και λοβιακό υποδηλώνουν όχι την προέλευση του όγκου, αλλά την επικρατούσα αρχιτεκτονική των κυττάρων του όγκου.

Ο πιο συχνός ιστοπαθολογικός τύπος του καρκίνου του μαστού είναι το διηθητικό πορογενές καρκίνωμα. Το 75% των διηθητικών πορογενών καρκινωμάτων χαρακτηρίζονται ως πορογενή καρκινώματα μη ειδικού τύπου - NST (no specific type). Ο δεύτερος πιο συχνός επιθηλιακός τύπος είναι το διηθητικό λοβιακό καρκίνωμα, το οποίο απαντάται στο 5-15% των περιπτώσεων με καρκίνο του μαστού (Yerushalmi R, Hayes MM, Gelmon KA. 2009).

Το πιο διαδεδομένο σύστημα ταξινόμησης του καρκίνου του μαστού σήμερα συνδυάζει ιστομορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως ο ιστολογικός τύπος, ο βαθμός διαφοροποίησης και το σύστημα TNM (tumor, node, metastasis). Το σύστημα TNM περιλαμβάνει τρεις παράγοντες: το μέγεθος του όγκου (T), τον αριθμό των λεμφαδένων που παρουσιάζουν διήθηση (N) καθώς και την ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων (M), (Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 2004, Sobin LH, Gospodarowicz MK,

Wittekind CH. 2009). Τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στο ανοσοϊστοχημικό και γενετικό προφίλ των καρκινωμάτων του μαστού. Ως εκ τούτου, μαζί με την κλασική ιστολογική εξέταση και τον προσδιορισμό του σταδίου της νόσου, με βάση την ταξινόμηση κατά TNM, η ανοσοϊστοχημική και πολλές φορές και η γενετική ταξινόμηση αποτελεί σήμερα σημαντικό μέρος της διάγνωσης και της θεραπευτικού πλάνου αντιμετώπισης (Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind CH. 2009).

Η πρόγνωση στον καρκίνο του μαστού εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τη διασπορά της νόσου, τη στιγμή της διάγνωσης και από την επιθετικότητα του όγκου, η οποία προσδιορίζεται από την έκφραση πολλών και εν πολλοίς γενετικά καθορισμένων χαρακτηριστικών του κακοήθους κυττάρου (Rampaul, et al., 2001).

Κριτήρια που έχουν προταθεί για να αποκτήσει κλινική σημασία σαν προγνωστικός δείκτης ένας μοριακός, βιολογικός παράγοντας είναι τα εξής: (Yamauchi, et al., 2001)

- ❖ Να υπάρχει βιολογική συσχέτιση (μηχανισμός),
- ❖ Να είναι αναπαραγώγιμος σε διαφορετικά εργαστήρια,
- ❖ Να έχει πιστοποιηθεί σε μεγάλες προοπτικές μελέτες,
- ❖ Να έχει πιστοποιηθεί από άλλους ανεξάρτητους ερευνητές,
- ❖ Να υπάρχουν ξεκάθαρα αξιόπιστα όρια.

Στην προσπάθεια εξατομίκευσης της πρόγνωσης και σχεδιασμού της καταλληλότερης επικουρικής θεραπείας, κατέστη αναγκαία η αναζήτηση βιολογικών δεικτών ικανών να προβλέψουν με ασφάλεια, τη μακροπρόθεσμη ανταπόκριση των γυναικών αυτών στη θεραπευτική αγωγή και να ανιχνεύσουν τις ασθενείς υψηλού κινδύνου υποτροπής και διηθητικής ή μεταστατικής νόσου. **Οι βιολογικοί δείκτες αντανακλούν 2 παραμέτρους: τον προγνωστικό και τον προβλεπτικό παράγοντα.**

Προγνωστικός παράγοντας (prognostic factor) είναι ένας ικανός παράγοντας να δώσει πληροφορίες για την κλινική πορεία της νόσου, κατά τη στιγμή της διάγνωσης, ασχέτως με τη θεραπεία που θα ακολουθηθεί. Τα τελευταία χρόνια, σημαντικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανεύρεση των δεικτών πρόβλεψης (προβλεπτικοί παράγοντες), οι οποίοι είναι παράγοντες που υποδηλώνουν την πιθανότητα ανταπόκρισης του όγκου σε συγκεκριμένους χημειοθεραπευτικούς χειρισμούς (Σκόπα Χ. 2002, Gasparini G, Pozza F, Harris A. 1993).

Οι βιολογικοί δείκτες αποτελούν προϊόντα γενετικών ή και βιοχημικών μεταβολών, που μπορεί να ανιχνευθούν με τη βοήθεια της σύγχρονης τεχνολογίας, με την εφαρμογή βιοχημικών, ανοσοϊστοχημικών, ανοσοκυτταροχημικών και μοριακών μεθόδων, όπως

in situ υβριδισμός, φθορίζοντας in situ υβριδισμός (FISH ή CISH), τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), Southern and Northern Blotting ανάλυση, τεχνικές ποσοτικής και αναλυτικής κυτταρολογίας και την προσφάτως αναπτυχθείσα τεχνική των μικροσυστοιχιών του DNA (DNA-microarrays).

Το ενδιαφέρον για την αντιμετώπιση των ασθενών καρκίνο μαστού αυξάνει καθημερινά, με την εφαρμογή στην καθ' ημέρα πράξη κλασσικών παραμέτρων, αλλά και νέων βιοχημικών και μοριακών δεικτών.

Σκοπός διδακτορικής διατριβής:

Σκοπός της εργασίας είναι, η πλήρης στατιστική επιδημιολογική μελέτη της συσχέτισης των καθιερωμένων βασικών ανοσοϊστοχημικών δεικτών του καρκίνου του μαστού με τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους κάθε ασθενούς και η διερεύνηση της προγνωστικής αξίας αυτών των ανοσοϊστοχημικών δεικτών στον καρκίνο του μαστού. Στόχος είναι η εξαγωγή χρήσιμων και ασφαλών επιδημιολογικών συμπερασμάτων για τα κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά περιστατικών καρκίνου μαστού από μεγάλο δείγμα πληθυσμού, πανεπιστημιακού αρχειακού υλικού, από το Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής Αθηνών.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1^ο: Ανατομία-Φυσιολογία-Ιστολογία μαστού

1.1 Ανατομία του μαστού

Η ανατομία του ενήλικου γυναικείου μαστού περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Cooper, το 1840 και απεικονίζεται στην εικόνα 1 (Polyak K, 2007).

Ο μαστός αποτελεί έναν τροποποιημένο αποκρινή ιδρωτοποιό αδένα του δέρματος, ο οποίος αναπτύσσεται από τη μαστική ακρολοφία του εμβρύου και παράγει γάλα κατά τη γαλουχία. **Ο μαστός της ενήλικης γυναίκας, είναι ένας τροποποιημένος κυψελοειδής αδένας** (Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 2004)

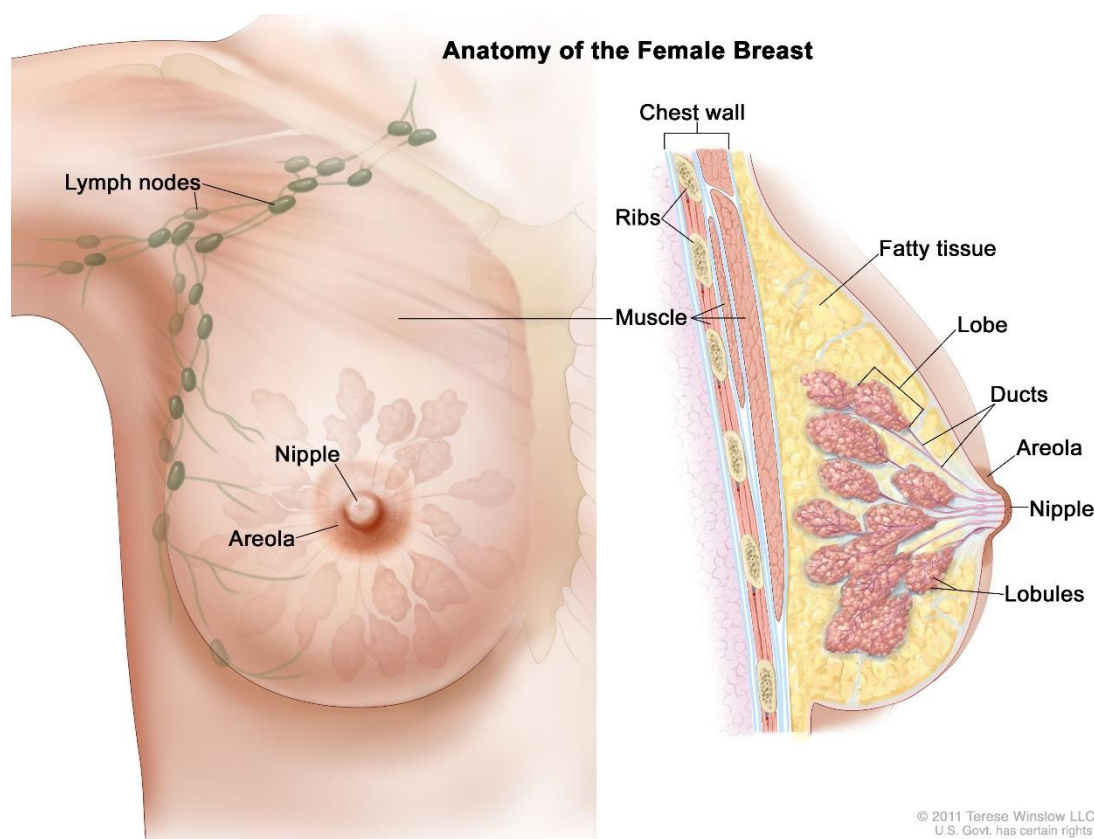
Ο μαστός, ως αδένας, αποτελείται κυρίως από δύο τύπους ιστών: το λιπώδη και τον αδενικό ιστό, με την επιφανειακή περιτονία να χωρίζεται από το δέρμα με 0.5–2.5 cm υποδόριου λίπους. Επιπλέον, στο μαστό υπάρχουν και οι ανασταλτικοί σύνδεσμοι Cooper, οι οποίοι αποτελούν το συνδετικό ιστό που εκτείνεται από την επιφανειακή περιτονία και ενώνει το μαζικό αδένα με το δέρμα που ευρίσκεται πάνω από αυτόν. Ας σημειωθεί ότι οι σύνδεσμοι Cooper παρέχουν υποστήριξη στους μαστούς και βοηθούν τους μαστούς να διατηρήσουν το σχήμα τους.

Ο ενήλικος μαστός αποτελείται από 15–25 λοβούς που ο καθένας εκβάλλει με δικό του εκφορητικό πόρο στη θηλή. Με τη σειρά του, κάθε λοβός υποδιαιρείται σε 20–40 λόβια με 10-100 αδενοκυψέλες έκαστο, οι οποίες καλούνται τελικές μονάδες των λοβίων και των πόρων (Terminal Ductal Lobular Units, TDLUs) και παράγουν το λιπαρό μητρικό γάλα, που αποτελεί την τροφή των νεογνών (εικόνα 1). Κάθε λόβιο χωρίζεται από τα άλλα, από πυκνό συνδετικό ιστό με άφθονο λίπος και αποτελεί ένα ξεχωριστό αδένα με το δικό του εκκριτικό γαλακτοφόρο πόρο. Οι γαλακτοφόροι πόροι, είναι μεγέθους 2.0 – 4.5 mm και περιβάλλονται με πυκνό συνδετικό ιστό που υποστηρίζει τους αδένες.

Το γάλα εξέρχεται από το μαστό μέσω της θηλής, η οποία περιβάλλεται από μία χρωματισμένη περιοχή του δέρματος που καλείται θηλαία άλως.

Η θηλαία άλως περιέχει σμηγματογόνους αδένες, γνωστοί ως αδένες Μοντγκόμερι, οι οποίοι εκκρίνουν λιπαρό υγρό που λιπαίνει και προστατεύει τη θηλή κατά τη διάρκεια του θηλασμού (Mescher A, 2017, https://www.medicinenet.com/breast_anatomy/article.htm). Επίσης, οι πτητικές ενώσεις αυτών των εκκρίσεων χρησιμεύουν ως οσφρητικό ερέθισμα για τη διέγερση της όρεξης του νεογέννητου (Doucet S, et al. 2009).

Οι διαστάσεις και το βάρος του μαστού ποικίλλουν μεταξύ των γυναικών. Ένας μαστός μικρού έως μεσαίου μεγέθους ζυγίζει έως 500 γραμμάρια και ένας μαστός μεγάλου μεγέθους μπορεί να ζυγίζει περίπου 750 έως 1.000 γραμμάρια ή ακόμη περισσότερο. Επιπλέον, οι αναλογίες της σύστασης των ιστών του μαστού (αδενικός, λιπώδης, συνδετικός ιστός) ποικίλλουν μεταξύ των γυναικών και καθορίζουν τη σταθερότητά του. Κατά τη διάρκεια της ζωής μίας γυναίκας ο μαστός αλλάζει μέγεθος, σχήμα και βάρος, λόγω των ορμονικών αλλαγών που συμβαίνουν κατά την εφηβεία, τον εμμηνορρυσιακό κύκλο, την εγκυμοσύνη, το θηλασμό και την εμμηνόπαυση (Gompel A, Chaouat M, Hugol D, Forgez P, 2004).



Εικόνα 1. Ανατομία γυναικείου μαστού. Η θηλή και η θηλαία άλω φαίνονται στο εξωτερικό τμήμα του μαστού. Επίσης, εμφανίζονται οι λεμφαδένες, οι λοβοί, τα λόβια, οι πόροι και άλλα μέρη του εσωτερικού τμήματος του μαστού (<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/breast>).

Οι περισσότεροι καρκίνοι του μαστού αναδύονται στο επιθήλιο των γαλακτοφόρων πόρων. Το επιθήλιο των ανθρώπινων μαστών είναι παρών από την 14^η εβδομάδα της κύησης και αποτελείται κυρίως από δύο τύπους κυττάρων: τα αυλικά επιθηλιακά κύτταρα που περιβάλλουν στον αυλό των πόρων και των λοβίων και τα βασικά/

μυοεπιθηλιακά κύτταρα που επενδύουν τη βασική μεμβράνη (Petersen OW, Polyak K, 2010). Στους πόρους, τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα σχηματίζουν ένα συνεχές στρώμα που εντοπίζεται σε στενή επαφή με τη βασική μεμβράνη, ενώ στις κυψελίδες, ο αυλός των επιθηλιακών κυττάρων ευρίσκεται σε άμεση επαφή με τη βασική μεμβράνη (Deugnier MA, et al. 2002).

Οι δείκτες κυτταρικής επιφάνειας, οι οποίοι είναι ειδικοί για τα αυλικά και μυοεπιθηλιακά κύτταρα παρατίθενται στον πίνακα 1 (Haakensen VD, 2011).

Πίνακας 1. Δείκτες γονιδιακής έκφρασης για την αναγνώριση διαφορετικών κυτταρικών τύπων του μαζικού αδένα (Haakensen VD, 2011)

Κυτταρικός τύπος	Δείκτης επιφάνειας	Συντομογραφία
Αυλικά επιθηλιακά κύτταρα	Μουκίνη-1 B3-ιντεγκρίνη Κυτταροκερατίνες 7,8,18,19	MUC1/EMA ITGB3/CD61 K7, K8, K18, K19
Μυοεπιθηλιακά κύτταρα	A-ακτίνη λειών μυϊκών ινών Αντιγόνο κοινής οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας A6-ιντεγκρίνη Κυτταροκερατίνες 5 και 14 Βιμεντίνη	SMA CALLA/ CD10/ MME ITGA6/ CD49f K5, K14, VIM
Βλαστικά κύτταρα μαζικού ιστού	Κυτταροκερατίνες 14 και 19, Σύμπλεγμα διαφοροποίησης 24 A6-ιντεγκρίνη B1-ιντεγκρίνη Αλδεϋδική δεϋδρογονάση 1	K19, K14 CD24 ITGA6/ CD49f ITGB1/ CD29 ALDH1

1.2 Φυσιολογία του μαστού

Ο μαστός είναι ένα δευτερογενές γεννητικό όργανο, του οποίου η κύρια λειτουργία είναι η παραγωγή και έκκριση μητρικού γάλακτος, δηλαδή της κύριας πηγής θρεπτικών συστατικών και αντισωμάτων για το νεογέννητο. Για τη σωστή ανάπτυξη του μαζικού αδένου, υπάρχουν πολλές διακριτές κατηγορίες σηματοδοτικών μορίων, οι οποίες ρυθμίζονται ορμονικά (Pohlodek, 2014).

Πιο συγκεκριμένα, ο μαστός δε μεταβάλλεται αισθητά κατά τον εμμηνορρυσιακό κύκλο, ενώ αναπτύσσεται ταχέως κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και διαφοροποιείται μετά τον τοκετό, κατά την περίοδο της γαλουχίας. Το στήθος επιστρέφει στο φυσιολογικό του μέγεθος, μετά τη γαλουχία σε μία πολύ λιγότερο διαφοροποιημένη κατάσταση, μέσω μίας πολύπλοκης διαδικασίας, η οποία συμβαίνει μετά από κάθε κύκλο εγκυμοσύνης, τοκετού και γαλουχίας.

Κατά την εμμηνόπαυση, μετά τη μείωση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης, ο μαστός υποχωρεί και μετατρέπεται σε μία σχεδόν προεφηβική δομή. Αυτές οι σύνθετες αναπτυξιακές διαδικασίες ελέγχονται από ένα συνδυασμό ορμονικής διέγερσης, αυξητικών παραγόντων και άλλων φυσικών στοιχείων που συνιστούν το μικροπεριβάλλον του μαζικού αδένου (Johnson MC and Cutler ML, 2016).

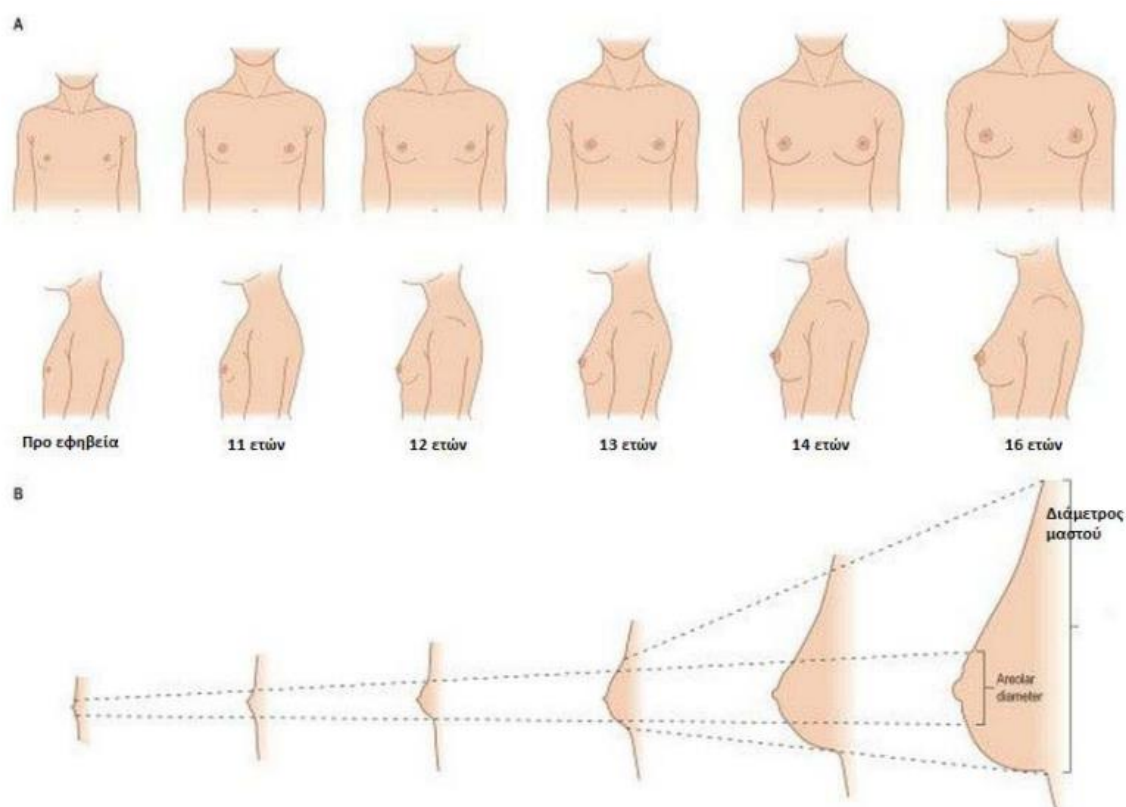
1.3 Ανάπτυξη μαστού κατά τη διάρκεια της ήβης

Πριν την εφηβεία, οι μαζικοί αδένες και των δύο φύλων αποτελούνται μόνο από γαλακτοφόρους κόλπους, κοντά στη θηλή, με πολύ μικρούς διακλαδιζόμενους πόρους που αναδύονται από αυτούς τους κόλπους. Στα θήλεα κατά την εφηβεία, μεγαλύτερα επίπεδα των κυκλοφορούντων οιστρογόνων προκαλούν την ανάπτυξη του μαστού, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση λίπους και την επιμήκυνση των πόρων.

Στις γυναίκες πριν την εγκυμοσύνη, κάθε λοβός του μαζικού αδένου αποτελείται από πολλά λόβια, που μερικές φορές ονομάζονται λοβιακές μονάδες τελικών πόρων (ΛΜΤΠ). Κάθε λόβιο περιέχει αρκετούς μικρούς διακλαδιζόμενους πόρους, αλλά οι εκκριτικές μονάδες που έρχονται σε επαφή, είναι μικρές και υποτυπώδεις.

Οι γαλακτοφόροι κόλποι επενδύονται από πολύστιβο κυβοειδές επιθήλιο και οι γαλακτοφόροι πόροι, καθώς και οι τελικοί πόροι από μονόστιβο κυβοειδές επιθήλιο που καλύπτεται από μυοεπιθηλιακά κύτταρα που έρχονται σε πολύ κοντινή επαφή. Το σύστημα των πόρων εισέρχεται σε χαλαρό αγγειώδη συνδετικό ιστό και ένας πυκνότερος, λιγότερο κυτταροβριθής συνδετικός ιστός χωρίζει τους λοβούς.

Στην προεμμηνορρυσιακή φάση του καταμήνιου κύκλου, ο συνδετικός ιστός του μαστού γίνεται κάπως οίδηματώδης, καθιστώντας το μαστό ελαφρώς μεγαλύτερο. Η θηλαία άλω ή δέρμα που καλύπτει τη θηλή, είναι λεπτό δέρμα με σηγματογόνους αδένες και αφθονία αισθητικών νευρικών ινών, σε συνέχεια του βλεννογόνου των γαλακτοφόρων κόλπων. Περιέχει περισσότερη μελανίνη από οποιοδήποτε άλλο σημείο του δέρματος του μαστού και γίνεται επιπλέον βαθυχρωματική κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Ο συνδετικός ιστός της θηλής είναι πλούσιος σε λείες μυϊκές ίνες που φέρονται παράλληλα με τους γαλακτοφόρους κόλπους και προκαλούν διέγερση της θηλής όταν ερεθιστούν (MescherA.2017).



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση των πέντε σταδίων ανάπτυξης των μαστών στην εφηβεία κατά Tanner (Shapiro SS, Krasnow JS. 2000).

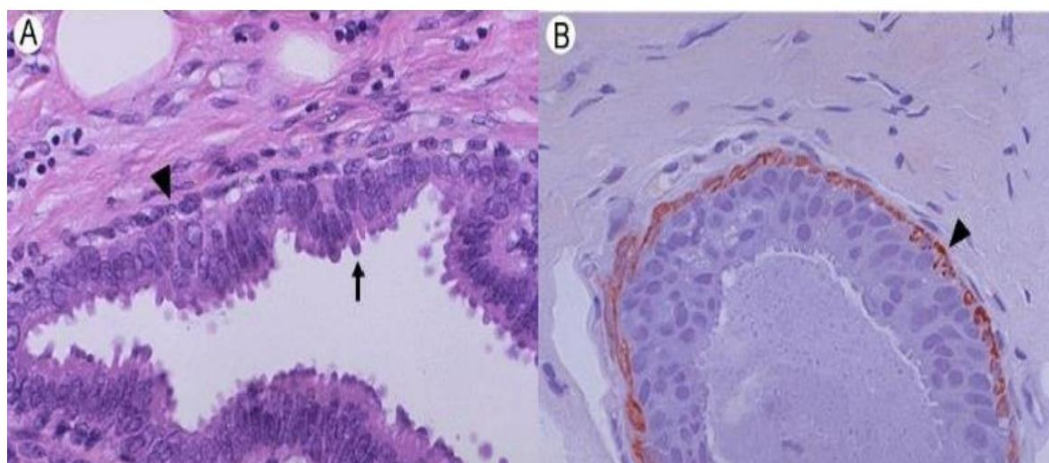
1.4 Ιστολογία μαστού

Οι μαζικοί αδένες διαθέτουν ιστολογική ποικιλία σύμφωνα με την ηλικία, το φύλο, αλλά και τη φυσιολογική κατάσταση. Οι λοβοί και τα λόβια καλύπτονται εξωτερικά από στιβάδα μυοεπιθηλιακών κυττάρων, ενώ εσωτερικά από στιβάδα κυλινδρικών και κυβοειδών κυττάρων. Ανάμεσα στα λόβια, το στρώμα που παρατηρείται είναι υποκυτταρικό και συντίθεται από ινολιπώδη ιστό. Από πολύστιβο κυβοειδές επιθήλιο

επενδύονται οι γαλακτοφόροι κόλποι, ενώ από μονόστιβο κυβοειδές οι γαλακτοφόροι πόροι (εικόνα 3). Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, παρατηρείται υπερπλασία του στρώματος των λοβίων, με αποτέλεσμα τα επιθηλιακά κύτταρα να έχουν άφθονο κυτταρόπλασμα με εκκριτικά κοκκία, καθιστώντας το ορμονοευαίσθητο. Η θηλή αποτελείται από πλούσιο σε λείες μυϊκές ίνες συνδετικό ιστό, ενώ η θηλαία άλω είναι άφθονη σε αισθητικές νευρικές ίνες (MescherA.2017).

1.5 Λειτουργία των μαστών

Οι μαστοί αποτελούν αδενικά όργανα ευαίσθητα στις ορμονικές αλλαγές του σώματος. Υιοθετούν κυκλικές αλλαγές σε συγχρονισμό με τον έμμηνο κύκλο (Jagannathan N, Sharma U. 2017). Είναι όργανο που αντιπροσωπεύει τη θηλυκότητα, ενώ συγχρόνως υπόκειται σε ποικίλες μορφολογικές και λειτουργικές μεταβολές που έχουν σχέση με την κύηση, τη γαλουχία, αλλά και την εμμηνόπαυση (Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU, 2017). Έχουν μοναδική θέση και λειτουργούν μόνο κατά την περίοδο της γαλουχίας (Muir's, 2019).



Εικόνα 3. Φυσιολογική Ιστολογία Μαστού. (Α) Φωτογραφία, με αρχική μεγέθυνση x100 και χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, φυσιολογικών λοβίων μαστού. Τα επιθηλιακά κύτταρα επενδύουν τον αυλό και επιδεικνύουν αποκρινή έκκριση με κυτταροπλασματικές εξωθήσεις (μύτη, βέλος). Ένα στρώμα μυοεπιθηλιακών κυττάρων (κεφαλή βέλους) φαίνεται δίπλα στα επιθηλιακά κύτταρα.

(Β) Φωτογραφία, με αρχική μεγέθυνση x100 και χρώση ανοσοϋπεροξειδάσης με αντισώματα κατά της ακτίνης, της στιβάδας των μυοεπιθηλιακών κυττάρων (κεφαλή βέλους), η οποία έχει συσταλτική λειτουργία και είναι ευαίσθητη στην ωκυτοκίνη (Jesinger RA. 2014)

1.6 Καλοήθειες αλλοιώσεις του μαστού

Οι πιο συχνές καλοήθειες αλλοιώσεις του μαστού διακρίνονται σε μη νεοπλασματικές, λοιμώδεις, μη-λοιμώδεις φλεγμονώδεις αλλοιώσεις και σε καλοήθειες όγκους. Η χρήση του όρου «καλοήθης» χρησιμοποιείται κλινικά για την υπόνοια μιας ειδικής παθολογοανατομικής οντότητας.

➤ Μη-νεοπλασματικές αλλοιώσεις

1) Ινοαδένωμα

Το ινοαδένωμα αποτελεί μια μη νεοπλασματική αλλοίωση του μαστού, συγκεκριμένα μια από τις πιο συχνές. Στις νεαρές γυναίκες κυρίως εμφανίζεται ως μια καλά περιγεγραμμένη μάζα παρά ως ένα ανεπτυγμένο αληθές νεόπλασμα. Μικροσκοπικά, παρατηρείται πολλαπλασιασμός του μεσολοβίδιου στρώματος που συνοδεύεται από ποικίλο αριθμό επιθηλιακών σωληναρίων ή σχισμών.

2) Ινοκυστική νόσος

Η πιο συχνή αλλοίωση του μαστού και είναι αποτέλεσμα αλλαγών στην ευαισθησία των επιπέδων των ορμονών. Παρατηρείται συνήθως σε γυναίκες ηλικίας 40-55 ετών με τη μορφή οζιδίου ή μιας ασαφούς καθορισμένης πάχυνσης. Μικροσκοπικά, παρατηρείται συνδυασμός σχηματισμού ίνωσης, κύστεων, αποκρινούς μετάπλασης, αλλά και πολλαπλασιασμού επιθηλιακών κυττάρων.

3) Σκληρυντική αδένωση

Αποτελεί αποδιοργανωμένο πολλαπλασιασμό των αδενοκυψελών και του στρώματος, ενώ συγχρόνως στις μαστογραφίες μπορεί να εμφανιστεί ως μικροασβεστώσεις και όχι ως μία μάζα. Επιπροσθέτως, μπορεί λανθασμένα να εκτιμηθεί ως διηθητικό καρκίνωμα.

➤ Λοιμώξεις

-Οξεία αποστηματώδης μαστίτιδα

Προκύπτει κυρίως κατά τη διάρκεια της γαλουχίας και είναι αποτέλεσμα λοίμωξης διαμέσου μιας εκδοράς της θηλής ή διαμέσου των πόρων. Αποτελεί σπάνια λοίμωξη, αλλά προκαλείται συχνά από σταφυλόκοκκους που έχουν αποικίσει στο στόμα του βρέφους που θηλάζει, συγκεκριμένα από το στέλεχος του χρυσίζοντος σταφυλόκοκκου. Σε περίπτωση μη αποτελεσματικής θεραπείας, υπάρχει πιθανότητα ανάπτυξης αποστήματος του μαστού, ενώ παράλληλα αν δεν θεραπευτεί επαρκώς, η οξεία αποστηματώδης μαστίτιδα μπορεί να γίνει χρόνια.

➤ **Μη-λοιμώδεις φλεγμονώδεις αλλοιώσεις**

1) Πορεκτασία

Είναι συχνά ασυμπτωματική και αγνώστου αιτιολογίας. Μπορεί να παραχθεί έκκριμα από τη θηλή και στο μικροσκόπιο παρατηρούνται διατεταμένοι πόροι με αφρώδη μακροφάγα ιστοκύτταρα που περιβάλλονται από χρόνια φλεγμονώδες διήθημα και περιπορική σκλήρυνση.

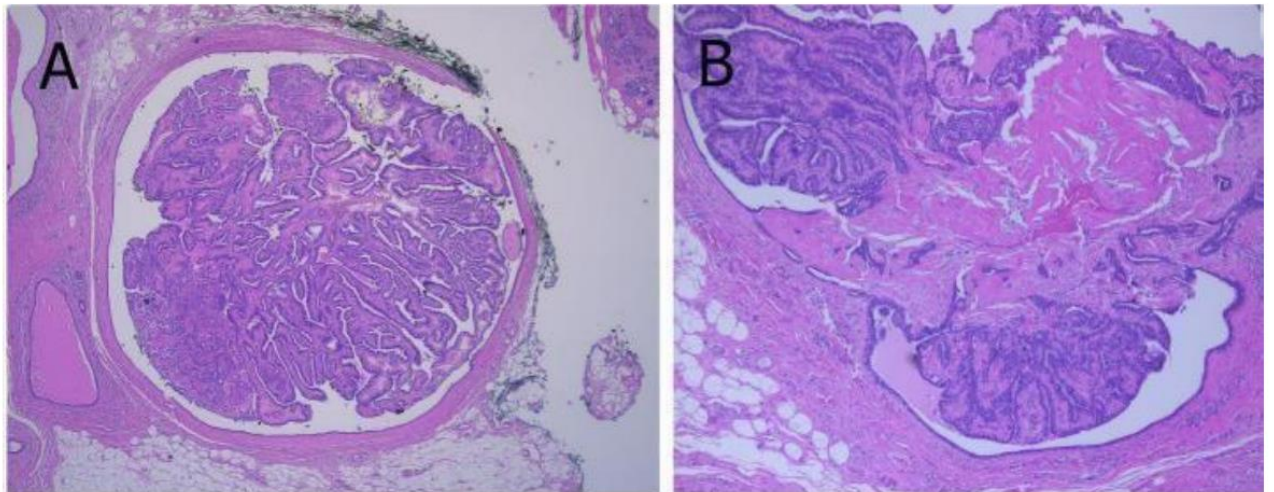
2) Τραυματική λιπονέκρωση

Προκαλείται κυρίως από κάκωση του λιπώδους ιστού του παρεγχύματος του μαστού και κλινικά συχνά εκλαμβάνεται λανθασμένα ως καρκίνωμα. Στο μικροσκόπιο, παρατηρείται κοκκιωματώδης αντίδραση στα απελευθερούμενα λιπίδια με επακόλουθη ίνωση.

➤ **Καλοήθεις όγκοι**

1) Θήλωμα

Συναντάται πιο συχνά σε γυναίκες μέσης ηλικίας και αποτελεί ένα καλοήθες νεόπλασμα. Μικροσκοπικά, παρατηρούνται θηλές με αγγειοσυνδετικούς άξονες που προβάλλουν στον αυλό του πόρου και επενδύονται από κακοήθες επιθήλιο (εικόνα 4). Εμφανίζεται κυρίως με έκκριμα της θηλής, ενώ πιο σπάνια ως ένα οζίδιο μέσα στο μαστό (Muir's, 2019).



Εικόνα 4. Θήλωμα σε μεγάλο πόρο του μαστού (κεντρική θέση) που δείχνει σκληρωτικές περιοχές (Kulka J, Madaras L, Floris G, Lax SF, 2022).

2) Φυλλοειδής όγκος

Μια καλά περιγεγραμμένη μάζα κυρίως σε γυναίκες μέσης ή μεγάλης ηλικίας. Σε πλειοψηφία είναι καλοήθεις και στο μικροσκόπιο αποτελούνται από κυτταροβριθές στρώμα με συμπιεσμένες σχισμές του επιθηλίου (Muir's, 2019).

Κεφάλαιο 2^ο: Καρκίνος του μαστού

2.1 Επιδημιολογία καρκίνου του μαστού

Ο καρκίνος του μαστού είναι ο πιο συχνά διαγνωσμένος καρκίνος μεταξύ των γυναικών των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής, εξαιρουμένου του μη μελανώματος του δέρματος. Είναι η δεύτερη κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο μεταξύ των γυναικών συνολικά, μετά τον καρκίνο του πνεύμονα, αλλά η κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο στις μαύρες και ισπανόφωνες γυναίκες (Giaquinto AN, et al. 2022, Miller KD, Ortiz AP, Pinheiro PS, et al. 2021). Υπολογίζεται ότι το 30% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού αποδίδονται σε τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου, όπως το υπερβολικό σωματικό βάρος, η έλλειψη σωματικής δραστηριότητας και η πρόσληψη αλκοόλ και επομένως μπορεί να προληφθούν (Islami F, Goding Sauer A, Miller KD, et al. 2018).

Η δευτερογενής πρόληψη μέσω του μαστογραφικού προσυμπτωματικού ελέγχου μπορεί να αποτρέψει περαιτέρω το θάνατο και παράλληλα με την πρόοδο στη θεραπεία, καταγράφονται σημαντικές μειώσεις στη θνησιμότητα από καρκίνο του μαστού. Επί του παρόντος, η Αμερικανική Αντικαρκινική Εταιρεία (American Cancer Society) παρέχει την ενημέρωσή της για τις πιο πρόσφατες στατιστικές για τον καρκίνο του μαστού για γυναίκες στις Ηνωμένες Πολιτείες, συμπεριλαμβανομένων των εκτιμώμενων αριθμών νέων περιπτώσεων και θανάτων ανά ηλικία το 2022, τα ποσοστά επίπτωσης και θνησιμότητας και τις τάσεις ανά ηλικία, φυλή/εθνικότητα, στάδιο, μοριακό υπότυπο και γεωγραφική κατανομή, με βάση τα δεδομένα επίπτωσης έως το 2019 και τα δεδομένα θνησιμότητας έως το 2020, τη σχετική επιβίωση για άτομα που διαγνώστηκαν κατά την περίοδο 2012-2018 και ακολούθησαν έως το 2019 ανά στάδιο διάγνωσης και υπότυπο καρκίνου του μαστού και τα πρότυπα θεραπείας το 2018.

Στην πλειονότητα των Ευρωπαϊκών χωρών, η θνησιμότητα από καρκίνο του μαστού παρουσίαζε αυξητικές τάσεις μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1980-αρχές 1990. Στη συνέχεια, η θνησιμότητα άρχισε να μειώνεται στις περισσότερες Ευρωπαϊκές χώρες, ως αποτέλεσμα της ευρείας εφαρμογής του προσυμπτωματικού ελέγχου και της αποτελεσματικότερης θεραπείας του καρκίνου του μαστού.

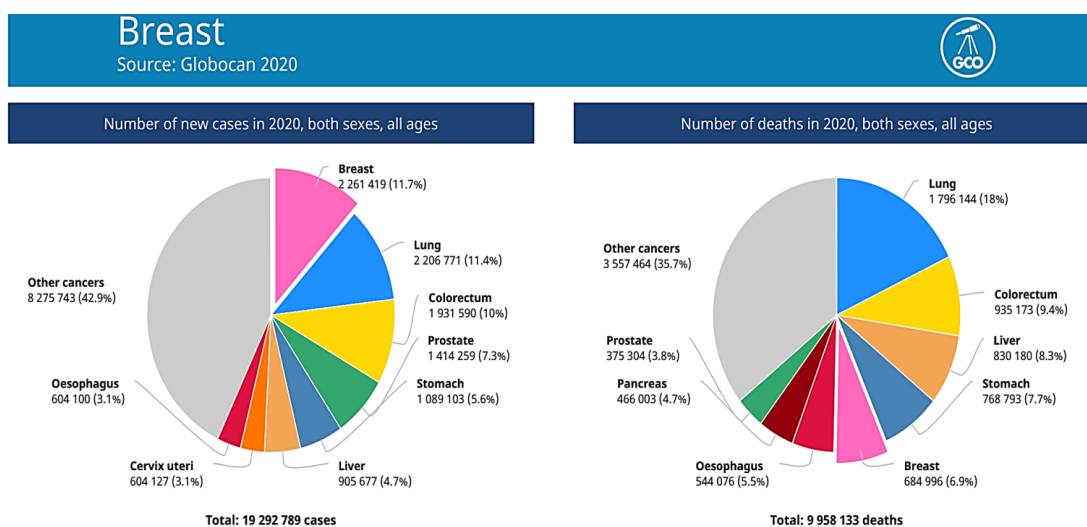
Στην Ελλάδα, για το έτος 2006, η σταθμισμένη για την ηλικία, επίπτωση του καρκίνου του μαστού είναι 81,8/100.000 και η σταθμισμένη για την ηλικία, θνησιμότητα 21,7/100.000 (Ferlay J., Autier P., Boniol M., Heanue M., Colombet M., Boyle P. 2007). Ο συντελεστής θνησιμότητας, όπως φαίνεται στο γράφημα 1,

παρουσιάζει ανοδική τάση το διάστημα 1961-1996 και στη συνέχεια τείνει να σταθεροποιηθεί, χωρίς διακριτή πτωτική τάση, μέχρι το 2006.

Πίνακας 2. Εκτιμώμενα νέα περιστατικά πορογενούς καρκινώματος μαστού in situ και διηθητικού καρκίνου του μαστού και θάνατοι μεταξύ των γυναικών ανά ηλικία, Ηνωμένες Πολιτείες, 2022

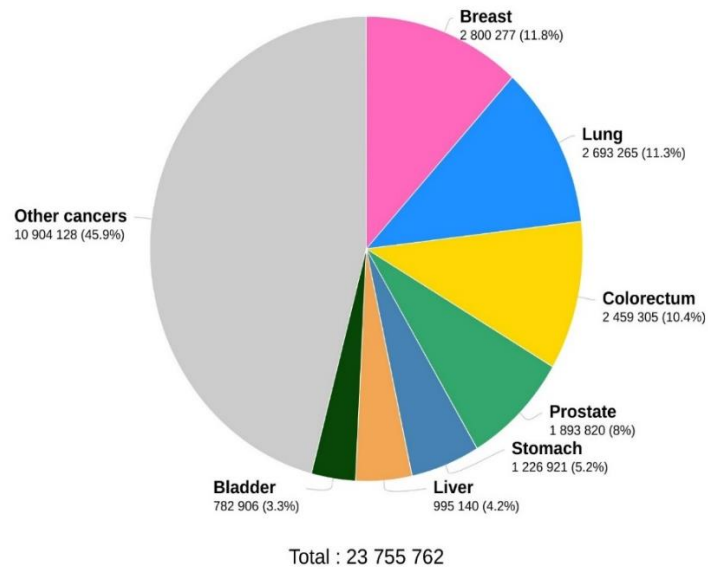
Age, years	DCIS cases		Invasive cases		Deaths	
	No.	%	No.	%	No.	%
<40	1230	2	10,850	4	1090	3
40-49	8050	16	36,710	13	2950	7
50-59	12,830	25	65,980	23	7150	17
60-69	16,030	31	84,200	29	10,270	24
70-79	10,450	20	61,470	21	10,010	23
≥80	2810	5	28,640	10	11,780	27
All ages	51,400		2 87,850		43,250	

Οι εκτιμήσεις στρογγυλοποιούνται στο πλησιέστερο 10. Τα ποσοστά ενδέχεται να μην αθροίζονται στο 100%, λόγω στρογγυλοποίησης. DCIS, πορογενές καρκίνωμα μαστού in situ (Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. 2022).



Εικόνα 5. Αριστερά της εικόνας παρατηρούμε το κυκλικό διάγραμμα που απεικονίζει τον αριθμό των νέων κρουσμάτων διαφόρων τύπων καρκίνου το 2020 και για τα δύο φύλα, σε όλες τις ηλικίες, ενώ δεξιά της εικόνας απεικονίζεται ο αριθμός των θανάτων από διάφορους τύπους καρκίνου, το 2020 και για τα δύο φύλο, σε όλες τις ηλικίες, (World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 2020, <https://gco.iarc.fr/today/en>)

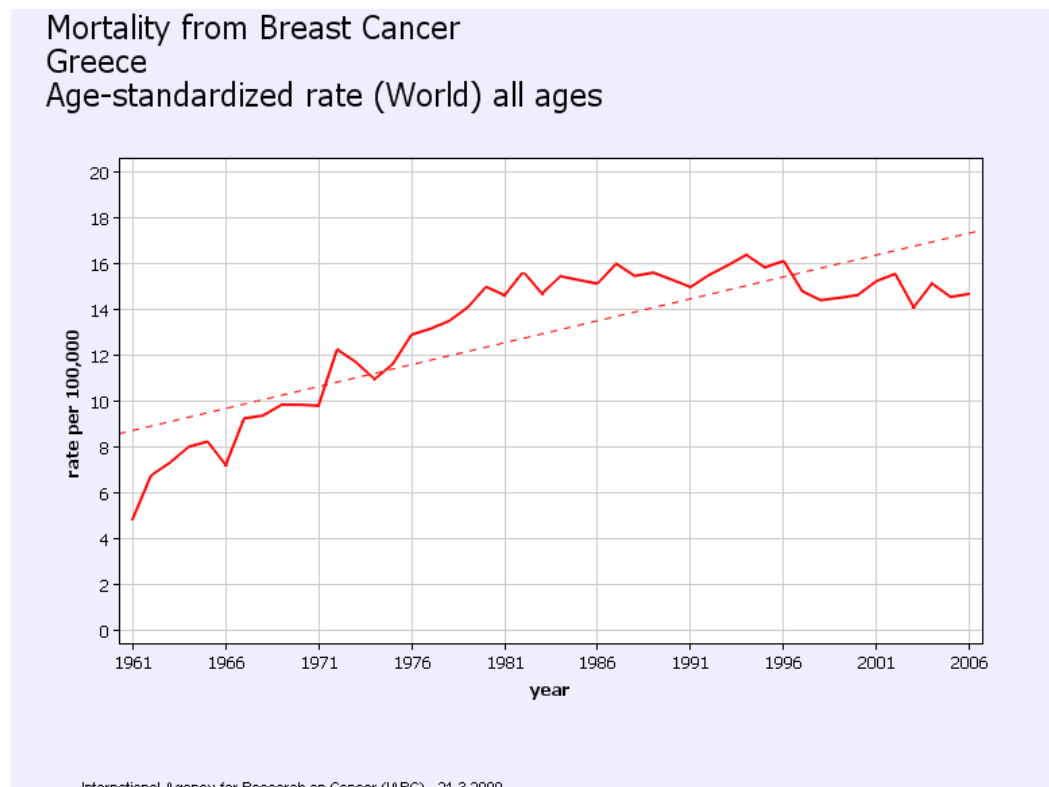
Estimated number of new cases in 2020, Europe, World, Greece, both sexes, all ages



Data source: Globocan 2020
Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>)

International Agency for Research on Cancer
World Health Organization

Εικόνα 6. Εκτιμώμενος αριθμός νέων περιστατικών καρκίνου το 2020, στην Ευρώπη και στα 2 φύλα, σε όλες τις ηλικίες (World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 2020, <https://gco.iarc.fr/today/en>)



Γράφημα 1. Σταθμισμένος για την ηλικία, συντελεστής θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού στην Ελλάδα, το διάστημα 1961-2006 (World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 2020, <https://gco.iarc.fr/today/en>)

2.2 Παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του μαστού

Αρκετοί παράγοντες της αναπαραγωγής και του τρόπου ζωής είναι επιβεβαιωμένοι παράγοντες που συνεισφέρουν στον κίνδυνο καρκίνου του μαστού. Τα τελευταία χρόνια, η κατανόηση της επίδρασης αυτών των εκθέσεων στον κίνδυνο έχει βελτιωθεί σε μεγάλο βαθμό, μέσω της αξιολόγησης αυτών των εκθέσεων κατά τη διάρκεια της ζωής μιας γυναίκας, σύμφωνα με τον υπότυπο του όγκου του μαστού και μέσω λεπτομερών αξιολογήσεων σε μεγάλες έρευνες.

➤ Ηλικία

Ο ισχυρότερος παράγοντας κινδύνου για καρκίνο του μαστού είναι η ηλικία. Αναφέρεται ενδεικτικά ο κίνδυνος νόσησης στην ηλικία των 30 ετών (1 στις 1.900 γυναίκες), ο οποίος στην ηλικία των 60 ετών πολλαπλασιάζεται (1 στις 23 γυναίκες), (<http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/breast>).

➤ Τεκνοποίηση

Ο γυναικείος πληθυσμός στις αναπτυγμένες χώρες διατρέχει μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού συγκριτικά με τον αντίστοιχο πληθυσμό των λιγότερο αναπτυγμένων χωρών. Η διαφορά αυτή αποδίδεται κατά ένα μέρος στο χαμηλότερο βαθμό τεκνοποίησης και στη μικρότερη χρονική διάρκεια θηλασμού των γυναικών στις αναπτυγμένες χώρες. Εκτιμάται ότι η επίπτωση της νόσου στις χώρες αυτές, θα ελαττωνόταν περισσότερο από το ήμισυ, εάν ο μέσος αριθμός των γεννήσεων (6,5 γεννήσεις αντί 2,5) και η συνολική διάρκεια θηλασμού (μέση διάρκεια θηλασμού για κάθε παιδί 24 μήνες, αντί 8,7 μήνες διάρκεια θηλασμού δια βίου) έφθαναν τις τιμές, που παρατηρούνται στις λιγότερο αναπτυγμένες χώρες (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002).

➤ Ηλικία εμμηναρχής

Μικρή ηλικία εμμηναρχής συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού. Ο μέσος όρος ηλικίας εμμηναρχής έχει σημειώσει πτωτική τάση στις αναπτυγμένες χώρες, από 16-17 ετών στα μέσα του 19ου αιώνα, στα 12-13 έτη. Ο σχετικός κίνδυνος για καρκίνο του μαστού προεμμηνοπαυσιακά παρουσιάζει ελάττωση κατά 7% για κάθε χρόνο καθυστέρησης της εμμηναρχής μετά την ηλικία των 12. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε χώρες με χαμηλό κίνδυνο, όπως η Κίνα, ο μέσος όρος ηλικίας εμμηναρχής κυμαίνεται γύρω στα 16-17 έτη. Η διατροφή κατά τη διάρκεια των πρώτων ετών της ζωής επηρεάζει την ηλικία εμμηναρχής, (Tanner JM. 1973, Clavel-Chapelon F. 2002).

➤ **Ηλικία εμμηνόπαυσης**

Η καθυστερημένη εμμηνόπαυση προσαυξάνει τον κίνδυνο. Κάθε έτος καθυστέρησης της εμμηνόπαυσης αυξάνει κατά 3% τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 1997). Μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες διατρέχουν χαμηλότερο κίνδυνο συγκριτικά με προεμμηνοπαυσιακές της ίδιας ηλικίας. Τα στοιχεία ισχύουν τόσο για τη φυσική εμμηνόπαυση, όσο και για τη χειρουργική διακοπή της εμμηνου ρύσεως.

➤ **Ηλικία κατά την πρώτη τεκνοποίηση**

Νεαρότερη ηλικία κατά την έναρξη της τεκνοποίησης, συνεπάγεται μικρότερο κίνδυνο για καρκίνο του μαστού. Ο σχετικός κίνδυνος αυξάνει κατά 3% για κάθε χρόνο καθυστέρησης της τεκνοποίησης (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002).

Για παράδειγμα, μια γυναίκα, που θα τεκνοποιήσει για πρώτη φορά στην ηλικία των 28 ετών, θα διατρέχει 3% μικρότερο κίνδυνο για ανάπτυξη της νόσου συγκριτικά με κάποια, που θα αποκτήσει το πρώτο τέκνο της σε ηλικία 29 ετών, εφ' όσον όλοι οι άλλοι παράγοντες είναι παρόμοιοι.

➤ **Μητρότητα**

Η επίδραση της μητρότητας στην ελάττωση του κινδύνου έχει αναγνωριστεί από μακρόν. Τον 18ο αιώνα ο Bernado Ramazzini (1633-1714) σημείωσε τη μεγαλύτερη συχνότητα καρκίνου του μαστού σε μοναχές, σε σχέση με έγγαμες και απέδωσε τη διαφορά αυτή στην τεκνοποίηση. Σε μια μετα-ανάλυση η απουσία τεκνοποίησης, σχετίστηκε με 30% προσαύξηση του κινδύνου. Ο αριθμός των τελειόμηνων κυήσεων αυξάνει παράλληλα με την προστασία που παρέχουν (Ewertz M, Duffy SW et al. 1990).

➤ **Ορμονική Θεραπεία Υποκατάστασης (ΟΘΥ)**

Η χρήση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης αποτελεί επιπρόσθετο παράγοντακινδύνου και συγχρόνως ελαττώνει την ευαισθησία της μαστογραφίας. Ο κίνδυνος νόσησης για γυναίκες που κάνουν χρήση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης, είναι 66% υψηλότερος σε σύγκριση με γυναίκες, που δεν έχουν λάβει ποτέ ΟΘΥ. Η επίδραση είναι σημαντικά μεγαλύτερη κατά τη συνδυασμένη χρήση οιστρογόνου-προγεσταγόνου (σχετικός κίνδυνος 2,00), σε σχέση με τη μονοθεραπεία με οιστρογόνο (σχετικός κίνδυνος 1,30). Ο κίνδυνος αυξάνει με τη διάρκεια χρήσης και ελαττώνεται με τη διακοπή της θεραπείας (Beral V. 2003).

➤ **Παχυσαρκία**

Δείκτης μάζας σώματος (BMI) μεγαλύτερος του 30 προκαλεί μέτρια αύξηση του κινδύνου για καρκίνο του μαστού, μετεμμηνοπαυσιακά. Αξίζει να σημειώσουμε ότι αποτελεί το μοναδικό μεταβλητό και τροποποιήσιμο παράγοντα κινδύνου (Van den Brandt PA, Spiegelman D et al. 2000). Σε μια προοπτική μελέτη της θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού διαπιστώθηκε διπλάσια αύξηση του κινδύνου σε γυναίκες με BMI>40 kg/m², συγκριτικά με γυναίκες με BMI< 24,9 kg/m² (Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K and Thun MJ. 2003).

➤ **Άσκηση**

Μια πρόσφατη αναφορά του International Agency for Research on Cancer (IARC) επισημαίνει την προφυλακτική δράση της άσκησης έναντι του καρκίνου του μαστού (IARC 2002). Η επίδραση αυτή μπορεί να οφείλεται στη μείωση του BMI ή στον επηρεασμό των επιπέδων των ορμονών και των αυξητικών παραγόντων. Το μέγεθος αυτής της δράσης ποικίλει. **Αναφέρεται ελάττωση κατά 30-40% του κινδύνου για τη νόσο με αεροβική άσκηση λίγες ώρες εβδομαδιαίως** (Key TJ, Erkasalo PK and Banks E. 2001).

➤ **Αλκοόλ**

Έχει διαπιστωθεί ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και καρκίνου του μαστού. Η καθημερινή κατανάλωση ενός αλκοολούχου ποτού προσ αυξάνει τον κίνδυνο κατά 7%. Περίπου 4% των καρκίνων του μαστού στις αναπτυγμένες χώρες, μπορεί να αποδοθεί στο αλκοόλ (Hamajima N, Hirose K et al. 2002).

➤ **Διατροφή**

Η πρόσληψη λιπαρών, ιδιαίτερα ζωικών, ενδεχομένως να προκαλεί μια μικρή αύξηση του κινδύνου για καρκίνο του μαστού (Rose DP, Boyar AP and Wynder EL, 1986).

➤ **Ύψος**

Οι ψηλότερες γυναίκες διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο. Για κάθε επιπρόσθετη αύξηση του ύψους κατά 5 εκατοστά (άνω του 1,75 μ.) παρατηρείται 7% αύξηση του σχετικού κινδύνου για καρκίνο του μαστού μετεμμηνοπαυσιακά και 2% προεμμηνοπαυσιακά. Ο μηχανισμός αυτής της συσχέτισης δεν έχει διευκρινιστεί (Lawlor DA, Okasha M et al. 2003).

➤ **Ιονίζουσα ακτινοβολία**

Η ιονίζουσα ακτινοβολία αποτελεί επιβεβαιωμένο παράγοντα κινδύνου. Η επίδρασή της στο μαστό συσχετίζεται στενά με την ηλικία κατά την έκθεση, δηλαδή νεότερες γυναίκες διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο (Berrington de Gonzalez A and Darby S, 2004). Ιδιαίτερη ομάδα γυναικών με αυξημένο κίνδυνο, αποτελούν ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία, κυρίως κατά την παιδική ηλικία ή γύρω στα 20, λόγω νόσου Hodgkin.

➤ **Κοινωνικοοικονομική θέση**

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μία από τις λίγες μορφές καρκίνου με μεγαλύτερη επίπτωση στα ανώτερα κοινωνικοοικονομικά στρώματα. Ενδεχομένως, η συσχέτιση αυτή να οφείλεται σε άλλους παράγοντες που αφορούν σε γυναίκες των συγκεκριμένων τάξεων, όπως η τεκνοποίηση (<http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/breast>).

➤ **Ατομικό ιστορικό καρκίνου του μαστού**

Ατομικό ιστορικό καρκίνου του μαστού πολλαπλασιάζει 2-6 φορές τον κίνδυνο για ανάπτυξη δεύτερου πρωτοπαθούς καρκίνου του μαστού, σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (Chen Y, Thompson W et al, 1999).

➤ **Οικογενειακό ιστορικό**

Η ύπαρξη συγγενή πρώτου βαθμού με καρκίνο του μαστού διπλασιάζει τον κίνδυνο. Εάν αναφέρονται δύο ή περισσότερες συγγενείς ασθενείς, ο κίνδυνος επαυξάνεται. Ωστόσο, περισσότερο από 85% των γυναικών, με θετικό οικογενειακό ιστορικό δεν θα νοσήσει. Επίσης, πάνω από 85% των ασθενών έχουν ελεύθερο οικογενειακό ιστορικό (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer Familial breast cancer, 2001).

Μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 και BRCA2 είναι υπεύθυνες για την πλειονότητα των περιστατικών οικογενειών με πολλαπλά (άνω των τεσσάρων), νοσούντα μέλη. **Φορείς της μετάλλαξης έχουν πιθανότητα νόσησης: 50-80%** (Ford D, Easton D.F et al, 1998).

Πίνακας 3. Παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του μαστού (Hong WK et al, 2009)

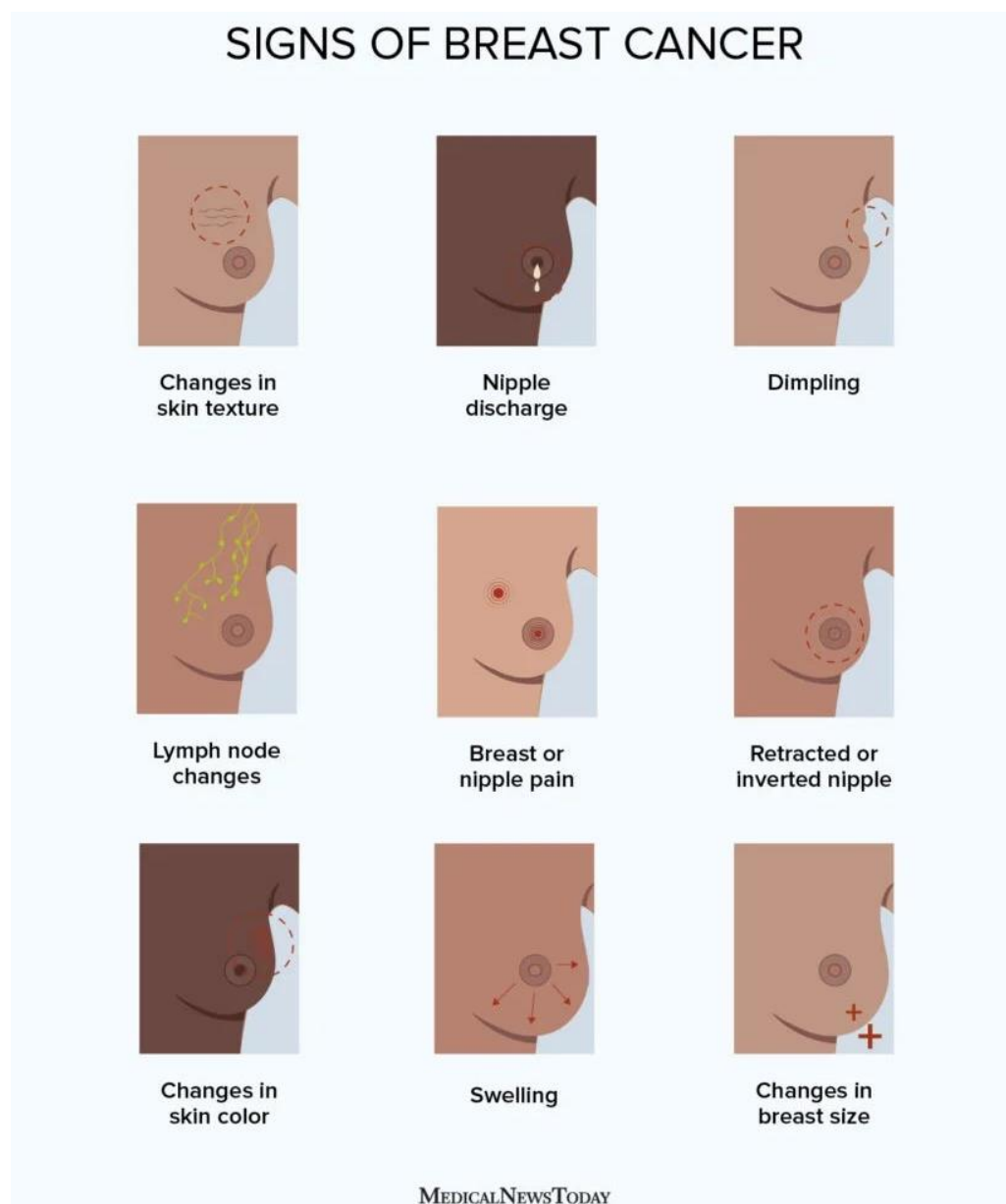
<p>(Α) Μεγάλη αύξηση του κινδύνου</p> <ul style="list-style-type: none"> • Μεταλλάξεις BRCA 1 και 2, σύνδρομο Li-Fraumeni • Αυξανόμενη ηλικία • Δυτικός τρόπος ζωής • Οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού ή ωοθηκών σε συγγενείς 1^{ου} βαθμού • Καλοήθης νόσος του μαστού με άτυπη υπερπλασία • Έκθεση σε ιοντίζουσα ακτινοβολία
<p>(Β) Μέτρια αύξηση του κινδύνου</p> <ul style="list-style-type: none"> • Προηγούμενη διάγνωση καρκίνου του μαστού • Πρώιμη εμμηναρχή • Όψιμη εμμηνόπαυση • Ατοκία ή μεγάλη ηλικία πρώτης κύησης (>30 ετών) • Υψηλό κοινωνικό-οικονομικό επίπεδο • Κατανάλωση αλκοόλ • Παχυσαρκία (μόνο για μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες) • Μη-ευνοϊκή μαστογραφική απεικόνιση παρεγχύματος • Διάγνωση σαρκώματος μαλακών μοριών σε κόρη ή υιό • Προηγούμενη διάγνωση καρκίνου ωοθηκών, ενδομητρίου ή παχέος εντέρου
<p>(Γ) Μικρή αύξηση κινδύνου</p> <ul style="list-style-type: none"> • Καλοήθης νόσος του μαστού με επιθηλιακή υπερπλασία, αλλά όχι ατυπία • Χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών (για > 10 έτη) • Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης στην εμμηνόπαυση
<p>(Δ) Αμφισβητούμενη αύξηση</p> <ul style="list-style-type: none"> • Διακοπή πρώτης κύησης • Ψυχοσωματικοί παράγοντες • Διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λίπη • Επιπλεγμένο ινοαδένωμα
<p>(Ε) Μείωση του κινδύνου</p> <ul style="list-style-type: none"> • Πλήρης κύηση πριν από την ηλικία των 20 ετών • Πολλές κυήσεις • Ωοθηκεκτομή πριν από την ηλικία των 45 ετών • Τακτική άσκηση, ειδικά στη διάρκεια της εφηβείας και της πρώιμης ενήλικης ζωής • Θηλασμός
<p>(ΣΤ) Καμία επίδραση</p> <ul style="list-style-type: none"> • Μειωτική επέμβαση στον μαστό

2.3 Συμπτώματα καρκίνου του μαστού

Πολλές περιπτώσεις καρκίνου του μαστού διαδράμουν ασυμπτωματικά και ανιχνεύονται με τη μαστογραφία στα πλαίσια προληπτικού ελέγχου. Τα συμπτώματα της νόσου περιλαμβάνουν την ψηλάφηση ενός ογκιδίου, πολλές φορές από την ίδια την ασθενή, αλλαγή στο μέγεθος ή στο σχήμα του μαστού, αλλοιώσεις της υφής του υπερκείμενου δέρματος (σαν φλοιός πορτοκαλιού), αλλαγή στο σχήμα της θηλής ή εισολκή αυτής, οίδημα ή ψηλαφητοί μασχαλιαίοι λεμφαδένες και πολύ σπάνια

αιματηρή έκκριση από τη θηλή ή εξάνθημα γύρω από αυτή. Λιγότερο συχνό σύμπτωμα είναι η εμφάνιση άλγους στο μαστό.

Κάθε γυναίκα οφείλει να γνωρίζει τη συνηθισμένη μορφή και υφή του μαστού της. Οποιαδήποτε αλλαγή στη συνήθη μορφολογία του μαστού θα πρέπει να κινητοποιήσει τη γυναίκα και το θεράποντα ιατρό της (<http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/breast>, www.cancer.gov/cancertopics).



Εικόνα 7. Σημεία και συμπτώματα του καρκίνου του μαστού. Αλλαγές στην υφή του δέρματος, αλλαγές στους λεμφαδένες, αλλαγές στο χρώμα του δέρματος, εκκρίσεις από τη θηλή, πόνος του μαστού ή της θηλής, οίδημα (πρήξιμο) μαστού, κοίλανση (βαθούλωμα) του δέρματος του μαστού, εισολκή θηλής ή ανεστραμμένη θηλή, αλλαγές στο μέγεθος του μαστού (<https://www.medicalnewstoday.com/articles/322832>)

2.4 Τύποι καρκίνου του μαστού

Ο καρκίνος του μαστού μπορεί να χαρακτηριστεί ως ο κακοήθης όγκος που αναπτύσσεται στα κύτταρα του μαστού. Είναι η πιο κοινή μορφή καρκίνου με υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα, και έρχεται δεύτερος μετά τον καρκίνο του πνεύμονα. Παρά την καθιερωμένη θεραπεία, η σημασία της νόσου αυξάνεται χρόνο με το χρόνο. Εμφανίζεται τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες, αλλά ο καρκίνος του μαστού στους άνδρες είναι σπάνιος (Nidhi Garg et al, 2019). Η ευαισθητοποίηση για τον καρκίνο του μαστού, η προσοχή του κοινού και η πρόοδος στην απεικόνισή του έχει θετικό αντίκτυπο στην αναγνώριση και τον προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του μαστού.

Μελέτες προηγούμενων δεκαετιών που σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού έχουν οδηγήσει σε εκπληκτική πρόοδο στην κατανόησή μας για αυτόν, με αποτέλεσμα τη δημιουργία περαιτέρω επαρκών θεραπειών. Μεταξύ όλων των κακοήθων ασθενειών, ο καρκίνος του μαστού θεωρείται ως μία από τις κύριες αιτίες θανάτου στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, καλύπτοντας το 23% όλων των θανάτων από καρκίνο (Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU, 2017).

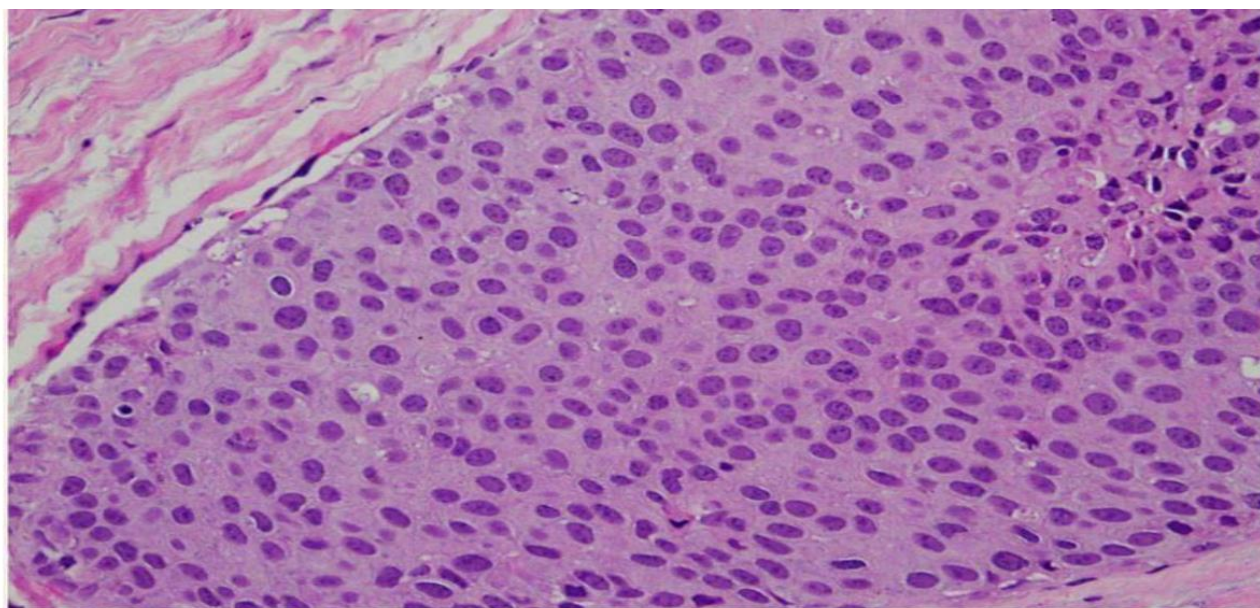
Ο καρκίνος του μαστού διακρίνεται σε διηθητικό και μη διηθητικό:

➤ Μη διηθητικός τύπος

Είναι ένας καρκίνος που δεν έχει επεκταθεί μακριά από το λοβό ή τους πόρους, όπου εντοπίζεται (West A et al, 2017). Η λέξη "in situ" περιγράφει τον όρο «επί τόπου», εστιακά. Παρόλο που τα άτυπα κύτταρα δεν έχουν επεκταθεί στους ιστούς έξω από τους λοβούς ή τους πόρους, μπορούν να επεκταθούν και να εξελιχθούν σε διηθητικό καρκίνο του μαστού. Είναι γνωστό ότι το καρκίνωμα in situ του μαστού προέρχεται από την τελική πορολοβιακή μονάδα. Παρόλα αυτά, αναγνωρίζονται δύο τύποι, το πορογενές και το λοβιακό (Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU, 2017).

1. Πορογενές καρκίνωμα in situ (DCIS)

Στους συμπτωματικούς ασθενείς η συχνότητά του αγγίζει το 2 έως 5%, στις περισσότερες περιπτώσεις με τη μορφή ψηλαφητής μάζας (εικόνα 8). Αντιθέτως, στις ασυμπτωματικές γυναίκες η συχνότητα ταυτοποίησής του αγγίζει το 20 έως 25%, μέσω των προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου. Η παρουσία μικροασβεστώσεων βοηθά στην ανίχνευση του πορογενούς καρκίνου in situ, μέσω του μαστογραφικού ελέγχου, όταν ο όγκος είναι ακόμα μικρός και απαιτεί θεραπεία (Muir's, 2019).



Εικόνα 8. Εστιακή διήθηση από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, σε καρκίνωμα του πόρου in situ (DCIS), (20× αντικειμενικός φακός, με χρήση κάμερας Nikon DP27, με τη βοήθεια του λογισμικού CellSens), (Badve SS, Gökmen-Polar Y, 2019)

2. Λοβιακό καρκίνωμα in situ (LCIS)

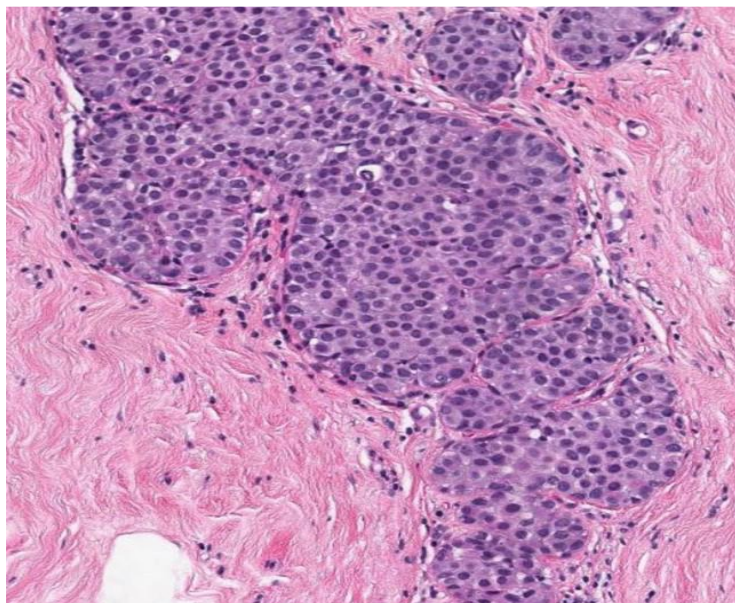
Ο όρος λοβιακή νεοπλασία αναφέρεται σε ολόκληρο φάσμα των άτυπων επιθηλιακών αλλοιώσεων που άρχονται από την τελική πορολοβιακή μονάδα και χαρακτηρίζεται από τον πολλαπλασιασμό μικρών (κυρίως), χωρίς συνοχή, επιθηλιακών κυττάρων με ή χωρίς παζετοειδή διασπορά στους τελικούς πόρους. Οι όροι άτυπη λοβιακή υπερπλασία (Atypical Lobular Hyperplasia - ALH) και λοβιακό καρκίνωμα in situ (Lobular Carcinoma In Situ - LCIS) χρησιμοποιούνται ευρέως για την περιγραφή αυτών των αλλοιώσεων. Η διάκριση ανάμεσα στην άτυπη λοβιακή υπερπλασία και το κλασικό λοβιακό καρκίνωμα in situ βασίζεται στην έκταση του νεοπλάσματος στη λοβιακή μονάδα.

Ιστολογικά η λοβιακή νεοπλασία είναι νεοπλασματική ανάπτυξη που αφορά την τελική πορολοβιακή μονάδα και μπορεί να εκτείνεται παζετοειδώς και στους τελικούς πόρους. Οι βλάβες αυτές συνήθως είναι πολυκεντρικές και αμφοτερόπλευρες. Στη χαμηλή μεγέθυνση παρατηρείται διατήρηση της αρχιτεκτονικής των λοβίων με διάταξη των αδενοκυψελών, οφειλόμενη στον πολλαπλασιασμό ενός μονόμορφου κυτταρικού πληθυσμού από κύτταρα χωρίς συνοχή (εικόνα 9). Τα εν λόγω κύτταρα έχουν μικρό ομοιόμορφο στρογγυλό πυρήνα με ομοιόμορφη κατανομή της χρωματίνης σε αυτόν

και απουσία πυρηνίου. Μερικές φορές αναγνωρίζονται ενδοκυτταροπλασματικοί αυλοί που ανάλογα με το μέγεθος τους προσδίδουν μορφολογικούς χαρακτήρες «δίκην σφραγιστήρος δακτυλίου».

Το κλασικό λοβιακό καρκίνωμα in situ διαγιγνώσκεται όταν πάνω από τις μισές αδενοκυψέλες της λοβιακής μονάδας καταλαμβάνεται από την προηγουμένως περιγραφείσα αλλοίωση. Όταν εμπλέκονται λιγότερες από τις μισές αδενοκυψέλες του λοβίου, τότε η διάγνωση είναι εκείνη της άτυπης λοβιακής υπερπλασίας.

Σε αμφοτέρους τις περιπτώσεις μπορεί να παρατηρηθεί η παζετοειδής διασπορά στον τελικό πόρο του πάσχοντος λοβίου. Συχνά, παρατηρούνται LCIS που παρουσιάζουν εκτεταμένη διάταξη των αδενοκυψελών και περιοχές με comedo νέκρωση, καθώς και περιπτώσεις LCIS κατά τις οποίες, τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι ευμεγέθη, πλειόμορφα, εξαιρετικά άτυπα και συνοδεύονται από comedo νέκρωση.



Εικόνα 9. Λοβιακό καρκίνωμα in situ. Χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, μεγέθυνση x 200. Το νεόπλασμα αποτελείται από μονόμορφο κυτταρικό πληθυσμό με στρογγυλό πυρήνα, άνευ πυρηνίου (Schnitt and Collins, 2018)

➤ Διηθητικά καρκινώματα μαστού

Τα διηθητικά καρκινώματα αναπτύσσονται στον ιστό του μαστού και εξαπλώνονται στους λεμφαδένες και σε άλλα όργανα. **Οι 2 κύριοι τύποι είναι: το διηθητικό λοβιακό καρκίνωμα (ILC), (Invasive lobular carcinoma) και το διηθητικό πορογενές καρκίνωμα (IDC) (Invasive ductal carcinoma).**

Το διηθητικό πορογενές καρκίνωμα (IDC) αντιπροσωπεύει το 70-80% όλων των περιπτώσεων και είναι ο πιο κοινός τύπος διηθητικού όγκου. Εξαπλώνεται μέσω της κυκλοφορίας του αίματος ή μέσω του λεμφικού αγγειακού συστήματος. Μεγαλύτερο κίνδυνο διατρέχουν γυναίκες άνω των 50 ετών, γυναίκες με κληρονομικές μεταλλάξεις BRCA-1 και BRCA-2, καθώς και γυναίκες όπου είχαν ταυτόχρονα, τόσο πρόωμη εμμηνарχή πριν τα 12 έτη, όσο και εμμηνόπαυση μετά τα 55 χρόνια, λόγω μεγάλης έκθεσης στις γυναικείες ορμόνες.

Σύμφωνα με το στενότερο ιστολογικό χαρακτηρισμό, το πορογενές καρκίνωμα μπορεί να χωριστεί σε υποτύπους: **κλασικός μη ειδικός υπότυπος, αποκρινής υπότυπος, μυελοειδές καρκίνωμα, βλεννώδες καρκίνωμα, θηλώδες πορογενές καρκίνωμα και σωληνώδους τύπου πορογενές καρκίνωμα.**

Οι ανωτέρω υπότυποι του πορογενούς καρκινώματος όπως αναφέρθηκαν, οφείλονται και προέρχονται από συγκεκριμένες μεταλλάξεις, πολλές από τις οποίες έχουν μελετηθεί αναφορικά με τον επιπολασμό τους στην εμφάνιση αυτού του τύπου καρκίνου. Αυτές περιλαμβάνουν μεταλλάξεις σε TP53, PIK3CA, MAP3K1, GATA3 και CDH1 και CNV (copy number variation) σε COX6C, ERBB2, GATA3, MAP3K1, MYC, NDRG1 και PIK3CA].

Πιο συγκεκριμένα, οι Shen et al. (2014) στην έρευνά τους, μελετώντας τη συχνότητα εμφάνισης των μεταλλάξεων αυτών, κατέληξαν πως το γονίδιο που εμφανίζει την πιο έντονη διαφορά στη συχνότητα μετάλλαξης σε σχέση με τον υπότυπο ήταν το p53. Μεταλλάξεις σε αυτό γονίδιο ταυτοποιήθηκαν στο 58% του ιστολογικού βαθμού III του διηθητικού τύπου IDC, σε σύγκριση με μόνο το 4% του βαθμού I.

Παράλληλα παρουσιάζει σύμφωνα με τους ερευνητές, ιδιαίτερο ενδιαφέρον ότι οι μεταλλάξεις PIK3CA εμφάνισαν ακόμα μεγαλύτερη συχνότητα από τις μεταλλάξεις p53, αλλά υπήρξε αντίστροφη συσχέτιση με τον ιστολογικό βαθμό του καρκινώματος. Επίσης, ταυτοποιήθηκαν μεταλλάξεις PIK3CA στο 61% των διηθητικών καρκίνων του μαστού Iου βαθμού I, σε σύγκριση με το ποσοστό 27% σε όγκους, βαθμού III. Τέλος, τα γονίδια που βρέθηκαν με το πιο σημαντικό CNV ήταν τα εξής: MYC, COX6C και NDRG1 (Shen, Dejun, et al, 2014).

Αντιθέτως, το διηθητικό λοβιακό καρκίνωμα (ILC) αντιπροσωπεύει το 10% των περιπτώσεων και είναι ο δεύτερος πιο συχνός τύπος διηθητικού καρκίνου. Ξεκινά στους λοβούς του μαστού και μπορεί να διαιρεθεί, όπως και το πορογενές, σε υποτύπους: κλασικός (μη ειδικός) υπότυπος, σωληνώδους τύπου υπότυπος, ιστοκυτταροειδής υπότυπος.

➤ **Σωληνώδες Καρκίνωμα**

Ασύνηθες στους συμπτωματικούς ασθενείς, με συχνότητα 2%.Οι γυναίκες με σωληνώδες καρκίνωμα έχουν συνήθως βελτιωμένες προοπτικές, από τις γυναίκες με πρόσθετα γενικά είδη διηθητικού καρκινώματος (Muir's, 2019).

➤ **Μυελοειδές Καρκίνωμα**

Το καρκίνωμα είναι ένας διηθητικός καρκίνος του μαστού που συνδυάζει ένα διακριτό πρότυπο φυσιολογικού ιστού και μυελικού ιστού και είναι σπάνιο (Mateo A et al, 2017).

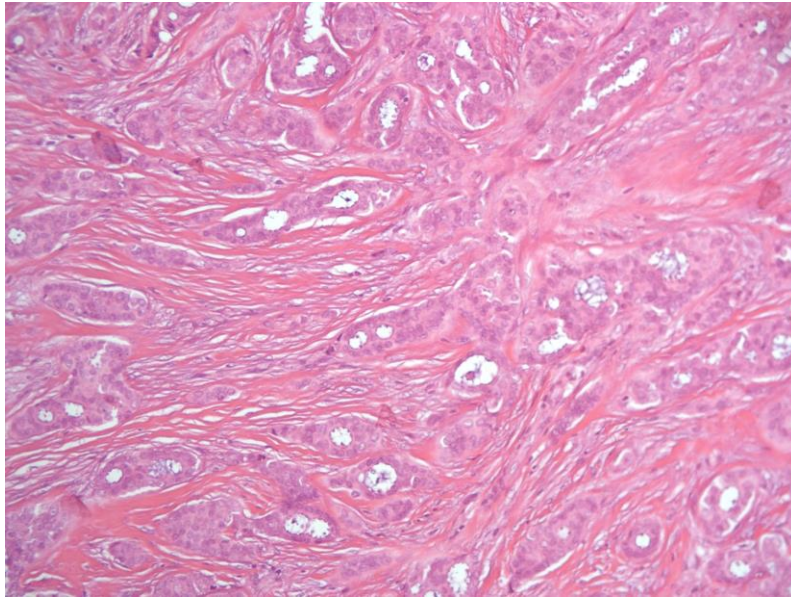
➤ **Βλεννώδες ή Κολλοειδές Καρκίνωμα**

Είναι ένας ασυνήθιστος καρκίνος του μαστού που δημιουργείται από τα καρκινικά κύτταρα που παράγουν βλέννα (Anuradha D, Lakshmi A, 2017).

➤ **Μη ειδικού τύπου καρκίνωμα (Non Special Type / NST Carcinoma)**

Τα μη ειδικού ιστολογικού τύπου καρκινώματα (NST) αντιπροσωπεύουν το 70-80% των διηθητικών καρκινωμάτων του μαστού. Αυτά αποτελούν μία αρκετά ετερογενή ομάδα με νεοπλάσματα καθοριζόμενα από την απουσία ιστολογικών χαρακτηριστικών, που θα δικαιολογούσαν την ταξινόμησή τους ως ειδικού τύπου. Συνεπώς, μικροσκοπικά τα NST καρκινώματα δεν παρουσιάζουν συγκεκριμένη ιστολογική εικόνα. Για να χαρακτηριστεί ένα νεόπλασμα ως μη ειδικού ιστολογικού τύπου (NST) πρέπει οι μη ειδικού τύπου ιστολογικοί χαρακτήρες να καταλαμβάνουν άνω του 50% του νεοπλάσματος (εικόνα 10). Όταν έχει ιστολογικούς χαρακτήρες που το κατατάσσουν ως ειδικού ιστολογικού τύπου, αλλά παρουσιάζει σε έκταση 10%-49% χαρακτηριστικά NST, τότε ονομάζεται μικτό αδenoκαρκίνωμα. Σε περίπτωση που τα ειδικού τύπου ιστολογικά χαρακτηριστικά καταλαμβάνουν πάνω από το 90% του νεοπλάσματος, τότε το νεόπλασμα ταξινομείται ως ειδικού τύπου (WHO, 2012).

Γίνεται αντιληπτό λοιπόν πως η διάγνωση ενός NST καρκινώματος είναι βασικά μια διαδικασία εξ' αποκλεισμού, συνεπώς οι αρχιτεκτονικοί και κυτταρολογικοί χαρακτήρες αυτών των νεοπλασμάτων ποικίλλουν αισθητά. Ένα σχετικά κοινό χαρακτηριστικό που μπορεί να παρατηρηθεί σε αυτούς τους όγκους είναι ότι περίπου το 80% εξ' αυτών συνυπάρχει με DCIS, του οποίου το πυρηνικό grade τείνει να είναι ίδιο με αυτό του διηθητικού καρκινώματος. **Σε ανοσοϊστοχημικό επίπεδο, το 70%-80% των νεοπλασμάτων αυτών εκφράζει ορμονικούς υποδοχείς και 10% με 15% ενίσχυση του HER2. Όλα τα NST καρκινώματα εκφράζουν μεμβρανικά την E-Cadherin, αν και σε κάποιες περιπτώσεις με μειωμένη ένταση.**



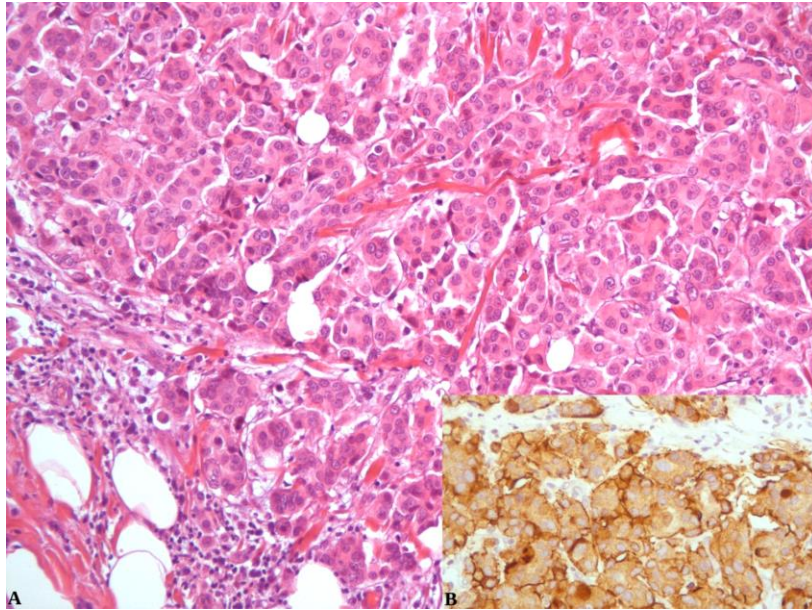
Εικόνα 10. Grade 1 NST καρκίνωμα μαστού. Χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, μεγέθυνση x200.

➤ **Μικροθηλώδες διηθητικό καρκίνωμα**

Τα νεοπλάσματα αυτά υπολογίζονται σε λιγότερο του 2% των καρκινωμάτων του μαστού, ωστόσο περιοχές με μικροθηλώδες πρότυπο ανάπτυξης έχουν παρατηρηθεί σε 7,4% των καρκινωμάτων του μαστού (NST). Η μέση ηλικία εμφάνισης δεν διαφέρει από αυτήν των NST καρκινωμάτων (WHO, 2012).

Ιστολογικά, τα νεοπλασματικά κύτταρα σχηματίζουν ολιγοκυτταρικές συστάδες περιβαλλόμενες από άδειο στρωματικό χώρο, δίδοντας την εντύπωση, κατά τη μικροσκόπηση, πως αιωρούνται σε κενό χώρο. Οι συστάδες αυτές σε αντίθεση με τις θηλές δεν φέρουν αγγειακό άξονα. Χαρακτηριστικά, οι νεοπλασματικές συστάδες επιδεικνύουν ένα ανεστραμμένο πρότυπο «μέσα-έξω», κατά το οποίο η προσαύλια επιφάνεια των νεοπλασματικών κυττάρων είναι στραμμένη προς το εξωτερικό της συστάδας, κάτι που γίνεται εμφανές ανοσοϊστοχημικά με τη χρώση EMA που βάφει μόνο την προσαύλια επιφάνεια των κυττάρων (εικόνα 11). Τα νεοπλασματικά κύτταρα έχουν ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και μέτρια πυρηνική πολυμορφία. Η μιτωτική τους δραστηριότητα κυμαίνεται από ήπια έως μέτρια. Συχνά παρατηρούνται ενδοαγγειακά νεοπλασματικά έμβολα.

Η πλειονότητα των νεοπλασμάτων αυτών είναι ER και PR θετικά (≈70%), ενώ ενίσχυση του HER2 επιδεικνύει το 30%. Κατά τη διάγνωση, το 50%-90% των όγκων αυτών έχει χορηγήσει ήδη μετάσταση σε λεμφαδένες. Η πρόγνωση κατά στάδιο δεν διαφέρει από εκείνη των NST καρκινωμάτων.



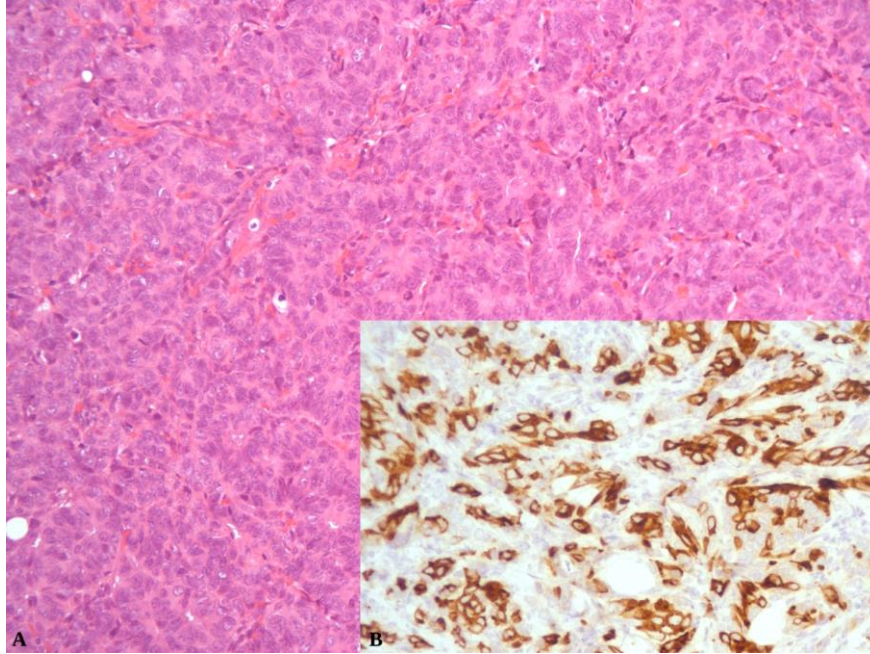
Εικόνα 11. A: Μικροθηλώδες καρκίνωμα μαστού, χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη, μεγέθυνση x200. B: Περιφερική (εντονότερη) χρώση των νεοπλασματικών κυττάρων.

➤ Καρκινώματα με νευροενδοκρινείς χαρακτήρες

Τα καρκινώματα με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση παρουσιάζουν όμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά με τους νευροενδοκρινείς όγκους του γαστρεντερικού και του αναπνευστικού συστήματος. Όλοι οι νεοπλασματικοί όγκοι εκφράζουν νευροενδοκρινείς δείκτες σε μικρό ή μεγάλο βαθμό. Τα μη ειδικού τύπου καρκινώματα του μαστού (NST), (εικόνα 12) ως και κάποια ειδικού τύπου (βλενώδες τύπου B) μπορεί να εκφράσουν νευροενδοκρινή διαφοροποίηση. Τα νεοπλάσματα αυτά αφορούν λιγότερο του 1% των καρκινωμάτων του μαστού και συνήθως απαντώνται στην 6^η-7^η δεκαετία της ζωής. Ιστολογικά διακρίνονται 3 διαφορετικοί υπότυποι: ο νευροενδοκρινής όγκος καλής διαφοροποίησης, το νευροενδοκρινές καρκίνωμα χαμηλής διαφοροποίησης/μικροκυτταρικό καρκίνωμα και το διηθητικό καρκίνωμα του μαστού με νευροενδοκρινή διαφοροποίηση (WHO, 2012).

Στα μη ειδικού ιστολογικού τύπου διηθητικά καρκινώματα του μαστού μπορεί να παρατηρηθεί νευροενδοκρινής διαφοροποίηση σε ποσοστό 30%. Σε ειδικού τύπου καρκινώματα παρατηρείται στο κυτταροβριθές (τύπου B) βλενώδες καρκίνωμα και στο συμπαγές θηλώδες καρκίνωμα. Ανοσοϊστοχημικά, οι χαμηλόβαθμοι

νευροενδοκρινείς όγκοι εκφράζουν χρωμογρανίνη (50%), συναπτοφυσίνη (16%), ενώ το NSE εκφράζεται απ' όλα τα χαμηλής διαφοροποίησης καρκινώματα. Ορμονικοί υποδοχείς εκφράζονται από την πλειονότητα των χαμηλόβαθμων νευροενδοκρινών όγκων (WHO, 2012).



Εικόνα 12. Α. NST καρκίνωμα με νευροενδοκρινείς χαρακτήρες, χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη, μεγέθυνση x200. Β: Έκφραση της συναπτοφυσίνης από τα νεοπλασματικά κύτταρα.

2.5 Σταδιοποίηση καρκίνου μαστού κατά TNM σύστημα-Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης

2.5.1 Στάδια καρκίνου του μαστού

Τα στάδια του καρκίνου του μαστού διακρίνονται με βάση το κατά πόσο ο καρκινικός όγκος είναι εντοπισμένος στο σημείο από όπου ξεκίνησε ή αν έχει επεκταθεί και σε άλλα σημεία του σώματος.

Η ταξινόμηση αυτή είναι γνωστή και ως TNM, (AJCC, 2018, Brierley, J., Gospodarowicz, M. & Wittekind, C, 2017) ακρωνύμιο των εξής όρων:

T: Tumor = Σταδιοποίηση μεγέθους αρχικού όγκου.

N: Node = Σταδιοποίηση επιχώριων λεμφαδένων. Εξάπλωση του καρκίνου στους λεμφαδένες.

M: Metastasis = Σταδιοποίηση απομακρυσμένων μεταστάσεων. Εξάπλωση του καρκίνου σε άλλα σημεία του σώματος.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται ο διαχωρισμός των τριών αυτών σταδίων σε επιμέρους κατηγορίες.

Πίνακας 4. Σύστημα TNM για την κατάταξη του καρκίνου του μαστού. Το σύστημα περιλαμβάνει επιπλέον υποκατηγορίες όγκων, ανάλογα με κάποια πιο συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των όγκων.

T (Tumor)	Tx	Μέγεθος όγκου που δεν μπορεί να προσδιοριστεί
	Tis	Καρκίνωμα <i>in situ</i>
	T1	Όγκος μεγέθους κάτω των 2cm
	T2	Όγκος μεγέθους μεταξύ 2cm και 5cm
	T3	Όγκος μεγέθους μεγαλύτερου των 5cm
	T4	Όγκος που επεκτείνεται στο θωρακικό τοίχωμα ή στο δέρμα του μαστού
N (Nodes)	Nx	Η ύπαρξη όγκου στους επιχώριους λεμφαδένες δεν μπορεί να προσδιοριστεί
	N0	Απουσία όγκου στους επιχώριους λεμφαδένες
	N1	Μετάσταση σε κινητούς σύστοιχους μασχαλιαίους λεμφαδένες
	N2	Μετάσταση στους σύστοιχους μασχαλιαίους λεμφαδένες που σχηματίζει συσσωματώματα ή έχει διηθήσει παρακείμενες δομές
	N3	Μετάσταση σε ομόπλευρους υποκλείδιους ή υπερκλείδιους ή σε ομόπλευρους έσω μαστικούς λεμφαδένες και στους μασχαλιαίους λεμφαδένες
M (Metastasis)	M0	Απουσία μεταστάσεων σε απομακρυσμένα σημεία του σώματος
	M1	Ύπαρξη μεταστάσεων σε απομακρυσμένα σημεία του σώματος

Η σταδιοποίηση (Carlson, R. W. et al. 2009), με βάση τους συνδυασμούς του συστήματος TNM, γίνεται ως εξής:

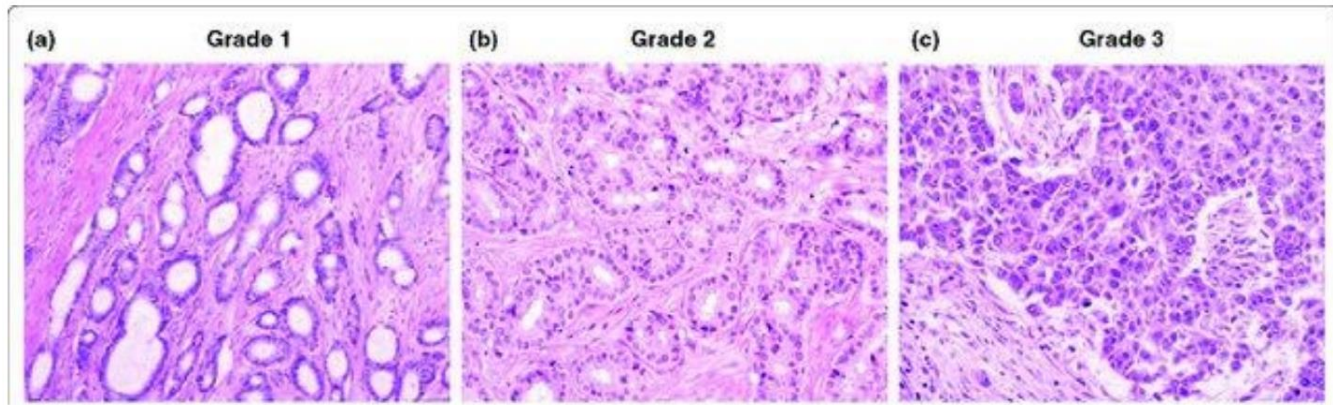
Πίνακας 5. Στάδια καρκίνου του μαστού με βάση τους συνδυασμούς της κατηγοριοποίησης TNM. *με όγκο μεγαλύτερο των 0,2mm ή/και περισσότερων από 200 κύτταρα και μικρότερο των 2,0 mm.

Στάδιο	Στάδιο T	Στάδιο N	Στάδιο M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0,T1	N1*	M0
IIA	T0,T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0,T1,T2	N2	M0
IIIB	T3	N1,N2	M0
IIIC	Οποιοδήποτε T	N3	M0
IV	Οποιοδήποτε T	Οποιοδήποτε N	M1

2.5.2 Ιστολογικός βαθμός διαφοροποίησης

Ο βαθμός διαφοροποίησης (WHO, 2012) δείχνει κατά πόσο έχουν διαφοροποιηθεί τα φυσιολογικά κύτταρα του μαστού, οπότε προκύπτουν οι εξής κατηγορίες:

- ❖ **Υψηλού βαθμού διαφοροποίηση (Grade 1):** Καρκινικά κύτταρα με σχετικά φυσιολογική όψη. Ο πολλαπλασιασμός τους είναι αργός και η διασπορά τους μικρή, συνεπώς η πρόγνωση για τον ασθενή είναι καλύτερη.
- ❖ **Μεσαίου βαθμού διαφοροποίηση (Grade 2):** Καρκινικά κύτταρα με χαρακτηριστικά ανάμεσα σε χαμηλού και υψηλού βαθμού διαφοροποίηση.
- ❖ **Χαμηλού βαθμού διαφοροποίηση (Grade 3):** Καρκινικά κύτταρα με μη φυσιολογικά χαρακτηριστικά. Ο πολλαπλασιασμός τους είναι ταχύς και η διασπορά τους έντονη, συνεπώς η πρόγνωση για τον ασθενή είναι κακή.



Εικόνα 13. Ιστολογική εικόνα των βαθμών διαφοροποίησης του καρκίνου του μαστού (Rakha EA et al, 2010)

2.5.3 Προσδιορισμός του Βαθμού Κακοήθειας (Grading)

Αν και θεωρείται πως ένα ενιαίο σύστημα ταξινόμησης δεν είναι δυνατό να εφαρμοστεί απόλυτα σε όλες τις περιπτώσεις καρκινωμάτων του μαστού, λόγω της μεγάλης πλειομορφίας τους, σήμερα, το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο σύστημα grading, είναι η τροποποίηση κατά Nottingham του συστήματος Scarff-Bloom-Richardson.

Πίνακας 6. Παράμετροι που λαμβάνονται υπ' όψιν στον προσδιορισμό του βαθμού κακοηθείας των καρκινωμάτων του μαστού.

Σωληνώδεις σχηματισμοί (% ποσοστό του όγκου που αποτελείται από σωληνώδεις δομές)	Βαθμολογία
>75%	1
10-75	2
<10%	3
Πυρηνική πλειομορφία	Βαθμολογία
Μικρά ομοιόμορφα κύτταρα	1
Μέτρια αύξηση μεγέθους και ποικιλομορφία	2
Εξέχουσα ποικιλομορφία	3
Αριθμός μιτώσεων (σε 10 μεγάλης μεγέθυνσης οπτικά πεδία, διάμετρος πεδίου 0,52mm)	Βαθμολογία
Μέχρι 7	1
8-14	2
>15	3

Ο βαθμός κακοηθείας (Grade) προκύπτει από το άθροισμα των παραπάνω βαθμολογιών. Η συσχέτιση του Grade με την επιβίωση έχει ως εξής:

Πίνακας 7. Υπολογισμός του βαθμού κακοηθείας και ποσοστά πενταετούς και επταετούς επιβίωσης.

Grade	Βαθμολογία	5ετής επιβίωση	7ετής επιβίωση
1	3-5	95	90
2	6-7	75	65
3	8-9	50	45

(Giuliano AE, Edge SB, Hortobagyi GN, 2018).

Breast Tumours

(ICD-O-3 C50)

Introductory Notes

The site is described under the following headings:

- Rules for classification with the procedures for assessing T, N, and M categories; additional methods may be used when they enhance the accuracy of appraisal before treatment
- Anatomical subsites
- Definition of the regional lymph nodes
- TNM clinical classification
- pTNM pathological classification
- G histopathological grading
- Stage

Rules for Classification

The classification applies only to carcinomas and concerns the male as well as the female breast. There should be histological confirmation of the disease. The anatomical subsite of origin should be recorded but is not considered in classification.

In the case of multiple simultaneous primary tumours in one breast, the tumour with the highest T category should be used for classification. Simultaneous *bilateral* breast cancers should be classified independently to permit division of cases by histological type.

The following are the procedures for assessing T, N, and M categories:

T categories Physical examination and imaging, e.g., mammography

N categories Physical examination and imaging

M categories Physical examination and imaging

Anatomical Subsites

1. Nipple (C50.0)
2. Central portion (C50.1)
3. Upper-inner quadrant (C50.2)
4. Lower-inner quadrant (C50.3)
5. Upper-outer quadrant (C50.4)
6. Lower-outer quadrant (C50.5)
7. Axillary tail (C50.6)

Regional Lymph Nodes

The regional lymph nodes are:

1. *Axillary* (ipsilateral): interpectoral (Rotter) nodes and lymph nodes along the axillary vein and its tributaries, which may be divided into the following levels:
 - a) *Level I* (low-axilla): lymph nodes lateral to the lateral border of pectoralis minor muscle
 - b) *Level II* (mid-axilla): lymph nodes between the medial and lateral borders of the pectoralis minor muscle and the interpectoral (Rotter) lymph nodes
 - c) *Level III* (apical axilla): apical lymph nodes and those medial to the medial margin of the pectoralis minor muscle, excluding those designated as subclavicular or infraclavicular

2. *Infraclavicular* (subclavicular) (ipsilateral)

3. *Internal mammary* (ipsilateral): lymph nodes in the intercostal spaces along the edge of the sternum in the endothoracic fascia

4. *Supraclavicular* (ipsilateral)

Note

Intramammary lymph nodes are coded as axillary lymph nodes level I. Any other lymph node metastasis is coded as a distant metastasis (M1), including cervical or contralateral internal mammary lymph nodes.

TNM Clinical Classification

T – Primary Tumour

TX	Primary tumour cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumour
Tis	Carcinoma in situ
Tis (DCIS)	Ductal carcinoma in situ
Tis (LCIS)	Lobular carcinoma in situ ^a
Tis (Paget)	Paget disease of the nipple not associated with invasive carcinoma and/or carcinoma in situ (DCIS and/or LCIS) in the underlying breast parenchyma. Carcinomas in the breast parenchyma associated with Paget disease are categorized based on the size and characteristics of the parenchymal disease, although the presence of Paget disease should still be noted.
T1	Tumour 2 cm or less in greatest dimension
T1mi	Microinvasion 0.1 cm or less in greatest dimension ^b
T1a	More than 0.1 cm but not more than 0.5 cm in greatest dimension
T1b	More than 0.5 cm but not more than 1 cm in greatest dimension
T1c	More than 1 cm but not more than 2 cm in greatest dimension
T2	Tumour more than 2 cm but not more than 5 cm in greatest dimension
T3	Tumour more than 5 cm in greatest dimension
T4	Tumour of any size with direct extension to chest wall and/or to skin (ulceration or skin nodules) ^c
T4a	Extension to chest wall (does not include pectoralis muscle invasion only)
T4b	Ulceration, ipsilateral satellite skin nodules, or skin oedema (including peau d'orange)
T4c	Both 4a and 4b
T4d	Inflammatory carcinoma ^d

Notes

^a The AJCC exclude Tis (LCIS).

^b Microinvasion is the extension of cancer cells beyond the basement membrane into the adjacent tissues with no focus more than 0.1 cm in greatest dimension. When there are multiple foci of microinvasion, the size of only the largest focus is used to classify the microinvasion. (Do not use the sum of all individual foci.) The

presence of multiple foci of microinvasion should be noted, as it is with multiple larger invasive carcinomas.

° Invasion of the dermis alone does not qualify as T4. Chest wall includes ribs, intercostal muscles, and serratus anterior muscle but not pectoral muscle.

° Inflammatory carcinoma of the breast is characterized by diffuse, brawny induration of the skin with an erysipeloid edge, usually with no underlying mass. If the skin biopsy is negative and there is no localized measurable primary cancer, the T category is pTX when pathologically staging a clinical inflammatory carcinoma (T4d). Dimpling of the skin, nipple retraction, or other skin changes, except those in T4b and T4d, may occur in T1, T2, or T3 without affecting the classification.

N – Regional Lymph Nodes

- NX Regional lymph nodes cannot be assessed (e.g., previously removed)
- N0 No regional lymph node metastasis
- N1 Metastasis in movable ipsilateral level I, II axillary lymph node(s)
- N2 Metastasis in ipsilateral level I, II axillary lymph node(s) that are clinically fixed or matted; or in clinically detected* ipsilateral internal mammary lymph node(s) in the *absence* of clinically evident axillary lymph node metastasis
- N2a Metastasis in axillary lymph node(s) fixed to one another (matted) or to other structures
- N2b Metastasis only in clinically detected* internal mammary lymph node(s) and in the *absence* of clinically detected axillary lymph node metastasis
- N3 Metastasis in ipsilateral infraclavicular (level III axillary) lymph node(s) with or without level I, II axillary lymph node involvement; or in clinically detected* ipsilateral internal mammary lymph node(s) with clinically evident level I, II axillary lymph node metastasis; or metastasis in ipsilateral supraclavicular lymph node(s) with or without axillary or internal mammary lymph node involvement
- N3a Metastasis in infraclavicular lymph node(s)
- N3b Metastasis in internal mammary and axillary lymph nodes
- N3c Metastasis in supraclavicular lymph node(s)

Notes

* Clinically detected is defined as detected by clinical examination or by imaging studies (excluding lymphoscintigraphy) and having characteristics highly suspicious for malignancy or a presumed pathological macrometastasis based on fine needle aspiration biopsy with cytological examination. Confirmation of clinically detected metastatic disease by fine needle aspiration without excision biopsy is designated with a (f) suffix, e.g. cN3a(f).

Excisional biopsy of a lymph node or biopsy of a sentinel node, in the absence of assignment of a pT, is classified as a clinical N, e.g., cN1. Pathological classification (pN) is used for excision or sentinel lymph node biopsy only in conjunction with a pathological T assignment.

M – Distant Metastasis

- M0 No distant metastasis
- M1 Distant metastasis

pTNM Pathological Classification

pT – Primary Tumour

The pathological classification requires the examination of the primary carcinoma with no gross tumour at the margins of resection. A case can be classified pT if there is only microscopic tumour in a margin.

The pT categories correspond to the T categories.

Note

When classifying pT the tumour size is a measurement of the invasive component. If there is a large in situ component (e.g., 4 cm) and a small invasive component (e.g., 0.5 cm), the tumour is coded pT1a.

pN – Regional Lymph Nodes

The pathological classification requires the resection and examination of at least the low axillary lymph nodes (level I) (see above). Such a resection will ordinarily include 6 or more lymph nodes. If the lymph nodes are negative, but the number ordinarily examined is not met, classify as pN0.

- pNX Regional lymph nodes cannot be assessed (e.g., previously removed, or not removed for pathological study)
- pN0 No regional lymph node metastasis*

Note

* Isolated tumour cell clusters (ITC) are single tumour cells or small clusters of cells not more than 0.2 mm in greatest extent that can be detected by routine H and E stains or immunohistochemistry. An additional criterion has been proposed to include a cluster of fewer than 200 cells in a single histological cross section. Nodes containing only ITCs are excluded from the total positive node count for purposes of N classification and should be included in the total number of nodes evaluated. (See [229], page 7.)

- pN1 Micrometastases; or metastases in 1 to 3 axillary ipsilateral lymph nodes; and/or in internal mammary nodes with metastases detected by sentinel lymph node biopsy but not clinically detected*
- pN1mi Micrometastases (larger than 0.2 mm and/or more than 200 cells, but none larger than 2.0 mm)
- pN1a Metastasis in 1–3 axillary lymph node(s), including at least one larger than 2 mm in greatest dimension
- pN1b Internal mammary lymph nodes not clinically detected
- pN1c Metastasis in 1–3 axillary lymph nodes and internal mammary lymph nodes not clinically detected
- pN2 Metastasis in 4–9 ipsilateral axillary lymph nodes, or in clinically detected* ipsilateral internal mammary lymph node(s) in the absence of axillary lymph node metastasis
- pN2a Metastasis in 4–9 axillary lymph nodes, including at least one that is larger than 2 mm
- pN2b Metastasis in clinically detected internal mammary lymph node(s), in the *absence* of axillary lymph node metastasis
- pN3
- pN3a Metastasis in 10 or more ipsilateral axillary lymph nodes (at least one larger than 2 mm) or metastasis in infraclavicular lymph nodes/ level III lymph nodes

pN3b	Metastasis in clinically detected* internal ipsilateral mammary lymph node(s) in the presence of positive axillary lymph node(s); or metastasis in more than 3 axillary lymph nodes and in internal mammary lymph nodes with microscopic or macroscopic metastasis detected by sentinel lymph node biopsy but not clinically detected	G Histopathological Grading For histopathological grading of invasive carcinoma the Nottingham Histological Score is recommended. ¹																																																				
pN3c	Metastasis in ipsilateral supraclavicular lymph node(s)																																																					
Post-treatment ypN:																																																						
<ul style="list-style-type: none"> Post-treatment yp 'N' should be evaluated as for clinical (pretreatment) 'N' methods (see Section N – Regional Lymph Nodes). The modifier 'sn' is used only if a sentinel node evaluation was performed after treatment. If no subscript is attached, it is assumed the axillary nodal evaluation was by axillary node dissection. The X classification will be used (ypNX) if no yp post-treatment SN or axillary dissection was performed N categories are the same as those used for pN. 																																																						
Notes * <i>Clinically detected</i> is defined as detected by imaging studies (excluding lymphoscintigraphy) or by clinical examination and having characteristics highly suspicious for malignancy or a presumed pathological macrometastasis based on fine needle aspiration biopsy with cytological examination. <i>Not clinically detected</i> is defined as not detected by imaging studies (excluding lymphoscintigraphy) or not detected by clinical examination.																																																						
pM – Distant Metastasis* pM1 Distant metastasis microscopically confirmed																																																						
Note * pM0 and pMX are not valid categories.																																																						
		<table border="1"> <tr> <td>Stage*</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Stage 0</td> <td>Tis</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>Stage IA</td> <td>T1^b</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>Stage IB</td> <td>T0,T1</td> <td>N1mi</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>Stage IIA</td> <td>T0,T1</td> <td>N1</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T2</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>Stage IIB</td> <td>T2</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T3</td> <td>N0</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>Stage IIIA</td> <td>T0,T1,T2</td> <td>N2</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T3</td> <td>N1,N2</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>Stage IIIB</td> <td>T4</td> <td>N0,N1,N2</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>Stage IIIC</td> <td>Any T</td> <td>N3</td> <td>M0</td> </tr> <tr> <td>Stage IV</td> <td>Any T</td> <td>Any N</td> <td>M1</td> </tr> </table>	Stage*				Stage 0	Tis	N0	M0	Stage IA	T1 ^b	N0	M0	Stage IB	T0,T1	N1mi	M0	Stage IIA	T0,T1	N1	M0		T2	N0	M0	Stage IIB	T2	N0	M0		T3	N0	M0	Stage IIIA	T0,T1,T2	N2	M0		T3	N1,N2	M0	Stage IIIB	T4	N0,N1,N2	M0	Stage IIIC	Any T	N3	M0	Stage IV	Any T	Any N	M1
Stage*																																																						
Stage 0	Tis	N0	M0																																																			
Stage IA	T1 ^b	N0	M0																																																			
Stage IB	T0,T1	N1mi	M0																																																			
Stage IIA	T0,T1	N1	M0																																																			
	T2	N0	M0																																																			
Stage IIB	T2	N0	M0																																																			
	T3	N0	M0																																																			
Stage IIIA	T0,T1,T2	N2	M0																																																			
	T3	N1,N2	M0																																																			
Stage IIIB	T4	N0,N1,N2	M0																																																			
Stage IIIC	Any T	N3	M0																																																			
Stage IV	Any T	Any N	M1																																																			
		Notes ^a The AJCC also publish a prognostic group for breast tumours. ^b T1 includes T1mi.																																																				
		Reference 1 Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. <i>Histopathology</i> 1991; 19: 403-410.																																																				

Εικόνα 14. WHO σταδιοποίηση καρκίνου μαστού κατά TNM σύστημα (Brierly JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C, 2017, UICC, 2019)

2.6 Μοριακοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού

Οι προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού επιτρέπουν τον υπολογισμό της πιθανότητας επανεμφάνισης της νόσου μετά την αρχική θεραπεία, καθώς επίσης και την πιθανότητα θανάτου από τη νόσο, παρέχουν, στην ουσία, πληροφορίες για την επιθετικότητα της νόσου και τους κινδύνους που αυτή ενέχει για τον ασθενή στο μέλλον. Εδραιωμένοι κλινικοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού θεωρούνται το μέγεθος του πρωτοπαθούς όγκου, η διήθηση ή όχι στους λεμφαδένες, ο ιστολογικός τύπος και ο βαθμός ιστολογικής διαφοροποίησης καθώς και η διήθηση αιμοφόρων αγγείων ή λεμφαγγείων κατά την αρχική μικροσκοπική εξέταση του πρωτοπαθούς όγκου (Ζαφράκας, et al., 2009).

Οι νεότεροι μοριακοί προγνωστικοί παράγοντες στον καρκίνο του μαστού διακρίνονται με βάση τα βιολογικά χαρακτηριστικά που προσδίδουν στον πρωτοπαθή όγκο. Η ανίχνευση με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας τεσσάρων δεικτών, των υποδοχέων οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR), της

ογκοπρωτεΐνης HER2 (c-erbB2) και του Ki67 (MIB1) είναι αναπόσπαστο στοιχείο της διαγνωστικής Παθολογικής Ανατομικής (Hammond & Hayes, 2010).

Από τους δείκτες αυτούς, ο περισσότερο εδραιωμένος είναι η υπερέκφραση του γονιδίου ERBB2 ή HER2. Κύρια δράση του αποτελεί η προαγωγή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και η υπερέκφραση πρωτεϊνών που ελέγχουν τη διηθητική και μεταστατική ικανότητα του πρωτοπαθούς όγκου (Ζαφράκας, et al., 2009).

2.7 Μοριακή ταξινόμηση καρκίνου του μαστού

Η μοριακή ταξινόμηση της νόσου έγινε με βάση τη γονιδιακή έκφραση, σε τέσσερις υπότυπους και προκύπτει από συνδυασμούς των βιοδεικτών ER, PR και HER2 (πίνακας 8).

Πίνακας 8. Μοριακή Κατάταξη Καρκίνου του Μαστού (Bettaieb, et al., 2017)

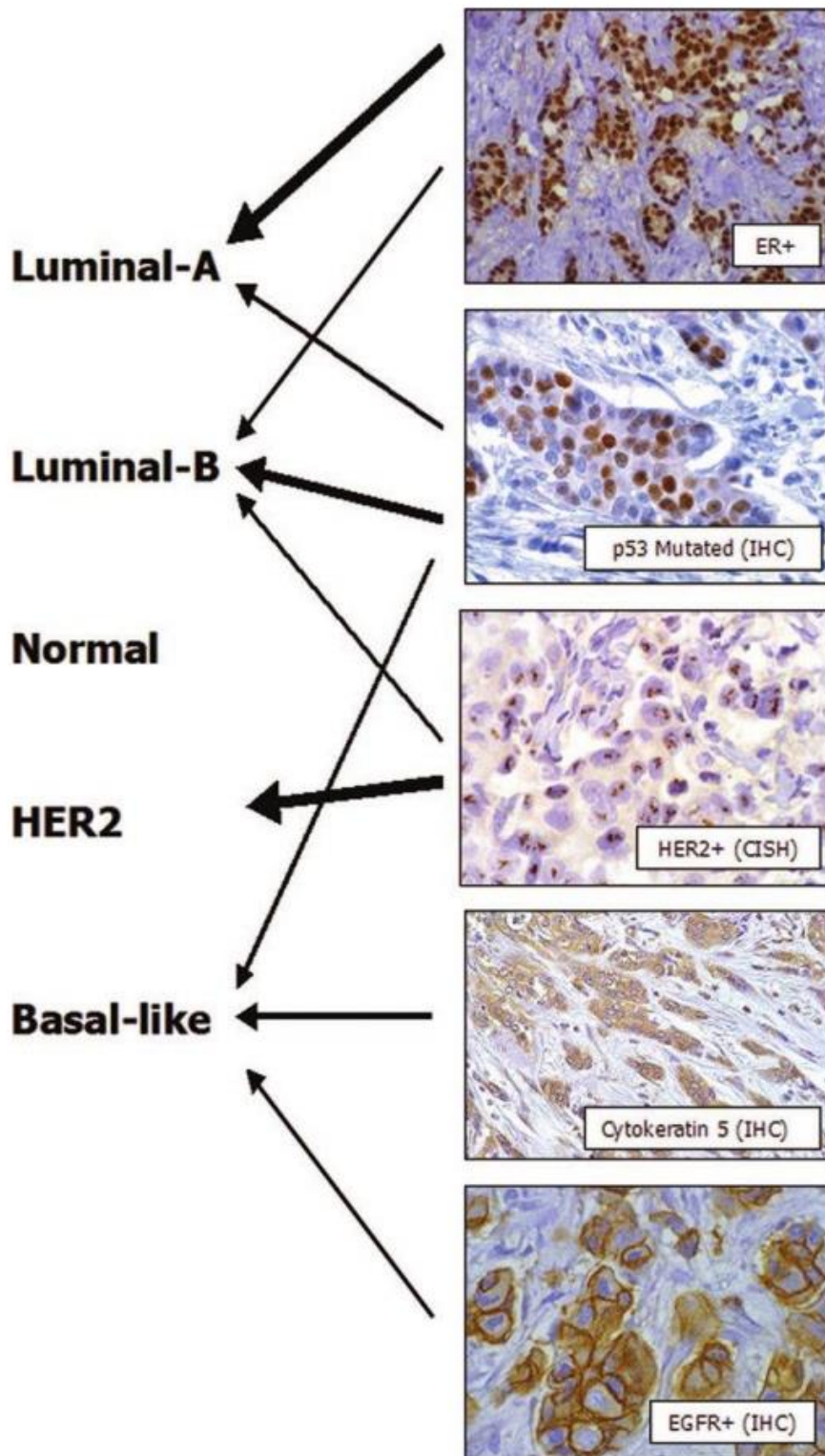
Μοριακοί υπότυποι	Συχνότητα	Γονιδιακή έκφραση	Βαθμός κακοήθειας	Πρόγνωση
Αυλικός τύπος (Luminal)	60%			
Αυλικός υπότυπος-A		ER+, PR+, HER2-	Χαμηλός	Ευνοϊκή
Αυλικός υπότυπος-B		Χαμηλή p53 μετάλλαξη, ER+, PR+, HER2+	Υψηλός	Λιγότερο ευνοϊκή
Βασικού τύπου (τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού)	15-20%	ER-, PR-, HER2-	Συχνά ιστολογικού βαθμού (grade) 3	Πτωχή (χημειοευαίσθητη)
HER2+	25%	HER2+	Υψηλός	Περισσότερο επιθετική μορφή

				(anti-HER2 ευαίσθητη)
--	--	--	--	----------------------------------

Τα καρκινώματα αυλικού τύπου (Luminal) αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα. Κλινικά, παρατηρούνται συχνότερα σε γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας και χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερο προφίλ γονιδιακής έκφρασης. Συγκεκριμένα παρουσιάζουν υψηλή έκφραση του γονιδίου ERα και των επαγόμενων από αυτό γονιδίων. Στην ομάδα αυτή συμπεριλαμβάνονται δύο υποομάδες, οι αυλικού τύπου (luminal) Α και Β. Τα τύπου Β καρκινώματα χαρακτηρίζονται από χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης του ERα και των ERα συσχετιζόμενων γονιδίων και υψηλότερη έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό συγκρινόμενα με τα τύπου Α, ενώ επιπλέον είναι δυνατό να εκφράζουν HER1 και HER2.

Εμφανίζουν επίσης χαμηλότερη διαφοροποίηση, αλλά σημαντικά υψηλότερη συχνότητα λεμφαδενικής διήθησης. Τέλος, εξαιρετικά σημαντική κρίνεται η κλινική διάκριση μεταξύ των δύο υποομάδων, **καθώς οι όγκοι τύπου Β φαίνεται να ωφελούνται από τη χρήση χημειοθεραπείας σε αντίθεση με τους όγκους τύπου Α που δείχνουν κακή ανταπόκριση, ενώ φαίνεται να ωφελούνται επαρκώς μόνο με ορμονοθεραπεία.**

Τα καρκινώματα τύπου HER2 χαρακτηρίζονται από την απουσία ή χαμηλή έκφραση του γονιδίου ERα και των επαγόμενων από αυτό, γονιδίων και υψηλό ποσοστό έκφρασης του γονιδίου HER2 και άλλων παρακείμενων γονιδίων που περιλαμβάνονται στο γενετικό τόπο που ενισχύεται, στη χρωμοσωμική περιοχή 17q12-q21. Κλινικά, οι όγκοι της ομάδας αυτής είναι κατ' εξοχήν χαμηλής διαφοροποίησης με υψηλή συχνότητα σπλαχνικών και λεμφαδενικών μεταστάσεων, σε διπλάσιο σχεδόν ποσοστό από αυτό των όγκων αυλικού τύπου. Εμφανίζουν συσχέτιση με κακή πρόγνωση λόγω του υψηλού κινδύνου πρώιμων υποτροπών που έχουν όμως μειωθεί σημαντικά με την εφαρμογή στοχευμένης θεραπείας (Herceptin), (Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής, 1999).



Εικόνα 15. Ανοσοϊστοχημεία των μοριακών τύπων του καρκίνου του μαστού (Ross, J. S, et al. 2015)

2.8 Διάγνωση καρκίνου μαστού

Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες της American Cancer Society, συνιστάται η ετήσια εφαρμογή της μαστογραφίας στον ασυμπτωματικό γυναικείο πληθυσμό, ηλικίας 45-54 ετών και ο διετής μαστογραφικός έλεγχος στις γυναίκες άνω των 55 ετών. Αξίζει να σημειώσουμε ότι δεν κρίνεται απαραίτητη η ψηλάφηση από το θεράποντα ιατρό, στα πλαίσια του προληπτικού ελέγχου του γενικού πληθυσμού. Σε γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, προτείνεται ετήσιος έλεγχος με συνδυασμένη χρήση μαγνητικής τομογραφίας και μαστογραφίας από την ηλικία των 30 ετών.

Η διάγνωση του καρκίνου του μαστού βασίζεται στην αμφοτερόπλευρη ψηλάφηση των μαστών και των περιοχικών λεμφαδένων και στην εφαρμογή απεικονιστικών μεθόδων, όπως η μαστογραφία, το υπερηχογράφημα και η μαγνητική τομογραφία. Σε κάθε περίπτωση, η εγκυρότητα της διάγνωσης διασφαλίζεται αποκλειστικά και μόνο με την παθολογοανατομική εξέταση του βιοπτικού υλικού (Senkus E., et al. 2015).

Ιστορικά ο καρκίνος του μαστού διαγιγνώσκονταν από την ύπαρξη ψηλαφητής μάζας συνηθέστατα δε σε προχωρημένο στάδιο. Σήμερα, η ευρύτατη χρήση της μαστογραφίας, και η διάδοση των προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου, επέτρεψε την ανίχνευση σε μεγάλο ποσοστό καρκίνων σε μικρότερο στάδιο (Shapiro S, 1997).

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Καρκίνου (ACS), οι γυναίκες άνω των 20 ετών θα πρέπει να υποβάλλονται σε φυσική εξέταση ανά 3 χρόνια. Μετά την ηλικία των 40 ετών ξεκινά ο ετήσιος έλεγχος με μαστογραφία. Η μαστογραφία πρέπει να γίνεται ετησίως μετά την ηλικία των 50, ενώ ο ετήσιος μαστογραφικός έλεγχος πρέπει να συνεχίζεται, όσο η φυσική κατάσταση της γυναίκας της το επιτρέπει ανεξάρτητα από την ηλικία (Printz C, 2016).

Η προληπτική Μαστογραφία θεωρείται η πιο αξιόπιστη μέθοδος έγκαιρης διάγνωσης του καρκίνου του μαστού. Η αξία της μαστογραφίας έγκειται στο γεγονός της ανακάλυψης πρώιμων καρκίνων, όπου η παρέμβαση έχει την δυνατότητα να τροποποιήσει την κλινική έκβαση (de Koning HJ, Boer R, Warmerdam PG, et al. 1995).

Το 1971, οι Shapiro και συνεργάτες ανακοίνωσαν την σημαντική μείωση της θνητότητας από τον καρκίνο του μαστού σε γυναίκες ηλικίας 40-69 ετών που υποβάλλονται τακτικά σε μαστογραφία και κλινική εξέταση (Shapiro S, Strax P, Venet L, 1971).

Ο μαστογραφικός έλεγχος διακρίνεται στην μαστογραφία προσυμπτωματικού ελέγχου (screening), η οποία αποτελεί την μέθοδο ελέγχου του πληθυσμού των γυναικών χωρίς σημεία ή συμπτώματα καρκίνου του μαστού και στην διαγνωστική μαστογραφία. Η διαγνωστική μαστογραφία συνίσταται σε ειδικές λήψεις για καλύτερη απεικόνιση συγκεκριμένων περιοχών ενδιαφέροντος, εντοπιστικές λήψεις ή μεγεθυντικές λήψεις για τον καλύτερο χαρακτηρισμό βλαβών (π.χ. μικροαποτιτανώσεων). Ο επιπρόσθετος έλεγχος κάποιου ευρήματος γίνεται με τη βοήθεια των υπερήχων και της μαγνητικής τομογραφίας (Volker Barth, 2013).

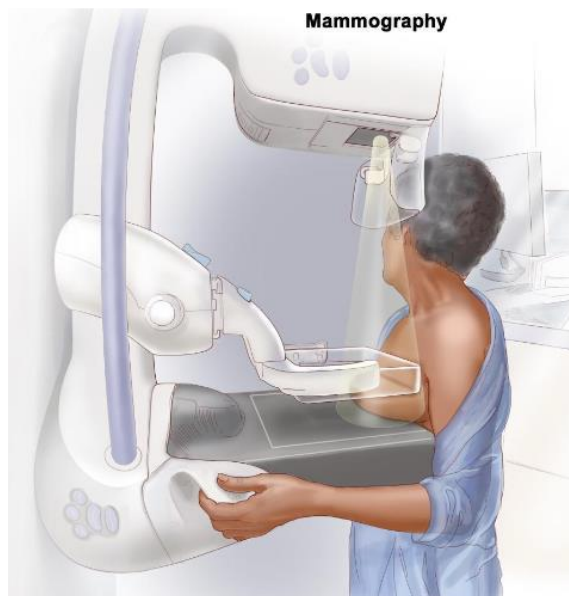
Η αξιολόγηση των μαστογραφικών ευρημάτων πρέπει να γίνεται με ένα ομοιόμορφο και κατανοητό τρόπο. Για αυτό το λόγο έχει δημιουργηθεί μία διεθνώς αποδεκτή ταξινόμηση, η οποία αναφέρεται σαν BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System).

Πίνακας 9. Κατηγοριοποίηση μαστογραφικών ευρημάτων κατά BI-RADS

Κατηγορία	Σύσταση	Πιθανότητα Κακοήθειας
0:Μη ολοκληρωμένος έλεγχος	Συμπληρωματικός έλεγχος	-
1: Φυσιολογικό	Περιοδικός έλεγχος	0 %
2: Καλοήγη αλλοίωση	Περιοδικός έλεγχος	0 %
3: Πιθανώς καλοήγη αλλοίωση	Επανελέγχος σε μικρό χρονικό διάστημα	≤2 %
4:Υποπτη αλλοίωση	Συνίσταται Βιοπτικός έλεγχος	>2 to 95 percent
5: Πιθανών κακοήγη βλάβη	Βιοψία η χειρουργική εξαίρεση	(a)Χαμηλού ρίσκου (b) Ενδιάμεσου ρίσκου (c) Υψηλού ρίσκου
6: Διαγνωσμένη με βιοψία κακοήθεια	Θεραπεία	≥95 %

Η απλή μαστογραφία απαιτεί μία μικρή ποσότητα ακτινοβολίας. Η προσθετική επίδραση της ακτινοβολίας στο μαστό έχει ενοχοποιηθεί για την αύξηση της συχνότητας του καρκίνου του μαστού. Μεγάλες μελέτες έχουν αναδείξει ότι η ετήσια μαστογραφία έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της επιβίωσης των γυναικών ηλικίας μεγαλύτερης άνω των 50, που υποβάλλονται σε τακτικό έλεγχο, λόγω της πρόωμης ανίχνευσης του καρκίνου παρά την αύξηση σε μικρό ποσοστό του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του μαστού από την μαστογραφία (131-132). Η επίδραση της μαστογραφίας στο προσδόκιμο επιβίωσης σε ασθενείς ηλικίας 40-49, δεν έχει όπως φαίνεται από μεγάλες μελέτες την ίδια αποτελεσματικότητα (133-134).

Τα τελευταία χρόνια έχει προταθεί η αντικατάσταση της απλής από την ψηφιακή μαστογραφία, όπου πλεονεκτεί στην μείωση της δόσης που προσλαμβάνει ο μαζικός αδένας, ενώ επιτρέπει καλύτερη επεξεργασία της μαστογραφικής εικόνας και ευκολότερη αρχειοθέτηση με μειονέκτημα, τη μικρότερη ανάλυση της ψηφιακής εικόνας έναντι του φιλμ (136).



Εικόνα 16. Κεφαλουραία λήψη μαστογραφίας/ CC

[\(https://www.bestrong.org.gr/el/cancer/typesofcancer/breastcancer/\)](https://www.bestrong.org.gr/el/cancer/typesofcancer/breastcancer/)

2.8.1 Υπερηχογράφημα μαστών

Ο υπέρηχος του μαστού έχει αναδειχθεί τα τελευταία χρόνια, λόγω της εξέλιξης της τεχνολογίας ως σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο επικουρικό της μαστογραφίας. Ο υπέρηχος δεν περιλαμβάνεται στα πρωτόκολλα μαζικού

προσυμπτωματικού ελέγχου (Berg WA et al, 2008). Η στοχευμένη υπερηχογραφική εκτίμηση χρησιμοποιείται για να αξιολογηθούν συγκεκριμένες περιοχές ενδιαφέροντος. Ο υπέρηχος συνδράμει στη διαγνωστική μαστογραφία στην εκτίμηση ογκιδίων, ψηλαφητών ευρήματων, ασυμμετρίας του παρεγχύματος και εστιακές διαταραχές αρχιτεκτονικής.

Η κύρια χρήση του υπέρηχου είναι η διαπίστωση της ύπαρξης ή μη κυστικής ογκόμορφης αλλοίωσης που ανέδειξε η κλινική εξέταση και η μαστογραφία (Stavros AT, Rapp CL, Parker SH, 2003, Somasundar P, 2006). Επίσης, ο υπέρηχος έχει σημαντικό ρόλο στην καθοδήγηση των επεμβατικών πράξεων, δηλαδή της βιοψίας με λεπτή βελόνη, τη λήψη με βελόνα ιστολογικού δείγματος (core biopsy), αλλά και τη σήμανση της βλάβης με συρμάτινο οδηγό για τη μετέπειτα χειρουργική εξαίρεση (Vlastos G, Verkoijen HM, 2007, Youk JH et al, 2011, Melani E et al, 1995).

Ο ιατρικός υπέρηχος παρουσίασε εκτεταμένες βελτιώσεις στην τεχνολογία και στην ποιότητα της εικόνας κατά τη διάρκεια της προηγούμενης δεκαετίας, όμως όσον αφορά την διερεύνηση των παθήσεων του μαστού παραμένουν οι σημαντικότερες ενδείξεις του, ως η πιο δόκιμη μέθοδος για τη διαφοροδιάγνωση των κυστικών βλαβών από συμπαγής μάζες καθώς και η καθοδήγηση επεμβατικών πράξεων, δηλαδή βιοψίας με λεπτή βελόνη, λήψη με βελόνα ιστολογικού δείγματος (core biopsy), αλλά και σήμανση της βλάβης με συρμάτινο οδηγό για τη μετέπειτα χειρουργική εξαίρεση (Houssami N, Brennan M, French J, Fitzgerald P. 2005).

2.8.2 Μαγνητική τομογραφία μαστών (MRI)

Η πρώτη εφαρμογή της απεικόνισης μαγνητικού συντονισμού (MRI) στην ανίχνευση του καρκίνου του μαστού παρουσιάστηκε για πρώτη φορά στα τέλη της δεκαετίας του 1980 σε γυναίκες με αποδεδειγμένο καρκίνο, μέσω βιοψίας. Με την εξέλιξη της τεχνολογίας, η μαγνητική μαστογραφία έγινε πολύτιμο διαγνωστικό εργαλείο στη διερεύνηση ύποπτων βλαβών (Paulus DD, 1987).

Αν και είναι εξαιρετικά ευαίσθητη εξέταση, για την ανίχνευση κυρίως του διηθητικού καρκίνου το κύριο μειονέκτημα είναι η χαμηλή ειδικότητα. Η ειδικότητα της MRI κυμαίνεται από 37% έως 96%, ανάλογα με την βλάβη. Ιδιαίτερα σε νεαρές γυναίκες, η MRI έχει δυσκολία στη διάκριση μεταξύ των καρκίνων και των καλοήθων αλλοιώσεων, όπως ινοαδενωμάτων, αδένωσης ή ακόμη και από το φυσιολογικό παρέγχυμα. Η εφαρμογή των ενδοφλέβιων παραμαγνητικών ουσιών και η καταγραφή της κινητικής της ενίσχυσης αύξησε την ευαισθησία της μεθόδου που

είναι περίπου 94-99% για τους διηθητικούς καρκίνους του μαστού και 50-80% για τους in situ καρκίνους (Kriege M et al, 2004). Επίσης, η MRI έχει μεγάλη ευαισθησία για την πρόιμη διάγνωση σε γυναίκες με κληρονομική προδιάθεση (Argus A, Mahoney MC, 2011).

Συμπερασματικά, η MRI έχει ρόλο στη διάγνωση του καρκίνου του μαστού για την περαιτέρω αξιολόγηση ύποπτων στη μαστογραφία, αλλοιώσεων, σε ασθενείς που είναι φορείς μετάλλαξης των γονιδίων BRCA ή έχουν πολύ υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου, όπως επικυρώνεται από τα μοντέλα εκτίμησης του ρίσκου, π.χ. το μοντέλο Gail (Diguisto C et al, 2015).

2.8.3 Βιοψία ογκόμορφων αλλοιώσεων του μαστού

Η χρήση επιχρισμάτων που λαμβάνονται με αναρρόφηση για διαγνωστικούς σκοπούς, αναφέρθηκε από τον Stewart ήδη από το 1933 (Stewart F.W, 1933). Η παρακέντηση με λεπτή βελόνη, που συνοδεύεται από κυτταρολογικό έλεγχο του επιχρίσματος (FNA) και η βιοψία ιστοτεμαχιδίου με βελόνη (core biopsy) αποτελούν στοιχεία της τριπλής εξέτασης μίας ύποπτης βλάβης και ερμηνεύονται σε συσχέτιση με την κλινική εικόνα και τα απεικονιστικά ευρήματα (Willems SM, van Deurzen CH, van Diest PJ, 2012).

2.9 Βιοδείκτες καρκίνου του μαστού

❖ Προγνωστικοί βιοδείκτες

Ο καρκίνος του μαστού είναι πολύπλοκη νόσος, λόγω της βιολογικής ετερογένειας, της τάσης απόκτησης χημειοανθεκτικότητας και της παρουσίας αρκετών μοριακών μηχανισμών, οι οποίοι μέσω ενδοκρινών, αυτοκρινών ή παρακρινών μονοπατιών επηρεάζουν την αύξηση, την εξέλιξη και την ανάπτυξη μεταστάσεων. Οι λόγοι αυτοί εξηγούν, γιατί το TNM ή άλλες κλινικοπαθολογοανατομικές ταξινομήσεις δεν παρουσιάζουν απόλυτη προγνωστική αξία. Πρέπει λοιπόν να προσδιορισθούν μοριακοί παράγοντες που να σχετίζονται με μεγαλύτερη ή μικρότερη επιβίωση, ανεξάρτητα της θεραπείας (προγνωστικοί δείκτες) ή να υποδεικνύουν ασθενείς, οι οποίες θα ωφεληθούν λιγότερο ή περισσότερο από τη θεραπεία (προβλεπτικοί δείκτες).

❖ Χαρακτηριστικά ενός χρήσιμου προγνωστικού δείκτη στον καρκίνο του μαστού:

Ένας δείκτης έχει προγνωστική αξία, εφόσον ο καθορισμός του κατά τη διάγνωση, δίνει πληροφορίες αναφορικά με τη φυσική ιστορία της νόσου.

❖ **Κλινική χρήση ενός προγνωστικού δείκτη:**

- ✓ Δίδει απάντηση στο ερώτημα των ασθενών σχετικά με τη μελλοντική εξέλιξη της νόσου τους,
- ✓ Καθορίζει την πιθανότητα υποτροπής και/ή θανάτου μετά τη χειρουργική θεραπεία,
- ✓ Οδηγεί στη λήψη απόφασης για τις μεθόδους και τα μεσοδιαστήματα παρακολούθησης,
- ✓ Εντοπίζει μεταξύ ασθενών του αυτού σταδίου, υποκατηγορίες ασθενών με διαφορετική έκβαση.

❖ **Προϋποθέσεις:**

- ✓ Ένας αμιγής προγνωστικός δείκτης πρέπει να εξετάζεται σε σειρές ασθενών που δε λαμβάνουν συστηματική θεραπεία, προκειμένου οι πληροφορίες που λαμβάνονται να αφορούν στη φυσική ιστορία της νόσου.
- ✓ Ένας δείκτης ο οποίος σχετίζεται με ένα μοριακό μηχανισμό που συμμετέχει στην αύξηση ή μετάσταση ενός όγκου, έχει κλινική χρησιμότητα, εφόσον προσθέτει στατιστικά σημαντικές ανεξάρτητες προγνωστικές πληροφορίες, όταν αξιολογείται με σύστημα πολυπαραγοντικής ανάλυσης, στο οποίο περιλαμβάνονται οι συμβατικές κλινικοπαθολογιοανατομικές παράμετροι, στο πλαίσιο προοπτικών μελετών, όπου χρησιμοποιούνται ομάδες μαρτύρων.

❖ **Χαρακτηριστικά ενός χρήσιμου προβλεπτικού δείκτη στον καρκίνο του μαστού:**

Ένας δείκτης έχει προβλεπτική αξία, εφόσον ο καθορισμός του πριν από μια συγκεκριμένη θεραπεία, δίδει πληροφορίες για την πιθανότητα η ασθενής να ωφεληθεί ή όχι από τη θεραπεία αυτή.

❖ **Κλινική χρήση ενός προβλεπτικού δείκτη:**

- ✓ Προβλέπει την ανταπόκριση ή την αντοχή σε συγκεκριμένη θεραπεία.
- ✓ Βελτιώνει την εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση, επιλέγοντας τη βέλτιστη θεραπευτική αγωγή, στην οποία ο όγκος θα πρέπει να ανταποκριθεί.
- ✓ Απαλλάσσει τους ασθενείς από μη αναγκαία έκθεση στην τοξικότητα και στις παρενέργειες των θεραπευτικών αγωγών, στις οποίες οι αντίστοιχοι όγκοι θα παρουσιάσουν αντοχή.

❖ **Προϋποθέσεις:**

- ✓ **Νεοεπιχειρητική θεραπεία:** Ένας νέος προβλεπτικός δείκτης πρέπει να εξετάζεται σε σειρές ασθενών κατάλληλες για μελέτες προεγχειρητικής

θεραπείας. Η ανάλυση της σχέσης ανάμεσα στην έκφραση/στα επίπεδα ενός δείκτη και σε τοποπεριοχικές μετρήσιμες αλλοιώσεις, μπορεί να αξιολογείται σε βραχύ χρονικό διάστημα. Ωστόσο, πρέπει να επιβεβαιώνεται εάν η αντικειμενική απάντηση προβλέπει μακροχρόνια κλινική έκβαση.

- ✓ **Επικουρική θεραπεία:** Ένας νέος προβλεπτικός δείκτης μπορεί να εξετάζεται σε ασθενείς που λαμβάνουν επικουρική θεραπεία. Η ανάλυση της συσχέτισης ανάμεσα στην έκφραση ή στα επίπεδα του δείκτη και στην κλινική έκβαση (ελευθέρα νόσου επιβίωση, ολική επιβίωση) απαιτεί μακροχρόνια παρακολούθηση και προοπτικές κλινικές μελέτες με χρήση ομάδων μαρτύρων.

Σύμφωνα με ομάδα κλινικών ιατρών, παθολογοανατόμων και στατιστικολόγων, το Κολλέγιο των Παθολογοανατόμων της Αμερικής (1999), ταξινόμησε τους προγνωστικούς και προβλεπτικούς παράγοντες του καρκίνου του μαστού σε τρεις κατηγορίες:

- ✓ **Κατηγορία I:** Παράγοντες με αποδεδειγμένη προγνωστική αξία και χρησιμότητα στην αντιμετώπιση των ασθενών: TNM σταδιοποίηση, ιστολογικός βαθμός κακοηθείας, ιστολογικός τύπος, μιτωτικοί δείκτες και έκφραση ορμονικών υποδοχέων.
- ✓ **Κατηγορία II:** Παράγοντες, οι οποίοι έχουν εκτενώς μελετηθεί βιολογικά και κλινικά, αλλά η αξία τους πρέπει να τεκμηριωθεί με στατιστικές μελέτες: c-erbB-2 (Her2-neu), δείκτες πολλαπλασιασμού, λεμφική και αγγειακή διήθηση και βλάβη στο γονίδιο p53.
- ✓ **Κατηγορία III:** Υπόλοιποι παράγοντες, οι οποίοι δεν έχουν μελετηθεί ικανοποιητικά: πλοειδία DNA, μικροαγγειακή πυκνότητα, υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού (TGF)- α , bcl-2, pS2 και καθεψίνη D (Fitzgibbons et al, 2000).

Στην ανίχνευση και τη θεραπεία ατόμων με διάφορους τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού, οι βιοδείκτες γίνονται όλο και πιο σημαντικοί. Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού, **οι βιοδείκτες είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι για τον εντοπισμό ατόμων σε οικογένειες υψηλού κινδύνου, που είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν τη νόσο, για τον προσδιορισμό της πρόγνωσης κατά τη στιγμή της αρχικής διάγνωσης, την επιλογή της καλύτερης συστηματικής θεραπείας, την μετεγχειρητική παρακολούθηση και την παρακολούθηση της θεραπείας σε προχωρημένη ασθένεια** (Kutomi, G., et al. 2017).

Οκτώ διακριτοί δείκτες όγκου που σχετίζονται με πρωτεΐνες για τον καρκίνο του μαστού προτάθηκαν από την Αμερικανική Εταιρεία Κλινικής Ογκολογίας (ASCO): ενεργοποιητής πλασμινογόνου ουροκινάσης (uPA), CA 15-3, CA 27.29, καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο, υποδοχέας οιστρογόνου (ER), υποδοχέας προγεστερόνης (PR), υποδοχέας ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER2) και αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου (PAI)-1.

Στους βιοδείκτες για το σχεδιασμό της θεραπείας περιλαμβάνονται οι: ER, PR και HER2, ενώ οι βιοδείκτες για την αξιολόγηση του κινδύνου υποτροπής περιλαμβάνουν το uPA και το PAI-1. Επιπλέον, η p53, η καθεψίνη D, η κυκλίνη E και η καλλιкреΐνη-14 είναι πιθανοί δείκτες.

Η θεραπεία για διάφορα είδη καρκίνου του μαστού αναπτύσσεται πλέον καθημερινά και βασίζεται στους ορμονικούς υποδοχείς του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα τύπου 2 (HER2) και Ki-67. Αλλά τα κλινικά αποτελέσματα δεν είναι πάντα προϊόν αλγορίθμων θεραπείας.

Ως εκ τούτου, είναι απαραίτητοι προγνωστικοί παράγοντες προκειμένου να φτάσουμε σε πιο ακριβείς προγνώσεις και να αυξήσουμε την αποτελεσματικότητα της θεραπείας, η οποία θα βελτιώσει περαιτέρω την πρόγνωση του καρκίνου του μαστού. Θα ήταν σε θέση να αντιμετωπιστούν κατάλληλα τα σχετικά άτομα, οδηγώντας σε εξαιρετικά θεραπευτικά αποτελέσματα, εάν μπορούσαν να βρεθούν τέτοιοι βιοδείκτες. Παλαιότερες έρευνες μορφολογικών χαρακτηριστικών έχουν προσφέρει τη βάση για την προγνωστική πρόβλεψη μέχρι αυτό το σημείο (Mishra A, Verma M, 2010).

Πίνακας 10. Ταξινόμηση ασθενών με εγχειρήσιμο καρκίνο μαστού σε ομάδες κινδύνου (Goldhirsch et al, 2005)

Ομάδα κινδύνου	Χαρακτηριστικά Νόσου / Ασθενών
<i>Χαμηλού</i>	Αρνητικοί λεμφαδένες και όλα τα κάτωθι <ul style="list-style-type: none"> • $pT \leq 2\text{cm}$ • Βαθμός κακοήθειας 1 • Απουσία περικαρκινικής αγγειακής διήθησης • Απουσία υπερέκφρασης ή ενίσχυση του HER-2 • Ηλικία ≥ 35 ετών
<i>Ενδιάμεσου</i>	Αρνητικοί λεμφαδένες και τουλάχιστον ένα από τα κάτωθι <ul style="list-style-type: none"> • $pT > 2\text{ cm}$ • Βαθμός κακοήθειας 2-3* • Περικαρκινική αγγειακή διήθηση • Υπερέκφραση ή ενίσχυση HER-2 • Ηλικία < 35 ετών <p style="text-align: center;">Ή</p> Θετικοί λεμφαδένες (1-3) και <ul style="list-style-type: none"> • Απουσία υπερέκφρασης ή ενίσχυσης HER-2
<i>Υψηλού</i>	Θετικοί λεμφαδένες (1-3) και <ul style="list-style-type: none"> • Υπερέκφραση ή ενίσχυση HER-2 Θετικοί λεμφαδένες (≥ 4)

*Ιστολογικός και/ή πυρηνικός βαθμός κακοήθειας

Οι υποδοχείς οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR) αποτελούν τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους προβλεπτικούς δείκτες και αναμφίβολα, αποτελούν ένα χρήσιμο εργαλείο στην αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού. Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικάνικης Εταιρείας Κλινικής Ογκολογίας (American Society of Clinical Oncology-ASCO, 2007), **η μέτρηση των ER και PR είναι αναγκαία σε πρωτογενείς όγκους του μαστού, αλλά και σε περιστατικά μεταστατικού καρκίνου, κυρίως για την επιλογή των γυναικών που είναι πιο πιθανό να ωφεληθούν από τη χορήγηση ενδοκρινικής θεραπείας** (Harris L et al, 2007).

Σε ότι αφορά την προεγχειρητική χημειοθεραπεία, τα αποτελέσματα του συνόλου των κλινικών μελετών, συμφωνούν στο ότι οι ER-αρνητικοί όγκοι του μαστού τείνουν να ανταποκρίνονται καλύτερα σε σχέση με τους ER-θετικούς όγκους (Tewari M, Krishnamurthy A, Shukla HS, 2008).

Αξίζει να αναφέρουμε ότι, η μέτρηση μόνο των ορμονικών υποδοχέων δεν αποτελεί ικανοποιητικά ισχυρό παράγοντα επιλογής της κατάλληλης θεραπείας και η ευαισθησία αυξάνεται σημαντικά, όταν συνδυάζεται με επιπρόσθετους προγνωστικούς

παράγοντες, όπως το μέγεθος του όγκου ή η έκφραση συγκεκριμένων ογκογονιδίων. Το προφίλ έκφρασης των ορμονικών υποδοχέων, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με το στάδιο της νόσου, τον ιστολογικό βαθμό κακοήθειας και την παρουσία διηθημένων λεμφαδένων για τη βραχυπρόθεσμη πρόγνωση των ασθενών, με πρόσφατα διαγνωσμένο καρκίνο του μαστού.

Η παρουσία των ER και PR υποδοχέων αποτελεί δείκτη ευμενούς πρόγνωσης, καθώς έχει συσχετιστεί με καρκινώματα χαμηλού βαθμού κακοήθειας, τα οποία αναπτύσσονται αργά και έχουν καλή βιολογική συμπεριφορά (Tewari M, Krishnamurthy A, Shukla HS, 2008).

Αρχικά, το ογκογονίδιο HER-2 και ο αντίστοιχος υποδοχέας αναγνωρίστηκαν σαν δείκτες πρόγνωσης, καθώς ασθενείς με αυξημένη έκφραση του γονιδίου και της πρωτεΐνης έχουν αυξημένη πιθανότητα υποτροπής και μειωμένης ολικής επιβίωσης.

Ωστόσο, η προγνωστική τους αξία τίθεται υπό αμφισβήτηση από την ASCO, η οποία προτείνει ότι η κύρια κλινική και η μόνη υποχρεωτική χρήση του ποσοτικού προσδιορισμού του υποδοχέα ή/και του αντίστοιχου γονιδίου, σε όλες τις ασθενείς με διηθητικό καρκίνο μαστού, είναι η αναγνώριση αυτών που θα ωφεληθούν από μία αντι-HER-2 θεραπεία (π.χ. Trastuzumab). Σύμφωνα με τις οδηγίες της ASCO και της EGTM (European Group on Tumor Markers), η έκφραση του HER2, μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης και ως δείκτης ανίχνευσης των ασθενών που θα μπορούσαν να επωφεληθούν από τη χημειοθεραπεία, βασιζόμενη στις ανθρακυκλίνες. Ωστόσο, η κλινική αξία του σε αυτήν την περίπτωση είναι αρκετά κατώτερη. Τέλος, δε συνιστάται η χρήση του HER-2 για την απόφαση χορήγησης ή μη ορμονοθεραπείας (Harris L et al, 2007).

Πίνακας 11. Νέοι μοριακοί δείκτες για τον καρκίνο του μαστού (Harris L, et al. 2007, Dai X., Xiang L., Li T., Bai Z., 2016)

Μοριακοί δείκτες με περιορισμένη κλινική χρήση		
Μοριακός Δείκτης	Ρόλος	Κλινική αξία
CA 15-3	-	Παρακολούθηση αποτελεσματικότητας της θεραπείας
CA 27.29	-	Παρακολούθηση αποτελεσματικότητας της θεραπείας
CEA	Κυτταρική προσκόλληση	Παρακολούθηση αποτελεσματικότητας της θεραπείας
Ki67	Δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού	Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης/ Δείκτης πρόβλεψης της ανταπόκρισης στην θεραπεία
PAI-1	Διήθηση/Μετάσταση	Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης/ Δείκτης πρόβλεψης της ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία
uPA	Διήθηση/Μετάσταση	Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης
<i>TP53</i>	Γονίδιο της p53	Η υπερέκφραση ή ύπαρξη μεταλλάξεων σχετίζεται με δυσμενή πρόγνωση
Μοριακοί δείκτες που χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης για την κλινική χρησιμότητα τους		
Μοριακός Δείκτης	Ρόλος	Κλινική αξία
BCL-2	Αντι-αποπτωτική δράση	Δείκτης ευμενούς πρόγνωσης
Cathepsin D	Διήθηση/Μετάσταση	Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης
<i>CCND1</i>	Γονίδιο της Cyclin D1	Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης/ Δείκτης πρόβλεψης της ανταπόκρισης στην ενδοκρινική θεραπεία
Cyclin D1	Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου	Δείκτης ευμενούς πρόγνωσης/ Δείκτης πρόβλεψης της ανταπόκρισης στην ορμονοθεραπεία
Cyclin E	Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου	Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης
Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6)	Οξειδωτικός μεταβολισμός φαρμάκων	Δείκτης πρόβλεψης της ανταπόκρισης στην ταμοξιφένη
ERβ	Ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης	Δείκτης ευμενούς πρόγνωσης/ Δείκτης πρόβλεψης της ανταπόκρισης στην ορμονοθεραπεία
Human mammoglobin	-	Διαγνωστικός δείκτης/Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης
Osteopontin	Διήθηση και μετάσταση	Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης
p53	Προ-αποπτωτική δράση, γενωμική σταθερότητα, αναστολή αγγειογένεσης	Δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης
Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphonate 3-kinase (PIK3CA)	Ογκογονίδιο	Η ύπαρξη μεταλλάξεων σχετίζεται με ανθεκτικότητα στο Trastuzumab
<i>PTEN</i>	Ογκοκατασταλτικό γονίδιο	Δείκτης ευμενούς πρόγνωσης

➤ **ER ως προγνωστικός δείκτης:**

Παλαιότερα είχε διατυπωθεί η άποψη ότι ασθενείς με με- ταστατικό καρκίνο του μαστού και θετική έκφραση των ER παρουσιάζουν διπλάσιο χρόνο επιβίωσης, από εκείνες με αρνητική ER έκφραση (Walt et al, 1976). Τα ER θετικά καρκινώματα δίνουν μεταστάσεις συχνότερα στα μαλακά μόρια και οστά και λιγότερο στο ήπαρ και εγκέφαλο. Τα ER αρνητικά καρκινώματα διασπείρονται κυρίως στα σπλαγγχικά όργανα και στο ΚΝΣ (Osborne 1998). Επομένως, τα ER θετικά και ER

αρνητικά καρκινώματα είναι βιολογικά διαφο-ρετικά, όχι μόνο λόγω της διαφορετικής απαίτησης για αύξηση σε οιστρογόνα, αλλά και της τάσης για συγκεκριμένες μεταστατικές θέσεις (Osborne 1998).

Η σχέση των ER με την πρόγνωση των ασθενών αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1977 (Knight et al, 1980). **Οι ER θετικές ασθενείς βρέθηκε να χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερο διάστημα ελεύθερο νόσου και ολικής επιβίωσης, σε σχέση με τις ER αρνητικές. Η παρατήρηση αυτή ίσχυε και για ασθενείς που δεν είχαν λάβει συστηματική θεραπεία.** Σε άλλες μελέτες, υποστηρίχθηκε η άποψη ότι τα ER αρνητικά καρκινώματα εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα πρώιμων υποτροπών από τα ER θετικά (Osborne 1998). Μεταγενέστερες μελέτες με μεγαλύτερο χρονικό διάστημα παρακολούθησης των ασθενών διευκρινίζουν ότι η ευσίωνη πρόγνωση των ER θετικών ασθενών δεν είναι μόνιμη. Μετά από κάποια χρόνια, στις ER θετικές ασθενείς ο ρυθμός υποτροπής αυξάνει με αποτέλεσμα η προγνωστική αξία των ER να εξαφανίζεται (Hilsenbeck et al. 1996).

Οι ER δεν σχετίζονται με το μεταστατικό δυναμικό, αλλά με το ρυθμό αύξησης ενός καρκινώματος, γεγονός που εξηγεί το χρονικό διάστημα που απαιτείται, ώστε οι ER θετικές μεταστάσεις να εμφανιστούν κλινικά. Στο συμπέρασμα αυτό, συνηγορεί και η απουσία συσχέτισης των ER με τις λεμφαδενικές μεταστάσεις.

Η τρέχουσα άποψη για τους ER είναι ότι αποτελούν ασθενή προγνωστικό δείκτη (Lonning 2007, Bentzon et al. 2008). Η ευνοϊκή προγνωστική επίδραση της θετικότητας των ER υποδοχέων στην ολική επιβίωση εξαφανίζεται μετά από 5-6 χρόνια ανεξάρτητα της επιπρόσθετης χημειοθε-ραπείας. Στη σύσκεψη του St Gallen (2005), οι ER δεν συμπεριλήφθησαν στα κριτήρια των ομάδων κινδύνου και θεωρήθηκαν μόνο ως προβλεπτικός παράγοντας (Bentzon et al. 2008).

ER ως προβλεπτικός δείκτης: Από τις αρχές της δεκαετίας του 1970, αρκετές μελέτες έδειξαν ότι η έκφραση των ER συσχετίζεται με την ανταπόκριση στην ορμονική θεραπεία, τόσο την επιθετική, όσο και τη συμπληρωματική (Osborne 1980).

Το 60% των ER θετικών ασθενών επωφελούνται από την ορμονική θεραπεία, σε σύγκριση με το 5-10% των ER αρνητικών. Η ανταπόκριση είναι υψηλότερη στις ασθενείς με συγκέντρωση ER>100 fmol/mg ολικής πρωτεΐνης (Osborne 1980). Ασθενείς με οριακά επίπεδα έκφρασης των ER μεταξύ 4 και 10 fmol παρουσιάζουν σημαντική απάντηση στην ορμονοθεραπεία.

Η κύρια κλινική σημασία των ER θεωρείται ότι είναι ο καθορισμός ομάδας ασθενών με μικρή ή καθόλου ανταπόκριση στην ενδοκρινική θεραπεία και όχι ο προσδιορισμός ασθενών με τη μεγαλύτερη πιθανότητα ανταπόκρισης. Για το λόγο αυτό, ο καθορισμός των ορίων θετικότητας (cut-off) είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Ως θετική δοκιμασία θεωρείται η ελάχιστη ποσότητα ER, η οποία θα συσχετισθεί με όφελος από την ορμονική θεραπεία. Περιστασιακές ανταποκρίσεις σε ER αρνητικές ασθενείς οφείλονται σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα (Osborne, 1998).

Ασθενείς με ελάχιστη ή μηδενική έκφραση των ER παρουσιάζουν αντίστοιχο μικρό ή καθόλου όφελος από τη χορήγηση ταμοξιφένης, ενώ οι ER θετικές ασθενείς εμφανίζουν μεγαλύτερο διάστημα ελεύθερο νόσου και ολικής επιβίωσης (Osborne et al. 1998). Ασθενείς ER θετικές που λαμβάνουν ταμοξιφένη για 5 χρόνια χαρακτηρίζονται από 40-50% ετήσια μείωση των πιθανοτήτων υποτροπής, ανεξάρτητα της εμμηνοπαυσιακής κατάστασης.

Επομένως, η κλινική σημασία της μέτρησης των ER στον καρκίνο του μαστού είναι η πρόβλεψη της ανταπόκρισης στην επιπρόσθετη ορμονική θεραπεία. Οι ER αρνητικοί καρκινικοί όγκοι εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα ενίσχυσης του c-erbB-2 γονιδίου, το οποίο έχει συσχετισθεί με αντίσταση στα θεραπευτικά σχήματα που περιέχουν κυκλοφωσφαμίδη, μεθοτρεξάτη, 5-φλουοροουρακίλη (CMF) και ευαισθησία στη δοξορουβικίνη και στις ταξάνες (Seidman et al. 1996).

➤ p53

Ένας από τους πιο εκτενώς ερευνημένους δείκτες καρκίνου του μαστού είναι ο p53. Λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό επειδή ελέγχει τον κυτταρικό κύκλο ως μεταγραφικός παράγοντας. Μπορεί να βρεθεί στο βραχύ βραχίονα του χρωμοσώματος 17. Η ανοσοϊστοχημεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση των πρωτεϊνών που συσσωρεύονται ως αποτέλεσμα της μετάλλαξης του γονιδίου p53, καθώς δεν μπορούν να καταστραφούν εύκολα, όπως οι πρωτεΐνες wild type. Το ανθρώπινο γονίδιο p53 είναι μια πυρη-νική φωσφοπρωτεΐνη με 393 αμινοξέα που δεσμεύεται σε πολλές θέσεις χρωματίνης, για να καταστείλει και να ενεργοποιήσει την έκφραση των γονιδίων. Έχει σύντομο χρόνο ημιζωής και επομένως διατηρείται σε χαμηλό επίπεδο σε μη συλληφθέντα κύτταρα, αλλά σε στρεσογόνες καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της περίπτωσης βλάβης του DNA, σταθεροποιείται με μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις. Είναι επίσης σημαντικό στη βιολογία των βλαστοκυττάρων. Στο N-άκρο του, το p53 έχει δύο τομείς μετενεργοποίησης που

ονομάζονται TAD1 και TAD2 και μια μετάλλαξη σε οποιαδήποτε από αυτές τις περιοχές καθιστά την p53 εντελώς ανενεργή ως κατασταλτική πρωτεΐνη του όγκου. Μέσω των γονιδίων-στόχων της, συμπεριλαμβανομένων των Mdm2, WAF1/CIP1, WIPI, BAX, PIG3, FASL, CSR, P21, κ.λπ., η p53 ρυθμίζει τις κυτταρικές διεργασίες, όπως τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση του DNA, την απόπτωση, την αγγειογένεση και την απόκριση κυτταρικού στρες. Σε διάφορα επίπεδα, συμπεριλαμβανομένων των μετα-μεταφραστικών αλλαγών, της αυξημένης συγκέντρωσης πρωτεΐνης και του κυτταρικού εντοπισμού, η p53 ρυθμίζεται (Sana M, Malik HJ, 2015).

➤ **Ki-67**

Η πυρηνική πρωτεΐνη MKi-67, με μοριακή μάζα 359 kDa, χρησιμοποιείται συχνά για την ταυτοποίηση και τη μέτρηση των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων. Η κυτταρική ανάπτυξη συσχετίζεται με αύξηση της έκφρασής του. Επειδή η έκφρασή του αντανακλά το ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού, χρησιμοποιείται συχνά ως διαγνωστικός δείκτης σε μια ποικιλία κακοηθειών.

Οι Denkert et al. (Denkert C, 2013) συνέλεξαν 1.166 δείγματα βιοδοκιμασίας καρκίνου του μαστού από τη δοκιμή GeparTrio, μια μεγάλη μελέτη κοόρτης που σχεδιάστηκε για να εξετάσει τα αποτελέσματα της νεοεπικουρικής θεραπείας. Στη συνέχεια χρησιμοποίησαν ανάλυση ανοσοϊστοχημείας για να αξιολογήσουν τα επίπεδα Ki-67 πριν από τη θεραπεία. Στην έρευνα χρησιμοποιήθηκε η τυποποιημένη διαδικασία αποκοπής 3 σημείων (pCR, DFS και OS). Οι παράγοντες προεγχειρητικής χημειοθεραπείας και ο δείκτης Ki-67 χωρίστηκαν σε τρεις υποομάδες: 15, 15,1-35 και 35%, και τα ποσοστά pCR ήταν 4,2, 12,8 και 29,0%, αντίστοιχα (P=0,0005). Το Ki-67 είναι ένας προγνωστικός παράγοντας για το θετικό σε ορμονικούς υποδοχείς, αλλά όχι τριπλά αρνητικό, καρκίνο του μαστού, όπως φαίνεται από το γεγονός ότι ο υποδοχέας HR για την πρόγνωση αυξήθηκε σε απόκριση του Ki-67 (HR=1, 3,32 και 9,20, αντίστοιχα). Τα προαναφερθέντα ευρήματα της έρευνας Ki-67 θα μπορούσαν να είναι αξιόλογα για τη δημιουργία άλλων ποσοτικών βιοδεικτών (Kutomi, G., et al, 2017).

➤ **HER2/neu**

Ο αριθμός των υποδοχέων HER2 στα φυσιολογικά κύτταρα είναι 20.000, ενώ στα καρκινικά κύτταρα, ο αριθμός αυτός μπορεί να φτάσει τις 200.000. Εάν αφαιρεθεί χωρίς θεραπεία, θα εξελιχθεί σε μια επιθετική μορφή καρκίνου του μαστού. Η υπερέκφραση HER2 ευθύνεται για το 25% όλων των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού (Arteaga CL, et al, 2012). Μια μεγάλη ποσότητα απόπτωσης προκαλείται στα καρκινικά

κύτταρα του μαστού από την αναστολή της υπερέκφρασης HER2 και οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού που είναι θετικοί στην έκφραση του βιοδείκτη HER2 έχουν υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης από εκείνους χωρίς υπερέκφραση HER2. Υπάρχουν αποδεδειγμένες προγνωστικές και προγνώστικές αξίες για το HER2. Και τα δύο γονίδια HER2 και p53 βρίσκονται στο χρωμόσωμα 17. Το πώς η εγγύτητα αυτών των γονιδίων επηρεάζει την αλληλεπίδρασή τους παραμένει ένα θέμα υπό διερεύνηση. **Οι μεταλλάξεις p53 και ο θετικός HER2 καρκίνος του μαστού συσχετίζονται ισχυρά. Περίπου το 71% των ασθενών με καρκίνο του μαστού που είναι θετικοί για HER2 έχουν μεταλλαγμένη p53 πρωτεΐνη.** Οι ασθενείς που έχουν υψηλά επίπεδα HER2 είχαν σχεδόν επταπλάσια σημεία μετάλλαξης p53 στη βλαστική σειρά.

Η υπερέκφραση HER2 είναι ένας επιθυμητός στόχος για θεραπευτική παρέμβαση, λόγω της κακής κλινικής έκβασης. Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που ονομάζεται τραστουζουμάμπη στοχεύει την εξωκυττάρια περιοχή του υποδοχέα και εμποδίζει την ενδοκυτταρική σηματοδότηση για την αναστολή του πολλαπλασιασμού.

Έχει εγκριθεί για χρήση ως αντίσωμα κατά του HER2 για τη θεραπεία ασθενών με καρκίνο του μαστού, των οποίων η έκφραση HER2 είναι υπερβολική. Δεδομένου ότι τα επίπεδα της πρωτεΐνης HER2 είναι συχνά ομοιόμορφα μεταξύ των καρκινικών κυττάρων που υπερεκφράζουν το HER2, η θεραπεία με anti-HER2 σε ασθενείς, στοχεύει την πλειοψηφία των καρκινικών κυττάρων. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς που έλαβαν τραστουζουμάμπη ανέφεραν εξέλιξη και υποτροπή της νόσου στο τέλος. Φυσικά, η αλληλεπίδραση της τραστουζουμάμπης με τον υποδοχέα HER2 αποκλείεται με την αποβολή της εξωκυττάριας περιοχής του HER2, η οποία περιέχει τη θέση δέσμευσης της τραστουζουμάμπης (Sana M, Malik HJ, 2015).

➤ **Ca 15-3**

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση ασθενών με καρκίνο του μαστού. Το 10% των ασθενών με καρκίνο του μαστού πρώιμου σταδίου και το 70% των ασθενών με καρκίνο του μαστού προχωρημένου σταδίου, εμφανίζουν αμφότερες οι κατηγορίες υψηλά επίπεδα στο αίμα. Μετά την αποτελεσματική θεραπεία, τα επίπεδα του CA 15-3 συνήθως μειώνονται. Ωστόσο, η CA 15-3 μπορεί επίσης να είναι αυξημένη σε μικρό αριθμό μη καρκινικών ασθενειών, όπως ηπατίτιδα και καλοήγη προβλήματα μαστού, καθώς και σε ορισμένους άλλους τύπους καρκίνου.

➤ **Ca 27.29**

Είναι ένας ακόμη δείκτης για την παρακολούθηση ασθενών με καρκίνο του μαστού. Αυτή η εξέταση δεν φαίνεται να είναι καλύτερη για τον εντοπισμό πρώιμου ή

προχωρημένου σταδίου καρκίνου του μαστού. Αυτός ο καρκινικός δείκτης εμφανίζεται σε άλλους τύπους καρκίνων και σε λίγες μη καρκινικές διαταραχές (Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU, 2017).

➤ Υποδοχέας προγεστερόνης (PR)

Το γονίδιο PGR κωδικοποιεί τον υποδοχέα προγεστερόνης, ο οποίος έχει 933 αμινοξέα και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 11. Αποτελείται από τρεις τομείς: μια περιοχή δέσμησης DNA, μια ρυθμιστική περιοχή N-τερματικής και μια περιοχή δέσμησης συνδέτη Ο-τελικού. Συμμετέχει στην επικοινωνία κυττάρου-κυττάρου, στην αναστολή της γονιδιακής έκφρασης και στην έναρξη της μεταγραφής από τον προαγωγέα της RNA πολυμεράσης II.

Ο PR απομονώνεται σε μια μη παραγωγική μορφή που σχετίζεται με κυτταρικούς συνοδούς και άλλες πρωτεΐνες θερμικού σοκ, στα κύτταρα που στερούνται της προγεστερόνης. Απουσία προγεστερόνης, ο υποδοχέας δεν είναι σε θέση να ελέγξει το ρυθμό μεταγραφής. Παρουσία προγεστερόνης, ο PR υφίσταται πολλές αλλαγές που περιλαμβάνουν διάσταση από τα συμπλέγματα πρωτεϊνών θερμικού σοκ, αλλαγές διαμόρφωσης, όπως, φωσφορυλίωση, ουβικουίτινοποίηση, διμερισμό και πυρηνική μετατόπιση. Αυτές οι αλλαγές επιτρέπουν στον υποδοχέα της προγεστερόνης να συνδεθεί με στοιχεία απόκρισης της προγεστερόνης, τα οποία υπάρχουν στις ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων-στόχων. Αυτή η δέσμηση προκαλεί την ανοδική ρύθμιση της μεταγραφής του γονιδίου-στόχου με τη στρατολόγηση βασικών μεταγραφικών παραγόντων και συν-ενεργοποιητών.

Οι δύο υποδοχείς PRA και PRB για την προγεστερόνη παράγονται από το ίδιο γονίδιο, χρησιμοποιώντας διαφορετικό προαγωγέα. Παρά το γεγονός ότι και οι δύο αυτές πρωτεΐνες είναι παρόμοιες, το PRB είναι μεγαλύτερο από το PRA, λόγω των επιπλέον 164 αμινοξέων στο N-άκρο του. Το PRB, ένας σημαντικός ενεργοποιητής των παραγόντων μεταγραφής, αναστέλλεται από το PRA. Η αναλογία PRA προς PRB αλλάζει καθ' όλη τη διάρκεια της καρκινογένεσης, καθιστώντας πιο κυρίαρχο το PRA. **Η έκφραση PRA ή PRB είναι ένα σημάδι για φυσιολογικές λειτουργίες ER και υπάρχει σε περίπου 60% των καρκίνων του μαστού. Οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού που έχουν υποδοχείς στεροειδών έχουν καλύτερη πρόγνωση και ανταποκρίνονται καλύτερα στην ενδοκρινική θεραπεία από εκείνους που δεν έχουν** (Weigel MT, Dowsett M, 2010).

➤ **E-καντχερίνη (E-cadherin)**

Ένας υποψήφιος προγνωστικός δείκτης για τον καρκίνο του μαστού είναι η E-καντχερίνη, μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που μεσολαβεί στην εξαρτώμενη από το ασβέστιο, ενδοκυτταρική προσκόλληση και την αρχιτεκτονική των ιστών μεταξύ των επιθηλιακών κυτταρικών στοιβάδων (Goodwin M, Yap AS, 2004). **Η E-καντχερίνη λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο και τα δεδομένα μοντέλων in vitro και in vivo από πολλούς καρκίνους, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού, έχουν δείξει ότι η απώλεια έκφρασης της E-καντχερίνης είναι απαραίτητη προϋπόθεση για εισβολή και μετάσταση** (Pagliarini RA, Xu T, 2003). Τα μοτίβα έκφρασης της πρωτεΐνης E-καντχερίνης σε κλινικά δείγματα διηθητικού πορογενούς καρκινώματος μαστού (IDC) υποδηλώνουν επίσης το ρόλο της E-καντχερίνης στην εξέλιξη του καρκινώματος αυτού. **Σε αντίθεση με τα διηθητικά λοβιακά καρκινώματα που εμφανίζουν σταθερά απώλεια έκφρασης της E-καντχερίνης, ανεξάρτητα από την κλινική σταδιοποίηση ή την έκβαση της νόσου** (Sarrío D, et al, 2004).

Το 80% των IDC συνεχίζουν να εκφράζουν E-cadherin, αν και σε προοδευτικά μειωμένο επίπεδο, όσο αυξάνεται το στάδιο ή ο ιστολογικός βαθμός του καρκίνου (Howard EM, et al, 2004). Μια παρόμοια τάση σημειώνεται μεταξύ των περιπτώσεων πορογενούς καρκινώματος in situ, όπου **το επίπεδο έκφρασης της E-καντχερίνης συσχετίζεται θετικά με τον ιστολογικό βαθμό διαφοροποίησης** (Gupta SK, et al, 1997). Μέχρι σήμερα, μεμονωμένες μελέτες κούρτης που αξιολογούν τη χρησιμότητα της έκφρασης της πρωτεΐνης E-cadherin, ως προγνωστικού δείκτη για τη θνησιμότητα όλων των αιτιών ή αιτιών στο IDC έχουν προκύψει ασυνεπείς. Τα αποτελέσματα και η προγνωστική σημασία των επιπέδων της έκφρασης της E-καντχερίνης του όγκου παραμένουν υπό συζήτηση, όπως αποδεικνύεται από τη συνεχιζόμενη δημοσίευση πρωτογενών ερευνητικών άρθρων που διερευνούν το ερώτημα αυτό (Rakha EA, et al, 2005, Swiatoniowski G, et al, 2005).

➤ **Κυκλίνη D1**

Η κυκλίνη D1 είναι πολύ σημαντικός παράγοντας στην ανάπτυξη των νεοπλασιών. Είναι καθιερωμένη ως ογκογονίδιο, του οποίου η ενίσχυση και αναδιαμόρφωση οδηγούν σε υπερέκφραση, εύρημα πλέον σύνηθες σε πολλούς τύπους ανθρώπινων νεοπλασιών. Ο ακριβής καταρράκτης συμβάντων, που πυροδοτείται από την υπερέκφραση της κυκλίνης D1 δεν είναι γνωστός, αλλά υπάρχουν σημαντικά στοιχεία για το ρόλο της ως βασικού παράγοντα στη διαδικασία της καρκινογένεσης (Sana M

and Malik HJ, 2015). Η ενίσχυση του DNA στις περιοχές του σκέλους 11q ανευρίσκεται σε μόλις 13-20% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού και συνεπάγεται δυσμενή πρόγνωση, ενώ η υπερέκφρασή της εμφανίζεται σε περίπου 50% των περιπτώσεων του καρκίνου του μαστού και είναι συνυφασμένη με καλύτερη πρόγνωση. **Τόσο η ενίσχυση, όσο και η υπερέκφραση της κυκλίνης D1 συνδέονται με μειωμένη ανταπόκριση στην ενδοκρινική θεραπεία** (Patani N, et al, 2013).

➤ **Κυκλίνη E**

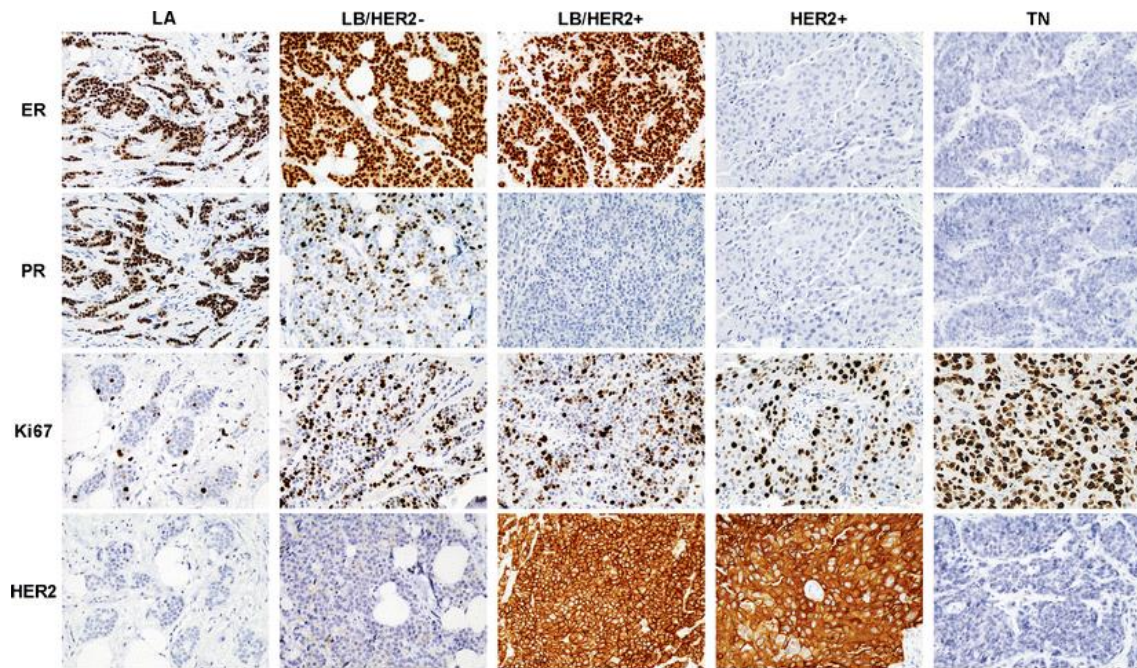
Η κυκλίνη E, που εντοπίζεται στο σκέλος 19q, παίζει καθοριστικό ρόλο στη μετάβαση του κυττάρου από τη φάση G1 στη φάση S του κυτταρικού κύκλου. Τα καρκινικά κύτταρα υπερεκφράζουν την πλήρους μήκους, μετα-μεταφραστική μορφή της κυκλίνης και παράγουν ως και πέντε χαμηλού μοριακού βάρους ισομορφές της, χαρακτηριστικές των καρκινικών κυττάρων, οι οποίες επίσης σχετίζονται με υψηλό βαθμό ιστολογικής κακοήθειας και προχωρημένο στάδιο της νόσου. **Η υπερέκφραση της κυκλίνης E έχει ανάστροφη συσχέτιση με την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων, γεγονός που συνεπάγεται δυσμενή πρόγνωση και μειωμένη ανταπόκριση στην ενδοκρινική θεραπεία, ενώ αποτελεί προγνωστικό παράγοντα της ευαισθησίας στη χημειοθεραπεία με σισπλατίνη/πακλιταξέλη** (Sana M and Malik HJ, 2015, Patani N, et al, 2013).

➤ **Κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα**

Η ανίχνευση των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (circulating tumor cells-CTC) απαιτεί τεχνικές υψηλής ευαισθησίας. Ο ανιχνεύσιμος αριθμός CTC αναφοράς και οι αλλαγές που παρατηρούνται, λόγω της θεραπείας σχετίζονται με τη συνολική επιβίωση, σε μεταστατική νόσο. **Σε πρώιμο καρκίνο μαστού, ο αριθμός CTC σχετίζεται με τη λεμφαδενική συμμετοχή και την επιβίωση ελεύθερης νόσου. Τα CTCs αποτελούν επίσης ένδειξη της επιθηλιομεσεγχυματικής μετατροπής του όγκου, στην οποία και αυξάνονται.** Αυτή η συσχέτιση, οφείλεται στην αυξημένη κινητικότητα και μειωμένη πρόσδεση των καρκινικών κυττάρων της πρωτοπαθούς νεοπλασματικής εστίας, που χαρακτηρίζει το φαινόμενο αυτό, το οποίο σχετίζεται με αυξημένη επιθετικότητα του όγκου (Lague L and Bellacosa A. 2005). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός, πως σε μη-μεταστατικό καρκίνο υπάρχει ενίοτε απόκλιση μεταξύ των CTC και του φαινοτύπου του πρωτοπαθούς όγκου, πχ. **20% των HER2 αρνητικών όγκων εμφανίζουν HER2 θετικά CTC, υποδηλώνοντας πιθανό όφελος από τη χορήγηση τραστουζουμάμπης, σε τέτοιους ασθενείς** (Patani N, et al, 2013).

➤ **PTEN (Phosphatase and tensin homolog)**

Το PTEN (Phosphatase and tensin homolog), ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο που μεταβάλλεται ευρέως στον ανθρώπινο καρκίνο συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού (BC), θεωρείται ένα από τα πιο συχνά επηρεαζόμενα γονίδια. Ο εγγενής του ρόλος στην εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, την κυτταρική ανάπτυξη και την επιβίωση είναι καθοριστικός. Ενώ οι περισσότερες μελέτες δεν έχουν αναφέρει σύνδεση μεταξύ της απώλειας του PTEN και της πρόγνωσης σε ασθενείς με BC που συμμετέχουν σε κλινικές δοκιμές, πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι **η μείωση της έκφρασης του PTEN μπορεί να συνδέεται με χειρότερη έκβαση σε BC HR+/HER2- ή HER2+** (Carbognin L, Miglietta F, Paris I, Dieci MV. 2019). **Οι σωματικές μεταλλάξεις είναι η κύρια αιτία της απενεργοποίησης του PTEN.** Σχεδόν στο ήμισυ όλων των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού αναφέρεται απώλεια της δραστηριότητας του PTEN, η οποία οφείλεται σε πρωτεϊνικές, γενετικές ή επιγενετικές μεταβολές. Αυτή η αδρανοποίηση οδηγεί στην υπερβολική ενεργοποίηση του ογκογόνου μονοπατιού PI3K/Akt, διεγείροντας την κυτταρική ανάπτυξη και την επιβίωση. **Στα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα του μαστού, τα επίπεδα PTEN είναι σημαντικά χαμηλότερα από ότι στα τοπικά καρκινικά κύτταρα, ευνοώντας τον πολλαπλασιασμό, την εισβολή και τη μετάσταση.** Τα καρκινικά κύτταρα με διαγραφές ή μεταλλάξεις του PTEN παρουσιάζουν σημαντικά αυξημένη δραστηριότητα μετάστασης και επέκτασης (Chen J, et al, 2022), (Xie P, et al, 2021). Ενώ υπάρχουν ενδείξεις για τη συσχέτιση μεταξύ της λειτουργικής κατάστασης του PTEN, της κλινικής έκβασης και της ανταπόκρισης σε διάφορες θεραπείες, **δεν υπάρχουν ισχυρά δεδομένα για να καθοριστεί επαρκώς ο προβλεπτικός/προγνωστικός του ρόλος στο BC.** Επομένως, η συσχέτιση μεταξύ της λειτουργικής κατάστασης του PTEN, της κλινικής έκβασης και της ανταπόκρισης σε διάφορες θεραπείες έχει κάποια στοιχεία, αλλά λείπουν ισχυρά δεδομένα για να καθοριστεί επαρκώς ο προβλεπτικός/προγνωστικός του ρόλος στο BC (Carbognin L, Miglietta F, Paris I, Dieci MV. 2019).



Εικόνα 17. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα των διαφόρων υποτύπων καρκίνου του μαστού με τη χρήση τυποποιημένης ανοσοϊστοχημείας (IHC), (Beñacá, R, et al, 2022)

Hormone receptor staining interpretation (ER and PR)

Evaluate overall percentage of cancer in sample with nuclear staining and intensity of stain

Example of a cancer with uniform strong staining	Example of a cancer with weak focal staining	Example of a cancer with no staining and a positive internal control
If $\geq 1\%$ of cells stain		If $< 1\%$ or 0% of cells stain
<p>Interpretation: Positive* (include % and intensity in report) *Report as low positive if 1–10% of cells stain</p>		<p>Interpretation: Negative (note whether result was $< 1\%$ or 0%)</p>

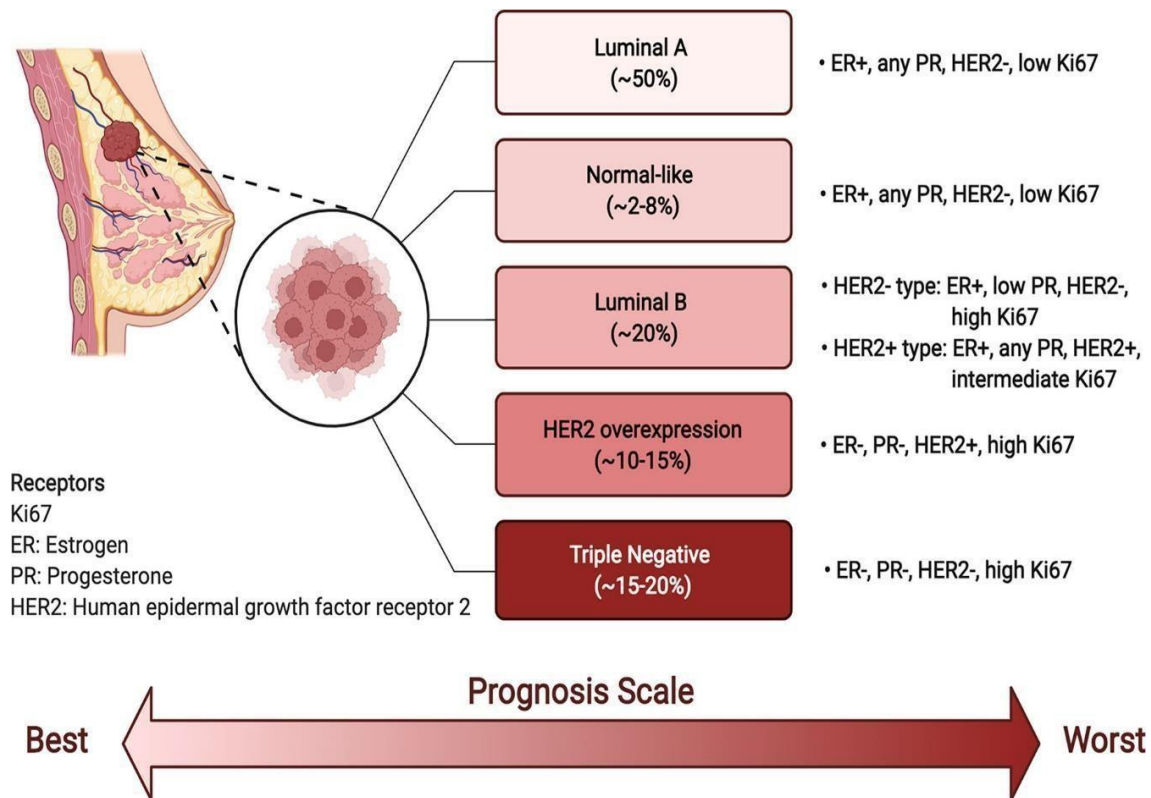
Εικόνα 18. Διθητικό καρκίνωμα μαστού. Ερμηνεία της χρώσης των ορμονικών υποδοχέων (ER και PR), (WHO, 2019)

AR (Υποδοχέας ανδρογόνων)

Ο κλασικός υποδοχέας των ανδρογόνων εκφράζεται σε αρκετούς ιστούς του σώματος, συμπεριλαμβανομένων του αναπαραγωγικού, του νευρικού, του μυϊκού κ.ά. συστημάτων (Zajac, J., Davey, R. & Rana, K. 2014). Εκφράζεται και σε είδη καρκίνου του μαστού, με ρόλο που εξαρτάται από το είδος των κυττάρων και την ύπαρξη άλλων υποδοχέων στεροειδών ορμονών. **Σε κάποιες περιπτώσεις καρκίνου του μαστού, συμπεριλαμβανομένων και των τριπλώς αρνητικών, χορηγείται θεραπεία ανταγωνιστών του AR** (De Amicis, F. et al. 2010, Huang, R. et al. 2017). Έχει αναφερθεί ότι συνδεδεμένος με τη διϋδροτεστοστερόνη προκαλεί μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού κάποιων κυτταρικών σειρών, (Chottanarund, S. et al. 2013), **αλλά και ότι η απουσία της έκφρασής του μπορεί να σημαίνει περισσότερες πιθανότητες για υποτροπή ή μετάσταση σε κάποιους τριπλά αρνητικούς καρκίνους του μαστού** (Sutton, L. M. et al. 2012).

2.10 Πρόγνωση του καρκίνου του μαστού

Τα πιο σημαντικά ζητήματα στη διαχείριση του ασθενούς μετά τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού είναι η εκτίμηση της πρόγνωσης και η επιλογή της καλύτερης επικουρικής συστηματικής φαρμακευτικής αγωγής. **Η πρόγνωση μπορεί να προσδιοριστεί πιο αποτελεσματικά συνδυάζοντας συμβατικές κλινικοπαθολογικές προγνωστικές μεταβλητές, βιοδείκτες ως HER2/neu και συγκεκριμένες πολυγονιδιακές αναλύσεις.** Τα προγνωστικά πολυγονιδιακά τεστ uPA/PAI1, Oncotype DX και MammaPrint είναι από τα πιο αξιόπιστα. Σε ασθενείς με ER-θετικούς, HER2-αρνητικούς καρκίνους του μαστού που είναι είτε αρνητικοί σε λεμφαδένες, είτε θετικοί σε λεμφαδένες (1-3 μεταστατικοί κόμβοι), το Oncotype DX και το MammaPrint μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη της έκβασης και τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τη συμπληρωματική θεραπεία, ενώ το uPA/PAI-1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί με παρόμοιο τρόπο σε ER-θετικούς, αρνητικούς σε λεμφαδένες ασθενείς. **Τόσο οι υποδοχείς οιστρογόνου (ER), όσο και οι υποδοχείς προγεστερόνης (PR) θα πρέπει να αξιολογούνται προκειμένου να επιλεγεί η αναμενόμενη ανταπόκριση στην ενδοκρινική θεραπεία** (εικόνα 19), (Nicolini Andrea, Ferrari Paola, Duffy Michael J., 2018).



Εικόνα 19. Μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του μαστού σύμφωνα με τους ανοσοϊστοχημικούς δείκτες (Le Jing, et al. 2022)

2.11 Θεραπεία καρκίνου μαστού

Η επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής εξαρτάται από το στάδιο της νόσου, την έκφραση συγκεκριμένων βιοδεικτών, την κλιμακτήριο κατάσταση (εμμηνόπαυση) και βεβαίως τη θέληση της ασθενούς. Διαφορετική αντιμετώπιση θα λάβει ένα in situ νεόπλασμα από ένα προχωρημένου σταδίου. **Η θεραπεία συνίσταται στην αντιμετώπιση της νεοπλασματικής εστίας, των πιθανών διηθημένων λεμφαδένων και των απομακρυσμένων μεταστάσεων. Η αντιμετώπιση γίνεται με χειρουργικά μέσα, ορμονοθεραπεία, ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία και στοχευμένες θεραπείες.**

Ενδοπορικά καρκινώματα

Η πλειονότητα των μη διηθητικών (in situ) καρκινωμάτων αντιμετωπίζεται συντηρητικά με ογκεκτομή σε καθαρά εγχειρητικά όρια ή με την κατ' επιλογή του ασθενή απλή μαστεκτομή. Στην περίπτωση που δεν ανευρεθεί ιστολογικά διηθητική εστία στο εγχειρητικό παρασκεύασμα της συντηρητικής ογκεκτομής χορηγείται αντιοιστρογονική θεραπεία, εφόσον το νεόπλασμα είναι ορμονοεξαρτώμενο (τα περισσότερα είναι) και υποκλασματοποιημένη ακτινοθεραπεία. Στην περίπτωση που τα όρια είναι θετικά συστήνεται συμπληρωματική εκτομή. **Στην περίπτωση της**

μαστεκτομής και σε ορμονοεξαρτώμενο νεόπλασμα χορηγείται προληπτικά αντιοιστρογονική θεραπεία.

Διηθητικά καρκινώματα σταδίου I και II

Σε νόσους σταδίου I και II η αντιμετώπιση που επικρατεί είναι οι συντηρητικού τύπου χειρουργικές επεμβάσεις (ογκεκτομές), κατά τις οποίες αφαιρείται μόνο το τμήμα του μαστικού παρεγχύματος που περιλαμβάνει τον όγκο, περιβαλλόμενο από υγιή όρια. Ανάλογα με το αποτέλεσμα της βιοψίας του λεμφαδένα φρουρού, η οποία μπορεί να έχει πραγματοποιηθεί προεγχειρητικά ή υπό το καθεστώς ταχείας βιοψίας, κρίνεται εάν θα γίνει λεμφαδενικός καθαρισμός της μασχαλιαίας χώρας. Βέβαια όταν οι προεγχειρητικές εξετάσεις (υπέρηχος, FNA, κλινική εξέταση) αναδεικνύουν λεμφαδενική επέκταση της νόσου η αφαίρεση των μασχαλιαίων λεμφαδένων είναι υποχρεωτική. Εκτός από τις συντηρητικού τύπου επεμβάσεις μπορεί να πραγματοποιηθούν και πιο δραστικού τύπου όπως η τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή (ολική αφαίρεση μαστού και συνοδός λεμφαδενικός καθαρισμός), η υποδόρια μαστεκτομή με διατήρηση

θηλής (με ή χωρίς λεμφαδενικό καθαρισμό ανάλογα με τη λεμφαδενική επέκταση της νόσου) και απλή μαστεκτομή (χωρίς λεμφαδενικό καθαρισμό όταν η νόσος είναι N0).

Οι ενδείξεις για την πραγματοποίηση συντηρητικής ογκεκτομής είναι:

- ✓ το μέγεθος όγκου μικρότερο των 4 εκ.,
- ✓ η απουσία πολυεστιακής νόσου,
- ✓ η δυνατότητα εκτομής σε υγιείς ιστούς.

Οι ενδείξεις για την πραγματοποίηση μαστεκτομής είναι:

- ✓ το μεγάλο μέγεθος του όγκου (>4 εκ.),
- ✓ η πολυεστιακή παρουσία του νεοπλάσματος,
- ✓ η αδυναμία εκτομής σε υγιείς ιστούς,
- ✓ η αντένδειξη χορήγησης ακτινοθεραπείας,
- ✓ η ύπαρξη γεννητικού υπόβαθρου που αυξάνει την πιθανότητα εκδήλωσης καρκίνου του μαστού (μεταλλάξεις BRCA) και
- ✓ όταν προκύπτει πτωχό αισθητικό αποτέλεσμα από την ογκεκτομή.

Βεβαίως τον πρώτο λόγο, τόσο στη μαστεκτομή, όσο και στη συντηρητική αντιμετώπιση του μαστού τον έχει ο ασθενής. Η ακτινοθεραπεία εφαρμόζεται στα στάδια I και II, με σκοπό τον καθαρισμό του μαστού από υπολειπόμενα νεοπλασματικά στοιχεία και τη μείωση της πιθανότητας τοπικής υποτροπής. Χορηγείται πάντοτε μετά

από ογκεκτομή, μαστεκτομή όγκων ευρισκόμενων κοντά στο θωρακικό τοίχωμα ή παρουσία ευρείας λεμφαδενικής συμμετοχής (N>2).

Η επικουρική (adjuvant) ορμονοθεραπεία χορηγείται σε ασθενείς με θετικούς οιστρογονικούς

υποδοχείς. Στις προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς δίδεται ταμοξιφαίνη, ενώ στις μετεμμηνοπαυσιακές οι αναστολείς αρωματάσης.

Η επικουρική (adjuvant) χημειοθεραπεία χορηγείται σε ασθενείς που έχουν μεγάλο κίνδυνο υπο-τροπής που σχετίζεται με την παρουσία ορμονοαρνητικού νεοπλάσματος, ευμεγέθους όγκου, υψηλού grade, νεαρής ηλικίας, θετικών (N+) λεμφαδένων και με την υπερέκφραση του HER2.

Αυτά τα φαρμακολογικά σχήματα βασίζονται στην ανθρακυκλίνη και τις ταξάνες. Σε **HER2+ νεοπλάσματα χορηγείται τραστουζουμάμπη (trastuzumab). Αυτό είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει τους υποδοχείς HER2, διακόπτοντας την αυξητική τους δράση στα κύτταρα.**

Διηθητικά καρκινώματα σταδίου III

Σε νεοπλάσματα σταδίου III η αντιμετώπιση είναι διαφορετική. Η προεγχειρητική / νεοεπικουρική χημειοθεραπεία (neoadjuvant) συνήθως προηγείται της επέμβασης. Τα σχήματα που χρησιμοποιούνται αποτελούνται από ταξάνες, ανθρακυκλίνη ή τραστουζουμάμπη (εφόσον το νεόπλασμα παρουσιάζει υπερέκφραση HER2). Ακολουθεί η εκτομή του όγκου, που συνήθως είναι μαστεκτομή με λεμφαδενικό καθαρισμό. Κατόπιν της χειρουργικής εξαίρεσης έπονται η ορμονοθεραπεία (εφόσον το επιτρέπει ο τύπος του νεοπλάσματος) και η ακτινοθεραπεία.

Σταδίου IV (Staging) μεταστατικά-M1

Σε μεταστατικά καρκινώματα, δηλαδή σταδίου IV η θεραπεία είναι παρηγορητικού τύπου. Ωστόσο η χημειοθεραπεία, η ορμονοθεραπεία, τα μονοκλωνικά αντισώματα και η ακτινοβολία επιμηκύνουν την επιβίωση και βελτιώνουν σημαντικά την ποιότητα ζωής. Η ακτινοθεραπεία εφαρμόζεται στην αντιμετώπιση δερματικών, οστικών και εγκεφαλικών μεταστάσεων. Ιδιαίτερα στις τελευταίες περιορίζει τα συμπτώματα που δημιουργούνται από τα πιεστικά φαινόμενα. Τέλος, σε αυτούς τους ασθενείς μπορεί να πραγματοποιηθεί χειρουργική αφαίρεση του όγκου και εκτομές των μεταστάσεων για περιορισμό των τοπικών επιπλοκών.

Ανοσοθεραπεία

Μέχρι στιγμής η ανοσοθεραπεία δεν έχει αξιοποιηθεί πλήρως στον καρκίνο του μαστού. Προκλινικά δεδομένα και τα αποτελέσματα από πρόσφατες κλινικές δοκιμές

αποπνέουν ωστόσο αισιοδοξία. Η επιτυχία της ανοσοθεραπείας απαιτεί πρώτα απ' όλα την κατανόηση του μικροπεριβάλλοντος των καρκινωμάτων του μαστού και τους παράγοντες που καθορίζουν την απόκριση σε ανοσοθεραπευτικά φαρμακολογικά σχήματα.

Μέχρι σήμερα δεν έχουν ανευρεθεί αξιόπιστοι προγνωστικοί βιοδείκτες για την ανοσοθεραπεία στο μαστό. Η έκφραση του υποδοχέα προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου-1 (Program Death Ligand 1 / PDL-1) από τα φλεγμονώδη κύτταρα που διηθούν τον όγκο βρέθηκε προαπαιτούμενη για την απόκριση στη θεραπεία με atezolizumab και nabpaclitaxel στην κλινική μελέτη IMpassion130, ενώ σε πολλαπλές άλλες μελέτες ερευνάται η έκφραση του PDL-1 από τα νεοπλασματικά κύτταρα ως φαρμακολογικός στόχος (Schmid P, et al, 2018).

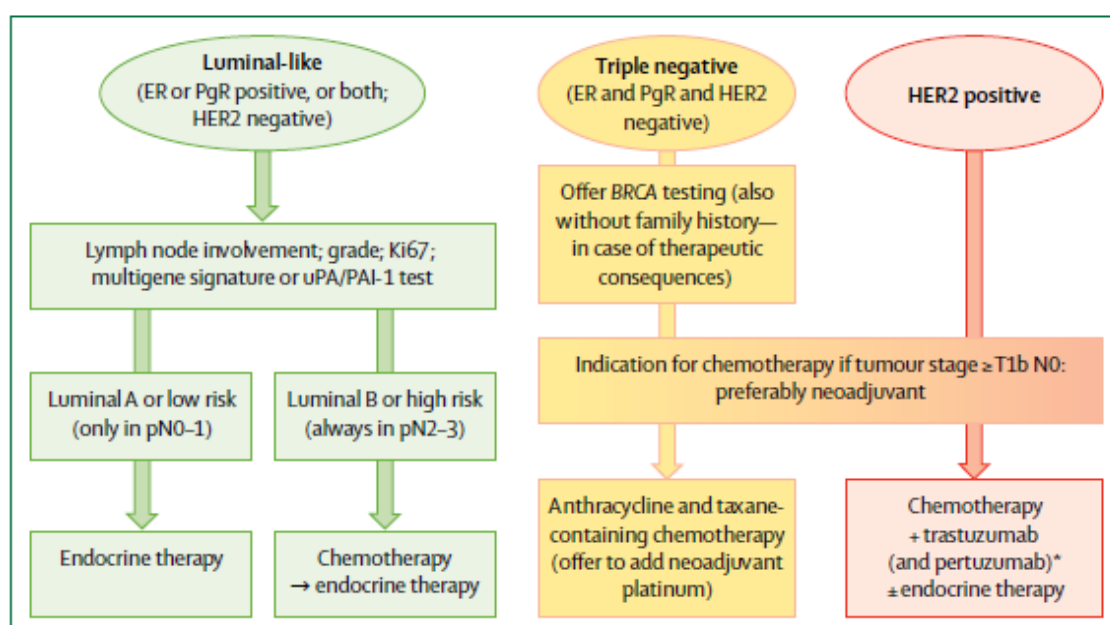
Η παρουσία των λεμφοκυττάρων που διηθούν τον όγκο (Tumor Infiltrating Lymphocytes - TILs) δίνει ελπιδοφόρα αποτελέσματα ως προγνωστικός δείκτης, όπως έχει αναδείξει ο Denkert (Denkert C, et al, 2018). Από την άλλη, η μικροδορυφορική αστάθεια και το φορτίο μεταλλάξεων του όγκου (tumor mutational burden) έχουν προσδιοριστεί ως βιοδείκτες απόκρισης στη θεραπεία σε άλλα όργανα και θα μπορούσαν να έχουν χρησιμότητα και στο μαστό, μολονότι οι συγκεκριμένες μεταβολές είναι σπάνιες σε αυτόν.

Κλείνοντας, η θεραπεία που στοχεύει ειδικά στο HER2 έχει βελτιώσει την επιβίωση κατά την τελευταία δεκαετία, σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού, με θετικό HER2. Ωστόσο, η αντίσταση παραμένει μια πρόκληση, ιδιαίτερα στο μεταστατικό περιβάλλον. Με τη βαθύτερη θεμελιώδη κατανόηση των μοριακών συσχετίσεων και του χαρακτηρισμού του καρκίνου του μαστού, νέοι παράγοντες βρίσκονται σε κλινική ανάπτυξη, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που κατευθύνονται στον ίδιο τον υποδοχέα HER2 και εκείνων που στοχεύουν μεταγενέστερους παράγοντες και αλληλεπιδρούν αντισταθμιστικά στα μονοπάτια σηματοδότησης, όπως οι αναστολείς hsp90, mTOR και IGF-1R. Τέτοια αποτελέσματα είναι πιθανό να είναι χρήσιμα στην προγνωστική επίδραση του HER2-θετικού καρκίνου του μαστού (Li SG, Li L, 2013).

Πίνακας 12. Επικουρική συστηματική θεραπεία για πρώιμο καρκίνο του μαστού
(Tadahiko Shien, Hiroji Iwata, 2020)

Θεραπεία	Βιολογία	Αγωγή
Ορμονοθεραπεία	Θετική σε ER και/ή PgR προεμμηνόπαυση	TAM 10 (5) έτη, TAM + αγωνιστής LH-RH 5 έτη, EXE + αγωνιστής LH-RH 5 έτη
	ER- και/ή PgR-θετική μετεμμηνόπαυση	AI 5 (10) ετών.
Θεραπεία Anti-HER2	HER2-θετικό	Χημειοθεραπεία + Trastuzumab 1 έτος, Χημειοθεραπεία + Trastuzumab + Pertuzumab 1 έτος
Χημειοθεραπεία	Οποιοσ	Ανθρακυκλίνη και/ή ταξάνη (+/-) καπεσιταβίνη

TAM; ταμοξιφαίνη, AI; αναστολέας αρωματάσης.



Εικόνα 20. Αρχές συστηματικής θεραπείας στον πρώιμο καρκίνο του μαστού. Σύνοψη των γενικών στρατηγικών θεραπείας, που ενημερώθηκαν μετά τη δημοσίευση των Harbeck et al, 2010. Για έναν μεμονωμένο ασθενή, οι αποφάσεις θεραπείας μπορεί να διαφέρουν, καθώς τα χαρακτηριστικά του όγκου και της νόσου και οι προτιμήσεις των ασθενών αποτελούν βασικά στοιχεία για την απόφαση της ατομικής θεραπευτικής στρατηγικής. ER=υποδοχέας οιστρογόνου. PgR=υποδοχέας προγεστερόνης. *Διπλός αποκλεισμός του HER2 έχει αναφερθεί μόνο για τη ρύθμιση νεοεπικουρικής θεραπείας. Η ενδοκρινική θεραπεία ενδείκνυται πάντα εάν είναι θετικό το ER ή το PR ή και τα δύο (Harbeck N, et al, 2010).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Μεθοδολογία:

Χρησιμοποιήθηκαν και αναλύθηκαν τα δημογραφικά-κλινικοπαθολογοανατομικά δεδομένα, καθώς και τα δεδομένα ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των προγνωστικών δεικτών των ιστολογικών εξετάσεων από όλα τα περιστατικά κακοήθων νεοπλασμάτων του μαστού, του αρχειακού υλικού του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, από Ιανουάριο 2014 μέχρι και τα τέλη Δεκεμβρίου 2018. Όλες οι ιστολογικές εξετάσεις των γυναικών ασθενών, επεξεργάστηκαν κατόπιν απόκρυψης του ονοματεπωνύμου του ατόμου, το οποίο αφορούν, ενώ παράλληλα τηρήθηκαν πλήρως όλες οι αρχές της ιατρικής ηθικής, του ιατρικού απορρήτου, η αρχή της ανωνυμίας και η αρχή της συναίνεσης της κάθε ασθενούς. Το ερευνητικό πρωτόκολλο της διδακτορικής διατριβής έχει εγκριθεί από την Επιτροπή Βιοηθικής & Δεοντολογίας της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, με αρ. πρωτ.: 062, στις 14/01/2019.

Αναζητήθηκαν στατιστικές συσχετίσεις των παθολογοανατομικών-μορφολογικών παραμέτρων [ιστολογικός βαθμός κακοήθειας, ιστολογικός τύπος καρκίνου μαστού, έκταση του όγκου, λεμφαδενικό στάδιο, λεμφαδενική διήθηση, μέγιστη διάμετρος όγκου, ανατομική τοπολογία κακοήθειας μαστού (δεξιός ή αριστερός μαστός), διήθηση ή μη θωρακικού μυός, λεμφαγγειακή διήθηση, μεταστατική ή εντοπισμένη (in-situ) ιστική κακοήθεια], με τον ανοσοφαινότυπο (θετική ή αρνητική έκφραση ανοσοϊστοχημικών δεικτών: **ER, PR, c-erbB-2, Ki67, e-cadherin**), τις κλινικές παραμέτρους καθώς και τα δημογραφικά στοιχεία των γυναικών με τον καρκίνο του μαστού (π.χ. ηλικία, περιοχή διαμονής, ημερομηνία ιστολογικής εξέτασης). Όλα τα δεδομένα επεξεργάστηκαν και αναλύθηκαν με το ειδικό στατιστικό λογισμικό πρόγραμμα SPSS, της πλέον πρόσφατης 29^{ης} έκδοσης. Όλα τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη στατιστική επεξεργασία είναι ανώνυμα και χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά για τους σκοπούς της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων μας, χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS v29 (29.0.0), έκδοση 29^η, της εταιρείας IBM.

Η ανοσοϊστοχημική μέθοδος στηρίζεται στην ειδική δέσμευση μονοκλωνικών ή πολυκλωνικών αντισωμάτων με ενδοκυττάρια ή εξωκυττάρια αντιγόνα που βρίσκονται στον υπό μελέτη ιστό. Οι θέσεις δέσμευσης ανιχνεύονται είτε με τη χρήση φθορίζοντων μορίων (ανοσοφθορίζουσες τεχνικές) είτε, συνηθέστερα, με τη χρήση ενζυμικής χρωμογόνου αντίδρασης (ανοσοενζυμικές τεχνικές), όπου το ένζυμο που συνήθως χρησιμοποιείται είναι η υπεροξειδάση (horseradish peroxidase – HRP).

Η υπεροξειδάση καταλύει, παρουσία ενός δότη ηλεκτρονίων, τη διάσπαση του υπεροξειδίου σε νερό και οξυγόνο. Ως δότες ηλεκτρονίων χρησιμοποιούνται ουσίες οι οποίες οξειδούμενες, παράγουν χρώμα (χρωμογόνα). Το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο χρωμογόνο στην ανοσοϊστοχημεία είναι η 3,3'- τετραϋδροχλωρική-διάμινο-βενζιδίνη (DAB) που παράγει ένα σκούρο καφέ χρώμα (Chan JK, 2000, Rosai and Ackerman's, 2004).

Οι πιο συνηθισμένοι ανοσοϊστοχημικοί προγνωστικοί και θεραπευτικοί δείκτες καρκίνου του μαστού που χρησιμοποιούνται σήμερα περιλαμβάνουν τους εξής δείκτες: ER, HER2, Ki-67, PR και p53. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται δείκτες αγγειογένεσης και απόπτωσης.

Παρά τον τεράστιο αριθμό δημοσιεύσεων για βιοδείκτες καρκίνου, σχετικά λίγοι χρησιμοποιούνται ευρέως στη διαχείριση των ασθενών. **Έτσι, στον καρκίνο του μαστού, μόνο 3 βιοδείκτες: ER, PR και HER2 αξιολογούνται παγκοσμίως.** Ένας από τους κύριους λόγους για αυτήν την περιορισμένη χρήση, είναι η μη σωστή επικύρωση και η χρησιμότητα κλινικής αξίας για τους αναδυόμενους βιοδείκτες (Duffy MJ et al, 2015).

Επιπλέον, η κανονιστική έγκριση και η απόδειξη της σχέσης κόστους/ οφέλους καθίστανται απαραίτητα σε έναν αυξανόμενο αριθμό χωρών. Έτσι, όπως και με την επικύρωση των θεραπευτικών φαρμάκων, η ολοκληρωμένη επικύρωση των νέων βιοδεικτών είναι δαπανηρή και χρονοβόρα. Προκειμένου να ολοκληρωθούν πιο αποτελεσματικά αυτά τα βήματα, οι βιοδείκτες αξιολογούνται αυξανόμενα επί τη βάση κλινικών δοκιμών που αξιολογούν νέες θεραπείες που σχετίζονται με φάρμακα. Αυτό ισχύει ειδικά για συνοδευτικούς βιοδείκτες, όπως οι προγνωστικοί και οι προβλεπτικοί βιοδείκτες (Duffy MJ, Crown J. 2014).

Σήμερα, η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης (ER και PR, αντίστοιχα) είναι μέρος της εργαστηριακής ρουτίνας επεξεργασίας ιστικών τεμαχίων καρκίνου του μαστού και σε ορισμένες περιπτώσεις εστιακού-in situ πορογενούς καρκινώματος μαστού χαμηλής σταδιοποίησης (DCIS), η παρουσία υποδοχέων οιστρογόνων (ERs) αποτελεί ένδειξη για τη θεραπεία με ταμοξιφαίνη. Υπάρχουν πολλά συστήματα βαθμολόγησης και πολλές μελέτες έχουν συγκρίνει την ικανότητά τους να προβλέπουν την ανταπόκριση και τη συσχέτιση της θεραπείας με το αποτέλεσμα. Το πρώτο σύστημα βαθμολόγησης μέτρησε το ποσοστό των θετικών κυττάρων και αγνόησε την ένταση της χρώσης (Fisher ER et al, 2005).

Πάρα πολλές μελέτες έχουν γίνει για να εκτιμηθεί η προγνωστική αξία της υπερέκφρασης του HER-2/neu στις ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Στις ασθενείς που έχουν όγκους με θετικούς λεμφαδένες, η παρουσία του HER-2/neu έχει ξεκάθαρη δυσμενή προγνωστική αξία και συνδέεται με μικρότερο διάστημα χωρίς υποτροπή της νόσου και μειωμένη επιβίωση (Ross & Fletcher, 1998). Αντίθετα, τα πράγματα είναι πιο πολύπλοκα στις ασθενείς χωρίς λεμφαδενική συμμετοχή, όπου δεν έχει αποδειχθεί η προγνωστική αξία του HER-2/neu αφού τα αποτελέσματα των μελετών που έχουν γίνει μέχρι τώρα είναι αντικρουόμενα (Mirza et al, 2002), (Schnitt, 2001).

Για την ανοσοϊστοχημική χρώση από τους εγκλιβωτισμένους σε παραφίνη ιστούς ελήφθησαν, με ειδικό μικροτόμο, εν σειρά ιστολογικές τομές πάχους 3-4 μm, οι οποίες τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρους πλάκες Polysine και SuperfrostPlus (Menzel-Glasser®, Freiburg, Germany) για την εφαρμογή της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου για κάθε έναν από τους ανοσοϊστοχημικούς δείκτες καρκίνου του μαστού: Her2, Ki67, p53, ER, PR, e-cadherin.

Η εκτίμηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης έγινε από δύο παθολογοανα-τόμους, ανεξάρτητα, χωρίς να γνωρίζουν οποιαδήποτε πληροφορία για τα υπό εξέταση κλινικά δείγματα.

Οι ιστολογικές τομές από όλα τα δείγματα μελετήθηκαν με φωτονικό μικροσκόπιο και ανάλογα με την εντόπιση του αντισώματος, αξιολογήθηκε η χρώση ως κυτταροπλασματική ή/και μεμβρανική, πυρηνική ή/και κυτταροπλασματική και κυτταροπλασματική, τόσο στο νεοπλασματικό ιστό, όσο και στον παρακείμενο μη νεοπλασματικό ιστό. Η διαβάθμιση της έντασης έγινε με την ακόλουθη κλίμακα: 0 για μη ανιχνεύσιμη χρώση, 1 για ασθενή ένταση, 2 για μέτρια και 3 για ισχυρή. Η διαβάθμιση του ποσοστού των ανοσοθετικών κυττάρων έγινε ημιποσοτικά, με την ακόλουθη κλίμακα: 0 για ανοσοθετικότητα σε 0-10% των κυττάρων, 1 για 10 – 29%, 2 για 30 – 59% και 3 για 60 – 100%. Για κάθε δείγμα, προέκυψε ένας βαθμός από το άθροισμα των βαθμών της έντασης και της κατανομής, ο οποίος κυμαίνεται από 0 έως 6. Για στατιστικούς λόγους, οι όγκοι με τελική βαθμολογία 1,2,3 εντάχθηκαν στην ομάδα χαμηλής έκφρασης και αυτοί με τελική βαθμολογία 4,5,6 στην ομάδα υψηλής έκφρασης.

*ER, PR: θεωρούνται θετικοί όταν >1% των κυττάρων εμφανίζει θετική πυρηνική έκφραση. Her2: κατηγοριοποίηση σύμφωνα με τα προτεινόμενα κριτήρια του πρωτοκόλλου DAKO. p53: θεωρείται θετικό όταν >10% των κυττάρων εμφανίζει

θετική πυρηνική έκφραση. Ki67: θεωρείται χαμηλή έκφραση όταν $\leq 15\%$, μέτρια όταν 16-30% και υψηλή όταν $>30\%$ των κυττάρων εμφανίζει θετική πυρηνική έκφραση.

Ποσοτική εκτίμηση της ανοσοϊστοχημείας: Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων βασίζεται σε ημιποσοτική εκτίμηση της εντόπισης του αντιγόνου. Αυτή απαιτεί τον καθορισμό των κατώτατων ορίων (cut off levels) μεταξύ αρνητικής και θετικής έκφρασης. Η ανάλυση εικόνας μέσω ηλεκτρονικών υπολογιστών έχει αποδειχθεί ανώτερη της οπτικής εκτίμησης. Η ποσοτικοποίηση της ανοσοϊστοχημείας με τη μέθοδο αυτή, παρουσιάζει δυσκολίες που οφείλονται: α) στην εφαρμογή του κατάλληλου λογισμικού προγράμματος και β) στη διαφορετική ένταση χρώσης που οφείλεται στο πάχος των τομών (Taylor CR, Shi S-R, Barr NJ, Wu N. 2006).

Κριτήρια ένταξης ασθενών της μελέτης:

Η μελέτη περιλάμβανε γυναίκες ασθενείς, ηλικίας άνω των 18 ετών, των οποίων τα ιατρικά αρχεία όσον αφορά, τόσο τις ιστοπαθολογικές, όσο και τις ανοσοϊστοχημικές εξετάσεις αποθηκεύτηκαν στα αρχεία του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, της Ιατρικής Σχολής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και οι οποίες ασθενείς συμφώνησαν να εγγραφούν στη μελέτη μας, αφού υπέγραψαν το έντυπο συγκατάθεσης κατόπιν σχετικής τους ενημέρωσης.

Συλλογή δεδομένων:

Συλλέχθηκαν τα ακόλουθα δεδομένα: ηλικία, εντόπιση του όγκου, παράμετροι που σχετίζονται με την ιστοπαθολογική εξέταση και παράμετροι που σχετίζονται με την ανοσοϊστοχημική εξέταση. Όσον αφορά τις ιστοπαθολογικές παραμέτρους, αναλύθηκαν τα ακόλουθα στοιχεία: μέγεθος όγκου, ιστολογικός βαθμός, αριθμός προσβεβλημένων λεμφαδένων, παρουσία ή μη θετικού λεμφαδένα φρουρού, ελεύθερα ή διηθημένα χειρουργικά όρια, σύνθεση όγκου, ιστοπαθολογική ταξινόμηση του όγκου (Muller K, Jorns JM, Tozbikian G, 2022) και στάδιο του όγκου κατά TNM (Cancer Research UK, 2024).

Όσον αφορά τα ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά, εξετάστηκαν τα ακόλουθα: η παρουσία και η ένταση έκφρασης του αντιγόνου κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67, η έκφραση του ογκογονιδίου HER-2, η ένταση έκφρασης και η παρουσία ή μη των ορμονικών υποδοχέων (ER και PR), η έκφραση της E-καντχερίνης, του p53, του p63,

της κυτταροκερατίνης (CK14), της κυτταροκερατίνης (CK5/6), του υποδοχέα ανδρογόνου (AR) και του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR).

Πίνακας 13. Συστάσεις Ευρωπαϊκής Ομάδας Καρκινικών Δεικτών (European Group on Tumor Markers-EGTM), (Simon RM, Paik S, Hayes DF. 2009)

<u>Βιοδείκτες Καρκίνου</u> <u>Μαστού</u>	<u>Συστάσεις</u>
ER (υποδοχείς οιστρογόνων)	Για την πρόβλεψη της απόκρισης στην ενδοκρινική θεραπεία σε ασθενείς με πρώιμο ή προχωρημένο καρκίνο του μαστού. Υποχρεωτικό σε όλες τις ασθενείς.
PR (υποδοχείς προγεστερόνης)	Σε συνδυασμό με τους υποδοχείς των οιστρογόνων για την πρόβλεψη της απόκρισης σε ενδοκρινική θεραπεία σε ασθενείς με πρώιμο ή προχωρημένο καρκίνο του μαστού. Υποχρεωτικό σε όλους τους ασθενείς.
HER2	Για την πρόβλεψη απόκρισης στη θεραπεία κατά του HER2 σε ασθενείς με πρώιμο ή προχωρημένο καρκίνο του μαστού. Υποχρεωτικό σε όλους τους ασθενείς.
Ki67	Συνιστάται σε συνδυασμό με καθορισμένους κλινικούς και παθολογικούς παράγοντες για τον προσδιορισμό της πρόγνωσης σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθέντα διηθητικό καρκίνο του μαστού, ειδικά εάν οι τιμές είναι χαμηλές ή υψηλές.

Εισαγωγή στην ανοσοϊστοχημεία

Ανοσοϊστοχημεία είναι η εφαρμογή των αρχών και τεχνικών της ανοσολογίας με σκοπό την ανάδειξη συγκεκριμένων μορίων στα κύτταρα και στους ιστούς. Η αρχική μέθοδος, η οποία δημιουργήθηκε από τον Albert Coons το 1941, βασιζόταν στη σήμανση ενός αντισώματος, που είχε καλλιεργηθεί προηγουμένως σε κουνέλι, με φθορίζοντα ιχνηθέτη και την μετέπειτα ανίχνευσή του (και άρα και του αντιγόνου με το οποίο είχε συνδεθεί) σε τομές ιστού, με τη βοήθεια μικροσκοπίου ανοσοφθορισμού. Αυτή η μέθοδος που στηριζόταν στις φθορίζουσες χρωστικές είχε περιορισμούς, αρκετοί από τους οποίους ξεπεράστηκαν το 1968 με την εφαρμογή της μεθόδου που βασιζόταν στην σήμανση ενός ενζύμου, της περοξειδάσης (Nakane PK, 1968). Το 1981

εμφανίστηκε μια νέα γενιά ανοσοϊστοχημικών μεθόδων που βασίζονταν στα μόρια αβιδίνη και βιοτίνη. Σήμερα υπάρχει μια ποικιλία μεθόδων και τεχνικών που μπορεί να επιλέξει κανείς ανάλογα με τις ανάγκες του.

Η ανοσοϊστοχημεία αναδείχθηκε ως ένα σημαντικό διερευνητικό εργαλείο που μπορεί να προσφέρει συμπληρωματικές πληροφορίες στη μορφολογική εκτίμηση των ιστών. Η χρήση της στη μελέτη κυτταρικών δεικτών που προσδιορίζουν συγκεκριμένους φαινότυπους, προσέφερε σημαντικές διαγνωστικές, προγνωστικές και προβλεπτικές πληροφορίες σχετικά με τη βιολογική συμπεριφορά και κατάσταση της ασθένειας. Η ιστορία της ανοσοϊστοχημείας είναι μια συνεχής προσπάθεια βελτίωσης της ευαισθησίας της ανίχνευσης των σπάνιων αντιγονικών στόχων, με απώτερο στόχο την ενσωμάτωση πρωτεομικών πληροφοριών στην ανάλυση του ιστού.

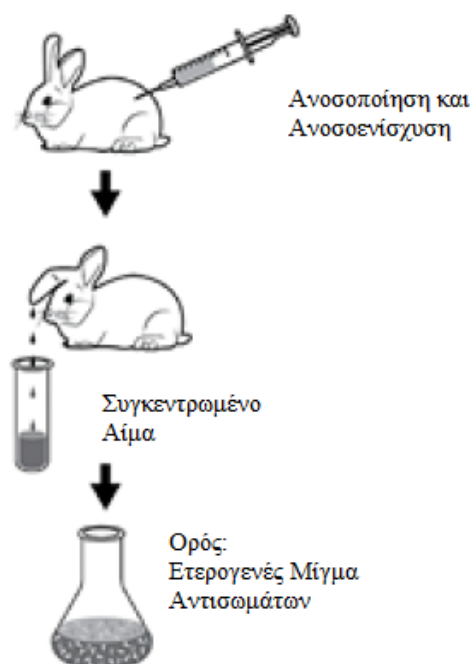
Αντισώματα

Το κοινό βασικό αντιδραστήριο σε όλες τις ανοσοϊστοχημικές τεχνικές είναι το αντίσωμα. Η διαθεσιμότητα των νέων αντιορών, κλασμάτων των ανοσοσφαιρινών τους και μονοκλωνικών αντισωμάτων για έναν συνεχώς αυξανόμενο αριθμό «κλινικά» χρήσιμων αντιγόνων στους ιστούς, βοήθησε σημαντικά στη βελτίωση της ποιότητας και της ποικιλίας της ανοσοϊστοχημικής τεχνικής.

Τα αντισώματα ανήκουν σε μια ομάδα πρωτεϊνών που ονομάζονται ανοσοσφαιρίνες (Ig) και είναι παρόντα στο αίμα ανοσοποποιημένων ζώων. Φυγοκεντρώντας το αίμα και αφαιρώντας τα κύτταρα και την ινική συλλέγουμε το κλάσμα του ορού που ονομάζεται αντιορός.

Πολυκλωνικά αντισώματα

Τα πολυκλωνικά αντισώματα είναι ένα ετερογενές μείγμα αντισωμάτων ειδικών για διάφορους επιτόπους του ίδιου αντιγόνου. Τα αντισώματα παράγονται από διαφορετικούς κλώνους Β-λεμφοκυττάρων του ζώου και ως συνέπεια είναι ανόμοια μεταξύ τους. Τα αντισώματα ενός πολυκλωνικού μίγματος μπορεί να διαφέρουν λιγάκι στην ειδικότητα και στη συγγένεια. Παράγονται συνήθως σε κουνέλια, αλλά μπορεί και σε άλλα θηλαστικά, όπως κατσίκια, γουρούνια, αγελάδα και ινδικό χοιρίδιο.



Εικόνα 21: Διαδικασία παραγωγής του πολυκλωνικού αντισώματος (Kumar GL and Rudbeck L, 2009)

Μονοκλωνικά αντισώματα

Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι ένας ομοιογενής πληθυσμός ανοσοσφαιρινών, ειδικός για ένα συγκεκριμένο επίτοπο. Τα αντισώματα παράγονται από έναν κλώνο Β-λεμφοκυττάρων από ένα ζώο εργαστηρίου και γι' αυτό είναι όμοια. Για την παραγωγή τους χρησιμοποιούνται πιο συχνά ποντίκια και κουνέλια και σπανιότερα αρουραίοι και καμήλες.

Η τεχνική παραγωγής των μονοκλωνικών αντισωμάτων με τη χρήση υβριδωμάτων ανακαλύφθηκε από τους Köhler και Milstein το 1975 και στηρίχθηκε στην τεχνική της κυτταρικής σύντηξης. Τα ζώα ανοσοποιούνται με ενδοπεριτοναϊκές ενέσεις που περιέχουν το ανοσογόνο και ενισχύονται κάθε 2 εβδομάδες σε μια περίοδο 2 μηνών για τα ποντίκια και 2 έως 4 μηνών για τα κουνέλια. Η ανοσολογική απάντηση του ζώου παρακολουθείται και καταγράφεται μέσω περιοδικών εξετάσεων του ορού. Όταν επιτευχθεί μια αποδεκτή ανοσολογική απάντηση, το ζώο θανατώνεται και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρά του από το σπλήνα, τα οποία συντήκονται με μια αθάνατη κυτταρική σειρά (νεοπλασματικά κύτταρα πολλαπλού μυελώματος) που ονομάζεται συνεργάτης σύντηξης. Το αποτέλεσμα αυτής της σύντηξης καλείται υβρίδωμα (Köhler G and Milstein C, 1975).

Βασική ανοσοχημεία

Στην ανοσοϊστοχημεία, ο τίτλος των αντισωμάτων, ο χρόνος επώασης και η θερμοκρασία είναι στενά συνυφασμένα με την ποιότητα της χρώσης. Αυτούς τους παράγοντες μπορούμε να τους μεταβάλλουμε ανεξάρτητα τον ένα από τον άλλο, αλλά με τέτοιο τρόπο που να επιφέρουν θετικές αλλαγές, δηλαδή μια ιδανική ειδική χρώση συνοδευόμενη από ελάχιστη παρεμβολή χρώσης υποστρώματος.

Τίτλος αντισωμάτων

Ως ιδανικός τίτλος αντισωμάτων ορίζεται η μέγιστη αραιώση του αντιορού ή του μονοκλωνικού αντισώματος που θα έχει ως αποτέλεσμα τη μέγιστη ειδική χρώση με την ελάχιστη χρώση υποστρώματος υπό ειδικές συνθήκες. **Η μέγιστη αραιώση καθορίζεται κυρίως από τον απόλυτο αριθμό των ειδικών αντισωμάτων που περιέχονται.**

Στους πολυκλωνικούς αντιορούς, ο τίτλος των αντισωμάτων εκφράζεται ως μικρογραμμάρια του αντιγόνου που κατακρημνίζονται ανά χιλιοστόλιτρο του αντιορού. Αύξηση του τίτλου των πολυκλωνικών αντιορών με την απομόνωση και την ενίσχυση τμημάτων των ανοσοσφαιρινών, προσφέρει ελάχιστα στην ανοσοϊστοχημεία, επειδή ενισχύονται και μη ειδικά αντισώματα και άλλες διαλυτές ενώσεις που είναι συχνά αίτια για μη ειδική χρώση υποστρώματος.

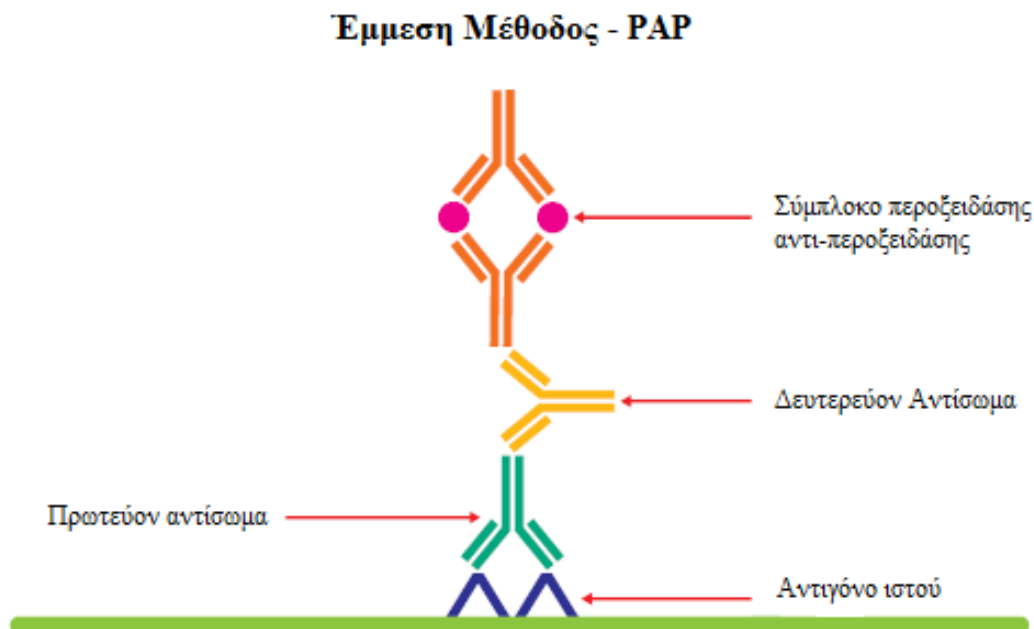
Στα μονοκλωνικά αντισώματα, η συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων μπορεί να καθοριστεί και να γίνει η βάση για τις αναγκαίες αραιώσεις.

Μια ιδανική αραιώση αντισώματος εξαρτάται ακόμα από την εγγενή συγγένεια ενός αντισώματος. Εάν ο τίτλος είναι σταθερός, ένα υψηλής συγγένειας αντίσωμα είναι πολύ πιθανό να αντιδράσει με το αντιγόνο του ιστού πολύ πιο γρήγορα και να δώσει πιο έντονη χρώση στον ίδιο χρόνο επώασης, απ' ό,τι ένα αντίσωμα χαμηλής συγγένειας. Πρακτικά, για έναν πολυκλωνικό αντιορό, ο τίτλος ποικίλει από 1:100 έως 1:2000, ενώ για τα μονοκλωνικά αντισώματα από 1:10 έως 1:1000 και μάλιστα για τα μονοκλωνικά αντισώματα που έχουν παραχθεί με τη μέθοδο του ασκτικού υγρού μέχρι 1:1.000.000.

Ανοσοϊστοχημικές μέθοδοι χρώσεων

Το 1968, η μέθοδος της σήμανσης αντισώματος με περοξειδάση ήταν η πρώτη μέθοδος που χρησιμοποιούσε αντισώματα σε τομές ιστού. Λόγω της επιτυχίας των ανοσοϊστοχημικών μεθόδων δόθηκε μεγάλη έμφαση στην έρευνα με αποτέλεσμα να

ανακαλυφθούν νέοι μέθοδοι, όπως της γέφυρας ανοσοπεροξειδάσης (Mason TE et al, 1969) και της μεθόδου του συμπλόκου περοξειδάσης-αντιπεροξειδάσης (Sternberger LA et al, 1970).



Εικόνα 22: Μέθοδος συμπλόκου περοξειδάσης-αντιπεροξειδάσης (PAP), (Kumar GL and Rudbeck L, 2009)

Το 1981 εμφανίστηκε μια νέα γενιά μεθόδων που χρησιμοποιεί τα μόρια αβιδίνης και βιοτίνης (Hsu SM et al, 1981). Αυτές οι μέθοδοι βασίζονται στην ισχυρή συγγένεια της αβιδίνης και της στρεπταβιδίνης με τη βιοτίνη. Πιο συγκεκριμένα η στρεπταβιδίνη (από το Στρεπτομύκητα *avidinii*) και η βιοτίνη (από το αυγό της κότας) διαθέτουν 4 θέσεις σύνδεσης με τη βιοτίνη, η οποία συνδέεται πολύ εύκολα και με αντισώματα και με ένζυμα. Έτσι στο σύμπλοκο αβιδίνης-βιοτίνης (Avidin-Biotin Complex, ABC) δευτερεύοντα αντισώματα συνδέονται με τη βιοτίνη και λειτουργούν ως σύνδεσμοι μεταξύ των πρωτογενών αντισωμάτων που έχουν αντιδράσει με τα αντιγόνα του ιστού και του συμπλόκου αβιδίνης-βιοτίνης-περοξειδάσης (Heras A, et al, 1995).

Παρόμοια μέθοδος είναι αυτή της στρεπταβιδίνης - βιοτίνης - περοξειδάσης (Labeled Streptavidin-Biotin, LSAB) που χρησιμοποιεί ένα δευτερεύον αντίσωμα, ως σύνδεσμο των πρωτογενών αντισωμάτων με το σύμπλοκο στρεπταβιδίνης-βιοτίνης-περοξειδάσης (Chilosi M et al, 1994).

Και στις δύο μεθόδους, το πρωτεΐν αντίσωμα συνδέεται ακολούθως με πολλαπλά μόρια περοξειδάσης και λόγω της μεγάλης αναλογίας ενζύμου προς αντίσωμα, επιτυγχάνεται μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τις απευθείας μεθόδους περοξειδάσης-μορίου σύνδεσης. Επειδή η αβιδίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με ισοηλεκτρικό σημείο (pI) 10, έχει την προδιάθεση να συνδέεται μη ειδικά σε μόρια ομοιάζοντα με τη λεκτίνη και με αρνητικά φορτισμένα στοιχεία του ιστού σε φυσιολογικό pH. Σε αντίθεση με την αβιδίνη, η στρεπταβιδίνη έχει πιο ουδέτερο ισοηλεκτρικό σημείο και δεν έχει τμήματα πολυσακχαριτών, με αποτέλεσμα να συμβαίνει λιγότερη μη ειδική σύνδεση.

ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΧΡΩΣΗΣ

Η ιστολογική και ανοσοϊστοχημική μελέτη πραγματοποιήθηκε σε ιστοτεμάχια μονιμοποιημένα σε υδατικό διάλυμα ουδέτερης φορμόλης 10% και εγκλεισμένα σε κύβους παραφίνης (Paraplast) στους 55 °C. Από κάθε περίπτωση κόπηκαν με μικροτόμο (*Finesse ME, Thermoshandon, Runcorn, UK*) τομές πάχους 4 μm, οι οποίες απλώθηκαν σε υδατόλουτρο (*TissueBath, P/S, NBITY2K, Chicago 47, USA*) ρυθμισμένο στους 60°C και στη συνέχεια επιστρώθηκαν σε ηλεκτροθετικά φορτισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες, για την αποφυγή αποκόλλησης των τομών κατά την κατεργασία. Ακολούθως, οι τομές τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ξηράς θερμότητας για 1 ώρα στους 60°C για τη σταθεροποίηση των ιστών.

Χρησιμοποιήθηκε η έμμεση μέθοδος της ανοσοπεροξειδάσης με τη βοήθεια του συστήματος αντίχενωσης **DAKO EnVision FLEX+** (*HRP/DAB, Ειδικότητα: Anti-Mouse IgG (H+L) – Agilent DAKO, 5301 Stevens Creek Blvd., Santa Clara, CA 95051, USA, Cat.# K8002*). Αναλυτικά, ακολουθήθηκε το εξής πρωτόκολλο:

I. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΧΡΩΣΗΣ

1.1. Αποπαραφίνωση, ενυδάτωση και αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων

Η αποπαραφίνωση και ενυδάτωση των τομών έγινε κατά τη συνήθη τεχνική ως εξής:

Οι τομές τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ξηράς θερμότητας για 30 λεπτά στους 60⁰ C. Η αποπαραφίνωση, η ενυδάτωση και η αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων πραγματοποιήθηκαν με βρασμό των τομών σε μηχανήμα (PTLink, Dako) για 20 λεπτά στους 96⁰C [υψηλό pH (9) για όλους τους δείκτες].

1.2. Δέσμευση ενδογενούς υπεροξειδάσης

Η δραστηριότητα της ενδογενούς υπεροξειδάσης των ιστών συμβάλλει στη μη ειδική χρώση του υποστρώματος και για αυτό το λόγο επιβάλλεται η εξουδετέρωσή της, πριν από την τοποθέτηση του πρωτογενούς αντισώματος.

Η δέσμευση της δραστηριότητας της ενδογενούς υπεροξειδάσης έγινε με τοποθέτηση των τομών σε διάλυμα H₂O₂ (EnVision FLEX Peroxidase-Blocking Reagent) σε θερμοκρασία δωματίου και σκοτεινό περιβάλλον για 6 λεπτά και ακολούθησε έκπλυση με διάλυμα Tris [EnVision FLEX WASH BUFFER (20x)] για 5 λεπτά.

1.3. Αντισώματα

D) Για την τυποποίηση της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου προηγήθηκε συγκριτική διερεύνηση για την τιτλοποίηση του κάθε αντισώματος με βάση τις προτεινόμενες τιμές της αντίστοιχης παρασκευάστριας εταιρείας, με σκοπό την ανεύρεση της κατάλληλης συγκέντρωσης και του ιδανικού χρόνου επώασης που εξασφάλιζαν τη βέλτιστη δυνατή ανοσοχρώση, με τη μικρότερη μη ειδική χρώση του υποστρώματος.

Χρησιμοποιήθηκε η συσκευή ανοσοϊστοχημείας **Sequenza** (*Thermoshandon, Runcorn, UK*) με χρήση της τεχνολογίας **cover-plates**, η οποία στηρίζεται στο φαινόμενο του τριχοειδούς και εξασφαλίζει χρώση με την ελάχιστη ποσότητα αντιδραστηρίου και προστασία των δειγμάτων από την ξήρανση.

Τα αντισώματα της μελέτης ήταν τα εξής:

- 1) Υποδοχέας προγεστερόνης, PR, clone PgR 636 (*Agilent DAKO, 5301 Stevens Creek Blvd., Santa Clara, CA 95051, USA*), σε αραιώση 1:200. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 2) Υποδοχέας οιστρογόνων, ER, clone EP1 (*Agilent DAKO*), σε αραιώση 1:200. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 3) Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας 2, HER-2, rabbit polyclonal (*Agilent DAKO*), σε αραιώση 1:1700. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 4) Δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67, clone MIB-1 (*Agilent DAKO*), σε αραιώση 1:200. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 5) E-cadherin, clone NCH-38 (*Agilent DAKO*), σε αραιώση 1:200. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 6) P16, clone RBT-p16 (*BioSB, 5385 Hollister Avenue, Santa Barbara CA, USA*), σε αραιώση 1:200. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 7) P53, clone DO7 (*Agilent DAKO*), σε αραιώση 1:200. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 8) Cytokeratin 7, clone OV-TL 12/30 (*Agilent DAKO*), σε αραιώση 1:200. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 9) Cytokeratin 14, clone LL002 (*Cell Marque, 6600 Sierra College Blvd., Rocklin, CA, USA*), σε αραιώση 1:400. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 10) EGFR, clone 31G7 (*BioSB*), σε αραιώση 1:200. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.
- 11) Υποδοχέας ανδρογόνων, AR, clone BSB-4 (*BioSB*), έτοιμο προς χρήση. Χρόνος επώασης 45 min σε θερμοκρασία δωματίου.

II) Στη συνέχεια, τοποθετήθηκε το έτοιμο για χρήση σύμπλεγμα EnVision FLEX/HRP (EnVision FLEX+, *Agilent DAKO*) σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά και ακολούθησε έκπλυση των τομών με διάλυμα Tris για 10 λεπτά (*Dako, Agilent, 2016*).

1.4. Χρωμογόνο και αντίχρωση

Η χρησιμοποίηση έμμεσων ανοσοϊστοχημικών μεθόδων με υπεροξειδάση, συμβάλλει στην ενίσχυση του σήματος της ανοσοαντίδρασης. Η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης επισημάνθηκε με την τοποθέτηση διαλύματος χρωμογόνου **3,3', τετραϋδροχλωρικής διαμινοβενζιδίνης (DAB Chromogen, EnVision FLEX, Agilent, DAKO)**. Η **DAB** με την παρουσία της υπεροξειδάσης πολυμερίζεται, παράγοντας ένα αδιάλυτο στους οργανικούς διαλύτες πολυμερές, το οποίο εντοπίζεται στις θέσεις αντιγόνου-αντισώματος και προσφέρει έντονη και σταθερή φαιά χρώση.

Η παρασκευή του διαλύματος γίνονταν 15 τουλάχιστον λεπτά πριν από τη χρήση, με τοποθέτηση και ανάδευση 1-2 σταγόνων (40-100 ul) χρωμογόνου DAB σε 1 ml διαλύματος υποστρώματος DAB (**DAB Substrate, EnVision FLEX, Agilent, DAKO**). Οι τομές τοποθετούνταν στο χρωμογόνο για 6 λεπτά, σε σκοτεινό μέρος και σε θερμοκρασία δωματίου και ακολουθούσε έκπλυση με διάλυμα Tris για 10 λεπτά και τρεχούμενο νερό βρύσης για άλλα 10 λεπτά. Στη συνέχεια, οι τομές τοποθετούνταν για αντίχρωση σε πρόσφατο διάλυμα αιματοξυλίνης Gill's (**BIOGNOST, Medjugorska 59,10040 Zagreb, Croatia,**) για 1 λεπτό.

1.5. Αφυδάτωση και κάλυψη

Η αφυδάτωση των τομών έγινε με διαδοχικές εμβαπτίσεις σε διαλύματα αιθανόλης (ανιούσα οιοπνευμάτων) 70°C, 80°C, 96°C και 100°C από 1 λεπτό και ξυλόλη θερμοκρασίας δωματίου για 2 λεπτά. Η τεχνική ολοκληρώθηκε με την κάλυψη των τομών με το ειδικό υλικό επικάλυψης **Entellan (Sigma-Aldrich, Ref.# 1.07961.0500)** και την τοποθέτηση καλυπτρίδας (Dako, Agilent, 2016).

1.6 Ανοσοϊστοχημική ανάλυση:

Η ανοσοϊστοχημεία εκτελέστηκε, ακολουθώντας προτυποποιημένες διαδικασίες σε όλα τα εξεταζόμενα δείγματα ιστών. Πρώτα από όλα, οι ιστολογικές τομές βάφτηκαν με τα ακόλουθα αντισώματα σε ένα αυτοματοποιημένο σύστημα της εταιρείας Dako (AutostainerLink 48, Agilent Dako Pathology Solutions, Santa Clara, CA, USA), σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή.

Οι τομές χρωματίστηκαν με βάση το πρωτόκολλο διπλής χρώσης της Leica Biosystems στην πλήρως αυτοματοποιημένη χρώση Bond-III, με αντισώματα κατά του υποδοχέα

οιστρογόνου (ER), (κλώνος EP1; Agilent DAKO), έναντι του υποδοχέα προγεστερόνης (PR), (κλώνος PgR 636 Agilent DAKO), έναντι του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER-2), (πολυκλωνικός κουνελιού, Agilent DAKO), έναντι του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Ki-67), (κλώνος MIB-1, Agilent DAKO) και έναντι της E-καντχερίνης, (κλώνος NCH-38, Agilent DAKO). Η ανάκτηση αντιγόνου πραγματοποιήθηκε σε pH=6. Χρησιμοποιήθηκε το σύστημα οπτικοποίησης Agilent (Dako). Το DAB (3,3-διαμινοβενζιδίνη) χρησιμοποιήθηκε ως χρωμογόνο και η χρώση αιματοξυλίνη ως αντιχρώση.

Η ιστολογική και ανοσοϊστοχημική μελέτη διεξήχθη σε ιστοτεμάχια, μονιμοποιημένα σε 10% ουδέτερο υδατικό διάλυμα φορμαλίνης και ενσωματωμένα σε κύβους παραφίνης (Paraplast, Leica Biosystems Inc., Richmond, IL, USA) στους 55°C. Η μέθοδος έμμεσης ανοσοϋπεροξειδάσης χρησιμοποιήθηκε στο σύστημα αντίχνευσης DAKO EnVision FLEX+ (HRP/DAB, Specificity: Anti-Mouse IgG (H+L) – Agilent DAKO, Cat# K8002).

Η συσκευή ανοσοϊστοχημείας Sequenza (Thermoshandon, Runcorn, UK) που χρησιμοποιήθηκε βασίζεται στην τεχνολογία επικάλυψης των αντικειμενοφόρων πλακών, η οποία βασίζεται στο τριχοειδές αποτέλεσμα και εξασφαλίζει χρώση με την ελάχιστη ποσότητα αντιδραστηρίου και με προστασία των δειγμάτων από την ξήρανση. Όλα τα αντισώματα για την ανοσοϊστοχημική αντίχνευση χρησιμοποιήθηκαν σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή.

Η χρήση των έμμεσων ανοσοϊστοχημικών μεθόδων με υπεροξειδάση συμβάλλει στην ενίσχυση του σήματος της ανοσολογικής αντίδρασης. Η δράση της υπεροξειδάσης οπτικοποιήθηκε με χρώση, με τη βοήθεια του χρωμογόνου διαλύματος τετραϋδροχλωρικής διαμινοβενζιδίνης 3,3' (DAB Chromogen, EnVision FLEX, Agilent DAKO), (Dako, Agilent, 2016).

Οι ιστολογικές τομές από όλα τα δείγματα παρατηρήθηκαν με φωτονικό μικροσκόπιο (Leica ®). Η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα και τυφλά από δύο έμπειρους ιατρούς παθολογοανατόμους.

Η χρώση αξιολογήθηκε ως κυτταροπλασματική και/ή μεμβρανώδης, πυρηνική και/ή κυτταροπλασματική, τόσο στο νεοπλασματικό ιστό, όσο και στον παρακείμενο μη νεοπλασματικό ιστό.

Η ένταση βαθμολογήθηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη κλίμακα: 0 για μη ανιχνεύσιμη χρώση, 1 για ασθενή ένταση, 2 για μέτρια και 3 για ισχυρή. Η βαθμολόγηση του ποσοστού των θετικών κυττάρων έγινε ημιποσοτικά, με την

ακόλουθη κλίμακα: 0 για ανοσοθετικότητα στο 0-10% των κυττάρων, 1 για το 10-29%, 2 για το 30-59% και 3 για το 60-100% των κυττάρων. Για κάθε δείγμα, προέκυψε μια βαθμολογία από το άθροισμα των βαθμολογιών της έντασης και της κατανομής, που κυμαίνεται από 0 έως 6. Οι όγκοι με τελική βαθμολογία: 1, 2, 3 συμπεριλήφθηκαν στην ομάδα αδύναμης έκφρασης και αυτοί με τελική βαθμολογία: 4, 5, 6 στην ομάδα της ισχυρής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης για τους προβλεπτικούς-προγνωστικούς βιοδείκτες που μελετήθηκαν, με κυριότερους τους δείκτες: **PR, ER, HER2 ή c-erbB-2, Ki-67 και e-cadherin.**

Πίνακας 14. Τα κυριότερα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν στην ανοσοϊστοχημική μας ανάλυση (Dako, Agilent, 2016)

Αντισώματα	Αραίωση	Συνθήκες επώασης
Υποδοχέας οιστρογόνων (ER), (κλώνος EP1, Agilent DAKO)	1:200	45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
Υποδοχέας προγεστερόνης (PR), (κλώνος PgR 636, Agilent DAKO, 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, CA 95051, USA)	1:200	45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας 2 (HER-2), πολυκλώνος κουνελιού (Agilent DAKO)	1:1.700	45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
Δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Ki-67), Κλώνος MIB-1 (Agilent DAKO)	1:200	45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
E-καντχερίνη, Κλώνος NCH-38 (Agilent DAKO)	1:200	45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου

1.7 Προσδιορισμός θετικής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης:

Η έκφραση του υποδοχέα οιστρογόνων(ER) και του υποδοχέα προγεστερόνης(PR) θεωρήθηκε θετική όταν >1% των κυττάρων έδειξαν θετική πυρηνική έκφραση (Allison KH et al, 2020). Η κατηγοριοποίηση HER-2 έγινε σύμφωνα με τα προτεινόμενα κριτήρια του πρωτοκόλλου DAKO (Wolff AC, et al. 2018). Η έκφραση του δείκτη p53 θεωρήθηκε θετική όταν >10% των κυττάρων έδειξαν θετική πυρηνική έκφραση (Hashmi AA et al, 2018).

Όσον αφορά το δείκτη Ki-67 θεωρήθηκε χαμηλή η έκφραση όταν $\leq 15\%$ των κυττάρων έδειξαν θετική πυρηνική έκφραση, μέτρια όταν το 16-30% των κυττάρων παρουσίασε θετική πυρηνική έκφραση και υψηλή όταν >30% των κυττάρων έδειξαν θετική πυρηνική έκφραση (Aman NA, et al. 2019). Οι δείκτες ανοσοϊστοχημείας των κυτταροκερατινών 14 και 5/6 (CK14 και CK5/6) βαθμολογήθηκαν θετικά, όταν παρατηρήθηκε οποιαδήποτε (ασθενής ή ισχυρή) κυτταροπλασματική χρώση και/ή μεμβρανώδους διηθητικού καρκινώματος (Nielsen TO, et al. 2004).

Η έκφραση της ε-καντχερίνης (e-cadherin) προσδιορίστηκε ως θετική, όταν οι βαθμολογίες της έντασης και της κατανομής ήταν ≥ 2 (Kashiwagi S et al, 2010). Η έκφραση του δείκτη p63 βαθμολογήθηκε θετική, όταν υπήρχε χρώση υψηλής έντασης σε $\geq 50\%$ των καρκινικών κυττάρων (Conde E, et al. 2010).

Ένα σημείο-κατώφλι με θετικότητα κυττάρων $\geq 10\%$ με τουλάχιστον ασθενή ένταση χρώσης εφαρμόστηκε για να καθοριστεί η θετικότητα της έκφρασης της πρωτεΐνης του δείκτη EGFR (Hirsch FR, et al. 2008). Η έκφραση του υποδοχέα των ανδρογόνων (AR) προσδιορίστηκε ως θετική όταν οι βαθμολογίες της έντασης και της κατανομής των κυττάρων ήταν ≥ 2 (Alshenawy HA, 2012).

Στατιστική ανάλυση:

Το στατιστικό τεστ Kolmogorov-Smirnov χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστεί εάν η κατανομή των μεταβλητών ήταν κανονική. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές είχαν μη κανονική κατανομή και εμφανίζονται ως διάμεσοι (εύρος) και οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτοι αριθμοί (ποσοστό συχνότητας).

Χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Mann Whitney U, για μη κανονικά κατανομημένες μεταβλητές με δύο ομάδες και η στατιστική δοκιμασία Kruskal - Wallis για αυτές τις μεταβλητές με τρεις ομάδες. Οι κατηγορικές μεταβλητές αναλύθηκαν με τη χρήση των στατιστικών δοκιμασιών Fisher's exact test ή chi-square test.

Ο συντελεστής συσχέτισης Spearman χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση συσχετίσεων μεταξύ συνεχών μεταβλητών. Οι τιμές P (P-value) κάτω του 0,05 θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα: IBM SPSS Statistics, έκδοση 29.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA, 2023).

Αποτελέσματα:

Στα πλαίσια συλλογής και καταγραφής των αποτελεσμάτων από 197 γυναίκες ασθενείς με καρκίνο μαστού και των δεδομένων τους που επεξεργάστηκαν από τις αντίστοιχες ιστολογικές εκθέσεις τους, καθώς και τις αναλύσεις των ανοσοϊστοχημικών δεικτών, κατά την πενταετία: 2014-2018 (από 1/1/2014-31/12/2018), παρατηρήθηκαν τα ακόλουθα ευρήματα:

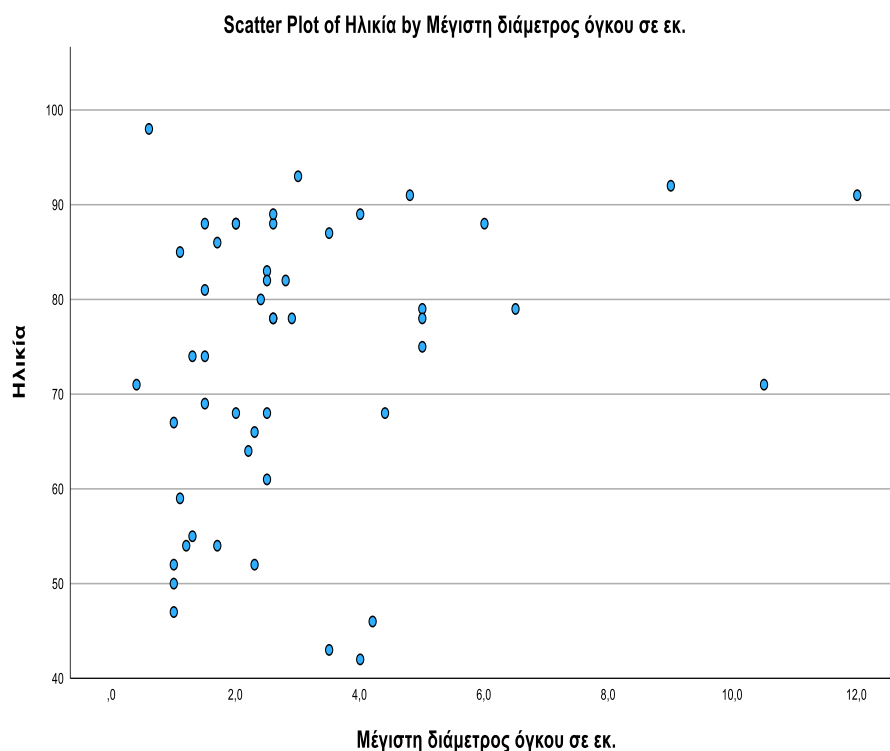
Η διάμεση ηλικία των γυναικών της μελέτης μας, ήταν τα 78 έτη (42-98 έτη), παρατηρήθηκε εντόπιση του καρκίνου στον αριστερό μαστό, στην πλειοψηφία των ασθενών (33 γυναίκες, 66%).

Επίσης, παρατηρήθηκε λοβιακό καρκίνωμα σε 49 ασθενείς (25%), πορογενές καρκίνωμα σε 70 ασθενείς (36%), μεταπλαστικό-πλακώδες καρκίνωμα σε 11 ασθενείς (6%), βλεννώδες καρκίνωμα σε 5 ασθενείς (2,5%), αδενοκαρκίνωμα μαστού μη ειδικού τύπου σε 46 ασθενείς (23%), μεικτό σωληνώδους τύπου καρκίνωμα σε 2 ασθενείς (1%), αποκρινές καρκίνωμα σε 1 ασθενή (0,5%), νευροενδοκρινές καρκίνωμα σε 1 ασθενή (0,5%) και θηλώδες καρκίνωμα σε 10 ασθενείς (5%).

23 ασθενείς (11,7%) παρουσίασαν καρκίνωμα in situ, ενώ 174 ασθενείς διηθητικό καρκίνωμα μαστού (88,3%). Στις γυναίκες ασθενείς με διηθητικό καρκίνωμα μαστού, συνυπήρχαν και εστίες insitu καρκινώματος του μαστού.

Από τη μοριακή τυποποίηση των περιστατικών της μελέτης μας, 88 ασθενείς είχαν αυλικού τύπου-A μοριακό υπότυπο (44,7%), 6 ασθενείς παρουσίασαν αυλικού τύπου-B μοριακό υπότυπο (3,05%), 40 γυναίκες είχαν θετικό HER-2 όγκο μαστού (20,3%), 21 γυναίκες είχαν αυλικού τύπου-υβριδικές μορφές (ER+ και/ή PR+/HER2+), (10,7%), 38 γυναίκες είχαν τριπλά αρνητικό καρκίνο μαστού, με βασικού τύπου φαινότυπο (19,3%) και 119 γυναίκες είχαν καρκίνο μαστού με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς ER+/PR+ (60,4%).

Υπήρξε στατιστικά σημαντική, ασθενώς θετική συσχέτιση ανάμεσα στην ηλικία των ασθενών και τη μέγιστη διάμετρο του όγκου (Spearman's rho 0,299, p=0,035).



Γράφημα 2. Scatter Plot σχέσης της μεγίστης διαμέτρου του όγκου σε εκατοστά με την ηλικία των ασθενών με καρκίνο μαστού.

Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση του δείκτη ER ανάμεσα στις διαφορετικές κατηγορίες ιστολογικού βαθμού κακοήθειας με 15/25 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 2 να παρουσιάζει σκορ 3 του ανοσοϊστοχημικού δείκτη ER (62,5%) και 14/19 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 3, να παρουσιάζει σκορ 0 για τον ανοσοϊστοχημικό δείκτη ER (73,7%).

		Ιστολογικός βαθμός κακοήθειας (grade)			Σύνολο
		1	2	3	
ER δείκτης	0	0	5	14	19
	1	0	2	1	3
	2	0	2	1	3
	3	4	15	3	22
Σύνολο		4	24	19	47

Chi-Square Tests

Value	df	p
-------	----	---

Pearson Chi-Square	17,552	6	0,007
Likelihood Ratio	19,767	6	0,003
Linear-by-Linear Association	15,507	1	<,001
N of Valid Cases	47		

Επιπλέον, υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση του δείκτη PR ανάμεσα στις διαφορετικές κατηγορίες ιστολογικού βαθμού κακοήθειας (grade) με 16/24 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 2 να παρουσιάζει σκορ 3 του βιοδείκτη ER (66,7%) και 15/19 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 3 να παρουσιάζει σκορ 0 του ανοσοϊστοχημικού βιοδείκτη PR (78,9%).

		Ιστολογικός βαθμός κακοήθειας (grade)			Σύνολο
		1	2	3	
PR δείκτης	0	0	6	15	21
	1	0	1	0	1
	2	1	1	0	2
	3	3	16	4	23
Σύνολο		4	24	19	47

Chi-Square Tests

	Value	df	p
Pearson Chi-Square	19,789 ^a	6	0,003
Likelihood Ratio	20,660	6	0,002
Linear-by-Linear Association	12,986	1	<,001
N of Valid Cases	47		

Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της εντόπισης στο δεξιό μαστό και του υψηλότερου ιστολογικού βαθμού κακοήθειας [6/14 (42,9%) ασθενείς με δεξιά εντόπιση παρουσίασαν grade 3 vs. 13/32 (40,6%) ασθενείς με αριστερή εντόπιση που παρουσίασαν grade 3], $p=0,039$.

Όσον αφορά την ηλικία, παρατηρήσαμε μια στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεση ηλικία των ασθενών μεταξύ αυτών με λοβιακό και μη λοβιακό καρκίνωμα

μαστού [66 (38-92) έτη σε ασθενείς με λοβιακό καρκίνωμα έναντι 72 (28-98) ετών σε ασθενείς με άλλους τύπους καρκινώματος μαστού, $p = 0,009$], (βλέπουμε τον πίνακα 16, παρακάτω).

Όσον αφορά τη μέγιστη διάμετρο του όγκου, υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με διήθηση λεμφαδένων και αυτών άνευ διήθησης [3,5 (0,9-12) εκατοστά έναντι 2,2 (0,4-10) εκατοστών, αντίστοιχα, $p = 0,001$], μεταξύ των ασθενών με θετικούς λεμφαδένες φρουρούς και αυτούς χωρίς λεμφαδένες φρουρούς [3,5 (0,9-12) εκατοστά έναντι 2,4 (0,4-12) εκατοστών, αντίστοιχα, $p = 0,001$], μεταξύ των ασθενών με πολυεστιακούς όγκους και εκείνων χωρίς [2,9 (0,6-10,5) εκατοστά έναντι 2 (0,4-12) εκατοστών, $p = 0,007$] και μεταξύ των ασθενών με θετική έκφραση του ανοσοϊστοχημικού δείκτη e-cadherin και αυτών χωρίς θετική έκφραση e-cadherin [2,6 (0,6-7,8) εκατοστά έναντι 1,9 (0,4-10,5) εκατοστών, $p = 0,015$], όπως αποτυπώνονται αναλυτικά στον πίνακα 17, που ακολουθεί.

Επιπρόσθετα, παρατηρήσαμε ότι όλα τα μεταπλαστικά-πλακώδη καρκινώματα είχαν ιστολογικό βαθμό 3 ($p = 0,001$) και οι περισσότερες ασθενείς στο στάδιο I κατά TNM σύστημα σταδιοποίησης, είχαν ιστολογικό βαθμό 1 από οποιοδήποτε άλλο στάδιο. Οι περισσότεροι από τους ασθενείς με ιστολογικούς βαθμούς 2 και 3 ήταν στο στάδιο IIΑ, κατά TNM ($p = 0,001$). Οι περισσότεροι ασθενείς με ιστολογικό βαθμό 2 εμφάνισαν υψηλή έκφραση του υποδοχέα οιστρογόνων (ER). Οι περισσότεροι ασθενείς με ιστολογικό βαθμό 3 δεν εμφάνισαν έκφραση του δείκτη ER και όλοι οι ασθενείς με ιστολογικό βαθμό 1 είχαν υψηλή έκφραση του ανοσοϊστοχημικού δείκτη ER ($p = 0,001$).

Οι περισσότεροι ασθενείς στους ιστολογικούς βαθμούς 1 και 2 εμφάνισαν υψηλή έκφραση PR, ενώ οι περισσότεροι ασθενείς στον ιστολογικό βαθμό 3 δεν είχαν έκφραση PR ($p = 0,001$). Οι περισσότεροι ασθενείς στους βαθμούς 1 και 2 είχαν χαμηλή έκφραση του Ki-67, ενώ οι περισσότεροι ασθενείς του ιστολογικού βαθμού 3 είχαν υψηλή έκφραση του Ki-67 ($p = 0,001$). Επιπλέον, οι ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο μαστού παρουσίασαν ιστολογικούς βαθμούς 2 και 3 σε χαμηλότερο ποσοστό, σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς τριπλά αρνητικό φαινότυπο καρκίνου του μαστού ($p = 0,001$), με βάση και τον πίνακα 18, που ακολουθεί.

Οι περισσότεροι ασθενείς όλων των σταδίων κατά TNM σύστημα σταδιοποίησης, δεν είχαν θετικό λεμφαδένα φρουρό ($p = 0,001$), οι περισσότεροι ασθενείς στα στάδια TNM: IIΑ, IIΒ και IIIα είχαν πολυεστιακούς όγκους ($p = 0,024$), οι περισσότεροι ασθενείς με θηλώδες καρκίνωμα ήταν στο στάδιο I ($p = 0,029$), οι

περισσότεροι ασθενείς με μεταπλαστικό-πλακώδες καρκίνωμα ήταν στο στάδιο ΠΙΑ ($p = 0,003$) και οι περισσότεροι ασθενείς στα στάδια I, ΠΑ, ΠΒ και ΠΙΑ είχαν υψηλή έκφραση του υποδοχέα οιστρογόνων (ER), ενώ οι περισσότεροι ασθενείς του σταδίου ΠΙΒ δεν είχαν έκφραση του δείκτη ER ($p = 0,001$).

Οι περισσότεροι ασθενείς στα στάδια TNM: I, ΠΑ και ΠΒ δεν είχαν έκφραση ε-καντχερίνης (e-cadherin) και οι περισσότεροι ασθενείς στα στάδια TNM: ΠΙΑ και ΠΙΒ εξέφρασαν τον ανοσοϊστοχημικό δείκτη ε-καντχερίνη ($p = 0,033$).

Οι περισσότεροι ασθενείς όλων των σταδίων δεν είχαν τον τριπλά αρνητικό φαινότυπο και οι περισσότερες γυναίκες με τριπλά αρνητικούς φαινοτύπους καρκίνου μαστού ήταν στο στάδιο ΠΑ, κατά TNM σύστημα σταδιοποίησης ($p = 0,016$), (πίνακας 19, που ακολουθεί).

Επιπλέον, οι περισσότερες ασθενείς με μεταπλαστικό-πλακώδες καρκίνωμα μαστού είχαν τριπλό αρνητικό φαινότυπο ($p = 0,001$) και οι περισσότερες ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο είχαν υψηλή έκφραση του Ki-67 ($p = 0,001$) και καμία έκφραση των ανοσοϊστοχημικών δεικτών p63 και CK14 ($p = 0,010$ και $p = 0,001$, αντίστοιχα), (πίνακας 20, που ακολουθεί).

Ακόμη, η διήθηση των λεμφαδένων συσχετίστηκε με τη θετική έκφραση του ανοσοϊστοχημικού δείκτη της ε-καντχερίνης, στατιστικώς σημαντικά ($p=0.002$).

Πίνακας 15. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης και των τύπων καρκίνου μαστού που αναλόθηκαν

Μεταβλητή	Διάμεση τιμή (εύρος) ή ποσοστό (%)
Ηλικία (έτη)	70 (28-98)
Μέγιστο μέγεθος όγκου(εκατοστά)	2.6 (0.4-12)
Αριθμός διηθημένων λεμφαδένων	3.5 (1-28)
Εντόπιση όγκου	
Δεξιός μαστός	87 (44.2)
Αριστερός μαστός	110 (55.8)
Διηθημένοι λεμφαδένες	
Όχι	132 (67)
Ναι	65 (33)
Θετικός λεμφαδένας φρουρός	
Όχι	160 (81.2)

Ναι	37 (18.8)
Πολυεστιακός όγκος	
Όχι	85 (43.1)
Ναι	112 (56.9)
Σύσταση όγκου	
<i>Συμπαγής</i>	102 (51.8)
<i>Υπόσκληρος</i>	58 (29.4)
<i>Ελαστικός</i>	16 (8.1)
<i>Σκληρός</i>	12 (6.1)
<i>Ινώδης</i>	7 (3.6)
<i>Κυστικός-αιμορραγικός</i>	1 (0.5)
Θετικά χειρουργικά όρια	
Όχι	108 (54.8)
Ναι	89 (45.2)
Λοβιακό καρκίνωμα	
Όχι	148 (75.1)
Ναι	49 (24.9)
Πορογενές καρκίνωμα	
Όχι	127 (64.5)
Ναι	70 (35.5)
NST αδenoκαρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)	
Όχι	151 (76.6)
Ναι	46 (23.4)
Νευροενδοκρινές καρκίνωμα	
Όχι	196 (99.5)
Ναι	1 (0.5)
Βλεννώδες καρκίνωμα	
Όχι	192 (97.5)
Ναι	5 (2.5)
Θηλώδες καρκίνωμα	
Όχι	187 (94.9)

<i>Ναι</i>	10 (5.1)
NST θηλώδες καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)	
<i>Όχι</i>	195 (99)
<i>Ναι</i>	2 (1)
NST ηθμοειδές καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)	
<i>Όχι</i>	195 (99)
<i>Ναι</i>	2 (1)
Μεικτό σωληνώδους τύπου καρκίνωμα	
<i>Όχι</i>	195 (99)
<i>Ναι</i>	2 (1)
Μεταπλαστικό-πλακώδες	
<i>Όχι</i>	186 (94.4)
<i>Ναι</i>	11 (5.6)
Αποκρινές καρκίνωμα	
<i>Όχι</i>	196 (99.5)
<i>Ναι</i>	1 (0.5)
Ιστολογικός βαθμός (grade)	
1	16 (8.1)
2	106 (53.8)
3	73 (37.1)
TNM σταδιοποίηση	
I	40 (20.3)
IIA	65 (33)
IIIB	30 (15.2)
IIIA	37 (18.8)
IIIB	23 (11.7)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης ER	
<i>Καμία έκφραση</i>	55 (27.9)
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	10 (5.1)
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	13 (6.6)

<i>Υψηλή έκφραση</i>	110 (55.8)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης PR	
<i>Καμία έκφραση</i>	66 (33.5)
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	15 (7.5)
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	20 (10.2)
<i>Υψηλή έκφραση</i>	87 (44.2)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης HER-2	
<i>Καμία έκφραση</i>	148 (75.1)
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	27 (13.7)
<i>Υψηλή έκφραση</i>	13 (6.6)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης Ki-67	
<i>Καμία έκφραση</i>	2 (1)
<i>Χαμηλή έκφραση (<15%)</i>	133 (67.5)
<i>Υψηλή έκφραση (30%)</i>	43 (21.8)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης e-cadherin	
<i>Όχι</i>	45 (22.8)
<i>Ναι</i>	55 (27.9)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης p63	
<i>Όχι</i>	9 (4.6)
<i>Ναι</i>	14 (7.1)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης p53	
<i>Όχι</i>	2 (1)
<i>Ναι</i>	8 (4.1)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης CK14	
<i>Όχι</i>	20 (10.2)
<i>Ναι</i>	16 (8.1)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης CK5/6	
<i>Όχι</i>	13 (6.6)
<i>Ναι</i>	6 (3)
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης EGFR	
<i>Όχι</i>	15 (7.6)
<i>Ναι</i>	9 (4.6)

Ανοσοϊστοχημικός δείκτης AR	
<i>Όχι</i>	7 (3.6)
<i>Ναι</i>	7 (3.6)
Τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού	
<i>Όχι</i>	153 (77.7)
<i>Ναι</i>	38 (22.3)
Insitu (εστιακός καρκίνος μαστού)	
<i>Όχι</i>	174 (88.3)
<i>Ναι</i>	23 (11.7)

*NST: μη ειδικού τύπου, TNM: η έκταση του όγκου (T), έκταση εξάπλωσης στους λεμφαδένες (N) και παρουσία ή όχι μετάστασης (M), PR: υποδοχείς προγεστερόνης, AR: υποδοχείς ανδρογόνων, ER: υποδοχείς οιστρογόνων, EGFR: υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, HER-2: υποδοχέας του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα-2.

Πίνακας 16. Σχέση της ηλικίας με ποικίλα χαρακτηριστικά καρκίνου του μαστού

Μεταβλητή	Ηλικία [έτη, διάμεση τιμή (εύρος)]	p-value (στατιστική τιμή p)
Εντόπιση όγκου		0.850
<i>Δεξιός μαστός</i>	72 (28-98)	
<i>Αριστερός μαστός</i>	70 (37-98)	
Διηθημένοι λεμφαδένες		0.978
<i>Όχι</i>	70 (28-98)	
<i>Ναι</i>	70.5 (42-93)	
Θετικός λεμφαδένας φρουρός		0.728
<i>Όχι</i>	70.5 (32-98)	
<i>Ναι</i>	70 (28-92)	
Πολυεστιακός όγκος		0.762
<i>Όχι</i>	73 (38-98)	
<i>Ναι</i>	68 (28-96)	
Σύσταση όγκου		0.635
<i>Συμπαγής</i>	71 (37-98)	
<i>Υπόσκληρος</i>	68 (28-94)	

<i>Ελαστικός</i>	74 (49-96)	
<i>Σκληρός</i>	79 (41-93)	
<i>Ινώδης</i>	67 (45-87)	
Θετικά χειρουργικά όρια		0.300
<i>Όχι</i>	72 (28-98)	
<i>Ναι</i>	68.5 (37-98)	
Λοβιακό καρκίνωμα		0.009
<i>Όχι</i>	72 (28-98)	
<i>Ναι</i>	66 (38-92)	
Πορογενές καρκίνωμα		0.573
<i>Όχι</i>	70 (28-98)	
<i>Ναι</i>	71 (42-96)	
Μεταπλαστικό-πλακώδες		0.084
<i>Όχι</i>	69.5 (28-98)	
<i>Ναι</i>	77 (49-98)	
NST αδενοκαρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)		0.673
<i>Όχι</i>	71 (38-98)	
<i>Ναι</i>	70 (28-94)	
Βλεννώδες καρκίνωμα		0.084
<i>Όχι</i>	70 (28-98)	
<i>Ναι</i>	85 (43-98)	
Θηλώδες καρκίνωμα		0.624
<i>Όχι</i>	70 (28-98)	
<i>Ναι</i>	75.5 (57-88)	
NST θηλώδες καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)		0.688
<i>Όχι</i>	70 (28-98)	
<i>Ναι</i>	74 (66-82)	
Μεικτό σωληνώδους τύπου καρκίνωμα		0.614
<i>Όχι</i>	70 (28-98)	

<i>Ναι</i>	64.5 (54-75)	
Ιστολογικός βαθμός (grade)		0.320
1	75.5 (46-92)	
2	69 (28-98)	
3	72 (38-98)	
TNM σταδιοποίηση		0.353
I	68 (37-92)	
IIA	70 (32-98)	
IIB	72 (28-95)	
IIIA	71 (46-96)	
IIIB	78 (42-98)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης ER		0.872
<i>Καμία έκφραση</i>	70 (32-98)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	67.5 (42-92)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	68 (41-87)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	71 (28-98)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης PR		0.443
<i>Καμία έκφραση</i>	74.5 (32-98)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	68 (46-92)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	67.5 (38-88)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	71 (28-94)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης HER-2		0.376
<i>Καμία έκφραση</i>	70.5 (28-98)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	67.5 (42-91)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	79 (50-98)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης Ki-67		0.108
<i>Καμία έκφραση</i>	59.5 (49-70)	
<i>Χαμηλή έκφραση (<15%)</i>	72 (28-98)	

<i>Υψηλή έκφραση (30%)</i>	68 (32-89)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης e-cadherin		0.371
<i>Όχι</i>	67 (38-92)	
<i>Ναι</i>	69 (37-91)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης p63		0.439
<i>Όχι</i>	79 (51-91)	
<i>Ναι</i>	74.5 (32-95)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης p53		0.889
<i>Όχι</i>	76.5 (57-96)	
<i>Ναι</i>	67.5 (47-75)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης CK14		0.213
<i>Όχι</i>	76.5 (50-91)	
<i>Ναι</i>	75 (32-98)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης CK5/6		0.058
<i>Όχι</i>	80 (50-91)	
<i>Ναι</i>	67 (32-83)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτης EGFR		0.932
<i>Όχι</i>	75 (40-91)	
<i>Ναι</i>	72 (32-95)	
Ανοσοϊστοχημικός δείκτηςAR		0.535
<i>Όχι</i>	77 (47-88)	
<i>Ναι</i>	79 (65-93)	
Τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού		0.518
<i>Όχι</i>	70 (28-98)	
<i>Ναι</i>	72 (32-98)	

In situ (εστιακός καρκίνος μαστού)		0.416
<i>Όχι</i>	70 (28-98)	
<i>Ναι</i>	79 (42-95)	

*NST: μη ειδικού τύπου, TNM: η έκταση του όγκου (T), έκταση εξάπλωσης στους λεμφαδένες (N) και παρουσία ή όχι μετάστασης (M), PR: υποδοχείς προγεστερόνης, AR: υποδοχείς ανδρογόνων, ER: υποδοχείς οιστρογόνων, EGFR: υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, HER-2: υποδοχέας του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα-2.

Πίνακας 17. Σχέση μεγίστης διαμέτρου όγκου με ποικίλα χαρακτηριστικά του καρκίνου του μαστού

Μεταβλητή	Μέγιστη διάμετρος όγκου [εκατοστά, διάμεση τιμή (εύρος)]	p-value (στατιστική τιμή p)
Εντόπιση όγκου		0.934
<i>Δεξιός μαστός</i>	2.6 (0.6-12)	
<i>Αριστερός μαστός</i>	2.5 (0.4-12)	
Διηθημένοι λεμφαδένες		0.001
<i>Όχι</i>	2.2 (0.4-10)	
<i>Ναι</i>	3.5 (0.9-12)	
Θετικός λεμφαδένας φρουρός		0.001
<i>Όχι</i>	2.4 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	3.5 (0.9-12)	
Πολυεστιακός όγκος		0.007
<i>Όχι</i>	2 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.9 (0.6-10.5)	
Σύσταση όγκου		0.110
<i>Συμπαγής</i>	2.5 (0.4-10.5)	
<i>Υπόσκληρος</i>	3 (0.7-12)	
<i>Ελαστικός</i>	3.2 (1.2-9)	
<i>Σκληρός</i>	2.5 (1.1-5.5)	

<i>Ινώδης</i>	1.3 (0.6-7)	
Θετικά χειρουργικά όρια		0.670
<i>Όχι</i>	2.6 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.5 (0.6-12)	
Λοβιακό καρκίνωμα		0.560
<i>Όχι</i>	2.6 (0.6-12)	
<i>Ναι</i>	2.4 (0.4-12)	
Πορογενές καρκίνωμα		0.870
<i>Όχι</i>	2.6 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.5 (0.6-12)	
Μεταπλαστικό-πλακώδες		0.003
<i>Όχι</i>	2.5 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	7.2 (1.5-10)	
NST αδenoκαρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)		0.520
<i>Όχι</i>	2.5 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.7 (1-9)	
Βλεννώδες καρκίνωμα		0.775
<i>Όχι</i>	2.6 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.6 (0.6-9)	
Θηλώδες καρκίνωμα		0.491
<i>Όχι</i>	2.6 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.6 (0.7-5.5)	
NST θηλώδες καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)		0.793
<i>Όχι</i>	2.6 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.5 (1.5-3.5)	
Μεικτό σωληνώδους τύπου καρκίνωμα		0.234
<i>Όχι</i>	2.6 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	1.5 (1.2-1.9)	
Ιστολογικός βαθμός (grade)		0.069

1	1.75 (0.7-5.5)	
2	2.6 (0.4-12)	
3	2.8 (0.9-12)	
ER		0.383
<i>Καμία έκφραση</i>	2.3 (0.9-12)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	3.4 (1-9)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	2.9 (1.3-10.5)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	2.5 (0.4-7.8)	
PR		0.357
<i>Καμία έκφραση</i>	2.5 (0.6-12)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	2.6 (1.5-9)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	2.9 (1.9-10.5)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	2.4 (0.4-7.8)	
HER-2		0.742
<i>Καμία έκφραση</i>	2.5 (0.4-10.5)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	1.9 (0.6-6)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	1.9 (1-5.5)	
Ki-67		0.159
<i>Χαμηλή έκφραση(<15%)</i>	2.5 (0.4-10.5)	
<i>Υψηλή έκφραση (30%)</i>	1.8 (1-7.5)	
e-cadherin		0.015
<i>Όχι</i>	1.9 (0.4-10.5)	
<i>Ναι</i>	2.6 (0.6-7.8)	
p63		0.403
<i>Όχι</i>	2.5 (0.7-12)	
<i>Ναι</i>	2.6 (1-10)	
p53		0.889
<i>Όχι</i>	5.3 (3.6-7)	
<i>Ναι</i>	4.3 (1.3-7.2)	
CK14		0.137
<i>Όχι</i>	2.1 (0.7-12)	
<i>Ναι</i>	2.8 (0.9-9.5)	

CK5/6		0.521
<i>Όχι</i>	2 (1-12)	
<i>Ναι</i>	2.7 (1.5-12)	
EGFR		0.988
<i>Όχι</i>	2 (1-12)	
<i>Ναι</i>	3 (0.9-9)	
AR		0.053
<i>Όχι</i>	1.5 (1-1.8)	
<i>Ναι</i>	3 (1.2-6.5)	
Τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού		0.677
<i>Όχι</i>	2.6 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.4 (0.9-12)	
In situ (εστιακός καρκίνος μαστού)		0.761
<i>Όχι</i>	2.6 (0.4-12)	
<i>Ναι</i>	2.6 (0.7-9)	

* NST: μη ειδικού τύπου, TNM: η έκταση του όγκου (T), έκταση εξάπλωσης στους λεμφαδένες (N) και παρουσία ή όχι μετάστασης (M), PR: υποδοχείς προγεστερόνης, AR: υποδοχείς ανδρογόνων, ER: υποδοχείς οιστρογόνων, EGFR: υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, HER-2: υποδοχέας του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα-2.

Πίνακας 18. Σχέση ιστολογικού βαθμού κακοήθειας με τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του καρκίνου του μαστού

Μεταβλητή	Ιστολογικός βαθμός (grade)			p-value (στατιστική τιμή p)
	1	2	3	
Εντόπιση όγκου				0.438
<i>Δεξιός μαστός</i>	7 (43.8)	42 (39.6)	36 (49.3)	
<i>Αριστερός μαστός</i>	9 (56.3)	64 (60.4)	37 (50.7)	
Διηθημένοι λεμφαδένες				0.054
<i>Όχι</i>	15 (93.8)	69 (65.1)	46 (63)	
<i>Ναι</i>	1 (6.3)	37 (34.9)	27 (37)	
Θετικός λεμφαδένας φρουρός				0.465
<i>Όχι</i>	15 (93.8)	85 (80.2)	58 (79.5)	
<i>Ναι</i>	1 (6.2)	21 (19.8)	15 (20.5)	
Πολυεστιακός όγκος				0.982
<i>Όχι</i>	7 (43.8)	45 (42.5)	32 (43.8)	
<i>Ναι</i>	9 (56.2)	61 (57.5)	41 (56.2)	
Σύσταση όγκου				0.396
<i>Συμπαγής</i>	8 (50)	59 (55.7)	34 (47.2)	
<i>Υπόσκληρος</i>	4 (25)	25 (23.6)	28 (38.9)	
<i>Ελαστικός</i>	2 (12.5)	9 (8.5)	5 (6.9)	
<i>Σκληρός</i>	1 (6.2)	8 (7.5)	3 (4.2)	
<i>Ινώδης</i>	1 (6.2)	5 (4.7)	1 (1.4)	
<i>Κυστικός-αιμορραγικός</i>	0 (0)	0 (0)	1 (1.4)	
Θετικά χειρουργικά όρια				0.239
<i>Όχι</i>	8 (50)	64 (60.4)	35 (47.9)	
<i>Ναι</i>	8 (50)	42 (39.6)	38 (52.1)	
Λοβιακό καρκίνωμα				0.101
<i>Όχι</i>	12 (75)	74 (69.8)	61 (83.6)	
<i>Ναι</i>	4 (25)	32 (30.2)	12 (16.4)	
Πορογενές καρκίνωμα				0.826

<i>Όχι</i>	10 (62.5)	70 (66)	45 (61.6)	
<i>Ναι</i>	6 (37.5)	36 (34)	28 (38.4)	
NST αδενοκαρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)				0.329
<i>Όχι</i>	14 (87.5)	83 (78.3)	52 (71.2)	
<i>Ναι</i>	2 (12.5)	23 (21.7)	21 (28.8)	
Νευροενδοκρινές καρκίνωμα				0.999
<i>Όχι</i>	16 (100)	105 (99.1)	73 (100)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	
Βλεννώδες καρκίνωμα				0.150
<i>Όχι</i>	16 (100)	101 (95.3)	73 (73)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	5 (4.7)	0 (0)	
Θηλώδες καρκίνωμα				0.084
<i>Όχι</i>	14 (87.5)	100 (94.3)	72 (98.6)	
<i>Ναι</i>	2 (12.5)	6 (5.7)	1 (1.4)	
NST θηλώδες καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)				0.591
<i>Όχι</i>	16 (100)	104 (98.1)	73 (100)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	2 (1.9)	0 (0)	
NST ηθμοειδές καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)				0.158
<i>Όχι</i>	15 (98.3)	105 (99.1)	73 (73)	
<i>Ναι</i>	1 (6.3)	1 (0.9)	0 (0)	
Μεικτό σωληνώδους τύπου καρκίνωμα				0.068
<i>Όχι</i>	15 (93.8)	106 (100)	72 (98.6)	
<i>Ναι</i>	1 (6.3)	0 (0)	1 (1.4)	
Μεταπλαστικό-πλακώδες				0.001
<i>Όχι</i>	16 (100)	106 (100)	62 (84.9)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	0 (0)	11 (15.1)	
Αποκρινές καρκίνωμα				0.999

<i>Όχι</i>	16 (100)	105 (99.1)	73 (100)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	
TNM σταδιοποίηση				0.001
I	15 (93.8)	21 (19.8)	4 (5.5)	
IIA	0 (0)	42 (39.6)	23 (31.5)	
IIB	0 (0)	18 (17)	12 (16.4)	
IIIA	1 (6.3)	18 (17)	18 (24.7)	
IIIB	0 (0)	7 (6.6)	16 (21.9)	
ER				0.001
<i>Καμία έκφραση</i>	0 (0)	12 (11.9)	43 (60.6)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	0 (0)	7 (6.9)	3 (42.9)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	0 (0)	8 (7.9)	5 (7)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	16 (100)	74 (73.3)	20 (28.2)	
PR				0.001
<i>Καμία έκφραση</i>	0 (0)	21 (20.8)	45 (63.4)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	3 (18.8)	9 (8.9)	3 (4.2)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	2 (12.5)	10 (9.9)	8 (11.3)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	11 (68.8)	61 (60.4)	15 (21.1)	
HER-2				0.051
<i>Καμία έκφραση</i>	16 (100)	79 (78.2)	53 (74.6)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	0 (0)	18 (17.8)	9 (12.7)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	0 (0)	4 (4)	9 (12.7)	
Ki-67				0.001
<i>Καμία έκφραση</i>	0 (0)	1 (1)	1 (1.5)	
<i>Χαμηλή έκφραση(<15%)</i>	14 (93.3)	88 (90.7)	31 (47)	
<i>Υψηλή έκφραση(30%)</i>	1 (6.7)	8 (8.2)	34 (51.5)	
e-cadherin				0.495
<i>Όχι</i>	5 (62.5)	28 (45.9)	12 (38.7)	
<i>Ναι</i>	3 (37.5)	33 (54.1)	19 (61.3)	
p63				0.606
<i>Όχι</i>	1 (100)	0 (0)	7 (35)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (100)	13 (65)	

p53				0.999
<i>Όχι</i>	0 (0)	2 (22.2)	2 (20)	
<i>Ναι</i>	1 (100)	7 (77.8)	8 (80)	
CK14				0.112
<i>Όχι</i>	3 (3)	6 (85.7)	11 (42.3)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (14.3)	15 (57.6)	
CK5/6				0.999
<i>Όχι</i>	1 (50)	12 (70.6)	13 (68.4)	
<i>Ναι</i>	1 (50)	5 (29.4)	6 (31.6)	
EGFR				0.565
<i>Όχι</i>	2 (100)	13 (59.1)	15 (62.5)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	9 (40.9)	9 (37.5)	
AR				0.266
<i>Όχι</i>	1 (20)	6 (66.7)	7 (50)	
<i>Ναι</i>	4 (80)	3 (33.3)	7 (50)	
Τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού				0.001
<i>Όχι</i>	16 (100)	96 (94.1)	40 (55.6)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	6 (5.9)	32 (44.4)	
In situ (εστιακός καρκίνος μαστού)				0.190
<i>Όχι</i>	12 (75)	95 (89.6)	66 (90.4)	
<i>Ναι</i>	4 (25)	11 (10.4)	7 (9.6)	

* NST: μη ειδικού τύπου, TNM: η έκταση του όγκου (T), έκταση εξάπλωσης στους λεμφαδένες (N) και παρουσία ή όχι μετάστασης (M), PR: υποδοχείς προγεστερόνης, AR: υποδοχείς ανδρογόνων, ER: υποδοχείς οιστρογόνων, EGFR: υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, HER-2: υποδοχέας του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα-2.

Πίνακας 19. Σχέση της σταδιοποίησης κατά TNM σύστημα με τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του καρκίνου του μαστού

Μεταβλητή	TNM σταδιοποίηση					p-value (στατιστική τιμή p)
	I	IIA	IIB	IIIA	IIIB	
Εντόπιση όγκου						0.117
<i>Αριστερός μαστός</i>	25 (62.5)	35 (53.8)	16 (53.3)	26 (70.3)	8 (36.4)	
<i>Δεξιός μαστός</i>	15 (37.5)	30 (46.2)	14 (46.7)	11 (29.7)	14 (63.6)	
Θετικός λεμφαδένας φρουρός						0.001
Όχι	40 (100)	59 (90.8)	23 (76.7)	20 (54.1)	16 (69.6)	
Ναι	0 (0)	6 (9.2)	7 (23.3)	17 (45.9)	7 (30.4)	
Πολυεστιακός όγκος						0.024
Όχι	20 (50)	27 (41.5)	9 (30)	12 (32.4)	16 (69.4)	
Ναι	20 (50)	38 (58.5)	21 (70)	25 (67.6)	7 (30.4)	
Σύσταση όγκου						0.328
<i>Συμπαγής</i>	23 (57.5)	33 (50.8)	14 (46.7)	19 (52.8)	12 (52.2)	
<i>Υπόσκληρος</i>	10 (25)	20 (30.8)	7 (23.3)	11 (30.6)	9 (39.1)	
<i>Ελαστικός</i>	3 (7.5)	5 (7.7)	4 (13.3)	3 (8.3)	1 (4.3)	
<i>Σκληρός</i>	1 (2.5)	6 (9.2)	2 (6.7)	3 (8.3)	0 (0)	
<i>Ινώδης</i>	3 (7.5)	1 (1.5)	3 (10)	0 (0)	0 (0)	
<i>Κυστικός-αιμορραγικός</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4.3)	
Θετικά χειρουργικά όρια						0.580
Όχι	23 (57.5)	37 (56.9)	16 (53.3)	22 (59.5)	9 (39.1)	

<i>Ναι</i>	17 (42.5)	28 (43.1)	14 (46.7)	15 (40.5)	14 (60.9)	
Λοβιακό καρκίνωμα						0.729
<i>Όχι</i>	28 (70)	49 (75.4)	24 (80)	30 (81.1)	16 (69.6)	
<i>Ναι</i>	12 (30)	16 (24.6)	6 (20)	7 (18.9)	7 (30.4)	
Πορογενές καρκίνωμα						0.934
<i>Όχι</i>	25 (62.5)	43 (66.2)	20 (66.7)	24 (64.9)	13 (56.5)	
<i>Ναι</i>	15 (37.5)	22 (33.8)	10 (33.3)	13 (35.1)	10 (43.5)	
NST αδενοκαρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)						0.141
<i>Όχι</i>	34 (85)	47 (72.3)	20 (66.7)	27 (73)	21 (91.3)	
<i>Ναι</i>	6 (15)	18 (27.7)	10 (33.3)	10 (27)	2 (8.7)	
Νευροενδοκρινές καρκίνωμα						0.999
<i>Όχι</i>	40 (100)	64 (98.5)	30 (100)	37 (100)	30 (100)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (1.15)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Βλεννώδες καρκίνωμα						0.673
<i>Όχι</i>	40 (100)	62 (95.4)	29 (96.7)	36 (97.3)	23 (100)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	3 (4.6)	1 (3.3)	1 (2.7)	0 (0)	
Θηλώδες καρκίνωμα						0.029
<i>Όχι</i>	35 (87.5)	65 (100)	29 (96.7)	35 (94.6)	22 (95.7)	
<i>Ναι</i>	5 (12.5)	0 (0)	1 (3.3)	2 (5.4)	1 (4.3)	
NST θηλώδες καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)						0.735

<i>Όχι</i>	40 (100)	63 (96.9)	30 (100)	37 (100)	23 (100)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	2 (3.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
NST ηθμοειδές καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)						0.999
<i>Όχι</i>	39 (97.5)	64 (98.5)	30 (100)	37 (100)	23 (100)	
<i>Ναι</i>	1 (2.5)	1 (1.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Μεικτό σωληνώδους τύπου καρκίνωμα						0.068
<i>Όχι</i>	39 (97.5)	65 (100)	29 (96.7)	37 (100)	23 (100)	
<i>Ναι</i>	1 (2.5)	0 (0)	1 (3.3)	0	0	
Μεταπλαστικό- πλακώδες						0.003
<i>Όχι</i>	40 (40)	64 (98.5)	29 (96.7)	31 (83.8)	20 (87)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (1.5)	1 (3.3)	6 (16.2)	3 (13)	
Αποκρινές καρκίνωμα						0.999
<i>Όχι</i>	40 (100)	64 (98.5)	30 (100)	37 (100)	23 (100)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (1.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Ιστολογικός βαθμός (grade)						0.001
1	15 (37.5)	0 (0)	0 (0)	1 (2.7)	0 (0)	
2	21 (52.5)	42 (64.6)	18 (60)	18 (48.6)	7 (30.4)	
3	4 (10)	23 (35.4)	12 (40)	18 (48.6)	16 (69.6)	
ER						0.001
<i>Καμία έκφραση</i>	5 (12.8)	19 (30.2)	5 (17.2)	15 (41.7)	11 (52.4)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	2 (5.1)	2 (3.2)	3 (10.3)	2 (5.6)	1 (4.8)	

<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	0 (0)	6 (9.5)	3 (10.3)	3 (8.3)	1 (4.8)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	32 (82.1)	36 (57.1)	18 (62.1)	16 (44.4)	8 (38.1)	
PR						0.077
<i>Καμία έκφραση</i>	6 (15.4)	23 (36.5)	8 (27.6)	17 (47.2)	12 (57.1)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	5 (12.8)	3(4.8)	4 (13.8)	2 (5.6)	1 (4.8)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	5 (12.8)	7 (11.1)	4 (13.8)	1 (2.8)	3 (14.3)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	23 (59)	30 (47.6)	13 (44.8)	16 (44.4)	5 (23.8)	
HER-2						0.689
<i>Καμία έκφραση</i>	35 (89.7)	48 (76.2)	21 (72.4)	28 (77.8)	16 (76.2)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	2 (5.1)	11 (17.5)	5 (17.2)	5 (13.9)	4 (19)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	2 (5.1)	4 (6.3)	3 (10.3)	3 (8.3)	1 (4.8)	
Ki-67						0.833
<i>Καμία έκφραση</i>	0 (0)	2 (3.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
<i>Χαμηλή έκφραση (<15%)</i>	31 (81.6)	45 (73.8)	20 (74.1)	23 (67.6)	14 (77.8)	
<i>Υψηλή έκφραση (30%)</i>	7 (18.4)	14 (23)	7 (25.9)	11 (32.4)	4 (22.2)	
e-cadherin						0.033
<i>Όχι</i>	14 (60.9)	17 (53.1)	6 (46.2)	2 (12.5)	6 (37.5)	
<i>Ναι</i>	9 (39.1)	15 (46.9)	7 (53.8)	14 (87.5)	10 (62.5)	
p63						0.097
<i>Όχι</i>	2 (66.7)	2 (40)	0 (0)	0 (0)	4 (66.7)	
<i>Ναι</i>	1 (33.3)	3 (60)	3 (100)	5 (100)	2 (33.3)	
p53						0.533
<i>Όχι</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14.3)	1 (100)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (100)	1 (100)	6 (85.7)	0 (0)	
CK14						0.121

<i>Όχι</i>	7 (87.5)	6 (46.2)	2 (66.7)	1 (16.7)	4 (66.7)	
<i>Ναι</i>	1 (12.5)	7 (53.8)	1 (33.3)	5 (83.4)	2 (33.3)	
CK5/6						0.690
<i>Όχι</i>	2 (66.7)	5 (71.4)	0 (0)	3 (100)	3 (60)	
<i>Ναι</i>	1 (33.3)	2 (28.6)	1 (100)	0 (0)	2 (40)	
EGFR						0.556
<i>Όχι</i>	2 (100)	5 (55.6)	0 (0)	4 (66.7)	4 (80)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	4 (44.4)	2 (100)	2 (33.3)	1 (20)	
AR						0.999
<i>Όχι</i>	1 (100)	3 (50)	1 (100)	2 (40)	0 (0)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	3 (50)	0 (0)	3 (60)	1 (100)	
Τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού						0.016
<i>Όχι</i>	36 (92.3)	52 (80)	26 (89.7)	25 (69.4)	13 (61.9)	
<i>Ναι</i>	3 (7.7)	13 (20)	3 (10.3)	11 (30.6)	8 (38.1)	
In situ (εστιακός καρκίνος μαστού)						0.882
<i>Όχι</i>	34 (85)	59 (90.8)	27 (90)	32 (86.5)	21 (91.3)	
<i>Ναι</i>	6 (15)	6 (9.2)	3 (10)	5 (13.5)	2 (8.7)	

* NST: μη ειδικού τύπου, TNM: η έκταση του όγκου (T), έκταση εξάπλωσης στους λεμφαδένες (N) και παρουσία ή όχι μετάστασης (M), PR: υποδοχείς προγεστερόνης, AR: υποδοχείς ανδρογόνων, ER: υποδοχείς οιστρογόνων, EGFR: υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, HER-2: υποδοχέας του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα-2.

Πίνακας 20. Σχέση του τριπλά αρνητικού φαινοτύπου με τα άλλα χαρακτηριστικά του καρκίνου του μαστού

Μεταβλητή	Τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού		p-value (στατιστική τιμή p)
	Όχι	Ναι	
Εντόπιση όγκου			0.908
<i>Αριστερός μαστός</i>	87 (56.9)	22 (57.9)	
<i>Δεξιός μαστός</i>	66 (43.1)	16 (42.1)	
Διηθημένοι λεμφαδένες			0.554
Όχι	101 (66)	27 (71.1)	
Ναι	52 (34)	11 (28.9)	
Θετικός λεμφαδένας φρουρός			0.999
Όχι	123 (80.4)	31 (81.6)	
Ναι	30 (19.6)	7 (18.4)	
Πολυεστιακός όγκος			0.275
Όχι	61 (39.9)	19 (50)	
Ναι	92 (60.1)	19 (50)	
Σύσταση όγκου			0.643
<i>Συμπαγής</i>	79 (52)	19 (50)	
<i>Υπόσκληρος</i>	45 (29.6)	12 (31.6)	
<i>Ελαστικός</i>	12 (7.9)	3 (7.9)	
<i>Σκληρός</i>	10 (6.6)	2 (5.3)	
<i>Ινώδης</i>	6 (3.9)	1 (2.6)	
<i>Κυστικός-αιμορραγικός</i>	0 (0)	1 (2.6)	
Θετικά χειρουργικά όρια			0.717
Όχι	83 (54.2)	19 (50)	
Ναι	70 (45.8)	19 (50)	
Λοβιακό καρκίνωμα			0.057
Όχι	110 (71.9)	33 (86.8)	
Ναι	43 (28.1)	5 (13.2)	
Πορογενές καρκίνωμα			0.256

<i>Όχι</i>	102 (66.7)	21 (55.3)	
<i>Ναι</i>	51 (33.3)	17 (44.7)	
NST αδενοκαρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)			0.523
<i>Όχι</i>	115 (75.2)	31 (81.6)	
<i>Ναι</i>	38 (24.8)	7 (18.4)	
Νευροενδοκρινές καρκίνωμα			0.999
<i>Όχι</i>	152 (99.3)	38 (100)	
<i>Ναι</i>	1 (0.7)	0 (0)	
Βλεννώδες καρκίνωμα			0.585
<i>Όχι</i>	148 (96.7)	38 (100)	
<i>Ναι</i>	5 (3.3)	0 (0)	
Θηλώδες καρκίνωμα			0.360
<i>Όχι</i>	145 (94.8)	38 (100)	
<i>Ναι</i>	8 (5.2)	0 (0)	
NST θηλώδες καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)			0.999
<i>Όχι</i>	151 (98.7)	38 (100)	
<i>Ναι</i>	2 (1.3)	0 (0)	
NST ηθμοειδές καρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)			0.999
<i>Όχι</i>	151 (98.7)	38 (100)	
<i>Ναι</i>	2 (1.3)	0 (0)	
Μεικτό σωληνώδους τύπου καρκίνωμα			0.999
<i>Όχι</i>	151 (98.7)	38 (100)	
<i>Ναι</i>	2 (1.3)	0 (0)	
Μεταπλαστικό-πλακώδες			0.001
<i>Όχι</i>	151 (98.7)	29 (76.3)	
<i>Ναι</i>	2 (1.3)	9 (23.7)	
Αποκρινές καρκίνωμα			0.199
<i>Όχι</i>	153 (100)	37 (97.4)	

<i>Ναι</i>	0 (0)	1 (2.6)	
Ιστολογικός βαθμός (grade)			0.001
<i>1</i>	16 (10.5)	0 (0)	
<i>2</i>	96 (63.2)	6 (15.8)	
<i>3</i>	40 (26.3)	32 (84.2)	
TNM σταδιοποίηση			0.019
<i>I</i>	36 (23.7)	3 (7.9)	
<i>IIA</i>	52 (34.2)	13 (34.2)	
<i>IIB</i>	26 (17.1)	3 (7.9)	
<i>IIIA</i>	25 (16.4)	11 (28.9)	
<i>IIIB</i>	13 (8.6)	8 (21.1)	
ER			0.001
<i>Καμία έκφραση</i>	17 (11.3)	38 (100)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	10 (6.7)	0 (0)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	13 (8.7)	0 (0)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	110 (73.3)	0 (0)	
PR			0.001
<i>Καμία έκφραση</i>	28 (18.7)	38 (100)	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	15 (10)	0 (0)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	20 (13.3)	0 (0)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	87 (58)	0 (0)	
HER-2			0.001
<i>Καμία έκφραση</i>	110 (73.3)	38 (100)	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	27 (18)	0 (0)	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	13 (8.7)	0 (0)	
Ki-67			0.001
<i>Καμία έκφραση</i>	2 (1.4)	0 (0)	
<i>Χαμηλή έκφραση (<15%)</i>	122 (85.3)	11 (31.4)	
<i>Υψηλή έκφραση (30%)</i>	19 (13.3)	24 (68.6)	
e-cadherin			0.216
<i>Όχι</i>	42 (47.7)	3 (25)	

<i>Ναι</i>	46 (52.3)	9 (75)	
p63			0.010
<i>Όχι</i>	4 (100)	4 (22.2)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	14 (77.8)	
p53			0.999
<i>Όχι</i>	1 (25)	1 (16.7)	
<i>Ναι</i>	3 (75)	5 (83.3)	
CK14			0.001
<i>Όχι</i>	12 (100)	8 (33.3)	
<i>Ναι</i>	0 (0)	16 (66.7)	
CK5/6			0.999
<i>Όχι</i>	3 (75)	10 (66.7)	
<i>Ναι</i>	1 (25)	5 (33.3)	
EGFR			0.999
<i>Όχι</i>	3 (60)	12 (63.2)	
<i>Ναι</i>	2 (40)	7 (36.8)	
AR			0.266
<i>Όχι</i>	1 (20)	6 (66.7)	
<i>Ναι</i>	4 (80)	3 (33.3)	
In situ (εστιακός καρκίνος μαστού)			0.382
<i>Όχι</i>	138 (90.2)	32 (84.2)	
<i>Ναι</i>	15 (9.8)	6 (15.8)	

* NST: μη ειδικού τύπου, TNM: η έκταση του όγκου (T), έκταση εξάπλωσης στους λεμφαδένες (N) και παρουσία ή όχι μετάστασης (M), PR: υποδοχείς προγεστερόνης, AR: υποδοχείς ανδρογόνων, ER: υποδοχείς οιστρογόνων, EGFR: υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, HER-2: υποδοχέας του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα-2.

Πίνακας 21. Σχέση της διήθησης των λεμφαδένων με την έκφραση των ανοσοϊστοχημικών βιοδεικτών

Μεταβλητή	Διηθημένοι λεμφαδένες		p-Value (στατιστική τιμή p)
	Όχι	Ναι	
ER			0.135
<i>Καμία έκφραση</i>	33	22	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	7	3	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	6	7	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	80	30	
PR			0.617
<i>Καμία έκφραση</i>	41	25	
<i>Χαμηλή έκφραση</i>	9	6	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	14	6	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	62	25	
HER-2			0.204
<i>Καμία έκφραση</i>	103	45	
<i>Ενδιάμεση έκφραση</i>	17	10	
<i>Υψηλή έκφραση</i>	6	7	
Ki-67			0.246
<i>Καμία έκφραση</i>	2	0	
<i>Χαμηλή έκφραση (<15%)</i>	86	47	
<i>Υψηλή έκφραση (30%)</i>	33	10	
e-cadherin			0.002
<i>Όχι</i>	35	10	
<i>Ναι</i>	25	30	
p63			0.066
<i>Όχι</i>	4	6	
<i>Ναι</i>	12	2	
p53			0.999
<i>Όχι</i>	1	1	

<i>Ναι</i>	6	2	
CK14			0.775
<i>Όχι</i>	14	6	
<i>Ναι</i>	13	3	
CK5/6			0.999
<i>Όχι</i>	10	3	
<i>Ναι</i>	4	2	
EGFR			0.421
<i>Όχι</i>	11	4	
<i>Ναι</i>	6	3	
AR			0.266
<i>Όχι</i>	6	1	
<i>Ναι</i>	3	4	

*PR: Υποδοχείς προγεστερόνης, AR: υποδοχείς ανδρογόνων, ER: υποδοχείς οιστρογόνων, EGFR: υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, HER-2: υποδοχέας ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα-2.

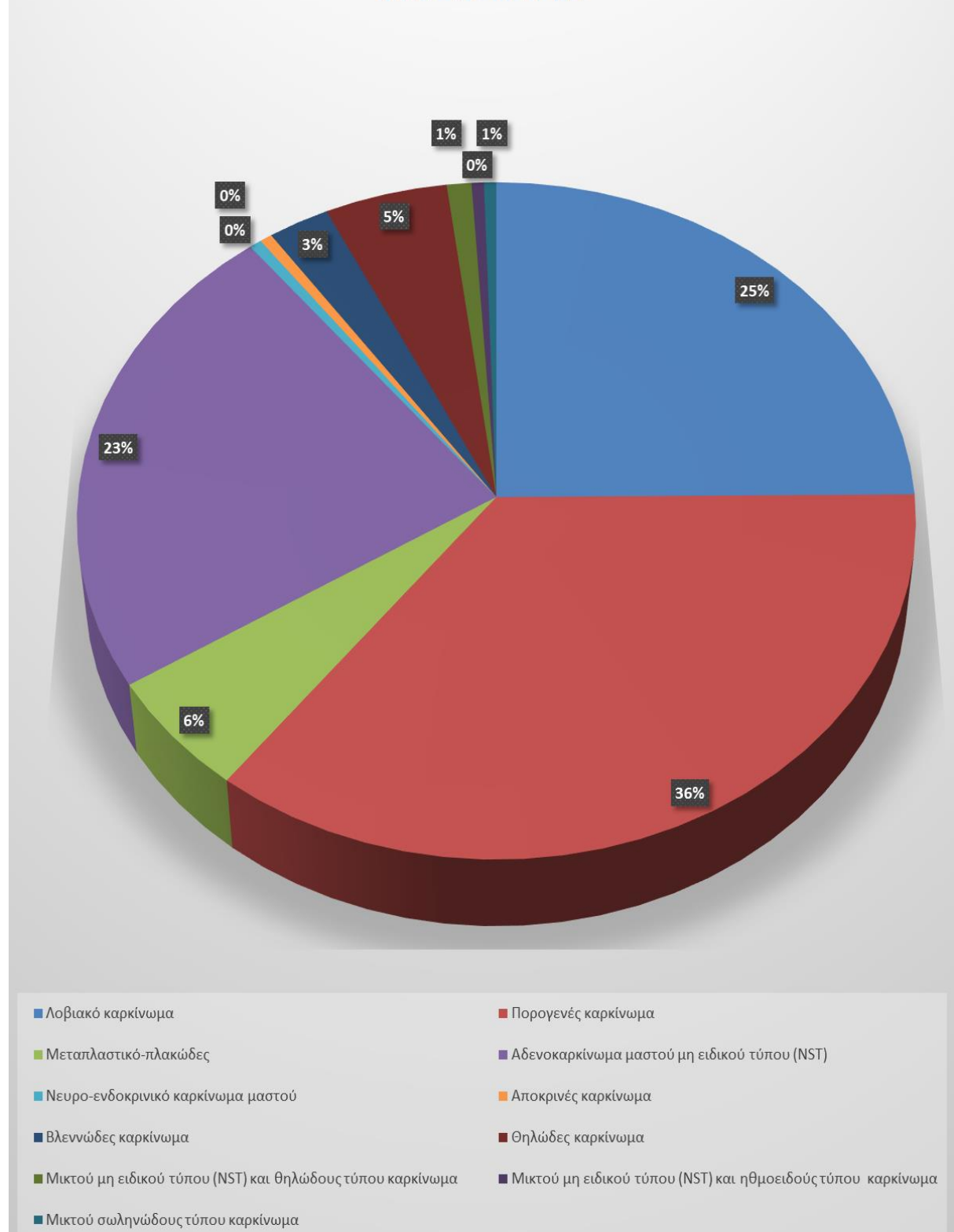
Πίνακας 22. Πενταετής συχνότητα των τύπων του καρκίνου του μαστού από το κεντρικό εργαστήριο του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, από το 2014-2018, σύμφωνα με τις ιστοπαθολογικές και τις ανοσοϊστοχημικές ταξινομήσεις.

Υπότυποι καρκίνου μαστού	Συχνότητα	
	N Αριθμός περιστατικών	Ποσοστό επί τοις εκατό %
<u>Ιστοπαθολογικοί υπότυποι</u>		
Λοβιακό καρκίνωμα	49	24.9
Πορογενές καρκίνωμα	70	35.5
NST αδenoκαρκίνωμα (μη ειδικού τύπου)	46	23.4
Καρκίνωμα μαστού in situ	23	11.7

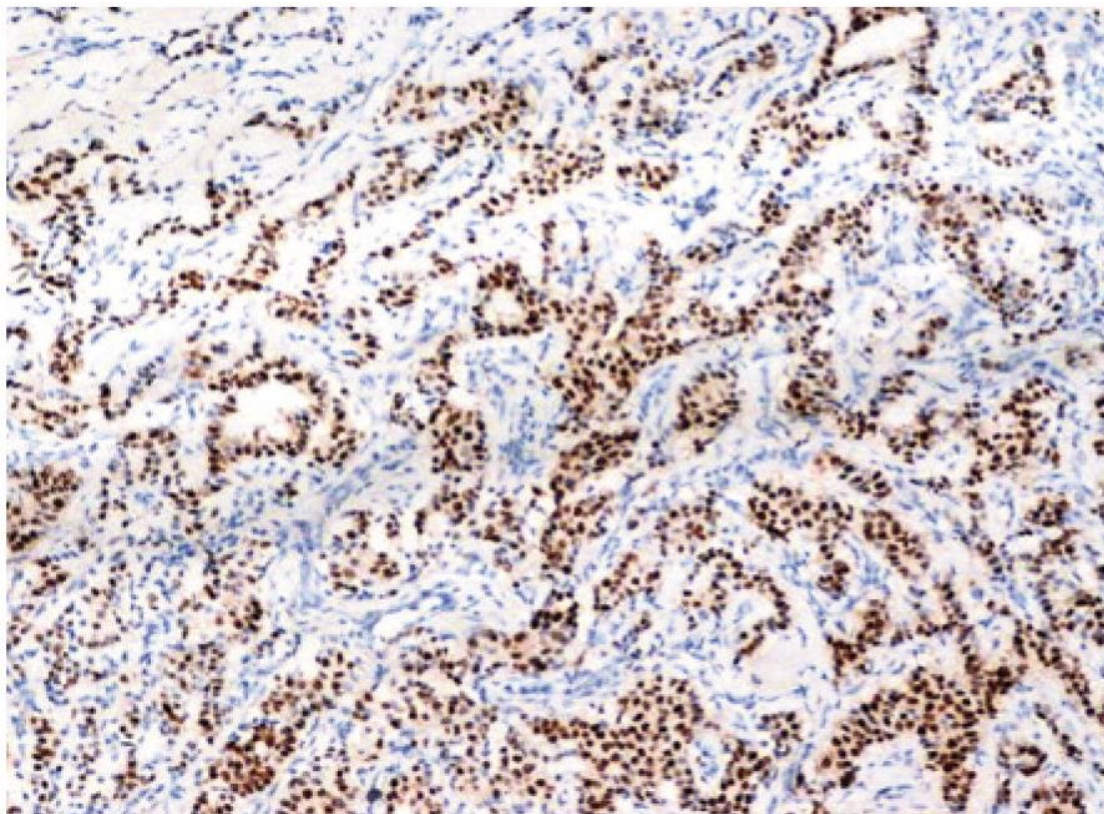
Διηθητικό καρκίνωμα μαστού	174	88.3
Μεταπλαστικό- πλακώδες	11	5.6
Θηλώδες καρκίνωμα	10	5.1
Βλεννώδες καρκίνωμα	5	2.5
Μεικτό σωληνώδους τύπου καρκίνωμα	2	1
Αποκρινές καρκίνωμα	1	0.5
Νευροενδοκρινές καρκίνωμα	1	0.5
<u>Μοριακοί υπότυποι</u>		
Αυλικού τύπου-A (ER+ και/ήPR+ HER2- καιKi-67<14%)	88	44.7
Αυλικού τύπου-B(ER+ και/ήPR+ HER2- καιKi- 67≥14%)	6	3.05
HER2+ θετικός όγκος μαστού	40	20.3
Βασικού τύπου (Τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού)	38	22.3
Αυλικού τύπου- υβριδικές μορφές (ER+ και/ήPR+ HER2+)	21	10.7
ER+/- PR+ θετικοίόγκοι (καρκίνος μαστού με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς)	119	60.4

Γράφημα 2. Ιστολογικοί τύποι καρκίνου μαστού σε ποσοστό %

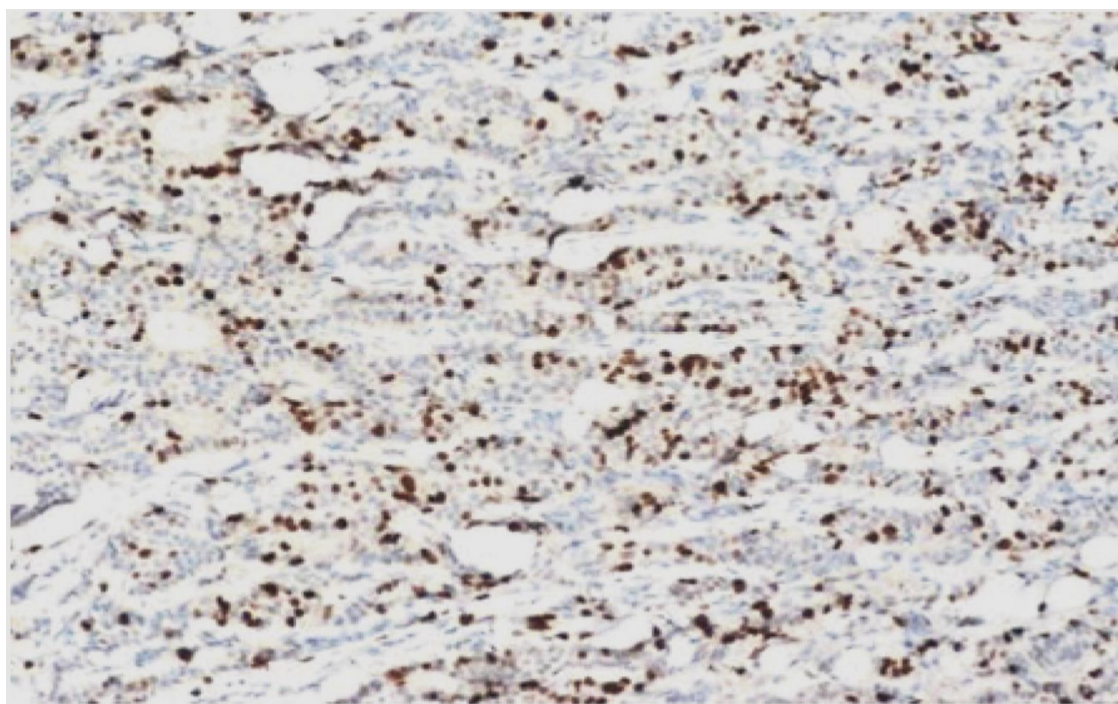
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΣΕ ΠΟΣΟΣΤΟ %



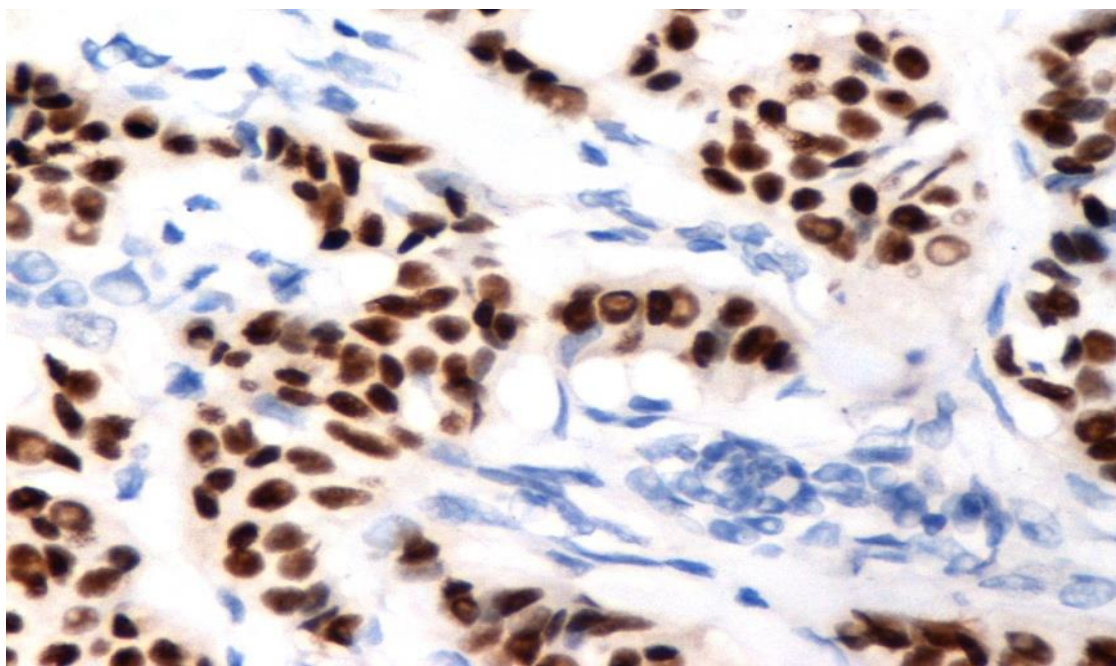
Οι εικόνες 23-28 που ακολουθούν, προέρχονται από το αρχαιακό υλικό του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, της Ιατρικής Σχολής Αθηνών.



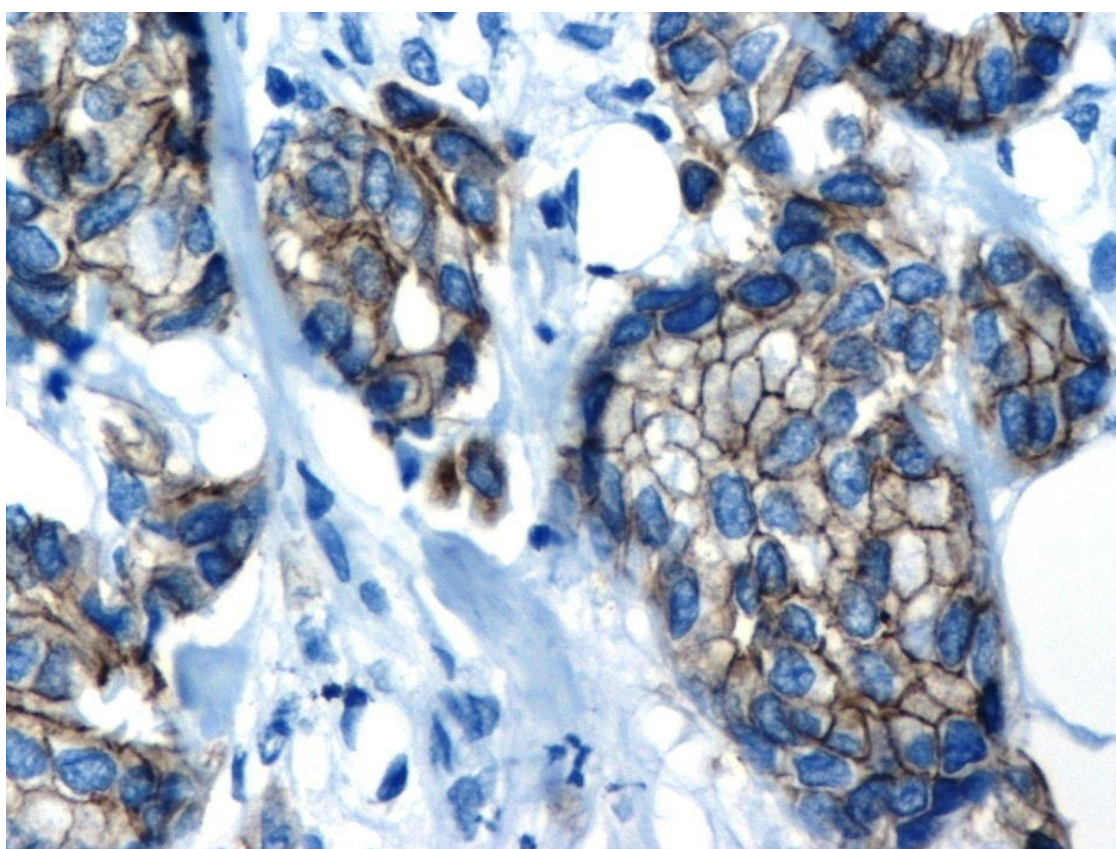
Εικόνα 23. Αυξημένη έκφραση του υποδοχέα προγεστερόνης (PR), που ανιχνεύθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας. PR ισχυρή θετική έκφραση, μεγέθυνση $\times 200$.



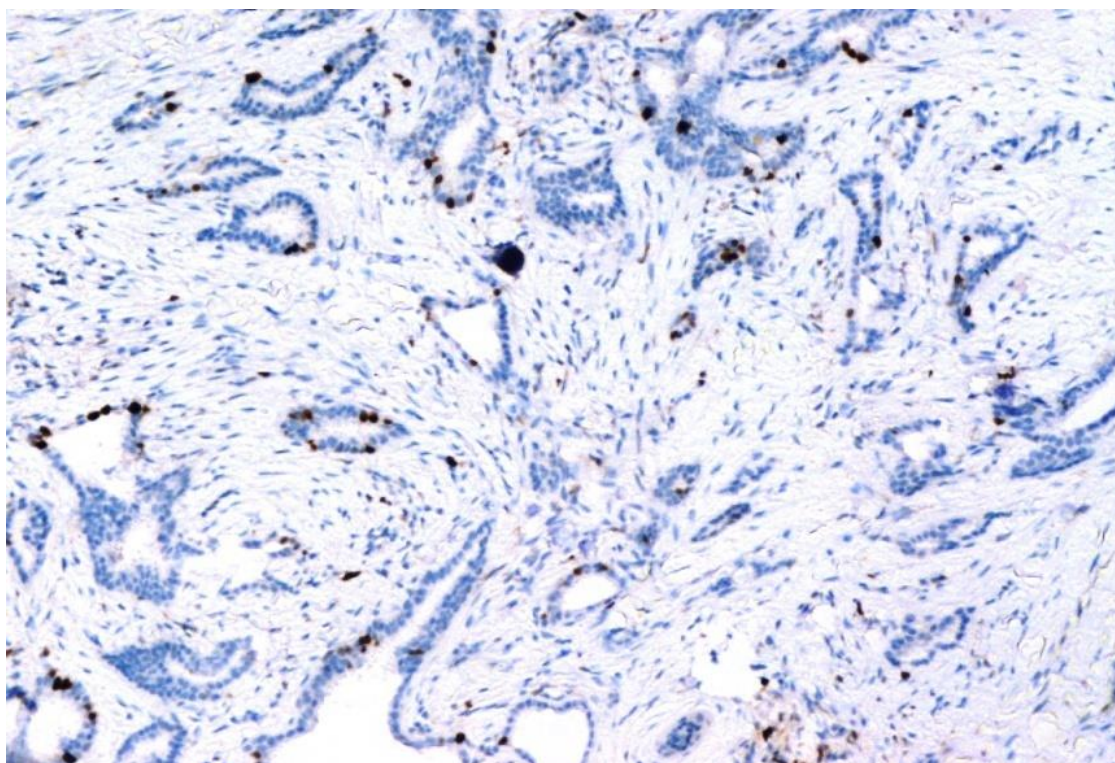
Εικόνα 24. Αυξημένη έκφραση του βιοδείκτη Ki-67, που ανιχνεύθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας. Ki-67 ισχυρή θετική έκφραση, μεγέθυνση $\times 100$.



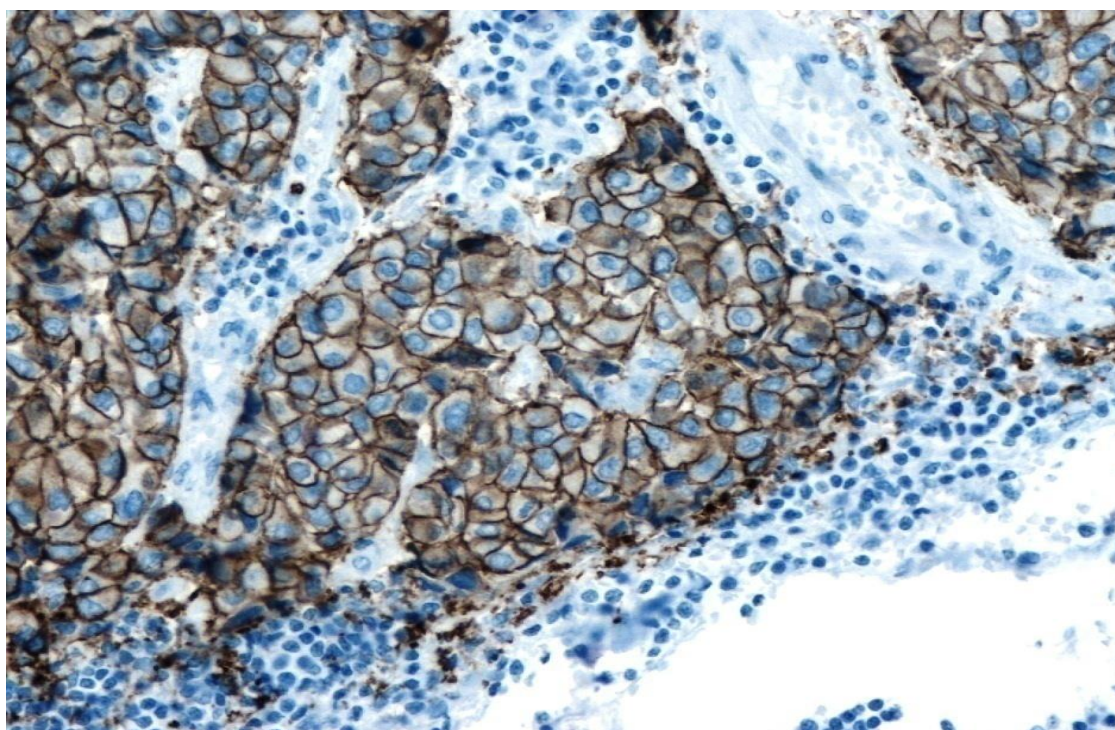
Εικόνα 25. Αυξημένη έκφραση του υποδοχέα οιστρογόνων (ER), που ανιχνεύθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας. ER ισχυρή θετική έκφραση, μεγέθυνση ×400.



Εικόνα 26. Θετική έκφραση του βιοδείκτη HER-2, που ανιχνεύθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας. HER-2 θετική έκφραση, έντασης 2+, μεγέθυνση ×400.



Εικόνα 27. Αυξημένη έκφραση του βιοδείκτη Ki-67, που ανιχνεύθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας. Ki-67 ισχυρή θετική έκφραση, μεγέθυνση $\times 200$.



Εικόνα 28. Θετική έκφραση του βιοδείκτη HER-2, που ανιχνεύθηκε με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας. HER-2 θετική έκφραση, έντασης 3+, μεγέθυνση $\times 400$.

Συζήτηση:

Είναι επιστημονικά γνωστό ότι η καλύτερη πρόγνωση του καρκίνου μαστού συνδέεται με την παρουσία ορμονικών υποδοχέων (HR). Ως αποτέλεσμα, οι ασθενείς με όγκους θετικούς στην προγεστερόνη (PR) ζουν περισσότερο και είναι περισσότερο ελεύθεροι από ασθένειες.

Στο ίδιο πνεύμα, οι όγκοι που είναι θετικοί στα οιστρογόνα (ER) συνδέονται τόσο με την καλύτερη πιθανότητα ανταπόκρισης στην ορμονοθεραπεία, όσο και με την αυξημένη επιβίωση χωρίς νόσο. Αντίθετα, οι ασθενείς που ήταν αρνητικοί, τόσο για τον υποδοχέα οιστρογόνων (ER), όσο και για τον υποδοχέα προγεστερόνης (PR) είχαν χειρότερη πρόγνωση από εκείνους που ήταν αρνητικοί, μόνο για έναν από τους ορμονικούς υποδοχείς.

Παρατηρήσαμε ότι η διάμεση ηλικία των ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη μας ήταν τα 70 έτη (μέση ηλικία $69,3 \pm 15,19$ έτη). Αυτό το αποτέλεσμα διαφέρει από άλλες μελέτες, στις οποίες η μέση ηλικία των ασθενών έχει αναφερθεί ότι είναι 53 έτη, 53,3 έτη, 57,5 έτη και 48,5 έτη (Soares MC et al, 2020, Pérez-Rodríguez G, 2015, Meattini I et al, 2017, Cherbal F et al, 2015). Αυτές οι παραλλαγές μπορεί να προκύψουν από το διαφορετικό ηλικιακό εύρος των γυναικών που εξετάστηκαν σε αυτές τις έρευνες.

Όσον αφορά την ιστολογική ταξινόμηση, ο πιο συχνός τύπος που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη ήταν το πορογενές καρκίνωμα του μαστού. Αυτό το εύρημα είναι σύμφωνο με τα ευρήματα άλλων μελετών (Soares MC et al, 2020, Meattini I et al, 2017, Caldarella A et al, 2013).

Στη μελέτη μας, η συχνότητα του λοβιακού καρκινώματος του μαστού ήταν 24,9%. Ο λοβιακός καρκίνος αντιπροσωπεύει το 15% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού (Muller K, Jorns JM, Tozbikian G, 2022). Η μελέτη μας μοιράζεται ομοιότητες με μια μελέτη από τη Βραζιλία, στην οποία οι περισσότεροι ασθενείς διαγνώστηκαν με πορογενές καρκίνωμα του μαστού και ο δεύτερος πιο συχνός τύπος καρκίνου ήταν ο λοβιακός (Smaniotto ACR et al, 2013).

Στη μελέτη μας, οι περισσότεροι ασθενείς με ιστολογικό βαθμό 2 (grade 2) εμφάνισαν υψηλή έκφραση του ανοσοϊστοχημικού βιοδείκτη του υποδοχέα οιστρογόνων (ER). **Οι περισσότεροι ασθενείς με ιστολογικό βαθμό 3 (grade 3) δεν εμφάνισαν έκφραση του δείκτη ER και όλοι οι ασθενείς με ιστολογικό βαθμό 1 (grade 1) είχαν υψηλή έκφραση του δείκτη ER, στατιστικά σημαντική ($p=0,001$).** Οι περισσότεροι ασθενείς με ιστολογικούς βαθμούς 1 και 2 εμφάνισαν υψηλή έκφραση του

ανοσοϊστοχημικού βιοδείκτη του υποδοχέα προγεστερόνης (PR), ενώ οι περισσότεροι ασθενείς με ιστολογικό βαθμό 3 δεν είχαν έκφραση του δείκτη PR ($p=0,001$). Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης των ανοσοϊστοχημικών δεικτών ER και PR. Παρόμοια ευρήματα έχουν καταδειχθεί από τους Soares et al. (Soares MC et al, 2020).

Επίσης, αυτά τα αποτελέσματα είναι συγκρίσιμα με τα ευρήματα της έρευνας των Dayal et al. (Dayal A, Shah JR, Kothari S, Patel SM, 2016), ο οποίος έδειξε ότι η **επίπτωση του ιστολογικού βαθμού 3 ήταν μεγαλύτερη από 50% σε περιπτώσεις, όπου δεν υπήρχε έκφραση του δείκτη ER**. Ωστόσο, ο ιστολογικός βαθμός 1 ήταν πιο συχνός, όταν η έκφραση του ανοσοϊστοχημικού δείκτη ER ήταν υψηλή.

Μια συγκρίσιμη μελέτη που διεξήχθη στην Ασία (Azizun-Nisa, Bhurgri Y, Raza F, Kayani N, 2008) διαπίστωσε ότι το 70% των καρκινωμάτων μαστού με ιστολογικό βαθμό 1, το 48,2% των περιπτώσεων ιστολογικού βαθμού 2 και το 3,5% των περιπτώσεων με ιστολογικό βαθμό 3 είχαν θετική έκφραση του δείκτη ER και μάλιστα στατιστικά σημαντική ($p<0,001$).

Δεδομένου ότι η παρουσία του υποδοχέα οιστρογόνων (ER) και του υποδοχέα προγεστερόνης (PR) στον ιστό του όγκου, σχετίζεται θετικά με την ανταπόκριση στην ορμονοθεραπεία και τη χημειοθεραπεία (Siadati S, Sharbatdaran M, Nikbakhsh N, Ghaemian N, 2015), **μπορούμε επομένως να συμπεράνουμε ότι οι καλύτερα διαφοροποιημένοι όγκοι (χαμηλότερου ιστολογικού βαθμού) είναι πιο πιθανό να είναι θετικοί στην έκφραση των βιοδεικτών ER και PR και επιπλέον έχουν σχετικά καλύτερη πρόγνωση.**

Επιπροσθέτως, στην έρευνά μας, **οι περισσότεροι ασθενείς ιστολογικού βαθμού 1 και 2 είχαν χαμηλή έκφραση του δείκτη Ki-67, ενώ οι περισσότεροι ασθενείς με βαθμό 3 είχαν υψηλή έκφραση του Ki-67, εύρημα στατιστικά σημαντικό ($p=0,001$).** Αυτό καταδεικνύει ότι ο σημαντικός κυτταρικός πολλαπλασιασμός, που είναι χαρακτηριστικό της εξέλιξης του όγκου και δείκτης χειρότερης πρόγνωσης, παρατηρείται κυρίως σε καρκινώματα υψηλότερου ιστολογικού βαθμού.

Αυτό το συμπέρασμα είναι συνεπές με αυτό της έρευνας των Narbe et al. (Narbe U, et al. 2014), οι οποίοι παρατήρησαν επίσης όγκους βαθμού 3 με μέση βαθμολογία έκφρασης του δείκτη Ki-67: 23,2% και επιβεβαίωσαν μια ουσιαστική θετική συσχέτιση μεταξύ του Ki-67 και του ιστολογικού βαθμού ($p<0,001$). Επιπλέον, οι Soares et al. διαπίστωσαν ότι η αυξημένη έκφραση του Ki-67 συνδέθηκε με

υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης υψηλού ιστολογικού βαθμού (Soares MC,etal. 2020).

Επιπλέον, ο πίνακας 4, στην ενότητα των αποτελεσμάτων της μελέτης μας δείχνει ότι, **όσον αφορά τον ιστολογικό βαθμό, ο ανοσοϊστοχημικός δείκτης HER-2 έδειξε παρόμοιο μοτίβο με το δείκτη Ki-67, χωρίς να παρουσιάζει στατιστική σημαντικότητα (p=0,051).**

Παρόμοιο αποτέλεσμα έδειξε και ο ερευνητής Arantes Júnior JC, ο οποίος δεν παρατήρησε στατιστικά σημαντική σχέση, αλλά σημείωσε ότι ο υψηλός πυρηνικός βαθμός συσχετίστηκε με την υπερέκφραση του δείκτη HER-2 (Arantes Júnior JC, 2006).

Έτσι, καθώς η υπερέκφραση του δείκτη HER-2 δεν έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα διαφορετικά επίπεδα πυρηνικού βαθμού του όγκου, φαίνεται να είναι ένας ανεξάρτητος δείκτης βιολογικής επιθετικότητας. Η υπερέκφρασή του σε άτομα με καρκίνο του μαστού, υποδηλώνει χειρότερη πρόγνωση και κακή ανταπόκριση στην ορμονοθεραπεία, όπως η ταμοξιφαίνη, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη χαμηλότερη επιβίωση (Siadati S, Sharbatdaran M, Nikbakhsh N, Ghaemian N, 2015).

Όσον αφορά τη μέγιστη διάμετρο του όγκου, δεν παρατηρήσαμε σημαντική συσχέτιση με την έκφραση των δεικτών ER ή PR, όπως φαίνεται στον πίνακα 3. Ομοίως, οι Soares et al. διαπίστωσαν ότι το μέσο μέγεθος των όγκων των ασθενών με θετική έκφραση ER ήταν: 3,52 cm, ενώ των ασθενών με αρνητική έκφραση ER των όγκων μαστού ήταν: 3,73 cm.

Ακόμη, το μέσο μέγεθος όγκου σε ασθενείς με PR-θετική έκφραση ήταν: 3,51 cm, ενώ σε ασθενείς με PR-αρνητικούς όγκους μαστού ήταν: 3,72 cm. Παρ' όλα αυτά, δεν υπήρξε ευδιάκριτη σχέση μεταξύ του μεγέθους του όγκου και της έκφρασης των ανοσοϊστοχημικών δεικτών ER και PR (Soares MC et al, 2020). Οι ερευνητές Dayal et al (Dayal A, Shah JR, Kothari S, Patel SM, 2016) και Ariga et al (Ariga R et al, 2005) ανέφεραν και οι δύο παρόμοια αποτελέσματα με τα ευρήματα της μελέτης μας.

Είναι καλά αναγνωρισμένο ότι η κατάσταση των λεμφαδένων επηρεάζει το στάδιο του καρκίνου του μαστού και τις διαθέσιμες θεραπείες. Η πρόγνωση της ασθενούς στον καρκίνο του μαστού επηρεάζεται σημαντικά από την κατάσταση των λεμφαδένων τους. Καθώς ο αριθμός των θετικών μασχαλιαίων λεμφαδένων αυξάνεται, τόσο το

ποσοστό επιβίωσης, όσο και η πιθανότητα υποτροπής μειώνονται (Yang J, Long Q, Li H, Lv Q, Tan Q, Yang X, 2017).

Μία προηγούμενη έρευνα έχει δείξει ότι η έκφραση HER-2 συσχετίζεται στατιστικά με τη συμμετοχή των λεμφαδένων και τη διήθηση των αγγείων, ενώ αυτή η σχέση δεν έχει αποδειχθεί για την έκφραση των υποδοχέων ER και PR (Dayal A, Shah JR, Kothari S, Patel SM, 2016, Tokatli F. et al. 2005, Abdollahi A, Sheikhabahaei S, Safinejad S, Jahanzad I, 2013). Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε ούτε στη μελέτη μας, ούτε στη μελέτη των Soares et al. (Soares MC, et al. 2020).

Το μόριο κυτταρικής προσκόλλησης E-καντχερίνη εκφράζεται σε υγιή ιστό μαστού και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικός φαινοτυπικός δείκτης για τον καρκίνο του μαστού.

Το μικρότερο διάστημα χωρίς νόσο, το χαμηλότερο συνολικό ποσοστό επιβίωσης, το μεγαλύτερο μέγεθος όγκου, ο υψηλότερος ιστολογικός βαθμός, η ανάπτυξη απομακρυσμένων μεταστάσεων και οι αρνητικοί σε έκφραση, υποδοχείς ER στον καρκίνο του μαστού, συνδέονται όλα με μειωμένη ή εξασθενημένη έκφραση E-καντχερίνης (Singhai R, et al. 2011). Έχει αποδειχθεί ότι τα διηθητικά πορογενή καρκινώματα και οι σχετικοί μεταστατικοί λεμφαδένες εκφράζουν κατά παρέκκλιση την E-καντχερίνη. Το μέγεθος του όγκου και ο αριθμός των λεμφαδένων στους οποίους υπάρχει μετάσταση του πρωτοπαθούς όγκου του μαστού συσχετίζεται ισχυρά με την έκφραση της E-καντχερίνης στο λεμφαδένα, ο οποίος έχει υποστεί μετάσταση (Chen L, et al. 2015). Συγκεκριμένα, σε δείγματα στα οποία εξετάστηκε ανοσοϊστοχημικά η έκφραση της E-καντχερίνης, παρατηρήσαμε θετική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασής της και της συμμετοχής των λεμφαδένων. Αυτό το εύρημα είναι σύμφωνο με μια πρόσφατη μελέτη που δείχνει ότι η E-καντχερίνη προάγει, αντί να καταστέλλει, την ανάπτυξη μετάστασης και διηθητικότητας (Karsten N, et al. 2022).

Αξίζει να σημειωθεί ότι παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και του μέγιστου μεγέθους του όγκου. Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία ότι οι νεότερες γυναίκες τείνουν να έχουν πιο επιθετικούς όγκους του μαστού (Han W, et al. 2004, de la Rochefordiere A, et al. 1993). Έχει αποδειχθεί ότι η χαμηλότερη ηλικία κατά τη διάγνωση αυξάνει την πιθανότητα θανάτου και αυτό το αποτέλεσμα είναι πιο αισθητό σε γυναίκες κάτω των 35 ετών (Han W, Kang SY, Korean Breast Cancer Society, 2010). Επίσης, έχει αναφερθεί ότι το ποσοστό των όγκων με λεμφική διήθηση μειώνεται προοδευτικά όσο αυξάνεται η ηλικία (Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ, 1999). Ωστόσο, μελέτες από ηλικιωμένες γυναίκες με καρκίνο του μαστού

υποδηλώνουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της μεγάλης ηλικίας και του αυξημένου μεγέθους του όγκου. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι ο καρκίνος του μαστού μπορεί να ανιχνευθεί σε πιο προχωρημένα στάδια στον ηλικιωμένο πληθυσμό (Barthélémy P, et al. 2011).

Επιπλέον, θα θέλαμε να σημειώσουμε ότι η νεοεπικουρική αντι-HER2 θεραπεία με την τραστοζουμάμπη είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική και θα μπορούσε να χορηγηθεί σε όλες τις ασθενείς με πρώιμο καρκίνο μαστού, που είναι θετικές στο HER2, χωρίς να έχουν αντενδείξεις. Ένα τουλάχιστον έτος θεραπείας με τραστοζουμάμπη είναι αναγκαίο για τη συντριπτική πλειοψηφία των HER2 θετικών ασθενών και έτσι μπορούμε να συνειδητοποιήσουμε την κλινική σημασία των ανοσοϊστοχημικών προγνωστικών βιοδεικτών στον καρκίνο του μαστού (Cardoso F, et al. 2019).

Για πρώτη φορά, καταδεικνύουμε την κατανομή των μοριακών υποτύπων του καρκίνου του μαστού και τη σχέση τους με ορισμένα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά σε μια μεγάλη ομάδα Ελληνίδων πασχόντων από καρκίνο του μαστού.

Ωστόσο, η μελέτη μας έχει ορισμένους περιορισμούς. Είναι μια μονοκεντρική αναδρομική μελέτη. Επίσης, δεν παρέχονται δεδομένα σχετικά με την έκβαση αυτών των ασθενών (συσχέτιση των ανοσοϊστοχημικών βιοδεικτών με την επιβίωση των ασθενών), αλλά αυτό ήταν εκτός των σκοπών της ερευνητικής μας μελέτης.

Στοχευμένες θεραπείες και εξατομικευμένη θεραπεία:

Η εμφάνιση στοχευμένων θεραπειών σηματοδοτεί μια πρωτοποριακή πρόοδο στον τομέα της διαχείρισης του καρκίνου του μαστού. Αυτές οι θεραπείες αντιπροσωπεύουν μια εξελιγμένη προσέγγιση που στοχεύει με ακρίβεια στις υποκείμενες μοριακές ανωμαλίες που οδηγούν στην ανάπτυξη και εξάπλωση αυτών των όγκων.

Μία από τις αξιοσημείωτες ιστορίες επιτυχίας στις στοχευμένες θεραπείες είναι η ανάπτυξη θεραπειών που έχουν σχεδιαστεί ειδικά για τον καρκίνο του μαστού με θετική έκφραση HER-2. Η HER2, μια πρωτεΐνη που υπερεκφράζεται σε ορισμένους καρκίνους του μαστού, παίζει καθοριστικό ρόλο στην προώθηση της επιθετικής συμπεριφοράς του όγκου.

Οι στοχευμένοι θεραπευτικοί παράγοντες, όπως η τραστοζουμάμπη και η περτουζουμάμπη είναι μονοκλωνικά αντισώματα που δρουν δεσμεύοντας τον υποδοχέα HER-2, αναστέλλοντας τις οδούς σηματοδότησής του και επιβραδύνοντας αποτελεσματικά την ανάπτυξη του όγκου. Αυτές οι θεραπείες έχουν αλλάξει τις προοπτικές για ασθενείς με καρκίνο του μαστού με θετική έκφραση HER-2, βελτιώνοντας σημαντικά τα ποσοστά επιβίωσης και μειώνοντας τον κίνδυνο

υποτροπής (Masoud V, Pagès G, 2017, Jallah JK, Dweh TJ, Anjankar A, Palma O, 2023).

Ένας άλλος κεντρικός τομέας της στοχευμένης θεραπείας έγκειται στην αντιμετώπιση των καρκίνων του μαστού, με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς. Οι όγκοι που είναι θετικοί σε ορμονικούς υποδοχείς, ιδιαίτερα εκείνοι που εκφράζουν υποδοχείς οιστρογόνων, βασίζονται σε μονοπάτια σηματοδότησης ορμονών για την ανάπτυξή τους. Οι στοχευμένες ορμονικές θεραπείες στοχεύουν να διαταράξουν αυτές τις οδούς, εμποδίζοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό του όγκου.

Οι αναστολείς αρωματάσης και οι εκλεκτικοί ρυθμιστές υποδοχέων οιστρογόνων (SERMs) είναι μεταξύ των προσαρμοσμένων θεραπειών που χρησιμοποιούνται για αυτόν τον υπότυπο καρκίνου του μαστού. Οι αναστολείς της αρωματάσης, για παράδειγμα, αναστέλλουν την παραγωγή οιστρογόνων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ενώ οι SERMs, όπως η ταμοξιφαίνη εμποδίζουν τη σύνδεση των οιστρογόνων με τους υποδοχείς στα κύτταρα του μαστού, εμποδίζοντας αποτελεσματικά την ανάπτυξη του όγκου (El Sayed R et al, 2019, Andrahennadi S, Sami A, Manna M, Pauls M, Ahmed S, 2021).

Αυτές οι στοχευμένες θεραπείες αποτελούν παράδειγμα της στροφής προς τις εξατομικευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις στον καρκίνο του μαστού. Εστιάζοντας στα συγκεκριμένα μοριακά χαρακτηριστικά κάθε υποτύπου, αυτές οι θεραπείες προσφέρουν πιο αποτελεσματικές και προσαρμοσμένες παρεμβάσεις.

Αυτή η εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση όχι μόνο ενισχύει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας, αλλά και ελαχιστοποιεί τις δυσμενείς επιπτώσεις στους υγιείς ιστούς, βελτιώνοντας έτσι την ποιότητα ζωής των ασθενών που υποβάλλονται σε αυτές τις θεραπείες (Nandy A, Gangopadhyay S, Mukhopadhyay A, 2014).

Τεχνητή νοημοσύνη και καρκίνος του μαστού:

Τα προγνωστικά μοντέλα με γνώμονα την τεχνητή νοημοσύνη μπορούν να βοηθήσουν στον προσδιορισμό των πιο αποτελεσματικών θεραπευτικών προσεγγίσεων για τους διαφορετικούς υποτύπους του καρκίνου του μαστού, λαμβάνοντας υπόψη μεμονωμένες παραλλαγές σε γενετικές μεταλλάξεις, μοριακά προφίλ και συγκεκριμένα χαρακτηριστικά του όγκου. Αυτά τα μοντέλα έχουν τη δυνατότητα να καθοδηγήσουν τους κλινικούς ιατρούς στην επιλογή στοχευμένων θεραπειών, στη βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας και στην ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων ενεργειών (Dembrower K, Crippa A, Colón E, Eklund M, Strand F, 2023).

Επιπλέον, η συνεχής εξέλιξη αυτών των τεχνολογιών συνεχίζει να βελτιώνει τις δυνατότητές τους. Με συνεχείς προόδους στους αλγόριθμους της μηχανικής μάθησης και στην ανάλυση δεδομένων, η ακρίβεια και η εγκυρότητα των μοντέλων πρόβλεψης μπορούν να βελτιωθούν.

Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ενώ οι δυνατότητες των μεγάλων δεδομένων (bigdata) και της τεχνητής νοημοσύνης (AI) στην έρευνα και τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού είναι αρκετά ελπιδοφόρες, οι προκλήσεις παραμένουν. Ζητήματα που σχετίζονται με το απόρρητο των δεδομένων, την τυποποίηση των δεδομένων και την ανάγκη επικύρωσης και κλινικής μετάφρασης των γνώσεων που δημιουργούνται από την τεχνητή νοημοσύνη θέτουν σημαντικά εμπόδια που πρέπει να αντιμετωπιστούν (Johnson KB, et al. 2021).

Προκλήσεις και Μελλοντικές Προοπτικές:

Παρά τα αξιοσημείωτα βήματα, οι προκλήσεις εξακολουθούν να υφίστανται στην καθολική εφαρμογή της ιατρικής ακριβείας. Η πρόσβαση σε προηγμένες γονιδιωματικές δοκιμές, στοχευμένες θεραπείες και εξειδικευμένες θεραπείες ενδέχεται να είναι περιορισμένη σε ορισμένα περιβάλλοντα ή περιοχές υγειονομικής περίθαλψης. Επιπλέον, η ετερογένεια του όγκου, η επίκτητη αντίσταση σε στοχευμένες θεραπείες και η εξελισσόμενη πολυπλοκότητα της βιολογίας του καρκίνου θέτουν συνεχείς προκλήσεις που απαιτούν συνεχή έρευνα και καινοτομία (Pasic MD, Samaan S, Yousef GM, 2013).

Το μέλλον της ιατρικής ακριβείας για τον καρκίνο του μαστού είναι πολλά υποσχόμενο. Οι εξελίξεις στην τεχνολογία, όπως η αλληλούχιση ενός μεμονωμένου κυττάρου, η χωρική γονιδιωματική και οι προσεγγίσεις πολλαπλής ωμικής (multi-omics), προσφέρουν μια βαθύτερη κατανόηση της ετερογένειας και της εξέλιξης του

όγκου. Η ενσωμάτωση διαφορετικών τρόπων θεραπείας, συμπεριλαμβανομένων των στοχευμένων θεραπειών, της ανοσοθεραπείας και των αναδυόμενων νέων θεραπευτικών παραγόντων, σε μια εξατομικευμένη προσέγγιση που βασίζεται στο ολοκληρωμένο μοριακό προφίλ έχει δυνατότητες περαιτέρω βελτίωσης των αποτελεσμάτων των ασθενών (Christofyllakis K et al, 2022).

Επιπλέον, η πρόληψη ακριβείας αναδεικνύεται ως σημαντική πτυχή, εστιάζοντας στον εντοπισμό ατόμων υψηλού κινδύνου μέσω γενετικού ελέγχου και εφαρμογής εξατομικευμένων παρεμβάσεων για την πρόληψη της ανάπτυξης καρκίνου του μαστού ή την ανίχνευσή του σε πρώιμο, πιο ιάσιμο στάδιο (Pashayan N et al, 2020).

Ένας άλλος πολλά υποσχόμενος μελλοντικός τομέας της ιατρικής ακριβείας συνιστά τη ραδιογενωμική που συνδυάζει γονιδιωματικά προφίλ και ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της απεικόνισης κάθε ατόμου που έχουν εντοπιστεί και δείχνουν πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα στη διάγνωση και την πρόγνωση του καρκίνου του μαστού (Demetriou D et al, 2024).

Συμπεράσματα:

Τα ευρήματά μας υπογραμμίζουν τη σημασία της ανάλυσης του όγκου του μαστού που πραγματοποιείται με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας και ιστοπαθολογικής ανάλυσης. Επιπλέον, τα ευρήματά μας δείχνουν ότι οι μοριακές και ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις μπορούν να βοηθήσουν στην προώθηση της κατανόησης της βιολογίας του καρκίνου του μαστού, στην πρόγνωση της κλινικής εικόνας εξατομικευμένα και στην ενίσχυση της θεραπείας των πασχόντων γυναικών από αυτόν τον τύπο καρκίνου.

Συμπερασματικά, όσον αφορά τις μελλοντικές προκλήσεις, η ιατρική ακριβείας στον καρκίνο του μαστού αποτελεί την επιτομή μιας προσαρμοσμένης, ασθενοκεντρικής προσέγγισης που αξιολογεί τις εξελίξεις στη γονιδιωματική, τις στοχευμένες θεραπείες, την ανοσοθεραπεία, την ανάλυση των δεδομένων και τα καινοτόμα διαγνωστικά προϊόντα.

Αξιοποιώντας τη δύναμη της εξατομικευμένης ιατρικής, ο στόχος είναι να βελτιστοποιηθεί η αποτελεσματικότητα της θεραπείας, να ελαχιστοποιηθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες και τελικά να βελτιωθεί η ποιότητα ζωής των ατόμων που πάσχουν από καρκίνο του μαστού. Ωστόσο, η επίτευξη μιας ευρείας εφαρμογής απαιτεί συντονισμένες προσπάθειες στην έρευνα, την προσβασιμότητα, τις υποδομές υγειονομικής περίθαλψης και τις διεπιστημονικές συνεργασίες για την πλήρη

αξιοποίηση των δυνατοτήτων της ιατρικής ακριβείας στην αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού.

Περίληψη

Εισαγωγή: Ο καρκίνος του μαστού είναι μια πολύπλοκη ασθένεια με μεταβλητότητα στην κλινική εκδήλωση, την ανταπόκριση στην τρέχουσα θεραπεία και στα βιοχημικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά μεταξύ των διαφόρων υποομάδων. Η ιστολογική ταξινόμηση και η ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση του υποδοχέα οιστρογόνου (ER), του υποδοχέα προγεστερόνης (PR), του υποδοχέα ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER-2) και του δείκτη πολλαπλασιασμού Ki-67 διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην αύξηση της διαφορικής διαγνωστικής αξίας μεταξύ των διαφόρων τύπων καρκινώματος του μαστού.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των ιστοπαθολογικών και ανοσοϊστοχημικών χαρακτηριστικών των όγκων του μαστού από Πανεπιστημιακό Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής στην Ελλάδα και ο προσδιορισμός της προβλεπτικής και προγνωστικής αξίας των κυριότερων ανοσοϊστοχημικών βιοδεικτών στον καρκίνο του μαστού.

Μέθοδος: Η μελέτη μας περιλάμβανε γυναίκες ασθενείς άνω των 18 ετών, των οποίων οι ιστοπαθολογικές και ανοσοϊστοχημικές εκθέσεις φυλάσσονταν στο αρχείο του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Στη μελέτη συμμετείχαν 197 γυναίκες ασθενείς με διάμεση ηλικία τα 70 έτη και διάμεσο μέγεθος όγκου, τα 2,6 εκατοστά.

Αποτελέσματα: Οι περισσότεροι όγκοι εντοπίστηκαν στον αριστερό μαστό και το πορογενές καρκίνωμα του μαστού ήταν ο πιο κοινός ιστολογικός τύπος (35,5%). Οι περισσότεροι όγκοι είχαν ιστολογικό βαθμό 2 (106, 53,8%) και ταξινομήθηκαν ως TNM σταδίου ΙΙΑ (65, 33%). Οι περισσότεροι όγκοι βαθμού 1 και 2 εμφάνισαν υψηλή έκφραση PR, ενώ οι περισσότεροι όγκοι βαθμού 3 δεν είχαν έκφραση PR. Επιπλέον, οι ασθενείς με τριπλά αρνητικό καρκίνο παρουσίασαν βαθμούς 2 και 3 σε χαμηλότερο ποσοστό, σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς τριπλά αρνητικό φαινότυπο ($p=0,001$).

Συμπεράσματα: Η έρευνά μας παρείχε πολύτιμες γνώσεις σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και την εξέλιξη του καρκίνου του μαστού. Τα ευρήματά μας υπογραμμίζουν τη σημασία της ανάλυσης του όγκου που πραγματοποιείται με τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας και της ιστοπαθολογικής ανάλυσης. Επιπλέον, τα ευρήματά μας καταδεικνύουν ότι οι μοριακές και

ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις μπορούν να βοηθήσουν στην προώθηση της βιολογικής κατανόησης και στην ενίσχυση της θεραπείας των ασθενών με καρκίνο του μαστού, αλλά και στη χρήση συγκεκριμένων προγνωστικών και προγνωστικών βιοδεικτών του καρκίνου του μαστού, όπως οι βιοδείκτες ER, PR, HER-2, Ki-67, e-cadherin, οι οποίοι μπορούν να κατευθύνουν τη μορφή της θεραπείας και να καθορίσουν τη θεραπευτική ανταπόκριση κάθε γυναίκας ασθενούς, ξεχωριστά.

Λέξεις - κλειδιά: καρκίνος μαστού, ανοσοϊστοχημεία, παθολογοανατομία, βιοδείκτες, τριπλά αρνητικός καρκίνος μαστού, ιστοπαθολογικοί υπότυποι, μοριακοί υπότυποι, ιστολογικά χαρακτηριστικά, ER, PR, HER-2, Ki-67, e-cadherin, προγνωστικοί, λοβιακός καρκίνος μαστού, πορογενής καρκίνος μαστού, διηθητικός καρκίνος μαστού, in situ καρκίνος μαστού.

Abstract

Introduction: Breast cancer is a complex disease with variability in clinical manifestation, response to current therapy, and biochemical and histological features among various subgroups. Histologic grading and immunohistochemical evaluation of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2), and Ki-67 proliferation index play a crucial role in increasing the differential diagnostic value among various types of breast carcinoma.

Purpose: The aim of this study was to determine the histopathological and immunohistochemical characteristics of breast tumors from a University Laboratory of Pathology in Greece and the determination of the predictive and prognostic value of the main immunohistochemical biomarkers in breast cancer.

Method: The study included female patients over 18 years of age, whose histopathological and immunohistochemical reports were stored in the archives of the First Department of Pathology of National and Kapodistrian University of Athens. The study involved 197 female patients with a median age of 70 years and median tumor size of 2.6 cm.

Results: Most tumors were located at the left breast and ductal carcinoma was the most common histologic type (35.5%). Most tumors had histologic grade 2 (106, 53.8%), and were classified as TNM stage IIA (65, 33%). Most grade 1 and 2 tumors exhibited high expression of PR, whereas most grade 3 tumors had no PR expression. Moreover, patients with triple-negative cancer presented with grades 2 and 3 at a lower percentage compared to patients without a triple-negative phenotype ($p=0.001$).

Conclusions: The study provided valuable insights into the molecular mechanisms involved in the development and progression of breast cancer. Our findings highlight the significance of tumor analysis carried out using immunohistochemistry and histopathological analysis. Moreover, our findings indicate that molecular and immunohistochemical analyses can be helpful in advancing biological understanding and enhance the treatment of breast cancer patients, but also in use of specific prognostic and predictive biomarkers of breast cancer such as ER, PR, HER-2, Ki-67,

e-cadherin that they can direct the form of treatment and determine the treatment response of each female patient individually.

Key words: breast cancer, immunohistochemistry, pathology, biomarkers, triple-negative breast cancer, histopathological subtypes, molecular subtypes, histological features, ER, PR, HER-2, Ki-67, e-cadherin, predictive, lobular breast carcinoma, ductal breast carcinoma, invasive breast carcinoma, in situ breast carcinoma.

Βιβλιογραφία

- 1) Abdollahi A, Sheikhabahaei S, Safinejad S, Jahanzad I: Correlation of ER, PR, HER-2 and P53 immunoreactions with clinicopathological features in breast cancer. *Iranian J Pathol* 8(3): 147-152, 2013. Available at: https://ijp.iranpath.org/article_8261.html [Last accessed on February 6, 2024].
- 2) AJCC. *AJCC Cancer Staging Manual* (8th edition), Springer International Publishing AG, 2018.
- 3) Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biol Res.* 2017 Oct 2;50(1):33.
- 4) Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, Hayes DF, Lakhani SR, Chavez-MacGregor M, Perlmutter J, Perou CM, Regan MM, Rimm DL, Symmans WF, Torlakovic EE, Varella L, Viale G, Weisberg TF, McShane LM, Wolff AC: Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: ASCO/CAP Guideline update. *J Clin Oncol* 38(12):1346-1366, 2020. DOI: 10.1200/JCO.19.02309.
- 5) Alshenawy HA: Prevalence of androgen receptors in invasive breast carcinoma and its relation with estrogen receptor, progesterone receptor and Her2/neu expression. *J Egypt Natl Canc Inst* 24(2): 77-83, 2012. DOI: 10.1016/j.jnci.2012.04.001.
- 6) Aman NA, Doukoure B, Koffi KD, Kouï BS, Traore ZC, Kouyate M, Toure I, Effi AB: Immunohistochemical evaluation of Ki-67 and comparison with clinicopathologic factors in breast carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev* 20(1): 73-79, 2019. DOI:10.31557/APJCP.2019.20.1.73.
- 7) Andrahennadi S, Sami A, Manna M, Pauls M, Ahmed S. Current Landscape of Targeted Therapy in Hormone Receptor-Positive and HER2-Negative Breast Cancer. *Curr Oncol* 2021;28(3):1803-1822. doi: 10.3390/currenocol28030168.
- 8) Anuradha D, Lakshmi A. Mucinous carcinoma of breast with neuroendocrine differentiation: a rare case report with review of literature. *Int J Res MedSci.* 2017; 2:1751–1754.
- 9) Arantes Júnior JC: Perfis Histopatológico e Imuno histoquímico do câncer de mama: Comparação entre lesões palpáveis e não palpáveis [tese]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2006. Available at: <http://hdl.handle.net/11449/103713> [Last accessed on February 6, 2024].

- 10) Argus A, Mahoney MC. Indications for breast MRI: case-based review. *AJR Am J Roentgenol.* 2011 Mar; 196 (3 Suppl):WS1-14.
- 11) Ariga R, Zarif A, Korasick J, Reddy V, Siziopikou K, Gattuso P: Correlation of Her-2/neu gene amplification with other prognostic and predictive factors in female breast carcinoma. *Breast J* 11(4):278-280, 2005. DOI: 10.1111/j.1075-122x.2005.21463.x.
- 12) Arteaga CL, Sliwkowski MX, Osborne CK, Perez EA, Puglisi F, Gianni L. Treatment of HER2-positive breast cancer: Current status and future perspectives. *Nat Rev Clin Oncol* 2012; 9:16-32.
- 13) Azizun-Nisa, Bhurgri Y, Raza F, Kayani N: Comparison of ER,PR and HER-2/neu (C-erb B 2) reactivity pattern with histologic grade, tumor size and lymph node status in breast cancer. *AsianPac J Cancer Prev* 9(4): 553-556, 2008.
- 14) Aznab M, Khajevand Ahmady M, Jamshidi K, Madani SH, Khazaei S, Shoushtaryzadeh T, Bagheri A: Investigating the relationship between of vascular endothelial growth factor and HER-2neu in IHC staining with metastasis and mortality in patients with osteosarcoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 21(10):3005-3009, 2020. DOI: 10.31557/APJCP.2020.21.10.3005.
- 15) Badve SS, Gökmen-Polar Y. Ductal carcinoma in situ of breast: update 2019. *Pathology.* 2019 Oct;51(6):563-569.
- 16) Barthélémy P, Heitz D, Mathelin C, Polesi H, Asmane I, Litique V, Rob L, Bergerat JP, Kurtz JE: Adjuvant chemotherapy in elderly patients with early breast cancer. Impact of age and comprehensive geriatric assessment on tumor board proposals. *Crit Rev Oncol Hematol* 79(2): 196-204, 2011. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.06.005.
- 17) Beňačka, R.; Szabóová, D.; Gulašová, Z.; Hertelyová, Z.; Ra-doňák, J. Classic and New Markers in Diagnostics and Classification of Breast Cancer. *Cancers* 2022.
- 18) Bentzon N, During M, Rasmussen BB, Mouridsen H, Kroman N. Prognostic effect of estrogen receptor status across age in primary breast cancer. *Int J Cancer* 122: 1089-1094, 2008.
- 19) Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *The Lancet* 2003; 362; 9382; 419-427.
- 20) Berg WA, Blume JD, Cormack JB, Mendelson EB, Lehrer D, Böhm-Vélez M, Pisano ED, Jong RA, Evans WP, Morton MJ, Mahoney MC, Larsen LH, Barr RG, Farria DM, Marques HS, Boparai K; ACRIN 6666 Investigators. Combined

- screening with ultrasound and mammography vs mammography alone in women at elevated risk of breast cancer. *JAMA*. 2008 May 14; 299(18):2151-63.
- 21) Berrington de Gonzalez A and Darby S. Risk of cancer from diagnostic X-rays: estimates for the UK and 14 other countries. *Lancet* 2004; 363; 9406; 345-51.
 - 22) Bettaieb, A. et al., 2017. Precision medicine in breast cancer: reality or utopia? *J of Translational Med*, 15 (139).
 - 23) Brierly JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C, editors. *TNM classification of malignant tumours*. 8th edition, Oxford (UK): Wiley Blackwell; 2017.
 - 24) Burstein HJ, Curigliano G, Loibl S, Dubsy P, Gnant M, Poortmans P, Colleoni M, Denkert C, Piccart-Gebhart M, Regan M, Senn HJ, Winer EP, Thurlimann B, Members of the St. Gallen International Consensus Panel on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2019: Estimating the benefits of therapy for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for the primary therapy of early breast cancer 2019. *Ann Oncol* 30(10):1541-1557, 2019. DOI: 10.1093/annonc/mdz235.
 - 25) Caldarella A, Buzzoni C, Crocetti E, Bianchi S, Vezzosi V, Apicella P, Biancalani M, Giannini A, Urso C, Zolfanelli F, Paci E: Invasive breast cancer: a significant correlation between histological types and molecular subgroups. *J Cancer Res Clin Oncol* 139(4): 617-623, 2013. DOI: 10.1007/s00432-012-1365-1.
 - 26) Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K and Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348; 17; 1625-38.
 - 27) Cancer Research UK. Available at: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/breast-cancer/stages-grades/tnmstaging> [Last accessed on February 6, 2024].
 - 28) Carbognin L, Miglietta F, Paris I, Dieci MV. Prognostic and Predictive Implications of PTEN in Breast Cancer: Unfulfilled Promises but Intriguing Perspectives. *Cancers (Basel)*. 2019 Sep 19; 11(9):1401.
 - 29) Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, Zackrisson S, Senkus E, ESMO Guidelines Committee: Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 30(8): 1194-1220, 2019. DOI: 10.1093/annonc/mdz173.
 - 30) Carlson, R. W. et al. Breast Cancer. Clinical practice guidelines in oncology. *J. Natl. Compr. Cancer Netw.* 7, 122–192 (2009).

- 31) Chan JK. Advances in Immunohistochemistry: impact on surgical pathology practice. *Semin Diagn Pathol.* 17:170-177, 2000.
- 32) Chen J, Sun J, Wang Q, Du Y, Cheng J, Yi J, et al. Systemic Deficiency of PTEN Accelerates Breast Cancer Growth and Metastasis. *Front Oncol.* 2022 Mar 18;12.
- 33) Chen L, Jian W, Lu L, Zheng L, Yu Z, Zhou D: Elevated expression of E-cadherin in primary breast cancer and its corresponding metastatic lymph node. *Int J Clin Exp Med* 8(7):11752-11758, 2015.
- 34) Chen Y, Thompson W et al. Epidemiology of contralateral breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8; 10; 855-61.
- 35) Cherbal F, Gaceb H, Mehemmai C, Saiah I, Bakour R, Rouis AO, Boualga K, Benbrahim W, Mahfouf H: Distribution of molecular breast cancer subtypes among Algerian women and correlation with clinical and tumor characteristics: A population-based study. *Breast Dis* 35(2): 95-102, 2015. DOI: 10.3233/BD-150398.
- 36) Chilosì M, Lestani M, Pedron S, Montagna L, Benedetti A, Pizzolo G, Menestrina F. (1994). A rapid immunostaining method for frozen sections. *Biotech Histochem* 69: 235.
- 37) Chottanapund, S. et al. Effect of androgens on different breast cancer cells co-cultured with or without breast adipose fibroblasts. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 138, 54–62 (2013).
- 38) Christofyllakis K, Bittenbring JT, Thurner L, Ahlgrimm M, Stilgenbauer S, Bewarder M, Kaddu-Mulindwa D. Cost-effectiveness of precision cancer medicine-current challenges in the use of next generation sequencing for comprehensive tumour genomic profiling and the role of clinical utility frameworks (Review). *Mol Clin Oncol.* 2022 Jan;16(1):21. doi: 10.3892/mco.2021.2453.
- 39) Clavel-Chapelon F. Differential effects of reproductive factors on the risk of pre- and postmenopausal breast cancer. Results from a large cohort of Frenchwomen. *Br J Cancer* 2002; 86; 5; 723-7.
- 40) Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet* 2001; 358; 9291; 1389-99.

- 41) Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet* 2002; 360; 187-95.
- 42) Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet* 1997; 350; 9084; 1047-59.
- 43) Colomer R, Aranda-López I, Albanell J, García-Caballero T, Ciruelos E, López-García MÁ, Cortés J, Rojo F, Martín M, Palacios-Calvo J. Biomarkers in breast cancer: A consensus statement by the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology. *Clin Transl Oncol.* 2018 Jul; 20(7):815-826. doi: 10.1007/s12094-017-1800-5. Epub 2017 Dec 22. Erratum in: *Clin Transl Oncol.* 2018 Jun 18; PMID: 29273958; PMCID: PMC5996012.
- 44) Conde E, Angulo B, Redondo P, Toldos O, García-García E, Suárez-Gauthier A, Rubio-Viqueira B, Marrón C, García-Luján R, Sánchez-Céspedes M, López-Encuentra A, Paz-Ares L, López-Ríos F: The use of P63 immunohistochemistry for the identification of squamous cell carcinoma of the lung. *PLoS One* 5(8): e12209, 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0012209.
- 45) Dai X., Xiang L., Li T., Bai Z., Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer Molecular Subtypes, *J. Cancer.* 7 (2016) 1281–1294. doi: 10.7150/jca.13141.
- 46) Dako, Agilent, Pathology Solutions, Catalog, Products & Services, Denmark 2016, Available at: www.dako.com [Last accessed on February 6, 2024].
- 47) Davey MG, Hynes SO, Kerin MJ, Miller N, Lowery AJ: Ki-67 as a prognostic biomarker in invasive breast cancer. *Cancers (Basel)* 13(17): 4455, 2021. DOI: 10.3390/cancers13174455.
- 48) Dayal A, Shah JR, Kothari S, Patel SM: Correlation of HER-2/neu status with estrogen, progesterone receptors and histologic features in breast carcinoma. *Ann Pathol Laboratory Medicine* 3(5 Suppl): 477-483, 2016. Available at: <https://www.pacificjournals.com/journal/index.php/apalm/article/view/apalm1031> [Last accessed on February 6, 2024].
- 49) De Amicis, F. et al. Androgen receptor overexpression induces tamoxifen resistance in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.* 121, 1–11 (2010).

- 50) de Koning HJ, Boer R, Warmerdam PG, et al. Quantitative interpretation of age-specific mortality reductions from the Swedish breast cancer-screening trials. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(16):1217–1223.
- 51) de la Rochefordiere A, Asselain B, Campana F, Scholl SM, Fenton J, Vilcoq JR, Durand JC, Pouillart P, Magdelenat H, Fourquet A: Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet* 341(8852): 1039-1043, 1993. DOI: 10.1016/0140-6736(93)92407-k.
- 52) Dembrower K, Crippa A, Colón E, Eklund M, Strand F; ScreenTrustCAD Trial Consortium. Artificial intelligence for breast cancer detection in screening mammography in Sweden: a prospective, population-based, paired-reader, non-inferiority study. *Lancet Digit Health*. 2023 Oct;5(10):e703-e711. doi: 10.1016/S2589-7500(23)00153-X.
- 53) Demetriou D, Lockhat Z, Brzozowski L, Saini KS, Dlamini Z, Hull R. The Convergence of Radiology and Genomics: Advancing Breast Cancer Diagnosis with Radiogenomics. *Cancers (Basel)*. 2024 Mar 6;16(5):1076. doi: 10.3390/cancers16051076.
- 54) Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy, 2018. *Lancet Oncol*, 19(1): 40-50. Doi: 10.1016/S1470-2045(17)30904-X.
- 55) Deugnier MA, Teuliere J, Faraldo MM, Thiery JP, Glukhova MA, 2002. The importance of being a myoepithelial cell. *Breast Cancer Res* 2002; 4: 224-230.
- 56) Diguisto C, Ouldamer L, Arbion F, Vildé A, Body G. MRI evaluation of residual breast cancer after neoadjuvant chemotherapy: influence of patient, tumor and chemotherapy characteristics on the correlation with pathological response. *Anticancer Res*. 2015 Jan;35(1):581-5.
- 57) Doucet S, Soussignan R, Sagot P, Schaal B, Hausberger M, 2009. The Secretion of Areolar (Montgomery's) Glands from Lactating Women Elicits Selective, Unconditional Responses in Neonates. *PLoS One*, 2009;4 (10):e7579. doi:10.1371/journal.pone.0007579.
- 58) Duffy MJ, Crown J. Precision treatment for cancer: role of prognostic and predictive markers. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2014; 51:30-45.

- 59) Duffy MJ, Sturgeon CM, Söletormos G, Barak V, Molina R, Hayes DF, et al. Validation of new cancer biomarkers: a position statement from the European group on tumor markers. *Clin Chem* 2015; 61:809-20.
- 60) El Sayed R, El Jamal L, El Iskandarani S, Kort J, Abdel Salam M, Assi H. Endocrine and Targeted Therapy for Hormone-Receptor-Positive, HER2-Negative Advanced Breast Cancer: Insights to Sequencing Treatment and Overcoming Resistance Based on Clinical Trials. *Front Oncol* 2019;9:510. doi: 10.3389/fonc.2019.00510.
- 61) Ewertz M, Duffy SW et al. Age at first birth, parity and risk of breast cancer: a meta-analysis of 8 studies from the Nordic countries. *Int J Cancer* 1990; 46; 4; 597-603.
- 62) Ferlay J., Autier P., Boniol M., Heanue M., Colombet M., Boyle P. Estimates of the Cancer incidence and mortality in Europe 2006. *Annals of Oncology*. 2007; 18: 581-592.
- 63) Ferlay J., Autier P., Boniol M., Heanue M., Colombet M., Boyle P. Estimates of the Cancer incidence and mortality in Europe 2006. *Annals of Oncology*. 2007; 18: 581-592.
- 64) Fisher ER, Anderson S, Dean S, Dabbs D, Fisher B, Siderits R, Pritchard J, Pereira T, Geyer C, Wolmark N. Solving the dilemma of the immunohistochemical and other methods used for scoring estrogen receptor and progesterone receptor in patients with invasive breast carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 164-173 [PMID: 15565575 DOI: 10.1002/cncr.20761].
- 65) Fitzgibbons PL, Page DI, Weaver D, Thor AD, Allred C, Clark GM, Ruby SG, O'Malley F, Simpson JF, Connolly JL, Hayes DF, Edge SB, Lichter A, Schmitt SJ. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 124:966-978, 2000.
- 66) Ford D, Easton D.F et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 1998; 62; 3:676-89.
- 67) Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ: Lymphatic invasion, tumorsize, and age are independent predictors of axillary lymph nodemetastases in women with T1 breast cancers. *Ann Surg* 230(5):692-696, 1999. DOI: 10.1097/00000658-199911000-00012.

- 68) Gasparini G, Pozza F, Harris A. Evaluating the potential usefulness of new prognostic and predictive indicators in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1993, 85:1206-1210.
- 69) Giaquinto AN, Miller KD, Tossas KY, Winn RA, Jemal A, Siegel RL. Cancer statistics for African American/Black people 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022;72:202-229.
- 70) Giuliano AE, Edge SB, Hortobagyi GN. Eighth Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Breast Cancer. *Annals of surgical oncology.* 2018;25(7):1783–5.
- 71) Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ, Panel members. Meeting highlights: International expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* 16:1569-1583, 2005.
- 72) Gompel A, Chauvat M, Hugol D, Forgez P, 2004. Steroidal hormones and proliferation, differentiation and apoptosis in breast cells. *Maturitas* 2004; 49: 16-24.
- 73) Goodwin M, Yap AS (2004). Classical cadherin adhesion molecules: coordinating cell adhesion, signaling and the cytoskeleton. *J Mol Histol* 35:839–844.
- 74) Gupta SK, Douglas-Jones AG, Jasani B, Morgan JM, Pignatelli M, Mansel RE (1997). E-cadherin (E-cad) expression in ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast. *Virchows Arch* 430:23–28.
- 75) Haakensen VD, 2011. *Biology of the normal breast: Relation to mammographic density and risk of breast cancer.* Norway AIT Oslo AS. ISBN: 978-82-8264-155-5.
- 76) Hamajima N, Hirose K et al. Alcohol, tobacco and breast cancer-collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer* 2002; 87; 11:1234-45.
- 77) Hammond, M. & Hayes, D., 2010. American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol.*, 28(16), p. 2784.
- 78) Han W, Kang SY, Korean Breast Cancer Society: Relationship between age at diagnosis and outcome of premenopausal breast cancer: age less than 35 years is a reasonable cut-off for defining young age-onset breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 119(1): 193-200, 2010. DOI: 10.1007/s10549-009-0388-z.

- 79) Han W, Kim SW, Park IA, Kang D, Kim SW, Youn YK, Oh SK, Choe KJ, Noh DY: Young age: an independent risk factor for disease-free survival in women with operable breast cancer. *BMC Cancer* 4: 82, 2004. DOI: 10.1186/1471-2407-4-82.
- 80) Harbeck N, Salem M, Nitz U, Gluz O, Liedtke C. Personalized treatment of early-stage breast cancer: present concepts and future directions. *Cancer Treat Rev* 2010; 36: 584–94.
- 81) Harris JR, Lippman ME, Veronesi U, Willett W. Breast Cancer. *N Engl J Med* 1992; 327: 319, 390, 473.
- 82) Harris L., Fritsche H., Mennel R., Norton L., Ravdin P., Taube S., Somerfield M.R., Hayes D.F., Bast R.C., American Society of Clinical Oncology, American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer., *J. Clin. Oncol.* 25 (2007) 5287–312. doi:10.1200/JCO.2007.14.2364.
- 83) Hashmi AA, Naz S, Hashmi SK, Hussain ZF, Irfan M, Khan EY, Faridi N, Khan A, Edhi MM: Prognostic significance of p16 & p53 immunohistochemical expression in triple negative breast cancer. *BMC Clin Pathol* 18: 9, 2018. DOI: 10.1186/s12907-018-0077-0.
- 84) Heras A, Roach CM, Key ME. (1995). Enhanced polymer detection system for immunohistochemistry. *Lab Invest* 72:165 (Abstract).
- 85) Hery C., Ferlay J., Boniol M., Autier P. Changes in breast cancer incidence and mortality in middle aged and elderly women in 28 countries with Caucasian majority populations. *Annals of Oncology*. 2008; 19:1009-1018.
- 86) Hirsch FR, Dziadziuszko R, Thatcher N, Mann H, Watkins C, Parums DV, Speake G, Holloway B, Bunn PA Jr, Franklin WA: Epidermal growth factor receptor immunohistochemistry: comparison of antibodies and cutoff points to predict benefit from gefitinib in a phase 3 placebo-controlled study in advanced non-small-cell lung cancer. *Cancer* 112(5): 1114-1121, 2008. DOI:10.1002/cncr.23282.
- 87) Hong, W. K., Jr., R. C. B., Hait, W. N., Kufe, D. W., Pollock, R. E., Weichselbaum, R. R., Holland, J. F., et al. (2009). *Holland-Frei Cancer Medicine, 8/e* (p. 2300). Retrieved from: <http://www.amazon.com/Holland-Frei-Cancer-Medicine-MEDICINE-HOLLAND/dp/1607950146>.
- 88) Houssami N, Brennan M, French J, Fitzgerald P. Breast imaging in general practice. *Aust Fam Physician*. 2005 Jun; 34(6):467-73.

- 89) Howard EM, Lau SK, Lyles RH, Birdsong GC, Tadros TS, Umbreit JN, Kochhar R (2004). Correlation and expression of p53, Her-2, vascular endothelial growth factor (VEGF), and E-cadherin in a high risk breast cancer population. *Int J Clin Oncol* 9:154–160.
- 90) Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*. 1981 Apr; 29(4):577-80. doi: 10.1177/29.4.6166661.
- 91) <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/breast>
- 92) <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/breast>
- 93) <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/breast>
- 94) <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/breast>
- 95) <https://www.medicalnewstoday.com/articles/322832>
- 96) https://www.medicinenet.com/breast_anatomy/article.htm
- 97) Huang, R. et al. Androgen Receptor Expression and Bicalutamide Antagonize Androgen Receptor Inhibit β -Catenin Transcription Complex in Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer. *Cell. Physiol. Biochem*. 43, 2212–2225 (2017).
- 98) IBM Corp. Released 2023. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 29.0.2.0 Armonk, NY: IBM Corp.
- 99) Islami F, Goding Sauer A, Miller KD, et al. Proportion and number of cancer cases and deaths attributable to potentially modifiable risk factors in the United States. *CA Cancer J Clin*. 2018;68:31-54.
- 100) Jagannathan N, Sharma U. Breast tissue metabolism by magnetic resonance spectroscopy. *Metabolites*. 2017;7:25–30.
- 101) Jallah JK, Dweh TJ, Anjankar A, Palma O. A Review of the Advancements in Targeted Therapies for Breast Cancer. *Cureus*. 2023;15(10):e47847. doi: 10.7759/cureus.47847.
- 102) Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin*. 2008 Mar-Apr; 58(2):71-96. Epub 2008 Feb 20.
- 103) Jesinger RA. Breast anatomy for the interventionalist. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2014, Mar;17(1):3-9.

- 104) Johnson KB, Wei WQ, Weeraratne D, Frisse ME, Misulis K, Rhee K, Zhao J, Snowdon JL. Precision Medicine, AI, and the Future of Personalized Health Care. *Clin Transl Sci*. 2021 Jan;14(1):86-93. doi: 10.1111/cts.12884.
- 105) Johnson MC and Cutler ML, 2016. Anatomy and Physiology of the Breast. In: Jatoi I, Rody A, Editors. *Management of Breast Diseases* pp 1-39. Springer Cham. DOI: 10.1007/978-3-319-46356-8_1.
- 106) Karsten N, Kolben T, Mahner S, Beyer S, Meister S, Kuhn C, Schmoeckel E, Wuerstlein R, Harbeck N, Ditsch N, Jeschke U, Friese K, Kolben TM: The role of E-Cadherin expression in primary site of breast cancer. *Arch Gynecol Obstet* 305(4): 913-920, 2022. DOI: 10.1007/s00404-021-06198-1.
- 107) Kashiwagi S, Yashiro M, Takashima T, Nomura S, Noda S, Kawajiri H, Ishikawa T, Wakasa K, Hirakawa K: Significance of E-cadherin expression in triple-negative breast cancer. *Br J Cancer* 103(2): 249-255, 2010. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605735.
- 108) Key TJ, Erkasalo PK and Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001; 2; 3;133-40.
- 109) Knight WA 3rd, Osborne CK, Yochmowitz MG, McGuire WL. Steroid hormone receptors in the management of human breast cancer. *Ann Clin Res*. 1980 Oct; 12(5):202-7. PMID: 7015982.
- 110) Köhler G, Milstein C. (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 256(5517): 495-497.
- 111) Kolacinska A, Chalubinska J, Zawlik I, Szymanska B, Borowska-Garganisz E, Nowik M, Fendler W, Kubiak R, Pawlowska Z, Morawiec Z, Szemraj J: Apoptosis-, proliferation, immunefunction-, and drug resistance- related genes in ER positive, HER2positive and triple negative breast cancer. *Neoplasma* 59(04): 424-432, 2012. DOI: 10.4149/neo_2012_055.
- 112) 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 Group. Efficacy of MRI and mammography for breast-cancer screening in women with a familial or genetic predisposition. *N Engl J Med*. 2004 Jul29;351(5):427-37.
- 113) Kulka J, Madaras L, Floris G, Lax SF. Papillary lesions of the breast. *VirchowsArch*. 2022 Jan;480(1):65-84.

- 114) Kumar & Rudbeck (2009) Kumar GL, Rudbeck L. Chapter 8. Demasking of antigens. In: Kumar GL, Rudbeck L, editors. Immunohistochemical Staining Methods. Fifth edition. Carpinteria: Dako North America; 2009. pp. 51–58.
- 115) Kutomi, G., Mizuguchi, T., Satomi, F., Maeda, H., Shima, H., Kimura, Y., & Hirata, K. (2017). Current status of the prognostic molecular biomarkers in breast cancer: A systematic review (Review). *Oncology Letters*, 13, 1491-1498.
- 116) Larue L and Bellacosa A. Epithelial-mesenchymal transition in development and cancer: role of phosphatidylinositol 3' kinase/AKT pathways. *Oncogene* 2005; 24:7443-54.
- 117) Lawlor DA, Okasha M et al. Associations of adult measures of childhood growth with breast cancer: findings from the British Women's Heart and Health Study. *Br J Cancer* 2003; 89;1;81-7.
- 118) Le Jing, Chongyu Xie, Qianqian Li, Meiqing Yang, Shaoguang Li, Hui Li, and Fan Xia *Analytical Chemistry* 2022 94 (1), 269-296.
- 119) Li SG, Li L. Targeted therapy in HER2-positive breast cancer. *Biomed Rep.* 2013 Jul;1(4):499-505. doi: 10.3892/br.2013.95. Epub 2013 Apr 18. PMID: 24648975; PMCID: PMC3917005.
- 120) Lonning PE. Breast cancer prognostication and prediction: are we making progress? *Annals of Oncology* 18(Suppl.8):VIII3-VIII7, 2007.
- 121) Makki J: Diversity of breast carcinoma: Histological subtypes and clinical relevance. *Clin Med Insights Pathol* 8: 23-31, 2015. DOI:10.4137/CPath.S31563.
- 122) Mason TE, Phifer RF, Spicer SS. (1969). An immunoglobulin-enzyme bridge method for localizing tissue antigens. *J Histochem Cytochem* 17: 563-569.
- 123) Masoud V, Pagès G. Targeted therapies in breast cancer: New challenges to fight against resistance. *World J Clin Oncol* 2017;8(2):120-134. doi: 10.5306/wjco.v8.i2.120.
- 124) Mateo A, Pezzi T, Sundermeyer M, Kelley C, Klimberg V, Pezzi C. Chemotherapy significantly improves survival for patients with T1c-T2N0M0 medullary Breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2017;24:1050–1056.
- 125) Meattini I, Bicchierai G, Saieva C, De Benedetto D, Desideri I, Becherini C, Abdulcadir D, Vanzi E, Boeri C, Gabbrielli S, Lucci F, Sanchez L, Casella D, Bernini M, Orzalesi L, Vezzosi V, Greto D, Mangoni M, Bianchi S, Livi L, Nori J: Impact of molecular subtypes classification concordance between preoperative core needle biopsy and surgical specimen on early breast cancer management: Single-

- institutionexperience and review of published literature. *Eur J SurgOncol* 43(4): 642-648, 2017. DOI: 10.1016/j.ejso.2016.10.025.
- 126) Melani E, Sardanelli F, Ottonello C, Parodi RC, Castaldi A, Succi S. Magnetic resonance mammography in suspected tumor recurrences]. *Radiol Med.* 1995 Mar;89(3):219-24.
- 127) Mescher Anthony. Junqueira's Βασική Ιστολογία. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Α' ανατύπωση, Αθήνα 2017. ISBN: 978-9963-716-89-0.
- 128) Miller KD, Ortiz AP, Pinheiro PS, et al.Cancer statistics for the US Hispanic/Latino population, 2021. *CA Cancer JClin.* 2021;71:466-487.
- 129) Mirza, A., Mirza, N., Vlastos, G. & Singletary, S., 2002. Prognostic factors in node-negative breast cancer: A review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg.*, Jan, 235(1), pp. 10-26.
- 130) Mishra A, Verma M. Cancer Biomarkers: Are We Ready for the Prime Time? *Cancers* 2010; 2(1):190–208.
- 131) Muir's Παθολογική Ανατομική 15η έκδοση. C. Simon Herrington. Κεφάλαιο 15^ο, εκδόσεις Broken Hill Publishers LTD, Αμερική, 2019.
- 132) Muller K, Jorns JM, Tozbikian G: What's new in breast pathology 2022: WHO 5th edition and biomarker updates. *J Pathol Transl Med* 56 (3): 170-171, 2022. DOI: 10.4132/jptm.2022.04.25.
- 133) Nakane PK. (1968) Simultaneous localization of multiple tissue antigens using the peroxidase-labeled antibody method: a study on pituitary glands of the rat. *J Histochem Cytochem.* 16(9): 557-560.
- 134) Nandy A, Gangopadhyay S, Mukhopadhyay A. Individualizing breast cancer treatment-The dawn of personalized medicine. *Exp Cell Res* 2014;320(1):1-11. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.09.002.
- 135) Narbe U, Bendahl PO, Grabau D, Rydén L, Ingvar C, Fernö M: Invasive lobular carcinoma of the breast: long-term prognostic value of Ki67 and histological grade, alone and in combination with estrogen receptor. *Springerplus* 3: 70, 2014. DOI: 10.1186/2193-1801-3-70.
- 136) Nicolini Andrea, Ferrari Paola, Duffy Michael J., Prognostic and predictive biomarkers in breast cancer: Past, present and future, *Seminars in Cancer Biology*, 2018.

- 137) Nidhi Garg, Suman Baishnab, Rosy Das, Kiranjeet Kaur, Saurabh Gupta, Sandeep Arora. Insights of Breast Cancer and Barriers to its Therapy. *J. Pharm. Technol. Res. Manag.* [Internet]. 2019, Nov.5 [cited 2022Dec.13]; 7(2):73-86.
- 138) Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, Hernandez-Boussard T, Livasy C, Cowan D, Dressler L, Akslen LA, Ragaz J, Gown AM, Gilks CB, van de Rijn M, Perou CM: Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 10(16): 5367-5374, 2004. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0220.
- 139) Nielsen TO, Leung SCY, Rimm DL, Dodson A, Acs B, Badve S, Denkert C, Ellis MJ, Fineberg S, Flowers M, Kreipe HH, Laenkholm AV, Pan H, Penault-Llorca FM, Polley MY, Salgado R, Smith IE, Sugie T, Bartlett JMS, McShane LM, Dowsett M, Hayes DF. Assessment of Ki-67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki-67 in Breast Cancer Working Group. *J Natl Cancer Inst.* 2021 Jul 1; 113(7):808-819. doi: 10.1093/jnci/djaa201. PMID: 33369635; PMCID: PMC8487652.
- 140) Osborne CK, Yochmowitz MG, Knight WA 3rd, McGuire WL. The value of estrogen and progesterone receptors in the treatment of breast cancer. *Cancer.* 1980 Dec 15; 46(12 Suppl):2884-8. doi: 10.1002/1097-0142(19801215)46:12+<2884::aid-cnrc2820461429>3.0.co;2-u. PMID: 7448733.
- 141) Osborne CK. Steroid hormone receptors in breast cancer management. *Breast Cancer Res Treat.* 1998; 51(3):227-38. doi: 10.1023/a:1006132427948. PMID: 10068081.
- 142) Pachnicki JP, Czecko NG, Tuon F, Cavalcanti TS, Malafaia AB, Tuleski AM: Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptors of pre and post-neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Rev Col Bras Cir* 39(2): 86-92, 2012.
- 143) Pagliarini RA, Xu T (2003). A genetic screen in *Drosophila* for metastatic behavior. *Science* 302:1227–1231.
- 144) Paluch-Shimon S, Cardoso F, Partridge AH, Abulkhair O, Azim HA Jr, Bianchi-Micheli G, Cardoso MJ, Curigliano G, Gelmon KA, Harbeck N, Mershdorf J, Poortmans P, Pruneri G, Senkus E, Spanic T, Stearns V, Wengström Y, Peccatori F, Pagni O. ESO-ESMO 4th International Consensus Guidelines for Breast Cancer in Young Women (BCY4). *Ann Oncol.* 2020 Jun; 31(6):674-696. doi: 10.1016/j.annonc.2020.03.284. Epub 2020 Mar 19. PMID: 32199930.

- 145) Pashayan N, Antoniou AC, Ivanus U, Esserman LJ, Easton DF, French D, Sroczynski G, Hall P, Cuzick J, Evans DG, Simard J, Garcia-Closas M, Schmutzler R, Wegwarth O, Pharoah P, Moorthie S, De Montgolfier S, Baron C, Hecceg Z, Turnbull C, Balleyguier C, Rossi PG, Wesseling J, Ritchie D, Tischkowitz M, Broeders M, Reisel D, Metspalu A, Callender T, de Koning H, Devilee P, Delaloue S, Schmidt MK, Widschwendter M. Personalized early detection and prevention of breast cancer: ENVISION consensus statement. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020 Nov;17(11):687-705. doi: 10.1038/s41571-020-0388-9.
- 146) Pasic MD, Samaan S, Yousef GM. Genomic medicine: new frontiers and new challenges. *Clin Chem*. 2013 Jan;59(1):158-67. doi: 10.1373/clinchem.2012.184622.
- 147) Patani N, et al. Biomarkers for the clinical management of breast cancer: international perspective. *International journal of cancer Journal international du cancer* 2013;133:1-13.
- 148) Patterson SK, Roubidoux MA. Update on new technologies in digital mammography. *Int J Womens Health*. 2014 Aug14; 6:781-8.
- 149) Paulus DD. Imaging in breast cancer. *CA Cancer J Clin*. 1987 May-Jun;37(3):133-50.
- 150) Pérez-Rodríguez G: Prevalence of breast cancer sub-types by immunohistochemistry in patients in the Regional General Hospital 72, Instituto Mexicano del Seguro Social. *Cir Cir* 83(3):193-198, 2015. DOI: 10.1016/j.circir.2015.05.003.
- 151) Petersen OW, Polyak K, 2010. Stem cells in the human breast. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2:a003160.
- 152) Pohlodek, 2014. An introduction to Breast Diseases. Comenius University Bratislava, Faculty of Medicine, 2014. ISBN: 978-80-223-3766-3.
- 153) Polyak K, 2007. Breast cancer: origins and evolution. *J Clin Invest* 2007; 117: 3155-3163.
- 154) Printz C. ACS updates breast cancer screening guidelines. *Cancer*. 2016 Mar 1;122(5):663.

- 155) Rakha EA, Abd El Rehim D, Pinder SE, Lewis SA, Ellis IO (2005). E-cadherin expression in invasive non-lobular carcinoma of the breast and its prognostic significance. *Histopathology* 46:685–693.
- 156) Rakha, E. A. et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res.* 12, 207 (2010).
- 157) Rampaul RS, Pinder SE, Elston CW, Ellis IO; Nottingham Breast Team. Prognostic and predictive factors in primary breast cancer and their role in patient management: The Nottingham Breast Team. *Eur J Surg Oncol.* 2001 Apr; 27 (3):229-38.
- 158) Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Vol. 2, 9th edition. Mosby 2004, pp 1795.
- 159) Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Mosby. 9th edition, vol 1, p 37-89, 2004.
- 160) Rose DP, Boyar AP and Wynder E.L. International comparisons of mortality rates for cancer of the breast, ovary, prostate, and colon, and per capita food consumption. *Cancer* 1986; 58;11; 2363-71.
- 161) Ross, J. & Fletcher, J., 1998. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: Prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Stem Cells*, Volume 16, pp. 413-426.
- 162) Ross, J. S., Hatzis, C., Symmans, W. F., Pusztai, L. & Hortobágyi, G. N. Commercialized Multigene Predictors of Clinical Outcome for Breast Cancer Learning Objectives *Oncologist*® Breast Cancer. *Oncologist* 13, 477–493 (2015).
- 163) Sana M and Malik HJ. Current and emerging breast cancer biomarkers. *Journal of cancer research and therapeutics* 2015;11:508-13.
- 164) Sana M, Malik HJ. Current and emerging breast cancer biomarkers. *J Cancer Res Ther.* 2015 Jul-Sep; 11(3):508-13.
- 165) Sarrio D, Perez-Mies B, Hardisson D, Moreno-Bueno G, Suarez A, Cano A, Martin-Perez J, Gamallo C, Palacios J (2004). Cytoplasmic localization of p120ctn and E-cadherin loss characterize lobular breast carcinoma from preinvasive to metastatic lesions. *Oncogene* 23:3272–3282.
- 166) Schmid P, Adams S, Rugo HS, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, Diéras V, Hegg R, Im SA, Shaw Wright G, Henschel V, Molinero L, Chui SY, Funke R, Husain A, Winer EP, Loi S, Emens LA; IMpassion130 Trial Investigators. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N*

- Engl J Med. 2018 Nov 29;379(22):2108-2121. doi: 10.1056/NEJMoa1809615. Epub 2018 Oct 20. PMID: 30345906.
- 167) Schnitt, S., 2001. Breast cancer in the 21st century: new opportunities and new challenges. *Mod Pathol*, Mar, 14(3), pp. 213-218.
- 168) Schnitt, Stuart J., and Laura C. Collins. *Biopsy Interpretation of the Breast* / Stuart J. Schnitt, Laura C. Collins. 3rd edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 2018. Print.
- 169) Senkus E., Kyriakides S., Ohno S., Penault-Llorca F., Poortmans P., Rutgers E., Zackrisson S., Cardoso F., ESMO Guidelines Committee, Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up, *Ann. Oncol.* 26 (2015) v8–v30. doi:10.1093/annonc/mdv298.
- 170) Shapiro S, Strax P, Venet L. Periodic breast cancer screening in reducing mortality from breast cancer. *JAMA* 1971;215:1777–1785.
- 171) Shapiro S. Periodic screening for breast cancer: the HIP Randomized Controlled Trial. *Health Insurance Plan. J Natl Cancer Inst Monogr* 1997; 22:27–30.
- 172) Shapiro SS, Krasnow JS. Normal pubertal development. In: Koehler-Carpenter and Rock (eds). *Pediatric and Adolescent Gynecology, Second Edition*. Publishers; 2000;51-68.
- 173) Shen, Dejun; Ping, Zheng; Almeida, Jonas S; Siegal, Gene P; Schnitt, Stuart J (2014). Mining genome sequencing data to identify the genomic features linked to breast cancer histopathology. *Journal of Pathology Informatics*, 5 (1), 3. doi: 10.4103/2153-3539.126147.
- 174) Siadati S, Sharbatdaran M, Nikbakhsh N, Ghaemian N:Correlation of ER, PR and HER-2/Neu with other prognosticfactors in infiltrating ductal carcinoma of breast. *Iran J Pathol*10(3): 221-226, 2015.
- 175) Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin.*2022;72:7-33.
- 176) Simon RM, Paik S, Hayes DF. Use of archived specimens in evaluation of prognostic and predictive biomarkers. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:1446-52.
- 177) Singhai R, Patil VW, Jaiswal SR, Patil SD, Tayade MB, Patil AV:E-Cadherin as a diagnostic biomarker in breast cancer. *N Am JMed Sci* 3(5): 227-233, 2011. DOI: 10.4297/najms.2011.3227.
- 178) Smaniotto ACR, Oliveira HR, Botogoski SR, Nalevaiko JZ, CostaL, Damião N: Perfil clínico, histológico e biológico de pacientessubmetidos à biópsia do

linfonodo sentinela por câncer de mama. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo* 58(3): 121-126, 2013. Available at: <https://arquivosmedicos.fcmsantacasasp.edu.br/index.php/AMSCSP/article/view/236> [Last accessed on February 6, 2024].

- 179) Soares MC, Rodrigues IJM, Almeida ICTS, Assunção JVP, Monteiro AM, Dias Júnior LB: Histopathological and immunohistochemical parameters of breast cancer cases analyzed in a reference laboratory. *Mastology* 30: 1-7, 2020. DOI: 10.29289/25945394202020190029.
- 180) Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind CH. UICC: TNM classification of malignant tumors. Wiley –Blackwell; 2009.
- 181) Somasundar P, Gass J, Steinhoff M, et al. Role of ultrasound-guided axillary fine-needle aspiration in the management of invasive breast cancer. *Am J Surg* 2006;192:458–461.
- 182) Stavros AT, Rapp CL, Parker SH. In: Stavros AT, ed. *Breast ultrasound*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003.
- 183) Sternberger LA, Hardy PH Jr, Cuculis JJ, Meyer HG. (1970) The unlabeled antibody-enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorse-radish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem.* 18: 315.
- 184) Stewart F. W.: The diagnosis of tumors by aspiration. *Amer. J. Pathol.* 9 (1933), 801.
- 185) Sutton, L. M. et al. Decreased Androgen Receptor Expression Is Associated With Distant Metastases in Patients With Androgen Receptor–Expressing Triple-Negative Breast Carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 138, 511–516 (2012).
- 186) Swiatoniowski G, Matkowski R, Suder E, Bruzewicz S, Setta M, Kornafel J, Polozowski A, Surowiak P (2005). E-cadherin and fibronectin expressions have no prognostic role in stage II ductal breast cancer. *Anticancer Res* 25:2879–2884.
- 187) Tadahiko Shien, Hiroji Iwata, Adjuvant and neoadjuvant therapy for breast cancer, *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 2020.
- 188) Tanner JM. Trend towards earlier menarche in London, Oslo, Copenhagen, the Netherlands and Hungary. *Nature* 1973; 243: 5402;95-6.

- 189) Taylor CR, Shi S-R, Barr NJ, Wu N. Techniques of Immunohistochemistry: Principles, Pitfalls and Standardization. Dabbs DJ Diagnostic Immunohistochemistry. 3-43, Elsevier, Health Sciences, 2006.
- 190) Tewari M., Krishnamurthy A., Shukla H.S., Predictive markers of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer, *Surg. Oncol.* 17 (2008) 301–311. doi:10.1016/j.suronc.2008.03.003.
- 191) Tokatli F, Altaner S, Uzal C, Ture M, Kocak Z, Uygun K, Bilgi S: Association of HER-2/neu overexpression with the number of involved axillary lymph nodes in hormone receptor positive breast cancer patients. *Exp Oncol* 27(2): 145-149, 2005.
- 192) UICC [Internet]. Geneva (Switzerland): Union for International Cancer Control; 2019. TNM Publications and Resources; updated 2019 Feb 4. Available from: <https://www.uicc.org/resources/tnm/publications-resources>
- 193) Van den Brandt PA, Spiegelman D et al. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight and breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 2000; 152; 6; 514-27.
- 194) Viale G: The current state of breast cancer classification. *Ann Oncol* 23(Suppl 23): x207-x210, 2012. DOI: 10.1093/annonc/mds326.
- 195) Vlastos G, Verkooijen HM. Minimally invasive approaches for diagnosis and treatment of early-stage breast cancer. *Oncologist.* 2007 Jan;12(1):1-10.
- 196) Volker Barth. Διαγνωστική των Παθήσεων του Μαστού. Εκδόσεις Κωνσταντάρας, Οκτώβριος 2013, ISBN: 9789606802492.
- 197) Weigel MT, Dowsett M. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction. *Endocrine-related cancer.* 2010 Dec 1;17(4):R245-62.
- 198) Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS: Histological types of breastcancer: how special are they? *Mol Oncol* 4(3): 192-208, 2010.DOI: 10.1016/j.molonc.2010.04.004.
- 199) West A, Wullkopf L, Christensen A, Leijnse N, Tarp JM, Mathiesen J, et al. Division induced dynamics in non-Invasive and invasive breast cancer. *BiophysJ.* 2017;112:123–125.
- 200) WHO cancer mortality database (IARC) 2008. Retrieved from: <http://www.dep.iarc.fr/WHODB>

- 201) WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2019. (WHO classification of tumours series, 5th edition, vol.2). <https://publications.iarc.fr/581>.
- 202) WHO Classification of Tumours of the Breast: Lakhani S.R., Ellis I.O., Schnitt S.J., Tan P.H., van de Vijver M.J, WHO Classification of Tumours of the Breast, 2012.
- 203) Willems SM, van Deurzen CH, van Diest PJ. Diagnosis of breast lesions: fine-needle aspiration cytology or core needle biopsy? A review. *J Clin Pathol*. 2012 Apr;65(4):287-92.
- 204) Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, Harvey BE, Mangu PB, Bartlett JM, Bilous M, Ellis IO, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, McShane LM, Dowsett M: Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline focused update. *J Clin Oncol* 36(20): 2105-2122, 2018. DOI: 10.1200/JCO.2018.77.8738.
- 205) World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, The Global Cancer Observatory, December 2020, <https://gco.iarc.fr/today/en>
- 206) www.cancer.gov/cancertopics
- 207) Xie P, Peng Z, Chen Y, Li H, Du M, Tan Y, et al. Author Correction: Neddylation of PTEN regulates its nuclear import and promotes tumor development. *Cell Res*. 2021 Mar 29; 31(3):374–374.
- 208) Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2001. Apr 15; 19 (8):2334-56.
- 209) Yang J, Long Q, Li H, Lv Q, Tan Q, Yang X: The value of positive lymph nodes ratio combined with negative lymph node count in prediction of breast cancer survival. *J Thorac Dis* 9(6): 1531-1537, 2017. DOI: 10.21037/jtd.2017.05.30.
- 210) Yerushalmi R, Hayes MM, Gelmon KA. Breast carcinoma-rare types: a review of the literature. *Ann Oncol*. 2009;20:1763-70.
- 211) Youk JH, Kim EK, Kim MJ, Ko KH, Kwak JY, Son EJ, Choi J, Kang HY. Concordant or discordant? Imaging-pathology correlation in a sonography-guided core needle biopsy of a breast lesion. *Korean J Radiol*. 2011 Mar-Apr;12(2):232-40.

- 212) Zajac, J., Davey, R. & Rana, K. Human androgen deficiency: insights gained from androgen receptor knockout mouse models. *Asian J. Androl.* 16, 169 (2014).
- 213) Αρχαία Παθολογικής Ανατομικής, 1999. Εφαρμογή Μοριακής Παθολογικής Ανατομικής στην Κλινική πράξη, pp. 16-17.
- 214) Ζαφράκας, Μ., Λαμπρόπουλος, Α. & Ταρλατζής, Β., 2009. Μοριακή βιολογία και καρκίνος του μαστού: Από τη βασική ερευνά στην κλινική πράξη. *Ελληνική Μαιευτική και Γυναικολογία*, 21(2), pp. 155-163.
- 215) Σκόπα Χρυσούλα. Καρκίνος του μαστού: Προγνωστικοί και Προβλεπτικοί Παράγοντες, 3^ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο με θέμα: Καρκίνος του μαστού-από το γονίδιο στη θεραπεία, Θεσσαλονίκη, 13-14 Σεπτεμβρίου 2002.

Παράρτημα 1. Επιστημονικές δημοσιεύσεις αποτελεσμάτων μελέτης σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά και Πανελλήνια Επιστημονικά Συνέδρια μετά από κρίση (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38707726/>):

CANCER DIAGNOSIS & PROGNOSIS

4: 340-351 (2024)

doi: 10.21873/cdp.10330

Clinical, Histopathological, and Immunohistochemical Characteristics of Predictive Biomarkers of Breast Cancer: A Retrospective Study

PETROS PAPALEXIS^{1,2}, VASILIKI EPAMEINONDAS GEORGAKOPOULOU³, DIMITRIOS KERAMYDAS^{1,4}, ROMANOS VOGIATZIS⁵, CHRYSOULA TASKOU⁶, FRAGISKI ANTHOULI ANAGNOSTOPOULOU², APHRODITE NONNI¹, ANDREAS C. LAZARIS¹, GEORGE C. ZOGRAFOS⁷, NIKOLAOS KAVANTZAS^{1,4} and GEORGIA ELENI THOMOPOULOU⁸

¹First Department of Pathology, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece;

²Department of Biomedical Sciences, University of West Attica, Athens, Greece;

³Department of Pathophysiology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece;

⁴Master's Program "Environment and Health, Management of Environmental Health Effects", Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece;

⁵University Hospital Greifswald, Greifswald, Germany;

⁶Midwifery Department, University of West Attica, Athens, Greece;

⁷Department of Propedeutic Surgery, Hippokration Hospital, University of Athens, Medical School, Athens, Greece;

⁸Cytopathology Department, "Attikon" University General Hospital, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Abstract. Background/Aim: Breast cancer is a complex disease with variability in clinical manifestation, response to current therapy, and biochemical and histological features among various subgroups. Histologic grading and immunohistochemical evaluation of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2), and Ki-67 proliferation index play a crucial role in increasing the differential diagnostic value among various types of breast carcinoma. The aim of this study

was to determine the histopathological and immunohistochemical characteristics of breast tumors from a University Laboratory of Pathology in Greece. Patients and Methods: The study included female patients over 18 years of age, whose histopathological and immunohistochemical reports were stored in the archives of the First Department of Pathology of National and Kapodistrian University of Athens. The study involved 197 female patients with a median age of 70 years and median tumor size of 2.6 cm. Results: Most tumors were located at the left breast and ductal carcinoma was the most common histologic type (35.5%). Most tumors had histologic grade 2 (106, 53.8%), and were classified as TNM stage IIA (65, 33%). Most grade 1 and 2 tumors exhibited high expression of PR, whereas most grade 3 tumors had no PR expression. Moreover, patients with triple-negative cancer presented with grades 2 and 3 at a lower percentage compared to patients without a triple-negative phenotype ($p=0.001$). Conclusion: The study provided valuable insights into the histopathological and immunohistochemical characteristics involved in the development and progression of breast cancer.

Correspondence to: Dr. Petros Papalexis, 1st Department of Pathology, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, 75 Mikras Asias, 115 27, Athens, Greece. Tel: +30 6936546980, e-mail: petranpapalex@gmail.com

Key Words: Breast cancer, immunohistochemistry, pathology, biomarkers, triple-negative cancer, histopathological subtypes, molecular subtypes, histological features, ER, PR, HER-2, Ki-67, e-cadherin, predictive, lobular carcinoma, ductal carcinoma.

©2024 International Institute of Anticancer Research
www.iiar-anticancer.org



This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC-ND) 4.0 international license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Breast cancer is a complex disease that exhibits variability in clinical manifestation, response to current therapy, and biochemical and histological features among several subgroups. Based on histology, invasive tumors are divided into two categories: histological special types, characterized

by specific diagnostic criteria, with invasive lobular carcinoma (ILC) being the most common among them, and invasive carcinoma of no special type (1). The latter type is also known as invasive ductal carcinoma (IDC) and accounts for 70% of cases. It can be described as a breast invasive epithelial neoplasm that fails to fulfill the criteria for any special type, making it a very heterogeneous group of tumors (2).

The fundamental elements for identifying major prognostic markers are the examination of lesion size, axillary lymph node status, nuclear grade, and histological subtype. The lesion's histopathological features reveal many forms of breast tumor biological behavior (3).

The histological categorization of breast cancer is not without flaws, though. Approximately 85% of cases fall into one of the two main categories of IDC or ILC after using such classification, taking into consideration also the subjectivity of the diagnostic criteria. Determining the histologic grade and the immunohistochemical examination of progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor 2 (HER-2) and estrogen receptor (ER), and the Ki-67 proliferation index play a crucial role in increasing the diagnostic accuracy among the various types of breast carcinoma because the system is unable to group tumors with an extensive biological range and clinical behavior in the same categories (4).

A better prognosis is linked to the presence of hormone receptors (HR). As a result, patients with progesterone (PR)-positive tumors live longer and are disease-free longer. In the same vein, tumors that are estrogen (ER)-positive are linked to both a better likelihood of responding to hormone therapy and an increased disease-free survival. In contrast, patients who were negative for both ER and PR had a poorer prognosis than those who were negative for only one of the receptors (5). The HER-2 proto-oncogene, which produces a protein that sends signals for the proliferation of epithelial cells and whose expression is frequently elevated in breast cancer, is another significant tumor marker. A more aggressive clinical behavior of the tumor is caused by HER-2 over-expression, and determining the marker status is crucial for identifying cancer types with a poorer prognosis (6, 7).

High rates of cell proliferation are typically indicative of highly malignant tumors. Therefore, the assessment of mitotic activity is critical for the diagnosis of breast cancer. In order to achieve this, a monoclonal antibody that recognizes the cell proliferation index Ki-67, a nuclear antigen, is employed. Ki-67 is expressed in cells that are entering the cell cycle and measures the percentage of cell growth, making it possible to identify cancers with a poorer prognosis (8).

The aim of the current study was to determine the histopathological and immunohistochemical characteristics of breast tumors from a reference University Laboratory of Pathology in Athens, Greece.

Patients and Methods

Study design. This is a retrospective observational study conducted at the First Department of Pathology of National and Kapodistrian University of Athens, Greece. We examined the medical records of the histopathological and immunohistochemical examinations of consecutive breast tumors conducted in the laboratory from January 2014 to December 2018. The study was conducted in line with the Declaration of Helsinki and obtained approval by the Ethics Committee of Medical School of the National and Kapodistrian University of Athens (protocol no. 062/ 14.01.2019).

Inclusion criteria. The study included female patients over 18 years of age, whose medical records regarding both histopathological and immunohistochemical examinations were stored in the archives of the First Department of Pathology of National and Kapodistrian University of Athens, and who agreed to be enrolled in the study by signing of the informed consent form.

Data collection. The following data were collected: age, tumor location, parameters related to histopathological examination, and parameters related to immunohistochemical examination. Regarding histopathological aspects, the following were analyzed: tumor size; histologic grade; number of invaded lymph nodes; presence of positive sentinel lymph node; surgical margins; tumor composition; histopathological classification of the tumor (9) and TNM stage (10). As for immunohistochemical features, the following were examined: presence and intensity of expression of cell proliferation antigen Ki-67; expression of HER-2 oncogene; and intensity of expression and presence of ER and PR; expression of E-cadherin, p53, p63, CK14, CK5/6, androgen receptor (AR) and epidermal growth factor receptor (EGFR).

Immunohistochemical analysis. Immunohistochemistry was carried out using standard procedures in all tested specimens. First, the sections were stained with the following antibodies on a Dako system (Autostainer Link 48, Agilent Dako Pathology Solutions, Santa Clara, CA, USA), according to the manufacturer's protocol. The sections were stained based on the double-staining protocol of Leica Biosystems in the Bond-III fully automated stainer, with antibodies against estrogen receptor (ER), (clone EP1; Agilent DAKO), progesterone receptor (PR), (clone PgR 636; Agilent DAKO), epidermal growth factor 2 (HER-2) (rabbit polyclonal; Agilent DAKO), cell proliferation index (Ki-67) (clone MIB-1; Agilent DAKO), and E-cadherin. (clone NCH-38; Agilent DAKO). Antigen retrieval was performed at pH 6. The Agilent (Dako) visualization system was used. DAB (3,3-diaminobenzidine) was used as a chromogen and hematoxylin as counterstain.

The histological and immunohistochemical study was performed on tissue pieces fixed in a 10% neutral formalin aqueous solution and embedded in paraffin cubes (Paraplast, Leica Biosystems Inc., Richmond, IL, USA) at 55°C. The indirect immunoperoxidase method was used in the DAKO EnVision FLEX+ detection system (HRP/DAB, Specificity: Anti-Mouse IgG (H+L) – Agilent DAKO, Cat# K8002).

The Sequenza immunohistochemistry device (Thermoshandon, Runcorn, UK) was used using cover-plates technology, which relies on the capillary effect and ensures staining with the minimum amount of reagent and protection of samples from drying.

All the antibodies for immunohistochemical detection were used according to manufacturer's protocol.

The use of indirect immunohistochemical methods with peroxidase contributes to strengthening the signal of the immune reaction. Peroxidase activity was visualized by staining with 3,3', diaminobenzidine tetrahydrochloride chromogen solution (DAB Chromogen, EnVision FLEX, Agilent DAKO), (11).

Histological sections from all samples were observed under a photon microscope. The assessment of immunohistochemical staining was performed independently and blindly by two experienced pathologists.

The staining was evaluated as cytoplasmic and/or membranous, nuclear and/or cytoplasmic, both in the neoplastic tissue and in the adjacent non-neoplastic tissue. Intensity was graded using the following scale: 0 for undetectable staining, 1 for weak intensity, 2 for moderate and 3 for strong. Grading of the percentage of positive cells was performed semi-quantitatively, with the following scale: 0 for immunopositivity in 0-10% of cells, 1 for 10-29%, 2 for 30-59%, and 3 for 60-100%. For each sample, a score was derived from the sum of the intensity and distribution scores, ranging from 0 to 6. Tumors with a final score of 1, 2, 3 were included in the weak expression group, and those with a final score of 4, 5, 6 in the strong expression group.

Determination of positive expression. ER and PR were considered positive when >1% of cells showed positive nuclear expression (12). HER-2 categorization was made according to the proposed criteria of the DAKO protocol (13). p53 was considered positive when >10% of cells showed positive nuclear expression (14). Regarding Ki-67 we considered low expression when ≤15%, moderate when 16-30% and high when >30% of cells showed positive nuclear expression (15). CK14 and CK5/6 were scored positive if any (weak or strong) cytoplasmic and/or membranous invasive carcinoma cell staining was observed (16). E-cadherin expression was determined as positive when scores were ≥2 (17). P63 was scored positive when high intensity staining was present on ≥50% of tumor cells (18). A cutoff point of ≥10% cells with at least weak staining intensity was applied to define protein positivity for EGFR (19). AR expression was determined as positive when scores were ≥2 (20).

Statistical analysis. The Kolmogorov–Smirnov test was used to determine whether the distribution of the variables was normal. All continuous variables had non-normal distribution and are displayed as median (range); categorical variables are presented as absolute numbers (frequency percent). We utilized the Mann–Whitney *U*-test for non-normally distributed variables with two groups and the Kruskal–Wallis test for those with three groups. Categorical variables were analyzed using Fisher's exact or chi-square tests. The Spearman correlation coefficient was utilized to evaluate associations between continuous variables. *p*-Values under 0.05 were regarded as significant. The IBM SPSS Statistics version 29.0 (IBM, Armonk, NY, USA) was used for the statistical analysis.

Results

A total of 197 females with a median age of 70 years (range=28-98 years) participated in the study. The median value of maximum tumor size was 2.6 cm (0.4-12 cm). Most tumors were located at the left breast (110, 55.8%). The most frequent histologic type was the ductal carcinoma (70, 35.5%), followed by the lobular carcinoma (49, 24.9%) and the non-specific type (NST) adenocarcinoma (46, 23.4%). Most tumors

were histologic grade 2 (106, 53.8%) and most tumors classified at stage IIA (65, 33%). Twenty-three patients (11.7%) had *in situ* carcinoma and 38 patients (19.3%) had triple-negative breast cancer. Three of the 49 lobular carcinomas were *in situ* carcinomas (6.1%) and 46 of the 49 lobular carcinomas were invasive (93.9%). Nine of the 70 ductal carcinomas were *in situ* (12.9%) and 61 of the 70 ductal carcinomas were invasive (87.1%). Descriptive characteristics of the study population and the analyzed breast tumor types are summarized in Table I. Regarding the age, we observed a statistically significant difference in the median age of patients between those with lobular and non-lobular breast carcinoma [66 (38-92) years in patients with lobular carcinoma vs. 72 (28-98) years in patients without, $p=0.009$] (Table II).

Regarding the maximum tumor size, there was a statistically significant difference between the patients with invaded lymph nodes and those without [3.5 (0.9-12) cm vs. 2.2 (0.4-10) cm, respectively, $p=0.001$], between the patients with positive sentinel lymph nodes and those without [3.5 (0.9-12) cm vs. 2.4 (0.4-12) cm, respectively, $p=0.001$], between the patients with multifocal tumors and those without [2.9 (0.6-10.5) cm vs. 2 (0.4-12) cm, $p=0.007$], and between the patients with expression of E-cadherin and those without [2.6 (0.6-7.8) cm vs. 1.9 (0.4-10.5) cm, $p=0.015$] (Table III).

Additionally, we observed that all metaplastic-squamous carcinomas had histologic grade 3 ($p=0.001$), and more patients in stage I had histologic grade 1 than in any other stage. Most of the patients with histologic grades 2 and 3 were in stage IIA ($p=0.001$). Most patients with histologic grade 2 exhibited high expression of ER; most patients with grade 3 exhibited no expression of ER; and all the patients with grade 1 had high ER expression ($p=0.001$). Most patients with grades 1 and 2 exhibited high expression of PR, whereas most patients with grade 3 had no PR expression ($p=0.001$). Most patients with grades 1 and 2 had low expression of Ki-67, whereas most patients with grade 3 had high expression of Ki-67 ($p=0.001$). Moreover, patients with triple-negative cancer presented with grades 2 and 3 at a lower percentage compared to patients without a triple-negative phenotype ($p=0.001$) (Figure 1, Figure 2, Table IV).

Most patients of all TNM stages had no positive sentinel lymph node ($p=0.001$), most patients at stages IIA, IIB, and IIIa had multifocal tumors ($p=0.024$), most patients with papillary carcinoma were at stage I ($p=0.029$), most patients with metaplastic-squamous carcinoma were at stage IIIA ($p=0.003$), and most patients at stages I, IIA, IIB, and IIIa had high expression of ER, whereas most patients of stage IIIB had no expression of ER ($p=0.001$). Most patients at stages I, IIA, and IIB had no expression of E-cadherin, and most patients at stages IIIa and IIIB expressed E-cadherin ($p=0.033$). Most patients of all stages did not have the triple-negative phenotype, and most of the triple-negative ones were at stage IIA ($p=0.016$), (Table V).

Table 1. Descriptive characteristics of the study population and the analyzed tumor types.

Variable	Median (Range) or N (%)	Variable	Median (Range) or N (%)
Age (years)	70 (28-98)	Histologic grade	
Maximum tumor size (cm)	2.6 (0.4-12)	1	16 (8.1)
Number of invaded lymph nodes	3.5 (1-28)	2	106 (53.8)
Tumor location		3	73 (37.1)
Right breast	87 (44.2)	TNM staging	
Left breast	110 (55.8)	I	40 (20.3)
Invaded lymph nodes		IIA	65 (33)
No	132 (67)	IIB	30 (15.2)
Yes	65 (33)	IIIA	37 (18.8)
Positive sentinel lymph node		IIIB	23 (11.7)
No	160 (81.2)	ER	
Yes	37 (18.8)	No expression	55 (27.9)
Multifocal tumor		Low expression	10 (5.1)
No	85 (43.1)	Intermediate expression	13 (6.6)
Yes	112 (56.9)	High expression	110 (55.8)
Tumor composition		PR	
Solid	102 (51.8)	No expression	66 (33.5)
Subdural	58 (29.4)	Low expression	15 (7.5)
Elastic	16 (8.1)	Intermediate expression	20 (10.2)
Sclerosing	12 (6.1)	High expression	87 (44.2)
Fibrous	7 (3.6)	HER-2	
Cystic-hemorrhagic	1 (0.5)	No expression	148 (75.1)
Positive surgical margins		Intermediate expression	27 (13.7)
No	108 (54.8)	High expression	13 (6.6)
Yes	89 (45.2)	Ki-67	
Lobular carcinoma		No expression	2 (1)
No	148 (75.1)	Low expression (<15%)	133 (67.5)
Yes	49 (24.9)	High expression (30%)	43 (21.8)
Ductal carcinoma		E-cadherin	
No	127 (64.5)	No	45 (22.8)
Yes	70 (35.5)	Yes	55 (27.9)
NST adenocarcinoma		p63	
No	151 (76.6)	No	9 (4.6)
Yes	46 (23.4)	Yes	14 (7.1)
Neuroendocrine carcinoma		p53	
No	196 (99.5)	No	2 (1)
Yes	1 (0.5)	Yes	8 (4.1)
Mucinous carcinoma		CK14	
No	192 (97.5)	No	20 (10.2)
Yes	5 (2.5)	Yes	16 (8.1)
Papillary carcinoma		CK5/6	
No	187 (94.9)	No	13 (6.6)
Yes	10 (5.1)	Yes	6 (3)
NST papillary carcinoma		EGFR	
No	195 (99)	No	15 (7.6)
Yes	2 (1)	Yes	9 (4.6)
NST ethmoid carcinoma		AR	
No	195 (99)	No	7 (3.6)
Yes	2 (1)	Yes	7 (3.6)
Mixed tubular carcinoma		Triple-negative cancer	
No	195 (99)	No	153 (77.7)
Yes	2 (1)	Yes	38 (19.3)
Metaplastic-squamous		<i>In situ</i>	
No	186 (94.4)	No	174 (88.3)
Yes	11 (5.6)	Yes	23 (11.7)
Apocrine carcinoma			
No	196 (99.5)		
Yes	1 (0.5)		

NST: Non-specific type; TNM: the extent of the tumor (T), extent of spread to the lymph nodes (N), and presence of metastasis (M); PR: progesterone receptor, AR: androgen receptor, ER: estrogen receptor; EGFR: epidermal growth factor receptor; HER-2: human epidermal growth factor receptor 2.

Table II. Association of age with various tumor characteristics.

Variable	Age [years, median (range)]	<i>p</i> -Value
Tumor location		0.850
Right breast	72 (28-98)	
Left breast	70 (37-98)	
Invaded lymph nodes		0.978
No	70 (28-98)	
Yes	70.5 (42-93)	
Lobular carcinoma		0.009
No	72 (28-98)	
Yes	66 (38-92)	
Ductal carcinoma		0.573
No	70 (28-98)	
Yes	71 (42-96)	
Metaplastic-squamous		0.084
No	69.5 (28-98)	
Yes	77 (49-98)	
NST adenocarcinoma		0.673
No	71 (38-98)	
Yes	70 (28-94)	
Mucinous carcinoma		0.084
No	70 (28-98)	
Yes	85 (43-98)	

NST: Non-specific type. Statistically significant *p*-values are shown in bold.

Most patients with metaplastic-squamous carcinoma had a triple-negative phenotype ($p=0.001$), and most patients with triple-negative cancer had high expression of Ki-67 ($p=0.001$) and positive expression of p63 and CK14 ($p=0.010$ and $p=0.001$, respectively) (Table VI). In addition, we observed a statistically significant association between the expression of E-cadherin and lymph node involvement ($p=0.002$).

Moreover, we also found a positive weak correlation between the age and the maximum size of the tumor (Spearman's $\rho=0.253$, $p=0.001$, data non-shown). At Table VII, we present the 5-year frequency of breast cancer types in the central laboratory of the First Department of Pathology of National and Kapodistrian University of Athens, from 2014-2018, according to histopathological and immunohistochemical classifications. The frequency of the main types of breast cancer in our study is presented in Figure 3.

Discussion

The median age of the patients included in our study was 70 years (mean age 69.3 ± 15.19 years). This result differs from other studies, in which the mean age of the patients has been reported to be 53 years, 53.3 years, 57.5 years, and 48.5 years (21-24). These variations might result from the diverse age range of women examined in these studies.

Regarding the histological classification, the most frequent type found in the current study was ductal carcinoma. This finding is in line with findings from other studies (21, 23,

Table III. Association of maximum tumor size with various tumor characteristics.

Variable	Tumor size (cm) [Median (range)]	<i>p</i> -Value
Invaded lymph nodes		0.001
No	2.2 (0.4-10)	
Yes	3.5 (0.9-12)	
Positive sentinel lymph node		0.001
No	2.4 (0.4-12)	
Yes	3.5 (0.9-12)	
Multifocal tumor		0.007
No	2 (0.4-12)	
Yes	2.9 (0.6-10.5)	
Lobular carcinoma		0.560
No	2.6 (0.6-12)	
Yes	2.4 (0.4-12)	
Ductal carcinoma		0.870
No	2.6 (0.4-12)	
Yes	2.5 (0.6-12)	
Metaplastic-squamous		0.003
No	2.5 (0.4-12)	
Yes	7.2 (1.5-10)	
ER		0.383
No expression	2.3 (0.9-12)	
Low expression	3.4 (1-9)	
Intermediate expression	2.9 (1.3-10.5)	
High expression	2.5 (0.4-7.8)	
PR		0.357
No expression	2.5 (0.6-12)	
Low expression	2.6 (1.5-9)	
Intermediate expression	2.9 (1.9-10.5)	
High expression	2.4 (0.4-7.8)	
HER-2		0.742
No expression	2.5 (0.4-10.5)	
Intermediate expression	1.9 (0.6-6)	
High expression	1.9 (1-5.5)	
Ki-67		0.159
Low expression (<15%)	2.5 (0.4-10.5)	
High expression (30%)	1.8 (1-7.5)	
E-cadherin		0.015
No	1.9 (0.4-10.5)	
Yes	2.6 (0.6-7.8)	
Triple-negative cancer		0.677
No	2.6 (0.4-12)	
Yes	2.4 (0.9-12)	

PR: Progesterone receptor, ER: estrogen receptor; HER-2: human epidermal growth factor receptor 2. Statistically significant *p*-values are presented in bold.

25). In our study, the frequency of lobular carcinoma was 24.9%. Lobular cancer accounts for 15% of breast cancer cases (26). Our study shares similarities with a study from Brazil in which most patients were diagnosed with ductal breast carcinoma, and the second most frequent type of cancer was the lobular one (27).

In our study, most patients with histologic grade 2 exhibited high expression of ER; most patients with grade 3 exhibited no expression of ER; and all the patients with grade 1 had

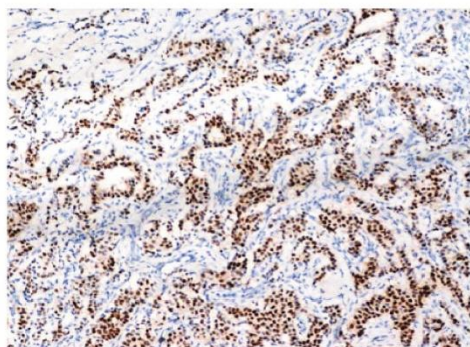


Figure 1. Increased expression of PR detected using immunohistochemistry. PR strong positive expression, magnification $\times 200$.

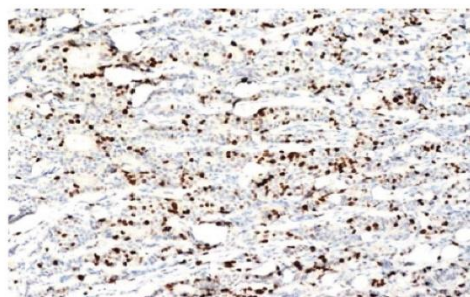


Figure 2. Increased expression of Ki-67 detected using immunohistochemistry. Ki-67 strong positive expression, magnification $\times 200$.

high ER expression ($p=0.001$). Most patients in grades 1 and 2 exhibited high expression of PR, while most patients in grade 3 had no PR expression ($p=0.001$). These results indicate an inverse association between the expression of ER and PR. Similar findings have been demonstrated by Soares *et al.* (21). Also, these results are comparable to the findings of Dayal *et al.* (28), who showed that the incidence of histologic grade 3 was greater than 50% in cases where there was no ER expression. However, histologic grade 1 was more common when ER expression was high. A comparable study carried out in Asia (29) found that in 70% of grade 1 carcinomas, 48.2% of grade 2, and 3.5% of grade 3 cases were ER positive ($p<0.001$). Given that the presence of ER and PR in the tumor tissue is associated positively with the response to hormone therapy and chemotherapy (30), we can therefore conclude that better-differentiated tumors (lower grade) are more probable to be ER and PR positive in addition to having a relatively better prognosis.

In addition, in our research, most patients with grades 1 and 2 had low expression of Ki-67, whereas most patients with grade 3 had high expression of Ki-67 ($p=0.001$). This demonstrates that significant cell proliferation, which is a hallmark of tumor progression and a worse prognosis, is mostly seen in carcinomas of higher histologic grade. This conclusion is consistent with that of Narbe *et al.* (31), who likewise observed grade 3 tumors with a mean Ki-67 score of 23.2% and confirmed a substantial positive correlation between Ki-67 and histologic grade ($p<0.001$). Moreover, Soares *et al.* found that the increased expression of Ki-67 was linked to a higher incidence of high histologic grade (21).

Furthermore, Table IV shows that, with regard to the histologic grade, HER-2 showed a similar pattern to Ki-67 while not being statistically significant ($p=0.051$). Arantes Junior observed a similar result; he did not find a statistically significant link but noted that high nuclear grade was associated with HER-2 over-expression (32). Thus, as HER-2 over-expression has no statistically significant correlation with different nuclear grade levels, it appears to be an independent indicator of biological aggressiveness. Its over-expression in individuals with breast cancer indicates a poorer prognosis and a poor response to hormone therapy, such as tamoxifen, which results in lower survival (30).

Concerning tumor size, we did not observe a significant association with ER or PR expression, as shown in Table III. Similarly, Soares *et al.* found that the mean size of tumors of patients with ER-positive was 3.52 cm, whereas that of patients with ER-negative tumors was 3.73 cm. Furthermore, the mean tumor size in patients with PR-positive tumors was 3.51 cm, whereas in patients with PR-negative tumors, it was 3.72 cm. Nevertheless, there was no discernible relationship between tumor size and ER and PR expression (21). Dayal *et al.* (28) and Ariga *et al.* (33) have both reported similar results.

It is well recognized that lymph node status affects breast cancer stage and available treatments. The patient's prognosis in breast cancer is significantly affected by their lymph node status. As the number of positive axillary lymph nodes increases, both the survival rate and the likelihood of recurrence decrease (34). Previous research has shown that HER-2 expression is statistically correlated with lymph node involvement and vascular invasion, while this relationship has not been shown for ER and PR (28, 35, 36). However, this association was observed neither in our study nor in the study by Soares *et al.* (21).

The cell adhesion molecule E-cadherin is expressed in healthy breast tissue and can be used as a phenotypic diagnostic for breast cancer. A shorter disease-free interval, a lower overall survival rate, a larger tumor size, a higher histological grade, the development of distant metastases, and ER receptor-negative cancers are all linked to decreased or impaired e-cadherin expression (37). It has been shown that invasive ductal carcinomas and the associated metastatic lymph nodes express E-cadherin aberrantly. Tumor size and

Table IV. Association of histologic grade with other tumor characteristics.

Variable	Histologic grade			p-Value
	1	2	3	
Tumor location		N (%)		0.438
Right breast	7 (43.8)	42 (39.6)	36 (49.3)	
Left breast	9 (56.3)	64 (60.4)	37 (50.7)	
Lobular carcinoma				0.101
No	12 (75)	74 (69.8)	61 (83.6)	
Yes	4 (25)	32 (30.2)	12 (16.4)	
Ductal carcinoma				0.826
No	10 (62.5)	70 (66)	45 (61.6)	
Yes	6 (37.5)	36 (34)	28 (38.4)	
NST adenocarcinoma				0.329
No	14 (87.5)	83 (78.3)	52 (71.2)	
Yes	2 (12.5)	23 (21.7)	21 (28.8)	
Papillary carcinoma				0.084
No	14 (87.5)	100 (94.3)	72 (98.6)	
Yes	2 (12.5)	6 (5.7)	1 (1.4)	
Mixed tubular carcinoma				0.068
No	15 (93.8)	106 (100)	72 (98.6)	
Yes	1 (6.3)	0 (0)	1 (1.4)	
Metaplastic-squamous				0.001
No	16 (100)	106 (100)	62 (84.9)	
Yes	0 (0)	0 (0)	11 (15.1)	
Apocrine carcinoma				0.999
No	16 (100)	105 (99.1)	73 (100)	
Yes	0 (0)	1 (0.9)	0 (0)	
TNM staging				0.001
I	15 (93.8)	21 (19.8)	4 (5.5)	
IIA	0 (0)	42 (39.6)	23 (31.5)	
IIB	0 (0)	18 (17)	12 (16.4)	
IIIA	1 (6.3)	18 (17)	18 (24.7)	
IIIB	0 (0)	7 (6.6)	16 (21.9)	
ER				0.001
No expression	0 (0)	12 (11.9)	43 (60.6)	
Low expression	0 (0)	7 (6.9)	3 (4.2)	
Intermediate expression	0 (0)	8 (7.9)	5 (7)	
High expression	16 (100)	74 (73.3)	20 (28.2)	
PR				0.001
No expression	0 (0)	21 (20.8)	45 (63.4)	
Low expression	3 (18.8)	9 (8.9)	3 (4.2)	
Intermediate expression	2 (12.5)	10 (9.9)	8 (11.3)	
High expression	11 (68.8)	61 (60.4)	15 (21.1)	
HER-2				0.051
No expression	16 (100)	79 (78.2)	53 (74.6)	
Intermediate expression	0 (0)	18 (17.8)	9 (12.7)	
High expression	0 (0)	4 (4)	9 (12.7)	
Ki-67				0.001
No expression	0 (0)	1 (1)	1 (1.5)	
Low expression (<15%)	14 (93.3)	88 (90.7)	31 (47)	
High expression (30%)	1 (6.7)	8 (8.2)	34 (51.5)	
E-cadherin				0.495
No	5 (62.5)	28 (45.9)	12 (38.7)	
Yes	3 (37.5)	33 (54.1)	19 (61.3)	
Triple-negative cancer				0.001
No	16 (100)	96 (94.1)	40 (55.6)	
Yes	0 (0)	6 (5.9)	32 (44.4)	

NST: Non-specific type; TNM: the extent of the tumor (T), extent of spread to the lymph nodes (N), and presence of metastasis (M); PR: progesterone receptor; ER: estrogen receptor; HER-2: human epidermal growth factor receptor 2. Statistically significant *p*-values are presented in bold.

Table V. Association of TNM staging with other tumor characteristics.

Variable	TNM staging					p-Value
	I	IIA	IIB	IIIA	IIIB	
Tumor location			N (%)			0.117
Left breast	25 (62.5)	35 (53.8)	16 (53.3)	26 (70.3)	8 (36.4)	
Right breast	15 (37.5)	30 (46.2)	14 (46.7)	11 (29.7)	14 (63.6)	
Positive sentinel lymph node						0.001
No	40 (100)	59 (90.8)	23 (76.7)	20 (54.1)	16 (69.6)	
Yes	0 (0)	6 (9.2)	7 (23.3)	17 (45.9)	7 (30.4)	
Multifocal tumor						0.024
No	20 (50)	27 (41.5)	9 (30)	12 (32.4)	16 (69.4)	
Yes	20 (50)	38 (58.5)	21 (70)	25 (67.6)	7 (30.4)	
Lobular carcinoma						0.729
No	28 (70)	49 (75.4)	24 (80)	30 (81.1)	16 (69.6)	
Yes	12 (30)	16 (24.6)	6 (20)	7 (18.9)	7 (30.4)	
Ductal carcinoma						0.934
No	25 (62.5)	43 (66.2)	20 (66.7)	24 (64.9)	13 (56.5)	
Yes	15 (37.5)	22 (33.8)	10 (33.3)	13 (35.1)	10 (43.5)	
Papillary carcinoma						0.029
No	35 (87.5)	65 (100)	29 (96.7)	35 (94.6)	22 (95.7)	
Yes	5 (12.5)	0 (0)	1 (3.3)	2 (5.4)	1 (4.3)	
Metaplastic-squamous						0.003
No	40 (40)	64 (98.5)	29 (96.7)	31 (83.8)	20 (87)	
Yes	0 (0)	1 (1.5)	1 (3.3)	6 (16.2)	3 (13)	
Apocrine carcinoma						0.999
No	40 (100)	64 (98.5)	30 (100)	37 (100)	23 (100)	
Yes	0 (0)	1 (1.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Histologic grade						0.001
1	15 (37.5)	0 (0)	0 (0)	1 (2.7)	0 (0)	
2	21 (52.5)	42 (64.6)	18 (60)	18 (48.6)	7 (30.4)	
3	4 (10)	23 (35.4)	12 (40)	18 (48.6)	16 (69.6)	
ER						0.001
No expression	5 (12.8)	19 (30.2)	5 (17.2)	15 (41.7)	11 (52.4)	
Low expression	2 (5.1)	2 (3.2)	3 (10.3)	2 (5.6)	1 (4.8)	
Intermediate expression	0 (0)	6 (9.5)	3 (10.3)	3 (8.3)	1 (4.8)	
High expression	32 (82.1)	36 (57.1)	18 (62.1)	16 (44.4)	8 (38.1)	
PR						0.077
No expression	6 (15.4)	23 (36.5)	8 (27.6)	17 (47.2)	12 (57.1)	
Low expression	5 (12.8)	3(4.8)	4 (13.8)	2 (5.6)	1 (4.8)	
Intermediate expression	5 (12.8)	7 (11.1)	4 (13.8)	1 (2.8)	3 (14.3)	
High expression	23 (59)	30 (47.6)	13 (44.8)	16 (44.4)	5 (23.8)	
HER-2						0.689
No expression	35 (89.7)	48 (76.2)	21 (72.4)	28 (77.8)	16 (76.2)	
Intermediate expression	2 (5.1)	11 (17.5)	5 (17.2)	5 (13.9)	4 (19)	
High expression	2 (5.1)	4 (6.3)	3 (10.3)	3 (8.3)	1 (4.8)	
Ki-67						0.833
No expression	0 (0)	2 (3.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Low expression (<15%)	31 (81.6)	45 (73.8)	20 (74.1)	23 (67.6)	14 (77.8)	
High expression (30%)	7 (18.4)	14 (23)	7 (25.9)	11 (32.4)	4 (22.2)	
E-cadherin						0.033
No	14 (60.9)	17 (53.1)	6 (46.2)	2 (12.5)	6 (37.5)	
Yes	9 (39.1)	15 (46.9)	7 (53.8)	14 (87.5)	10 (62.5)	
Triple-negative cancer						0.016
No	36 (92.3)	52 (80)	26 (89.7)	25 (69.4)	13 (61.9)	
Yes	3 (7.7)	13 (20)	3 (10.3)	11 (30.6)	8 (38.1)	
In situ						0.882
No	34 (85)	59 (90.8)	27 (90)	32 (86.5)	21 (91.3)	
Yes	6 (15)	6 (9.2)	3 (10)	5 (13.5)	2 (8.7)	

PR: Progesterone receptor, ER: estrogen receptor; HER-2: human epidermal growth factor receptor 2. Statistically significant p-values are shown in bold.

Table VI. Association of triple-negative phenotype with other tumor characteristics.

Variable	Triple-negative breast cancer		<i>p</i> -Value	Variable	Triple-negative breast cancer		<i>p</i> -Value
	No	Yes			No	Yes	
Tumor location	N (%)	N (%)	0.908	ER			0.001
Left breast	87 (56.9)	22 (57.9)		No expression	17 (11.3)	38 (100)	
Right breast	66 (43.1)	16 (42.1)		Low expression	10 (6.7)	0 (0)	
Invaded lymph nodes			0.554	Intermediate expression	13 (8.7)	0 (0)	
No	101 (66)	27 (71.1)		High expression	110 (73.3)	0 (0)	
Yes	52 (34)	11 (28.9)		PR			0.001
Positive sentinel lymph node			0.999	No expression	28 (18.7)	38 (100)	
No	123 (80.4)	31 (81.6)		Low expression	15 (10)	0 (0)	
Yes	30 (19.6)	7 (18.4)		Intermediate expression	20 (13.3)	0 (0)	
Lobular carcinoma			0.057	High expression	87 (58)	0 (0)	
No	110 (71.9)	33 (86.8)		HER-2			0.001
Yes	43 (28.1)	5 (13.2)		No expression	110 (73.3)	38 (100)	
Ductal carcinoma			0.256	Intermediate expression	27 (18)	0 (0)	
No	102 (66.7)	21 (55.3)		High expression	13 (8.7)	0 (0)	
Yes	51 (33.3)	17 (44.7)		Ki-67			0.001
NST papillary carcinoma			0.999	No expression	2 (1.4)	0 (0)	
No	151 (98.7)	38 (100)		Low expression (<15%)	122 (85.3)	11 (31.4)	
Yes	2 (1.3)	0 (0)		High expression (30%)	19 (13.3)	24 (68.6)	
Metaplastic-squamous			0.001	E-cadherin			0.216
No	151 (98.7)	29 (76.3)		No	42 (47.7)	3 (25)	
Yes	2 (1.3)	9 (23.7)		Yes	46 (52.3)	9 (75)	
Histologic grade			0.001	p63			0.010
1	16 (10.5)	0 (0)		No	4 (100)	4 (22.2)	
2	96 (63.2)	6 (15.8)		Yes	0 (0)	14 (77.8)	
3	40 (26.3)	32 (84.2)		CK14			0.001
TNM staging			0.019	No	12 (100)	8 (33.3)	
I	36 (23.7)	3 (7.9)		Yes	0 (0)	16 (66.7)	
IIA	52 (34.2)	13 (34.2)					
IIB	26 (17.1)	3 (7.9)					
IIIA	25 (16.4)	11 (28.9)					
IIIB	13 (8.6)	8 (21.1)					

NST: Non-specific type; TNM: the extent of the tumor (T), extent of spread to the lymph nodes (N), and presence of metastasis (M); PR: progesterone receptor; ER: estrogen receptor; HER-2: human epidermal growth factor receptor 2. Statistically significant *p*-values are shown in bold.

the number of metastasized lymph nodes are strongly correlated with E-cadherin expression in the metastasized lymph node (38). Notably, in specimens in which the expression of E-cadherin was examined, we observed a positive correlation between its expression and lymph node involvement. This finding is in line with a recent study indicating that E-cadherin promotes, rather than suppresses, the development of metastasis and invasiveness (39).

Of note, a positive correlation between the age and the maximum size of the tumor was observed. It has been reported in the literature that younger females tend to have more aggressive breast tumors (40, 41). It has been shown that a lower age at diagnosis raises the chance of death, and this effect is most noticeable in women under 35 years of age (42). Also, it has been reported that the proportion of tumors with lymphatic invasion decreases progressively with increasing age (43). However, studies from elderly females

with breast cancer suggest that there is an association between old age and increased tumor size. These findings indicate that breast cancer might be detected at more advanced stages in the ageing population (44).

Moreover, we would like to note that neoadjuvant anti-HER2 therapy with trastuzumab is highly effective and could be administered to all HER2-positive early breast cancer patients who do not have contraindications. One year of trastuzumab therapy is standard for the vast majority of HER2-positive patients and thus we can realize the clinical significance of immunohistochemical prognostic biomarkers in breast cancer (45).

For the first time, we demonstrate the distribution of molecular breast cancer subtypes and their relation to some clinicopathological characteristics in a large cohort of Greek females. However, our study has some limitations. It is a single-center retrospective study. Also, we do not provide

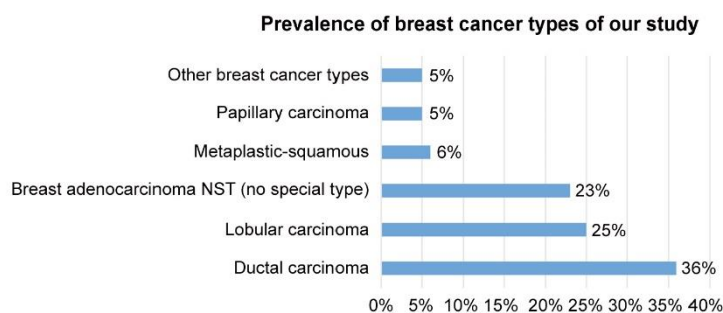


Figure 3. Prevalence of the main breast cancer types of our study as a percentage.

Table VII. 5-year frequency of breast cancer types in the central laboratory of the First Department of Pathology, National and Kapodistrian University of Athens, from 2014-2018, according to histopathological and immunohistochemical classifications.

Breast tumor subtypes	Frequency	
	N Number of incidents	% Percent
Histopathological subtypes		
Lobular carcinoma	49	24.9
Ductal carcinoma	70	35.5
NST adenocarcinoma (no special type)	46	23.4
Breast carcinoma <i>in situ</i>	23	11.7
Invasive breast carcinomas	174	88.3
Metaplastic-squamous	11	5.6
Papillary carcinoma	10	5.1
Mucinous carcinoma	5	2.5
Mixed tubular carcinoma	2	1
Apocrine carcinoma	1	0.5
Neuroendocrine carcinoma	1	0.5
Molecular subtypes		
Luminal A (ER+ and/or PR+ HER2- and Ki-67 <14%)	88	44.7
Luminal B (ER+ and/or PR+ HER2- and Ki-67 ≥14%)	6	3.05
HER2+ positive	40	20.3
Basal-like (Triple-negative cancer)	38	19.3
Luminal hybrid (ER+ and/or PR+ HER2+)	21	10.7
ER+/PR+ positive (hormonal receptor positive cancers)	119	60.4

NST: Non-specific type; PR: progesterone receptor; AR: androgen receptor; ER: estrogen receptor; HER-2: human epidermal growth factor receptor 2.

data on the outcome of these patients, but this was out of the scope of the research study.

Conclusion

Our findings highlight the significance of tumor analysis carried out using immunohistochemistry and histopathological analysis. Moreover, our findings indicate that molecular and immunohistochemical analyses can be helpful in advancing biological understanding and enhance the treatment of breast cancer patients.

Conflicts of Interest

The Authors declare that they have no competing interests in relation to this study.

Authors' Contributions

PP collected all the data, conceived, and designed the study. VEG statistically analyzed the data. PP and VEG prepared the manuscript. DK, RV, CT contributed to the bibliographic support. FAA, AN, ACL, GCZ, NK, GET interpreted all relevant clinical and laboratory data and

provided critical revisions. PP, AN, ACL and GET confirm the authenticity of all the raw data. All Authors contributed to manuscript revision and have read and approved the final version of the manuscript.

Acknowledgements

The Authors thank all the laboratory and administrative staff of the 1st Department of Pathology, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Greece, for their contribution to the collection of the necessary histopathological and immunohistochemical data for this study.

Funding

No funding has been received.

References

- Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS: Histological types of breast cancer: how special are they? *Mol Oncol* 4(3): 192-208, 2010. DOI: 10.1016/j.molonc.2010.04.004
- Makki J: Diversity of breast carcinoma: Histological subtypes and clinical relevance. *Clin Med Insights Pathol* 8: 23-31, 2015. DOI: 10.4137/CPATH.S31563
- Burstein HJ, Curigliano G, Loibl S, Dubsy P, Gnant M, Poortmans P, Colleoni M, Denkert C, Piccart-Gebhart M, Regan M, Senn HJ, Winer EP, Thurlimann B, Members of the St. Gallen International Consensus Panel on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2019: Estimating the benefits of therapy for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for the primary therapy of early breast cancer 2019. *Ann Oncol* 30(10): 1541-1557, 2019. DOI: 10.1093/annonc/mdz235
- Viale G: The current state of breast cancer classification. *Ann Oncol* 23(Suppl 23): x207-x210, 2012. DOI: 10.1093/annonc/mds326
- Pachnicki JP, Czaczeko NG, Tuon F, Cavalcanti TS, Malafaia AB, Tuleski AM: Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptors of pre and post-neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Rev Col Bras Cir* 39(2): 86-92, 2012.
- Kolacinska A, Chalubinska J, Zawlik I, Szymanska B, Borowska-Garganis E, Nowik M, Fendler W, Kubiak R, Pawlowska Z, Morawiec Z, Szemraj J: Apoptosis-, proliferation, immune function-, and drug resistance- related genes in ER positive, HER2 positive and triple negative breast cancer. *Neoplasma* 59(04): 424-432, 2012. DOI: 10.4149/neo_2012_055
- Aznab M, Khajevand Ahmady M, Jamshidi K, Madani SH, Khazaei S, Shoushtaryzadeh T, Bagheri A: Investigating the relationship between of vascular endothelial growth factor and HER-2neu in IHC staining with metastasis and mortality in patients with osteosarcoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 21(10): 3005-3009, 2020. DOI: 10.31557/APJCP.2020.21.10.3005
- Davey MG, Hynes SO, Kerin MJ, Miller N, Lowery AJ: Ki-67 as a prognostic biomarker in invasive breast cancer. *Cancers (Basel)* 13(17): 4455, 2021. DOI: 10.3390/cancers13174455
- Muller K, Jorns JM, Tozbikian G: What's new in breast pathology 2022: WHO 5th edition and biomarker updates. *J Pathol Transl Med* 56(3): 170-171, 2022. DOI: 10.4132/jptm.2022.04.25
- Cancer Research UK. Available at: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/breast-cancer/stages-grades/tnm-staging> [Last accessed on February 6, 2024]
- Dako, Agilent, Pathology Solutions, Catalog, Products & Services, Denmark 2016, Available at: www.dako.com [Last accessed on February 6, 2024]
- Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, McKernin SE, Carey LA, Fitzgibbons PL, Hayes DF, Lakhani SR, Chavez-MacGregor M, Perlmutter J, Perou CM, Regan MM, Rimm DL, Symmans WF, Torlakovic EE, Varella L, Viale G, Weisberg TF, McShane LM, Wolff AC: Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: ASCO/CAP Guideline update. *J Clin Oncol* 38(12): 1346-1366, 2020. DOI: 10.1200/JCO.19.02309
- Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, Harvey BE, Mangu PB, Bartlett JM, Bilous M, Ellis IO, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, McShane LM, Dowsett M: Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline focused update. *J Clin Oncol* 36(20): 2105-2122, 2018. DOI: 10.1200/JCO.2018.77.8738
- Hashmi AA, Naz S, Hashmi SK, Hussain ZF, Irfan M, Khan EY, Faridi N, Khan A, Edhi MM: Prognostic significance of p16 & p53 immunohistochemical expression in triple negative breast cancer. *BMC Clin Pathol* 18: 9, 2018. DOI: 10.1186/s12907-018-0077-0
- Aman NA, Doukoure B, Koffi KD, Koui BS, Traore ZC, Kouyate M, Toure I, Effi AB: Immunohistochemical evaluation of Ki-67 and comparison with clinicopathologic factors in breast carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev* 20(1): 73-79, 2019. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.1.73
- Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, Hernandez-Boussard T, Livasy C, Cowan D, Dressler L, Akslen LA, Ragaz J, Gown AM, Gilks CB, van de Rijn M, Perou CM: Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 10(16): 5367-5374, 2004. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0220
- Kashiwagi S, Yashiro M, Takashima T, Nomura S, Noda S, Kawajiri H, Ishikawa T, Wakasa K, Hirakawa K: Significance of E-cadherin expression in triple-negative breast cancer. *Br J Cancer* 103(2): 249-255, 2010. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605735
- Conde E, Angulo B, Redondo P, Toldos O, García-García E, Suárez-Gauthier A, Rubio-Viqueira B, Marrón C, García-Luján R, Sánchez-Céspedes M, López-Encuentra A, Paz-Ares L, López-Ríos F: The use of P63 immunohistochemistry for the identification of squamous cell carcinoma of the lung. *PLoS One* 5(8): e12209, 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0012209
- Hirsch FR, Dziadziuszko R, Thatcher N, Mann H, Watkins C, Parums DV, Speake G, Holloway B, Bunn PA Jr, Franklin WA: Epidermal growth factor receptor immunohistochemistry: comparison of antibodies and cutoff points to predict benefit from gefitinib in a phase 3 placebo-controlled study in advanced nonsmall-cell lung cancer. *Cancer* 112(5): 1114-1121, 2008. DOI: 10.1002/cncr.23282
- Alshenawy HA: Prevalence of androgen receptors in invasive breast carcinoma and its relation with estrogen receptor, progesterone receptor and Her2/neu expression. *J Egypt Natl Canc Inst* 24(2): 77-83, 2012. DOI: 10.1016/j.jnci.2012.04.001
- Soares MC, Rodrigues IJM, Almeida ICTS, Assunção JVP, Monteiro AM, Dias Júnior LB: Histopathological and immunohistochemical parameters of breast cancer cases analyzed in a reference laboratory. *Mastology* 30: 1-7, 2020. DOI: 10.29289/25945394202020190029

- 22 Pérez-Rodríguez G: Prevalence of breast cancer sub-types by immunohistochemistry in patients in the Regional General Hospital 72, Instituto Mexicano del Seguro Social. *Cir Cir* 83(3): 193-198, 2015. DOI: 10.1016/j.circir.2015.05.003
- 23 Meattini I, Bicchieri G, Saieva C, De Benedetto D, Desideri I, Becherini C, Abdulcadir D, Vanzì E, Boeri C, Gabbriellini S, Lucci F, Sanchez L, Casella D, Bernini M, Orzalesi L, Vezzosi V, Greto D, Mangoni M, Bianchi S, Livi L, Nori J: Impact of molecular subtypes classification concordance between preoperative core needle biopsy and surgical specimen on early breast cancer management: Single-institution experience and review of published literature. *Eur J Surg Oncol* 43(4): 642-648, 2017. DOI: 10.1016/j.ejso.2016.10.025
- 24 Cherbal F, Gaceb H, Mehemmai C, Saiah I, Bakour R, Rouis AO, Boualga K, Benbrahim W, Mahfouf H: Distribution of molecular breast cancer subtypes among Algerian women and correlation with clinical and tumor characteristics: A population-based study. *Breast Dis* 35(2): 95-102, 2015. DOI: 10.3233/BD-150398
- 25 Caldarella A, Buzzoni C, Crocetti E, Bianchi S, Vezzosi V, Apicella P, Biancalani M, Giannini A, Urso C, Zolfanelli F, Paci E: Invasive breast cancer: a significant correlation between histological types and molecular subgroups. *J Cancer Res Clin Oncol* 139(4): 617-623, 2013. DOI: 10.1007/s00432-012-1365-1
- 26 Muller K, Jorns JM, Tozbikian G: What's new in breast pathology 2022: WHO 5th edition and biomarker updates. *J Pathol Transl Med* 56(3): 170-171, 2022. DOI: 10.4132/jptm.2022.04.25
- 27 Smaniotto ACR, Oliveira HR, Botogoski SR, Nalevaiko JZ, Costa L, Damião N: Perfil clínico, histológico e biológico de pacientes submetidos à biópsia do linfonodo sentinela por câncer de mama. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo* 58(3): 121-126, 2013. Available at: <https://arquivosmedicos.fcmsantacasasp.edu.br/index.php/AMSCSP/article/view/236> [Last accessed on February 6, 2024]
- 28 Dayal A, Shah JR, Kothari S, Patel SM: Correlation of HER-2/neu status with estrogen, progesterone receptors and histologic features in breast carcinoma. *Ann Pathol Laboratory Medicine* 3 (5 Suppl): 477-483, 2016. Available at: <https://www.pacificjournal.com/journal/index.php/apalm/article/view/apalm1031> [Last accessed on February 6, 2024]
- 29 Azizun-Nisa, Bhurgri Y, Raza F, Kayani N: Comparison of ER, PR and HER-2/neu (C-erb B 2) reactivity pattern with histologic grade, tumor size and lymph node status in breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 9(4): 553-556, 2008.
- 30 Siadati S, Sharbatdaran M, Nikbakhsh N, Ghaemian N: Correlation of ER, PR and HER-2/Neu with other prognostic factors in infiltrating ductal carcinoma of breast. *Iran J Pathol* 10(3): 221-226, 2015.
- 31 Narbe U, Bendahl PO, Grabau D, Rydén L, Ingvar C, Fernö M: Invasive lobular carcinoma of the breast: long-term prognostic value of Ki67 and histological grade, alone and in combination with estrogen receptor. *Springerplus* 3: 70, 2014. DOI: 10.1186/2193-1801-3-70
- 32 Arantes Júnior JC: Perfis Histopatológico e Imuno histoquímico do câncer de mama: Comparação entre lesões palpáveis e não-palpáveis [tese]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"; 2006. Available at: <http://hdl.handle.net/11449/103713> [Last accessed on February 6, 2024]
- 33 Ariga R, Zarif A, Korasick J, Reddy V, Siziopikou K, Gattuso P: Correlation of Her-2/neu gene amplification with other prognostic and predictive factors in female breast carcinoma. *Breast J* 11(4): 278-280, 2005. DOI: 10.1111/j.1075-122x.2005.21463.x
- 34 Yang J, Long Q, Li H, Lv Q, Tan Q, Yang X: The value of positive lymph nodes ratio combined with negative lymph node count in prediction of breast cancer survival. *J Thorac Dis* 9(6): 1531-1537, 2017. DOI: 10.21037/jtd.2017.05.30
- 35 Tokatli F, Altaner S, Uzal C, Ture M, Kocak Z, Uygun K, Bilgi S: Association of HER-2/neu overexpression with the number of involved axillary lymph nodes in hormone receptor positive breast cancer patients. *Exp Oncol* 27(2): 145-149, 2005.
- 36 Abdollahi A, Sheikhabahaei S, Safinejad S, Jahanzad I: Correlation of ER, PR, HER- 2 and P53 immunoreactions with clinicopathological features in breast cancer. *Iranian J Pathol* 8(3): 147-152, 2013. Available at: https://ijp.iranpath.org/article_8261.html [Last accessed on February 6, 2024]
- 37 Singhai R, Patil VW, Jaiswal SR, Patil SD, Tayade MB, Patil AV: E-Cadherin as a diagnostic biomarker in breast cancer. *N Am J Med Sci* 3(5): 227-233, 2011. DOI: 10.4297/najms.2011.3227
- 38 Chen L, Jian W, Lu L, Zheng L, Yu Z, Zhou D: Elevated expression of E-cadherin in primary breast cancer and its corresponding metastatic lymph node. *Int J Clin Exp Med* 8(7): 11752-11758, 2015.
- 39 Karsten N, Kolben T, Mahner S, Beyer S, Meister S, Kuhn C, Schmoedel E, Wuerstlein R, Harbeck N, Ditsch N, Jeschke U, Friese K, Kolben TM: The role of E-Cadherin expression in primary site of breast cancer. *Arch Gynecol Obstet* 305(4): 913-920, 2022. DOI: 10.1007/s00404-021-06198-1
- 40 Han W, Kim SW, Park IA, Kang D, Kim SW, Youn YK, Oh SK, Choe KJ, Noh DY: Young age: an independent risk factor for disease-free survival in women with operable breast cancer. *BMC Cancer* 4: 82, 2004. DOI: 10.1186/1471-2407-4-82
- 41 de la Rochefordiere A, Asselain B, Campana F, Scholl SM, Fenton J, Vilcoq JR, Durand JC, Pouillart P, Magdelenat H, Fourquet A: Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet* 341(8852): 1039-1043, 1993. DOI: 10.1016/0140-6736(93)92407-k
- 42 Han W, Kang SY, Korean Breast Cancer Society: Relationship between age at diagnosis and outcome of premenopausal breast cancer: age less than 35 years is a reasonable cut-off for defining young age-onset breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 119(1): 193-200, 2010. DOI: 10.1007/s10549-009-0388-z
- 43 Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ: Lymphatic invasion, tumor size, and age are independent predictors of axillary lymph node metastases in women with T1 breast cancers. *Ann Surg* 230(5): 692-696, 1999. DOI: 10.1097/0000658-199911000-00012
- 44 Barthélémy P, Heitz D, Mathelin C, Polesi H, Asmane I, Litique V, Rob L, Bergerat JP, Kurtz JE: Adjuvant chemotherapy in elderly patients with early breast cancer. Impact of age and comprehensive geriatric assessment on tumor board proposals. *Crit Rev Oncol Hematol* 79(2): 196-204, 2011. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.06.005
- 45 Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, Zackrisson S, Senkus E, ESMO Guidelines Committee: Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 30(8): 1194-1220, 2019. DOI: 10.1093/annonc/mdz173

Received January 5, 2024
 Revised February 6, 2024
 Accepted February 8, 2024

Παράρτημα 2. Formal Acceptance letter of the above scientific publication, (February 2024):



INTERNATIONAL INSTITUTE OF ANTICANCER RESEARCH

1st km Kapandritiou-Kalamou Road, P.O. Box 22, Kapandriti, Attiki, 19014, Greece
Tel: +30 22950 52945; Fax: +30 22950 53389
E-mail: iiar@iiar-anticancer.org; IIAR website: www.iiar-anticancer.org

Dr. Petros Papalexis, 1st
Department of Pathology,
School of Medicine, National
and Kapodistrian University of
Athens, 75 Mikras Asias, 115
27, Athens, Greece

February 21, 2024

Dear Dr. Papalexis:

I am pleased to inform you that your manuscript no. **361-P** entitled: "**Clinical, Histopathological, and Immunohistochemical Characteristics of Predictive Biomarkers of Breast Cancer: A Retrospective Study**" by PETROS PAPALEXIS, VASILIKI EPAMEINONDAS GEORGAKOPOULOU, DIMITRIOS KERAMYDAS, ROMANOS VOGIATZIS, CHRYSOULA TASKOU, FRAGISKI ANTHOULI ANAGNOSTOPOULOU, APHRODITE NONNI, ANDREAS C. LAZARIS, GEORGE C. ZOGRAFOS, NIKOLAOS KAVANTZAS, and GEORGIA ELENI THOMOPOULOU (date of submission 05/01/2024) is accepted for publication in **Cancer Diagnosis and Prognosis**. It will appear in Volume 4, issue 3, 2024 (May-June). This issue will be published and circulate in the beginning of May 2024.

Best regards,

DELINASIOS J. GEORGE
INTERNATIONAL INSTITUTE OF
ANTICANCER RESEARCH
1st km KAPANDRITIOU - KALAMOU
KAPANDRITI 19014 - GREECE
VAT No EL128692603 - TEL. +30 22950 53389

George J. Delinasios
Managing Editor
editor@iiar-anticancer.org

(11^{ος} 2023):

33^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής

11-15 Νοεμβρίου 2023
ΑΘΗΝΑ | Μέγαρο Αναστάς Συνεδριακό Κέντρο Αθηνών
www.execongress2023.gr

P199

ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΕΠΤΙΚΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Πέτρος Παπαλέξης^{1,2}, Χριστίνα-Γεωργία Κακάβα², Γεωργία-Ελένη Θωμοπούλου³, Βασιλική Γεωργακοπούλου⁴, Δημήτρης Κεραμυδάς¹, Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου², Αφροδίτη Νόννη¹, Ανδρέας Χ. Λάζαρης¹, Γεώργιος Κ. Ζωγράφος⁵, Νικόλαος Καβαντζάς¹

¹Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, ²Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, ³Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, ΠΓΝ «Αττικών», ⁴Κλινική Παθολογικής Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, ⁵Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών, ΓΝΑ «Ιπποκράτειο»

ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ: Ο καρκίνος του μαστού ευθύνεται για το 30% περίπου των γυναικείων καρκίνων παγκοσμίως και έχει αναλογία θνησιμότητας προς επίπτωση 15% (Siegel RL, Miller KD, Jemal A. 2020). Η συχνότητα εμφάνισης παγκοσμίως ποικίλλει μεταξύ 27 στις 100.000 (Αφρική και Ανατολική Ασία) και 97 στις 100.000 (Βόρεια Αμερική), αντικατοπτρίζοντας τη σχέση μεταξύ της συχνότητας εμφάνισης καρκίνου του μαστού και του βαθμού οικονομικής ανάπτυξης και των σχετικών κοινωνικών παραγόντων-τρόπου ζωής (Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. 2018). Η ανίχνευση με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας τεσσάρων δεικτών, των υποδοχέων οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR), της ογκοπρωτεΐνης HER2 (c-erbB2) και του Ki67, είναι αναπόσπαστο στοιχείο της διαγνωστικής Παθολογικής Ανατομικής (Hammond & Hayes, 2010). Σκοπός της εργασίας είναι, η πλήρης στατιστική επιδημιολογική μελέτη της συσχέτισης των καθιερωμένων βασικών ανοσοϊστοχημικών δεικτών του καρκίνου μαστού με τις κλινικο-παθολογοανατομικές παραμέτρους της κάθε ασθενούς και η διερεύνηση της προγνωστικής αξίας των ανωτέρω ανοσοϊστοχημικών δεικτών στον καρκίνο του μαστού.

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ: Συλλέχθηκαν στοιχεία από τις ιστολογικές-ανοσοϊστοχημικές εξετάσεις 150 γυναικών με καρκίνο του μαστού, από το αρχείο του Α' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, από το 2014 έως και το 2018, τα δεδομένα των ασθενών κωδικοποιήθηκαν, τηρώντας πλήρως τις αρχές της ιατρικής δεοντολογίας και του ιατρικού απορρήτου. Η εργασία αυτή έχει εγκριθεί στα πλαίσια διδακτορικής διατριβής, από την Επιτροπή Βιοηθικής & Δεοντολογίας της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, με αρ. πρωτ.: 062, στις 14/01/2019. Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων, χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSSv29 (29.0.0), έκδοση 29η, της εταιρείας IBM. Η διάμεση ηλικία των ασθενών ήταν 78 έτη (42-98 έτη).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Η πλειοψηφία των ασθενών παρουσίασε πορογενές καρκίνωμα (60%). Σύμφωνα με τη σταδιοποίηση του καρκίνου μαστού κατά TNM 32 ασθενείς ανήκαν στο στάδιο I, 41 στο στάδιο IIa και 21 στο στάδιο IIβ, 29 ασθενείς στο στάδιο IIIa και 16 ασθενείς στο στάδιο IIIβ. Τριάντα ασθενείς παρουσίασαν τριπλά αρνητικό ανοσοφαινότυπο καρκίνου μαστού (20%). Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση του δείκτη ER ανάμεσα στις διαφορετικές κατηγορίες ιστολογικού βαθμού κακοήθειας και στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση του δείκτη PR ανάμεσα στις διαφορετικές κατηγορίες ιστολογικού βαθμού κακοήθειας, με 43/67 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 2 να παρουσιάζουν σκορ 3 δείκτη ER (60,6%) και 40/58 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 3 να παρουσιάζουν σκορ 0 δείκτη PR (71,4%).



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Η έκφραση διαφόρων προγνωστικών βιοδεικτών καρκίνου του μαστού διαφέρει ανάλογα με το βαθμό της ιστολογικής κακοήθειας. Παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της εντόπισης στο δεξιό μαστό και του υψηλότερου ιστολογικού βαθμού κακοήθειας (grade). Η συμβολή των ανοσοϊστοχημικών βιοδεικτών στον καρκίνο του μαστού είναι σημαντική, όσον αφορά την πρόγνωση και την παρακολούθηση της έκβασης της κακοήθειας.

Παράρτημα 4.Προφορική Ανακοίνωση ΠΑ051 στο 26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας (10^{ος} 2023):



ΠΑ051 ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Παπαλέξης Πέτρος¹, Γεωργακοπούλου Βασιλική², Νόννη Αφροδίτη¹, Λάζαρης Ανδρέας¹, Τάσκου Χρυσούλα³, Θωμοπούλου Γεωργία-Ελένη⁴, Καβαντζάς Νικόλαος¹

¹ Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή Ε.Κ.Π.Α.

² Κλινική Παθολογικής Φυσιολογίας ΕΚΠΑ

³ Τμήμα Μαιευτικής, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

⁴ Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο "Αττικών"

Εισαγωγή-Σκοπός: Ο καρκίνος του μαστού είναι ο πιο συχνός καρκίνος στις γυναίκες, η δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες και η κύρια αιτία θανάτου σε γυναίκες ηλικίας 45-55 ετών. Διάφοροι προγνωστικοί δείκτες που σχετίζονται με αυξημένο δυναμικό ανάπτυξης και / ή μετάστασης του όγκου έχουν περιγραφεί στον καρκίνο του μαστού. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αναδρομική καταγραφή έκφρασης προγνωστικών δεικτών σε ιστολογικά τεμάχια καρκίνου μαστού. Κατά τα έτη 2014-2017 από το Α Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής ΕΚΠΑ.

Υλικό-Μέθοδοι: Συλλέχθηκαν και καταγράφηκαν στοιχεία από την ιστολογική εξέταση 100 ασθενών με καρκίνο του μαστού.

Αποτελέσματα: Η διάμεση ηλικία ήταν τα 78 έτη (42-98 έτη). Η πλειοψηφία των ασθενών παρουσίασε πορογενές καρκίνωμα (60%). Σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά TNM 24 ασθενείς ανήκαν στο στάδιο I, 32 (32%) στο στάδιο II και 34 (34 %) στο στάδιο III. Σαράντα έξι ασθενείς (47,9%) παρουσίασαν σκορ 3 για τον ανοσοϊστοχημικό δείκτη ER, 46 ασθενείς παρουσίασαν σκορ 3 για το δείκτη PR και 42 ασθενείς παρουσίασαν σκορ 0 για το δείκτη PR (42%), ενώ 64 ασθενείς παρουσίασαν σκορ 0 για τον δείκτη HER2 (66,7%). Είκοσι δύο ασθενείς παρουσίασαν τριπλά αρνητικό ανοσοφαινότυπο (22,9%). Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση του δείκτη ER ανάμεσα στις διαφορετικές κατηγορίες ιστολογικού βαθμού κακοήθειας με 30/50 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 2 να παρουσιάζει σκορ 3 δείκτη ER (62,5%) και 28/38 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 3 να παρουσιάζει σκορ 0 δείκτη ER (73,7%) και στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση του δείκτη PR ανάμεσα στις διαφορετικές κατηγορίες ιστολογικού βαθμού κακοήθειας με 32/48 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 2 να παρουσιάζει σκορ 3 δείκτη ER (66,7%) και 30/38 ασθενείς με ιστολογικό βαθμό κακοήθειας 3 να παρουσιάζει σκορ 0 δείκτη PR (78,9%).

Συμπεράσματα: Η έκφραση διαφόρων προγνωστικών δεικτών καρκίνου του μαστού διαφέρει ανάλογα με το βαθμό ιστολογικής κακοήθειας.