

Σύγχρονη αξιολόγηση παλαιών και νέων ιστοπαθολογικών παραμέτρων στο πορογενές καρκίνωμα του μαστού

Α.Χ. Λάζαρης, Π.Σ. Δάβαρης

1. Οι εφαρμοζόμενες συντηρητικές χειρουργικές επεμβάσεις σε ασθενείς με μη διηθητικό καρκίνο του μαστού καθιστούν απαραίτητη την αξιολόγηση δεικτών αυξημένης πιθανότητας υποτροπής λόγω και της μεγάλης ετερογένειας στην βιολογική συμπεριφορά των εν λόγω καρκινωμάτων. Μεγάλη σημασία έχει η πλήρης ογκεκτομή επί υγιών εγχειρητικών ορίων καθώς και ο ακριβής προσδιορισμός του μεγέδους του κάθε όγκου. Παράγοντες αυξημένου κινδύνου υποτροπής αποτελούν η υψηλή πυρηνική κακοήθεια, η παρουσία φαγεσворικής νέκρωσης ανεξαρτήτως αρχιτεκτονικού προτύπου, ενώ καλό είναι να αξιολογείται και η παρουσία περιπορικής ίνωσης σε κλινικώς ψηλαφητούς όγκους.

2. Στα διηθητικά πορογενή καρκινώματα οι κλασικοί προγνωστικοί κλινικο-ιστοπαθολογικοί δείκτες παραμένουν αναντικατάστατοι. Επιπλέον, η ιδιαίτερη εκτίμηση του αριθμού των μιτώσεων συμπληρώνει προγνωστικά το μέγεθος του κάθε όγκου και επηρεάζει την επιβίωση των ασθενών σταδίων T_1N_0 , T_1N_1 και T_2N_0 . Ο συνδυασμός υψηλού βαθμού πυρηνικής κακοήθειας και διήθησης λεμφαγγείων επιβαρύνει σοβαρά την πορεία ασθενών σταδίου $T_{1,α,β}N_0M_0$. Η παρουσία λειτουργικών ορμονουποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης σε όγκους με αρνητικούς λεμφαδένες αποτελεί ευμενή προγνωστική παράμετρο αρκεί να μη συνυπάρχει έντονος ρυθμός πολλαπλασιασμού και υπερέκφραση της πρωτεΐνης του ογκογονιδίου HER-2/neu συνδυαζόμενη με υπερέκφραση της πρωτεΐνης του μεταλλαγμένου γονιδίου p53.

Λέξεις-κλειδιά: Πορογενές Καρκίνωμα Μαστού, Προγνωστικοί Δείκτες.

Στην παρακάτω ανασκόπηση επιχειρούμε, με βάση τελευταία βιβλιογραφικά δεδομένα, μία συνολική δεώρηση παλαιών και νέων κλι-

νικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων που εκτιμώνται στο πορογενές, ενδοεπιθηλιακό (in situ) ή διηθητικό, καρκίνωμα του γυναικείου μαστού με έμφαση στην κλινική σημασία ορισμένων από αυτές τις παραμέτρους.

1. ΠΟΡΟΓΕΝΕΣ ΕΝΔΟΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Το πορογενές είναι το συχνότερο μη διηθητικό καρκίνωμα του μαστού, αντιστοιχεί δε στο 3-4% του συνόλου των συμπτωματικών και στο 17% του συνόλου των τυχαίως ανακαλυπτομένων καρκίνων του μαστού¹.

Με τον όρο “πορογενές ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα” (ΠΕΚ) περιγράφεται μία ξεχωριστή², ετερογενής³ ομάδα αλλοιώσεων. Η ενδεικνυόμενη θεραπευτική προσέγγιση⁴ πρέπει να αποφασιστεί με βάση την πιθανότητα τοπικής υποτροπής της νόσου, ενώ πρέπει ακόμη να αξιολογηθεί κατά πόσον οι ασθενείς που επιλέγησαν για εξαίρεση του όγκου με διατήρηση του μαστού έχουν να ωφεληθούν με τη μετεχειρητική ακτινοθεραπεία⁵. Σε ορισμένες περιπτώσεις αρκεί η απλή ογκοεκτομή, σε άλλες χρειάζεται περαιτέρω χειρουργικός καθαρισμός για ολική αφαίρεση του όγκου ή απαιτείται επικουρική ακτινοθεραπεία, ενώ μερικές γυναίκες δεν μπορούν να αποφύγουν τη μαστεκτομή⁶. Μετά την εξαίρεση του όγκου, οι παράμετροι που βοηθούν στην εκτίμηση του κινδύνου υποτροπής και εν γένει της βιολογικής συμπεριφοράς του ΠΕΚ είναι οι εξής:

1.1. Ο βαθμός πυρηνικής κακοήθειας^{7,8}

Σε ένα ΠΕΚ πρέπει να προσδιορίσουμε είτε τον επικρατούντα βαθμό πυρηνικής κακοήθειας, είτε τον υψηλότερο που αναγνωρίζεται στο συγκεκριμένο ΠΕΚ⁹. Σε κάθε περίπτωση, **δυσμενή** προγνωστική σημασία έχει κατά κύριο λόγο ο **υψηλός βαθμός ή βαθμός 3** ο οποίος χαρακτηρίζεται από μεγάλα, πλειόμορφα κύτταρα, χωρίς αρχιτεκτονική δομή, με πυρήνες διαμέτρου άνω των δύο ερυθροκυττάρων, κυψελιδώδη κατανομή της χρωματίνης, 1 ή περισσότερα προβάλλοντα πυρήνια και πυρηνοκινήσιες. Στα αντίστοιχα ΠΕΚ η διατήρηση του μαστού συνήθως δεν αποτελεί θεραπεία εκλογής, καθώς η νόσος έχει μεγάλες πιθανότητες να υποτροπιάσει ακόμη και μετά από ακτινοθεραπεία.

Στον χαμηλό βαθμό κακοήθειας - βαθμός 1- οι πυρήνες έχουν διαμέτρους 1 με 1,5 φορά εκείνη των ερυθρών αιμοσφαιρίων, διάχυτη κατανομή χρωματίνης, χωρίς διακριτά πυρήνια. Στον ενδιάμεσο βαθμό - βαθμός 2 - οι διάμετροι των πυρήνων είναι 1 έως 2 φορές μεγαλύτερες εκείνης των ερυθροκυττάρων, η κατανομή της χρωματίνης είναι αδρή και τα πυρήνια δεν είναι συχνά. Στους όγκους με βαθμούς πυρηνικής κακοήθειας 1 και 2, θερα-

πεία εκλογής θα μπορούσε να είναι η χειρουργική εκτομή των αλλοιώσεων και η μετεχειρητική ακτινοθεραπεία με διατήρηση του μαστού. Λόγω όμως της συχνότερης παρουσίας, στους βαθμούς 1 και 2, υπολειμματικής νόσου στο μαστό, θα πρέπει να διασφαλισθούν υψηλά όρια εκτομής.

1.2. Η παρουσία κεντρικής φαγεσωρικής (comedo) νέκρωσης^{7,10,11} αποτελεί δείκτη πρόβλεψης πιθανότητας υποτροπής και εξέλιξης σε διηθητικό καρκίνωμα. Η νέκρωση παρατηρείται κεντρικά σε οποιοδήποτε αρχιτεκτονικό πρότυπο.

Με βάση κυρίως τις δύο παραπάνω παραμέτρους και εν μέρει το αρχιτεκτονικό πρότυπο ανάπτυξης των ΠΕΚ έχουν προταθεί δύο νέες ιστοπαθολογικές ταξινομήσεις. Σύμφωνα με εκείνη του Lagios¹², διακρίνονται τέσσερις υπότυποι ΠΕΚ, οι πρώτοι δύο των οποίων αντικατοπτρίζουν αυξημένη βιολογική επιθετικότητα. Ο τύπος I αντιστοιχεί στο “κλασικό” φαγεσωρικό καρκίνωμα κι ο τύπος II στο ηθμοειδές ή μικροδηλώδες ΠΕΚ με υψηλή πυρηνική κακοήθεια και νέκρωση. Ο τύπος III αντιστοιχεί στο ηθμοειδές ή μικροδηλώδες ΠΕΚ με ενδιάμεση πυρηνική κακοήθεια, είτε συνυπάρχει νέκρωση είτε όχι. Ο τύπος IV αφορά το ηθμοειδές ή μικροδηλώδες ΠΕΚ με χαμηλή πυρηνική κακοήθεια, χωρίς νέκρωση. Κατά τη νεότερη ιστοπαθολογική ταξινόμηση του Van Nuys⁷ - VNPI - ως επιθετικά ΠΕΚ θεωρούνται εκείνα με υψηλή πυρηνική κακοήθεια (είτε συνυπάρχει φαγεσωρική νέκρωση, είτε όχι), ως ενδιαμέσως επιθετικά ΠΕΚ εκείνα χωρίς υψηλή πυρηνική κακοήθεια (βαθμός 1 ή 2) που εμφανίζουν όμως φαγεσωρική νέκρωση και, τέλος, ως λιγότερο επιθετικά εκείνα τα ΠΕΚ χωρίς υψηλή πυρηνική κακοήθεια όπου ταυτόχρονα απουσιάζει κι η φαγεσωρική νέκρωση.

1.3. Το ακριβές μέγεθος του κάθε όγκου^{10,13}

Η μέτρηση των διαστάσεων του κάθε ΠΕΚ δηλ. της έκτασης που αυτό καταλαμβάνει κατά μήκος των τελικών πορολοβιακών μονάδων και των τελικών πόρων, γίνεται είτε αδρά με απευθείας μακροσκοπική εκτίμηση, είτε με περισσότερη ακρίβεια κατά τη μικροσκόπηση, ιδιαίτερα για τα μικρότερα ΠΕΚ. Συνήθως καταγράφεται η μεγίστη διάμετρος του όγκου. Σε κάθε περίπτωση συνεκτιμώνται τα προεχειρητικά μαστογραφικά ευρήματα δηλ. η έκταση των κακοήθων μικροασβετώσεων, ιδιαίτερα όταν υπάρχουν μη ψηλαφητά ΠΕΚ¹⁴. Η μα-

στογραφία, ωστόσο, πιθανόν να υποτιμήσει το μέγεθος των ΠΕΚ, ιδιαίτερα σε χαμηλής πυρηνικής κακοήθειας όγκους λόγω απουσίας ή περιορισμένης παρουσίας ασβεστώσεων. Με βάση τη μεγαλύτερη διάμετρό τους, όγκοι διαμέτρου έως 10 ή κατ'άλλους έως 15 χιλ. θεωρούνται μικροί, ενώ τα ΠΕΚ με διαμέτρους από 16-40χιλ. θεωρούνται ενδιάμεσου μεγέθους ή εντετοπισμένα. Στα τελευταία αυτά ΠΕΚ η ευρεία τοπική εκτομή είναι αρκετή, ενώ μερικοί συνιστούν την ημερήσια χορήγηση 20 mg ταμοξιφένης¹. Εφόσον παρατηρείται φαγεσωρική νέκρωση, προτείνεται η μετεχειρητική ακτινοβολία, ενώ στις περιπτώσεις αυτές ο λεμφαδενικός καθαρισμός δεν φαίνεται να προσφέρει κάτι αξιόλογο (πιθανότητα διήθησης έως 2% που μπορεί να ανιχνευθεί με αφαίρεση του πρώτου επιπέδου). Για μεγάλα ΠΕΚ με διαμέτρους από 41χιλ. και πάνω καθώς και σε εκείνα με μικροδηλώδη αρχιτεκτονική (που τείνουν να εμφανίζουν πολυκεντρική ανάπτυξη) συνιστάται από μερικούς η μαστεκτομή και η χορήγηση ταμοξιφένης¹.

1.4. Ο προσδιορισμός της απόστασης των ιστολογικών ορίων εκτομής¹³.

Σε κάθε περίπτωση το αποσταλέν ιστοτεμάχιο πρέπει να βάφεται εξωτερικά και να εξετάζεται προσεκτικά ολόκληρο στο μικροσκόπιο, αφού πρώτα έχει κοπεί διαδοχικά κατά διαστήματα 3 χιλ. σε όλη του την έκταση. Έτσι, όταν η βλάβη βρίσκεται σε περισσότερα του ενός πλακίδια, χρειάζεται προσοχή στον καθορισμό του μεγέθους και των ορίων εκτομής. Επιπροσθέτως, μετά την ενδελεχή εξέταση του ιστοτεμαχίου σε ολόκληρη την έκτασή του πρέπει να αναζητηθούν μικροδιηθητικές εστίες ή και θέσεις διηθητικού καρκινώματος. Στην τελευταία αυτή περίπτωση αξίζει να σημειωθεί ότι μεταβάλλονται και οι πυρηνικοί χαρακτήρες του *in situ* στοιχείου όπως αυτοί καταδεικνύονται σε χρώση Feulgen¹⁵.

Σε κάθε *in situ* καρκίνωμα θα πρέπει να αναφέρεται η απόστασή του από το χειρουργικό όριο. Ως ασφαλές χειρουργικό όριο θεωρείται εκείνο που υπερβαίνει τα 10 χιλ. Ενδιάμεσης επικινδυνότητας για υπολειμματική νόσο θεωρείται το όριο από 1 έως 9 χιλ., ενώ υψηλής το όριο από 1¹⁴ ή, κατ'άλλους³, από 2 χιλ. και κάτω.

Με βάση τις παραμέτρους αυτές (βαθμός πυρηνικής κακοήθειας, νέκρωση, μέγεθος όγκου, απόσταση από χειρουργικά όρια) καθορίζεται ο προγνωστικός δείκτης Van Nuys³.

Οι ασθενείς χωρίζονται σε τρεις ομάδες κινδύνου που μάλιστα βρέθηκαν να διαφέρουν μεταξύ τους στην έκφραση του ογκογονιδίου HER-2/ neu⁷. Πάντως η ποσοτικοποίηση των παραμέτρων δεν προδικάζει απαραίτητα και την κλινική θεραπευτική αντιμετώπιση, γιατί είναι αδύνατος ο καθορισμός της επακριβούς συνεισφοράς της κάθε παραμέτρου για κάθε συγκεκριμένη ασθενή¹³. Χρειάζεται λοιπόν κριτική συνεκτίμηση όλων των παραμέτρων αλλά και καδεμιάς χωριστά, εξατομικευμένης για κάθε ασθενή.

Άλλες παράμετροι των ΠΕΚ είναι οι εξής¹⁶:

1.5. Το αρχιτεκτονικό πρότυπο ανάπτυξης του ΠΠΚ κι η συμμετοχή ορισμένων κυτταρικών ποικιλιών.

Πέρα από την αδρή διάκριση στο συχνότερο φαγεσωρικό ή στο μη φαγεσωρικό πρότυπο, διακρίνονται οι εξής μορφολογικές παραλλαγές του ΠΠΚ: το φαγεσωρικό, το ηθμοειδές, το μικροδηλώδες, το δηλώδες και το συμπαγές. Ο φαγεσωρικός τύπος χαρακτηρίζεται συχνότερα από μικροδιήθηση και, μετά από ογκεκτομή συνοδεύεται συχνότερα από υποτροπή.

Η παρουσία σφραγιδοκυττάρων συνδέεται με επιδετικότερη συμπεριφορά ενώ η παρουσία αποκρινούς κυτταρικού πληθυσμού είναι συνυφασμένη με έκφραση υποδοχέων ανδρογόνων και με απουσία οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων από τα αποκρινή κύτταρα¹⁶.

1.6. Η παρουσία περιτορικής ίνωσης

Η δυσμενής αυτή παράμετρος διαπιστώνεται γύρω από τους νεοπλασματικούς σχηματισμούς με τη μορφή κυκλοτερών, πεπαχυσμένων - συμπαγών ή αγγειωμένων - μυξοειδών ταινιών από σχετικώς ακυτταρικό συνδετικό ιστό που συχνά προκαλεί απόφραξη. Συχνά συνυπάρχει λεμφοκυτταρική αντίδραση η οποία αξιολογείται από μετρίου βαθμού πυκνότητας και άνω.

1.7. Ο τρόπος διαγνωστικής ανίχνευσης του ΠΕΚ¹⁶

Οι γυναίκες με κλινικώς ψηλαφητά ΠΕΚ χαρακτηρίζονται από σημαντικά μεγαλύτερη θνητότητα συγκριτικά με εκείνες όπου τα ΠΕΚ ήταν αψηλάφητα και αρχικά είχαν τυχαία διαγνωσθεί (δηλ. μόνο μαστογραφικώς).

1.8. Μοριακοί δείκτες

Στα ΠΕΚ οι μοριακοί δείκτες δεν φαίνεται προς το παρόν να πλεονεκτούν προγνωστικά έναντι των τεκμηριωμένων μορφολογικών δει-

κτών υποτροπής^{17,18}, απλώς προσφέρουν κάποιες επιπλέον πληροφορίες για την βιολογική συμπεριφορά του κάθε ΠΕΚ. Η ανευπλοειδία του DNA και η αυξημένη ή ενισχυμένη έκφραση του ογκογονιδίου HER-2/neu (c-erbB-2)¹⁹ αποτελούν απλώς επιπρόσθετους παράγοντες αυξημένης κακοήδους συμπεριφοράς, συμπληρώνοντας τις προαναφερθείσες κλασικές μορφολογικές παραμέτρους. Συγκεκριμένα, η φαγεσωρική νέκρωση ή η υψηλή πυρηνική κακοήθεια συσχετίζονται βιβλιογραφικώς με την ενεργοποίηση του ογκογονιδίου HER-2/neu, την υπερέκφραση της αντίστοιχης ογκοπρωτεΐνης (c-erbB-2), την αδρανοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 και την επακόλουθη υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53²⁰, την ανοσοιστοθετικότητα στη μεταλλοθειονίνη²¹, την απουσία υποδοχέων στεροειδών ορμονών²⁰ καθώς και με υψηλό ρυθμό αυξητικής δραστηριότητας²⁰. Το ογκογονίδιο HER-2/neu, επιδρώντας στην κυτταρική κινητικότητα, σχετίζεται δετικά με την έκταση που καταλαμβάνουν τα ΠΕΚ υψηλής πυρηνικής κακοήθειας²². Η πρωτεΐνη bcl-2, προϊόν του ομώνυμου πρωτο-ογκογονιδίου, εκφράζεται ποικιλότροπα στα ΠΕΚ. Στο μη νεοπλασματικό μαστικό παρέγχυμα και στα περισσότερα ΠΕΚ ανευρίσκεται δετική έκφραση του bcl-2 και αρνητική του μεταλλαγμένου γονιδίου p53. Οι υπόλοιποι συνδυαστικοί φαινότυποι και ειδικά ο bcl-2(-)/p53(+) χαρακτηρίζει λίγα, χαμηλά διαφοροποιημένα, ΠΕΚ με δυσμενείς βιολογικούς χαρακτήρες στα οποία η απόπτωση δεν υπόκειται πλέον στους φυσιολογικούς μηχανισμούς ελέγχου, με πιθανή συνέπεια την περαιτέρω εξέλιξη των όγκων αυτών²³. Σε πρόσφατες μελέτες, άλλος ένας παράγοντας, η νεοαγγειογένεση, έχει συσχετισθεί επίσης με τον φαγεσωρικό ιστολογικό τύπο και υψηλή πυρηνική ατυπία²⁴ καθώς και πιθανώς με συνυπάρχουσες διηθητικές εστίες.

Συμπερασματικά, τα ιστολογικά χαρακτηριστικά των ΠΕΚ είναι εν πολλοίς αλληλοεξαρτώμενα. Έτσι, η περιπορική ίνωση συσχετίζεται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με υψηλή πυρηνική κακοήθεια, με επιδετική συμπεριφορά, με παρουσία (φαγεσωρικής) νέκρωσης και λεμφοκυτταρικής αντίδρασης¹⁶. Η παρουσία (φαγεσωρικής) νέκρωσης και η ύπαρξη περιπορικής ίνωσης και κλινικού τρόπου εμφάνισης του όγκου αποτελούν δείκτες αυξημένης πιθανότητας υποτροπής των ΠΕΚ¹⁶, ενώ είναι σημαντικό να συνεκτιμάται η υψηλή

πυρηνική κακοήθεια, η έκταση των ΠΕΚ και η κατάσταση των ορίων εκτομής.

2. ΠΟΡΟΓΕΝΕΣ ΔΙΗΘΗΤΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ

Η χορήγηση και η έκταση των *μασχαλιαίων λεμφαδενικών μεταστάσεων* αποτελεί τον σπουδαιότερο προγνωστικό δείκτη²⁵. Η ηλικία κατά την διάγνωση²⁶ επίσης φαίνεται να επηρεάζει, αφού νεώτερες γυναίκες (<35²⁷ ή κατά άλλους συγγραφείς <40 ετών²⁶) έχουν φτωχότερη πρόγνωση συγκριτικά με μεγαλύτερες ασθενείς του αυτού σταδίου, πιθανώς λόγω διαφορών στη βιολογία των όγκων. Τα υπόλοιπα, ιστολογικά και βιολογικά χαρακτηριστικά του πρωτοπαθούς όγκου αξιολογούνται με βάση την πιθανότητα πρόβλεψης υποτροπής της νόσου. Στις ολοένα και συχνότερα εφαρμοζόμενες συντηρητικές επεμβάσεις²⁸ στους αρχόμενους καρκίνους μεγάλη σημασία για την τοπική υποτροπή έχει και ο ιστολογικός έλεγχος των ορίων εκτομής. Είναι σημαντικό να προσδιορισθούν ομάδες ασθενών με ευνοϊκή πρόγνωση και ομάδες με κακή πρόγνωση, η δε θεραπεία να βασισθεί στις προγνωστικές παραμέτρους.

2.1. Στους *χρονοεξαρτώμενους, καθολικά αποδεκτούς* παράγοντες πρόγνωσης των πορογενών διηθητικών καρκινωμάτων (ΠΑΚ) περιλαμβάνονται το μέγεθος του όγκου και η ύπαρξη μεταστάσεων στους *μασχαλιαίους λεμφαδένες*, ενώ ίσως να έχει νόημα και η αναζήτηση μικρομεταστάσεων στο μυελό των οστών²⁷.

2.1.1. Η *μεγαλύτερη διάμετρος του όγκου* είναι ο σημαντικότερος προγνωστικός παράγων των γυναικών με αρνητικούς λεμφαδένες. Καθοριστικής σημασίας οριοθετούνται τα κάτω των 2 και άνω των 5εκ. καρκινώματα, ενώ καρκινώματα από 10 ή, καλύτερα, από 5χιλ. και κάτω χαρακτηρίζονται ως ελάχιστα διηθητικά. Τα τελευταία, αν και διηθητικά, αντιπροσωπεύουν ένα εξελικτικό στάδιο καρκίνου του μαστού όπου δεν έχουν ακόμη επέλθει οι γενετικές αλλαγές οι ευδυνόμενες για τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της επιδετικής συμπεριφοράς²⁹. Η έκταση του όγκου προφανώς αντανακλά την αδροιστική επίδραση ποικίλων γενετικών μεταλλαγών προγνωστικής σημασίας που συσσωρεύονται καθώς το νεόπλασμα αναπτύσσεται.

2.1.2. Η ιστολογική αναζήτηση *λεμφαδενικών μεταστάσεων*³⁰ (καθώς και ξεχωριστά λεμ-

φαδενικών μικρομεταστάσεων) πρέπει να γίνεται σε καθένα από τα τρία ανατομικά επίπεδα ως προς τον ελάχιστο δωρακτικό μυ και κατ' αυτήν να αξιολογείται κατά πόσον ο αριθμός των διηθημένων λεμφαδένων *ξεπερνά τους 3*²⁷. Η διήθηση του περιλεμφαδενικού λιπώδους ιστού έχει προγνωστική αξία κυρίως όσον αφορά την υποτροπή στη μασχάλη κι επιβάλλει τοπική ακτινοθεραπεία³¹. Καλό είναι να αναφέρεται η παρουσία ανοσοαντιδραστικής διέγερσης ή και ιστοκυττάρωσης στο λεμφικό ιστό των ελευθέρων διήθησης λεμφαδένων.

2.1.3. Η σημασία της αναζήτησης μικρομεταστάσεων στο μυελό των οστών είναι συνυφασμένη με την επιτυχέστερη επιλογή ασθενών με τοπική νόσο για επικουρική χημειοθεραπεία η οποία μπορεί να εξαλείψει τις μικρομεταστάσεις πριν αυτές γίνουν εμφανείς κλινικά.

2.2. Οι *κλασικές, αναντικατάστατες* προγνωστικές παράμετροι, οι σχετιζόμενες με τον *βιολογικό φαινότυπο* του πρωτοπαθούς όγκου, εκτιμώνται με βάση την *απλή μικροσκοπήση* και την εμπειρία του Ιστοπαθολόγου.

2.2.1. Ο ιστολογικός τύπος

Οι σπάνιοι *ειδικοί* τύποι ΠΔΚ με *ευμενή* εξέλιξη είναι το διαφοροποιημένο σωληνώδες, το δηλώδες, το αμιγώς βλεννώδες, το αδενοκυστικό³² και το ελάχιστα διηθητικό²⁷, ενώ υπό συζήτηση είναι το νεανικό, το ηθμοειδές και το μυελοειδές.

2.2.2. Η *συχνότητα των μιτώσεων* έχει ισχυρότατη αξιόπιστη προγνωστική αξία³³ και καλό είναι να αναφέρεται ως ξεχωριστή παράμετρος, άσχετα εάν πάντοτε συνυπολογίζεται στον καθορισμό του βαθμού κακοήθειας. Η μιτωτική δραστηριότητα των κακοήθων κυττάρων προσδιορίζεται κατόπιν μελέτης 10 διαδοχικών οπτικών πεδίων ισχυρής μεγέθυνσης (Ο.-Π.Ι.Μ.) (Χ400) στην κυτταροβριδέστερη περιοχή της διηθητικής περιφέρειας του όγκου και όπου υποκειμενικώς παρατηρούνται οι περισσότερες πυρηνοκινήσεις. Οι κρίσιμες ομάδες βάσει του αριθμού των μιτώσεων ανά 10 Ο.-Π.Ι.Μ. σταθμίζονται με τις παρακάτω αριθμητικές τιμές: $\leq 3,4$ έως 20 και > 20 πυρηνοκινήσεις. Η συχνότητα των πυρηνοκινήσεων συμβάλλει στην πρόγνωση όχι μόνο ασθενών καμψηλού κινδύνου ($T_1 N_0$) αλλά και ασθενών με όγκους $T2N0$ ή $T1N1$ οι οποίοι είναι υποψήφιοι για επικουρική θεραπεία³⁴. Αλλά και όσον αφορά τους όγκους $T1N0$, σε εκείνους με αυξημένες σε αριθμό μιτώσεις αναμένονται

συχνότερα υποτροπές.

2.2.3. Η *κυτταρική ατυπία* των νεοπλασματικών κυττάρων, μέσω του βαθμού πυρηνικής κακοήθειας, αποτελεί ανεξάρτητο δείκτη υποτροπής σε μικρά, διηθητικά νεοπλάσματα χωρίς διηθημένους λεμφαδένες.

2.2.4. Οι *τρεις ιστολογικοί βαθμοί κακοήθειας*³⁰ σχετίζονται άμεσα με την επιβίωση των ασθενών²⁷. Για τον καθορισμό του βαθμού κακοήθειας αξιολογούνται ο πυρηνικός πλειομορφισμός³⁵, αλλά και το μέγεθος του πυρήνα καθώς και ο αριθμός των μιτώσεων ανά 10 Ο.Π.Ι.Μ. (≤ 7 , > 14 και ενδιάμεσες τιμές)³⁶. Οι όγκοι βαθμού κακοήθειας Ι αποτελούν μία ξεχωριστή ομάδα καλής πρόγνωσης.

2.2.5. Η *πέριξη ή μακράν του όγκου διήθηση* κυρίως *λεμφαγγείων* αλλά και *φλεβών*^{37,38} αυξάνει τον κίνδυνο τόσο τοπικής³² όσο και συστηματικής³⁹ νόσου. Η διήθηση δερματικών λεμφαγγείων χαρακτηρίζει το κλινικά γνωστό ως "φλεγμονώδες καρκίνωμα" με χειρίστη πρόγνωση.

2.2.6. Η *νεκρωτική δραστηριότητα* του όγκου, συνεπεία της ανεπαρκούς αιμάτωσης που προκαλεί η ταχεία ανάπτυξή του, συνδέεται δυσμενώς με το ελεύθερο υποτροπών διάστημα καθώς και με τη συνολική επιβίωση των ασθενών⁴⁰.

2.2.7. Σε περιπτώσεις μερικής μαστεκτομής, η ύπαρξη *εκτεταμένου ενδοεπιθηλιακού καρκινώματος* (σε $> 25\%$ της κύριας νεοπλασματικής μάζας και στα όρια με το μαζικό παρέγχυμα³⁰) εγείρει υπόνοιες πολυεστιακότητας και ενοχοποιείται για τοπικές υποτροπές³⁹. Αξίζει πάντως να σημειωθεί ότι γυναίκες με ΠΔΚ που είχαν προηγούμενο, σύγχρονο ή μεταχρονό, ενδοπορικό καρκίνωμα ετερόπλευρα επιδεικνύουν μειωμένη θνητότητα συγκριτικά με τις υπόλοιπες, πιθανώς λόγω καλύτερης δραστηριοποίησης της κυτταροτοξικότητας του ανοσοποιητικού τους συστήματος⁴¹.

2.2.8. Η φλεγμονώδης αντίδραση του υποστρώματος στη παρυφή του όγκου⁴².

2.2.9. Η *διήθηση της δηλής* αυξάνει τον κίνδυνο μασχαλιαίων μεταστάσεων.

2.2.10. Η αμφοτερόπλευρη εντόπιση⁴³.

2.3. Οι νέοι *βιολογικοί δείκτες* που ανιχνεύονται με *ειδικές, συνήθως ανοσοιστοχημικές, τεχνικές*, εκτιμώνται συνήθως με ημιποσοτικές μεθόδους ή, κατά προτίμηση, με σύστημα ανάλυσης εικόνας⁴⁴. Σε αυτούς περιλαμβάνονται οι εξής, εν πολλοίς αλληλοεξαρτώμενοι, δείκτες:

2.3.1. Πυρηνικοί υποδοχείς οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PgR).

Η ημιποσοτική ανοσοιστοχημική ανίχνευση ER σε συνήθεις ιστολογικές τομές παραφίνης συσχετίζεται με *αυξημένη πιθανότητα ανταπόκρισης* των ασθενών στην ταμοξιφένη και επομένως ευμενέστερη πρόγνωση⁴⁵. Η ανταπόκριση προϋποθέτει οι ER να μην είναι μόνο παρόντες αλλά και *λειτουργικοί*⁴⁶ καθώς και να μην αποτελεί η παρουσία τους ένα επιφανόμενο μη σχετιζόμενο με τις ανάγκες ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων. Η παρουσία των PgR επιβεβαιώνει ότι ο κυτταρικός *μηχανισμός επεξεργασίας οιστρογόνων* παραμένει ανέπαφος. Αναφέρεται ένα ποσοστό έως 10% των όγκων φαινομενικώς αρνητικών σε ER οι οποίοι ανταποκρίνονται στην αντιοιστρογονική θεραπεία. Οι ασθενείς αυτές πιθανώς χαρακτηρίζονται από υψηλά κυκλοφορούντα επίπεδα ενδογενών οιστρογόνων.

Σε όγκους με *αρνητικούς* ορμονουποδοχείς αποφασιστικό προγνωστικό ρόλο παίζουν η *κατάσταση των λεμφαδένων, ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας και το μέγεθος των όγκων*³². Σε καρκίνους με *θετικούς* ορμονουποδοχείς, η *συχνότητα των μτώσεων* αποτελεί σημαντικότατη προγνωστική παράμετρο. Επίσης, σε όγκους με θετικούς ER, η παρουσία οιστρογόνων μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη αντοχής σε κυτταροτοξικούς χημειοθεραπευτικούς παράγοντες⁴⁷.

Όταν δεν υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις, η εκτίμηση των PgR αντικατοπτρίζει καλύτερα το ελεύθερο νόσου μεσοδιάστημα, ενώ και τα δύο είδη υποδοχέων προδικάζουν σαφέστερα την εξέλιξη κυρίως των προεμμηνοπαυσιακών ασθενών³². Στις μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς άνω των 59 ετών, καθώς οι όγκοι αποδιαφοροποιούνται, η οιστρογονοεξάρτηση μοιάζει να φθίνει καθώς πέφτουν ανάλογα και τα επίπεδα των ER & PgR. Αντίθετα, στις νεότερες ηλικίες ο βαθμός κακοήθειας κι οι υποδοχείς στεροειδών ορμονών δεν φαίνεται να βρίσκονται σε τόσο στενή αλληλεξάρτηση⁴⁸.

2.3.2. Πρωτείνες δυναμικώς ρυθμιζόμενες από τα οιστρογόνα ή την προγεστερόνη

Η *καδεψίνη D* είναι μία λυσοσωμιακή όξινη πρωτεάση που διευκολύνει την διηθητική επέκταση των καρκινικών κυττάρων διαμέσου της εξωκυττάριας δεμέλιας ουσίας του στρώματος του όγκου, ενώ παράλληλα υποβοηθά και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό⁴⁹ ως αυτο-

κρινές μιτογόνο. Η έκφρασή της κυρίως στα κακοήδη κύτταρα συνδέεται με καλά διαφοροποιημένα νεοπλάσματα αλλά και με *αυξημένη πιθανότητα μασχαλιαίων μεταστάσεων*⁵⁰. Σε ασθενείς χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις, η επαρκής ιστική παρουσία της καδεψίνης D σε στρωματικά κύτταρα του όγκου - όπως αυτή είναι δυνατό να εκτιμηθεί κατεξοχήν ανοσοιστοχημικώς - συνδέεται με επιθετική συμπεριφορά⁵¹. Σε άλλες μελέτες φαίνεται ότι η ανεξάρτητη προγνωστική αξία του δείκτη για την επιβίωση των ασθενών σταδίου I παραμένει αμφιλεγόμενη⁵²⁻⁵⁴.

Η δετικότητα των νεοπλασματικών κυττάρων στο *οιστρογονορρυθμιζόμενο πεπτίδιο pS2* σχετίζεται θετικώς με την θεραπευτική ανταπόκριση - κυρίως των ασθενών με μεταστατική νόσο - πιθανώς καλύτερα απότι η απλή δετικότητα στους υποδοχείς των στεροειδών ορμονών του φύλου³². Η ανοσοιστοχημική παρουσία της πρωτεΐνης pS2 εξαρτάται από την ύπαρξη ορμονουποδοχέων και συμβαδίζει με μορφολογικά γνωρίσματα ενός επιπέδου κυτταρικής φυσιολογίας με υψηλή οργάνωση⁵⁵ που εγγυάται τη *λειτουργικότητα* του κυτταρικού μηχανισμού επεξεργασίας οιστρογόνων.

Η πρωτοπλασματική ανοσοιστοδετικότητα των καρκινικών κυττάρων ως προς τη *συνδετάση των λιπαρών οξέων* (FAS) συσχετίζεται *δυσμενώς* με το ελεύθερο νόσου μεσοδιάστημα των ασθενών και θετικώς με την εμφάνιση υποτροπών σε ασθενείς σταδίου I, η δε παραγωγή του εν λόγω ενζύμου-κλειδιού στην βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων επάγεται από την προγεστερόνη⁵⁶ γι' αυτό και η έκφραση της FAS συναρτάται από την παρουσία PgR στα κακοήδη κύτταρα.

Οι *πρωτείνες θερμοπληξίας (HSPs)* παράγονται σε ποικίλους κυτταρικούς πληθυσμούς όταν αυτοί υφίστανται κάποιας μορφής βιολογική καταπόνηση και δρουν προφυλακτικά στις κυτταρικές δομές. Τα κακοήδη κύτταρα, με την αυξημένη τάση ανάπτυξης που τα διακρίνει, υφίστανται κατά κανόνα πολλαπλή καταπόνηση και συνδέτουν HSP. Η πρωτεΐνη HSP 70 εκφραζόμενη κυρίως σε όγκους υψηλής κακοήθειας, αντικατοπτρίζει τον αυξημένο βαθμό βιολογικής καταπόνησης που υφίστανται τα συγκεκριμένα, μορφολογικώς επιθετικά νεοπλάσματα⁵⁷. Πάντως, η HSP70 συνδέεται θετικά με την ύπαρξη ER σε υψηλά επίπεδα⁵⁸ και, ίσως επακολούθως, ανάστροφα με την έκφραση του μεταλλαγμένου γονιδίου p53 το οποίο

φαίνεται να απαλλάσει τα καρκινικά κύτταρα από την καταπόνηση στα προχωρημένα στάδια της καρκινογένεσης. Σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες η ανίχνευση της HSP70 υποδηλώνει αυξημένο κίνδυνο υποτροπής, ενοχοποιείται δε και για την *ανάπτυξη αντοχής στην δοξορουβικίνη*⁵⁹ Ένα άλλο μέλος της ίδιας οικογένειας πρωτεϊνών, η HSP27 σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση των ασθενών⁵⁵, πιθανώς λόγω ανάπτυξης αντίστασης στη χημειοθεραπεία.

2.3.3. Οι *αυξητικοί παράγοντες*, απελευθερούμενοι από τα κύτταρα, ασκούν σε τοπικό επίπεδο σημαντικές ρυθμιστικές αναπτυξιακές επιδράσεις είτε σε γειτονικά κύτταρα (παρακρινής δράση), είτε στα ίδια τα κύτταρα που τους συνδέτουν (αυτοκρινής δράση). Ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF) αποτελεί μία πεπτιδική ορμόνη που ενεργοποιώντας τον αντίστοιχο διαμεμβρανικό υποδοχέα (EGF-R), συντελεί δυναμικά στη μετάδοση μιτογόνων ερεθισμάτων στα κύτταρα. Η υπερέκφραση του EGF-R καθώς και των EGF & TGF (αυξητικού παράγοντα του μετασχηματισμού) υπεισέρχεται στην καρκινογένεση αρκετών οργάνων⁶⁰. Ο EGF-R μπορεί, υπό προϋποθέσεις, να θεωρηθεί δείκτης πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, ανιχνεύεται συνήθως σε *επιθετικά* νεοπλασμάτα με αρνητικούς ER, οι δε αντίστοιχοι ασθενείς αναφέρεται ότι *δεν ανταποκρίνονται στην ορμονοθεραπεία*²⁷. Καθώς όμως ο EGF μπορεί να επηρεάσει την διαδικασία της απόπτωσης ορισμένων κακοήθων κυτταρικών σειρών του μαστού, η πειραματική χορήγησή του στις εν λόγω σειρές αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό⁶¹. Από την παραπάνω δράση του EGF κατανοούμε πόσο σύνδετη και συχνά απρόβλεπτη είναι η λειτουργία γενικά των εξεταζόμενων μοριακών δομών, γεγονός που δεν επιτρέπει απλουστευμένες ερμηνείες μεμονωμένων δεικτών.

2.3.4. *Προϊόντα ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων.*

Οι τυροσινοκινάσες με διαμεμβρανικούς υποδοχείς που συνδέονται με αυξητικούς παράγοντες μεταδίδουν ερεθίσματα ουσιαστικά για την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση των φυσιολογικών κυττάρων. Η διαταραγμένη, συχνά επιμένουσα, μεταβίβαση των παραπάνω μιτογόνων ερεθισμάτων είναι εκείνη που συμβάλλει στην βραδεία, πολυπαραγοντική διαδικασία της καρκινογένεσης. Οι υποδοχείς που

εμπλέκονται στον καρκίνο του μαστού ανήκουν στην οικογένεια των γονιδίων *erbB* μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονται ο EGF-R και η *ογκοπρωτεΐνη c-erbB-2, προϊόν του (ενεργοποιημένου) ογκογονιδίου HER-2/neu*. Η όξι και τόσο συχνά στα ΠΔΚ παρατηρούμενη υπερέκφραση της αντίστοιχης διαμεμβρανικής ογκοπρωτεΐνης (με παρόμοια ή συνεργική δράση με τον EGF-R) συνδέεται *αρνητικά με την επιβίωση* κυρίως ασθενών με αρνητικούς λεμφαδένες και ΠΔΚ με δετικούς ER και όγκους μεγαλύτερης διαμέτρου <3εκ. Όταν δε, υπάρχουν λεμφαδενικές μεταστάσεις, η υπερέκφραση της ογκοπρωτεΐνης *c-erbB-2* καθιστά την πρόγνωση εξαιρετικά φτωχή^{27,62}, με μικρότερη ανταπόκριση στην επικουρική χημειοθεραπεία⁶³, και μικρότερη συνολική επιβίωση των αντιστοιχών γυναικών. Η αυξημένη ανοσοιστοθετικότητα της ογκοπρωτεΐνης *c-erbB-2* συνοδεύεται και από υψηλά ορολογικά επίπεδα⁶⁴ καθώς και με απουσία ορμονουποδοχέων⁶⁵. Η αποδέσμευση από τον ορμονικό έλεγχο συμπίπτει προφανώς με την υπερέκφραση της ογκοπρωτεΐνης *c-erbB-2* και την αύξηση του διηθητικού δυναμικού των κακοήθων κυττάρων.

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 μπορεί, όταν λειτουργεί φυσιολογικά, να καταστρέφει κύτταρα με αλλοιωμένο DNA είτε μέσω του αποπτωτικού μηχανισμού (καταστέλλοντας το γονίδιο *bcl-2*⁶⁶ και ενεργοποιώντας το γονίδιο *bax*) είτε μέσω αναστολής του κύκλου κυτταρικής διαίρεσης. Η αδρανοποίηση του εν λόγω γονιδίου μέσω μεταλλαγών⁶⁷ συνεπάγεται την επιβίωση τέτοιων εξαλλαγέντων κυττάρων και εμφανίζεται κατά πάσα πιθανότητα σε πρώιμο στάδιο ανάπτυξης των ΠΔΚ^{29,68} επιτρέποντας την ανάπτυξη της νεοπλασματικής μάζας και την απόκτηση ικανού μεγέθους από αυτήν. Οι σημειακές *μεταλλαγές στο p53* συχνά συνεπάγονται την ανοσοιστοχημική πυρηνική υπερέκφραση της αντίστοιχης πρωτεΐνης η οποία έχει *δυσμενή* προγνωστική αξία στη *συνολική επιβίωση και στο ελεύθερο νόσου μεσοδιάστημα* σε γυναίκες με αρνητικούς λεμφαδένες. Συχνά συνοδεύεται από υψηλά ποσοστά κυττάρων στη φάση S (τη συνδετική για το DNA) του κυτταρικού κύκλου³² καθώς και με άλλους δείκτες επιθετικού φαινότυπου^{69,71}.

Οι ημιποσοτικές, ορδώς προσδιοριζόμενες ανοσοιστοθετικότητες των καρκινικών κυττάρων για την *c-erbB-2* και την μεταλλαγμένη p53 πρωτεΐνη προτείνονται ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες *μειωμένης επιβίωσης* σε

ασθενείς χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις⁷².

2.3.5. Η εκτίμηση του πολλαπλασιασμού των νεοπλασματικών κυττάρων μπορεί να γίνει με πολλούς τρόπους^{73,74} (πρόσληψη νουκλεοτιδίων, κυτταρομετρική ανάλυση, μέτρηση μιτώσεων, εκτίμηση πρωτεϊνικών μορίων σχετιζομένων με τον πολλαπλασιασμό) και πρέπει να συνεκτιμάται με τον ρυθμό απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων.

Γεγονός είναι ότι οι ταχέως πολλαπλασιάζομενοι όγκοι με μεταστάσεις απαντούν καλύτερα στην χημειοθεραπεία, ενώ μερικοί υποστηρίζουν ότι αυτό ισχύει μόνο όταν αυτή αποτελεί την πρώτη θεραπευτική επιλογή στην επανεμφάνιση της νόσου⁷⁵ και όχι όταν έπεται της ορμονοθεραπείας.

Το ποσοστό των νεοπλασματικών κυττάρων στη φάση S, όπως προσδιορίζεται από ιστογράμματα κυτταρομετρίας ροής, αντανakλά επακριβώς την ικανότητα αναδιπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων. Το ίδιο πετυχαίνει και η ανοσοιστοχημική ανίχνευση του αντιγόνου Ki67^{76,77} και της κυκλίνης D₁/PRAD1^{78,79}, ενώ πολλές μελέτες αναφέρονται και στην έκφραση του PCNA⁵⁷.

2.3.6. Η απόπτωση αφορά μία διεργασία που ελέγχεται τουλάχιστον από τα εξής γονίδια: bcl-2, bax, p53, c-myc & P21^{WAF1/CIP1}. Η απορρύθμιση της απόπτωσης συμβάλλει στην παθογένεση του καρκίνου του μαστού μέσω δυσαρμονίας ανάμεσα στα γονίδια που φαίνεται να αναστέλλουν ορισμένες μορφές απόπτωσης (π.χ. bcl-2) - αυξάνοντας την επιβίωση των κυττάρων με αποτέλεσμα την συσσώρευση ογκογενετικών αλλοιώσεων, ευδοτικών της καρκινογένεσης - και ανάμεσα στα γονίδια που διευκολύνουν την απόπτωση (π.χ. bax).

Η έκφραση του bcl-2 σχετίζεται με την παρουσία ER⁸⁰ & PgR⁸¹. Μάλιστα σε ορμονοεξαρτώμενους ιστούς, το ορμονικό ερέθισμα συντηρεί την επιβίωση των κυττάρων πιθανώς μέσω της λειτουργίας του bcl-2. Η απόσυρση του ορμονικού ερεθίσματος διακόπτει την δράση του bcl-2 και τα κύτταρα αποπίπτουν⁸¹. Έτσι, σε ορμονοευσταθήτα νεοπλάσματα, η αντιοιστρογονική δράση της ταμοξιφένης επιδρά στο γονίδιο bcl-2 και αναστέλλει την ανάπτυξη του όγκου⁸² με ευεργετικά αποτελέσματα για τις ασθενείς με όγκους δετικούς για την πρωτεΐνη bcl-2. Πάντως, μάλλον παραδόξως εκ πρώτης όψεως, ο υψηλός αποπτωτικός δείκτης, από μόνος του, σχετίζεται με δυσμενείς ιστοπαθολογικές παραμέτρους του καρκίνου του

μαστού, ενώ η κυτταροπλασματική έκφραση της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης bcl-2 συμβαδίζει με δείκτες ευμενούς πορείας^{80,81}, χωρίς όμως να έχει ανεξάρτητη ευμενή προγνωστική αξία στη συνολική επιβίωση των ασθενών αλλά μόνο στο ελεύθερο νόσου μεσοδιάστημα⁸⁰.

Από την άλλη πλευρά, μειωμένη έκφραση του προαποπτωτικού γονιδίου bax σε γυναίκες με μεταστατικό καρκίνο του μαστού προδικάζει χαμηλή ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία και φτωχότερη επιβίωση. Άρα, οι αντίστοιχες ασθενείς χρήζουν εντατικότερης θεραπευτικής αντιμετώπισης⁸³.

2.3.7. Η (νεο)αγγειογένεση.

Ο γενετικώς καθοριζόμενος σχηματισμός νέων τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων μπορεί να συμμετέχει στην εμφάνιση, ανάπτυξη και διασπορά συμπαγών νεοπλασμάτων.

Στους όγκους του μαστού δεν παρατηρείται αγγειογενετική δραστηριότητα εξαρχής, αλλά οι όγκοι εξελίσσονται από μια προαγγειακή σε μια αγγειογενετική φάση. Η ενδονεοπλασματική πυκνότητα νεοαγγείων υπολογίζεται σε επιλεγμένες θέσεις με ειδικά αντισώματα έναντι μορίων των ενδοθηλιακών κυττάρων (π.χ. παράγοντα VIII, CD31, CD34) και μπορεί να συσχετίζεται με τη μεταστατικότητα^{82,85} και την επιβίωση ασθενών σταδίων I-II, έχει δε ιδιαίτερη αξία να προσδιορίζεται σε μικρούς όγκους, μαστογραφικώς διαγνωσθέντες διότι δυνητικώς συντελεί στον καθορισμό υποομάδων υψηλού κινδύνου ανάμεσα σε ασθενείς με αρνητικούς λεμφαδένες. Στις ασθενείς με υψηλή νεοαγγειογένεση και προχωρημένη νόσο υποστηρίζεται ότι θα μπορούσε να προταθεί η αντιαγγειογενετική θεραπεία⁸⁶. Η απόπτωση στις μεταστατικές εστίες μειώνεται σημαντικά με την επαγωγή της αγγειογένεσης, ενώ ο υψηλός ρυθμός αναδιπλασιασμού εξακολουθεί να παραμένει αμετάβλητος. Εφόσον όμως κατασταλεί η αγγειογένεση, οι μεταστάσεις καθίστανται υπό έλεγχο, επιδεικνύουν δε πάλι επαρκή αποπτωτική δραστηριότητα που εξισορροπεί τον κυτταρικό αναδιπλασιασμό⁸⁴.

Βασικός ρυθμιστής της αγγειογένεσης είναι ο αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων (VEGF)⁸⁷, ενώ αρνητικός ρυθμιστής είναι η δρομβοσπονδίνη που φυσιολογικά ελέγχεται από το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53. Χρειάζεται δυναμική μελέτη του φαινομένου της αγγειογένεσης μέσω των παραπάνω ρυθμιστών, καθώς μόνη η αυξημένη πυκνότητα μικροαγγείων, στατικώς εκτιμούμε-

νη, δεν προδικάζει υποχρεωτικά υψηλό μεταστατικό δυναμικό και δεν παρέχει απαραίτητα επιπρόσθετες προγνωστικές πληροφορίες^{88,89} κλινικής σημασίας.

2.3.8. Δείκτες μεταστατικότητας

Ο ισότυπος H_1 της οικογένειας των "αντιμεταστατικών" γονιδίων nm23 κωδικεύει τη σύνθεση ενός πεπτιδικού παραγώγου, σχεδόν ομολόγου με την NDP -κινάση Α. Η κυτταροπλασματική παρουσία της πρωτεΐνης nm23- H_1 , από μόνη της, δεν φαίνεται να συναρτάται με απουσία μεταστατικού δυναμικού στο ΠΔΚ του μαστού, συμβαδίζει δε με υψηλά επίπεδα PgR. Ο συνδυαστικός όμως ανοσοφαινότυπος nm23- H_1 (-)/c-erbB-2(+) απαντά συχνότερα από τον διπλά δετικό φαινότυπο nm23- H_1 (+)/c-erbB-2(+), κυρίως σε μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με ΠΔΚ υψηλής πυρηνικής κακοήθειας και με αρκετές σε αριθμό μασχαλιαίες λεμφαδενικές μεταστάσεις⁹⁰. Πάντως, ο μεταστατικός μηχανισμός, πέρα από τη γονιδιακή του βάση, επηρεάζεται από τις αλληλοεπιδράσεις των κακοήθων κυττάρων με το μικροπεριβάλλον τους μέσω ΜΚΠ, πρωτεασών⁹¹, αυξητικών παραγόντων και των υποδοχέων τους καθώς κι από τους παράγοντες αγγειογένεσης.

Η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων του μαστού να διηθούν τους ιστούς και να χορηγούν πρώιμες αιματογενείς μεταστάσεις είναι συνυφασμένη με την δυνατότητα αποδόμησης συστατικών του περιβάλλοντος τον όγκο στρώματος και διαφυγής των κακοήθων κυττάρων από το ιστικό τους περιβάλλον. Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου του τύπου της ουροκινάσης uPA είναι μια υδροξυαμινοξική σερίνο-πρωτεάση η οποία συντελεί στην αποδόμηση των συστατικών του στρώματος του όγκου, το δε αυξημένο περιεχόμενο του νεοπλασματικού ιστού σε uPA φαίνεται ότι σχετίζεται σημαντικά με την επιβίωση των καρκινοπαθών⁹². Ακόμη τα υψηλά επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου PAI-1 και τα χαμηλά επίπεδα του αναστολέα PAI-2 καθιστούν την πρόγνωση εξαιρετικά φτωχή⁹³. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες⁹⁴ κι οι αναστολείς τους, από τη μια μεριά και η κολλαγενάση τύπου IV από την άλλη, εκφράζονται ανεξάρτητα⁹⁵ στα πλαίσια της δεσμοπλαστικής αντίδρασης του στρώματος που συνοδεύει τα ΠΔΚ του μαστού.

Επίσης, αξίζει να διερευνηθεί η σημασία της έντονης παρουσίας του επιφανειακού ΜΚΠ CD44 ως δείκτη μεταστατικής συμπεριφοράς⁹⁶.

Το διακυττάριο μόριο προσκόλλησης 1 (ICAM-1)⁹⁷, όταν συνεκφράζεται με την ογκοπρωτεΐνη c-erbB-2 χαρακτηρίζει ΠΔΚ με εκτεταμένο ενδοπορικό στοιχείο, η δε αυξημένη παρουσία του ICAM-1, καθώς οφείλεται σε έκλυση κυτταροκινών που οργανώνουν την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή οργανισμού, έχει προστατευτικό χαρακτήρα για τον οργανισμό περιορίζοντας την ικανότητα των νεοπλασματικών κυττάρων να διηθούν λεμφαγγεία⁶³ και καθιστώντας τα καρκινικά στοιχεία ευάλωτα στα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα και στα μακροφάγα⁹⁸.

2.3.9. Αξίζει να επισημανθεί ότι σε πρόσφατη μελέτη⁹⁹ η πρωτοπλασματική ανοσοιστοδελτικότητα των κακοήθων κυττάρων για το καρκινοεμβρυικό αντιγόνο, κατόπιν χρώσεως με αντίσωμα υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας (T84.66), συσχετίσθηκε ανεξάρτητα με καλή ελεύθερη νόσου επιβίωση στα στάδια I & II, αλλά όχι με καλύτερη ολική επιβίωση των ασθενών.

Συνοψίζοντας, στο ΠΔΚ του μαστού χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις, η μέγιστη διάμετρος του όγκου (>=5εκ) αυξάνει τον κίνδυνο υποτροπής (στο 20-25% των περιπτώσεων συγκριτικά με <2% για όγκους μδ <5εκ.) καθώς επίσης κι η διήθηση αγγειακών κλάδων γύρω από τον όγκο. Ο ιστολογικός βαθμός κακοήθειας και η κυτταρική ατυπία είναι καθιερωμένοι προγνωστικοί παράγοντες. Η παρουσία υποδοχέων στεροειδών ορμονών του φύλου συνδέεται με το ελεύθερο νόσου μεσοδιάστημα και την ολική επιβίωση των καρκινοπαθών αρκεί να μη συνυπάρχουν άλλοι δυσμενείς παράγοντες όπως η έκφραση του EGF-R στα κακοήδη κύτταρα, του ογκογόνου γονιδίου HER-2/neu σε υψηλά επίπεδα, το μεγάλο ποσοστό κυττάρων στη φάση S και ο υψηλός βαθμός πυρηνικής κακοήθειας.

Ασθενείς με όγκους δετικούς για ορμονο-υποδοχείς, αρνητικούς για το HER-2/neu, με χαμηλό κυτταρικό αναδιπλασιασμό χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερα διαστήματα ελεύθερα υποτροπών⁴⁴. Ειδικότερα για τις γυναίκες με μικρούς, εντετοπισμένους όγκους με T_1a (≤0,5εκ.), β (>0,5 αλλά < 1εκ.) N_0M_0] η υψηλή πυρηνική κακοήθεια σε συνδυασμό με διήθηση λεμφαγγείων αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο υποτροπής, ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες^{37,38,56}. Στις ασθενείς με δετικούς λεμφαδένες η διήθηση λεμφαγγείων αυξάνει την θνητότητα κι έτσι οι αντίστοιχες ασθενείς κα-

τατάσσονται σε ομάδα πολύ υψηλού κινδύνου, οπότε θα πρέπει να λαμβάνουν την κατά το δυνατό εντονότερη επικουρική χημειοθεραπεία³⁸.

Ο ανοσοιστοχημικός προσδιορισμός γονιδιακών προϊόντων μπορεί να αποβεί χρήσιμος σε νέες ασθενείς με ΠΔΚ οι οποίες υφίστανται τροποποιημένη μαστεκτομή και ένας μόνο από τους ανευρεθέντες λεμφαδένες εμφανίζει μεταστατική εστία. Εφόσον τα κύτταρα του όγκου εκφράζουν δείκτες **αυξημένης επιδεκτικότητας** όπως *EGFR*, πρωτεΐνη *c-erbB-2* και μεταλλαγμένη πρωτεΐνη *p53* σε υψηλά ποσοστά θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρότατα υπόψη το ενδεχόμενο χορήγησης επικουρικής θεραπείας¹⁰⁰.

Οι προαναφερθέντες νέοι βιολογικοί δεί-

κτες σε καμιά περίπτωση δεν μπορούν να υποκαταστήσουν τις κλασικές κλινικοιστοπαθολογικές παραμέτρους. Απλώς, ορισμένοι από αυτούς όπως η ταυτόχρονη υπερέκφραση της ογκοπρωτεΐνης *c-erbB-2* και της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης του γονιδίου *p53*, μπορούν να προσφέρουν στον κλινικό γιατρό επιπρόσδετες διαφωτιστικές πληροφορίες ώστε εκείνος να προβλέψει όσο γίνεται πιο επιτυχώς την πορεία της κάθε ασθενούς. Είναι φανερό λοιπόν ότι για την καταλληλότερη θεραπευτική προσέγγιση της κάθε ασθενούς ξεχωριστά, επιβάλλεται τόσο η ευαισθητοποίηση του κλινικού Ογκολόγου στους νέους δείκτες που βοηθούν στον καθορισμό υποομάδων ασθενών, όσο και η στενότερη συνεννόηση και συνεργασία του με τον Παθολογοανατόμο.

SUMMARY

Clinicopathologic prognosticators in ductal breast cancer: an up -to- date review

A. Ch. Lazaris, P. S. Davaris

Dept. of Pathology, Medical Faculty, University of Athens

1. *The management of patients with ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast has become a major clinical dilemma owing to the recent trend toward breast preservation. DCIS represents a heterogeneous group with histologic and clinical differences ; therefore, predictors of recurrence are well worth investigating in each single woman. Complete excision, based on specimen radiological / mammographic correlation, and microscopic evaluation of resection margins are important determinants of local control. Determination of high risk factors [i.e. increased tumour size, high nuclear grade, presence of comedo-type necrosis as well as pair periductal fibrosis and clinical tumour detection (when taken together)] is important in predicting local failure.*

2. *As concerns ductal invasive breast cancer, the prognostic value of classic clinicopathologic indicators remains irreplaceable. Mitotic frequency counting adds prognostic information to tumour size and influences length of patients survival in groups of T_1N_0 , T_1N_1 and T_2N_0 tumours. The combination of poor nuclear grade and lymphatic vessel invasion identifies a subset of patients with T_1a,bN_0M_0 breast cancer with a significant relapse risk that warrants consideration of adjuvant systemic therapy. The predictive value of the presence of effective oestrogen and progesterone receptors in node negative tumours is associated with a favourable disease - free and overall survival difference ; however, this advantage is being eroded by the early appearance of other factors such as increased proliferative capacity and overexpression of *c-erbB-2* oncoprotein with simultaneous mutant *p53* overexpression.*

Key words: ductal invasive breast cancer, prognostic markers

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Page DL, Steel CM, Dixon JM. Carcinoma in situ. ABC of Breast Disease. BMJ 310: 39-40, 1995.
2. Aldaz CM, Chen T, Sahin A, Cunningham J, Bondy M. Comparative allelotype of in situ and invasive human breast cancer: high frequency of microsatellite instability in lobular breast carcinomas. Cancer Res 55(18): 3976-3981, 1995.
3. Silverstein MJ, Lagios MD, Craig PH et al: A Prognostic Index for Ductal Carcinoma In Situ of the Breast. Cancer 77(11): 2267-2274, 1996.
4. Hetelekidis S, Schnitt SJ, Morrow M, Harris JR. Management of ductal carcinoma in situ. CA Cancer J Clin 45(4): 224-253, 1995.
5. Warneke J, Grossklans D, Davis J et al. Influence of local treatment on the recurrence rate of ductal carcinoma in situ. J Am Coll Surg 180(6): 683-688, 1995.
6. Winchester DP, Menck HR, Osteen RT, Kraybill W: Treatment trends for ductal carcinoma in situ of the breast. Ann Surg Oncol 2(3): 207-213, 1995.
7. Silverstein MJ, Poller DN, Waisman JR et al. Prognostic classification of breast ductal carcinoma - in - situ. Lancet 345: 1154 - 1157, 1995.
8. Silverstein MJ, Barth A, Poller DN et al. Ten years results comparing mastectomy to excision and radiation therapy for ductal carcinoma in situ of the breast. Eur J Cancer 31A(9): 1425-1427, 1995.
9. White J, Levine A, Gustafson G et al. Outcome and prognostic factors for local recurrence in mammographically detected ductal carcinoma in situ of the breast treated with conservative surgery and radiation therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 31(4): 791-797, 1995.
10. Lange M, Kessel I, Kessler E, Lakier RH, Lange NR, Ross-Thompson S. Intraduct carcinoma of the breast. S Afr J Surg 32(2): 59-61, 1994.
11. Bodis S, Siziopikou K, Schnitt S, Harris JR, Fischer DE. Extensive Apoptosis in Ductal Carcinoma In Situ of the Breast. Cancer 77(9): 1831-1835, 1996.
12. Lagios MD. Ductal carcinoma in situ. Pathology and treatment. Surg Clin North Am 70: 853-871, 1990.
13. Schnitt SJ, Harris JR, Smith BL. Developing a Prognostic Index for Ductal Carcinoma In Situ of the Breast - Are We There Yet? (Editorial). Cancer 77(11): 2189-2192, 1996.
14. Page DL, Lagios MD. Pathologic Analysis of the National Surgical Adjuvant Breast Project (NSABP) B-17 Trial (Editorial/Counterpoint). Cancer 75(6): 1219-1222, 1995.
15. Susnik B, Worth A, Palcic B, Poulin N, Le Riche J. Differences in quantitative nuclear features between ductal carcinoma in situ with and without accompanying invasive carcinoma in the surrounding breast. Ann Cell Pathol 8(1): 39-52, 1995.
16. Sneige N, McNeese MD, Atkinson EN et al. Ductal Carcinoma In Situ Treated With Lumpectomy and Irradiation. Hum Pathol 26(6): 642-649, 1995.
17. Anonymous. Developing a Prognostic Index for Ductal Carcinoma In Situ of the Breast - Are We There Yet? (Correspondence). Cancer 78(5): 1138-1140, 1996.
18. Poller DN, Silverstein MJ, Galea M et al. Ductal carcinoma in situ of the breast: a proposal for a new simplified histological classification ; association between cellular proliferation and c-erbB-2 protein expression. Mod Pathol 7: 257-262, 1994.
19. Leal CB, Schmitt FC, Bento MJ, Maia NC, Lopes CS. Ductal carcinoma in situ of the breast. Histologic categorization and its relationship to ploidy and immunohistochemical expression of hormone receptors p53 and c-erbB-2 protein. Cancer 75(8): 2123-2131, 1995.
20. Bobrow LG, Happerfield LC, Gregory WM, Millis RR. Ductal carcinoma in situ: assessment of necrosis and nuclear morphology and their association with biological markers. J Pathol 176(4): 333-341, 1995.
21. Douglas-Jones AG, Schmid KW, Bier B et al. Metallothionein expression in duct carcinoma in situ of the breast. Hum Pathol 26(2): 217-222, 1995.
22. De Potter CR, Schelfhout AM, Verbeeck P et al. Neu overexpression correlates with extent of disease in large cell ductal carcinoma in situ of the breast. Hum Pathol 26(6): 601-606, 1995.
23. Siziopikou KP, Prioleau JE, Harris JR, Schnitt SJ. Bcl-2 Expression in the Spectrum of Preinvasive Breast Lesions. Cancer 77(3): 499-506, 1996.
24. Καραϊωσηφίδη Ε, Μανδάκης Α, Αρβανίτη Η και συν. Η νεοαγγειογένεση στο ενδοπρωκτικό καρκίνωμα του μαστού. Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής 9(1): 4-8, 1995.
25. Recht A, Houlihan MJ. Axillary Lymph Nodes and Breast Cancer. A Review. Cancer 76(9): 1491-1512, 1995.
26. Chung M, Chang HR, Bland KI, Wanebo HJ. Younger Women with Breast Carcinoma Have a Poorer Prognosis than Older Women. Cancer 77(1): 97-103, 1996.
27. Miller WR, Ellis IO, Sainsbury JRC, Dixon JM: Prognostic factors. ABC of Breast Diseases

- es B M J 309: 1573-1576, 1994.
28. Antonadou D. Quality assurance and quality control in operable breast cancer. International Proceedings of the Balcan Congress of Oncology - Athens 311-315, 1996.
 29. Moezzi M, Melamed J, Vamvakas E et al: Morphological and Biological Characteristics of Mammogram-Detected Invasive Breast Cancer. *Hum Pathol* 27(9): 944-948, 1996.
 30. Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology Recommendations for the Reporting of Breast Carcinoma. *Hum Pathol* 27(3): 220-224, 1996.
 31. Stancovic J, Saric M, Borojevic N, Radosevic-Jelic LJ. Quality assurance and quality control in operable breast carcinoma external beam radiotherapy treatment planning. International Proceedings of the Balcan Congress of Oncology - Athens 177-183, 1996.
 32. Mansour EG, Ravdin PM, Dressler L. Prognostic Factors in Early Breast Carcinoma. *Cancer* 74(1) (Suppl.): 381-400, 1994.
 33. Jannink I, van Diest PJ, Baak JPA. Comparison of the Prognostic Value of Four Methods to Assess Mitotic activity in 186 Invasive Breast Cancer Patients. *Hum Pathol* 26: 1086-1092, 1995.
 34. Biesterfeld S, Noll I, Noll E, Wohltmann D, Bocking A. Mitotic Frequency as a Prognostic Factor in Breast Cancer. *Hum Pathol* 26: 47-52, 1995.
 35. Frierson HF, Wolber RA, Brean KW et al. Interobserver Reproducibility of the Nottingham Modification of the Bloom and Richardson Histologic Grading Scheme for Infiltrating Ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 103(2): 195-198, 1995.
 36. Robbins P, Pinder S, de Klerk N et al. Histological Grading of Breast Carcinomas: A Study of Interobserver Agreement. *Hum Pathol* 26(8): 873-879, 1995.
 37. Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, Duncan LJ, Hutter RPV. Predictors of Recurrence for Patients with Small (one centimeter or less) Localized Breast Cancer (T1a,bN₀M₀). *Cancer* 76(11): 2266-2274, 1995.
 38. Lauria R, Perrone F, Carlomagno C et al. The Prognostic Value of Lymphatic and Blood Vessel Invasion in Operable Breast Cancer. *Cancer* 76(10): 1772-1777, 1995.
 39. Sainsbury JRC, Anderson TJ, Morgan DAL, Dixon JM. Breast Cancer ABC of Breast Diseases. *B M J* 309: 1150-1153, 1994.
 40. Gilchrist K, Gray R, Fowble B, Tormey D, Taylor S. Tumor necrosis is a histoprogностicator for early recurrence and death for Stage II breast cancer (abstract). *Lab Invest* 58: 34A, 1988.
 41. Black MM, Zaccaro RE, Hankey BF, Feuer EJ. Prognostic Significance of In Situ Carcinoma Associated with Invasive Breast Carcinoma - A Natural Experiment in Cancer Immunology? *Cancer* 78(4): 778-788, 1996.
 42. Fischer ER, Kotwal N, Hermann C, Fischer B. Types of tumor lymphoid response and sinus histiocytosis. *Arch Pathol Lab Med* 107: 222-227, 1983.
 43. Πανουσόπουλος Δ, Θεοδωρόπουλος Γ, Λάζαρης ΑΧ, Φύσσας Ι, Σταδόπουλος ΓΠ. Συχνότητα εμφάνισης και πρόγνωση αμφοτερόπλευρου καρκίνου μαστού. Πρακτικά XIX Πανελληνίου Συνεδρίου Χειρουργικής Τόμος Ι: 398 - 400, 1994.
 44. Querzoli P, Ferretti S, Albonico G et al: Application of Quantitative Analysis to Biologic Profile Evaluation in Breast Cancer. *Cancer* 76(12): 2510-2517, 1995.
 45. Goulding H, Pinder S, Cannon P et al. A New Immunohistochemical Antibody for the Assessment of Estrogen Receptor Status on Routine Formalin-Fixed Tissue Samples. *Hum Pathol* 26(3): 291-294, 1995.
 46. Traish AM, Newton AW, Styperek K, Beazley R, Kavanah M. Estrogen Receptor Functional Status in Human Breast Cancer. *Diagn Mol Pathol* 4(3): 220-228, 1995.
 47. Teixeira C, Reed JC, Prati MAC. Estrogen promotes chemotherapeutic drug resistance by a mechanism involving Bcl-2 proto-oncogene expression in human breast cancer cells. *Cancer Res* 55: 3902-3907, 1995.
 48. Nikolic-Vukosavljevic D, Brankovic-Magic M, Polic D, Vlajic M, Mitrovic H: Histological grade in relation to steroid hormone receptor content in primary breast cancer. *Journal of BUON* 2: 41-46, 1997.
 49. Takei Y, Higashira H, Yamamoto T, Hayashi K. Mitogenic activity toward human breast cancer cell line MCF-7 of two bFGFs purified from sera of breast cancer patients: co-operative role of cathepsin D. *Breast Cancer Res Treat* 43: 53-63, 1997.
 50. Lazaris ACh, Theodoropoulos GE, Diamantopoulos AK, Anastassopoulos PD, Davaris PS. Immunohistochemical Detection of Cathepsin D in Low Grade Breast Invasive Cancer. *Anti-cancer Research* 17: 2651-2656, 1997.
 51. Nadji M, Fresno M, Nassiri M, Comner G, Herrero A, Morales AR. Cathepsin D in Host Stromal Cells, but Not in Tumour cells, Is Associated with Aggressive Behavior in Node-Negative Breast Cancer. *Hum Pathol* 27(9): 890-895, 1996.
 52. Emmert-Buck MR. Cathepsin D and Prognosis in Breast Cancer: One Piece of a Large Puzzle? (Editorial) *Hum Pathol* 27(9): 869-871,

- 1996.
53. Isola J, Weitz S, Visakorpi T et al. Cathepsin D expression Detected by Immunohistochemistry Has Independent Prognostic Value in Axillary Node-Negative Breast Cancer. *J Clin Oncol* 11(1): 36-43, 1993.
 54. Kandalaf PL, Chang Kh, Ahn CW, Traweek ST, Mehta P, Bathifora H. Prognostic Significance of Immunohistochemical Analysis of Cathepsin D in Low-Stage Breast Cancer. *Cancer* 71: 2756-63, 1993.
 55. Nakopoulou L, Lazaris AC, Baltas D, Gianopoulou I, Kavantzias N, Tzonou A. Prognostic evaluation of oestrogen-regulated protein immunoreactivity in ductal invasive (NOS) breast cancer. *Virchows Arch* 427: 33-40, 1995.
 56. Alo'PL, Visca P, Marci A, Mangoni A, Botti C, di Tondo U. Expression of Fatty Acid Synthase (FAS) as a Predictor of Recurrence in Stage I Breast Carcinoma Patients. *Cancer* 77(3): 474-482, 1996.
 57. Lazaris ACh, Chatzigianni EB, Panoussopoulos D, Tzimas GN, Davaris PS, Golematis BCh. Proliferating cell nuclear antigen and heat shock protein 70 immunolocalization in invasive ductal breast cancer not otherwise specified. *Breast Cancer Res Treat* 43:43-51, 1997.
 58. Takahashi S, Mikami T, Watanabe Y et al: Correlation of Heat Shock Protein 70 Expression Receptor Levels in Invasive Human Breast Cancer. *Am J Clin Pathol* 101(4): 519-525, 1994.
 59. Ciocca DR, Clark GM, Tandor AK, Fuqua AW, Welch WJ, Mc Guire WL. Heat Shock Protein hsp70 in Patients With Axillary Lymph Node-Negative Breast Cancer: Prognostic Implications. *J Natl Cancer Inst* 85(7): 570-574, 1993.
 60. Nescovic -Konstantinovic Z, Nikolic L, Spuzic I. EGF-R content in breast cancer: the association with classical parameters of prognosis and SR status. *International Proceedings of the Balcan Congress of Oncology - Athens* 241-245, 1996.
 61. Armstrong DK, Kaufmann SH, Ottaviano YL et al. Epidermal growth factor-mediated apoptosis of MDA-MB-468 human breast cancer cells. *Cancer Res* 54: 5280-83, 1994.
 62. Tetu B, Brisson J. Prognostic Significance of HER-2/neu Oncoprotein Expression in Node-Positive Breast Cancer. *Cancer* 73(9): 2359-2365, 1994.
 63. Bacus SS, Zelnick CR, Plowman G, Yarden Y. Expression of erbB-2 Family of Growth Factor Receptors and Their Ligands in Breast Cancers. *Am J Clin Pathol (Suppl.1)*: 513-524, 1994.
 64. Molina R, Jo J, Filella X et al. C-erbB-2 Onco-protein in the Sera and Tissue of Patients with Breast Cancer. Utility in Prognosis. *Anticancer Res* 16: 2295-2300, 1996.
 65. Nakopoulou LL, Alexiadou A, Theodoropoulos GE, Lazaris ACh, Tzonou A, Keramopoulos A. Prognostic Significance of the co-expression of p53 and c-erbB-2 Proteins in Breast Cancer. *J Pathol* 179: 31-38, 1996.
 66. Haldar S, Negrini M, Monne M, Sabbioni S, Croce CM. Down-regulation of bcl-2 by p53 in breast cancer cells. *Cancer Res* 54:2095-2097, 1994.
 67. Spandidos DA, Kiaris H, Sourvinos G, Zachos G, Ergazaki M. The role of ras oncogenes and p53 onco-suppressor gene in human cancer. *International Proceedings of the Balcan Congress of Oncology - Athens* 241-245, 1994.
 68. Eriksson ET, Schimmelpenning H, Aspenblad U, Zetterberg A, Auer GU. Immunohistochemical Expression of the Mutant p53 Protein and Nuclear DNA Content During the Transmission From Benign to Malignant Breast Disease. *Hum Pathol* 25(11):1228-1233, 1994.
 69. Chaplin C, De Victor B, Andrac L et al: P53 Quantitative Immunohistochemical Analysis in Breast Carcinomas. *Hum Pathol* 26(2): 159-166, 1995.
 70. Barbareschi M, Caffo O, Veronese S et al. Bcl-2 and p53 Expression in Node-Negative Breast carcinoma: A Study With Long-Term Follow-Up. *Hum Pathol* 27(11):1149-55, 1996.
 71. Haarslev T, Krag-Jacobsen G. An Immunohistochemical Study of P53 With Correlations to Histopathological Parameters, C-erbB-2, Proliferating Cell Nuclear Antigen and Prognosis. *Hum Pathol* 26(3): 295-301, 1995.
 72. O'Malley FP, Saad Z, Kerkvliet N et al. The Predictive Power of Semiquantitative Immunohistochemical Assessment of p53 and c-erbB-2 in Lymph Node-Negative Breast Cancer. *Hum Pathol* 27(9): 955-963, 1996.
 73. Simpson JF, Page DL. Cellular Proliferation and prognosis in Breast Cancer: Statistical Purity Versus Clinical Utility (Editorial). *Hum Pathol* 25(4): 331-332, 1994.
 74. Symmans WF, Liu J, Knowles DM, Inghirami G. Breast Cancer Heterogeneity: Evaluation of Clonality in Primary and Metastatic Lesions. *Hum Pathol* 26:210-216, 1995.
 75. Amadori D, Volpi A, Maltoni R et al. Cell proliferation as a predictor of response to chemotherapy in metastatic breast cancer: A prospective study. *Breast Cancer Res Treat* 43: 7-14, 1997.
 76. Barbareschi M, Girlando S, Mauri FM. Quantitative Growth Fraction Evaluation With MIB1 and Ki67 Antibodies in Breast Carcinomas. *Am J Clin Pathol* 102(2): 171-175, 1994.
 77. Wintzer HO, Zipfel I, Schulte J et al. Ki-67

- immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer* 67: 421-428, 1991.
78. Gasparini G, Pozza F, Harris AL. Methodology of evaluation and potential usefulness of the new biological-related prognostic and predictive indicators in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 85: 1206-1219, 1993.
79. Zhang SY, Caamano J, Cooper F, Gyo X, Klein-Szanto AJP. Immunohistochemistry of Cyclin D1 in Human Breast Cancers. *Am J Clin Pathol* 102(5): 695-697, 1994.
80. Joensuu H, Pylkkänen L, Toikkanen S. Bcl-2 Protein Expression and Long-Term Survival in Breast Cancer. *Am J Pathol* 145: 1191-1198, 1994.
81. Lu QL, Abel P, Foster CS, Lalani EN. Bcl-2: Role in Epithelial Differentiation and Oncogenesis. *Hum Pathol* 27(2): 102-110, 1996.
82. Wu J. Apoptosis and Angiogenesis: Two Promising Tumor Markers in Breast Cancer (Review). *Anticancer Research* 16: 2233-2240, 1996.
83. Krajewski S, Blomqvist C, Franssila K. Reduced expression of proapoptotic gene Bax is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma. *Cancer Res* 55: 4471-4478, 1995.
84. Murray C. Tumor dormancy: not so sleepy after all. *Nature Medicine* 1: 117-118, 1995.
85. Page DL, Jensen RA. Angiogenesis in Human Breast Carcinoma: What is the Question? (Editorial) *Human Pathol* 26(11): 1173-1174, 1995.
86. Fidler IJ, Ellis LM. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis. *Cell* 79: 185-188, 1994.
87. Brown LF, Berse B, Jackman RW. Expression of Vascular Permeability Factor (Vascular Endothelial Growth Factor) and its Receptors in Breast Cancer. *Hum Pathol* 26(1): 86-91, 1995.
88. Costello P, Mc Cann A, Carney DN, Dervan PA. Prognostic Significance of Microvessel Density in Lymph Node Negative Breast Carcinoma. *Hum Pathol* 26(11): 1181-1184, 1995.
89. Goulding H, Rashid NA, Robertson JF et al. Assessment of Angiogenesis in Breast Carcinoma: An Important Factor in Prognosis? *Hum Pathol* 26(11): 1196-1200, 1995.
90. Νακοπούλου Α, Τσιτσιμελής Δ, Λάζαρης Α. & συν. "Μη μεταστατικό" γονίδιο nm23-H₁ σε διηθητικά καρκινώματα μαστού: Συσχέτιση με προγνωστικούς δείκτες. *Ιπποκράτης* 4: 168-176, 1996.
91. Giandolfo GM, Conti L, Vercillo M. Fibrinolysis Components as Prognostic Markers in Breast Cancer and Colorectal Carcinoma. *Anticancer Res* 16: 2155-2160, 1996.
92. Foekens JA, Schmitt M, van Putten WL et al. Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator in 671 primary breast cancer patients. *Cancer Res* 52: 101-107, 1992.
93. Bouchet C, Spyrtatos F, Martin PM, Hacene K, Gentle A, Oglobine J. Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitors PAI-1 and PAI-2 in breast carcinomas. *Br J Cancer* 69:398-402, 1994.
94. Γιαννοπούλου Ι, Νακοπούλου Α, Κεραμόπουλος Α & συν. Εντόπιση του m-RNA της stromelysin-1 (MMP-3) σε καρκινώματα του μαστού: σύγκριση με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και την έκφραση των πρωτεϊνών των μεταλλοπρωτεϊνών 1 και 3 (MMP-1 & MMP-3). *Ιπποκράτης* (υπό δημοσίευση).
95. Lindsay CK, Thorgeirsson UP, Tsuda H, Hirohashi S. Expression of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 and type IV Collagenase/Gelatinase Messenger RNAs in Human Breast Cancer. *Hum Pathol* 28(3): 359-366, 1997.
96. Charpin C, Garcia S, Bouvier C et al. Automated and Quantitative Immunocytochemical Assays of CD44v6 in Breast Carcinomas. *Hum Pathol* 28(3): 289-296, 1997.
97. Bacus SS, Gudkov AV, Zelnick CR et al. Neu differentiation factor (Heregulin) induces expression of intercellular adhesion molecule 1: implications for mammary tumors. *Cancer Res* 53: 5251-5261, 1993.
98. Fady C, Gardner AM, Gera JF, Lichtenstein A. Interferon - induced increase in sensitivity in ovarian cancer target to lysis by lymphokine-activated killer cells: selective effects on HER-2/neu overexpressing cells. *Cancer Res* 52: 764-769, 1992.
99. Sundblad AS, Pellicer M, Ricci L. Carcinoembryonic Antigen Expression in Stages I and II Breast Cancer: Its Relationship with Clinicopathologic Factors. *Hum Pathol* 27(3): 297-301, 1996.
100. Ostapenko V, Pipiriene T, Valukas K. Our primary experience in neoadjuvant chemotherapy of early breast cancer. *International Proceedings of the Balcan Congress of Oncology - Athens* 65-69, 1996.