



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Μελέτη βιοδεικτών για την πρόωμη διάγνωση και για την
πρόγνωση του καρκίνου του μαστού**

GRADUATE THESIS

**Study of biomarkers for early diagnosis and prognosis of
breast cancer**

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ(ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS

Ροδάνθη Χάμψα

Rodanthi Champs

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου

Fragkiski Anthouli-Anagnostopoulou

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences



GRADUATE THESIS

Study of biomarkers for early diagnosis and prognosis of breast cancer

RODANTHI CHAMPSA

18678134

bisc18678134@uniwa.gr

FIRST SUPERVISOR

FRAGKISKI ANTHOULI-ANAGNOSTOPOULOU

SECOND SUPERVISOR

NIKOLAOS THALASSINOS

THIRD SUPERVISOR

PETROS PAPAGIORGIS

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: Πέμπτη, 23 Φεβρουαρίου 20223

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Φραγκίσκη Ανθούλη- Αναγνωστοπούλου	
2 ^{ος} Εξεταστής	Νικόλαος Θαλασσινός	
3 ^{ος} Εξεταστής	Πέτρος Παπαγιώργης	

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Χάμψα Ροδάνθη του Παναγιώτη, με αριθμό μητρώου 18678134 φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ροδάνθη Χάμψα

Υπογραφή φοιτητή

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου, κυρία Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου για την βοήθεια και τον χρόνο που διέθεσε για μένα.

Αφιερώσεις

Στην οικογένειά μου που πίστεψε σε εμένα και με στήριξε σε κάθε επιλογή μου.

Περίληψη

Εισαγωγή: Οι βιοδείκτες είναι ουσίες που ανιχνεύονται σε ιστούς ή/και βιολογικά υγρά, όπως το αίμα και τα ούρα και παράγονται από φυσιολογικά ή καρκινικά κύτταρα, υποδεικνύοντας μια παθολογική ή φυσιολογική κατάσταση.

Τα τελευταία χρόνια, έχουν συσχετιστεί με διάφορους τύπους καρκίνου, έχοντας προγνωστικό, διαγνωστικό ή και κατασταλατικό ρόλο στην εξέλιξή τους.

Όσον αφορά τον καρκίνο του μαστού, οι βιοδείκτες είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι για τον εντοπισμό ατόμων σε οικογένειες υψηλού κινδύνου που έχουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου, για τον προσδιορισμό της πρόγνωσης, της αρχικής διάγνωσης, την επιλογή της καλύτερης συστηματικής θεραπείας, την μετεγχειρητική παρακολούθηση και την παρακολούθηση της θεραπείας σε προχωρημένο στάδιο.

Σκοπός: Η συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία αποσκοπεί στην μελέτη και αξιολόγηση των διαφόρων διαγνωστικών και προγνωστικών δεικτών στον καρκίνο του μαστού.

Μέθοδος: Αξιοποιήθηκαν κλινικές μελέτες και άρθρα της τελευταίας 15ετίας από τις διεθνείς βάσεις PubMed και Google Scholar σχετικά με τον καρκίνο του μαστού και τους βιοδείκτες που συμβάλλουν στην πρώιμη διάγνωση και την πρόγνωσή του.

Αποτελέσματα: Όσον αφορά την πρώιμη διάγνωση του καρκίνου του μαστού, τα επίπεδα HER2 σε υγιή άτομα κυμαίνονταν στα 2-15 ng/ml, ενώ στους ασθενείς με καρκίνο του μαστού στα 15-75 ng/ml. Παράλληλα, παρατηρήθηκαν μεταλλάξεις ορισμένων γονιδίων στους όγκους των μαστών, όπως στο Trp53 με ποσοστό 30-35% και στα BRCA1 και BRCA1 με ποσοστό 21-40%. Η πρόγνωση αποτελεί από τα πιο σημαντικά στάδια στη διαχείριση μιας νόσου, ώστε να επιλεγεί και η κατάλληλη θεραπεία της. Οι βιοδείκτες uPA και ο αναστολέας του, PAI-1, ήταν οι πρώτοι βιοδείκτες που αναγνωρίστηκε η κλινική τους αξία. Η υπερέκφρασή τους συνδέεται με υψηλό κίνδυνο υποτροπής και χαμηλές πιθανότητες επιβίωσης. Τα υψηλά επίπεδα έκφρασης οστεοποντίνης-c σχετίζονται με μετάσταση και υποτροπή όγκου, ενώ συγχρόνως η έκφραση της μαστοσφαιρίνης-α είναι υψηλότερη στον ορό των ασθενών, καθιστώντας τη χρήσιμη ως βιοδείκτη για την διάγνωση και πρόγνωσή του.

Συμπεράσματα: Αν και έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες για την εύρεση αξιόπιστων βιοδεικτών για τον καρκίνο του μαστού, η χρήση των περισσότερων δεν έχει καθιε-

ρωθεί σε κλινικό επίπεδο. Πρέπει να γίνουν περισσότερες μελέτες για την ανακάλυψη έμπιστων βιοδεικτών που θα δίνουν τη δυνατότητα πρώιμης διάγνωσης, πρόγνωσης και κατάλληλης αντιμετώπισης του.

Abstract

Introduction: Biomarkers are substances detected in tissues and/or in biological fluids, such as blood and urine, and are produced by normal or cancer cells, indicating a pathological or normal state.

In recent years have been associated with various types of cancer, having a prognostic, diagnostic or even a suppressive role in their development.

In breast cancer, biomarkers are particularly useful for identifying individuals in high-risk families who have increased possibility developing the disease and determining its prognosis, early diagnosis, the best systemic therapy, post-operative follow-up and monitoring treatment at an advanced stage.

Purpose: This thesis aims to study and evaluate different diagnostic and prognostic biomarkers in breast cancer.

Method: Clinical studies and articles from the last 15 years from the international PubMed and Google Scholar databases on breast cancer and biomarkers that contribute to its early diagnosis and prognosis were utilized.

Results: Regarding the early diagnosis of breast cancer, HER2 levels in healthy subjects were ranged from 2-15 ng/ml, while in breast cancer patients from 15-75 ng/ml. At the same time, mutations of certain genes were observed in breast tumors, such as Tp53 with a percentage of 30-35% and BRCA1 and BRCA1 with a percentage of 21-40%. Prognosis is one of the most important stages in the management of a disease, in order to choose the appropriate treatment. The biomarkers uPA and its inhibitor, PAI-1, were the first biomarkers recognized for their clinical value. Their overexpression is associated with a high risk of recurrence, and low chances of survival. High levels of osteopontin-c expression are associated with metastasis and tumor recurrence, while at the same time the expression of mammaglobin- α is higher in the serum of patients, making it useful as a biomarker for its diagnosis and prognosis.

Discussion: Although many studies have been conducted to find reliable biomarkers for breast cancer, the use of most has not been well established at a clinical level. Thus, more studies are needed in order to discover reliable biomarkers that will enable its early diagnosis, prognosis and appropriate treatment.

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες	v
Αφιερώσεις	vi
Περίληψη	viii
Abstract	x
Συνομογραφίες	xiii
Πρόλογος.....	1
Κεφάλαιο 1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	3
1.1 Ο μαστός	3
1.1.1 Ανατομία.....	3
1.1.2 Ιστολογική δομή	4
1.1.3 Λειτουργία	4
1.2 Καρκίνος του μαστού	5
1.2.1 Καλοήθεις αλλοιώσεις του μαστού	5
1.2.2 Καρκίνος.....	7
1.2.3 Τύποι καρκίνου του μαστού	8
1.2.4 Γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού.....	10
1.2.5 Αιτιολογία	14
1.2.6 Κλινική εικόνα ασθενών	16
1.2.7 Επιδημιολογία	19
1.3 Διάγνωση	24
1.3.1 Τεχνικές κλινικής απεικόνισης μαστού	24
1.3.2 Μέθοδοι μικροκυμάτων για απεικόνιση μαστού και συστήματα μέτρησης	25
Κεφάλαιο 2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	29
2.1 Βιοδείκτες	29
2.1.1 Γενικά χαρακτηριστικά.....	29
2.1.2 Κλινικές χρήσεις βιοδεικτών	30
2.1.3 Αξιολόγηση πιθανού δείκτη	32
2.1.4 Ανάπτυξη ενός υποψήφιου βιοδείκτη	32
2.1.5 Καρκινικοί βιοδείκτες.....	35
2.2 Βιοδείκτες και Καρκίνος του μαστού	40

2.2.1 Γενικές πληροφορίες.....	40
2.2.2 Οι πιο σημαντικοί βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού.....	41
2.3 Πρώιμη διάγνωση του καρκίνου του μαστού.....	48
2.3.1 Βιοδείκτες για την πρώιμη διάγνωση του καρκίνου του μαστού.....	49
2.3.2 Βιοδείκτες σε σωματικά υγρά και εκκρίματα.....	53
2.4 Πρόγνωση του καρκίνου του μαστού.....	56
2.4.1 Βιοδείκτες για την πρόγνωση του καρκίνου μαστού.....	57
2.5 Θεραπεία.....	62
2.5.1 Επικουρική Συστηματική Θεραπεία.....	63
2.5.2 Νεοεπικουρική συστηματική θεραπεία.....	66
2.5.3 Πιθανοί βιοδείκτες που προκαλούν αντίσταση στην συστηματική χημειοθεραπεία.....	68
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	72

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
ACS	American Cancer Society	Αμερικανική Κοινότητα για τον καρκίνο
AI	Aromatase Inhibitor	Αναστολέας αρωματάσης
APC	Adenomatous polyposis coli	Αδενωματώδης πολύποδας coli
ASCO	American Society of Clinical Oncology	Αμερικανική Κοινότητα Κλινικής Ογκολογίας
BC	Breast Cancer	Καρκίνος μαστού
CMI	Confocal Microwave Imaging	Ομοεστιακή απεικόνιση Μικροκυμάτων
CS	Compressive Sensing	Ανίχνευση Συμπίεσης
CYP1A1	Cytochrome P450 1A	Κυτόχρωμα P450 1A
DCIS	Ductal Carcinoma in situ	Πορογενές Καρκίνωμα in situ
DFS	Disease Free Survival	Επιβίωση χωρίς ασθένεια
DPs	Dielectric Properties	Διηλεκτρικές ιδιότητες
EGFR	Epidermal growth factor receptor	Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα
EGTM	European Group on Tumor Markers	Ευρωπαϊκή ομάδα δεικτών όγκου
ER	Estrogen Receptor	Υποδοχέας οιστρογόνου
FGF	Fibroblast growth factor	Αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών
HMI	Holographic microwave imaging	Ολογραφική απεικόνιση μικροκυμάτων
IBC	Inflammatory Breast Cancer	Φλεγμονώδης Καρκίνος μαστού
IDC NST	Invasive Ductal Carcinoma	Διθητικό Πορογενές Καρκίνωμα Μη Ειδικού Τύπου
ILC	Invasive Lobular Carcinoma	Διθητικό Λοβιακό Καρκίνωμα
iTRAQ	Isobaric tag for relative and absolute quantitation	Ισοβαρική ετικέτα για σχετική και απόλυτη ποσοτικοποίηση
LCIS	Lobular Carcinoma in situ	Λοβιακό Καρκίνωμα in situ
MI	Microwave Imaging	Απεικόνιση Μικροκυμάτων
MIST	Microwave Imaging via Space Time	Απεικόνιση μικροκυμάτων μέσω του χρόνου
MRI	Magnetic Resonance Imaging	Απεικόνιση Μαγνητικού Συγχρονισμού
MSA	Multi-static adaptive	Πολυστατική προσαρμογή
MSI	Microsatellite instability	Μικροδορυφορική αστάθεια
MWT	Microwave Tomography	Τομογραφία Μικροκυμάτων
NAC	Neoadjuvant Chemotherapy	Νεοεπικουρική χημειοθεραπεία
NAF	Nipple aspirate fluid	Έκκριση θηλής
NCI	National Cancer Institute	Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου
OS	Overall Survival	Συνολικό ποσοστό επιβίωσης
PET	Positron Emission Tomography	Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων
PML	Promyelocytic leukemia	Προμυελοκυτταρική λευχαιμία Ειδικό για τον προστάτη αντιγόνο Υποδοχέας
PSA	Prostate-specific antigen	ρετινοϊκού οξέος άλφα
RARA	Retinoic acid receptor alpha	Ραδιοσυχνότητα
RF	Radio Frequency	Ραδιοσυχνότητα
SNIPs	Single nucleotide polymorphisms	Πολυμορφισμοί απλού νεοκλιτιδίου
TSAR	Tissue Sensing Adaptive Radar	Προσαρμοστικό Ραντάρ Ανίχνευσης ιστών
uPA	Urokinase plasminogen activator	Ενεργοποιητής πλασμινογόνου ουροκινάσης

UWB	Ultrawideband	Υπερ-ευρυζώνη
WCRF	World Cancer Research Fund	Παγκόσμιο Ταμείο Έρευνας για τον Καρκίνο
XRCC1	X-ray cross complementing group 1protein	Διασταυρούμενη συμπληρωματική πρωτεΐνη ακτίνων Χ της ομάδας 1

Πρόλογος

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί την πιο κοινή διηθητική κακοήθεια και τη δεύτερη κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες, κυρίως ως αποτέλεσμα της μακράς διαγνωστικής διαδικασίας και της αναποτελεσματικότητας των διαθέσιμων θεραπευτικών επιλογών. Επομένως, η έγκαιρη διάγνωση και η ικανότητα παρακολούθησης της ανταπόκρισης στη θεραπεία είναι ζωτικής σημασίας. Διακρίνεται σε διηθητικός, στον οποίο ο καρκίνος διασπώντας τη βασική μεμβράνη μεταφέρεται στα κύτταρα του μαστού και σε μη διηθητικός, όπου ο καρκίνος δεν έχει επεκταθεί μακριά από το λοβό ή τους πόρους που βρίσκεται. Με βάση την έκφραση του υποδοχέα HER2 και των ορμονικών υποδοχέων PR και ER, χωρίζεται σε ER-θετικός, HER2-θετικός και σε τριπλά αρνητικός. Η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό, αλλά και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες συμβάλλουν σημαντικά στην εμφάνισή του.

Το επίκεντρο της έρευνας για τον καρκίνο του μαστού τις τελευταίες δεκαετίες ήταν η ανακάλυψη αξιόπιστων βιοδεικτών, ιδιαίτερα νέων μοριακών θεραπευτικών στόχων, που θα επέτρεπαν τον έλεγχο, την έγκαιρη αναγνώριση του ασθενούς, την πρόβλεψη επιθετικότητας της νόσου και την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στο θεραπευτικό σχήμα. Οι πρωτεϊνικοί δείκτες είναι πιο αξιόπιστοι από αυτούς που βασίζονται σε DNA ή RNA, καθώς οι πρωτεΐνες είναι υπεύθυνες για τις περισσότερες λειτουργίες των κυττάρων. Ο υποδοχέας οιστρογόνου (ER), ο υποδοχέας προγεστερόνης (PR) και το HER2 είναι δείκτες για τον σχεδιασμό της θεραπείας, το CA 15-3, το CA 27.29 και το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο είναι βιοδείκτες για παρακολούθηση και το uPA και το PAI-1 είναι βιοδείκτες για την πρόβλεψη του κινδύνου υποτροπής.

Η επιλογή συστηματικής θεραπείας βασίζεται στην πιθανότητα υποτροπής. Τα συστηματικά φάρμακα για τους ασθενείς με χειρουργήσιμο καρκίνο του μαστού ήταν αποτελεσματικά και πλέον αποτελούν τυπική φροντίδα. Η επικουρική συστηματική θεραπεία αντιμετωπίζει λανθάνουσες μικρομεταστάσεις με απώτερο σκοπό την παράταση της επιβίωσης του ασθενούς και χορηγείται μετά από χειρουργική επέμβαση, ενώ η νεοεπιχειρητική συστηματική θεραπεία αφορά τοπικά προχωρημένο καρκίνο του μαστού χωρίς απομακρυσμένες μεταστάσεις και λαμβάνεται πριν από χειρουργική επέμβαση.

Κεφάλαιο 1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Ο μαστός

1.1.1 Ανατομία

Ο μαστός είναι ένας τροποποιημένος ιδρωτοποιός αδένας του υποδόριου ιστού, ο οποίος βρίσκεται μπροστά από το θωρακικό τοίχωμα, εκτείνεται από τη 2^η έως την 7^η πλευρά και προσφύεται με συνδετικό ιστό με τη μασχαλιαία, τη θωρακική και την επιπολής κοιλιακή περιτονία. Εκτός από μια προεξοχή του άνω και έξω τεταρτημόριου, την ουρά του Sprence, ο μαζικός αδένας έχει δισκοειδές σχήμα και περιβάλλεται από δέρμα και περιμαστικό λίπος¹. Ο αδενικός ιστός αποτελείται από 12 έως 20 λοβούς, όπου ο καθένας υποδιαιρείται σε 20 έως 40 λόβια, τα οποία με τη σειρά τους υποδιαιρούνται σε αδενικά λοβίδια και πόρους, σχηματίζοντας την τελική πορολοβιακή μονάδα του μαζικού αδέν^{1,2}. Ο ινώδης συνδετικός ιστός, ο οποίος χωρίζει τους λοβούς μεταξύ τους, συγκεντρώνεται σε ορισμένα σημεία, δημιουργώντας τους συνδέσμους του Cooper. Αυτοί, σε συνδυασμό με το πέταλο της επιπολής θωρακικής περιτονίας, βοηθούν στην στήριξη των μαστών. Παράλληλα, κάθε λοβός έχει το δικό του γαλακτοφόρο πόρο, ο οποίος εκβάλλει στη θηλή.

Η θηλή αποτελεί έπαρμα δέρματος του μαστού με ύψος από 1 έως 1,5 εκατοστά. Βρίσκεται λίγο πιο έξω και κάτω από το μέσο του μαστού και έχει καστανέρυθρο χρώμα λόγω της παρουσίας μελανίνης ουσίας. Το δέρμα της θηλής περιέχει αρκετούς αποκρινείς και σμηγματογόνους ιδρωτοποιούς αδένες, ενώ συγχρόνως στην κορυφή της διαθέτει 15 έως 20 στόμια για την κατάληξη των γαλακτοφόρων πόρων. Γύρω της υπάρχει η θηλαία άλως, μια υποστρόγγυλη, χρωματισμένη περιοχή με διάμετρο 15 έως 60 χιλιοστά³.

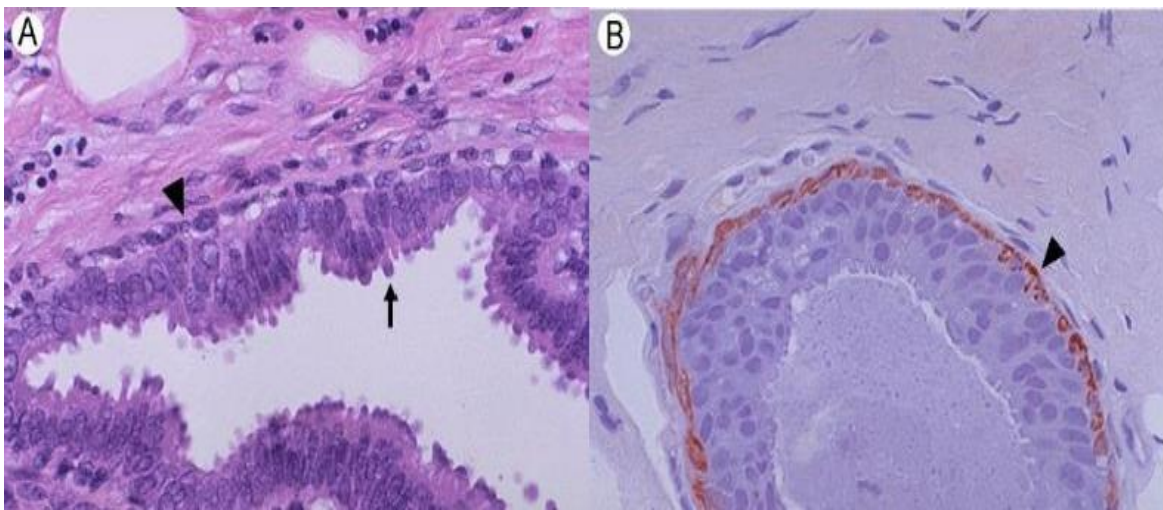
Η αρτηριακή αιμάτωση του μαστού γίνεται από την έσω θωρακική αρτηρία, από κλάδους της μασχαλιαίας αρτηρίας, όπως η ανώτερη, η πλάγια θωρακική και η υποπλάτιος, αλλά και από τις οπίσθιες μεσοπλεύριες αρτηρίες. Αντίστοιχη με την αρτηριακή είναι και η φλεβική παροχέτευση του μαστού.

Τα λεμφαγγεία του μαστού διαιρούνται σε επιπολής, υποδόρια και εν τω βάθει, τα οποία εκβάλλουν κυρίως στους μασχαλιαίους λεμφαδένες ανάλογα με τη σχέση τους με τον ελάσσονα θωρακικό¹.

1.1.2 Ιστολογική δομή

Οι μαστικοί 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 1). 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 άλω είναι άφθονη σε αισθητικές νευρικές ίνες⁴.



Εικόνα 1: 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.

Robert A. Jesinger, *Breast Anatomy for the Interventional*, *Techniques in Vascular and Interventional Radiology*⁵

1.1.3 Λειτουργία

Οι μαστοί αποτελούν αδενικά όργανα ευαίσθητα στις ορμονικές αλλαγές του σώματος. Υιοθετούν κυκλικές αλλαγές σε συγχρονισμό με τον έμμηνο κύκλο⁶. Είναι όργανο που αντιπροσωπεύει την θηλυκότητα, ενώ συγχρόνως υπόκειται σε ποικίλες μορφολογικές και

λειτουργικές μεταβολές που έχουν σχέση με την κύηση, την γαλουχία αλλά και την εμμηνοπαυση³. Έχουν μοναδική θέση και λειτουργούν μόνο κατά την περίοδο της γαλουχίας⁷.

1.2 Καρκίνος του μαστού

1.2.1 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

i. 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.

ii. 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.

iii. 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.

- Λοιμώσεις

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

i. Πορεκτασία

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

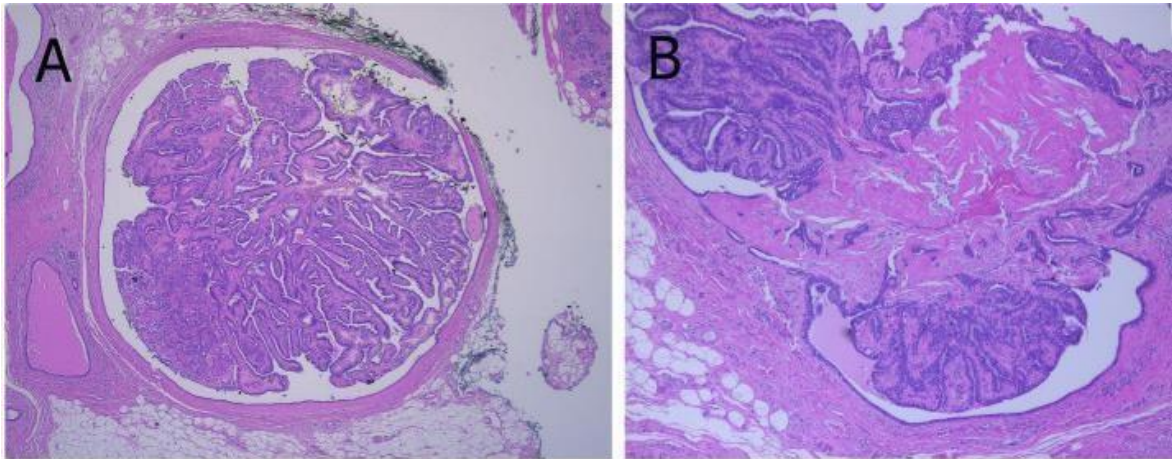
ii. Τραυματική λιπονέκρωση

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

i. 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 2). Εμφανίζεται κυρίως με έκκριμα της θηλής, ενώ πιο σπάνια ως ένα οζίδιο μέσα στο μαστό⁷.



Εικόνα 2. Θηλώμα σε μεγάλο πόρο (κεντρική θέση) που δείχνει σκληρωτικές περιοχές Kulka J, Madaras L, Floris G, Lax SF. Papillary lesions of the breast. *Virchows Arch.* 2022 ⁸

ii. 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 επιθηλίου⁷.

1.2.2 Καρκίνος

Ο καρκίνος είναι μια ομάδα ασθενειών που χαρακτηρίζεται από την ανεξέλεγκτη ανάπτυξη και επέκταση μη φυσιολογικών κυττάρων που θέτουν τη ζωή του ατόμου σε κίνδυνο, ακόμα και σε θάνατο αν δεν αντιμετωπιστεί καταλλήλως και εγκαίρως. Ενώ τα φυσιολογικά κύτταρα αυξάνουν, διαιρούνται και πεθαίνουν με ελεγχόμενο τρόπο, τα καρκινικά κύτταρα αντιστέκονται στην απόπτωση, προκαλούν μεταστάσεις και πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα παρουσία ή μη αυξητικών παραγόντων. Το φαινόμενο της μετατροπής ενός φυσιολογικού κυττάρου σε καρκινικό ονομάζεται κακοήθεια. Οι πιο συχνοί καρκίνοι στον κόσμο είναι ο καρκίνος του πνεύμονα, του δέρματος, του παχέος εντέρου, της ουροδόχου κύστης και του μαστού. Σε παγκόσμιο επίπεδο, ερευνάται ότι, περίπου 1 στους 6 θανάτους οφείλεται σε καρκίνο⁹.

1.2.3 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 σπάνιος⁹. Η ευαισθητοποίηση για τον καρκίνο του μαστού, η προσοχή του κοινού και η πρόοδος στην απεικόνισή του έχει θετικό αντίκτυπο στην αναγνώριση και τον προ-συμπτωματικό 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 καρκίνο³.

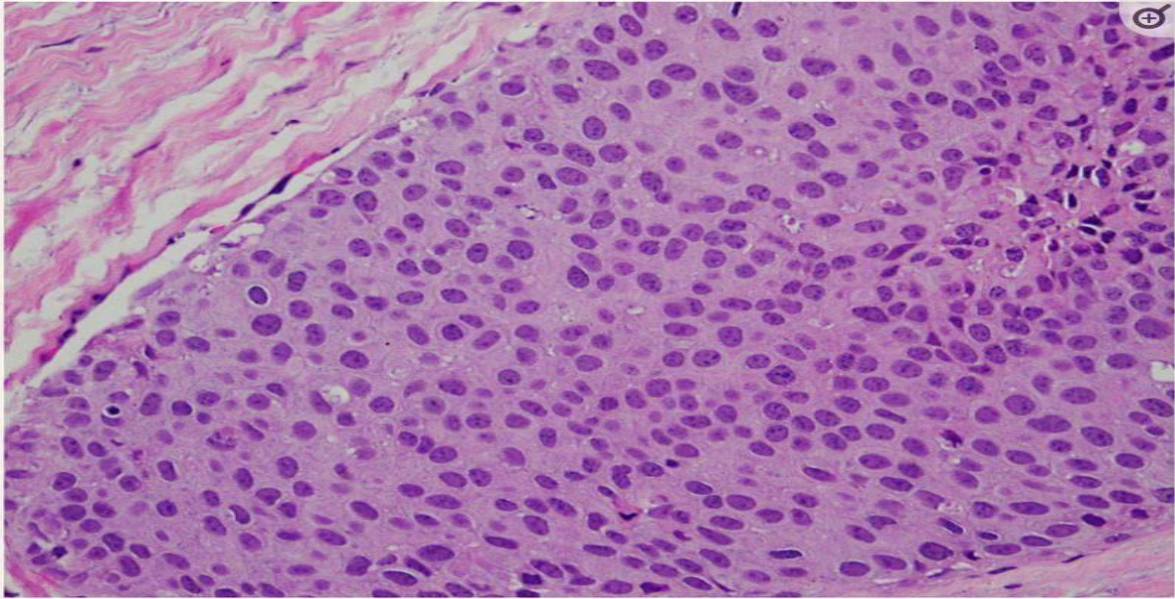
Ο καρκίνος του μαστού διακρίνεται σε διηθητικός και μη διηθητικός:

- Μη διηθητικός τύπος

Είναι ένας καρκίνος που δεν έχει επεκταθεί μακριά από το λοβό ή τους πόρους όπου βρίσκεται¹⁰. Η λέξη "in situ" περιγράφει "στη θέση". Παρόλο που τα άτυπα κύτταρα δεν έχουν επεκταθεί στους ιστούς έξω από τους λοβούς ή τους πόρους, μπορούν να εξελιχθούν και να εξελιχθούν σε διηθητικό καρκίνο του μαστού. Είναι γνωστό ότι το καρκίνωμα in situ του μαστού προέρχεται από την τελική πορολοβιακή μονάδα. Παρ'όλα αυτά, αναγνωρίζονται δύο τύποι, το πορογενές και το λοβιακό^{3,9}.

i. 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 3). Αντιθέτως, στις ασυμπτωματικές γυναίκες η συχνότητα ταυτοποίησής του αγγίζει το 20 έως 25%, μέσω των προγραμμάτων ελέγχου. Η παρουσία μικροασβεστώσεων βοηθά στην ανίχνευση του πορογενούς καρκίνου in situ, μέσω του μαστογραφικού ελέγχου, όταν είναι ακόμα μικρό και απαιτεί θεραπεία⁷.



Εικόνα 3. Εστιακή διήθηση από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος σε καρκίνωμα του πόρου *in situ* (DCIS) (20x αντικειμενικός με χρήση κάμερας Nikon DP27 με χρήση λογισμικού CellSens) Badve SS, Gökmen-Polar Y. Ductal carcinoma in situ of breast: update 2019¹¹

ii. Λοβιακό καρκίνωμα *in situ* (LCIS)

Αυτός ο τύπος καρκίνου του μαστού εξελίσσεται σε λοβούς του μαστού¹². Βέβαια ο συγκεκριμένος όρος θεωρείται παραπλανητικός καθώς δεν αποτελεί σταθερά μια πρόδρομη μορφή διηθητικού καρκίνου⁷.

- Διηθητικός τύπος

Διηθητικός είναι ο καρκίνος ο οποίος διασπώντας τη βασική μεμβράνη, μεταφέρεται στα κύτταρα του μαστού, αλλά και στους ιστούς που τον περιβάλλουν¹³. Τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να περάσουν μέσω του μαστού σε διάφορα μέρη του σώματος μέσω του ανοσοποιητικού συστήματος ή της συστηματικής κυκλοφορίας¹⁴. Ο επιπολασμός του καρκίνου του μαστού αυξάνεται γρήγορα με την αύξηση της ηλικίας¹⁵. Ο διηθητικός καρκίνος του μαστού που εκτείνεται σε διαφορετικά όργανα του σώματος αναγνωρίζεται επίσης ως μεταστατικός καρκίνος του μαστού¹⁶. Τα πιο κοινά όργανα στα οποία εξαπλώνονται αυτά τα κύτταρα είναι ο εγκέφαλος, τα οστά, οι πνεύμονες και το ήπαρ. Αυτά τα κύτταρα για άλλη μια φορά διαχωρίζονται και επεκτείνονται ακανόνιστα και παράγουν νέους καρκίνους. Τα νεοσχηματιζόμενα κύτταρα αναπτύσσονται σε διαφορετικό μέρος του σώματος, εξακολουθούν να είναι καρκίνος του μαστού¹⁷.

i. Διηθητικό Καρκίνωμα Μη Ειδικού Τύπου-Πορογενές (IDC)

Αποτελεί το πιο συχνό διηθητικό καρκίνωμα του μαστού, με συχνότητα άνω του 50%. Το IDC προέρχεται από τους γαλακτοφόρους πόρους του μαστού και εκτείνεται μέχρι το τοίχωμα του πόρου, εισβάλλοντας στους λιπώδεις ιστούς του μαστού και πιθανώς σε άλλα μέρη του σώματος.

ii. Διηθητικό Λοβιακό Καρκίνωμα (ILC)

Η συχνότητά του αγγίζει το 10-15% όλων των διηθητικών καρκινωμάτων. Συνήθως οι όγκοι είναι μαλθακοί με μη καθορισμένο περίγραμμα, καθιστώντας δύσκολη την ψηλάφηση, αλλά και την μακροσκοπική ταυτοποίηση τους. Το ILC προέρχεται από τους γαλακτοφόρους αδένες (λοβούς) του μαστού, αλλά συχνά επεκτείνεται και σε άλλες περιοχές του σώματος.

iii. 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 καρκινώματος⁷.

iv. Μυελοειδές Καρκίνωμα

Το καρκίνωμα είναι ένας διηθητικός καρκίνος του μαστού που σχεδιάζει ένα διακριτό περιθώριο φυσιολογικού ιστού και μυελικού ιστού και είναι σπάνιο¹⁸.

v. Βλεννώδες ή Κολλοειδές Καρκίνωμα

Είναι ένας ασυνήθιστος καρκίνος του μαστού που δημιουργείται από τα καρκινικά κύτταρα που σχηματίζουν βλέννα¹⁹.

1.2.4 Γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού

Η υπόθεση των καρκινικών βλαστοκυττάρων και η στοχαστική θεωρία είναι δύο εικασιακές εξηγήσεις για την εμφάνιση και εξάπλωση του καρκίνου του μαστού²⁰. Σύμφωνα με την αντίληψη για τα καρκινικά βλαστοκύτταρα, όλοι οι τύποι όγκων προέρχονται από

τα ίδια βλαστοκύτταρα ή κύτταρα που ενισχύουν τη μετάβαση (προγονικά κύτταρα). Διαφορετικοί φαινότυποι όγκου μπορεί να προκύψουν από επίκτητες γενετικές και επιγενετικές αλλοιώσεις σε βλαστοκύτταρα ή προγονικά κύτταρα. Σύμφωνα με τη στοχαστική θεωρία, κάθε υπότυπος όγκου προέρχεται από έναν συγκεκριμένο τύπο κυττάρου (βλαστοκύτταρο, προγονικό κύτταρο ή διαφοροποιημένο κύτταρο). Οποιοδήποτε κύτταρο μαστού μπορεί σταδιακά να λάβει τυχαίες μεταλλάξεις που, όταν συσσωρευτούν αρκετές μεταλλάξεις, θα αναγκάσουν το κύτταρο να γίνει κύτταρο όγκου. Και οι δύο ιδέες έχουν ουσιαστικά γεγονότα που τις υποστηρίζουν, αλλά καμία δεν μπορεί να εξηγήσει πλήρως την αιτία του ανθρώπινου καρκίνου του μαστού. Υπάρχουν πολλά γονίδια που έχουν συνδεθεί με τον καρκίνο του μαστού. Οι μεταλλάξεις ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων και η μη φυσιολογική επέκτασή τους παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξάπλωση των όγκων²¹.

- HER2

Το πρωτο-ογκογονίδιο HER2 κωδικοποιεί μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη 185 kDa (p185HER2) με εγγενή δραστηριότητα κινάσης τυροσίνης. Η ενίσχυση του γονιδίου HER2 και η υπερέκφραση του προϊόντος του προκαλούν μετασχηματισμό κυττάρων. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει την προγνωστική σημασία του p185HER2, το οποίο υπερεκφράζεται στο 10% έως 40% των όγκων του ανθρώπινου μαστού. Πρόσφατα δεδομένα υποδηλώνουν ότι ο p185HER2 είναι ένας υποδοχέας συνδέτη που ενισχύει το σήμα που παρέχεται από άλλους υποδοχείς της οικογένειας HER ετεροδιμερίζοντας μαζί τους. Η εξαρτώμενη από συνδέτη ενεργοποίηση των HER1, HER3 και HER4 από EGF ή ερεγκουλίνη έχει ως αποτέλεσμα ετεροδιμερισμό και, ως εκ τούτου, ενεργοποίηση HER2. Η υπερέκφραση του HER2 σχετίζεται με την ανταπόκριση των ασθενών με καρκίνο του μαστού στη δοξορουβικίνη, στην κυκλοφωσφαμίδη, τη μεθοτρεξάτη και τη φθοριοουρακίλη (CMF) και στην πακλιταξέλη, ενώ η ταμοξιφαίνη βρέθηκε να είναι αναποτελεσματική και ακόμη και επιζήμια σε ασθενείς με HER2 θετικούς όγκους. Αναλύσεις in vitro έδειξαν ότι ο ρόλος της υπερέκφρασης του HER2 στον προσδιορισμό της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων στα φάρμακα είναι πολύπλοκος και τα μόρια που εμπλέκονται στο μονοπάτι σηματοδότησης είναι πιθανώς οι πραγ-

ματικοί πρωταγωνιστές της ευαισθησίας στα φάρμακα. Η συσχέτιση της υπερέκφρασης του HER2 με τους ανθρώπινους όγκους, η εξωκυτταρική του προσβασιμότητα, καθώς και η εμπλοκή του στην επιθετικότητα του όγκου είναι όλοι παράγοντες που καθιστούν αυτόν τον υποδοχέα κατάλληλο στόχο για ειδικές θεραπείες για όγκους²².

- BRCA1/2

Δύο πολύ γνωστά ογκοκατασταλτικά γονίδια για τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού είναι τα γονίδια 1 και 2 (BRCA1 και BRCA2). Τα γονίδια BRCA βρίσκονται στα χρωμοσώματα 13q12 και 17q21, αντίστοιχα. Και οι δύο κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμποδίζουν την ανάπτυξη του όγκου²¹. Η απόπτωση τελικά προκύπτει από την εξάντληση του BRCA1, η οποία προκαλεί επίσης ανώμαλο διπλασιασμό του κεντροσώματος, γονιδιωματική αστάθεια και απορύθμιση του σημείου ελέγχου του κυτταρικού κύκλου. Με έναν εξαρτώμενο από το E2F τρόπο, οι «πρωτεΐνες τσέπης» όπως η p107, η p130 και η πρωτεΐνη του αμφιβληστροειδούς βλαστώματος καταστέλλουν την έκφραση του BRCA1²³. Αλληλεπιδρώντας με τα RAD51 και DMC1, η πρωτεΐνη BRCA2 ελέγχει την ανασυνδυαστική επιδιόρθωση σε θραύσματα διπλής αλυσίδας DNA. Τα υψηλού βαθμού διηθητικά καρκινώματα του πόρου με φαινότυπο αυλού είναι πιο διαδεδομένα σε καρκίνους του μαστού που συνδέονται με το BRCA2 από άλλους υπότυπους. Εάν ένα άτομο κληρονομήσει επιβλαβείς μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 ή BRCA2, ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του μαστού θα μπορούσε να αυξηθεί σημαντικά. Αν και το δεύτερο αλληλόμορφο είναι φυσιολογικό, οι μεταλλάξεις BRCA1/2 κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο. Οι μεταλλάξεις BRCA1/2 ευθύνονται για το 5-10% όλων των καρκίνων του μαστού και περίπου το 20-25% των κληρονομικών καρκίνων του μαστού, αντίστοιχα²⁴.

- EGFR

Στο κοντό σκέλος του χρωμοσώματος 7, βρίσκεται το γονίδιο EGFR. Είναι επίσης γνωστό ως c-erbB-1 ή Her1 στους ανθρώπους (7p12). Η πρωτεΐνη EGFR, μέλος της οικογένειας των γλυκοπρωτεϊνών της κυτταρικής επιφάνειας της τυροσινικής κινάσης, ενεργοποιείται με δέσμευση σε ουσίες όπως EGF, TGF-, αμφιρεγκουλίνη, βητακυτταρίνη και άλλες²¹. Πάνω από το 30% των περιπτώσεων φλεγμονώδους καρκίνου του μαστού (IBC), ενός εξαιρετικά επιθετικού υποτύπου καρκίνου του μαστού, εμφανίζουν

υπερέκφραση του EGFR. Οι ασθενείς με IBC που είναι θετικοί για EGFR έχουν χειρότερη πρόγνωση από εκείνους που είναι αρνητικοί για EGFR²⁵.

- c-Myc

Αυτό το γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη Myc, έναν μεταγραφικό παράγοντα με τον τομέα bHLH/LZ, βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 8 (8q24). Σύμφωνα με ανάλυση σε όλο το γονιδίωμα, η πρωτεΐνη Myc ελέγχει το 15% όλων των γονιδίων, ως επί το πλείστον δεσμεύοντας στο E-box consensus (CACGTG) και στρατολογώντας ακετυλοτρανσφεράσες ιστόνης (HATs) ή μεθυλοτρανσφεράσες DNA²⁶. Μερικά από τα ρυθμιζόμενα από το Myc γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των MTA1, hTERT και PEG10, είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη και εξάπλωση του καρκίνου του μαστού. Αν και δεν υπάρχει πολλαπλασιασμός c-Myc σε καλοήθεις ιστούς, η υπερέκφραση του c-Myc παρατηρείται κυρίως στο υψηλού βαθμού, διεισδυτικό στάδιο των καρκινωμάτων του μαστού²⁷.

Ο καρκίνος του μαστού χωρίζεται με βάση την έκφραση του υποδοχέα 2 του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα του ανθρώπου (HER2) και των ορμονικών υποδοχέων, ήτοι των προγεστερονικών (PR) και των οιστρογονικών (ER) υποδοχέων.

- ER-θετικός (50-65% των καρκίνων, HER2-αρνητικός)
- HER2-θετικός (10-20% των καρκίνων, ER-αρνητικός ή θετικός)
- Τριπλά αρνητικός (10-20% των καρκίνων, ER-,PR- και HER2-αρνητικός)

Εντυπωσιακές είναι οι διαφορές που εμφανίζουν αυτές οι τρεις ομάδες όσον αφορά τα παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά, τον τρόπο μετάστασης, την απόκριση στη θεραπεία, τον χρόνο υποτροπής αλλά και την έκβαση της νόσου.

Ένα άλλο σύστημα ταξινόμησης βασίζεται στη γονιδιακή έκφραση και χρησιμοποιείται κυρίως στα πλαίσια της κλινικής έρευνας.

- Τύπος A αυλικών κυττάρων: η πλειοψηφία είναι ER-θετικοί καρκίνοι χαμηλότερου βαθμού κακοήθειας (μπορεί να είναι HER2-αρνητικοί)
- Τύπος B αυλικών κυττάρων: η πλειοψηφία είναι ER-θετικοί καρκίνοι χαμηλότερου βαθμού κακοήθειας (μπορεί να είναι HER2-θετικοί)
- Εμπλουτισμένοι σε HER2: η πλειοψηφία υπερεκφράζει HER2 και όχι ER
- Τύπου βασικών κυττάρων: η πλειοψηφία τους μοιάζει με μυοεπιθηλιακά κύτταρα της βασικής στιβάδας και είναι HER2- και ER- αρνητικοί²⁸.

1.2.5 Αιτιολογία

Οι πιθανότητες εμφάνισης καρκίνου του μαστού αυξάνονται ραγδαία με την ηλικία μέσω της προ-εμμηνοπαυσιακής και σταθερά κατά τη διάρκεια της μετεμμηνοπαυσιακής ζωής και παρατηρείται σπάνια πριν από την ηλικία των 20 ετών. Η ύπαρξη καρκίνου σε έναν μαστό, κάνει 4 φορές μεγαλύτερη την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου και στον άλλο, ενώ στους ασθενείς με ιστορικό καρκίνου των ωοθηκών, του ενδομητρίου ή του παχέος εντέρου αυξάνεται 1 με 2 φορές η πιθανότητα ανάπτυξης καρκινώματος του μαστού. Έχοντας έναν καλοήγη όγκο στο στήθος μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού με το να γίνει κακοήθης. Οι παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού είναι:

- Η έλλειψη έκθεσης στον ήλιο καθώς και η ανεπάρκεια βιταμίνης D θεωρείται ότι είναι καρκίνου του μαστού
- Οι παχύσαρκες γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση μπορεί να έχουν υψηλό κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού καθώς αυξάνονται οι λιπώδεις ιστοί, παράγοντας μια ορμόνη (οιστρογόνα).
- Αλκοολισμός
- Ηλικία και φύλο, όπου ο καρκίνος του μαστού σπάνια εμφανίζεται σε ηλικία μικρότερη των 25 ετών, αλλά η επίπτωσή του αυξάνει ταχέως μετά την ηλικία των 30 ετών. Το 5% των γυναικών με καρκίνο του μαστού είναι κάτω από 40 ετών, ενώ το 75% πάνω από 50 ετών.
- Περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η ιοντίζουσα ακτινοβολία, η οποία συμβάλλει στην ανάπτυξη καρκίνου του μαστού εάν η έκθεση συμβεί κατά την περίοδο ανάπτυξης του μαστού⁹.
- Γεωγραφικοί παράγοντες, καθώς ο κίνδυνος είναι υψηλότερος στην Αμερική και την Ευρώπη, από ότι στην Ασία και Αφρική. Αυτό οφείλεται στο διαφορετικό διατροφολόγιο, πρακτικές θηλασμού και σε διαφορές στην αναπαραγωγική δραστηριότητα. Η συχνότητα καρκίνου του μαστού είναι επίσης υψηλή σε χώρες που έχουν υιοθετήσει τις συνήθειες του Δυτικού κόσμου.
- Η εθνικότητα παίζει αξιοσημείωτο ρόλο στην εμφάνιση καρκίνου, αφού οι γυναίκες καταγόμενες από την Ευρώπη, λόγω αυξημένης επίπτωσης των ER-θετικών καρκίνων, παρουσιάζουν υψηλότερη επίπτωση του καρκίνου του μαστού, ενώ οι

γυναίκες στην Αφρική και Νότια Αμερική έχουν τάση ανάπτυξης καρκίνου σε μικρότερη ηλικία. Αυτές οι διαφορές οφείλονται σε έναν συνδυασμό γενετικών διαφορών και στην πρόσβαση υγειονομικής φροντίδας.

- Το ιστορικό αναπαραγωγικής κατάστασης, δηλαδή η μη τεκνοποίηση, η πρώιμη έναρξη της εμμηνου ρύσεως, αλλά και η εγκυμοσύνη σε μεγαλύτερη ηλικία συμβάλλουν στην ανάπτυξη καρκίνου του μαστού.
- Γυναίκες με ιστορικό καρκίνου του μαστού στην οικογένειά τους είναι 2 με 4 φορές πιο επιρρεπείς σε αυτόν. Όσον αφορά μέλη 1^{ου} βαθμού, δηλαδή την μητέρα, την αδελφή ή την κόρη, η εμφάνιση καρκίνου του μαστού αποτελεί μεγάλη απειλή, αλλά και σε μέλη 2^{ου} βαθμού, θεία ή γιαγιά δηλαδή, η πιθανότητα εμφάνισης είναι επίσης μεγάλη.
- Ο καρκίνος του μαστού είναι μια πιθανότητα που οφείλεται σε δύο γονίδια, τα BRCA1 και BRCA2. Σε συνδυασμένη μελέτη 22 ερευνητών, 11 συμφώνησαν ότι οι γυναίκες με το γονίδιο BRCA1 στην ηλικία των 70 ετών έχουν 65% πιθανότητα να αναπτύξουν καρκίνο του μαστού, ενώ εκείνες με το γονίδιο BRCA2 έχουν 45% πιθανότητα²⁸.

Μετά την προσβολή, ο καρκίνος του μαστού εξαπλώνεται σταθερά σε άλλα μέρη του σώματος, στους πνεύμονες, στο ήπαρ, στα οστά και τελικά στον εγκέφαλο να είναι τα πιο συχνά επηρεαζόμενα.

Τα ακόλουθα είναι πιθανοί κίνδυνοι καρκίνου του μαστού:

- Εάν ο καρκίνος εξαπλωθεί στο ήπαρ, μπορεί να προκαλέσει σοβαρό οίδημα, ίκτερο και πρήξιμο. Σε πολύ προχωρημένα στάδια, μπορεί επίσης να οδηγήσει σε κίρρωση του ήπατος, η οποία μπορεί να είναι θανατηφόρα.
- Πάχυνση του ιστού του μαστού, αλλά και φαγούρα, ξηρότητα και σκασμένο δέρμα γύρω από το στήθος.
- Έλλειψη όρεξης, απότομη απώλεια βάρους και κόπωση.
- Οι καρκινικοί όγκοι του πνεύμονα μπορεί να αναπτυχθούν και να οδηγήσουν σε χρόνια βήχα, πνευμονία και βρογχίτιδα. Επιπλέον, μπορεί να οδηγήσει σε δύσπνοια και αναπνευστικά προβλήματα.

- Σε μεταγενέστερα στάδια, όταν επηρεάζει το σκελετικό και το μυϊκό σύστημα, οδηγεί σε δυσκαμψία των αρθρώσεων, μυϊκό πόνο και πιθανότητα για κατάγματα καθώς και κινητικά προβλήματα.
- Στο τελευταίο του στάδιο, μπορεί να εξαπλωθεί στον εγκέφαλο, όπου μπορεί να τον βλάψει και να οδηγήσει σε άνοια, επιληπτικές κρίσεις, πονοκεφάλους, δυσκολίες στην ομιλία, ακόμη και τύφλωση.

1.2.6 Κλινική εικόνα ασθενών

Τα σημεία και συμπτώματα του καρκίνου του μαστού περιλαμβάνουν την εμφάνιση:

- Ένα νέο εξόγκωμα ή μάζα
- Αλλαγή στο μέγεθος ή το σχήμα του μαστού και επίμονος πόνος στο στήθος ή στη μασχάλη

Άλλα πιθανά συμπτώματα:

- Δερματικοί ερεθισμοί
- Πρήξιμο του μαστού
- Πόνος στη θηλή ή στο στήθος
- Η θηλή γυρίζει προς τα μέσα ή κοκκινίζει
- Πάχυνση και απολέπιση στήθους

Η ιατρική απεικόνιση, οι προληπτικές εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένων μαστογραφιών, υπερήχων και μαγνητικής τομογραφίας μαστού χρησιμοποιούνται συχνά για τον εντοπισμό του καρκίνου του μαστού. Μια βιοψία και άλλες μέθοδοι που μπορούν να βοηθήσουν στην ανίχνευση του καρκίνου του μαστού στα πρώτα του στάδια χρησιμοποιούνται επίσης συχνά για την επιβεβαίωση της διάγνωσης.

Η γνώση των σημείων και των συμπτωμάτων του καρκίνου του μαστού είναι σημαντική και η έγκαιρη διάγνωση είναι το κλειδί για να του παρέχουμε την καλύτερη διαθέσιμη φροντίδα.

Στάδια καρκίνου του μαστού:

Το μέγεθος, ο τύπος και το βάθος στο οποίο τα κύτταρα του όγκου έχουν διεισδύσει στους ιστούς του μαστού καθορίζουν το στάδιο του καρκίνου του μαστού (Πίνακας 1).

Το στάδιο 0 αναφέρεται σε μη διηθητικούς όγκους, ενώ το στάδιο 4 αναφέρεται σε διηθητικούς όγκους.

- Στάδιο 0:

Το πορογενές καρκίνωμα *in situ* είναι ένα παράδειγμα μη διηθητικού σταδίου όγκου στο οποίο τόσο καρκινικά όσο και μη καρκινικά κύτταρα υπάρχουν εντός των ορίων της περιοχής του μαστού όπου εμφανίζεται για πρώτη φορά ο όγκος και δεν υπάρχουν ενδείξεις εισβολής στους ιστούς γύρω από αυτήν την περιοχή (DCIS).

- Στάδιο 1:

Το στάδιο I περιγράφει τον διηθητικό καρκίνο του μαστού (τα καρκινικά κύτταρα διαπερνούν ή εισβάλλουν στον φυσιολογικό περιβάλλοντα ιστό του μαστού). Αυτό το στάδιο χαρακτηρίζεται από μικρομετάσταση σε λεμφαδένα φρουρό, που βρίσκεται κοντά στον όγκο. Εμπίπτει σε δύο κατηγορίες: το στάδιο 1A και το στάδιο 1B. Η κατηγορία 1A αναφέρεται σε όγκους μεγέθους έως 2 cm χωρίς να εμπλέκονται λεμφαδένες, ενώ το στάδιο 1B αναφέρεται σε μια μικρή ομάδα καρκινικών κυττάρων μεγαλύτερα από 0,2 mm που ανακαλύφθηκαν σε έναν λεμφαδένα.

- Στάδιο 2:

Υπάρχουν επίσης δύο κατηγορίες στο Στάδιο 2: 2A και 2B. Το στάδιο 2A απεικονίζει έναν όγκο που εντοπίζεται στον φρουρό ή στους μασχαλιαίους λεμφαδένες αλλά όχι στον μαστό. Το μέγεθος του όγκου μπορεί να κυμαίνεται από λιγότερο από 2 cm έως περισσότερο από 5 cm. Το στάδιο 2B, ωστόσο, δηλώνει ότι ο όγκος μπορεί να ξεπεράσει τα 5 cm σε μέγεθος αλλά δεν μπορεί να φτάσει στους μασχαλιαίους λεμφαδένες.

- Στάδιο 3:

Έχει χωριστεί στις τρεις υποκατηγορίες 3A, 3B και 3C. Το στάδιο 3B περιγράφει έναν όγκο οποιουδήποτε μεγέθους που έχει προκαλέσει οίδημα ή έλκος στο δέρμα του μαστού και έχει εξαπλωθεί σε έως και 9 μασχαλιαίους λεμφαδένες ή σε λεμφαδένες φρουρού, ενώ το στάδιο 3A περιγράφει έναν όγκο που δεν βρίσκεται στο στήθος αλλά μπορεί να βρίσκεται σε 4 έως 9 μασχαλιαίους λεμφαδένες ή σε φρουρούς λεμφαδένες. Ο καρκίνος του μαστού σταδίου 3B μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως φλεγμονώδης, καθώς παρουσιάζει κόκκινο, θερμαινόμενο και πρησμένο δέρμα του μαστού. Το στάδιο 3C, ωστόσο, αναφέρεται στην εξέλιξη του όγκου σε 10 ή περισσότερους μασχαλιαίους λεμφαδένες, καθώς και στους λεμφαδένες.

- Στάδιο 4:

Αυτό το στάδιο του καρκίνου είναι προχωρημένο και μεταστατικό και απεικονίζει πώς η ασθένεια έχει εξελιχθεί σε πολλά όργανα του σώματος, συμπεριλαμβανομένων των πνευμόνων, των οστών, του ήπατος, του εγκεφάλου και άλλων⁹.

Πίνακας 1. Στάδια καρκίνου του μαστού

<http://www.examnotes.com/cancer%20breast%20staging.html>²⁹

Στάδια καρκίνου του μαστού

Στάδιο	Μέγεθος όγκου	Λεμφαδένες	Μετάσταση
Στάδιο 1A	≤ 20 mm	Κανένας	Καμία
Στάδιο 1B	≤ 20 mm	Μετάσταση σε λεμφαδένα (>0.2 mm <2.0 mm)	Καμία
Στάδιο IIA	≤ 20 mm > 20 mm ≤ 50 mm	N1 Κανένας	Καμία Καμία
Στάδιο IIB	> 20 mm ≤ 50 mm > 50 mm	N1 Κανένας	Καμία
Στάδιο IIIA	≤ 50 mm > 50 mm	N2 N1 or N2	Καμία
Στάδιο IIIB	Επέκταση στο θωρακικό τοίχωμα και / ή στο δέρμα	N0 - N2	Καμία
Στάδιο IIIC	Απροσδιόριστο μέγεθος	N3	Καμία
Στάδιο IV	Απροσδιόριστο μέγεθος	Διασπορά στους λεμφαδένες	Ανιχνεύσιμη

N0 = καμία περιφερειακή μετάσταση στους λεμφαδένες

N1 = 1-3 εμπλεκόμενοι μασχαλιαίοι λεμφαδένες και / ή λεμφαδένες φρουροί που ανιχνεύονται με βιοψία

N2 = 4-9 εμπλεκόμενοι μασχαλιαίοι λεμφαδένες ή κλινικά ανιχνεύσιμοι λεμφαδένες φρουροί σε περίπτωση απουσίας προσβολής των μασχαλιαίων λεμφαδένων

N3 = Μετάσταση σε ομόπλευρους υποκλείδιους λεμφαδένες, με ή χωρίς προσβολή μασχαλιαίου λεμφαδένα σταδίου I - II, σε κλινικά ανιχνευμένους ομόπλευρους λεμφαδένες φρουρούς με κλινικά εμφανείς μεταστάσεις μασχαλιαίου λεμφαδένα σταδίου I - II, ή σε ομόπλευρους υπερκλείδιους λεμφαδένες με ή χωρίς εμπλοκή μασχαλιαίων λεμφαδένων ή λεμφαδένων φρουρών

American Joint Committee on Cancer 7th Edition. *Breast Cancer Staging*.

1.2.7 Επιδημιολογία

- Παγκοσμίως

Ο καρκίνος του μαστού είναι ένας από τους πιο διαδεδομένους κακοήθεις όγκους στον κόσμο, αντιπροσωπεύοντας το 10,4% όλων των περιπτώσεων καρκίνου και είναι η κύρια αιτία θνησιμότητας για τις γυναίκες μεταξύ 20 και 50 ετών, ενώ εξακολουθούν να υπάρχουν περιφερειακές διαφορές μεταξύ άλλων εθνών³¹.

Σε σύγκριση με τις Ηνωμένες Πολιτείες και τις ευρωπαϊκές χώρες, οι ασιατικές χώρες όπως η Κίνα και η Ιαπωνία έχουν χαμηλότερα ποσοστά θανάτου από καρκίνο του μαστού³² (Πίνακας 2).

Επιπλέον, όταν μετανάστες από περιοχές χαμηλής θνησιμότητας μετακινούνται σε έθνη με υψηλότερα ποσοστά, τόσο η συχνότητα εμφάνισης όσο και η θνησιμότητα από καρκίνο του μαστού αυξάνονται, υποδεικνύοντας ότι οι περιβαλλοντικές μεταβλητές και οι επιλογές του τρόπου ζωής μπορεί να είναι κρίσιμες για την αιτιολογία της νόσου³⁰.

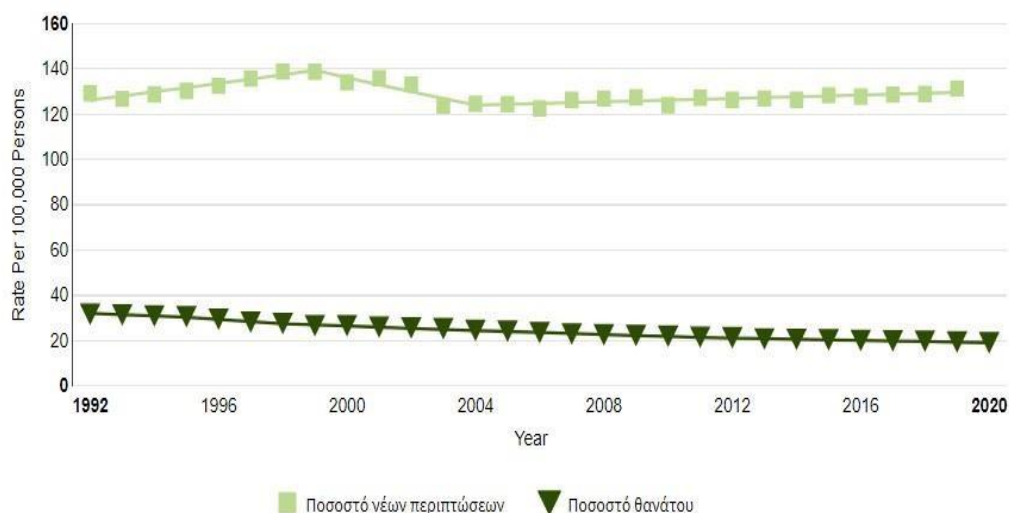
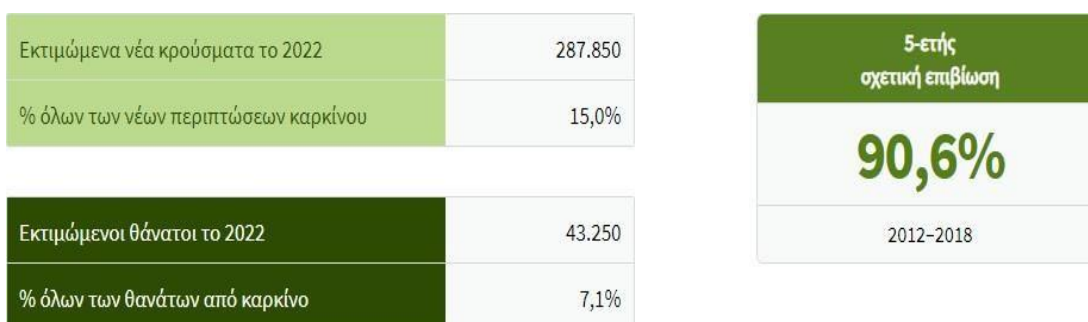
Μεταξύ του 2006 και 2015, τα ποσοστά εμφάνισης καρκίνου του μαστού αυξήθηκαν για τις μη ισπανόφωνες λευκές και τις ισπανόφωνες γυναίκες κατά 0,3% έως 0,4% ετησίως, για τις μη ισπανόφωνες μαύρες και τις ιθαγενείς Ινδιάνες/Αμερικάνικες γυναίκες της Αλάσκας κατά 0,7% έως 0,8% ετησίως και για γυναίκες από νησιά Ασίας/Ειρηνικού κατά 1,8% ετησίως³³. Η μείωση της ισοτιμίας και η επιδημία της παχυσαρκίας μπορεί και οι δύο να συνέβαλαν σε αυτήν την εξέλιξη. Παρόλα αυτά, το συνολικό ποσοστό επιβίωσης για τον καρκίνο του μαστού αυξάνεται, φτάνοντας το 90%. Σύμφωνα με τη γενική μείωση της θνησιμότητας από καρκίνο μετά το υψηλό του 1991, η οποία προκλήθηκε κυρίως από τις γρήγορες αυξήσεις των θανάτων από καρκίνο του πνεύμονα στους άνδρες ως αποτέλεσμα της πανδημίας του καπνού, το ποσοστό θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού πράγματι μειώθηκε κατά 40% από το 1989 έως το 2016. Μετά από αυτό, το ετήσιο ποσοστό θνησιμότητας από καρκίνο μειώθηκε τακτικά κατά 1,5%, με αποκορύφωμα τη συνολική μείωση κατά 27% από το 2016³⁰. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το 20% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού που ανακαλύφθηκαν πρόσφατα είναι ER-αρνητικά.

Σε σύγκριση με τον καρκίνο του μαστού ER +, οι όγκοι ER + έχουν συνδεθεί με χειρότερο ποσοστό επιβίωσης 5 έως 10 ετών και η χημειοπρόληψη με ταμοξιφαίνη ήταν ιδιαίτερα επιτυχής στη μείωση του κινδύνου όγκων ER + αλλά όχι όγκων ER³⁴.

Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση διαπίστωσε ότι η μεσογειακή διατροφή (με ή χωρίς αλκοόλ) είχε σταθερά αντίστροφη σχέση με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού μετά την εμμηνόπαυση. Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να αποδοθεί στα υψηλά επίπεδα διαιτητικών ινών, αντιοξειδωτικών και βιταμινών της Μεσογειακής διατροφής, τα οποία μπορεί να βοηθήσουν στη μείωση της φλεγμονής, του οξειδωτικού στρες και της βλάβης του DNA³⁵. Επιπλέον, δεδομένου ότι και τα δύο συνδέονται στενότερα με το ER από τον καρκίνο του μαστού ER +, η αντίσταση στην ινσουλίνη και ο γλυκαιμικός έλεγχος, τα οποία επηρεάζονται θετικά από τη μεσογειακή διατροφή, είναι πιθανό να βρίσκονται στο μονοπάτι³⁰.

Πίνακας 2. Οι νέες περιπτώσεις προέρχονται από το SEER 12. Ονησιμότητα των ΗΠΑ. Οι τιμές είναι προσαρμοσμένες ανάλογα με την ηλικία. Όλες οι φυλές. Γυναίκες.

<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>³⁶



- Ευρώπη

Τόσο η καρδιαγγειακή ισχαιμία όσο και οι ορμονοεξαρτώμενες κακοήθειες, όπως ο καρκίνος του μαστού, έχουν βαθμιδωτή κατανομή στην Ευρώπη από επιδημιολογική άποψη, με μεγαλύτερη συχνότητα στις βόρειες χώρες και συνεχή μείωση στα νότια μέρη³⁷ (Εικόνα 4).

Αυτή η κλίση μπορεί να αντανακλά διαφορές στον τρόπο ζωής και, ειδικότερα, στις διατροφικές συνήθειες των υπό εξέταση χωρών, ευνοώντας τα νότια έθνη όπου, τουλάχιστον τις τελευταίες δεκαετίες, ο μεσογειακός τρόπος ζωής έχει υιοθετηθεί ευρύτερα.

Ένας πιο υγιεινός τρόπος ζωής και διατροφή μπορεί να αποτρέψει περίπου το 30% των περιπτώσεων καρκίνου, σύμφωνα με το Παγκόσμιο Ταμείο Έρευνας για τον Καρκίνο (WCRF), το οποίο εκτιμά ότι 3-4 εκατομμύρια περιπτώσεις καρκίνου θα μπορούσαν να σωθούν παγκοσμίως³⁸.

Η διατροφή έχει λάβει σημαντική έρευνα ως τροποποιήσιμος παράγοντας του τρόπου ζωής που μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη καρκίνου, νευρολογικής νόσου ή καρδιαγγειακής νόσου. Με εξαίρεση την ιδέα ότι η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ είναι παράγοντας κινδύνου τόσο για τον καρκίνο του μαστού όσο και για τον καρκίνο γενικά, τα επιδημιολογικά στοιχεία για την επίδραση συγκεκριμένων διατροφικών παραγόντων στον καρκίνο γενικά και στον καρκίνο του μαστού ειδικότερα εξακολουθούν να είναι αντιφατικά, παρά την ευρεία συμφωνία ότι διατροφικοί παράγοντες σχετίζονται με την καρδιαγγειακή νόσο. Ο συνδυασμός διαφόρων θρεπτικών συστατικών στα γεύματα και διαφόρων τροφών στη διατροφή μπορεί να οδηγήσει σε συνεργικές αλληλεπιδράσεις ικανές να επηρεάσουν πολύπλοκα βιολογικά μονοπάτια, ενθαρρύνοντας ή προστατεύοντας τα άτομα από τον καρκίνο. Ωστόσο, η δίαιτα είναι πολύ περισσότερα από την απλή κατανάλωση τροφών ή θρεπτικών συστατικών³⁰.

Ένα κοινό διατροφικό σχήμα για την περιοχή της Μεσογείου είναι η παραδοσιακή μεσογειακή διατροφή. Ο Αμερικανός επιστήμονας Ancel Keys, ο οποίος περιέγραψε πρώτος τις διατροφικές συνήθειες των μεσογειακών ανθρώπων που ζουν στη Νότια Ιταλία, πιστώνεται ότι ανέπτυξε αυτό το διατροφικό μοντέλο. Ο Keys εντυπωσιάστηκε από την παρατήρηση ότι αυτοί οι άνθρωποι συνήθιζαν να καταναλώνουν ορισμένα συγκεκριμένα τρόφιμα πιο συχνά από τους συμπατριώτες του Αμερικανούς ή εκείνους που ζούσαν στις βόρειες χώρες της Ευρώπης. Τόνισε επίσης ότι, το 1960, τα ποσοστά θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο για μεσήλικες άνδρες στην Ιταλία ήταν λιγότερο από τα μισά από αυτά

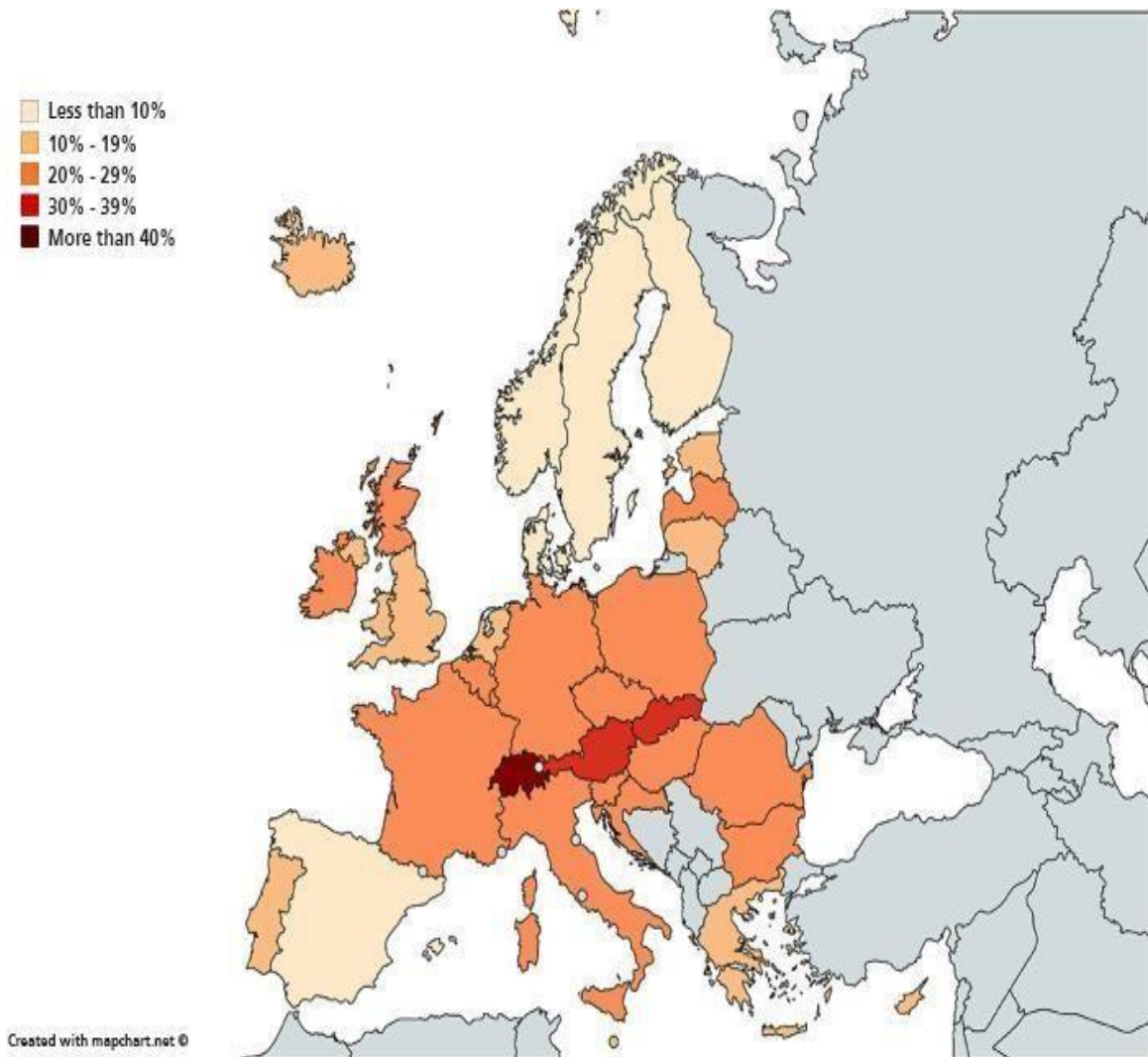
των ΗΠΑ. Επιπλέον, οι κάτοικοι της Μεσογείου είχαν χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα, που είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για αθηροσκληρωτική νόσο. Αυτά τα ευρήματα επέτρεψαν στον Keys να δημιουργήσει μια σύνδεση μεταξύ των διατροφικών επιλογών και του κινδύνου στεφανιαίας νόσου και η μετέπειτα έρευνά του θα είχε επικεντρωθεί στην εύρεση απόδειξης αυτής της συσχέτισης. Τα βασικά συστατικά της μεσογειακής διατροφής είναι μια μεγάλη ποικιλία φρούτων και λαχανικών, δημητριακά ολικής αλέσεως, δημητριακά, ξηροί καρποί, όσπρια, ψάρια, ελαιόλαδο ως κύρια πηγή λίπους και η μέτρια κατανάλωση κρασιού, κατά προτίμηση στα γεύματα. Από την άλλη πλευρά, αυτό το μοτίβο περιλαμβάνει χαμηλή πρόσληψη κρέατος και γαλακτοκομικών προϊόντων. Ο παραδοσιακός τρόπος ζωής των μεσογειακών κατοίκων καθοριζόταν επίσης από τη μέτρια έως έντονη σωματική δραστηριότητα, η οποία γινόταν κυρίως κατά τις ώρες εργασίας, οι οποίες ήταν κατά κύριο λόγο αγροτικού χαρακτήρα εκείνη την εποχή³⁹.

Η μεσογειακή διατροφή έχει συσχετιστεί με χαμηλότερο κίνδυνο σοβαρών χρόνιων ασθενειών όπως καρδιαγγειακές και εγκεφαλοαγγειακές παθήσεις και νευρολογικές παθήσεις από τις αρχικές μελέτες του Keys. Η μεσογειακή διατροφή και ο τρόπος ζωής μπορεί επίσης να μειώσουν τη θνησιμότητα και τον κίνδυνο καρκίνου. Για έναν συνολικό πληθυσμό άνω των 12.800.000 ατόμων, μια πρόσφατη ομπρέλα ανασκόπηση 13 μετα-αναλύσεων μελετών παρατήρησης και 16 μετα-αναλύσεων RCT παρήγαγε ισχυρές ενδείξεις για χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου σε άτομα με την υψηλότερη προσκόλληση στη Μεσογειακή διατροφή. Η ανασκόπηση εξέτασε τη σχέση μεταξύ της τήρησης της μεσογειακής διατροφής και 37 διαφορετικών αποτελεσμάτων υγείας.

Λόγω των καθιερωμένων δεσμών της με μειωμένο κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων και γενικής θνησιμότητας, η μέτρια χρήση αλκοόλ περιλαμβάνεται στη βαθμολογία της μεσογειακής διατροφής ως προληπτικός παράγοντας.

Από την άλλη πλευρά, η χαμηλή έως μέτρια κατανάλωση αλκοόλ έχει συνδεθεί με μια ελαφρά αύξηση του κινδύνου καρκίνου του μαστού, όπως προκύπτει από το μεσογειακό διατροφικό περιβάλλον. Η μελέτη EPIC είναι η μόνη μεγάλη μελέτη που περιελάμβανε πληροφορίες από 23 κέντρα σε 10 διαφορετικά ευρωπαϊκά έθνη (Δανία, Γαλλία, Γερμανία, Ελλάδα, Ολλανδία, Ιταλία, Νορβηγία, Ηνωμένο Βασίλειο, Ισπανία και Σουηδία). Εξέτασε τη σχέση μεταξύ της τήρησης μιας προσαρμοσμένης βαθμολογίας MD, εξαιρουμένου του αλκοόλ, και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού τόσο σε προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες όσο και σε όγκους με διάφορες καταστάσεις ορμονικών υποδοχέων.

Ανακάλυψαν ότι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η υψηλότερη προσκόλληση στην Μεσογειακή διατροφή σχετιζόταν με μειωμένη συχνότητα καρκίνου του μαστού και ότι αυτή η συσχέτιση μπορεί να είναι ισχυρότερη για τους καρκίνους ER/PR³⁰.



Εικόνα 4. Ποσοστό θανάτων από καρκίνο του μαστού που θα μπορούσαν να προληφθούν επιπλέον εάν η κάλυψη των εξετάσεων αυξανόταν στο 100%, ανά ευρωπαϊκή χώρα*. *Το Βέλγιο απεικονίζεται ως μία χώρα, ενώ στον υπολογισμό περιλαμβάνονται τρεις εξαιρετικά αυτόνομες περιφέρειες η Φλάνδρα, η Βαλλονία και οι Βρυξέλλες. Αυτές οι περιοχές έχουν πολύ διαφορετικά προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου για τον καρκίνο του μαστού με αποτέλεσμα πολύ διαφορετικά αποτελέσματα μιας αυξημένης συνολικής κάλυψης εξετάσεων. Μόνο 8 από τα 26 ελβετικά καντόνια έχουν οργανώσει προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου για τον καρκίνο του μαστού, γεγονός που προκαλεί σημαντική διακύμανση στην κατανομή του οργανωμένου σε σχέση με τον ευκαιριακό προσυμπτωματικό έλεγχο μεταξύ των περιφερειών. Σε εθνικό επίπεδο, η συνολική κάλυψη εξετάσεων ήταν μόνο 25% το 2015 σύμφωνα με τον εθνικό εμπειρογνώμονα. Έτσι, μια εθνική κάλυψη εξετάσεων 100% θα μείωνε περαιτέρω τους θανάτους από καρκίνο του μαστού κατά 44%.

Zielonke N, Kregting LM, Heijnsdijk EAM, Veerus P, Heinävaara S, McKee M, de Kok IMCM, de Koning HJ, van Ravesteijn ⁴⁰

1.3 Διάγνωση

1.3.1 Τεχνικές κλινικής απεικόνισης μαστού

Η μαστογραφία, η μαγνητική τομογραφία, το υπερηχογράφημα, το PET, ο ΜΙ του μαστού και η βιοψία είναι μερικές μόνο από τις διαγνωστικές τεχνικές που έχουν εξεταστεί από ερευνητές για τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού σε πρώιμο στάδιο⁴¹.

- Μαστογραφία:

Το ACS συνιστά ετήσιες μαστογραφίες για γυναίκες από την ηλικία των 40 ετών και είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για γυναίκες μεταξύ 40 και 74 ετών. Η μαστογραφία έχει υψηλό ποσοστό ψευδώς θετικών και ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων, ιδιαίτερα σε άτομα με παχύ στήθος. Η ηλικία, η εθνικότητα, το προσωπικό ιστορικό, η εμπειρία ακτινολόγου και η ποιότητα της τεχνικής επηρεάζουν το πόσο ευαίσθητη είναι μια μαστογραφία.

Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και εκείνες με ιστό μαστού υψηλής πυκνότητας μπορεί να έχουν λιγότερη αίσθηση. Η μαστογραφία έχει μια σειρά από μειονεκτήματα, όπως η χρήση ιονίζουσας ακτινοβολίας, η άβολη εξέταση, η ακαταλληλότητα ατόμων με πυκνούς μαστούς και τα σχετικά υψηλά ποσοστά ψευδώς θετικών και ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. Η μαστογραφία μπορεί να μην είναι τόσο χρήσιμη όσο αρχικά πιστευόταν επειδή, στην πραγματικότητα, μείωσε μόνο τα ποσοστά θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού κατά 0,0004%. Πρόσφατα, η ψηφιακή μαστογραφία CE έχει χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετη μέθοδος προ-συμπτωματικού ελέγχου μαστού στη μαστογραφία. Παράγει κάπως περισσότερη ακτινοβολία από τη μαστογραφία και χρησιμοποιεί ενδοφλέβιες ενέσεις ιωδίου σκιαγραφικού. Σε σύγκριση με τη μαστογραφία και τον υπέρηχο, η μαστογραφία CE είναι πιο ευαίσθητη, αποδίδει καλύτερα και έχει καλύτερη ακρίβεια ανίχνευσης⁴².

- Υπέρηχος:

Το υπερηχογράφημα μαστού είναι μια συχνά χρησιμοποιούμενη και προσιτή μέθοδος προ-συμπτωματικού ελέγχου που εντοπίζει κακοήθειες αντανakλώντας ηχητικά κύματα από τον ιστό του μαστού. Ένας μορφοτροπέας υπερήχων χρησιμοποιείται συνήθως για τη μέτρηση των ακουστικών κυμάτων που ανακλώνται από το στήθος προκειμένου να προσδιοριστεί η δομή του ανθρώπινου μαστού. Το υπερηχογράφημα μαστού βοηθά στην ανίχνευση κύστεων και συμπαγών μαζών και βελτιώνει τα ποσοστά ανίχνευσης καρκίνου για άτομα υψηλού κινδύνου για τη νόσο, αλλά είναι λιγότερο αποτελεσματικό από τη μαστογραφία συνολικά. Για όσους έχουν υψηλό κίνδυνο να αναπτύξουν καρκίνο του μαστού,

τις έγκυες γυναίκες και τα άτομα που δεν μπορούν να υποβληθούν σε μαστογραφία, το υπερηχογράφημα μαστού συνιστάται ως προσθήκη στη μαστογραφία⁴³. Όταν χρησιμοποιείται υπερηχογράφημα μαστού εκτός από τη μαστογραφία, η ευαισθησία της απεικόνισης βελτιώνεται σε βάρος της μειωμένης ειδικότητας και των υψηλότερων ποσοστών βιοψίας. Ωστόσο, επειδή τα ακουστικά χαρακτηριστικά υγιών και κακοήθων ιστών είναι τόσο παρόμοια, το υπερηχογράφημα μαστού συχνά παραλείπει κακοήθειες. Επιπλέον, απαιτεί ειδικευμένους ακτινολόγους, γεγονός που έχει σημαντικό αντίκτυπο στην ευαισθησία και την ειδικότητα⁴¹.

- MRI:

Χρησιμοποιώντας ένα υψηλό μαγνητικό πεδίο και μεταδόσεις ραδιοσυχνοτήτων, η μαγνητική τομογραφία παρέχει εικόνες σε διάφορες διατομές και μπορούν να χρησιμοποιηθούν παράγοντες αντίθεσης για την ενίσχυση της ανάλυσης της εικόνας. Η μαγνητική τομογραφία μαστού δεν συνιστάται για τον γενικό πληθυσμό λόγω του υψηλού ποσοστού ψευδώς θετικών, του υψηλού κόστους, της δέσμευσης χρόνου, του ανεπαρκούς αριθμού μονάδων, της απαίτησης για ειδικευμένους ακτινολόγους και της έλλειψης κλινικής χρησιμότητας. Η μαγνητική τομογραφία μαστού δεν συνιστάται για άτομα με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού. Το ACS έχει δημοσιεύσει συστάσεις για τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας ως συμπλήρωμα στη μαστογραφία και έχει ενημερωθεί ότι ορισμένες υποομάδες πληθυσμού, όπως αυτές που φέρουν τη μετάλλαξη BRCA και εκείνες που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο καρκίνου του μαστού, υποβάλλονται σε ετήσιες εξετάσεις MRI⁴⁴.

Σε ασθενείς με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού, η μαγνητική τομογραφία είναι λιγότερο ειδική αλλά πιο ευαίσθητη στην εύρεση μικροσκοπικών βλαβών από τη μαστογραφία και τον υπέρηχο.

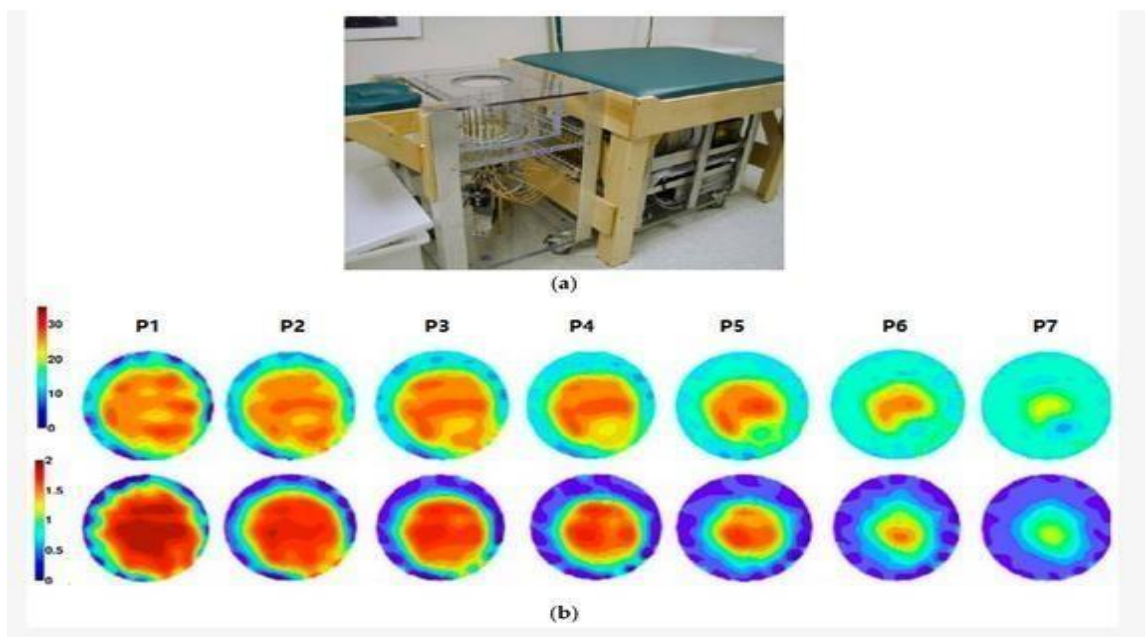
1.3.2 Μέθοδοι μικροκυμάτων για απεικόνιση μαστού και συστήματα μέτρησης

Οι δύο κύριες κατηγορίες τεχνικών MI είναι οι παθητικές και οι ενεργητικές. Οι ενεργητικές προσεγγίσεις μπορούν περαιτέρω να χωριστούν σε τομογραφία μικροκυμάτων και MI με βάση το ραντάρ. Η ραδιομετρία χρησιμοποιείται στον παθητικό MI για να μετρήσει τη διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ υγιών και καρκινικών κυττάρων. Στην περιοχή υψηλού MHz έως χαμηλών GHz, ο ενεργός MI αξιολογεί τη διαφορά στις διηλεκτρικές ιδιότητες

(DPs) μεταξύ του φυσιολογικού ιστού και του καρκινικού ιστού. Μια νέα μέθοδος μαστογραφίας για την ανίχνευση του καρκίνου του μαστού είναι ο ενεργός MI.

- Τομογραφία μικροκυμάτων:

Προκειμένου να εντοπιστούν οι καρκινικοί ιστοί, η τομογραφία μικροκυμάτων (MWT), η οποία μπορεί να χωριστεί σε τεχνικές μονής συχνότητας και πολλαπλών συχνοτήτων, δίνει ποσοτικά δεδομένα για τις διηλεκτρικές ιδιότητες του μαστού (Εικόνα 5). Το σύστημα μέτρησης είναι δύσκολο να εκτελεστεί πρακτικά και απαιτεί μεγάλους χρόνους συλλογής δεδομένων. 16 μονοπολικό αισθητήρες τοποθετήθηκαν σε μια κυλινδρική διάταξη στο σύστημα. Για να μειωθούν οι θόρυβοι σύζευξης, η περιοχή μεταξύ του μαστού και των αισθητήρων ραδιοσυχνότητας γεμίστηκε με διάλυμα γλυκερίνης και νερού. Τα αποτελέσματα από κλινικές δοκιμές έδειξαν ότι μπορεί να βρεθούν όγκοι με διάμετρο 1 cm, επιβεβαιώνοντας τη δυνατότητα του MI για αναγνώριση καρκίνου του μαστού σε πρώιμο στάδιο. Το κύριο μειονέκτημα της τεχνολογίας που βασίζεται σε MWT είναι η υψηλή υπολογιστική επιβάρυνση. Τα μαγνητικά νανοσωματίδια έχουν χρησιμοποιηθεί πρόσφατα ως παράγοντες αντίθεσης στο MWI του μαστού και οι τεχνικές ανίχνευσης συμπίεσης (CS) έχουν χρησιμοποιηθεί για την απεικόνιση της μαγνητικής αντίθεσης που δημιουργείται εντός του μαστού προκειμένου να αυξηθεί η ακρίβεια και η ειδικότητα του MWT για τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού.



Εικόνα 5. (α) Πρωτότυπο MWT πολλαπλών συχνοτήτων. (β) Ανακατασκευασμένες εικόνες του δεξιού μαστού σε διαφορετικές συχνότητες (επάνω σειρά - διαπερατότητα και κάτω σειρά - αγωγιμότητα)

<https://doi.org/10.3390/s17071572>⁴¹

- Απεικόνιση μικροκυμάτων με βάση το ραντάρ

Υπάρχουν πέντε κατηγορίες τεχνικών MI που βασίζονται σε ραντάρ: ομοεστιακή απεικόνιση μικροκυμάτων (CMI), προσαρμοστικό ραντάρ ανίχνευσης ιστών (TSAR), απεικόνιση μικροκυμάτων μέσω του χρόνου (MIST), πολυστατική προσαρμοστική (MSA) MI και ολογραφική απεικόνιση μικροκυμάτων (HMI). Μια τεχνική CMI δημιουργήθηκε από τους Hagness et al.⁴⁵ για τον εντοπισμό του καρκίνου του μαστού. Σύμφωνα με πειραματικά ευρήματα, το σύστημα 2D CMI μπορεί να ανιχνεύσει μικροσκοπικούς καρκίνους μεγέθους έως 2 mm και το σύστημα 3D CMI μπορεί να ανιχνεύσει όγκους με διάμετρο έως 6 mm. Οι εικόνες υψηλής ανάλυσης μπορούν να παραχθούν χρησιμοποιώντας το CMI, αλλά η ικανότητά του να διακρίνει μεταξύ θορύβου και τεχνουργημάτων είναι περιορισμένη. Προκειμένου να παραχθούν εικόνες υψηλότερης ανάλυσης και ισχυρής ικανότητας απόρριψης παρεμβολών, σχεδιάστηκε μια επεξεργασία σήματος καθυστέρησης πολλαπλασιασμού και αθροίσματος με χρήση CMI για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων.

Για να αντιμετωπίσει τις δυσκολίες εντοπισμού, ανίχνευσης και θεραπείας πολλών καρκίνων, η ομάδα μελέτης βελτίωσε το σύστημα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μπορούσαν να βρεθούν όγκοι μεγέθους έως 4 mm. Μια έμμεση τεχνική HMI κοντινού πεδίου παρουσιάστηκε από τους Smith et al.⁴⁶ που συνεπάγεται την καταγραφή της έντασης του μαστού και στη συνέχεια την ανακατασκευή της εικόνας χρησιμοποιώντας αυτές τις πληροφορίες.

- Αισθητήρες RF και συστοιχίες αισθητήρων

Ένα σύστημα MI αποτελείται συνήθως από μια γεννήτρια σήματος ραδιοσυχνοτήτων (όπως ένας αναλυτής διανυσματικού δικτύου ή VNA), που μεταδίδει αισθητήρες ραδιοσυχνοτήτων, οι οποίοι στέλνουν σήματα ραδιοσυχνοτήτων προς την κατεύθυνση του αντικειμένου στόχου, λαμβάνοντας αισθητήρες ραδιοσυχνοτήτων, οι οποίοι ανιχνεύουν το διάσπαρτο ηλεκτρικό πεδίο από το αντικείμενο στόχο, έναν ελεγκτή μέτρησης σήματος και έναν υπολογιστή με αντίστοιχο λογισμικό (που περιλαμβάνει έναν αλγόριθμο εικόνας), ο οποίος εμφανίζει την ανακατασκευασμένη εικόνα. Τα βασικά στοιχεία του συστήματος MI είναι αισθητήρες ραδιοσυχνοτήτων και συστοιχίες αισθητήρων.

i. Αισθητήρες RF για συστήματα MI

Ο σχεδιασμός των αισθητήρων ραδιοσυχνοτήτων πρέπει να τηρεί αυστηρές προδιαγραφές, συμπεριλαμβανομένων εκείνων για τη συχνότητα εργασίας, την ευαισθησία, την ακρίβεια και το συμπαγές μέγεθος. Δεδομένου ότι η εξασθένηση των σημάτων RF αυξάνεται με συχνότητα λόγω της υψηλότερης αγωγιμότητας, με αποτέλεσμα μικρότερο βάθος διείσδυσης, η επιλογή κατάλληλων συχνοτήτων λειτουργίας για το σύστημα MI είναι ένα κρίσιμο ζήτημα. Ομοαξονικοί ανιχνευτές ανοιχτού άκρου, κεραίες με κωνικές θυρίδες (TSA), κεραίες με παπιγιόν, μονοπολικές κεραίες, διπολικές κεραίες, κεραίες κυματοδηγών, κεραίες patch και κεραίες Vivaldi είναι μερικοί μόνο από τους αισθητήρες ραδιοσυχνοτήτων που έχουν δημιουργηθεί για συστήματα MI⁴¹.

ii. Βιοαισθητήρες RF

Μια πολλά υποσχόμενη νέα μέθοδος για ακριβή, ασφαλή, χωρίς ετικέτες και γρήγορη ανίχνευση βιομορίων και καρκινικών κυττάρων έχει αναπτυχθεί χρησιμοποιώντας βιοαισθητήρες ραδιοσυχνοτήτων για την περιγραφή βιολογικών ιστών σε συγκεκριμένες συχνότητες, όπως στο φάσμα μικροκυμάτων. Ένας βιοαισθητήρας ραδιοσυχνοτήτων βασισμένος σε ένα επίπεδο συντονιστή δακτυλίου διαχωρισμού (SSR) δημιουργήθηκε για να αναγνωρίζει βιομόρια όπως δείκτες καρκίνου του προστάτη^{47, 48}.

Κεφάλαιο 2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

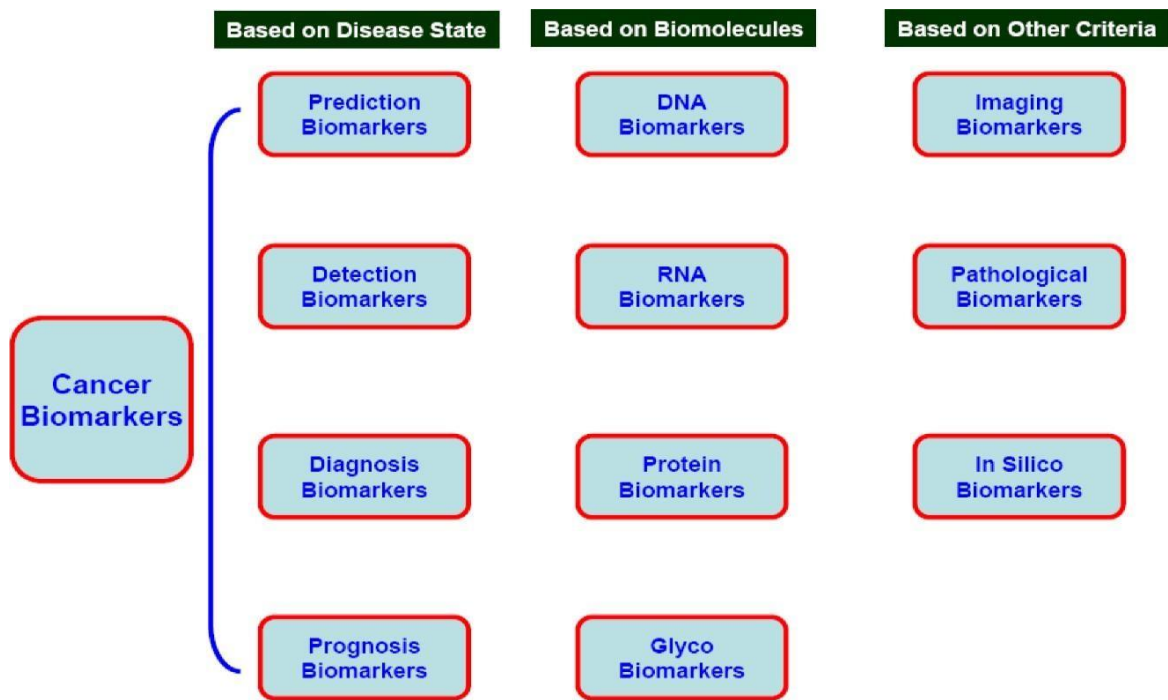
2.1 Βιοδείκτες

2.1.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Ένας βιοδείκτης είναι "ένα βιολογικό μόριο που ανιχνεύεται στο αίμα, άλλα σωματικά υγρά ή ιστούς και είναι σημάδι μιας φυσιολογικής ή παρεκκλίνουσας διαδικασίας ή μιας κατάστασης ή ασθένειας," (NCI) όπως ο καρκίνος, σύμφωνα με το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου. Οι βιοδείκτες συχνά διακρίνουν έναν ασθενή με νόσο από ένα υγιές άτομο. Αλλαγές στη μεταγραφή, σωματικές ή βλαστικές μεταλλάξεις, μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις και άλλες διαδικασίες μπορούν όλα να συμβάλουν στις αλλαγές. Υπάρχει ένα ευρύ φάσμα βιοδεικτών, που μπορεί να περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, πρωτεΐνες (όπως ένα ένζυμο ή υποδοχέα), νουκλεϊκά οξέα (όπως ένα microRNA ή άλλο μη κωδικοποιητικό RNA), αντισώματα και πεπτίδια. Προκειμένου να αξιολογηθούν μη επεμβατικά και σειριακά, οι βιοδείκτες μπορούν να βρεθούν στην κυκλοφορία του αίματος (ολόκληρο αίμα, ορός ή πλάσμα), σε εκκρίματα (κόπρανα, ούρα, πτύελα ή εκκρίσεις θηλής) ή μπορούν να προέρχονται από ιστούς, όπου απαιτείται βιοψία ή εξειδικευμένη απεικόνιση. Έχουν ανακαλυφθεί πάνω από 300 βιοδείκτες, από τους οποίους μόνο οι 25 συμβάλλουν στην καθοδήγηση θεραπευτικών αποφάσεων.

Οι βιοδείκτες μπορεί να είναι πρώιμης ανίχνευσης (screening), διαγνωστικοί, προγνωστικοί, προβλεπτικοί και παρακολούθησης ασθενούς (Εικόνα 6). Ένας ιδανικός βιοδείκτης πρώιμης διάγνωσης θα πρέπει να είναι ειδικός για έναν συγκεκριμένο τύπο νεοπλασίας, με εύκολη συλλογή δείγματος και με επαναλήψιμη, γρήγορη, εύκολη και χαμηλού κόστους διαδικασία μέτρησης. Οι προγνωστικοί δείκτες μπορούν να υποδείξουν το μέγεθος του όγκου, το στάδιο της νόσου και τα γονίδια του καρκινικού κυττάρου. Ο ρόλος των προβλεπτικών δεικτών είναι αξιοσημείωτος, καθώς εντοπίζει τους ασθενείς με το μεγαλύτερο όφελος από μια συγκεκριμένη θεραπεία.

Η ευαισθησία και η ακρίβεια ενός βιοδείκτη επηρεάζονται από τον τύπο του δείγματος, το ιστορικό του ασθενούς, την σωστή χρήση αρνητικών ελέγχων, την σταθερότητα του δείγματος, αλλά και τον χρόνο επεξεργασίας προσδιορισμού του βιοδείκτη.



Εικόνα 6. Ταξινόμηση βιοδεικτών Mishra A, Verma M. Cancer Biomarkers: Are We Ready for the Prime Time? *Cancers* 2010 ⁴⁹

2.1.2 Κλινικές χρήσεις βιοδεικτών

Οι βιοδείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση του ασθενούς σε ποικίλα κλινικά περιβάλλοντα, όπως αξιολόγηση κινδύνου, έλεγχος για κρυφούς πρωτοπαθείς καρκίνους, διαφοροποίηση καλοήθων από κακοήθη ευρήματα ή ενός τύπου κακοήθειας από άλλο, προσδιορισμός πρόγνωσης και πρόβλεψης για ασθενείς με καρκίνο και παρακολούθηση της κατάστασης της νόσου είτε για την ανίχνευση υποτροπής είτε για τον προσδιορισμό της ανταπόκρισης ή της εξέλιξης στη θεραπεία. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ενώ ορισμένοι βιοδείκτες μπορούν να έχουν πολλαπλές χρήσεις, άλλοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις. Ο κίνδυνος εμφάνισης κακοήθειας ενός ασθενούς μπορεί να εξακριβωθεί εάν οι μέθοδοι μείωσης του κινδύνου (όπως η χημειοπρόληψη, η προφυλακτική χειρουργική επέμβαση ή αλλαγές στον τρόπο ζωής) ή ο προσυμπτωματικός έλεγχος έχουν αποδειχθεί επιτυχείς. Είναι πολύ πιο αποτελεσματικό να χρησιμοποιούνται αυτές οι μέθοδοι σε πληθυσμούς υψηλού κινδύνου παρά στο γενικό πληθυσμό στο σύνολό του. Υπάρχουν πλέον γνωστοί βιοδείκτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου ενός ατόμου. Μια γυναίκα με σημαντικό οικογενειακό ιστορικό καρκίνου των ωοθηκών, για παράδειγμα, μπο-

ρεί να υποβληθεί σε γενετική εξέταση για να διαπιστώσει εάν φέρει μια μετάλλαξη βλαστικής σειράς όπως το BRCA1 που αυξάνει την πιθανότητα να εμφανίσει καρκίνο του μαστού ή/και των ωοθηκών. Οι βιοδείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο του καρκίνου σε ασθενείς που κατά τα άλλα είναι υγιείς. Το ειδικό προστατικό αντιγόνο είναι ένας συχνά χρησιμοποιούμενος αλλά αμφιλεγόμενος βιοδείκτης για τον έλεγχο (PSA).

Οι βιοδείκτες μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη διαφοροποίηση μεταξύ πολλών επιλογών σε μια διαφορετική διάγνωση σε έναν ασθενή με μια ανωμαλία. Για παράδειγμα, η ιστολογική ανάλυση του δείγματος βιοψίας μπορεί να αποκαλύψει εάν ένας ασθενής έχει καρκίνο, λοίμωξη, φλεγμονή ή άλλη καλοήγη ασθένεια εάν ανακαλυφθεί όζος πνεύμονα σε αξονική τομογραφία θώρακα. Εάν εντοπιστεί καρκίνος, μπορεί να γίνει περαιτέρω έλεγχος με τη χρήση ορισμένων ανοσοϊστοχημικών δεικτών για τον εντοπισμό του ιστού προέλευσης. Οι βιοδείκτες μπορούν να βοηθήσουν στην πρόβλεψη της πρόγνωσης ή του κινδύνου υποτροπής της νόσου ανεξάρτητα από τη θεραπεία, σε άτομα που έχουν διαγνωστεί με καρκίνο. Τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά ενός όγκου έχουν παραδοσιακά χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της πρόγνωσης. Πιο πρόσφατες τεχνολογίες χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της πρόγνωσης για συγκεκριμένες κακοήθειες.

Προκειμένου να αξιολογηθεί η πρόγνωση ενός ασθενούς με βάση μια ανάλυση του όγκου, έχει δημιουργηθεί μια ποικιλία υπογραφών γονιδιακής έκφρασης ειδικά για τον καρκίνο του μαστού. Τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα έχουν αποδειχθεί ότι είναι προγνωστικά για τη συνολική επιβίωση στο πλαίσιο του μεταστατικού καρκίνου του μαστού.

Μια συνεχιζόμενη συνεργατική ομαδική δοκιμή επικεντρώνεται σε αυτά επειδή δεν έχει ακόμη καθοριστεί πόσο χρήσιμα είναι για την πρόβλεψη του τρόπου με τον οποίο οι ασθενείς θα ανταποκριθούν στην παρηγορητική φροντίδα.

Επιπλέον, οι βιοδείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την τροποποίηση της ανταπόκρισης σε μια συγκεκριμένη θεραπεία ή ως «προγνωστικοί παράγοντες» ή για την επιλογή της θεραπείας που είναι πιο πιθανό να είναι επιτυχής. Επειδή οι σωματικές μεταλλάξεις στο KRAS συνδέονται με μια κακή ανταπόκριση στη θεραπεία που εστιάζεται στον αντι-επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGFR), το KRAS είναι ένας προγνωστικός βιοδείκτης για τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Παρόμοια με αυτό, η υπερέκφραση του γο-

νιδίου HER2 ή η γονιδιακή ενίσχυση σε καρκίνους του στομάχου και του μαστού προβλέπει πόσο καλά αυτές οι κακοήθειες θα ανταποκριθούν σε φάρμακα anti-HER2 όπως η τραστουζουμάμπη.

2.1.3 Αξιολόγηση πιθανού δείκτη

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολυάριθμες μέθοδοι για την εύρεση πιθανών βιοδεικτών. Η παραδοσιακή μέθοδος ήταν η εύρεση πιθανών βιοδεικτών με βάση τη βιολογία του όγκου και του περιβάλλοντός του ή τον μεταβολισμό του φαρμάκου. Η ταυτοποίηση βιοδεικτών πραγματοποιείται πλέον συνήθως χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση «ανακάλυψης», χρησιμοποιώντας μεθόδους όπως η αλληλουχία υψηλής απόδοσης, οι συστοιχίες έκφρασης γονιδίων και η φασματοσκοπία μάζας για την ταχεία αναγνώριση μεμονωμένων ή ομάδων βιοδεικτών που διαφέρουν μεταξύ των ομάδων. Λόγω του τεράστιου όγκου δεδομένων που παράγονται από αυτές τις τεχνικές, πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή τόσο στο σχεδιασμό της μελέτης όσο και στην επεξεργασία των δεδομένων, προκειμένου να μειωθεί η πιθανότητα ανακάλυψης σχέσεων που αργότερα αποδεικνύονται ψευδώς θετικές. Τα βασικά στοιχεία της ανάπτυξης βιοδεικτών που θα καλυφθούν διεξοδικά περιλαμβάνουν την ακριβή αναφορά ευρημάτων, τον ενδεδειγμένο έλεγχο και την επικύρωση και τον προσεκτικό σχεδιασμό μελέτης για την αποφυγή μεροληψίας.

2.1.4 Ανάπτυξη ενός υποψήφιου βιοδείκτη

Προτού χρησιμοποιηθεί ένας πιθανός βιοδείκτης στην κλινική, πρέπει να ξεπεράσει διάφορα εμπόδια. Για να αξιολογηθεί ένας συγκεκριμένος υποψήφιος νέος βιοδείκτης ή για να προσπαθήσουμε να βρούμε έναν νέο βιοδείκτη, εξετάζεται πρώτα μια ομάδα δειγμάτων. Το επόμενο βήμα στη δοκιμή είναι η εξέταση μιας διαφορετικής κοόρτης δειγμάτων για να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα που οδήγησαν στην αρχική υπόθεση, καθώς και η διεξαγωγή περισσότερης έρευνας για να διασφαλιστεί ότι ο νέος βιοδείκτης θα προσφέρει πρόσθετα δεδομένα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη λήψη κλινικών αποφάσεων. Αυτές οι ιδέες είναι γνωστές ως κλινική χρησιμότητα, αναλυτική εγκυρότητα και κλινική εγκυρότητα.

i. Αναλυτική εγκυρότητα

Είναι σημαντικό να επικεντρωθούμε τόσο σε προαναλυτικά όσο και σε αναλυτικά προβλήματα με τη δοκιμή που χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό ενός νέου πιθανού βιοδείκτη. Η επεξεργασία του δείγματος που θα εξεταστεί με τη νέα ανάλυση αναφέρεται ως προαναλυτική εγκυρότητα. Ένας αριθμός παραμέτρων που σχετίζονται με το δείγμα, όπως (α) το διάστημα και οι συνθήκες αποθήκευσης μεταξύ της συλλογής και της επεξεργασίας του δείγματος, (β) το είδος και η διάρκεια στερέωσης ή η έλλειψή τους, και (γ) το διάστημα και οι συνθήκες αποθήκευσης μετά την επεξεργασία, μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα της ανάλυσης. Αυτά τα προαναλυτικά προβλήματα πρέπει να ληφθούν υπόψη γιατί μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα και την ικανότητα αναπαραγωγής των ευρημάτων για τον υποψήφιο βιοδείκτη. Η αναλυτική εγκυρότητα αναφέρεται στην αξιολόγηση των τεχνικών στοιχείων της ανάλυσης βιοδεικτών, τα οποία πρέπει να πληρούν συγκεκριμένα κριτήρια. Ο προσδιορισμός της ευαισθησίας, της ειδικότητας και της ευρωστίας της ανάλυσης είναι ζωτικής σημασίας. Επιπλέον, πρέπει να είναι ακριβής και επαναλήψιμος, τόσο εντός ενός εργαστηρίου όσο και σε όλα τα εργαστήρια. Όταν τα εργαστήρια εκτελούν μια ανάλυση χρησιμοποιώντας ένα αντίσωμα του οποίου η ποιότητα κυμαίνεται από παρτίδα σε παρτίδα, για παράδειγμα, μπορεί να προκύψουν προβλήματα. Προκειμένου να επιτευχθεί ομοιομορφία για το χειρισμό των δειγμάτων, τη δοκιμή δειγμάτων, την ερμηνεία της ανάλυσης και την αναφορά των αποτελεσμάτων στα εργαστήρια, αναπτύσσονται τώρα προγράμματα δοκιμών επάρκειας για ορισμένους κρίσιμους βιοδείκτες, όπως ο υποδοχέας οιστρογόνου και η αξιολόγηση HER2 στον καρκίνο του μαστού.

ii. Κλινική εγκυρότητα

Μόλις δημιουργηθεί ένας τεχνικά ορθός προσδιορισμός, είναι απαραίτητο να διερευνηθεί ο βιοδείκτης για να διαπιστωθεί εάν έχει κλινική ή «βιολογική» εγκυρότητα. Η κλινική εγκυρότητα αναφέρεται στο εύρημα ότι ο βιοδείκτης διαχωρίζει με συνέπεια ολόκληρο τον υπό μελέτη πληθυσμό σε δύο διαφορετικές ομάδες, όπως εκείνες που είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να βιώσουν ένα περιστατικό. Ο βιοδείκτης δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για την καθοδήγηση της κλινικής φροντίδας, σύμφωνα με την κλινική εγκυρότητα. Για να επιβεβαιωθεί η εγκυρότητα μιας παρατήρησης φαινομενικής κλινικής εγκυρότητας, όπως συμβαίνει με όλα τα επιστημονικά ευρήματα, πρέπει να αντιγραφεί

σε ένα εντελώς άσχετο σύνολο δειγμάτων. Έχουν προταθεί διάφοροι τρόποι για αναπαγωγικότητα ή επικύρωση. Ωστόσο, η υπερπροσαρμογή μπορεί να δώσει την εντύπωση ότι μια δοκιμή έχει εξαιρετική ικανότητα διάκρισης, η οποία δεν μπορεί να αναπαραχθεί όταν επικυρωθεί ανεξάρτητα, εάν τα δείγματα στις ομάδες δοκιμής και επικύρωσης δεν είναι ανεξάρτητα. Ορισμένοι μελετητές υποστηρίζουν ότι μια εντελώς ανεξάρτητη ομάδα ερευνητών θα πρέπει να πραγματοποιήσει την ανεξάρτητη επικύρωση, ενώ άλλοι πιστεύουν ότι οι αρχικοί ερευνητές θα πρέπει να πραγματοποιήσουν την αρχική μελέτη επικύρωσης χρησιμοποιώντας την αρχική μεθοδολογία αλλά με μια ανεξάρτητη κοόρτη δειγματος.

iii. Κλινική χρησιμότητα

Μια ανάλυση πρέπει να αποδειχθεί ότι έχει κλινική χρησιμότητα με πολύ υψηλά επίπεδα ενδείξεων προτού μπορέσει να χρησιμοποιηθεί για την καθοδήγηση της φροντίδας του ασθενούς. Για τους ασθενείς τους, οι κλινικοί γιατροί μετρούν συχνά τους προγνωστικούς δείκτες. Ωστόσο, εάν δεν υπάρχει σαφής κατεύθυνση σχετικά με τον τρόπο χρήσης των πληροφοριών για τη φροντίδα του ασθενούς, μπορεί να προκαλέσει σύγχυση ή, χειρότερα, να οδηγήσει σε κακές επιλογές θεραπείας. Προκειμένου να διασφαλιστεί ότι οι νέοι βιοδείκτες που εισάγονται στην κλινική πρακτική θα κατευθύνουν κατάλληλα τη διαχείριση του ασθενούς και θα παρέχουν πληροφορίες πέρα από τους επί του παρόντος χρησιμοποιούμενους παράγοντες λήψης αποφάσεων, είναι σημαντικό να εφαρμοστεί η κατάλληλη αυστηρότητα για να διασφαλιστεί η αναλυτική εγκυρότητα και η κλινική χρησιμότητα ενός βιοδείκτη. Η αξιολόγηση της κλινικής χρησιμότητας περιλαμβάνει μια ανασκόπηση της αποτελεσματικότητας ενός βιοδείκτη καθώς και της αναλογίας οφέλους προς βλάβη. Οι ακατάλληλα κλινικά επικυρωμένοι προγνωστικοί βιοδείκτες έχουν τη δυνατότητα να βλάψουν τους ασθενείς είτε άμεσα μέσω ακατάλληλων αποφάσεων θεραπείας είτε έμμεσα μέσω αυξημένων δαπανών υγειονομικής περίθαλψης. Λίγοι καρκινικοί δείκτες έχουν αποδεδειγμένη κλινική αξία παρά τις τρεις δεκαετίες έρευνας και τις χιλιάδες αναφορές κυκλοφορούντων βιοδεικτών.

Η αξιολόγηση των μεταλλάξεων KRAS στον καρκίνο του παχέος εντέρου, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι μια περίπτωση ενός βιοδείκτη με αποδεδειγμένη κλινική

χρησιμότητα. Η αξιολόγηση αυτού του νέου βιοδείκτη, μαζί με τη συμβατική κλινικοπαθολογική αξιολόγηση του όγκου, παρέχει μια εικόνα για την πιθανότητα ότι η θεραπεία κατά του EGFR μπορεί να είναι ευεργετική. ⁴⁹

2.1.5 Καρκινικοί βιοδείκτες

Συμβάλλουν στον προσδιορισμό της προδιάθεσης ορισμένων τύπων καρκίνου και με τη βοήθεια άλλων παραμέτρων, μπορεί να καθοριστεί ο ορθός και έγκαιρος τρόπος ιατρικής αντιμετώπισης του ασθενούς. Με τη βοήθειά τους, γίνεται αξιολόγηση του αποτελέσματος της θεραπείας ή και φαρμακευτικής αγωγής που έχει δοθεί στον ασθενή, αλλά είναι δυνατός ο έλεγχος επανεμφάνισης καρκίνου (Πίνακας 3).

Βασικοί τύποι προβλεπτικών και προγνωστικών βιοδεικτών καρκίνου

- i. Ιστοπαθολογικοί δείκτες (μέγεθος όγκου)
- ii. Κλινικοί δείκτες (πίεση αίματος)
- iii. Μοριακοί δείκτες
- iv. Βιοδείκτες απεικόνισης

- **Βιομόρια:**

- i. DNA

Οι κύριοι δείκτες DNA περιλαμβάνουν μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) σε πολλά γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των XRCC1, p53 (για κακοήθειες κεφαλής, λαιμού και πνευμόνων), CYP1A1, BRCA1 και BRCA2 (για καρκίνους του μαστού) και PGS2 (καρκίνος του πνεύμονα). Άλλοι σημαντικοί δείκτες DNA περιλαμβάνουν απώλεια ετεροζυγωτίας (LOH), διακύμανση στον αριθμό αντιγράφων γονιδίου, χονδρικές κυτταρογενετικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες (BCR-ABL, μετατόπιση PML-RARA σε λευχαιμίες, κ.λπ.), μικροδορυφορική αστάθεια (MSI) και επιγενετικές αλλοιώσεις. Αν και οι κλινικές τους επιπτώσεις δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί, μεταλλάξεις στα νουκλεοτίδια του DNA σε προαγωγείς όγκων (Ras, APC), ογκοκατασταλτές (p16, p53, p19, Rb), κυτταρικούς κύκλους (κυκλίνες) και γονίδια που σχετίζονται με την επιδιόρθωση του DNA (XRCC) έχουν συνδεθεί με την πρόγνωση και τη διάγνωση διαφόρων καρκίνων. Το DNA μπορεί να προέρχεται από διάφορες πηγές, όπως μυελό των οστών, αίμα, ιστό, ορό, πτύελα, σάλιο, βρογχικά δάκρυα, εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) και κύτταρα όγκου που κυκλοφορούν στο αίμα. Είναι ενδιαφέρον ότι οι παραλλαγές στα μόρια του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA) ενδείκνυται ιδιαίτερα ως βιοδείκτες για αρκετές κακοήθειες εκτός από τις πυρηνικές ανωμαλίες.

ii. RNA και Micro RNA (miRNA)

Η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής (RT-qPCR), η σειριακή ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης (SAGE), η διαφορική απεικόνιση, οι τεχνικές που βασίζονται σε σφαιρίδια και η ανάλυση κάρτας μικρορευστού και μικροσυστοιχίας είναι μερικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την εύρεση καρκινικών βιοδεικτών στην έκφραση RNA επίπεδο. Σε διάφορους βαθμούς και φάσεις θεραπείας, χρησιμοποιείται μικροσκοπία με σύλληψη με λέιζερ για να δοκιμάσει την απόκτηση καθαρών υπογραφών RNA. Οι διαγνώσεις και οι προγνώσεις συνδέονται τελικά με τη συγκριτική μελέτη της έκφρασης RNA χρησιμοποιώντας θερμικούς χάρτες, εποπτευόμενους αλγόριθμους και στιγμιότυπα. Τα μικρά μη κωδικοποιημένα RNA είναι γνωστά ως micro RNA (miRNAs).

Οι καρκίνοι της λευχαιμίας, του μαστού, του προστάτη, του παχέος εντέρου, του ήπατος, του πνεύμονα και του παγκρέατος είναι μόνο μερικοί από τους τύπους καρκίνου για τους οποίους μοναδικοί πληθυσμοί miRNA εκφράζονται με τρόπο που εξαρτάται από τον ιστό και τον χρόνο. Υπάρχουν αρκετά δεδομένα για να συμπεράνουμε ότι τα προφίλ έκφρασης miRNA μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κατηγοριοποίηση ανθρώπινων κακοηθειών και ότι υπάρχει σχέση μεταξύ της πρόγνωσης της νόσου και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

iii. Πρωτεϊνικοί δείκτες

Οι δείκτες που βασίζονται σε πρωτεΐνες είναι πιο σημαντικοί βιοδείκτες από τους δείκτες που βασίζονται σε DNA ή RNA, καθώς οι πρωτεΐνες είναι τα κύρια βιομόρια που εκτελούν τις περισσότερες διεργασίες στο κύτταρο. Οι πρωτεομικοί δείκτες είναι πιο κοντά και πιο σχετικοί με την έναρξη και την πορεία των καταστάσεων της νόσου, επειδή τα μόρια πρωτεΐνης έχουν επίδραση στις μοριακές οδούς σε φυσιολογικά και αλλοιωμένα κύτταρα. Τα μόρια πρωτεΐνης είναι οι μόνοι εγκεκριμένοι από το FDA βιοδείκτες που είναι πλέον προσβάσιμοι για κλινική χρήση. Τα διαθέσιμα εργαλεία για την εξέταση της δυνατότητας των μορίων πρωτεΐνης ως βιοδείκτες καρκίνου περιελάμβαναν πρόσφατα κβαντικές κουκκίδες και νανοσωματίδια. Διάφορες μέθοδοι, όπως Υγρή Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας/Φασματομετρία Μάζας (LC-MS/MS), συστοιχίες αντισωμάτων, συστοιχίες εναιωρήματος σφαιριδίων για καρκίνους τραχήλου και ωοθηκών, σταθερή σήμανση ισotόπων με αμινοξέα σε κυτταρική καλλιέργεια (SILAC) για καρκίνο του προστάτη, iTRAQ για

λευχαιμία και η ποσοτική πρωτεομική έχουν χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό καρκινικών βιοδεικτών σε διάφορες θέσεις οργάνων.

iv. Βιοδείκτες υδατανθράκων

Η έκφραση αρκετών N-συνδεδεμένων και O-συνδεδεμένων γλυκανών αλλάζει καθώς προχωρούν ορισμένες κακοήθειες. Αυτές οι τροποποιημένες γλυκομορφές μπορεί να είναι πιθανοί βιοδείκτες για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου. Η πιο κοινή μέθοδος για την εύρεση δεικτών υδατανθράκων που σχετίζονται με ασθένεια είναι η φασματομετρία μάζας. Οι καρκίνοι του μαστού, του παχέος εντέρου, των ωοθηκών, του παγκρέατος, του πνεύμονα και του παχέος εντέρου μπορούν όλοι να ανιχνευθούν χρησιμοποιώντας δείγματα ιστών και βιορευστά (ορός, εγκεφαλονωτιαίο υγρό, παγκρεατικό υγρό και πλύση). Πρόσφατα, η γλυκομική του ορού έχει χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό του καρκίνου του οισοφάγου. Σε επιδημιολογικές μελέτες, όπου οι ανθρώπινοι πληθυσμοί μπορούν να ελεγχθούν για να προσδιοριστεί ποιος είναι πιθανό να αποκτήσει καρκίνο στη ζωή τους, οι γλυκοδείκτες -γλυκοπρωτεΐνες, πρωτεογλυκάνες και γλυκολιπίδια- είναι πιο κατάλληλοι, καθώς είναι πιο σταθεροί από το RNA και τις πρωτεΐνες. Μια σημαντική μέθοδος για την εύρεση καρκινικών βιοδεικτών με βάση τη γλυκάνη είναι η καταγραφή της γλυκοζυλίωσης συνδεδεμένων με O και N πρωτεϊνικών μορίων σε υπολείμματα σερίνης και θρεονίνης χρησιμοποιώντας MALDI-TOF και ιονισμό ηλεκτροψεκασμού (ESI) σε ανθρώπινους ορούς, ιστούς και καρκινικές σειρές. Η ρυθμισμένη έκφραση σε γλυσυλοτρανσφεράσες προκαλεί μεγαλύτερη διακλάδωση των γλυκανών και έχει διαφορετικές τερματικές δομές. Δεδομένου ότι ο ορός των ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών στερείται σημαντικής ποσότητας O-συνδεδεμένων γλυκανών, είναι σημαντικό να θυμόμαστε ότι η νεοέκφραση και η αλλοιωμένη έκφραση των γλυκανών μπορούν να λειτουργήσουν ως πιθανοί καρκινικοί βιοδείκτες. ⁴⁹

- **Μεταβολικοί βιοδείκτες (μεταβολισμός γλυκόζης)**

Η ενισχυμένη χρήση γλυκόζης, την οποία αρχικά παρατήρησε ο Warburg, είναι μια αξιολογική και ουσιαστική αλλαγή σε πολλούς όγκους ανεξάρτητα από την ιστολογική τους προέλευση και τον τύπο των μεταλλάξεων που υπάρχουν. Οι μηχανισμοί που διέπουν αυτές τις θεμελιώδεις μεταβολικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της καρκινογένεσης

περιλαμβάνουν μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA που βλάπτουν τη λειτουργία, συνδεδεμένη με ογκογόνο μετασχηματισμό, ανοδική ρύθμιση της γλυκόλυσης, αυξημένη έκφραση μεταβολικών ενζύμων και, στην περίπτωση συμπαγών όγκων, προσαρμογή στο μικρο-περιβάλλον του υποξικού όγκου. Με βάση αυτά τα ευρήματα, έχει προταθεί ένας βιοενεργειακός δείκτης του κυττάρου (δείκτης BEC) που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταξινόμηση και τη διάγνωση κακοηθειών καθώς και για την πρόβλεψη του πόσο καλά θα ανταποκριθούν στη θεραπεία.

- **Θεραπευτικοί βιοδείκτες**

Αν και η ακτινοθεραπεία και η κυτταροτοξική χημειοθεραπεία εξακολουθούν να είναι οι πιο αποτελεσματικές θεραπείες για τον καρκίνο, μπορεί να έχουν σημαντικές παρενέργειες επειδή συχνά αποτυγχάνουν να διαφοροποιήσουν τα κύτταρα του όγκου από τα φυσιολογικά κύτταρα. Η ανακάλυψη και η λειτουργική ανάλυση γενετικών αλλοιώσεων ειδικών για όγκο έχουν βελτιώσει την κατανόησή μας για τη μοριακή βάση του καρκίνου, δημιουργώντας νέες συναρπαστικές ευκαιρίες για την ανάπτυξη θεραπειών που στοχεύουν στις μοριακές οδούς που προάγουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, αποφεύγοντας παράλληλα μονοπάτια θανάτου όπως η απόπτωση. Η μέθοδος που περιγράφονται οι ανθρώπινοι όγκοι έχει προχωρήσει σημαντικά τα τελευταία δέκα χρόνια. Ως αποτέλεσμα, υπάρχει τώρα μια πολύ μεγαλύτερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο αναπτύσσεται ο καρκίνος σε μοριακό επίπεδο, γεγονός που έχει πυροδοτήσει μια κίνηση προς τη χρήση στοχευμένων φαρμάκων. Θεωρητικά, οι «στοχευμένες θεραπείες» είναι πιο επιλεκτικές έναντι των καρκινικών κυττάρων και αρκετές από αυτές τις θεραπείες έχουν ήδη δείξει υποσχέσεις σε κλινικές δοκιμές. Αυτά περιλαμβάνουν εξουδετερωτικά αντισώματα που εμποδίζουν τη λειτουργία των υποδοχέων σηματοδότησης διαμεμβρανών (π.χ. τραστουζουμάμπη, που στοχεύει το HER2) και φάρμακα μικρού μορίου που εμποδίζουν τη δραστηριότητα των πρωτεϊνικών κινασών τυροσίνης (π.χ. imatinib και erlotinib, που στοχεύουν το ABL και τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), αντίστοιχα). Τα φάρμακα που αναστέλλουν τη λειτουργία ουσιών στο μικροπεριβάλλον του ξενιστή που προάγουν την ανάπτυξη του όγκου είναι μεταξύ άλλων στοχευμένων θεραπειών (για παράδειγμα, το αντίσωμα bevacizumab, το οποίο στοχεύει έναν αυξητικό παράγοντα που προάγει την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων του όγκου). Πολλές από αυτές τις θεραπείες μέχρι στιγμής έχουν βελτιώσει ελαφρώς μόνο τα ποσοστά επιβίωσης

των ασθενών, αλλά οι αλλαγές στον τρόπο χορήγησης αυτών των φαρμάκων (όπως στη θεραπεία συνδυασμού και με επιλογή ασθενών με καθοδήγηση από βιοδείκτες) αναμένεται να αυξήσουν την αποτελεσματικότητά τους. Η εξατομίκευση των μοριακών στοχευμένων θεραπειών θα συμβάλει στην αύξηση της αποτελεσματικότητάς τους βοηθώντας στον εντοπισμό των ασθενών που είναι πιο πιθανό να ωφεληθούν από ορισμένες στοχευμένες θεραπείες.

Πίνακας 3. Βιοδείκτες καρκίνου για τη διάγνωση και την πρόγνωση της νόσου

Bhatt AN, Mathur R, Farooque A, Verma A, Dwarakanath BS. Cancer biomarkers-current perspectives. Indian J Med Res. 2010 Aug⁵⁰

Biomarker	Tumour	Application	Sample type/ Method of detection
<i>Cancer antigen (biomolecules) based biomarkers:</i>			
Prostate specific antigen (PSA)	Prostate cancer	Diagnostic and prognostic	Serum/ Immunoassay
Alpha-foetoprotein (AFP)	Hepatocellular carcinomas (HCC)	Diagnostic and prognostic	Serum/ Immunoassay
Cancer antigen 125 (CA125)	Ovarian cancers Fallopian tube cancer	Diagnostic and prognostic	Serum/ Immunoassay
Cancer antigen 15-3 (CA15-3)	Breast cancer	Diagnostic and prognostic	Serum/ ELISA, Lymph node/ IHC, Bone marrow/ IHC
Cancer antigen 19-9 (CA 19-9)	Pancreatic cancer Bladder cancer	Diagnostic and prognostic	Serum/ ELISA Urine/ ELISA
BRCA-1, BRCA-2	Breast cancer	Diagnostic	Tumour samples/ RT-PCR
Carcinoembryonic antigen (CEA)	Colorectal cancer	Diagnostic and prognostic	Serum/ ELISA
Human chorionic gonadotrophin (hCG)	Germ cell tumours (ovarian and testicular)	Diagnostic	Serum/ ELISA
Thyroglobulin (Tg)	Papillary and follicular thyroid cancer	Diagnostic and prognostic	Serum/ ELISA or IHC with TPO Ab
Heat shock proteins (HSPs) Hsp27; Hsp70	Gastric, prostate carcinoma, osteosarcomas, uterine, cervical, and bladder carcinoma	Diagnostic and prognostic	Serum/ ELISA
TGFβ	Malignant tumours	Diagnostic and prognostic	Serum / ELISA
<i>Metabolic biomarker:</i>			
Glucose metabolism	All cancers, general	Daignostic, prognostic and therapeutic	Imaging/ FDG-PET scan
<i>Genetic biomarkers:</i>			
Genetic translocations viz. Philadelphia chromosome, Bcl2 and other gene translocation fusion products	AML, ALL, CML, MDS and Burkitt's lymphoma	Diagnostic	Bone marrow or peripheral blood/ FISH
APC gene	Adenocarcinoma, squamous cell carcinoma of the stomach, pancreas, thyroid and ovary	Diagnostic and prognostic	Blood, Tumour sample/ RFLP of chromosome 5q21-22, Methylation status of APC gene
<i>Cells as biomarker:</i>			
Circulating tumour cells (CTCs)	Metastatic breast cancer, etc.	Diagnostic and prognostic	Blood/ Immunocytometry
Cancer stem cells (CSCs)	AML, melanoma, brain tumour, breast cancer, prostate cancer	Diagnostic, prognostic and therapeutic	Tumour sample/ Immunocytometry

2.2 Βιοδείκτες και Καρκίνος του μαστού

2.2.1 Γενικές πληροφορίες

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.⁵¹

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. Οι δείκτες για τον σχεδιασμό της θεραπείας περιλαμβάνουν 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 καλλικρεΐνη 14 είναι πιθανοί δείκτες.

Η θεραπεία για διάφορα είδη καρκίνου του μαστού αναπτύσσεται πλέον καθημερινά και βασίζεται στους ορμονικούς υποδοχείς υποδοχέα 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 αντιμετωπίζει κατάλληλα τα σχετικά άτομα, οδηγώντας σε εξαιρετικά θεραπευτικά αποτελέσματα, εάν μπορούσαν να βρεθούν τέτοιοι βιοδείκτες. Παλαιότερες έρευνες μορφολογικών χαρακτηριστικών έχουν προσφέρει τη βάση για προγνωστική πρόβλεψη μέχρι αυτό το σημείο.⁴⁹

2.2.2 Οι πιο σημαντικοί βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού

i. 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 στον κοντό 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 άγριου τύπου. Το ανθρώπινο γονίδιο p53 είναι μια πυρηνική 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 κατασταλτικό 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 μεταμεταφραστικών αλλαγών, της αυξημένης συγκέντρωσης πρωτεΐνης και του κυτταρικού εντοπισμού, η p53 ρυθμίζεται.⁵³

Μετά την ανακάλυψη του p53 πριν από 15 χρόνια, βρέθηκαν επίσης δύο γονίδια—p63 και p73—που συνδέονταν με το p53. Αυτά τα γονίδια δρουν σε ένα δίκτυο σηματοδότησης για να ρυθμίσουν διάφορες βιολογικές λειτουργίες όπως ο κυτταρικός θάνατος, η διαφοροποίηση και ο πολλαπλασιασμός. Μοιράζονται δομικές και λειτουργικές ομοιότητες με το γονίδιο p53. Ανάλογα με το μέγεθος του όγκου και το στάδιο της νόσου, το γονίδιο Trp53 αλλάζει στα καρκινώματα του μαστού σε περίπου 20-40% των περιπτώσεων. Φαίνεται ότι είναι ένα πρώιμο περιστατικό ογκογένεσης μαστού. Οι Missense μεταλλάξεις αντιπροσωπεύουν περίπου το 75% των αλλαγών Trp53, ενώ οι διαγραφές και οι εισαγωγές μετατόπισης πλαισίου αντιπροσωπεύουν το 9%, οι παράλογες μεταλλάξεις για το 7% και οι σιωπη-

λές μεταλλάξεις για το 5%. Διαφορετικές μεταλλάξεις πρωτεΐνης p53 έχουν διακριτές βιολογικές και λειτουργικές επιπτώσεις. Αυτές οι μεταλλάξεις έχουν ως αποτέλεσμα σημαντική απώλεια στην ικανότητα μετενεργοποίησης καθώς και στη δραστηριότητα σύνδεσης DNA.

ii. 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.

Δύο εναλλακτικά είδη mRNA, τα οποία κωδικοποιούν δύο διαφορετικές πρωτεϊνικές ισομορφές, παράγονται μέσω εναλλακτικού ματίσματος. Οι προβλεπόμενες μοριακές μάζες της μικρής και της μεγάλης ισομορφής είναι 320 kDa και 359 kDa, αντίστοιχα.

Ο επίτοπος (FKEL) που στοχεύει το αρχικό αντίσωμα Ki-67 μπορεί να βρεθεί σε μια αλληλουχία 22 αμινοξέων γνωστή ως μοτίβο Ki-67, η οποία διατηρείται σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των ειδών. Μια πιθανή θέση ATP/GTP γνωστή ως P-loop αναμενόταν να υπήρχε στην καρβοξυτελική περιοχή του μορίου. Κατά τη διάρκεια της ενδιάμεσης φάσης, το αντιγόνο είναι ορατό μόνο στους πυρήνες των κυττάρων. Πιστεύεται ότι είναι απαραίτητο για τη διατήρηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, του μεταβολισμού του DNA, της κυτταρικής ευαισθησίας στη θερμότητα, της μείωσης και της αναγέννησης οργάνων, εκτός από το ότι παίζει καθοριστικό ρόλο στην κυτταρική διαίρεση. Επειδή το Ki-67 δεν μοιάζει με άλλες πρωτεΐνες, είναι δύσκολο να εξακριβωθεί η λειτουργική του λειτουργία. Καμία πρωτεΐνη δεν έχει δείξει ξεκάθαρα ομολογία με το ανθρώπινο Ki-67 μέχρι πρόσφατα, με εξαίρεση λίγα ανάλογα Ki-67 σε άλλα θηλαστικά.

Οι Denkert et al.⁵² συνέλεξε 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 (P0,0005). Το Ki-67 είναι ένας προγνωστικός παράγοντας για τον θετικό σε ορμονικούς υποδοχείς, αλλά όχι τριπλά αρνητικό, καρκίνο του μαστού, όπως φαίνεται από το γεγονός ότι ο 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 κρίσιμα για τη δημιουργία άλλων ποσοτικών βιοδεικτών.^{49, 51}

iii. 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 αφηθεί χωρίς θεραπεία, θα εξελιχθεί σε μια επιθετική μορφή καρκίνου του μαστού. Η υπερέκφραση HER2 ευθύνεται για το 25% όλων των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού.⁵⁵ Μια μεγάλη ποσότητα απόπτωσης προκαλείται στα καρκινικά κύτταρα του μαστού από την αναστολή της υπερέκφρασης HER2 και οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού θετικοί στο HER2 έχουν υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης από εκείνους χωρίς υπερέκφραση HER2. Υπάρχουν αποδεδειγμένες προγνωστικές και προγνωστικές αξίες για το HER2. Και τα δύο γονίδια HER2 και Tr53 βρίσκονται στο χρωμόσωμα 17. Το πώς η εγγύτητα αυτών των γονιδίων επηρεάζει την αλληλεπίδρασή τους παραμένει ένα μυστήριο. 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. Οι ασθενείς που έχουν υψηλά επίπεδα HER2 είχαν σχεδόν επταπλάσια σημεία μετάλλαξης Tr53 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 εξωκυτταρική 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 στην πλειοψηφία των καρκινικών κυττάρων. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς που έλαβαν τραστουζουμάμπη ανέφε-

ραν εξέλιξη και υποτροπή της νόσου στο τέλος. Φυσικά, η αλληλεπίδραση της τραστουζουμάμπης με τον υποδοχέα αποκλείεται με την αποβολή της εξωκυτταρικής περιοχής του HER2, η οποία περιέχει τη θέση δέσμευσης της τραστουζουμάμπης.⁵³

iv. 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 και τα δύο 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.

v. 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.³

vi. 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 δέσμευσης DNA, μια ρυθμιστική περιοχή N-τερματικής και μια περιοχή δέσμευσης συνδέτη Ο-τελικού. Συμμετέχει στην επικοινωνία κυττάρου-κυττάρου, στην αναστολή της γονιδιακής έκφρασης και στην έναρξη της μεταγραφής από τον προαγωγέα RNA πολυμεράσης II. Ο PR απομονώνεται σε μια μη παραγωγική μορφή που σχετίζεται με κυτταρικούς συνόδους και άλλες πρωτεΐνες θερμικού σοκ, στα κύτταρα που στερούνται της προγεστερόνης. Απουσία προγεστερόνης, ο υποδοχέας δεν είναι σε θέση να ελέγξει τον ρυθμό μεταγραφής. Παρουσία προγεστερόνης, ο PR υφίσταται πολλές αλλαγές που περιλαμβάνουν διάσπαση από τα συμπλέγματα πρωτεϊνών θερμικού σοκ, διαμορφωτικές αλλαγές, φωσφορυλίωση, σουμοϋλίωση, ουβικουϊτινοποίηση, διμερισμό και πυρηνική μετατόπιση. Αυτές οι αλλαγές επιτρέπουν στον υποδοχέα προγεστερόνης να συνδεθεί με στοιχεία απόκρισης

προγεστερόνης, τα οποία υπάρχουν στις ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων-στόχων. Αυτή η δέσμευση προκαλεί την ανοδική ρύθμιση της μεταγραφής του γονιδίου στόχου με τη στρατολόγηση βασικών μεταγραφικών μηχανημάτων 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 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.⁵⁴

vii. Έκφραση αρωματάσης

Έχει αποδειχθεί ότι η παραγωγή αρωματάσης από καρκινικά κύτταρα του μαστού επηρεάζει το πόσο καλά λειτουργούν οι ενδοκρινικές θεραπείες για τον καρκίνο του μαστού. Χρησιμοποιώντας ένα δείγμα από μια κλινική δοκιμή που συνέκρινε ταμοξιφαίνη και λετροζόλη ως νεοεπικουρικές ενδοκρινικές θεραπείες, ο Ellis et al ανακάλυψε ότι η έκφραση της αρωματάσης σε όγκο και σωματικά κύτταρα συνδέθηκε με αλλαγές στο Ki-67, RFS και καρκίνο του μαστού που προκαλείται από τη θεραπεία.

Η έκφραση της αρωματάσης συσχετίστηκε με μειωμένο μέγεθος όγκου ($P=0,01$), αυξημένο σκορ Allred υποδοχέα οιστρογόνων ($P=0,006$) και μειωμένα επίπεδα Ki-67 ($P=0,003$). Ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για τις ανεξάρτητες μεταβλητές RFS και BCSS ήταν η έκφραση της αρωματάσης από καρκινικά κύτταρα ($HR=2,3$, $95\% CI=1,2-4,6$, $P=0,01$) και BCSS ($HR=3,76$, $95\% CI=1,4-10,0$, $P=0,008$). Σύμφωνα με την προαναφερθείσα έρευνα, οι αναστολείς της αρωματάσης θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως η πρώτη γραμμή θεραπείας για τον μετεμμηνοπαυσιακό, ορμονοθετικό καρκίνο του μαστού.⁵¹

viii. Υποδοχέας ρετινοϊκού οξέος α (RARA)

Μια επανεμφάνιση της νόσου εμφανίστηκε σχεδόν στο ένα τρίτο των γυναικών που έλαβαν ταμοξιφαίνη με θετικό στον υποδοχέα οιστρογόνου (ER) καρκίνο του μαστού. Ένας πιθανός βιοδείκτης για την αντοχή στην ταμοξιφαίνη είναι το RARA. Η αλληλεπίδραση του

υποδοχέα με το ER και την κοινή γενετική τους θέση δέσμευσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εξηγήσει τις αντικαρκινικές επιδράσεις του RARA. Χρησιμοποιώντας ευαίσθητες στην ταμοξιφαίνη και ανθεκτικές κυτταρικές σειρές, επαληθεύτηκε η σχέση μεταξύ της αντοχής στο ER και της αντίστασης σε RARA. Ανακαλύφθηκε ότι τα ανθεκτικά στην ταμοξιφαίνη κύτταρα εξέφραζαν πολύ RARA.

Η ταμοξιφαίνη χορηγήθηκε ως επικουρική θεραπεία σε ασθενείς με ER-θετικούς όγκους καρκίνου του μαστού που είχαν υψηλά εσωτερικά επίπεδα πρωτεΐνης RARA. Αυτοί οι ασθενείς είχαν μικρότερη επιβίωση χωρίς υποτροπές (RFS) από τους ασθενείς με χαμηλά εσωτερικά επίπεδα πρωτεΐνης RARA. Χρησιμοποιώντας ELISA, οι Johansson et al. διερεύνησαν τα επίπεδα RARA στον ορό και ανακάλυψαν ότι οι ασθενείς με υψηλά επίπεδα έκφρασης RARA είχαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά RFS από τους ασθενείς με χαμηλά επίπεδα: Αναλογία κινδύνου (HR)=4,1; 95% διάστημα εμπιστοσύνης (CI)=1,55-11,0; P=0,0046. Ως εκ τούτου, το RARA θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως βιώσιμος στόχος για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις και ένας βιοδείκτης για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της επικουρικής θεραπείας με ταμοξιφαίνη στον ER-θετικό καρκίνο του μαστού.⁵¹

ix. Υποδοχέας οιστρογόνου (ER)

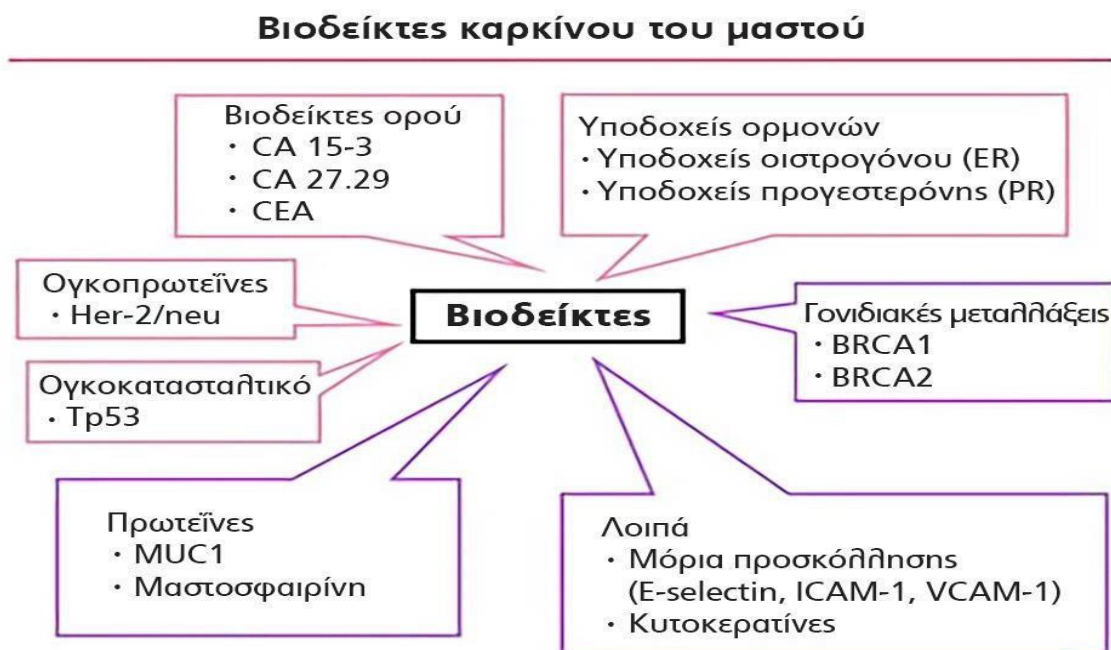
Δεδομένου ότι μετρά την ευαισθησία στην ενδοκρινική θεραπεία, η έκφραση ER είναι αναμφισβήτητα ο πιο σημαντικός βιοδείκτης στον καρκίνο του μαστού. Δεδομένου ότι η οιστραδιόλη, μια στεροειδής ορμόνη, είναι το κύριο διεγερτικό ανάπτυξης για τους θετικούς στο ER όγκους (περίπου το 80% του καρκίνου του μαστού), το ER είναι ο πρωταρχικός στόχος της ενδοκρινικής θεραπείας. Η ανάλυση της Οξφόρδης δείχνει ότι η 5ετής επικουρική θεραπεία με ταμοξιφαίνη είναι αναποτελεσματική για ασθενείς με ER-αρνητική νόσο, αν και μπορεί να είναι ευεργετική για τη λιγότερο συχνή υποομάδα των ER-αρνητικών και των καρκίνων του μαστού που εκφράζουν υποδοχείς προγεστερόνης (PgR). Από την άλλη πλευρά, σε περιπτώσεις ER-θετικής νόσου, μια τέτοια θεραπεία μειώνει το ετήσιο ποσοστό θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού κατά 31%.

Σύμφωνα με αναφορές, η κατάσταση του ER στο νεοεπικουρικό περιβάλλον προβλέπει τη χημειοθεραπευτική απόκριση. Πολυάριθμες κλινικές δοκιμές έχουν δείξει ότι οι ασθενείς με ER-αρνητικό καρκίνο του μαστού είναι πιο πιθανό από τους θετικούς σε ER να εμφανίσουν παθολογική πλήρη απόκριση (pCR) μετά από νεοεπικουρική χημειοθεραπεία,

με αναφερόμενα ποσοστά pCR 7-8 έναντι 21-33%. Η τάση των ER-αρνητικών καρκίνων του μαστού να πολλαπλασιάζονται περισσότερο μπορεί να οφείλεται εν μέρει σε αυτό, αλλά δεν φαίνεται να είναι μια πλήρης εξήγηση.⁵¹

χ. Μόριο κυτταρικής προσκόλλησης που σχετίζεται με καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο 6 (CEACAM6)

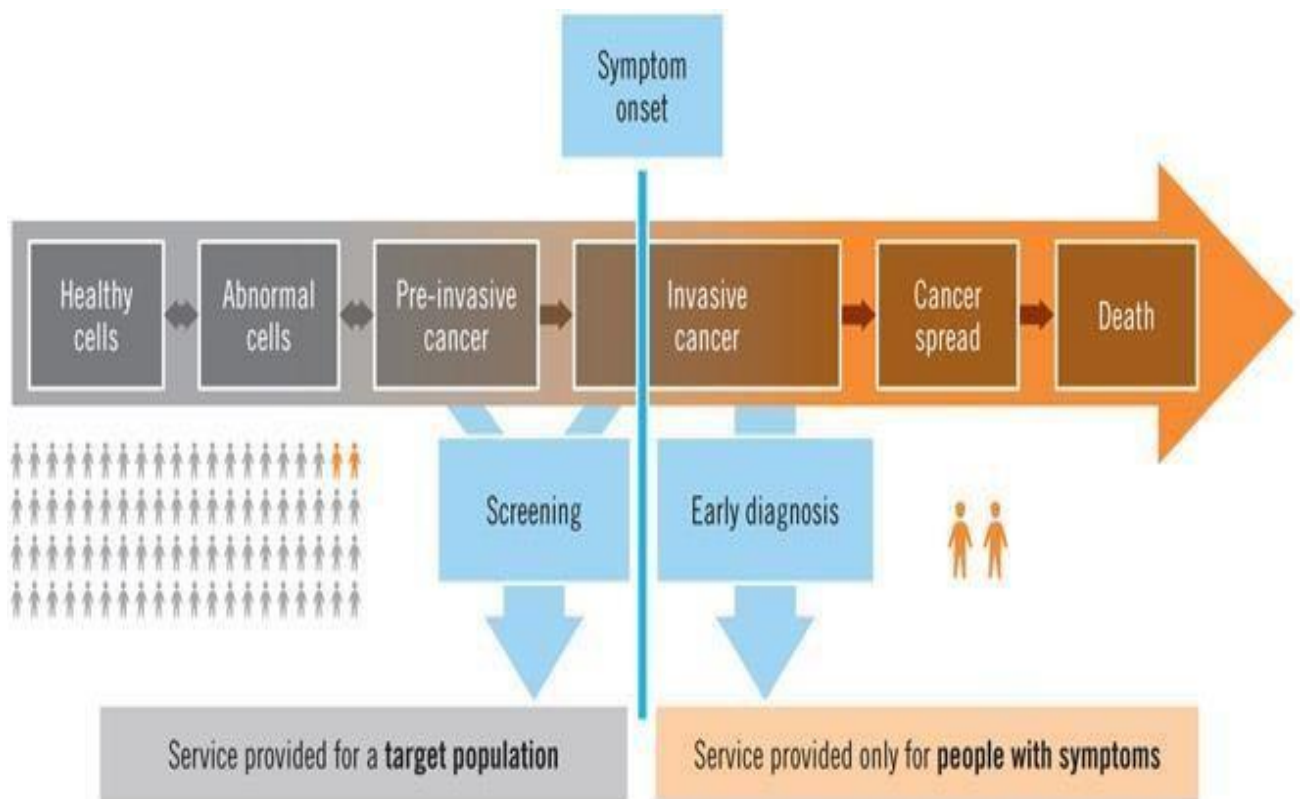
Το ανθρώπινο καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο CEACAM6 υπερεκφράζεται σε έναν αριθμό κυτταρικών διεργασιών που σχετίζονται με τον καρκίνο και χρησιμεύει ως πολυλειτουργική ρυθμιστική πρωτεΐνη. Έχει υποτεθεί ότι η έκφραση CEACAM6 στην άτυπη υπερπλασία του πόρου έχει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού. Επιπλέον συνδέεται με τον επιθετικό και ανθεκτικό στη θεραπεία καρκίνο του μαστού. Βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του CEACAM6 και της πρόγνωσης στον καρκίνο του μαστού που υπερεκφράζει το HER2, με την ομάδα υψηλής έκφρασης να παρουσιάζει γενικά χειρότερο OS. Ωστόσο, η έκφραση CEACAM6 στον καρκίνο του μαστού δεν έδειξε καμία επίδραση στο OS ή συσχέτιση με την πρόγνωση σε μια μεγάλης κλίμακας μελέτη κοόρτης. Σύμφωνα με τα προαναφερθέντα ευρήματα, η θεραπεία είναι απαραίτητη για ασθενείς με καρκίνο του μαστού που έχουν υπερέκφραση HER2 και CEACAM6 (Εικόνα 7).⁵¹



Εικόνα 7. Βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού Sudha Bansode Cancer Biology-Causes & Biomarkers of Cancer 2019⁵⁶

2.3 Πρώιμη διάγνωση του καρκίνου του μαστού

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει ορίσει δύο διαφορετικές αλλά σχετικές στρατηγικές για την προώθηση της έγκαιρης ανίχνευσης του καρκίνου, την έγκαιρη διάγνωση, δηλαδή την αναγνώριση του συμπτωματικού καρκίνου σε πρώιμο στάδιο και προσυμπτωματικό έλεγχο, δηλαδή ο εντοπισμός ασυμπτωματικής νόσου σε πληθυσμό-στόχο φαινομενικά υγιών ατόμων (Εικόνα 8). Λόγω των χαμηλών ποσοτήτων δεικτών καρκίνου, οι βιοδείκτες DNA συνδέονται με κακή έγκαιρη ανίχνευση, αλλά προσφέρουν σημαντικές πληροφορίες για τη διαδικασία εξέλιξης του όγκου.⁵⁷ Οι πρωτεϊνικοί βιοδείκτες είναι ο κύριος δείκτης του καρκίνου του μαστού, οι οποίοι μπορούν να ταξινομηθούν ως προγνωστικοί και προβλεπτικοί δείκτες. Οι προγνωστικοί δείκτες πρωτεΐνης παρέχουν πληροφορίες για τη συγκεκριμένη θεραπευτική παρέμβαση, ενώ οι προβλεπτικοί δείκτες πρωτεΐνης προσφέρουν τη συνολική πληροφόρηση των υποκειμένων.⁵⁸



Εικόνα 8 Διακρίνοντας τον προσυμπτωματικό έλεγχο από την έγκαιρη διάγνωση σύμφωνα με την έναρξη των συμπτωμάτων Οδηγός WHO για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου 2017⁵⁹

2.3.1 Βιοδείκτες για την πρώιμη διάγνωση του καρκίνου του μαστού

Στην ιατρική πρακτική, η αναγνώριση της νόσου απαιτεί όχι μόνο την αναγνώριση των συμπτωμάτων αλλά και την ανίχνευση συγκεκριμένων χαρακτηριστικών που αναμφισβήτητα θα έδειχναν την παρουσία μιας συγκεκριμένης ασθένειας. Πολύ συχνά, τα αρχικά συμπτώματα υποδεικνύουν μια πιθανή ομάδα ασθενειών με παρόμοια χαρακτηριστικά και τυπικά πρέπει να πραγματοποιηθούν πρόσθετες στοχευμένες δοκιμασίες πριν από τη διάγνωση. Οι διαγνώσεις που βασίζονται στα συμπτώματα δεν είναι αποτελεσματικές για τον καρκίνο, επειδή τα συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως όταν οι όγκοι είναι αρκετά μεγάλοι. Κατά συνέπεια, εάν η ανίχνευση του καρκίνου είναι πράγματι πρώιμη, πρέπει να αποκαλύψει όγκους σε ασυμπτωματικά άτομα, έτσι ώστε η ειδική για τον όγκο ανάλυση να ανέλθει στο επίπεδο μιας δοκιμασίας προσυμπτωματικού ελέγχου με σχετικές πολύ συγκεκριμένες απαιτήσεις. Αρχικά, η πρώιμη ανίχνευση σε ασυμπτωματικούς πληθυσμούς απαιτεί μια μη επεμβατική (ή μια ελάχιστα επεμβατική) διαδικασία για τον προσδιορισμό, η οποία πρέπει να εκτελείται χρησιμοποιώντας μικρή ποσότητα υλικού έναρξης. Επιπλέον, ένας βέλτιστος προσδιορισμός προσυμπτωματικού ελέγχου πρέπει να μπορεί να ανιχνεύει τον καρκίνο σε διαφορετικά όργανα και να καθιερώνει τη θέση σχηματισμού του όγκου (να είναι ειδική για τη θέση). Ένας αποτελεσματικός προσδιορισμός πρέπει επίσης να αποκλείει συγχυτικά μη καρκινικά συμβάντα στο ίδιο όργανο ή ιστό. Επιπλέον, η ανάλυση πρέπει να λειτουργεί σε επίπεδο διαφορικής διάγνωσης και πρέπει να είναι ανεξάρτητη από τον παρατηρητή, με αντικειμενικές μετρήσεις βιοδεικτών της νόσου. Τέλος, το τεστ προσυμπτωματικού ελέγχου πρέπει να είναι επαρκώς ειδικό για να παράγει ένα αποδεκτό όριο ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων, ανάλογα με τον επιπολασμό της νόσου στον πληθυσμό.⁶⁰

i. Πρωτεϊνικοί βιοδείκτες

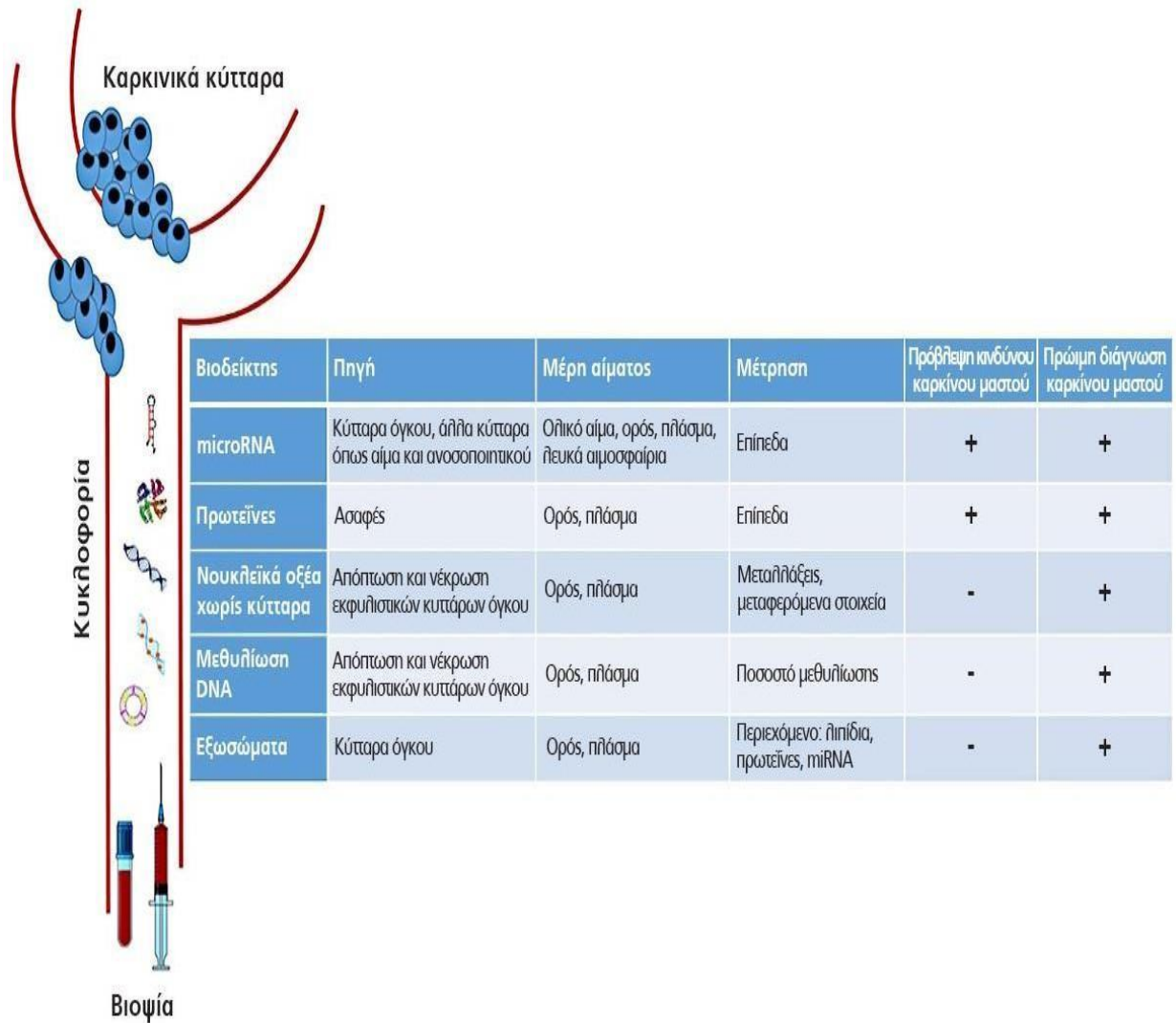
- Το p53 βρέθηκε σε περίπου 15% των ασθενών με καρκίνο του μαστού, αλλά δεν βρέθηκε μόνο σε αυτούς με τη νόσο. Βρέθηκε επίσης σε άτομα με άλλες κακοήθειες και φλεγμονώδεις ασθένειες. Ωστόσο, το αυτοαντίσωμα p53 συνδέεται με κακή επιβίωση. Τα αυτοαντισώματα HSP60 και HSP90 χρησιμοποιούνται επίσης για τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού εκτός από το p53, ωστόσο και τα δύο συνδέονται με κακή πρόγνωση.⁴¹

- Το υδατανθρακικό αντιγόνο 15-3 (CA15-3) είναι ένας παραδοσιακός βιοδείκτης για προχωρημένο καρκίνο του μαστού με περιορισμένη ευαισθησία για καρκίνο του μαστού πρώιμου σταδίου. Το CA15-3 έχει εφαρμοστεί ευρέως για τον εντοπισμό υποτροπών και για την παρακολούθηση της θεραπείας στον μεταστατικό καρκίνο του μαστού, ο οποίος ανιχνεύει τη βλεννίνη MUC1.⁶¹ Το MUC1 μπορεί να βρεθεί στην κορυφαία μεμβράνη του φυσιολογικού εκκριτικού επιθηλίου, το οποίο μπορεί να εντοπιστεί σε όλη την εξωτερική επιφάνεια ολόκληρης της μεμβράνης. Αν και το MUC1 εκφράζεται σε φυσιολογικό και νεοπλασματικό επιθήλιο μαστού, η κλινική χρησιμότητα των μετρήσεων MUC1 περιορίζεται σε μετρήσεις του CA15-3, που απελευθερώνεται από την κυτταρική επιφάνεια με πρωτεολυτική διάσπαση.⁴¹
 - Τα επίπεδα HER2 παρατηρήθηκαν σημαντικά υψηλότερα στο 30% περίπου των ασθενών με καρκίνο του μαστού από ότι σε υγιή άτομα. Το HER2 έχει χρησιμοποιηθεί ως αντιγόνο που σχετίζεται με τον όγκο του μαστού, το οποίο μπορεί να προσδιοριστεί σε δείγματα ανθρώπινου αίματος.⁶² Τα υγιή άτομα παρουσιάζουν κανονικά επίπεδα HER2 2~15 ng/mL ενώ οι πατέντες για καρκίνο του μαστού εμφανίζουν επίπεδα HER2 15~75 ng/mL.⁶³ Προηγούμενες μελέτες διαπίστωσαν ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα HER2 είναι χρήσιμα για την παρακολούθηση της υποτροπής της νόσου, της εξέλιξης του καρκίνου και την επιλογή της κατάλληλης θεραπείας, για παράδειγμα, παρέχουν θεραπεία με Herceptin για άτομα με καρκίνους μαστού θετικούς για HER2. Τα επίπεδα HER2 στον ορό, το μέγεθος του όγκου, η κομβική συμμετοχή και οι δείκτες όγκου είναι εξαρτώμενοι προγνωστικοί παράγοντες τόσο για την επιβίωση χωρίς νόσο όσο και για τη συνολική επιβίωση.⁴¹
- ii. Γονιδιακοί βιοδείκτες
- Το γονίδιο BRCA1 και το γονίδιο BRCA2 είναι κοινώς χρησιμοποιούμενοι γονιδιακοί δείκτες για την ευαισθησία στον καρκίνο του μαστού. Είναι ογκοκατασταλτικά γονίδια που εμπλέκονται στην επιδιόρθωση των θραυσμάτων διπλού κλώνου του DNA που ευθύνονται για τον καρκίνο του μαστού.⁶⁴ Οι γονιδιακές μεταλλάξεις οδήγησαν σε αστάθεια του ανθρώπινου γονιδιώματος και αύξησαν τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού κατά περίπου 21-40% των κληρονομικών καρκίνων του μαστού.⁴¹

- Περίπου το 30-35% των όγκων του μαστού έχουν μεταλλάξεις p53.⁶⁵ Για την ανάλυση του γονιδίου p53, έχει δημιουργηθεί ένας βιοαισθητήρας DNA. Με τη σειριακή έγχυση στοιχείων απόκρισης (REs) πάνω από τους ενεργούς ολιγονουκλεοτιδικούς ανιχνευτές, αποδεικνύονται τα χαρακτηριστικά συγγένειας των RE και του γονιδίου p53. Αυτές οι δοκιμές δείχνουν ότι κάθε συνδετήρας έχει διαφορετική συγγένεια για τα RE. Ένας βιοαισθητήρας πρωτεΐνης δέσμησης μονής έλικος δημιουργήθηκε από τους Chase et al. για τον εντοπισμό μεταλλάξεων p53 σε όγκους του μαστού.⁶⁶
- Ο καρκίνος του μαστού σχετίζεται με υπερβολική βλάβη του DNA που απελευθερώνεται από αποπτωτικά και νεκρωτικά κύτταρα.⁶⁷ Η ποσοτική εκτίμηση του DNA όγκου χωρίς κύτταρα (cfDNA) προσφέρει νέα μη επεμβατική μέθοδο για τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού και παρέχει θεραπευτικές πληροφορίες. Το cfDNA έχει μελετηθεί ως δείκτης καρκίνου του μαστού για να αποκαλύψει τη σχέση μεταξύ εξέλιξης του καρκίνου και συγκέντρωσης cfDNA, αλλά η μέθοδος δεν είναι πολύ ώριμη.⁶⁸
- Τα MicroRNA (miRNAs) αναδεικνύονται ως αξιόπιστοι δείκτες που βασίζονται στην έννοια του υβριδισμού και της οξειδωσης της γουανίνης. Τα στοχευόμενα miRNAs έχουν διερευνηθεί χρησιμοποιώντας διάφορους ηλεκτροχημικούς νανοβιοαισθητήρες.⁶⁹ Μεταξύ αυτών των δεικτών miRNA, το miR-21 είναι ο πιο σταθερός δείκτης με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, αλλά έχει ορισμένα μειονεκτήματα, όπως η ομολογία αλληλουχίας με σχετικά RNA, η εμφάνιση σε άλλους καρκίνους και η χαμηλή αφθονία στον ορό (Πίνακας 4).⁷⁰

Πίνακας 4. Βιοψία με βάση το περιφερικό αίμα για πρόβλεψη κινδύνου καρκίνου του μαστού και έγκαιρη ανίχνευση. Nassar FJ, Chamandi G, Tfamily MA, Zgheib NK and Nasr R (2020) *Peripheral Blood-*

*Based Biopsy for Breast Cancer Risk Prediction and Early Detection. Front. Med. 7:28.*⁷¹



2.3.2 Βιοδείκτες σε σωματικά υγρά και εκκρίματα

i. Ούρα

Τα ανθρώπινα ούρα είναι ένα από τα πιο χρήσιμα υγρά του σώματος για εξετάσεις ρουτίνας. Ένας αριθμός μελετών έχει προτείνει ότι τα ούρα θα μπορούσαν να περιέχουν πιθανούς βιοδείκτες για τον προσυμπτωματικό έλεγχο καρκίνου του μαστού, που κυμαίνονται από το προφίλ μεταβολισμού και το πρωτεομικό προφίλ έως την εξωσωματική ανάλυση.⁷² Τα φωσφολιπίδια είναι δομικά στοιχεία για τις κυτταρικές μεμβράνες. Η φωσφατιδυλοχολίνη (PC), η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη (PE) και η σφιγγομυελίνη είναι τα πιο άφθονα φωσφολιπίδια και αποτελούν έως και το 80% της μεμβράνης. Αυξημένος μεταβολισμός φωσφολιπιδίων, ιδιαίτερα PC και PE ή τα πρόδρομα μόριά τους, έχει παρατηρηθεί σε ιστούς καρκίνου του μαστού.⁷³ Η απώλεια αλληλόμορφου BRCA1 έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την παραγωγή λιπιδίων στα καρκινικά κύτταρα του μαστού. Τα ούρα είναι επίσης πηγή εξωσωμάτων. Επειδή η συλλογή ούρων είναι μη επεμβατική και βολική, έχει χρησιμοποιηθεί για την ανακάλυψη καρκινικών βιοδεικτών. Αλλαγές σε πρωτεΐνες, μεταβολίτες, miRNAs ή άλλα κυτταρικά συστατικά στα ούρα θα μπορούσαν ενδεχομένως να υποδηλώνουν την παρουσία καρκίνου του μαστού. Ωστόσο, οι τρέχοντες αναφερόμενοι βιοδείκτες καρκίνου του μαστού ούρων βρίσκονται ακόμη στη φάση ανακάλυψης βιοδεικτών και η ειδικότητα και η ευαισθησία τους πρέπει να επικυρωθούν σε μελέτες κοόρτης.⁷⁴

ii. Δάκρυα

Οι δακρυϊκοί αδένες, που βρίσκονται κάτω από το δέρμα των άνω βλεφάρων, είναι κυρίως υπεύθυνοι για την παραγωγή δακρύων φιλτράροντας το πλάσμα του αίματος που κυκλοφορεί σε όλα τα όργανα και τους ιστούς του σώματός μας. Ως αποτέλεσμα, τα δάκρυα έχουν χρησιμοποιηθεί ως πηγή για φαρμακοκινητικές έρευνες και εξωτερικό έλεγχο φαρμάκων, καθώς και για την ανακάλυψη βιοδεικτών διαφόρων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου.⁷⁵ Οι μικρομεταστάσεις των μασχαλιαίων λεμφαδένων ασθενών με καρκίνο του μαστού μπορούν να ανιχνευθούν από τη μαστοσφαιρίνη B (γνωστή επίσης ως SCGB2A1 ή λακρυσφαιρίνη), η οποία υπερεκφράζεται στον καρκίνο του μαστού. Τα πρώτα στοιχεία για τη μαστοσφαιρίνη B βρέθηκαν σε τυπικά ανθρώπινα αντανεκλαστικά δάκρυα. Ωστόσο, το 88% των ασθενών με καρκίνο του μαστού το βρίσκουν και στα δάκρυά τους.⁷⁶ Χρησιμοποιώντας φασματομετρία μάζας εκρόφησης/ιοντισμού με επιφανειακά ενισχυμένο λέιζερ, μια μελέτη εξέτασε τα προφίλ πρωτεϊνών των δακρύων (και του

αίματος) από 10 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και 10 υγιείς μάρτυρες. Ανακαλύφθηκαν διαφορετικά προφίλ έκφρασης πρωτεΐνης.⁷⁷

Τα δάκρυα έχουν πλεονεκτήματα έναντι του αίματος ως πηγή βιοδεικτών. Η συγκέντρωση δακρύων απαιτεί λιγότερη παρείσφρηση. Τα δάκρυα μπορούν εύκολα να συλλεχθούν από την επιφάνεια του ματιού εντός ή εκτός της κλινικής για γρήγορη και συνεχή παρακολούθηση της υγείας. Δεδομένου ότι τα δάκρυα περιλαμβάνουν μόνο μια μικρή ποσότητα στερεών πρωτεϊνών όπως η λευκωματίνη, δεν απαιτείται διήθηση πρωτεΐνης πριν από την ανάλυση. Ωστόσο, η σημαντικά χαμηλότερη συγκέντρωση αρκετών ενώσεων στα δάκρυα σε σύγκριση με το αίμα παρουσιάζει ένα αναλυτικό εμπόδιο. Ως αποτέλεσμα, για την ακριβή και επαναλαμβανόμενη ανίχνευση και ποσοτικοποίηση, απαιτείται μια ευαίσθητη και αξιόπιστη τεχνική διαλογής.⁷⁸

iii. Εκκρίσεις Θηλής (NAF)

Το NAF είναι ένα σωματικό υγρό που εκκρίνεται φυσικά από τα κύτταρα του επιθηλιακού πόρου του μαστού. Μπορεί να εξαχθεί από υγιείς, μη θηλάζουσες μητέρες μέσω αναρρόφησης θηλής ή άλλων τεχνικών. Ο καρκίνος του μαστού θα μπορούσε να αναγνωριστεί από το χρώμα του NAF και την παρουσία συγκεκριμένων βιοδεικτών στο NAF. Ο κίνδυνος καρκίνου του μαστού έχει βρεθεί ότι είναι υψηλότερος σε γυναίκες με αιματηρές ή καφέ εκκρίσεις από τη θηλή από ό,τι σε εκείνες με λευκές, κρεμ, πράσινες ή κίτρινες εκκρίσεις από τη θηλή.⁷⁹ Το NAF περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις πρωτεϊνών, υδατανθράκων και μεταβολιτών, όπως αμινοξέα, οργανικά οξέα και λιπαρά οξέα. Αρκετές μελέτες έχουν προτείνει ότι τα επίπεδα φαρμάκων, πρωτεϊνών και ορμονών στο NAF αντικατοπτρίζουν περισσότερο τα προϊόντα του μεταβολισμού και της έκθεσης στον ιστό του μαστού από εκείνα στο πλάσμα ή στον ορό.⁸⁰ Τα υψηλά επίπεδα ειδικού προστατικού αντιγόνου (PSA) έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως ως διαγνωστικός βιοδείκτης για τον καρκίνο του προστάτη. Ωστόσο, υψηλά επίπεδα PSA σε NAFs βρέθηκαν σε όλες τις γυναίκες χωρίς παράγοντες κινδύνου ή στο 90% αυτών με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, ενώ οι γυναίκες με προκαρκινικό ή διηθητικό καρκίνο είχαν μειωμένα επίπεδα PSA. Επιπλέον, ως πηγή miRNAs, το NAF έχει μεγαλύτερη ποικιλία ειδών miRNA από τον ορό. Σε σύγκριση με εκείνα με καλοήθεις αλλοιώσεις του μαστού, ανακαλύφθηκε ότι τα miR-3646 και miR-4484 ρυθμίστηκαν προς τα πάνω, ενώ το miR-4732-5p ήταν μειωμένο στα NAF των ασθενών με καρκίνο του μαστού. Ως αποτέλεσμα, η ανάλυση miRNA των NAF έχει

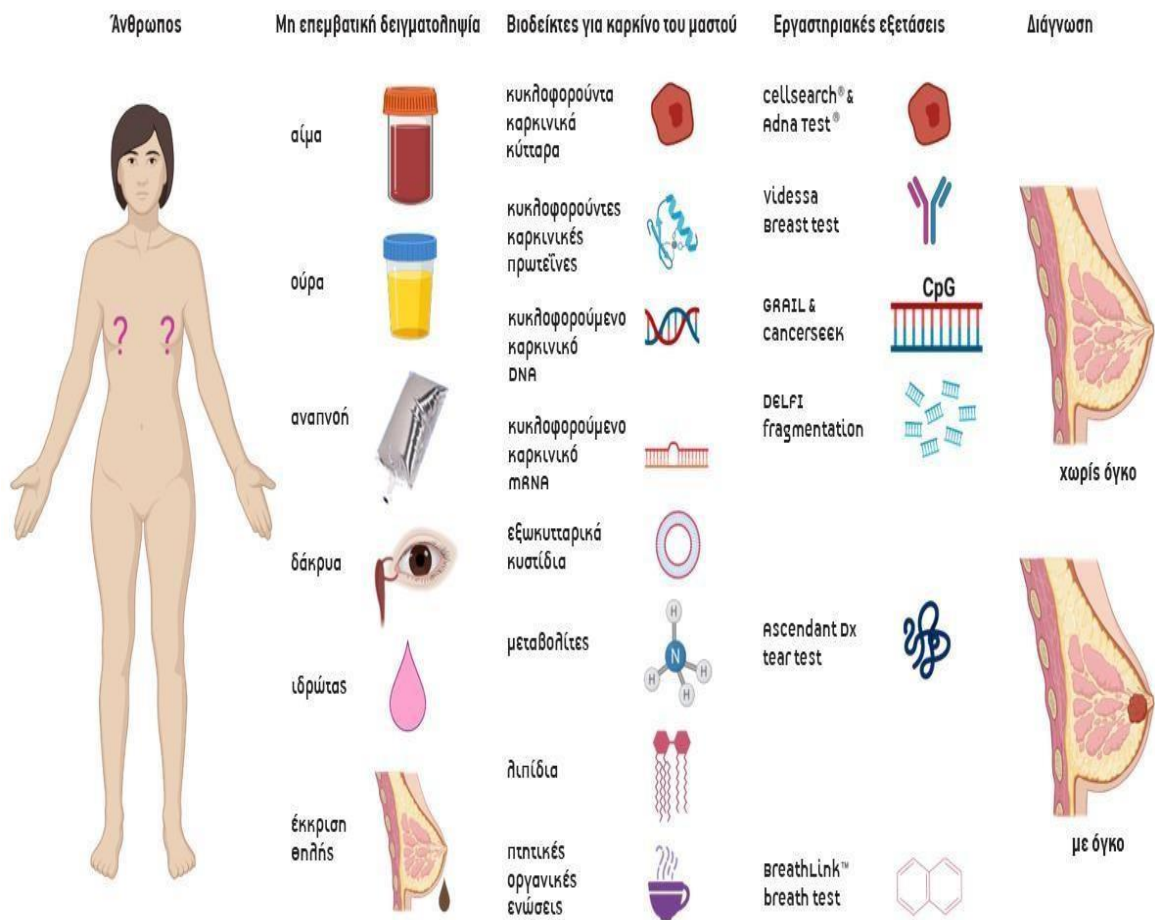
μεγάλη υπόσχεση για να βοηθήσει στην εύρεση του καρκίνου του μαστού. Υπάρχουν και άλλες έρευνες που συγκρίνουν τα προφίλ miRNA κακοήθων και υγιών NAF.⁸¹

Παρά τον μικρό όγκο δειγμάτων, η συλλογή NAF είναι απλή, γρήγορη, αξιόπιστη και αναπαραγωγίμη. Επιπλέον, η αναλυτική αναπαραγωγικότητα των δειγμάτων NAF ήταν υψηλή σε διαφορετικές ημέρες εκχύλισης και ανάλυσης. Ως εκ τούτου, το NAF είναι μια ιδανική πηγή βιοδεικτών για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του μαστού.⁸² Επιπλέον, επειδή το NAF προέρχεται απευθείας από το σύστημα πόρων του μαστού, ο μελλοντικός χαρακτηρισμός του NAF μπορεί να παρέχει πολύτιμες, πιο συγκεκριμένες και ευαίσθητες πληροφορίες για τη διάγνωση και τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού. Ωστόσο, προκειμένου να παρασχεθεί μια ακριβής προσέγγιση προσυμπτωματικού ελέγχου για ειδικούς βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού, θα απαιτηθεί αυξημένη επιτυχία στις μεθόδους συλλογής δειγμάτων NAF, κανονικοποίηση του όγκου του δείγματος και τυποποίηση της ανάλυσης.⁸¹

iv. Ιδρώτας

Ένα από τα λιγότερο συχνά χρησιμοποιούμενα μη επεμβατικά βιορρευστά για την ανακάλυψη βιοδεικτών είναι ο ιδρώτας. Ο ιδρώτας έχει μια πολύ μεταβλητή χημική σύνθεση που αλλάζει δραματικά στις συνθήκες που επηρεάζουν το δέρμα και άλλα όργανα. Ο ιδρώτας διαμορφώθηκε σε βάθος, αποκαλύπτοντας 32.818 ενδογενή πεπτίδια και 861 διακριτές πρωτεΐνες.⁸³ Η κυστική ίνωση έχει παραδοσιακά αναγνωριστεί κλινικά με τη δοκιμή χλωριούχου ιδρώτα. Υπάρχουν αναφορές που χρησιμοποιούν τεστ ιδρώτα για την ανίχνευση της φυματίωσης και τα φάρμακα εθισμού. Μια ομάδα πέντε μεταβολιτών που μπορεί να ανιχνεύσει τον καρκίνο του πνεύμονα με 80% ειδικότητα και 79% ευαισθησία βρέθηκε μετά από ανάλυση μεταβολιτών του ιδρώτα ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα και καπνιστών ως μάρτυρες.⁸⁴

Ένα παρόμοιο τεστ ιδρώτα για τον καρκίνο του μαστού έδειξε ότι ένα μαθηματικό-στατιστικό μοντέλο 20 δεικτών ιδρώτα ήταν σε θέση να ανιχνεύσει τον καρκίνο του μαστού με 97% ευαισθησία και 72% ειδικότητα. Ωστόσο, αυτά τα τεστ καρκίνου που βασίζονται στον ιδρώτα δεν έχουν επικυρωθεί κλινικά (Εικόνα 9).⁸⁵

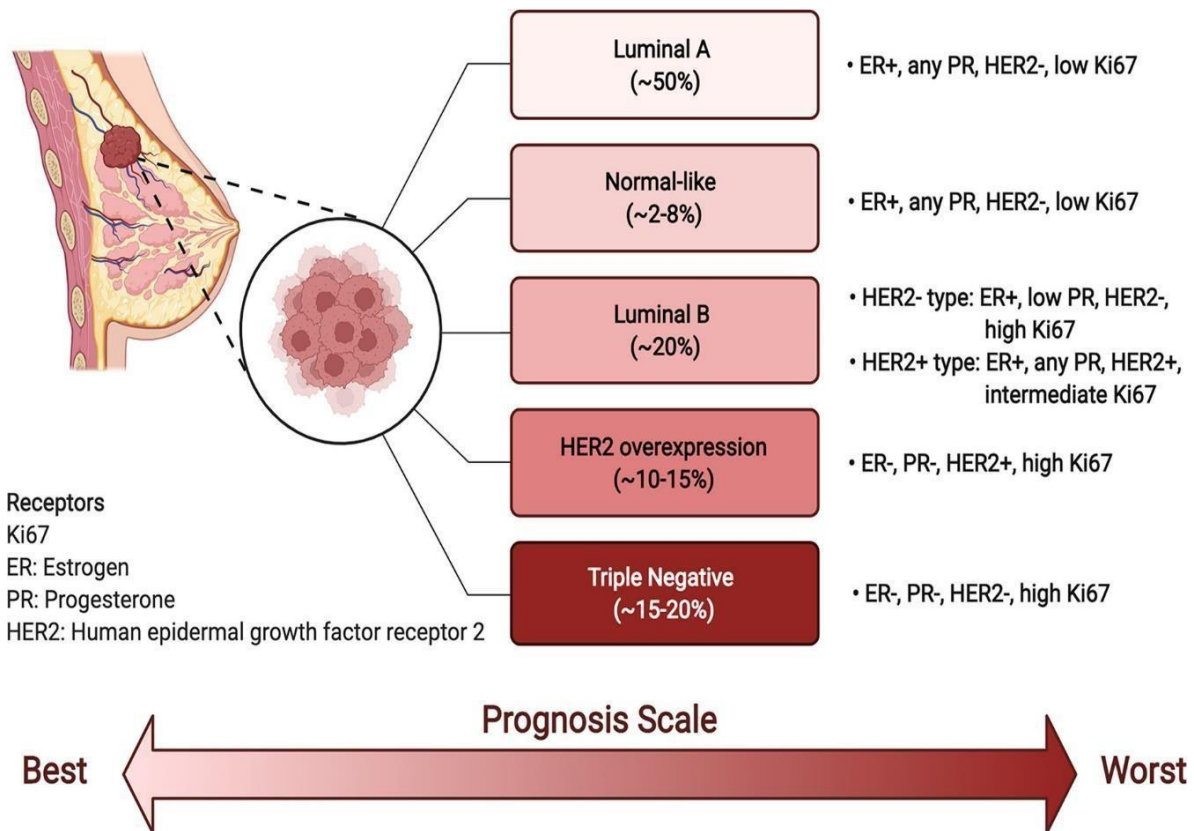


Εικόνα 9. Βιοδείκτες σε σωματικά υγρά και εκκρίματα για την πρώιμη διάγνωση καρκίνου του μαστού Li J, Guan X, Fan Z, Ching L-M, Li Y, Wang X, et al. Non-Invasive Biomarkers for Early Detection of Breast Cancer. Cancers [Internet] 2020⁷⁷

2.4 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 δοκιμές. Τα προγνωστικά πολυγονιδιακά τεστ uPA/PAI1, Oncotype DX και MammaPrint είναι από τα καλύτερα. 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 10).⁸⁶



Εικόνα 10. Μοριακή ταξινόμηση του καρκίνου του μαστού σύμφωνα με δείκτες ανοσοχημείας Le Jing, Chongyu Xie, Qianqian Li, Meiqing Yang, Shaoguang Li, Hui Li, and Fan Xia Analytical Chemistry 2022.⁸⁷

2.4.1 Βιοδείκτες για την πρόγνωση του καρκίνου μαστού

i. uPA, PAI και TF

Το καλύτερο σύνολο γνωστών βιοδεικτών και έχει τραβήξει το ενδιαφέρον των επιστημόνων. Η σχετιζόμενη με τον όγκο πρωτεάση σερίνης uPA πιστεύεται ότι εμπλέκεται στην εισβολή και τη μετάσταση συμπαγών κακοηθειών. Σε μελέτες με στοιχεία επιπέδου 1 (στοιχεία βασισμένα σε τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές ή μετα-αναλύσεις κλινικών δοκιμών με υψηλή σύσταση για αποφάσεις θεραπείας), το uPA και ο αναστολέας του, PAI-

1, ήταν οι πρώτοι δείκτες όγκου που επιβεβαιώθηκε η κλινική τους αξία. Είναι προγνωστικοί παράγοντες ανεξάρτητοι από συμβατικά χρησιμοποιούμενους παράγοντες.⁸⁸ Ως εκ τούτου, η τακτική αξιολόγηση της πρόγνωσης σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού μπορεί να είναι κατάλληλη για την uPA και τον αναστολέα της, PAI-1.⁸⁹ Η υπερέκφρασή τους στον ιστό όγκου συνδέεται με χειρότερες πιθανότητες επιβίωσης και υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής.

Το αντιγόνο TF είναι ένας ανώμαλα γλυκοζυλιωμένος υδατάνθρακας και αντιγόνο που σχετίζεται με τον καρκίνο που βρίσκεται σε περίπου 80% των αδenoκαρκινωμάτων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Το TF έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκεται στην προσκόλληση και τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων.

Σήμερα, συνιστάται ιδιαίτερα η μέτρηση του UPA και του PAI-1 όταν αποφασίζετε για μια πορεία θεραπείας, ιδιαίτερα για ασθενείς με καρκίνο του μαστού αρνητικό στους λεμφαδένες. Σύμφωνα με τις συστάσεις του EGTM, τα επίπεδα της πρωτεΐνης PA και PAI-1 μπορεί να συνδυαστούν με αναγνωρισμένες μεταβλητές για την αξιολόγηση της πρόγνωσης και τον εντοπισμό ασθενών με καρκίνο του μαστού θετικών ER, HER2 και αρνητικών σε λεμφαδένες που είναι απίθανο να ωφεληθούν από την επικουρική χημειοθεραπεία. Παρόμοια με αυτό, οι κατευθυντήριες γραμμές ASCO συμβουλεύουν ότι το uPA/PAI-1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την άμεση λήψη αποφάσεων σχετικά με επικουρική συστηματική θεραπεία εάν ένας ασθενής με αρνητικό κόμβο έχει καρκίνο μαστού θετικό για ER/PR, HER2 αρνητικό.^{86, 88}

ii. Οστεοποντίνη

Μια εκκρινόμενη πρωτεΐνη προσκόλλησης εξωκυτταρικής μήτρας που ονομάζεται οστεοποντίνη συνδέεται με την εισβολή και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.⁵¹ Η οστεοποντίνη-c, η E-καντερίνη και η β-κατενίνη είναι μόρια προσκόλλησης που έχουν μελετηθεί για την κλινική και παθολογική τους επίδραση στον καρκίνο του μαστού. Σύμφωνα με τους Pang et al.⁹⁰, ο καρκίνος του μαστού έχει υψηλότερα επίπεδα έκφρασης και των τριών μορίων προσκόλλησης από τον φυσιολογικό ιστό. Η υψηλότερη κατηγοριοποίηση όγκων-μετάστασης όγκου και ο ιστολογικός βαθμός, καθώς και η μετάσταση στους λεμφαδένες, σχετίζονταν όλα με την έκφραση της οστεοποντίνης-c.⁹¹ Τα υψηλά επίπεδα έκφρασης της οστεοποντίνης-c έχουν επίσης συνδεθεί με τριπλούς αρνητικούς υποτύπους, μετάσταση όγκου και υποτροπή όγκου, τα οποία όλα είναι προγνωστικά των ανεξάρτητων

μεταβλητών επιβίωση χωρίς νόσο και συνολική επιβίωση. Κατά συνέπεια, η δημιουργία θεραπειών που στοχεύουν ειδικά την οστεοποντίνη-c μπορεί να είναι επωφελής για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού.⁵¹

iii. Μαστοσφαιρίνη

Η μαστοσφαιρίνη A (MGBA) είναι μια πρωτεΐνη 10 kd που εκφράζεται σχεδόν αποκλειστικά στο φυσιολογικό επιθήλιο του μαστικού αδένου και στον καρκίνο του μαστού. Η έκφραση του MGBA είναι υψηλότερη στον ορό ασθενών με καρκίνο του μαστού από ό,τι σε φυσιολογικούς μάρτυρες, υποδεικνύοντας ότι η μαστοσφαιρίνη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης ορού για τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού.⁸⁸

Στα αρχικά στάδια του καρκίνου, το ποσοστό θετικού mRNA h-MAM στο πλάσμα ήταν 23,4%. Σε προχωρημένα στάδια, το ποσοστό ανήλθε στο 82,9%, σύμφωνα με έρευνα του Lee και των συνεργατών του αυτή η διαφορά δείχνει ότι η εύρεση του mRNA του h-MAM πλάσματος σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού μπορεί να σχετίζεται με κακή πρόγνωση και μειωμένο ποσοστό επιβίωσης.⁹²

Επιπλέον, οι μεταστάσεις στους λεμφαδένες μπορεί να υποδεικνύονται με h-MAM. Ο Liu και οι συνεργάτες του⁹³ εξέτασαν την έκφραση του h-MAM mRNA σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού και σχετικές μεταστάσεις στους μασχαλιαίους λεμφαδένες στο μυελό των οστών (BM) χρησιμοποιώντας μεθόδους RT-PCR. Το 52,5% της ομάδας με μεταστάσεις στους μασχαλιαίους λεμφαδένες είχε μεγαλύτερα επίπεδα έκφρασης h-MAM στο BM από το 23,5% της ομάδας χωρίς μεταστατική νόσο.

Σύμφωνα με έρευνα του Luo και των συνεργατών του⁹⁴, η ανοσοϊστοχημεία μπορεί να εντοπίσει το 72% των μεταστάσεων στους λεμφαδένες. Όταν συνδυάζεται με έναν άλλο βιοδείκτη, τον GCDFP-15 (ακαθάριστη πρωτεΐνη κυστικής νόσου σε υγρή πρωτεΐνη-15), η έκφραση μαστοσφαιρίνης μπορεί να αναγνωρίσει το 83% των μεταστάσεων. Ωστόσο, ο τριπλός αρνητικός καρκίνος του μαστού που μοιάζει με βάση δεν μπορεί να ανιχνευθεί χρησιμοποιώντας αυτούς τους βιοδείκτες.⁹⁵

iv. FGFR2

Υπάρχουν τέσσερις πολύ γνωστοί υποδοχείς στην οικογένεια των υποδοχέων αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών (FGFR). Αυτοί οι υποδοχείς μπορούν να ομο- ή ετεροδιμερίζονται παρουσία προσδεμάτων ινοβλαστικού αυξητικού παράγοντα (FGF) και να περιέχουν μια ενδοκυτταρική περιοχή τυροσίνης-κινάσης. Είναι σημαντικό ότι οι ισομορφές IIIb και IIIc των υποδοχέων 1-3, οι οποίοι παράγονται διαφορετικά σε μεσεγχυματικά και επιθηλιακά κύτταρα, έχουν μια εναλλακτική ισομορφή με μια περιοχή III που μοιάζει με Ig. Οι διαφορετικές συγγένειες για τη δέσμευση του FGF και την ειδικότητα του FGF προκαλούνται επίσης από τις ισομορφές.⁹⁶

Η επίδραση των πολυμορφισμών FGFR2 στην ευαισθησία, την ανάπτυξη και τη μετάσταση στον καρκίνο του μαστού έχει εξεταστεί σε μια σειρά ερευνών. Σε 1.145 περιπτώσεις διηθητικού καρκίνου του μαστού σε μετεμμηνοπαυσιακές λευκές γυναίκες, ο Hunter και οι συνεργάτες του ⁹⁷ γονοτύπησαν 528.173 μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) ως μέρος μιας μελέτης συσχέτισης του καρκίνου του μαστού σε όλο το γονιδίωμα. Μέσα στο εσώνιο 2 του FGFR2, ανακάλυψαν μια ομάδα τεσσάρων SNP που συνδέονταν ισχυρά με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του μαστού. Μια ομάδα 30 SNPs επικυρώθηκε σε 21.860 περιπτώσεις και 22.578 μάρτυρες από 22 μελέτες από τον Easton και τους συνεργάτες του, αφού εξέτασαν 4.398 περιπτώσεις καρκίνου του μαστού και 4.316 ελέγχους. Ανακάλυψαν πιο σημαντικά SNP στο εσώνιο 2 του FGFR2.⁹⁸

v. PTEN

Το ομόλογο φωσφατάσης και τενσίνης (PTEN) είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο που διαγράφεται ή μεταλλάσσεται σε πολλούς ανθρώπινους καρκίνους, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Η απώλεια του PTEN οδηγεί στην απώλεια της απόπτωσης και στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου.⁹⁹

Σε 78 μετεμμηνοπαυσιακά άτομα σταδίου I/II που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με επικουρική ταμοξιφαίνη και βρέθηκαν θετικά σε υποδοχείς στεροειδών, μια αναδρομική έρευνα διαπίστωσε ότι το PTEN χάθηκε σε 16/43 (37,2%) περιπτώσεις καρκινώματος του πόρου και 9/35 (25,7%) περιπτώσεις του λοβιακού καρκινώματος. Επιπλέον, παρατήρησαν ότι μόνο το 26,4% των ασθενών που εξέφρασαν PTEN εμφάνισαν υποτροπές, ενώ το 96% των υποτροπιάζοντων ασθενών όχι.¹⁰⁰ Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι ανακάλυ-

ψαν επίσης μια σύνδεση μεταξύ της έκφρασης PTEN και μιας μεγαλύτερης επιβίωσης χωρίς υποτροπή, ειδικά σε ασθενείς που εξέφρασαν επίσης PTEN. Αυτά τα ευρήματα συνάδουν με παλαιότερες έρευνες. Όταν ο Zhang και οι συνεργάτες του ¹⁰¹ εξέτασαν δείγματα από 146 ασθενείς με καρκίνο του μαστού, ανακάλυψαν ότι μόνο το 57,5% των κακοήθων δειγμάτων εξέφραζε PTEN, σε αντίθεση με το 100% των φυσιολογικών. Παρατήρησαν ότι τα δείγματα που δεν εκφράζουν PTEN συσχετίστηκαν με αυξημένο μέγεθος όγκου και προχωρημένο στάδιο.

Πίνακας 5. Μελέτη βιοδεικτών για την πρόγνωση του καρκίνου του μαστού Dos Anjos Pultz B, da Luz FA, de Faria PR, Oliveira AP, de Araújo RA, Silva MJ. Far beyond the usual biomarkers in breast cancer: a review. J Cancer. 2014 ⁸⁸

Βιοδείκτες	Σημασία Βιοδεικτών	Αριθμός συμμετεχόντων	Δείγμα
uPA + PAI TF	Διάγνωση	79	Έκκριση Θηλής
h-MAM	Διάγνωση / Πρόγνωση	260	Περιφεριακό αίμα
		102	Περιφεριακό αίμα
		98	Περιφεριακό αίμα
		112	Μυελός των οστών
		833	Βιοψίες μαστού
Οστεοποντίνη	Πρόγνωση	375	Βιοψίες μαστού
		—	Κυτταροκαλλιέργεια
		200	Κυτταροκαλλιέργεια
		—	Βιοψίες μαστού
		—	Κυτταροκαλλιέργεια
		667	Βιοψίες μαστού / Περιφεριακό αίμα
FGFR2	Πρόγνωση	26	Βιοψίες μαστού
		—	Κυτταροκαλλιέργεια
PTEN	Πρόγνωση	78	Βιοψίες μαστού
		146	Βιοψίες μαστού
Sirtuins	Πρόγνωση	46	Βιοψίες μαστού
		74	Βιοψίες μαστού

2.5 Θεραπεία

Για τους ασθενείς με χειρουργήσιμο καρκίνο του μαστού, τα συστηματικά φάρμακα έχουν δώσει καλύτερα αποτελέσματα και θεωρούνται πλέον τυπική φροντίδα. Πρόσφατα, νέα φάρμακα και σχήματα μοριακών στόχων έχουν δημιουργηθεί με βάση την αναμενόμενη ευαισθησία για συγκεκριμένους ιστολογικούς υπότυπους καρκίνου του μαστού. Η επιλογή της συστηματικής θεραπείας γίνεται με βάση την πιθανότητα υποτροπής. Οι ασθενείς χαμηλού κινδύνου λαμβάνουν αποκλιμακούμενη φροντίδα, ενώ οι ασθενείς υψηλού κινδύνου λαμβάνουν έντονη συστηματική θεραπεία με κατάλληλη δόση και διάρκεια. Ο στόχος της νεοεπικουρικής συστηματικής θεραπείας είναι διαφορετικός. Οι αυξήσεις στο ποσοστό θεραπείας διατήρησης του μαστού παρέχουν στοιχεία για την αποτελεσματικότητα των συστηματικών θεραπειών που βασίζονται στην ευαισθησία στα φάρμακα. Το πιο κρίσιμο στοιχείο για τον καθορισμό των αποτελεσμάτων και την καλύτερη επικουρική θεραπεία είναι η ανταπόκριση στη νεοεπικουρική συστηματική θεραπεία. Νέοι βιολογικοί δείκτες που είναι συγκεκριμένοι για κάθε ασθενή επιτρέπουν την κατάλληλη χρήση στοχευμένων θεραπειών για μέγιστη αποτελεσματικότητα.

Οι ασθενείς που λαμβάνουν πολυτροπικές θεραπείες για χειρουργήσιμο καρκίνο του μαστού (BC) συνδυάζουν τοπικές θεραπείες όπως χειρουργική επέμβαση και ακτινοβολία με συστηματικές θεραπείες όπως μια ποικιλία φαρμάκων. Ειδικότερα, η συστηματική θεραπεία είναι ζωτικής σημασίας για την ενίσχυση της επιβίωσης χωρίς νόσο (DFS), η οποία βασίζεται στη διαχείριση των μικρομεταστάσεων που έχουν τη δυνατότητα να εξαπλωθούν σε όλο το σώμα.

Το καλύτερο σχέδιο θεραπείας πρέπει να επιλέγεται με την πρόβλεψη των απαντήσεων και την αξιολόγηση της ευαισθησίας των κακοηθειών στα φάρμακα. Σύμφωνα με μια κοινή διαδικασία λήψης αποφάσεων μεταξύ ασθενών και ερευνητών που λαμβάνει υπόψη τα πλεονεκτήματα και τους κινδύνους τέτοιων ανεπιθύμητων ενεργειών, επιλέγεται η συστηματική φαρμακευτική αγωγή.

Αυτές οι επιλογές πρέπει επίσης να λαμβάνουν υπόψη το κόστος. Η επικουρική θεραπεία χορηγείται μετά από χειρουργική επέμβαση και η νεοεπικουρική θεραπεία χορηγείται πριν από τη χειρουργική επέμβαση για χειρουργήσιμο BC. Εάν χρησιμοποιούνται ισοδύναμα φάρμακα και σχέδια θεραπείας, σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, οι αποτελεσματικότητες αυτών των θεραπειών για την ενίσχυση του DFS είναι σχεδόν οι ίδιες. Η

χημειοθεραπεία, η μοριακή θεραπεία στόχου και η ορμονοθεραπεία είναι τρεις κατηγορίες στις οποίες χορηγούνται φάρμακα ως συστηματική θεραπεία. Αυτά τα φάρμακα μπορούν να χορηγηθούν μεμονωμένα, ως μεμονωμένα φάρμακα ή σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα.¹⁰²

2.5.1 Επικουρική Συστηματική Θεραπεία

Η επικουρική συστηματική θεραπεία αντιμετωπίζει λανθάνουσες μικρομεταστάσεις με σκοπό την παράταση της επιβίωσης. Το DFS και η συνολική επιβίωση μπορούν να αυξηθούν με ενδοκρινική θεραπεία, χημειοθεραπεία και θεραπεία anti-HER2 που βασίζεται σε αρκετούς αντικαρκινικούς μηχανισμούς (OS). Η κοινή λήψη αποφάσεων μεταξύ ασθενών και ερευνητών, με βάση τον αρχικό κίνδυνο, ο οποίος μετράται από έναν αριθμό λεμφαδένων μεταστάσεων, το μέγεθος του διηθητικού όγκου, τον ιστολογικό βαθμό και τους μοριακούς υποτύπους, καθορίζει την επιλογή αυτών των φαρμάκων.

Πίνακας 6. Επικουρική συστηματική θεραπεία για πρώιμο καρκίνο του μαστού

Shien T, Iwata H. Adjuvant and neoadjuvant therapy for breast cancer. Jpn J Clin Oncol. 2020 Mar 9;50(3):225-229. ¹⁰²

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.

ι. Επικουρική ορμονοθεραπεία για ER-θετικούς ασθενείς με καρκίνο του μαστού

Η ταμοξιφαίνη (επιλεκτικός ρυθμιστής οιστρογόνων, SERM) συνταγογραφείται για άτομα που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση με θετικό στο ER ως ορμονική θεραπεία.¹⁰³ Ανεξάρτητα από την ηλικία, την κατάσταση της εμμηνόπαυσης, τις μεταστάσεις στους λεμφαδένες και τη χρήση χημειοθεραπείας, η ταμοξιφαίνη μειώνει τον κίνδυνο υποτροπής και θανάτου. Η δόση της ταμοξιφαίνης πρέπει να διατηρηθεί για δέκα χρόνια. Σύμφωνα με το

ATLAS trialix, η φαρμακευτική αγωγή με ταμοξιφαίνη για δέκα χρόνια μπορεί να μειώσει τους θανάτους που σχετίζονται με το BC κατά 2,8% σε σύγκριση με τη θεραπεία για πέντε χρόνια. Για νεαρούς ασθενείς και όσους διατρέχουν υψηλό κίνδυνο υποτροπής που υποβάλλονται σε επικουρική χημειοθεραπεία, συνιστάται ως επικουρική θεραπεία η προσθήκη αγωνιστή της ορμόνης απελευθέρωσης της ωχρινότροπου (LH-RH), που προκαλεί αμηνόρροια, στην ταμοξιφαίνη ή την εξεμεστάνη [αναστολέας αρωματάσης (AI)].¹⁰⁴ Όταν οι μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς λαμβάνουν ταμοξιφαίνη, είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν καρκίνο του ενδομητρίου εάν είναι 54 ετών και άνω.¹⁰⁵

Η επικουρική ορμονοθεραπεία με AI προτείνεται σε μετεμμηνοπαυσιακούς ασθενείς με BC για μια περίοδο πέντε ετών. Οι ασθενείς με BC υψηλού κινδύνου που είναι μετεμμηνοπαυσιακές θα πρέπει να λαμβάνουν AI για 10 χρόνια, ιδιαίτερα. Σύμφωνα με τη μετα-ανάλυση EBCTCG (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group), η AI μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο θανάτου και υποτροπής κατά 15% και 30%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με την ταμοξιφαίνη. Το πείραμα MA-17 έδειξε ότι το DFS ήταν πολύ μεγαλύτερο με 10 χρόνια τεχνητής νοημοσύνης σε σύγκριση με 5 χρόνια.¹⁰⁶ Με την εκτεταμένη χορήγηση AI, υπήρξαν, ωστόσο, σημαντικά περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με τα οστά (κάταγμα, πόνος και οστεοπόρωση). Για ασθενείς που παρουσιάζουν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με την AI, η ταμοξιφαίνη είναι μια επιλογή. Η επικουρική ορμονοθεραπεία μπορεί όχι μόνο να αυξήσει το DFS αλλά και να σταματήσει την ανάπτυξη ομόπλευρων όγκων του μαστού. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες στα ενδοκρινικά φάρμακα είναι ένα άλλο στοιχείο που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την επιλογή ενός σχεδίου θεραπείας.¹⁰²

ii. Επικουρική χημειοθεραπεία για ασθενείς με υψηλού κινδύνου καρκίνο του μαστού

Η επικουρική χημειοθεραπεία θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με BC που έχουν μεταστάσεις στους μασχαλιαίους λεμφαδένες ή διατρέχουν υψηλό κίνδυνο υποτροπής χρησιμοποιώντας σχήματα που περιέχουν ανθρακυκλίνη, σχήματα TC (ντοσεταξέλη και κυκλοφωσφαμίδη) ή AC ακολουθούμενα από σχήματα ταξάνης (ντοσεταξέλη ή πακλιταξέλη). Σε ένα προοπτικό τυχαίο πείραμα, επαληθεύτηκε η αποτελεσματικότητα του σχήματος TC.¹⁰⁷ Μία από τις σημαντικές επιβλαβείς συνέπειες της χρήσης του A είναι η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Σε σύγκριση με τυπικά σχήματα που περιέ-

χουν Α ακολουθούμενα από ταξάνη, η δοσομετρική θεραπεία, η οποία μειώνει τη διάρκεια της θεραπείας, μπορεί να ενισχύσει σημαντικά τόσο το DFS όσο και το OS. Απαιτήθηκαν και οι δύο υποστήριξη για το G-CSF και θεραπεία για σοβαρή αναιμία.

Με βάση μια προηγούμενη κλινική δοκιμή, η χρήση καπεσιταβίνης συνιστάται για ασθενείς με TN BC που εξακολουθούν να πάσχουν από ασθένεια μετά τη λήψη νεοεπικουρικής συστηματικής θεραπείας. Η βαθμολογία υποτροπής που βασίζεται σε ανάλυση πάνελ πολλαπλών γονιδίων του καρκινικού ιστού (Oncotype DX, MammaPrint, PAM 50, Curebest) είναι χρήσιμη για τη βελτιστοποίηση της χορήγησης επικουρικής θεραπείας.

Το Oncotype DX δεν συνιστά χημειοθεραπεία για ασθενείς πρώιμης BC με χαμηλό RS με βάση τα αποτελέσματα κλινικών δοκιμών.¹⁰⁸ Επί του παρόντος διεξάγονται μελέτες για την επαλήθευση της προγνωστικής απόδοσης των αναστολέων PARP (πολυ ADP ριβόζης πολυμεράσης), οι οποίοι προκαλούν συνθετική θνησιμότητα όταν υπάρχουν μεταλλάξεις BRCA.

iii. Επικουρική θεραπεία anti-HER2 για ασθενείς με BC θετικούς για HER2

Για ασθενείς με HER2-θετικό καρκίνο και εκείνους με όγκους του μαστού μεγαλύτερους από 1 cm,¹⁰⁹ συνιστάται επικουρική χημειοθεραπεία σε συνδυασμό με τη θεραπεία μοριακού στόχου anti-HER2 trastuzumab. Λόγω του κινδύνου καρδιακής ανεπάρκειας που σχετίζεται και με τα δύο φάρμακα, η τραστοζουμάμπη δεν πρέπει να λαμβάνεται με AC.

Δεν συνιστάται η χρήση μονοθεραπείας με τραστοζουμάμπη απουσία χημειοθεραπείας λόγω της έλλειψης δεδομένων που καταδεικνύουν την αποτελεσματικότητά της όταν χρησιμοποιείται μόνη της. Η επιλογή χορήγησης τραστοζουμάμπης σε ασθενείς με μικροσκοπικούς όγκους, που ορίζονται ως εκείνοι με μέγιστη διάμετρο 0,5 έως 1 cm, λαμβάνεται αφού σταθμιστούν οι κίνδυνοι και τα οφέλη. Η αποτελεσματικότητα της επικουρικής εβδομαδιαίας πακλιταξέλης συν τραστοζουμάμπης για χαμηλού κινδύνου HER2-θετικό BC υποστηρίζεται από προοπτικές μελέτες.¹¹⁰ Ένα άλλο φάρμακο anti-HER2 μοριακού στόχου, το pertuzumab, συνδυάζεται με το trastuzumab για ασθενείς υψηλού κινδύνου με κακοήθεια θετικού κόμβου.¹¹¹ Σε άτομα με επεμβατική νόσο, η περτουζουμάμπη έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει το DFS χωρίς να αυξάνει τη συχνότητα των ανεπιθύμητων συμβάντων. Ένα έτος είναι το ιδανικό χρονικό πλαίσιο για τη χορήγηση φαρμάκου anti-HER2.

Σε ένα σύνολο δεδομένων, η τραστοζουμάμπη ακολουθήθηκε από θεραπεία 1 έτους με neratinib για την αύξηση του DFS. Η χορήγηση του neratinib θα πρέπει να προσδιορίζεται αφού ληφθεί υπόψη ο κίνδυνος υποτροπής, οι παρενέργειες και το υψηλό κόστος. Με βάση μια προηγούμενη κλινική δοκιμή, το T-DM1 (trastuzumab emtansine) συσιστάται για χρήση σε HER2-θετικό BC με επίμονη νόσο μετά από νεοεπικουρική συστηματική θεραπεία.¹¹²

iv. Επικουρική θεραπεία με παράγοντες τροποποίησης των οστών

Οι ασθενείς στα μετεμμηνοπαυσιακά και προεμμηνοπαυσιακά στάδια που λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή με αγωνιστή LH-RH φαίνεται ότι ανταποκρίνονται ευνοϊκά στα διφωσφονικά ως επικουρική συστηματική θεραπεία. Σύμφωνα με τη μετα-ανάλυση EBCTCG, το διφωσφονικό μειώνει την πιθανότητα οστικής μετάστασης, αναστέλλει τη μακρινή μετάσταση και αυξάνει το OS.¹⁰³ Ωστόσο, μόνο οι μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς εμφανίζουν μειωμένο κίνδυνο κατάγματος οστών. Για μονοθεραπεία με διφωσφονικά ή θεραπεία χωρίς άλλη συστηματική θεραπεία, δεν έχουμε προς το παρόν κανένα στοιχείο. Σε ένα προοπτικό πείραμα, διερευνάται τώρα η αποτελεσματικότητα των αναστολέων RANKL, που είναι φάρμακα που τροποποιούν τα οστά. Τα αποτελέσματα από το ABCSG-18 έδειξαν ότι οι επικουρικοί αναστολείς RANKL βελτίωσαν σημαντικά την προγνωστική ακρίβεια¹¹³ και μείωσαν τον κίνδυνο κατάγματος των οστών. Αναμένουμε με ανυπομονησία συστάσεις σχετικά με το ιδανικό μήκος και τις επικουρικές θεραπείες με διφωσφονικά.

2.5.2 Νεοεπικουρική συστηματική θεραπεία

Η κύρια ένδειξη για νεοεπικουρική χημειοθεραπεία (NAC) ήταν τοπικά προχωρημένο BC χωρίς απομακρυσμένες μεταστάσεις. Τα πρόσφατα δεδομένα από κλινικές δοκιμές έχουν αλλάξει σημαντικά τους στόχους του NAC.¹¹² Ο στόχος του NAC είναι να αυξήσει τον αριθμό των χειρουργικών επεμβάσεων διατήρησης του μαστού που εκτελούνται, ενώ παράλληλα προάγει την ιατρική ακριβείας (επικουρική καπεσιταβίνη ή T-DM1 για πρώιμη π.Χ. με υπολειπόμενη νόσο). Σύμφωνα με τη βιολογία του καρκίνου, η επιλογή του σχήματος προσπαθεί να επιτύχει το μέγιστο αντικαρκινικό αποτέλεσμα. Οι ασθενείς με BC που είναι θετικοί στο HER2 λαμβάνουν φάρμακα anti-HER2. Όταν ένας ασθενής έχει ER-αρνητικό και/ή HER2-θετικό κατάσταση, η ανταπόκρισή του στο NAC—ιδιαίτερα

μια πλήρης απόκριση (pCR)—είναι προγνωστικός δείκτης. Η νεοεπικουρική ορμονοθεραπεία είναι μια επιλογή για μετεμμηνοπαυσιακούς ασθενείς με BC που είναι θετικοί για ER. Επί του παρόντος διεξάγονται προοπτικές δοκιμές για την αξιολόγηση της ασφάλειας της αναβολής της χειρουργικής επέμβασης σε ασθενείς με pCR ως απόκριση στο NAC.¹⁰²

i. Νεοεπικουρική χημειοθεραπεία

Σύμφωνα με μια μετα-ανάλυση, δεν υπάρχει διαφορά στα αποτελέσματα μεταξύ επικουρικής και νεοεπικουρικής συστηματικής θεραπείας εάν οι ασθενείς λαμβάνουν τα ίδια φάρμακα. Οι ασθενείς που λαμβάνουν NAC έχουν υψηλότερο ποσοστό διατήρησης του μαστού από εκείνους που λαμβάνουν επικουρική θεραπεία.¹¹² Ωστόσο, ένα έγγραφο ισχυρίζεται ότι οι ασθενείς που χρησιμοποιούν NAC έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα τοπικής υποτροπής. Το τυπικό σχήμα NAC αποτελείται από ένα AC και ένα ταξάνιο. Ο ρυθμός pCR σε άτομα που είναι θετικά στο HER2 αυξάνεται από τα φάρμακα κατά του HER2. Συγκεκριμένα, το pertuzumab και το trastuzumab μαζί δείχνουν καλύτερη αποτελεσματικότητα με λιγότερες σοβαρές παρενέργειες. Ειδικότερα για όσους έχουν μεταλλάξεις BRCA1/2, οι ασθενείς με τριπλά αρνητικά BC μπορεί να ωφεληθούν από την προσθήκη καρβοπλατίνης στο συνηθισμένο σχήμα. Στο εγγύς μέλλον, αναμένεται ότι θα παραχθούν καινοτόμα σχήματα που θα χρησιμοποιούν μοριακούς παράγοντες στόχους που επιλέγονται με βάση τις προβλέψεις ευαισθησίας στα φάρμακα.¹¹⁴

Η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί σε εναλλακτικά φάρμακα μοριακού στόχου για να εξακριβωθεί πώς επηρεάζουν τους ασθενείς χωρίς pCR όταν χρησιμοποιούνται ως θεραπεία κλιμάκωσης.

ii. Νεοεπικουρική ορμονοθεραπεία

Η νεοεπικουρική ορμονοθεραπεία αυξάνει το ποσοστό των μετεμμηνοπαυσιακών ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία διατήρησης του μαστού. Η θεραπεία με νεοεπικουρική ορμόνη περιλαμβάνει AI. Η νεοεπικουρική ορμονοθεραπεία έχει αντικαρκινικές ιδιότητες που είναι συγκρίσιμες με το NAC. Ο ιδανικός χρόνος θεραπείας ή τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα, ωστόσο, δεν υποστηρίζονται από κανένα στοιχείο. Τα ποσοστά διατήρησης του μαστού σε μελέτες που αντιπαραβάλλουν το NAC και την ορμονοθεραπεία ήταν συγκρίσιμα, αλλά η ορμονοθεραπεία είχε λιγότερες αρνητικές παρενέργειες από το NAC.

Το AI είναι μια πιο αποτελεσματική νεοεπικουρική ορμονική θεραπεία από την ταμοξιφαίνη. Οι προεμμηνοπαυσιακές ασθενείς δεν συνιστάται να λαμβάνουν νεοεπικουρική ορμονοθεραπεία λόγω έλλειψης δεδομένων για την υποστήριξη αυτής της στρατηγικής. Η αποτελεσματικότητα της ταμοξιφαίνης ως θεραπείας με νεοεπικουρική ορμόνη δεν ταίριαζε με αυτή του NAC. Η θεραπεία με ταμοξιφαίνη σε συνδυασμό με έναν αγωνιστή LH-RH αυξάνει το ποσοστό διατήρησης του μαστού. Η νεοεπικουρική ορμονοθεραπεία επιλέγεται όλο και περισσότερο με βάση την ευαισθησία της ορμονικής θεραπείας, γεγονός που καθιστά ευκολότερο να αποφασίσετε εάν θα χορηγηθεί επικουρική χημειοθεραπεία.¹¹⁵ Τα αποτελέσματα της 6μηνιας νεοεπικουρικής ορμονοθεραπείας χρησίμευσαν ως βάση για τα σχέδια θεραπείας της δοκιμής NEOS για μετεμμηνοπαυσιακούς ασθενείς που βρέθηκαν θετικοί για ER. Σε άλλες μελέτες, η βαθμολογία Ki67 χρησιμοποιείται για να αξιολογηθεί εάν η επικουρική χημειοθεραπεία είναι απαραίτητη μετά από 2 εβδομάδες νεοεπικουρικής ορμονοθεραπείας.

2.5.3 Πιθανοί βιοδείκτες που προκαλούν αντίσταση στην συστηματική χημειοθεραπεία

Είναι ανάγκη να αναπτυχθούν βιοδείκτες πρόβλεψης καρκίνου, προκειμένου να επιλεγεί η καλύτερη πορεία δράσης για κάθε ασθενή ξεχωριστά την κατάλληλη στιγμή.

Το κυτόχρωμα P450 2D6 (CYP2D6), η φωσφατιδυλινοσιτόλη-4,5-διφωσφονική-3-κινάση (PIK3CA), ο υποδοχέας Ρετινοϊκού Οξέος Άλφα (RARA), ο μετατροπέας Σήματος και ενεργοποιητής μεταγραφής 3 (STAT3), ο αναστολέας ιστού (TIMP-1), και το Lin28 είναι ορισμένοι πιθανοί βιοδείκτες.⁸⁸

i. Κυτόχρωμα P450 2D6 (CYP2D6)

Μέσα σε 15 χρόνια παρακολούθησης, το ένα τρίτο όλων των ασθενών που έλαβαν ταμοξιφαίνη -ή το ένα τέταρτο όλων των ασθενών με καρκίνο του μαστού συνολικά- διαγιγνώσκονται με υποτροπή. Ως αποτέλεσμα, έχουν γίνει τεράστιες προσπάθειες για την κατανόηση των μηχανισμών αντοχής και για την εύρεση δεικτών πρόβλεψης αντοχής στην ταμοξιφαίνη.

Η ταμοξιφαίνη είναι ένας εκλεκτικός ρυθμιστής υποδοχέα οιστρογόνου (SERM) που εμποδίζει τη σύνδεση των οιστρογόνων στον υποδοχέα του και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία όγκων του μαστού που εκφράζουν υποδοχέα οιστρογόνου. Ωστόσο, η ίδια η

ταμοξιφαίνη συνδέεται ασθενώς με τον υποδοχέα των οιστρογόνων και θεωρείται προ-φάρμακο. Έτσι, για να εκτελέσει τη λειτουργία του, πρέπει να μεταβολιστεί σε ισχυρούς αντι-οιστρογόνους μεταβολίτες από διάφορα ένζυμα του κυτοχρώματος P450. Η ενδοξιφαίνη θεωρείται πλέον ο πιο σημαντικός μεταβολίτης της ταμοξιφαίνης και παράγεται σχεδόν αποκλειστικά από τη δραστηριότητα του κυτοχρώματος P450 2D6 (CYP2D6).

Τα γονίδια CYP450 είναι πολυμορφικά, με αποτέλεσμα πολλούς φαινότυπους που έχουν ταξινομηθεί παραδοσιακά σε φτωχούς μεταβολιστές (PM), ενδιάμεσους μεταβολιστές (IM), παρατεταμένους μεταβολιστές (EM) και εξαιρετικά γρήγορους μεταβολιστές (EM) με βάση την ενζυματική τους δραστηριότητα (UM). Η κλινική ποικιλομορφία στις συγκεντρώσεις της ταμοξιφαίνης και των μεταβολιτών της στο πλάσμα μεταξύ διαφόρων ασθενών μπορεί να εξηγηθεί εν μέρει από τη διαφορετική ενζυματική δραστηριότητα. Έχουν γίνει πολυάριθμες έρευνες σχετικά με τη δράση του CYP2D6 στον καρκίνο λόγω της σημασίας του στο μεταβολισμό της ταμοξιφαίνης.

Σύμφωνα με έρευνα, ορισμένες γενετικές παραλλαγές του CYP2D6 συνδέονται με μειωμένα επίπεδα ενδοξιφαίνης, του ενεργού μεταβολίτη της ταμοξιφαίνης, που μπορεί να έχει αντίκτυπο στον τρόπο με τον οποίο οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού ανταποκρίνονται στη θεραπεία με ταμοξιφαίνη.¹¹⁶

ii. PIK3CA

Η άλφα καταλυτική υπομονάδα της οδού σηματοδότησης PI3K/PTEN/Akt, 4,5-διφωσφονική 3-κινάση φωσφατιδυλνινοσιτόλης (PIK3CA), ρυθμίζει την ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό, την κινητικότητα, την επιβίωση, τη διαφοροποίηση και την ενδοκυτταρική διακίνηση. Όλες οι ανθρώπινες κακοήθειες έχουν τις μεταλλάξεις PIK3CA ως το πιο κοινό ογκογονίδιο τους.¹¹⁷

52 ασθενείς με καρκίνο του μαστού, 30 από τους οποίους είχαν γενετικές ανωμαλίες, συμπεριλήφθηκαν σε μια κλινική προοπτική δοκιμή που εξέτασε το κυκλοφορούν DNA του όγκου. Αυτά τα 30 άτομα υποβάλλονταν σε θεραπεία με συστηματική θεραπεία για μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Κατά τη διάρκεια δύο ετών, λήφθηκαν δείγματα αίματος σε διαστήματα τουλάχιστον τριών εβδομάδων. Ανακάλυψαν μεταλλάξεις PIK3CA σε 25 από τις 52 περιπτώσεις. Ανακάλυψαν επίσης μια σύνδεση μεταξύ των επιπέδων PIK3CA, του σταδίου της νόσου και της φαρμακευτικής θεραπείας.¹¹⁸ Είναι ενδιαφέρον να δούμε ότι τα επίπεδα PIK3CA ήταν αυξημένα στην κατάσταση προχωρημένης ασθένειας.

Πολλοί ερευνητές διερεύνησαν την πιθανή σύνδεση του PIK3CA με τον καρκίνο του μαστού, την αντίσταση στη θεραπεία και την προγνωστική σημασία λόγω της δηλωμένης λειτουργίας του στην καρκινογένεση. Τα δεδομένα από τα πλήρη εξώματα 510 όγκων από 507 ασθενείς εξετάστηκαν από τον Άτλαντα του Γονιδιώματος του Καρκίνου (Cancer Genome Atlas). Μόνο τρία γονίδια, συμπεριλαμβανομένου του PIK3CA, εμφάνισαν σωματικές μεταλλάξεις που εμφανίστηκαν σε περισσότερο από το 10% των δειγμάτων, σύμφωνα με τις παρατηρήσεις τους. Ανακάλυψαν ότι οι μεταλλάξεις PIK3CA υπήρχαν στο 39% των δειγμάτων εμπλουτισμένων με HER2 (Human Epidermal Receptor 2), στο 45% των δειγμάτων Α του αυλού και στο 29% των δειγμάτων Β του αυλού. Ενισχύσεις PIK3CA βρέθηκαν στο 49% των βασικών κακοηθειών που εξετάστηκαν, αλλά μεταλλάξεις PIK3CA δεν βρέθηκαν σε κανέναν από αυτούς τους όγκους. Αν και οι μεταλλάξεις PIK3CA σε όγκους ER+/HER2- θεωρείται ότι υποδεικνύουν «έγκυρη πρόγνωση», αυτές οι μεταλλάξεις σε όγκους ER+/HER2+ υποδηλώνουν αντίσταση όγκου στη θεραπεία με τραστοζουμάμπη.¹¹⁹

iii. TIMP-1

Η οικογένεια πρωτεϊνών που είναι γνωστοί ως ιστικοί αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνάσων (TIMPs), η οποία περιλαμβάνει ιστικό αναστολέα της μεταλλοπρωτεϊνάσης 1 (TIMP-1), ελέγχει τη δραστηριότητα των μεταλλοπρωτεϊνάσων μήτρας (MMPs). Το TIMP-1, ωστόσο, εκτελεί μια σειρά από πρόσθετες φυσιολογικές εργασίες, όπως ο έλεγχος της αγγειογένεσης, του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης. Αυτές οι δραστηριότητες υποδηλώνουν ότι το TIMP-1 μπορεί να συμβάλει στην έναρξη και την εξέλιξη των όγκων.

Ο Zhu και οι συνεργάτες του¹²⁰ έδειξαν ότι η αυξημένη έκφραση του TIMP-1 σε ιστό όγκου σχετίζεται με φτωχή επιβίωση χωρίς νόσο και συνολική επιβίωση σε σύγκριση με ασθενείς με χαμηλά επίπεδα έκφρασης TIMP-1.

Η λειτουργία του TIMP-1 στην ανάπτυξη ανοχής στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον στην επιστημονική κοινότητα. Το TIMP-1 έχει συνδεθεί με μειωμένη ευαισθησία στην πακλιταξέλη και την επιρουβικίνη λόγω της αυξημένης ικανότητάς του να αποικοδομεί την κυκλίνη B1 και την ενεργοποίηση της σηματοδότησης PI3K/Akt/NF-k. Μέσω της υπερέκφρασης και/ή της φωσφορυλίωσης της τοποϊσομεράσης,¹²¹ το TIMP-1 συμβάλλει επίσης στην αντίσταση στους αναστολείς τοποϊσομεράσης. Σε καρκίνους του μαστού που υπερεκφράζουν το HER,

το TIMP-1 δεν επηρεάζει την ευαισθησία των φαρμάκων που στοχεύουν το HER2, όπως η τραστοζουμάμπη και η λαπατινίμπη, παρά την ενεργοποίηση της οδού PI3K-Akt, μιας κοινής οδού που ρυθμίζει τη σηματοδότηση του HER2.¹²²

Αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι το TIMP-1 μεσολαβεί στην αντίσταση στη χημειοθεραπεία και απαιτούνται περισσότερες μελέτες για τη διερεύνηση της δυνατότητας του TIMP-1 ως προγνωστικού παράγοντα της απόκρισης στο φάρμακο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Βασική Περιγραφική Ανατομική IV. Anne M.Gilroy, Brian R. Macpherson, Lawrence M.Ross. Κεφάλαιο Θώρακας. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης ΕΠΕ. Αμερική. 2009.
2. Tanis P, Nieweg O, Olmos R, Kroon B. Anatomy and physiology of lymphatic drainage of the breast from the perspective of sentinel node biopsy1. *J Amer Coll Surg*. 2001;192:399–409.
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. Junqueira's Βασική Ιστολογία 13^η έκδοση. Anthony L. Mescher. Κεφάλαιο 22. Εκδόσεις Broken Hill Publishers LTD. Αμερική. 2015.
5. Jesinger RA. Breast anatomy for the interventionalist. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2014 Mar;17(1):3-9.
6. Jagannathan N, Sharma U. Breast tissue metabolism by magnetic resonance spectroscopy. *Metabolites*. 2017;7:25–30.
7. Muir's Παθολογική Ανατομική 15^η έκδοση. C. Simon Herrington. Κεφάλαιο 15. Εκδόσεις Broken Hill Publishers LTD. Αμερική.2019.
8. Kulka J, Madaras L, Floris G, Lax SF. Papillary lesions of the breast. *Virchows Arch*. 2022 Jan;480(1):65-84.
9. 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]. 2019Nov.5 [cited 2022Dec.13];7(2):73-86.
10. West A, Wullkopf L, Christensen A, Leijnse N, Tarp JM, Mathiesen J, et al. Division induced dynamics in non-Invasive and invasive breast cancer. *Biophys J*. 2017;112:123–125.
11. Badve SS, Gökmen-Polar Y. Ductal carcinoma in situ of breast: update 2019. *Pathology*. 2019 Oct;51(6):563-569.
12. Inoue M, Nakagomi H, Nakada H, Furuya K, Ikegame K, Watanabe H. Specific sites of metastases in invasive lobular carcinoma: a retrospective cohort study of metastatic breast cancer. *Breast Cancer*. 2017;20:1–6.

13. Harris LN, Ismaila N, McShane LM, Andre F, Collyar DE, Gonzalez-Angulo AM, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2016;**34**:1134–1150.
14. Ziperstein MJ, Guzman A, Kaufman LJ. Evaluating breast cancer cell morphology as a predictor of invasive capacity. *Biophys J*. 2016;**110**:621–625.
15. Prabhakaran S, Rizk V, Ma Z, Cheng C, Berglund A, Coppola D, et al. Evaluation of invasive breast cancer samples using a 12-chemokine gene expression score: correlation with clinical outcomes. *Breast Cancer Res*. 2017;**19**:71–74.
16. Stevanovic A, Lee P, Wilcken N. Metastatic breast cancer. *Aust Fam Phys*. 2006;**35**:309–311.
17. Page K, Guttery D, Fernandez-Garcia D, Hills A, Hastings R, Luo J, et al. Next generation sequencing of circulating cell-free DNA for evaluating mutations and gene amplification in metastatic breast cancer. *Clin Chem*. 2017;**63**:532–541.
18. 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.
19. Anuradha D, Lakshmi A. Mucinous carcinoma of breast with neuroendocrine differentiation: a rare case report with review of literature. *Int J Res Med Sci*. 2017;**2**:1751–1754.
20. Polyak K. Breast cancer: origins and evolution. *J Clin Invest*. 2007;**117**:3155–3163.
21. Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, Shi W, Jiang J, Yao PP, Zhu HP. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *Int J Biol Sci*. 2017 Nov 1;**13**(11):1387-1397.
22. Ménard, S., Tagliabue, E., Campiglio, M. and Pupa, S.M. (2000), Role of HER2 gene overexpression in breast carcinoma. *J. Cell. Physiol.*, 182: 150-162.
23. Deng CX. BRCA1: cell cycle checkpoint, genetic instability, DNA damage response and cancer evolution. *Nucleic Acids Res*. 2006;**34**:1416–1426.
24. Balmana J, Diez O, Rubio IT. et al. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*. 2011;**22**(Suppl 6):31–34.
25. Alanazi IO, Khan Z. Understanding EGFR Signaling in Breast Cancer and Breast Cancer Stem Cells: Overexpression and Therapeutic Implications. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. 2016;**17**:445–453.

26. Green AR, Aleskandarany MA, Agarwal D. et al. MYC functions are specific in biological subtypes of breast cancer and confers resistance to endocrine therapy in luminal tumours. *Br J Cancer*. 2016;114:917–928.
27. Chen Y, Olopade OI. MYC in breast tumor progression. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2008;8:1689–1698.
28. Robbins Βασική Παθολογική Ανατομική 10^η έκδοση. Vinay Kumar, Abul K. Abbas, John C. Aster. Κεφάλαιο 19. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε. Αμερική. 2018.
29. <http://www.examnotes.com/cancer%20breast%20staging.html>
30. Iacoviello L, Bonaccio M, de Gaetano G, Donati MB. Epidemiology of breast cancer, a paradigm of the "common soil" hypothesis. *Semin Cancer Biol*. 2021 Jul;72:4-10.
31. R.L. Siegel, K.D. Miller, A. Jemal, Cancer statistics, 2019, *CA Cancer J. Clin.* 69 (1) (2019) 7–34
32. C.E. DeSantis, J. Ma, M.M. Gaudet, L.A. Newman, K.D. Miller, A. Goding Sauer, A. Jemal, R.L. Siegel, Breast cancer statistics, 2019, *CA Cancer J. Clin.* (2019)
33. N.N.A. Howlader, M. Krapcho, D. Miller, A. Brest, M. Yu, J. Ruhl, Z. Tatalovich, A. Mariotto, D.R. Lewis, H.S. Chen, E.J. Feuer, K.A. Cronin, SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016, National Cancer Institute, Bethesda, MD, 2019.
34. J. Li, Y. Liu, Y. Jiang, Z. Shao, Breast cancer-specific mortality pattern and its changing feature according to estrogen receptor status in two time periods, *PLoS One* 11 (6) (2016) e0157322
35. M. Du, S.H. Liu, C. Mitchell, T.T. Fung, Associations between diet quality scores and risk of postmenopausal estrogen receptor-negative breast cancer: a systematic review, *J. Nutr.* 148 (1) (2018) 100–108
36. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>
37. P. Grasgruber, E. Hrazdira, M. Sebera, T. Kalina, Cancer incidence in Europe: an ecological analysis of nutritional and other environmental factors, *Front. Oncol.* 8(2018) 151
38. WCRF World Cancer Research Fund International, Continuous Update Project (Cup), 2018.
39. A. Keys, Seven Countries. A Multivariate Analysis of Death, Coronary Heart Disease, Harvard University Press, Cambridge, MA, 1980

40. Zielonke N, Kregting LM, Heijnsdijk EAM, Veerus P, Heinävaara S, McKee M, de Kok IMCM, de Koning HJ, van Ravesteijn NT; EU-TOPIA collaborators. The potential of breast cancer screening in Europe. *Int J Cancer*. 2021 Jan 15;148(2):406-418.
41. Wang L. Early Diagnosis of Breast Cancer. *Sensors* [Internet] 2017;17(7):1572. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/s17071572>
42. Lobbes, M.B.; Smidt, M.L.; Houwers, J.; Tjan-Heijnen, V.C.; Wildberger, J.E. Contrast enhanced mammography: Techniques, current results, and potential indications. *Clin. Radiol*. 2013, 68, 935–944.
43. Hooley, R.J.; Scutt, L.M.; Philpotts, L.E. Breast ultrasonography: State of the art. *Radiology* 2013, 268, 642–659
44. Schneble, E.J.; Graham, L.J.; Shupe, M.P.; Flynt, F.L.; Banks, K.P.; Kirkpatrick, A.D.; Nissan, A.; Henry, L.; Stojadinovic, A.; Shumway, N.M.; et al. Future directions for the early detection of recurrent breast cancer. *J. Cancer* 2014, 5, 291–300.
45. Hagness, S.C.; Taflove, A.; Bridges, J.E. Three-dimensional FDTD analysis of an ultrawide-band antenna-array element for confocal microwave imaging of nonpalpable breast tumors. *Antennas Propag. Soc. Int. Sympos.* 1999, 3, 1886–1889.
46. Smith, D.; Yurduseven, O.; Livingstone, B.; Schejbal, V. Microwave imaging using indirect holographic techniques. *IEEE Antennas Propag.* 2014, 56, 104–117.
47. Lee, H.J.; Yook, J.G. Recent research trends of radio-frequency biosensors for biomolecular detection. *Biosens. Bioelectron.* 2014, 61, 448–459.
48. Srour MK, Kim S, Amersi F, Giuliano AE, Chung A. Comparison of Multiple Wire, Radioactive Seed, and Savi Scout® Radar Localizations for Management of Surgical Breast Disease. *Ann Surg Oncol*. 2021 Apr;28(4):2212-2218.
49. Mishra A, Verma M. Cancer Biomarkers: Are We Ready for the Prime Time? *Cancers* 2010;2(1):190–208.
50. Bhatt, Anant Narayan; Mathur, Rohit; Farooque, Abdullah; Verma, Amit; Dwarkanath, B.S.. Cancer biomarkers - Current perspectives. *Indian Journal of Medical Research* 132(2):p 129-149, August 2010.
51. 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
52. Denkert C, Loibl S, Muller BM, Eidtmann H, Schmitt WD, Eiermann W, Gerber B,

- Tesch H, Hilfrich J, Huober J, et al: Ki67 levels as predictive and prognostic parameters in pretherapeutic breast cancer core biopsies: A translational investigation in the neoadjuvant GeparTrio trial. *Ann Oncol.* 24:2786–2793. 2013.
53. Sana M, Malik HJ. Current and emerging breast cancer biomarkers. *J Cancer Res Ther.* 2015 Jul-Sep;11(3):508-13.
54. Weigel MT, Dowsett M. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction. *Endocrine-related cancer.* 2010 Dec 1;17(4):R245-62.
55. 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
56. Sudha Bansode *Cancer Biology-Causes & Biomarkers of Cancer 2019*
57. Yip CH. Challenges in the early detection of breast cancer in resource-poor settings. *Breast Cancer Management.* 2016.
58. Ginsburg O, Yip CH, Brooks A, Cabanes A. et al. Breast cancer early detection: A phased approach to implementation. *Cancer.* 2020 May 15;126 Suppl 10 (Suppl 10):2379-2393.
59. WHO. *Guide to cancer early diagnosis.* World Health Organization.2017.
60. Victor V. Levenson, Biomarkers for early detection of breast cancer: What, when, and where?, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*,2007
61. Orlandi A., Dio C.D., Calegari M.A., Barone C. Paradox, CA 15–3 increase in metastatic breast cancer patients treated with everolimus: A change of paradigm in a case series. *Biomark. Med.* 2017;**10**:1191–1195.
62. Asif H.M., Sultana S., Ahmed S., Akhtar N., Tariq M. HER-2 positive breast cancer—A mini-review. *Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP.* 2016;**17**:1609.
63. Sørensen P.D., Jakobsen E.H., Madsen J.S., Petersen E.B., Andersen R.F., Østergaard B., Brandslund I. Serum HER-2: Sensitivity, specificity, and predictive values for detecting metastatic recurrence in breast cancer patients. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2013;**139**:1005–1013. doi: 10.1007/s00432-013-1411-7.
64. Mattos-Arruda L.D., Cortes J., Santarpia L, Vivancos A., Tabernero J., Reis-Filho J.S., Seoane J. Circulating tumour cells and cell-free DNA as tools for managing breast cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2013;**10**:377–389. doi: 10.1038/nrclinonc.2013.80.

65. Kabat G.C., Kandel R.A., Glass A.G., Jones J.G., Olson N., Duggan C., Ginsberg M., Negassa A., Rohan T. A cohort study of p53 mutations and protein accumulation in benign breast tissue and subsequent breast cancer risk. *J. Oncol.* 2011;**2011**:970804.
66. Chase J.W., L'Italien J.J., Murphy J.B., Spicer E.K., Williams K.R. Characterization of the escherichia coli ssb-113 mutant single-stranded DNA-binding protein. cloning of the gene, DNA and protein sequence analysis, high pressure liquid chromatography peptide mapping, and DNA-binding studies. *J. Biol. Chem.* 1984;**259**:805–814.
67. Singh B., Chatterjee A., Ronghe A.M., Bhat N.K., Bhat H.K. Antioxidant-mediated up-regulation of OGG1 via NRF₂ induction is associated with inhibition of oxidative DNA damage in estrogen-induced breast cancer. *BMC Cancer.* 2013;**13**:1–9.
68. Yan W., Zhang A., Powell M.J. Genetic alteration and mutation profiling of circulating cell-free tumor DNA (cfDNA) for diagnosis and targeted therapy of gastrointestinal stromal tumors. *Chin. J. Cancer.* 2016;**35**:68.
69. Bertoli G., Cava C., Castiglioni I. Micronas: New biomarkers for diagnosis, prognosis, therapy prediction and therapeutic tools for breast cancer. *Theranostics.* 2014;**5**:1122–1143.
70. Li S., Yang X., Yang J., Zhen J., Zhang D. Serum microRNA-21 as a potential diagnostic biomarker for breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Exp. Med.* 2016;**16**:29–35.
71. Nassar FJ, Chamandi G, Tfamily MA, Zgheib NK, Nasr R. Peripheral Blood-Based Biopsy for Breast Cancer Risk Prediction and Early Detection. *Front Med (Lausanne).* 2020 Feb 11;**7**:28.
72. Hesari, A.; Golrokh Moghadam, S.A.; Siasi, A.; Rahmani, M.; Behboodi, N.; Rastgar-Moghadam, A.; Ferns, G.A.; Ghasemi, F.; Avan, A. Tumor-derived exosomes: Potential biomarker or therapeutic target in breast cancer? *J. Cell. Biochem.* **2018**, *119*, 4236–4240.
73. Mistry, D.A.; French, P.W. Circulating Phospholipids as Biomarkers of Breast Cancer: A Review. *Breast Cancer (Auckl)* **2016**, *10*, 191–196.
74. Dinges, S.S.; Hohm, A.; Vandergrift, L.A.; Nowak, J.; Habbel, P.; Kaltashov, I.A.; Cheng, L.L. Cancer metabolomic markers in urine: Evidence, techniques and recommendations. *Nat. Rev. Urol.* **2019**, *16*, 339–362.

75. Barmada, A.; Shippy, S.A. Tear analysis as the next routine body fluid test. *Eye* **2020**, *6*, 1–3.
76. Al Joudi, F.S. Human mammaglobin in breast cancer: A brief review of its clinical utility. *Indian J. Med. Res.* **2014**, *139*, 675–685.
77. Li J, Guan X, Fan Z, Ching L-M, Li Y, Wang X, et al. Non-Invasive Biomarkers for Early Detection of Breast Cancer. *Cancers* **2020**;12(10):2767.
78. Kim, S.; Kim, T.G.; Lee, S.H.; Kim, W.; Bang, A.; Moon, S.W.; Song, J.; Shin, J.H.; Yu, J.S.; Choi, S. Label-free surface-enhanced Raman spectroscopy biosensor for on-site breast cancer detection using human tears. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, *12*, 7897–7904.
79. Sauter, E.R.; Winn, J.N.; Dale, P.S.; Wagner-Mann, C. Nipple aspirate fluid color is associated with breast cancer. *Cancer Detect. Prev.* **2006**, *30*, 322–328.
80. Tredwell, G.D.; Miller, J.A.; Chow, H.H.; Thompson, P.A.; Keun, H.C. Metabolomic characterization of nipple aspirate fluid by ¹H NMR spectroscopy and GC-MS. *J. Proteome. Res.* **2014**, *13*, 883–889.
81. Moelans, C.B.; Patuleia, S.I.S.; van Gils, C.H.; van der Wall, E.; van Diest, P.J. Application of nipple aspirate fluid miRNA profiles for early breast cancer detection and management. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 5814.
82. Pawlik, T.M.; Hawke, D.H.; Liu, Y.; Krishnamurthy, S.; Fritsche, H.; Hunt, K.K.; Kuerer, H.M. Proteomic analysis of nipple aspirate fluid from women with early-stage breast cancer using isotope-coded affinity tags and tandem mass spectrometry reveals differential expression of vitamin D binding protein. *BMC Cancer* **2006**, *6*, 68.
83. Yu, Y.; Prassas, I.; Muytjens, C.M.; Diamandis, E.P. Proteomic and peptidomic analysis of human sweat with emphasis on proteolysis. *J. Proteom.* **2017**, *155*, 40–48.
84. Calderón-Santiago, M.; Priego-Capote, F.; Turck, N.; Robin, X.; Jurado-Gámez, B.; Sanchez, J.C.; Luque de Castro, M.D. Human sweat metabolomics for lung cancer screening. *Anal. Bioanal. Chem.* **2015**, *407*, 5381–5392.
85. Zadák, Z.; Klemnera, P.; Hyšpler, R.; Tichá, A.; Adam, T.; Friedecký, D.; Janečková, H.; Gardlo, A.; Karlíková, R. A Method of Diagnosing Breast Sancer from a Sample of Apocrine Sweat. U.S. Patent CZ307724B6 and PCT/CZ2018/050045, 2019.
86. Andrea Nicolini, Paola Ferrari, Michael J. Duffy, Prognostic and predictive biomarkers in breast cancer: Past, present and future, *Seminars in Cancer Biology*, 2018.

87. Le Jing, Chongyu Xie, Qianqian Li, Meiqing Yang, Shaoguang Li, Hui Li, and Fan Xia *Analytical Chemistry* **2022** *94* (1), 269-296
88. Dos Anjos Pultz B, da Luz FA, de Faria PR, Oliveira AP, de Araújo RA, Silva MJ. Far beyond the usual biomarkers in breast cancer: a review. *J Cancer*. 2014 Jul 4;*5*(7):559-71.
89. Duffy MJ. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor, PAI-1, as prognostic markers in breast cancer: from pilot to level 1 evidence studies. *Clinical chemistry*. 2002;*48*:1194–7.
90. Pang H, Lu H, Song H, Meng Q, Zhao Y, Liu N, Lan F, Liu Y, Yan S, Dong X and Cai L: Prognostic values of osteopontin-c, E-cadherin and β -catenin in breast cancer. *Cancer Epidemiol*. 37:985–992. 2013.
91. Ortiz-Martínez F, Perez-Balaguer A, Ciprián D, Andrés L, Ponce J, Adrover E, Sánchez-Payá J, Aranda FI, Lerma E and Peiró G: Association of increased osteopontin and splice variant-c mRNA expression with HER2 and triple-negative/basal-like breast carcinomas subtypes and recurrence. *Hum Pathol*. 45:504–512. 2014.
92. Lee GW, Kim JY, Koh EH, Kang D, Choi DS, Maeng KY. et al. Plasma human mammaglobin mRNA associated with poor outcome in patients with breast cancer. *Genetics and molecular research: GMR*. 2012;*11*:4034–42.
93. Liu Y, Ma L, Liu X, Wang L. Expression of human mammaglobin as a marker of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *Experimental and therapeutic medicine*. 2012;*3*:550–4.
94. Luo MH, Huang YH, Ni YB, Tsang JY, Chan SK, Shao MM. et al. Expression of mammaglobin and gross cystic disease fluid protein-15 in breast carcinomas. *Human pathology*. 2013;*44*:1241–50.
95. Huo L, Zhang J, Gilcrease MZ, Gong Y, Wu Y, Zhang H. et al. Gross cystic disease fluid protein-15 and mammaglobin A expression determined by immunohistochemistry is of limited utility in triple-negative breast cancer. *Histopathology*. 2013;*62*:267–74.
96. Tenhagen M, van Diest PJ, Ivanova IA, van der Wall E, van der Groep P. Fibroblast growth factor receptors in breast cancer: expression, downstream effects, and possible drug targets. *Endocr Relat Cancer*. 2012;*19*:R115–29.

97. Hunter DJ, Kraft P, Jacobs KB, Cox DG, Yeager M, Hankinson SE. et al. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat Genet.* 2007;39:870–4.
98. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PD, Thompson D, Ballinger DG. et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature.* 2007;447:1087–93.
99. Nakajima H, Sakaguchi K, Fujiwara I, Mizuta M, Tsuruga M, Magae J. et al. Apoptosis and inactivation of the PI3-kinase pathway by tetrocarcin A in breast cancers. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;356:260–5.
100. Milovanovic Z, Dzodic R, Susnjar S, Plesinac-Karapandzic V, Juranic Z, Tatic S. PTEN protein expression in postmenopausal steroid receptor positive early breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *J BUON.* 2011;16:46–51.
101. Tokunaga E, Oki E, Kimura Y, Yamanaka T, Egashira A, Nishida K. et al. Coexistence of the loss of heterozygosity at the PTEN locus and HER2 overexpression enhances the Akt activity thus leading to a negative progesterone receptor expression in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;101:249–57.
102. Tadahiko Shien, Hiroji Iwata, Adjuvant and neoadjuvant therapy for breast cancer, *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 2020.
103. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Davies C, Godwin J, et al. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2011;378:771–84.
104. Saha P, Regan MM, Pagan O, et al. SOFT; TEXT investigators; international breast cancer study group. Treatment efficacy, adherence, and quality of life among women younger than 35 years in the international breast cancer study group TEXT and SOFT adjuvant endocrine therapy trials. *J Clin Oncol* 2017;35:3113–22.
105. Darby S, McGale P, Correa C, et al. Early breast cancer Trialists' collaborative group (EBCTCG). Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: Meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *Lancet* 2011;378:1707–16.
106. Goss PE, Ingle JN, Pritchard KI, et al. Extending aromatase-inhibitor adjuvant therapy to 10 years. *N Engl J Med* 2016;375:209–19.

107. Blum JL, Flynn PJ, Yothers G, et al. Anthracyclines in early breast cancer: the ABC trials-USOR 06-090, NSABP B-46-I/USOR 07132, and NSABP B-49 (NRG oncology). *J Clin Oncol* 2017;35:2647–55.
108. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med* 2015;373:2005–14.
109. Slamon D, Eiermann W, Robert N, et al. Breast cancer international research group. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2011;365:1273–83.
110. Tolaney SM, Barry WT, Dang CT, et al. Adjuvant paclitaxel and trastuzumab for node-negative, HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2015 Jan 8;372:134–41.
111. Minckwits G, Procter M, Azambuja E, et al. Adjuvant pertuzumab and trastuzumab in early HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2017;377:702.
112. von Minckwitz G, Huang CS, Mano MS, et al. Trastuzumab Emtansine for residual invasive HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2019;380(7):617-628.
113. Gnant M, Pfeiler G, Steger GG, et al. Adjuvant denosumab in postmenopausal patients with hormone receptor-positive breast cancer (ABCSG-18): Disease-free survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019;20:339–51.
114. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2012;13:25–32.
115. Masuda N, Sagara Y, Kinoshita T, et al. Neoadjuvant anastrozole versus tamoxifen in patients receiving goserelin for premenopausal breast cancer (STAGE): a double-blind randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012;13:345–52.
116. Zafra-Ceres M, de Haro T, Farez-Vidal E, Blancas I, Bandres F, de Duenas EM. et al. Influence of CYP2D6 polymorphisms on serum levels of tamoxifen metabolites in Spanish women with breast cancer. *International journal of medical sciences*. 2013;10:932–7.
117. German S, Aslam HM, Saleem S, Raees A, Anum T, Alvi AA. et al. Carcinogenesis of PIK3CA. *Hered Cancer Clin Pract*. 2013;11:5..

118. Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M, Biggs H, Rueda OM, Chin SF. et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2013;368:1199–209.
119. Hanker AB, Pfefferle AD, Balko JM, Kuba MG, Young CD, Sanchez V. et al. Mutant PIK3CA accelerates HER2-driven transgenic mammary tumors and induces resistance to combinations of anti-HER2 therapies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110:14372–7.
120. Zhu D, Zha X, Hu M, Tao A, Zhou H, Zhou X. et al. High expression of TIMP-1 in human breast cancer tissues is a predictive of resistance to paclitaxel-based chemotherapy. *Medical oncology.* 2012;29:3207–15.
121. Hekmat O, Munk S, Fogh L, Yadav R, Francavilla C, Horn H. et al. TIMP-1 Increases Expression and Phosphorylation of Proteins Associated with Drug Resistance in Breast Cancer Cells. *Journal of proteome research.* 2013;12:4136–51.
122. Deng X, Fogh L, Lademann U, Jensen V, Stenvang J, Yang H. et al. TIMP-1 overexpression does not affect sensitivity to HER2-targeting drugs in the HER2-gene-amplified SK-BR-3 human breast cancer cell line. *Tumour biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine.* 2013;34:1161–70.