جـــامـــعة دمـــــشق

كـلية الطـب البشـــري

قسم التشـريح المـرضي

تصنيف سرطانات الثدي بحسب المشعرات المناعية الشكلية Immunophenotype، المشعر الإنقسامي (Ki-67) ، المشعرات الهرمونية (ER,PR) ، HER2/neu ، و التمايز القاعدي (CK 5/6 , EGFR).

بحث علمي أعدّ لنيل شهادة الدراسات العليا التخصّصيّة في التشريح المرضي

بإشراف

الأستاذ الدكتور

شريف السالم

برئاسة

الأستاذة الدكتورة

لينا الحفار

إعداد

د.مرعي طلال عقيل

مخطط البحث

القسم الأول: الدراسة النظرية

مقدمة تشريحية-نسيجية	7
سرطان الثدي- مقدمة	9
عوامل الاختطار	10
السببيات والإمراض	11
لمحة عن عملية التسرطن و تطور الورم	14
الخلية المصدر في سرطانات الثدي	16
التصنيف النسيجي لسرطانة الثدي	17
الدرجة النسيجية لسرطان الثدي	25
تقييم درجة التكاثر عن طريق الكيمياء المناعية النسجية	29
المستقبلات الهرمونية Hormone receptors	28
حالة Her2/Neu	31
التصنيف الجزيئي لسرطان الثدي	33
الاختبارات الجزيئية الإنذارية	39

القسم الثاني: الدراسة العملية

ملخص الدراسة	43
هدف الدراسة	44
أهمية الدراسة	44
طريقة الدراسة	44
طريقة إجراء التلوينات المناعية	45
نتائج الدراسة	47
أمثلة عن بعض الحالات التي تمت دراستها	61
مناقشة النتائج ومقارنتها بالدراسات العالمية	66
التوصيات	72
المراجع	73

القسم الأول

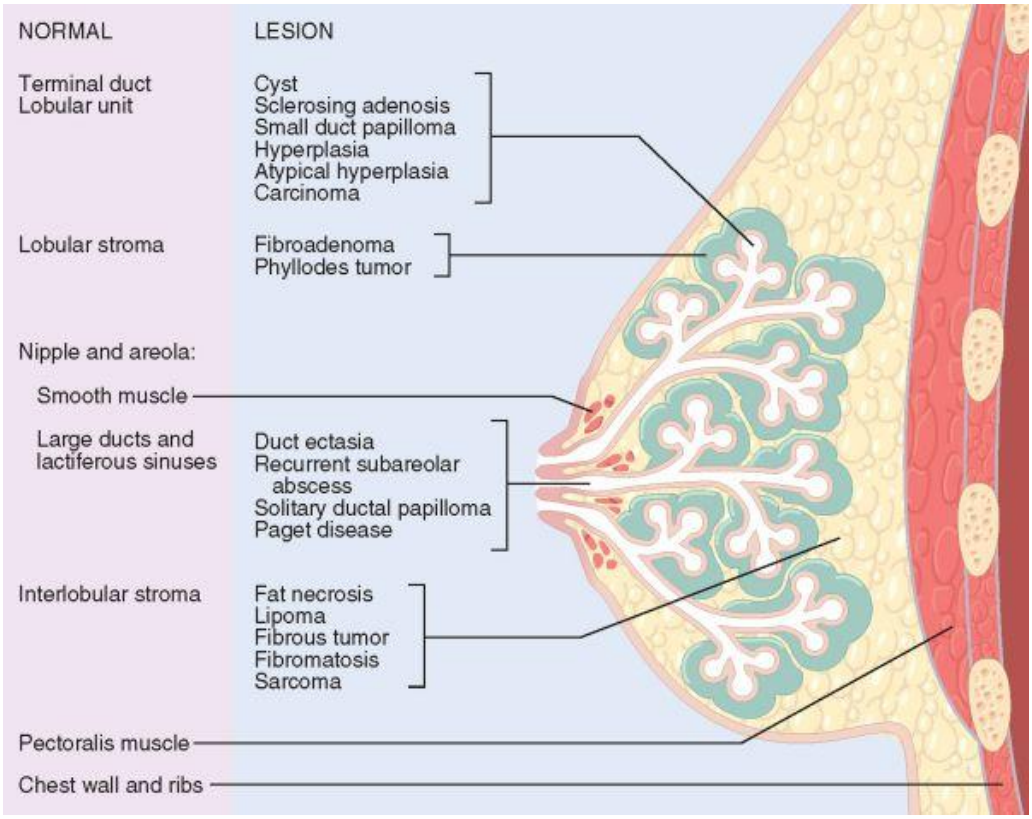
الدراسة النظرية

مقدمة تشريحية ـ نسيجية

يتوضع الثدي عند الإنسان فوق العضلة الصدرية في الجزء العلوي من جدار الصدر و هو يتألف من بشرة متخصصة و سدى ضام يمكن لهما أن تعطيان أفات سليمة أو خبيثة.

يمكن فهم أمراض الثدي في سياق معرفة التشريح الطبيعي. تحتوي غدة الثدي على ست إلى عشر أقنية كبرى.

تقوم الظهارة الوسفية المتقرنة الساترة للجلد المحيط بالانغماس داخل فتحات الحلمة ثم تتغير بشكل مفاجئ إلى ظهارة ثنائية الطبقات مكعبة ساترة للأقنية. التفرعات المتلاحقة للأقنية الكبيرة تقود في النهاية إلى الوحدة القنوية الفصيصية الانتهائية Terminal duct lobular unit الشكل (1).



الشكل (1) المنشأ التشريحي لآفات الثدي الشائعة

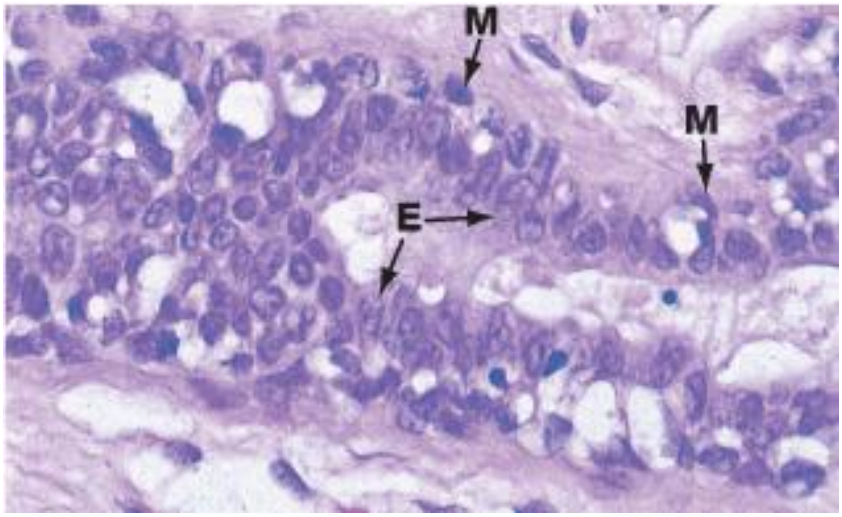
تتفرع الأقنية الإنتهائية عند النساء البالغات في مجموعات عنقودية الشكل مؤلفة عنبات صغيرة لتشكل الفصيص.

يبطن الأقنية و الفصيصات نوعان من الخلايا (الشكل (2)):

- خلايا عضلية بشروية (Myoepithelial cells) قابلة للتقلص تحتوي لييفات عضلية تتوضع بشكل شبكي على الغشاء القاعدي. تساعد هذه الخلايا في طرد الحليب أثناء الرضاعة وتؤمن دعم هيكلي للفصيصات.
- خلايا بشروية لمعية (Luminal Cells) تراكب الخلايا العضلية البشروية. وحدها الخلايا اللمعية الفصيصية قادرة على انتاج الحليب.

يفترض وجود خلايا جذعية متخصصة تقوم بإنشاء الخليتين اللمعية و العضلية البشروية [1].

كما يوجد نوعان من اللحمة في الثدي. تتألف اللحمة بين الفصيصية من نسيج ضام ليفي كثيف ومختلط مع نسيج شحمي. تغلف اللحمة داخل الفصيصية عنبات الفصيصات و تتألف من خلايا مشابهة للمصورة لليف ذات استجابة هرمونية مخصوصة بالثدي مختلطة مع بعض الخلايا اللمفاوية المشتتة.



الشكل (2) المظهر النسيجي للأقنية في الثدي يظهر الخلايا البشروية اللمعية (E) و الخلايا العضلية البشروية (M).

ســـرطان الثـــدي

مـقدمة

يعتبر سرطان الثدي الخباثة غير الجلدية الأكثر شيوعاً عند النساء. المرأة التي تصل إلى عمر التسعين لديها احتمال 1 من 8 في تطوير سرطان الثدي . سرطان الرئة هو الوحيد الذي يتجاوز سرطان الثدي في نسبة الوفيات الناتجة عن السرطانات.

تم اعتبار سرطان الثدي منذ زمن بأنه مرض غير متجانس مع مجموعة كبيرة من المظاهر النسيجية. أثبتت دراسات التنميط الجيني وجود أنماط متعددة من السرطانات لكنها أظهرت أيضا أن معظم السرطانات يمكن تجميعها في مجموعات رئيسة متعددة ذات اختلافات سريرية و حيوية هامة. إن معظم السرطانات هي إيجابية مستقبل الإستروجين ER و تتميز بواسم جيني تتحكم به مجموعة من الجينات تحت سيطرة الإستروجين. تتوضع عدة أورام سلبية الإستروجين ضمن مجموعة متميزة تسمى بـ شبيهة القاعدية Basal-like ستتم مناقشتها لاحقاً.

تظهر اختلافات واضحة بين سرطانات الثدي إيجابية و سلبية الاستروجين ER بالنسبة لمميزات المرضى ، الخواص الباثولوجية ، الاستجابة للمعالجة والحصيلة النهائية للمرض.

وضعت الدراسات السابقة سرطانات الثدي كلها في مجموعة واحدة، ولكن بات من المعروف الآن أن تشخيص سرطان الثدي يتضمن تحت أصناف جزيئية متعددة.

عوامل الاختطار [2] [33]

- إن أهم عوامل الاختطار هو **جنس المريض/ـة**، فواحد بالمئة 1% فقط من سرطان الثدي يحدث عند الرجال.
- **العمر**: يرتفع معدل حدوث سرطان الثدي مع تقدم المرأة بالعمر، وتكون قمة الحدوث بين 75-80 سنة ومن ثم تتراجع قليلاً بعد ذلك. غالباً ما يشخص بعد عمر 60 سنة. بالرغم من أن السرطانة غير شائعة عند الشابات، فإن نصف تلك الحالات هي سلبية الاستروجين أو إيجابية HER2/neu، بينما تشكل هذه السرطانات أقل من ثلث السرطانات عند النساء فوق عمر 40 سنة.
- **العمر عند بدء الطمث:** العمر المبكر لبدء الطمث والعمر المتأخر لسن الإياس يزيد من اختطار حدوث سرطان الثدي
- **العمر عند أول ولادة حية:** يكون للمرأة التي تكمل حملها الأول بعمر أصغر من 20 سنة نصف اختطار تلك عديمة الولادات أو النساء اللواتي يختبرن أول ولادة بعد عمر 35 سنة. يفترض أنه ينتج عن الحمل تمايز في الخلايا اللمعية لتصبح منتجة للحليب، مما يحذفها من مجموع الخلايا السليفة للورم [4].
- **قرابات درجة أولى مع إصابة بسرطان الثدي:** خاصة عندما تكون الإصابة في عمر مبكر. 13% من المصابات بسرطان الثدي لديهن قرابة درجة أولى مصابة بالمرض.
- **فرط التنسج اللانموذجي:** يوجد زيادة في اختطار حدوث سرطان الثدي في فرط التنسج اللانموذجي، بينما تكون الزيادة قليلة في فرط التنسج دون لانموذجية.
- **التعرض للأستروجين:** المعالجة المعوضة بالاستروجين للنساء بعد سن الضهي تزيد من الاختطار بنسبة 1.2 إلى 1.7، وإضافة البروجسترون تزيدها أكثر من ذلك.
- العرق والإثنية.
- كثافة الثدي
- التعرض للأشعة
- سرطانة في الثدي المقابل أو في الرحم
- الحمية، البدانة
- التدخين والسموم البيئية

السببيات والإمراض

إن عوامل الاختطار الكبرى لحصول سرطان الثدي هي عوامل هرمونية وجينية. يمكن أن تقسم سرطانات الثدي وفقاً لذلك إلى حالات فرادية، ناتجة غالباً عن التعرض الهرموني، وحالات وراثية ناجمة عن طفرات في الخط الجيني. لقد تم تفحص وبحث دقيق في حالات السرطانات الوراثية بأمل أن يتم التعرف على طفرات جينية محددة ومن خلال هذه التغيرات سوف تتوضح الأسباب غير العائلية لسرطانات الثدي أيضاً.

سرطان الثدي الوراثي

إن وراثة جينات الاستعداد الوراثي هي السبب الرئيسي لحوالي 12% من سرطانات الثدي [5][6]. تزداد احتمالية السببية الوراثية عند وجود إصابة في أقرباء الدرجة الأولى، عندما تكون الإصابات فيما قبل الإياس و/أو بوجود سرطانات متعددة، أو بوجود أفراد من العائلة مصابين بسرطانات أخرى معينة.

تكون زيادة الاختطار في بعض العائلات ناتجة عن طفرة وحيدة في جينة سرطانية عالية الانتفاذ (جدول 1-1). تعتبر الطفرات في BRCA1 وBRCA2 مسؤولة عن معظم السرطانات الممكن نسبتها إلى الطفرات الوحيدة وحوالي 3% من مجموع سرطانات الثدي. يتفاوت الانتفاذ penetrance (النسبة المئوية للحملة الذين يحصل لديهم سرطان الثدي) من 30% إلى 90% بحسب الطفرة المحددة الموجودة. تزيد الطفرات في BRCA1 بشكل واضح من اختطار حدوث سرطان مبيض، والذي يحدث بنسبة 20% إلى 40% من الحملة. تعطي BRCA2 اختطاراً بنسبة أقل لسرطان المبيض (10% إلى 20%) ولكنها تترافق بشكل أكثر تكراراً مع سرطان الثدي عند الذكور. إن حملة BRCA1 و BRCA2 هم على اختطار أعلى أيضا لسرطانات بشروية أخرى، مثل سرطانات البروستاتة و البنكرياس.

تعتبر BRCA1 و BRCA2 من الجينات الكبيرة حيث يبلغ حجمها أكثر من 80 kilobases. تم التعرف على مئات الطفرات المختلفة المنتشرة عبر حقول الترميز لكل مورثة. يبلغ تردد الطفرات التي تزيد من اختطار سرطان الثدي فقط 0.1 إلى 0.2 % من الجمهرة العامة. نتيجة لذلك، من الصعب فحص الجينات وهو محصور بشكل عام عند الأفراد ذوي القصة العائلية القوية أو أولئك الذين ينتمون إلى إثنيات معينة. من المهم تحديد الحملة، حيث يمكن لزيادة الترصد، استئصال الثدي الوقائي، ولاستئصال المبيضين أن يخفض من معدل الوفيات والمراضة المرتبطة بالورم.

المورثة (الموقع) المتلازمة (نسبة الحدوث)	%من السرطانات الوراثية ذات "الجينة الوحيدة"	اختطار سرطان الثدي بعمر 70	التغيرات في سرطان الثدي الفرادي	السرطانات المرافقة الأخرى	الوظائف	تعليقات
BRCA1 (17q21) سرطان الثدي و المبيض العائلي (1 في 860)	52% (2% من جميع أورام الثدي)	40% إلى 90%	الطفرات نادرة، غير مفعلة في 50% من بعض الأصناف (مثل اللبية و الحؤولية) عن طريق الأمتلة	المبيض، الثدي عند الرجال (ولكن بنسبة أقل من BRCA2)، بروستاتة، البنكرياس، وقناة فالوب.	كابتة للورم، منظمة للانتساخ، إصلاح كسور الدنا ذو الطاقين	تكون سرطانات الثدي عادة سيئة التمايز وثلاثية السلبية (basal-like)، ولديها طفرات في P53
BRCA2 (13q12-13) سرطان الثدي و المبيض العائلي 1) in 740)	32% (~1%) من جميع سرطانات الثدي)	30% إلى 90%	الطفرات وفقدان التعبير نادرة	المبيض، سرطان الثدي عند الذكور، البروستاتة، البنكرياس، المعدة، الميلانومة، المرارة، القناة الصفراوية، البلعوم.	كابتة للورم، منظمة للانتساخ، إصلاح كسور الدنا ذي الطاقين	تسبب الطفرات ثنائية الأليل شكلاً نادراً من فقر دم فانكوني
p53 (17p13.1) Li-Fraumeni (1 in 5,000)	3% (<1%) من كل سرطانات الثدي)	>90%	طفرات في 20%، LOH في 30% إلى 42%، أكثر تكراراً في السرطانات ثلاثية السلبية.	الساركومة، اللوكيميا، أورام الدماغ، كارسينومة قشر الكظر، أخرى.	كابتة للورم مع دور أساسي في ضبط الدورة الخلوية، تضاعف الدنا، إصلاح الدنا، الاستماتة.	تحدث طفرات p53 بشكل أكثر شيوعاً في سرطانات الثدي الفرادية
CHEK2 (22q12.1) Li-Fraumeni variant (1 in 100)	5% (~1%) من كل سرطانات الثدي)	10% إلى 20%	طفرات نادرة(<5%)، فقدان التعبير البروتيني على الأقل في ثلث الحالات بآلية غير معروفة.	البروستاتة، الدرق، الكلية، الكولون	كيناز نقطة اختبار للدورة الخلوية، التعرف وإصلاح عيوب الدنا، تفعل BRCA1و p53 عبر الفسفتة.	يمكن أن تزيد من اختطار سرطانة الثدي بعد التعرض للاشعاع

جدول 1-1 أشيع طفرات الجينة الوحيدة المترافقة مع الاستعداد لحدوث سرطان الثدي الوراثي

تكون سرطانات الثدي المرتبطة بـ BRCA1 عادةً سيئة التمايز، لها "خصائص لبية" (نمط نمو مخلوي مع حدود مدفوعة واستجابة لمفاوية)، وليس لديها تعبير هرموني أو فرط تعبيرية في HER2/neu (وهو ما يدعى النمط الشكلي "ثلاثي السلبية"). إن شكل التنميط الجيني المرتبط بها مشابه لسرطانات الثدي شبيهة القاعدية basal-like، وهو نمط جزيئي متميز. تترافق سرطانات BRCA1 بشكل متكرر مع فقدان في الصبغي X غير الفعال وتضاعف في الصبغي X الفعال، مما يؤدي إلى غياب جسيم Barr [7].

تميل سرطانات الثدي المرتبطة بـ BRCA2 أيضاً إلى أن تكون سيئة التمايز، ولكنها غالباً إيجابية الـ ER بشكل أكبر من سرطانات الـ BRCA1.

يوجد جينات استعداد وراثي أخرى متورطة بشكل أقل شيوعاً. تشكل هذه المجموعة مع بعضها أقل من 10% من سرطانات الثدي الوراثية (جدول 1-1). تمثل الطفرات المسببة لمتلازمة Li-Fraumeni و Li-Fraumeni variant (p53 و CHEK2 على التوالي) 8% من سرطانات الثدي المسببة من جينات وحيدة.

إن معظم جينات الاستعداد الوراثي لسرطان الثدي هي كابتة للورم والتي لها دور في إصلاح الدنا، ضبط الدورة الخلوية، وتنظيم الاستماتة. إن طفرات الجينات المتورطة في سرطان الثدي الوراثي غير شائعة في النمط الفرادي عدا طفرة p53.

سرطان الثدي الفرادي

يشكل معظم حالات سرطانات الثدي (88% من الحالات).

إن عوامل الاختطار الكبرى المرتبطة بسرطان الثدي الفرادي مرتبطة بالتعرض الهرموني: الجنس، العمر عند بدء الطمث والإياس، القصة التوالدية، الإرضاع الطبيعي، و الاستروجينات الخارجية. تحدث معظم السرطانات الفرادية عند النساء بعد الإياس وهي إيجابية الـ ER.

يزيد التعرض الهرموني من عدد الخلايا الهدفية المحتملة وذلك بتحريض نمو الثدي خلال البلوغ، الدورات الطمثية، والحمل. يحث التعرض أيضاً الدورات التكاثرية التي تضع الخلايا في اختطار تلف في الدنا. حينما تتواجد الخلايا قبل الخبيثة و الخبيثة، تحث الهرمونات نموها، وكذلك تحث نمو خلايا البشرة والسدى الطبيعيين والذي يمكن ان يساعد ويحرض على تطور الورم.

يمكن أن يلعب الإستروجين أيضا دوراً أكثر توجيهاً في التسرطن. يمكن أن تسبب مستقلبات الإستروجين طفرات أو تحدث جذور حرة من تلف الدنا في الخلية وفي النظم الحيوانية المدروسة [8]. كذلك تم افتراض أن أشكال من الجينات لها علاقة بتصنيع واستقلاب الاستروجين يمكن أن تزيد من اختطار سرطان الثدي. يمكن أن تكون هذه الأشكال مضاهئة لأليلات Cytochrome P-450 والتي تبدل من استقلاب tamoxifen عند بعض النساء[9].

لمحة عن عملية التسرطن و تطور الورم

إن المظاهر النسيجية للسرطانات و الآفات قبيل السرطانية المفترضة هي التظاهرات الخارجية لتغيرات جينية و فوق جينية (Epigenetic) تقود عملية التسرطن. يفترض أحد نماذج التسرطن بأن الخلية الطبيعية يجب أن تمتلك عدة قدرات جديدة حتى تصبح خبيثة [10] [11]. يمكن الوصول إلى كل منها عبر تغيير في فعالية واحدة من عدة مورثات تنظم التفاعلات الخلوية.

التغيرات الأساسية السبعة هي التالية [10]:

- الاكتفاء الذاتي في إشارات تحريض النمو: تمتلك الأورام القدرة على التكاثر دون محرض خارجي، عادة عبر تفعيل جين ورمي Oncogene.
- عدم الحساسية لإشارات تثبيط النمو: لا تستجيب الأورام عادة للجزيئات المثبطة للتكاثر مثل (TGF- β) و (CDKIs).
- الهروب من الاستماتة (Apoptosis): تقاوم الأورام موت الخلية المبرمج كنتيجة لتثبيط p53 أو لتفعيل الجينات المثبطة للاستماتة Anti-apoptotic genes.
- إمكانية التضاعف غير المحدودة: لخلايا الورم قدرة تكاثرية غير محدودة، متجنبةً التشيخ الخلوي و التحطم الإنقسامي.
- تولد أوعية مستمر: تحتاج خلايا الورم –كالخلايا الطبيعية- لكي تنمو إلى تشكيل مصدر وعائي لتأمين المغذيات و الأوكسيجين و إزالة الفضلات. لذلك تحرض الأورام تولد الأوعية.
- إمكانية الغزو و الانتقال: تسبب النقائل معظم الوفيات الناتجة عن السرطان و تعتمد على عمليات داخلية في الخلية أو تنشأ من إشارات من البيئة النسيجية.
- عيوب في إصلاح الدنا DNA: يمكن أن تفشل الأورام في إصلاح خلل الدنا الناتج عن الجينات الورمية أو من التكاثر الخلوي الغير منتظم مما يقود إلى عدم استقرار جينومي و طفرات في طليعة الجينة الورمية أو الجينات المثبطة للورم.

يقوم مجموع الخلايا التي تحمل بعض-وليس كل- التغيرات الجينية و فوق الجينية اللازمة لعملية التسرطن بإنشاء أفات الثدي المعروفة و التي تترافق بزيادة اختطار التطور إلى سرطان.

إن هذه التبدلات الأولى هي تغيرات تكاثرية (Proliferative)، التي قد تنشأ من فقدان إشارات تثبيط النمو، زيادة شاذة بالإشارات المحفزة للنمو، أو نقص في الموت الخلوي المبرمج.

على سبيل المثال، تظهر الأفات الباكرة (مثل فرط التنسج القنوي أو الفصيصي اللانموذجي) زيادة في تعبير المستقبلات الهرمونية و تنظيم غير سوي للتكاثر [12] [13].

نادرا ما يكشف الـ LOH –فقدان تغاير اللواقح- في التغيرات التكاثرية النموذجية لكن تواتره يصبح أكثر في فرط التنسج اللانموذجي و معمم في السرطانة اللابدة.

يشاهد عدم استقرار الدنا DNA العميق بشكل اختلال في الصيغة الصبغية، و التي تتظاهر مورفولوجيا بضخامة، عدم انتظام و فرط انصباغ (hyperchromasia) نووي في السرطانة اللابدة القنوية عالية الدرجة وبعض السرطانات الغازية.

تصبح النسيلة الشاذة في مرحلة ما من تطور الورم غير قابلة للموت و تكتسب القدرة على إنشاء تولد وعائي مستحدث.

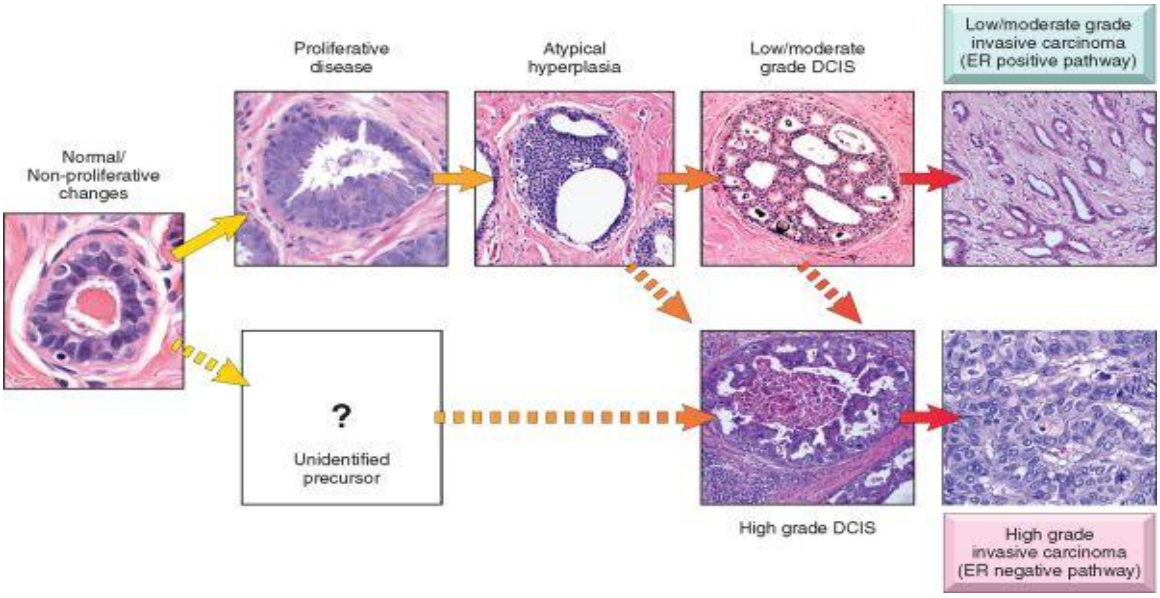
تؤسس الخواص الشكلية و البيولوجية للسرطانات عادة في مرحلة السرطانة اللابدة، حيث تتشابه الأفات اللابدة في معظم الحالات مع السرطانة الغازية المرافقة.

الخلية المصدر في سرطانات الثدي

تعتبر الخلية المصدر في سرطانات الثدي موضوعاً مهماً لما لمعرفتها من أهمية في السببيات و المعالجة. تفترض نظرية الخلية الجذعية للسرطان بأن التغيرات الخبيثة تحدث في مجموع الخلايا الجذعية التي تمتلك خصائص متميزة تفرقها عن الخلايا الأكثر تمايزاً. تساهم الخلايا الجذعية الخبيثة وحدها في تطور ونكس الورم بالرغم من أن معظم الخلايا في الورم ستتألف من نسل غير جذعي. تكون المعالجة الفعالة بحاجة فقط لاستهداف مجموع الخلايا هذه و التي لا يزال من الصعب تحديدها حتى الوقت الحالي [14] [15].

إن نمط الخلية المنشأ الأكثر ترجيحا لمعظم السرطانات هي الخلية اللمعية (Luminal) المعبرة عن الاستروجين ER-expressing، حيث إن معظم السرطانات هي ER-positive و الأفات قبيل السرطانية لها نفس نمط الخلايا. توجد أدلة على أن هذه الخلية المنشأ اللمعية هي من الوحدة القنوية الفصيصية الإنتهائية [16]. يمكن أن تنشأ السرطانات سلبية مستقبل الاستروجين ER-negative من الخلايا العضلية البشروية سلبية مستقبل الإستروجين ER-negative myoepithelial cells [17] [18]. يمكن لذلك أن يفسر سبب تشارك عدة بروتينات –و بالتالي التلوينات المناعية- بين الخلايا العضلية البشروية و السرطانات ثلاثية السلبية triple - negative أو شبيهة القاعدية basal-like. الاحتمال الآخر هو أن تنشأ من طليعة ER-positive فقدت تعبير مستقبل الاستروجين [12] [19].

إن الأفة البدئية للأورام سلبية الاستروجين غير معروفة.



الشكل (3) التسلسل المفترض لـ الأفات البدئية-سرطانة في سرطان الثدي.

التصنيف النسيجي لسرطانة الثدي

يعطي الجدول (1-2) التصنيف النسيجي لأورام الثدي حسب منظمة الصحة العالمية WHO [20]

Epithelial tumors
- Invasive ductal carcinoma, not otherwise specified
- Invasive lobular carcinoma
- Tubular carcinoma
- Invasive cribriform carcinoma
- Medullary carcinoma
- Mucinous carcinoma and related tumors
- Neuroendocrine tumors
- Invasive papillary carcinoma
- Invasive micropapillary carcinoma
- Apocrine carcinoma
- Metaplastic carcinomas
- Lipid-rich carcinoma
- Secretory carcinoma
- Oncocytic carcinoma
- Adenoid cystic carcinoma
- Acinic cell carcinoma
- Glycogen-rich clear cell carcinoma
- Sebaceous carcinoma
- Inflammatory carcinoma

Lobular neoplasia
- Lobular carcinoma in situ

Intraductal proliferative lesions
- Usual ductal hyperplasia
- Flat epithelial atypia
- Atypical ductal hyperplasia
- Ductal carcinoma in situ

Microinvasive carcinoma

Intraductal papillary neoplasms
- Papilloma
- Atypical papilloma
- Intraductal/intracystic papillary carcinoma

Adenomas
- Tubular adenoma
- Lactating adenoma
- Apocrine adenoma
- Pleomorphic adenoma
- Ductal adenoma

Myoepithelial lesions
- Myoepitheliosis
- Adenomyoepithelial adenosis
- Adenomyoepithelioma
- Malignant myoepithelioma

Mesenchymal tumors
- Hemangioma
- Angiomatosis
- Hemangiopericytoma
- Pseudoangiomatous stromal hyperplasia
- Myofibroblastoma
- Fibromatosis (aggressive)
- Inflammatory myofibroblastic tumor
- Lipoma and angiolipoma
- Granular cell tumor
- Neurofibroma
- Schwannoma
- Angiosarcoma
- Liposarcoma
- Rhabdomyosarcoma
- Osteosarcoma
- Leiomyoma
- Leiomyosarcoma

Fibroepithelial tumors
- Fibroadenoma
- Phyllodes tumor
- Periductal stromal sarcoma, low grade
- Mammary hamartoma

Tumors of the nipple
- Nipple adenoma
- Syringomatous adenoma
- Paget disease of the nipple

Malignant lymphoma

Metastatic tumors

تشكل السرطانات الغدية مايزيد على 95% من خباثات الثدي، ويمكن تقسيمها إلى سرطانات لابدة وسرطانات غازية.

تشير السرطانة اللابدة In situ إلى التكاثر الورمي المحدود ضمن الأقنية و الفصيصات بواسطة الغشاء القاعدي. بينما تخترق الكارسينوما الغازية Invasive (أو المرتشحة كمرادف) عبر الغشاء القاعدي داخل السدى.

جدول (1-3) يبين التوزع النسيجي لسرطانات الثدي [21]

مجموع السرطانات	النسبة المئوية
السرطانة اللابدة Carcinoma In situ	**15–30**
السرطانة اللابدة القنوية	80
السرطانة اللابدة الفصيصية	20
السرطانة الغازية Invasive Carcinoma	**70–85**
سرطانة قنوية من نوع غير محدد NST Ductal	79
سرطانة فصيصية Lobular	10
سرطانة مصفوية/أنبوبية Tubular/cribriform	6
سرطانة موسينية (غروانية) Mucinous(Colloid)	2
سرطانة لبية Medullary	2
سرطانة حليمية Papillary	1
سرطانة حؤولية Metaplastic	1>

بالرغم من وجود دليل على أن كل سرطانات الثدي تنشأ من الخلايا في الوحدة القنوية الفصيصة الانتهائية، لا يزال تعبير فصيصي وقنوي مستخدماً في وصف السرطانات اللابدة و الغازية.

صنفت السرطانة اللابدة أصلاً إلى قنوية أو فصيصية اعتماداً على تشابه المسافات المصابة مع القنوات أو الفصيصات الطبيعية. مع ذلك بات من المعروف الآن أن الأنماط المتنوعة من النمو اللابد لا علاقة له بالموقع أو الخلية الأصل، إنما يعكس الإختلافات في بيولوجيا خلية الورم، مثلاً فيما إذا كانت الخلايا الورمية تمتلك تعبير لبروتين الالتصاق الخلوي E-Cadherin أو لا. بالعرف الحالي، تشير "فصيصية" إلى سرطانات من نمط محدد، و "قنوية" تستخدم بشكل عام للسرطانات الغدية التي لا تمتلك دلالة أخرى.

السرطانة اللابدة Carcinoma In situ

السرطانة اللابدة القنوية Ductal Carcinoma In situ (DCIS)

ازداد تشخيص السرطانة اللابدة القنوية بسرعة مع استخدام المسح بالماموغرام من أقل من 5% من كل حالات السرطانات إلى 15-30 % من السرطانات في السكان الذين تم نخلهم جيداً [22].

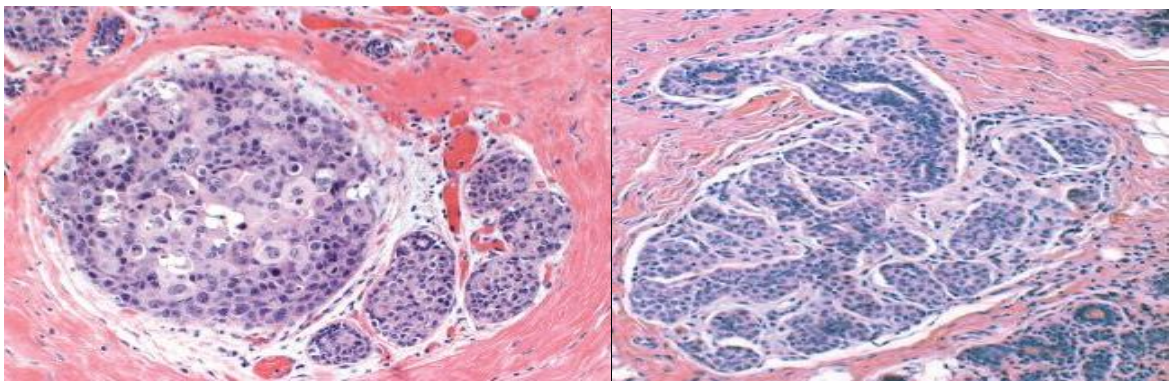
تتألف السرطانة اللابدة القنوية من مجموع نسيلي خبيث من الخلايا محدودة ضمن القنوات و الفصيصات بواسطة الغشاء القاعدي، و تكون الخلايا العضلية البشروية مصانة.

مورفولوجياً: قسمت السرطانة اللابدة القنوية إلى خمسة تحت أصناف شكلية: السرطانة الزؤانية، الصلدة، المصفوية، الحليمية، الحليمية الصغيرة. يكون لبعض حالاتها نمط تكاثر وحيد و لكن تظهر معظمها أنماطا مختلطة.

السرطانة اللابدة الفصيصية Lobular Carcinoma In situ (LCIS)

تكتشف السرطانة اللابدة الفصيصية صدفة عبر الخزعة، حيث لا تترافق مع تكلسات أو ارتكاسات سدوية تظهر كثافات بالماموغرام. تكون ثنائية الجانب في 20-40% من الحالات عندما يخزع كلا الثديين. إن السرطانة اللابدة الفصيصية أشيع عند الشابات، مع نسبة حدوث 80-90 % قبل سن اليأس.

تتماثل خلايا السرطانة الفصيصية اللابد و الغازية في المظهر وتتشارك في الشذوذات الجينية، مثل تلك التي تؤدي إلى فقدان تعبير ال E-Cadherin [23].



الشكل (4) سرطانة لابدة قنوية (يسار)، سرطانة لابدة فصيصية (يمين)

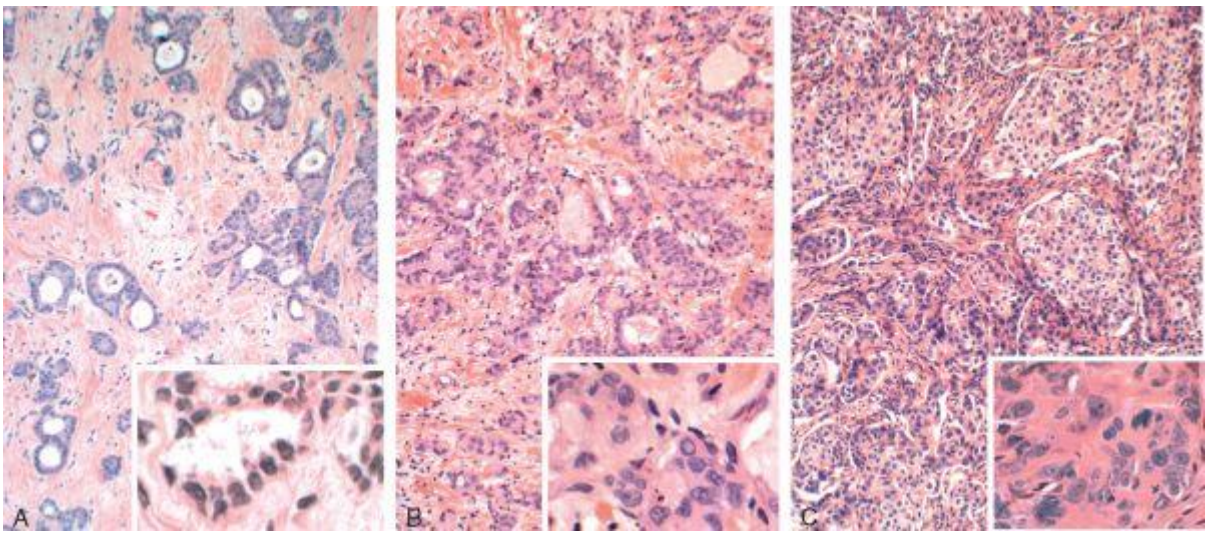
السرطانة الغازية Invasive Carcinoma [20] [24-40]

السرطانة الغازية القنوية من نمط غير محدد Invasive Ductal Carcinoma NST

تشكل معظم حالات سرطانات الثدي الغازية، و مع زيادة كشفها عبر الماموغرام فإن حجمها الوسطي قد انخفض من 2 سم إلى أقل 1 سم. يتم تشخيصها بالنفي: أي إنها يشار إليها بـ NST (من غير نمط محدد) عندما لا تتوافق مع معايير أي أنماط أخرى محددة.

مجهريا :تبدي ارتشاحاً ورمياً مؤلفاً من مجموعات و صفائح من الخلايا الورمية تشكل غالبا أنابيب أو غدد مع وجود خلايا مفردة أو حبال من الخلايا الورمية.

مناعيا : تبدي الدرجات I و II عادةً ايجابية ER/PR (70-80 % من الحالات) بينما تكون سلبية في الدرجات العالية التي تكون عادة ايجابية HER2/neu (تظهر إيجابية HER2/neu في 15-25% من الحالات).



الشكل (5) سرطانة غازية قنوية NST. نلاحظ اختلاف الدرجة النسيجية من I إلى III (من اليسار إلى اليمين).

السرطانة الغازية الفصيصية Invasive lobular carcinoma

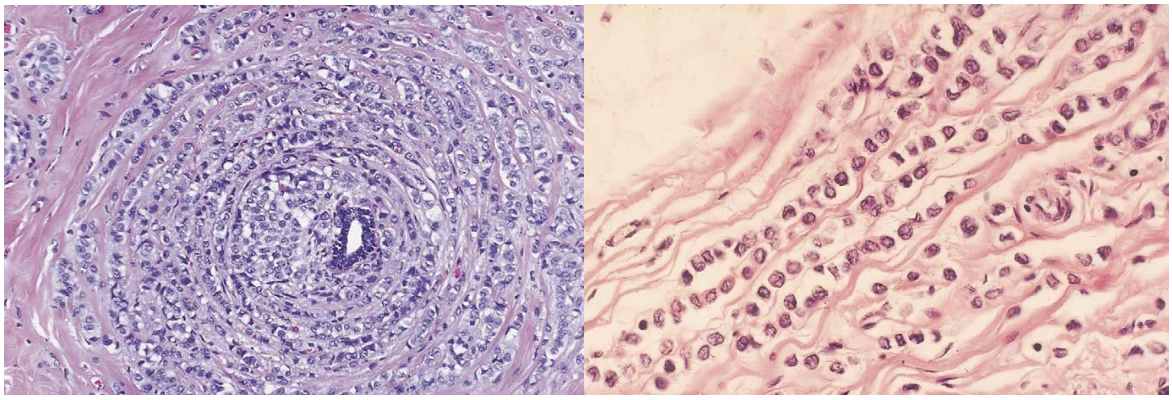
لها نفس عوامل اختطار السرطانة القنوية الغازية و تتظاهر عادة بكتلة ذات حواف غير محددة. يمكن حدوث بؤر متعددة منها أو أن تكون ثنائية الجانب في 20% من الحالات و هي صعبة الكشف بالماموغرام.

مجهريا : في شكلها التقليدي تكون مؤلفة من خلايا صغيرة ذات نواة بيضوية مع سيتوبلاسما قليلة، تنتظم بشكل رتل مفرد يتوضع بشكل هدفي حول الأقنية. بعض الخلايا تبدي مظهر الخاتم ذي الفص و قد تشكل لمعات داخل الخلايا. يكون السدى متليفاً مع مظهر ايوزيني واضح.

تظهر 75% درجة نسيجية II، 15% درجة I (غالبا النمط الأنبوبي الفصيصي tubulo-lobular)، بينما تكون 10% من الدرجة III (النمط pleomorphic خاصة).

لها بعض الأشكال الأخرى: الصلبة، السنخية، الأنبوبية الفصيصية، منسجة الشكل، و متعددة الأشكال.

مناعيا: تكون عادة ايجابية الـ ER/PR و سلبية الـ HER2/neu (ماعدا في النمط متعدد الأشكال pleomorphic). و يميزها أنها سلبية الـ E-Cadherin.



الشكل (6) السرطانة الفصيصية الغازية النمط التقليدي. مظهر حبال الخلايا المفردة (اليمين). مظهر التوضع الهدفي targetoid حول القناة (اليسار).

السرطانة الأنبوبية Tubular Carcinoma

تشكل 5% من كل سرطانات الثدي الغازية و تعتبر ذات إنذار ممتاز (> 90% نسبة البقيا لـ 10 سنوات) بالنسبة للأنماط الصافية.

مجهرياً: تتألف من أنابيب صغيرة مزواة ذات لمعات مفتوحة تصطف بشكل عشوائي ضمن سدى كولاجيني يبدي استجابة تليفية حول القنوات الورمية. تفقد الأنابيب الخلايا العضلية البشروية.

النمط الصافي منها يحتوي 100% أنابيب و لها أشكال مختلطة.

مناعياً: عادةً إيجابية ER/PR وسلبية HER2/neu، مع سلبية واسمات الخلايا العضلية البشروية.

السرطانة الموسينية (الغروانية) Mucinous Carcinoma

تصيب النساء الأكبر عمراً و هي ذات إنذار أفضل من نمط الـ NST (نسبة بقاء 80% لعشر سنوات).

مجهرياً: تتألف من مجموعات خلايا ورمية محاطة ببحيرات من المخاط الذي يشكل أكثر من 50% من حجم الورم دون مشاهدة غدد عادةً. تبدي خلايا الورم تعدداً شكلياً نووياً منخفض الدرجة (درجة I أو II عادةً) وغالباً ما تكون منخفضة الدرجة النسيجية بشكل عام.

يمكن ان تأخذ أنماطاً سنخية، مصفوية، أو حليمية أو ترتشح كصفائح. قد تكون مختلطة بكارسينوما قنوية نمط NST.

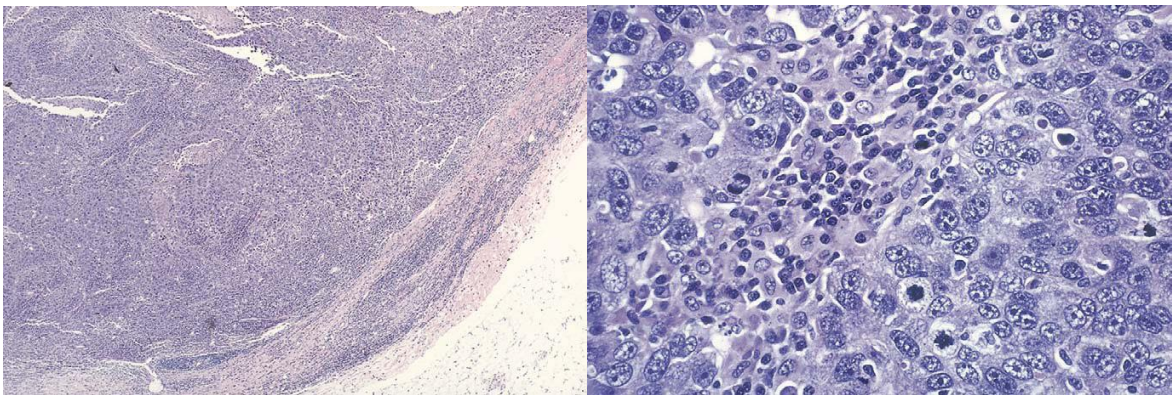
السرطانة اللبية Medullary Carcinoma

قد تصيب النساء الأصغر سناً، تشبه ورماً غدياً ليفياً في التصوير و هي شائعة عند المرضى الذين لديهم طفرة بـ BRCA1 مع إنذار جيد.

تشكل عيانيا كتلة محددة جيداً.

مجهرياً: تتألف من نمط نمو مخلوي يشكل أكثر من 75% من الورم مع عدم وجود حدود واضحة للخلايا أو تشكل أنبوبي، مع حزم كولاجين تقطع الورم. تكون النوى عادة حويصلية ذات درجة 2 أو 3 مع نوية واضحة. لا يوجد غزو للشحم المجاور و تكون محدودة بشدة و محاطة بارتشاح لمفاوي بلاسمي غزير. النخر و الإنقسامات شائعة أيضا.

تكون عادةً سلبية ال ER و ال PR و Her-2/neu (من الأورام ثلاثية السلبية).



الشكل (7) سرطانة الثدي اللبية

السرطانة الحليمية Invasive Papillary Carcinoma

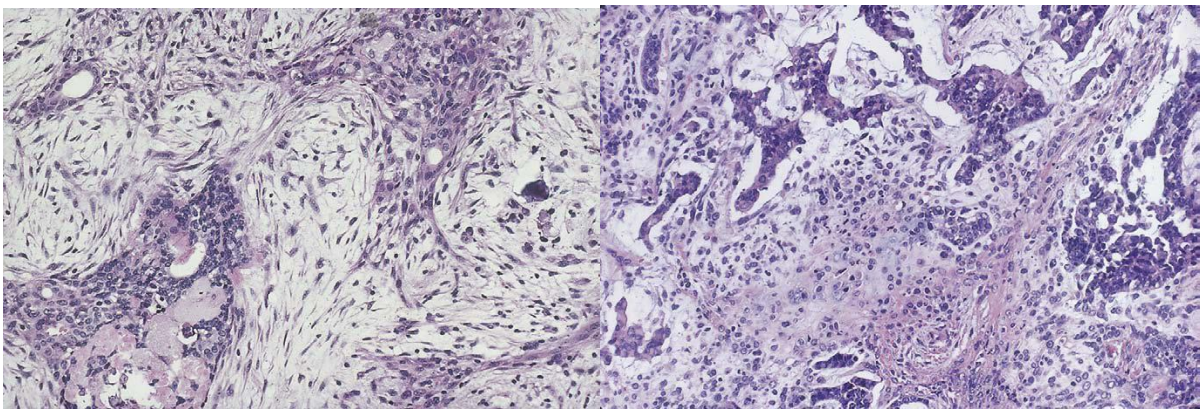
تشكل حوالي 2% من مجموع السرطانات الغازية ويحدث عند النساء بعد الإياس.

عيانياً: تشكل كتلة محددة جيداً. مجهرياً: المميزة الأساسية لها هو وجود محاور ضامة ليفية في خلفية جزر الخلايا الغازية، التي تشكل حليمات صريحة في المحيط مع اختلاط ببعض الأنابيب. تترافق 80% منها بـ DCIS. يلاحظ غزو وعائي لمفاوي في ثلث الحالات و نقائل إلى العقد في 32% منها، كما تم تسجيل حالات غزو للجلد و الحلمة.

مناعياً: تبدي إيجابية لـ ER,PR و سلبية لـ HER2/neu عادة.

السرطانة الحؤولية Metaplastic Carcinoma

تظهر على شكل كتلة مجسوسة عند نساء بالعقد السادس من العمر. ويمكن أن تظهر على شكل سرطانة التهابية. وهي من الأشكال النادرة عموماً.
تعرف حسب منظمة الصحة العالمية "بأنها مجموعة متغايرة من الأورام تتميز عموماً بخليط من سرطانة غدية مع مناطق مسيطرة من تمايزات مغزلية الخلايا، وسفية، و/أو ميزانشيمية".
مجهرياً: تبدي 70% منها تمايزات مغزلية التي يمكن أن تتراوح درجتها من منخفضة إلى عالية الدرجة النسيجية. كما تبدي مظاهراً نسيجية متغايرة أخرى (وسفية، عظمية، غضروفية ...)
تكون هذه المظاهر صافية أو مختلطة مع بعضها أو مع سرطانة قنوية.
مناعياً: من السرطانات ثلاثية السلبية غالباً (ER/PR- HER2/neu). إيجابية السايتوكيراتينات.



الشكل (8) سرطانة حؤولية. سرطانة غازية سيئة التمايز مع تمايز مغزلي (اليسار). مناطق من تمايز ميزانشيمي غضروفي (اليمين).

يورد الجدول 1-4 ملخصاً للأنماط النسيجية الشائعة لسرطانة الثدي مع بعض الأنماط النادرة الأخرى.

النمط النسيجي	التردد	الخصائص المجهرية الرئيسية	ER/PR	HER2
أنماط نسيجية خاصة مع تمايز غدي واضح				
سرطانة أنبوبية Tubular carcinoma	1-8%	أنابيب مزواة، سدى تليفي desmoplastic خلوي	إيجابي	سلبي
سرطانة مصفوية غازية Invasive cribriform carcinoma	1–3%	مسافات مثقبة ± سدى تليفي desmoplastic خلوي	إيجابي	سلبي
سرطانة كيسية غدانية Adenoid cystic carcinoma	نادرة	تجمعات ثنائية المظهر، مواد الصفيحة القاعدية	سلبي	سلبي
سرطانة مفرزة Secretory carcinoma	نادرة جداً	إفرازات واضحة	إيجابي	سلبي
سرطانة مفترزة Apocrine carcinoma	0.5-4%	سيتوبلاسما إيوزينية محببة، نوية واضحة	سلبي	سلبي
أنماط نسيجية خاصة مع نمط نمو متميز				
سرطانة فصيصية غازية	5-15%	خلايا مفردة، اصطفاف رتلي، نمط هدفي	إيجابي	سلبي
سرطانة أنبوبية فصيصية Tubulolobular carcinoma	غير شائعة	خليط من أنماط أنبوبية و فصيصية	إيجابي	سلبي
سرطانة حليمية غازية Invasive papillary carcinoma	2%	حليمات داخل قنوية مع غزو	إيجابي	سلبي
سرطانة غازية صغيرة الحليمات Invasive micropapillary carcinoma	2%	الورم ضمن مسافات فارغة	متغير	متغير
كارسينوما ميوسينية	1-5%	مخاط خارج خلوي	إيجابي	سلبي
سرطانة لبية	1-7%	نمو مخلوي، عالية الدرجة، ارتشاح لمفاوي	سلبي	سلبي
سرطانة عصبية صماوية صلبة Solid neuroendocrine carcinoma	~2-5%	نمط نمو سنخي/أعشاش/تربيقي مع نواة "ملح وفلفل"، ترافق السرطانة الحليمية الصلبة	إيجابي	سلبي
سرطانات حؤولية :				
وسفية، غدية وسفية، مغزلية الخلية، منتجة للمطرس matrix-producing	نادرة	نمط خلوي متميز أو انتاج للمطرس	متغير	عادة سلبي

جدول 1-4. الأنماط النسيجية لسرطان الثدي مع مميزاتها المجهرية والمناعية الرئيسية.

الدرجة النسيجية لسرطان الثدي

تقسم سرطانات الثدي شكلياً بحسب أنماط نموها (النمط النسيجي) ودرجة تمايزها والتي تعكس مدى تشابهها مع نسيج الثدي الطبيعي.

يجب وضع درجة لكل سرطانات الثدي الغازية. يستخدم **نظام نوتنغهام** [41] (أو نظام المعدل لـ Scarff-Bloom-Richardson) لوضع التقرير. يقيم هذا النظام كمية تشكل الأنابيب، مدى التعدد الشكلي النووي، و عدد الإنقسامات.

يعطى كل منها درجة من 1 إلى 3 ثم تجمع لتكون الدرجة من 9.

تشكل الأنابيب [الشكل (9)]:

- 1 = %75 <
- 2 =% 75-10
- 3 = %10>

تعدد أشكال النوى [الشكل (10)]:

- نوى صغيرة و منتظمة= 1
- تغير معتدل بالحجم و الشكل، مع نوية أحيانا = 2
- تغير واضح بالحجم والشكل، مع نوية واضحة = 3

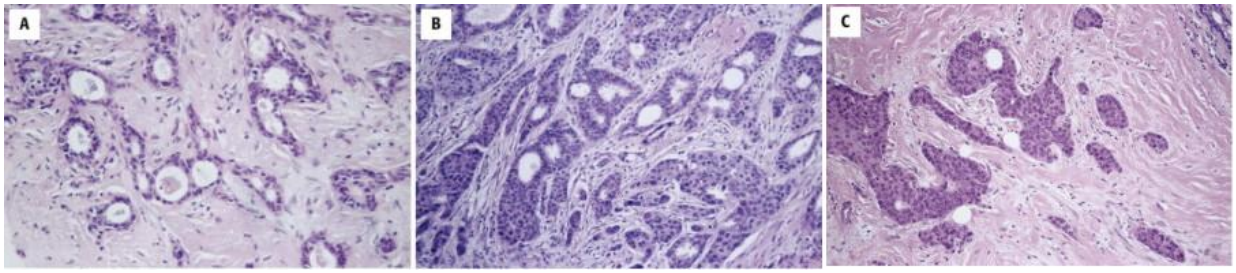
عدد الانقسامات:

تدرس على الأقل عشرة ساحات عالية

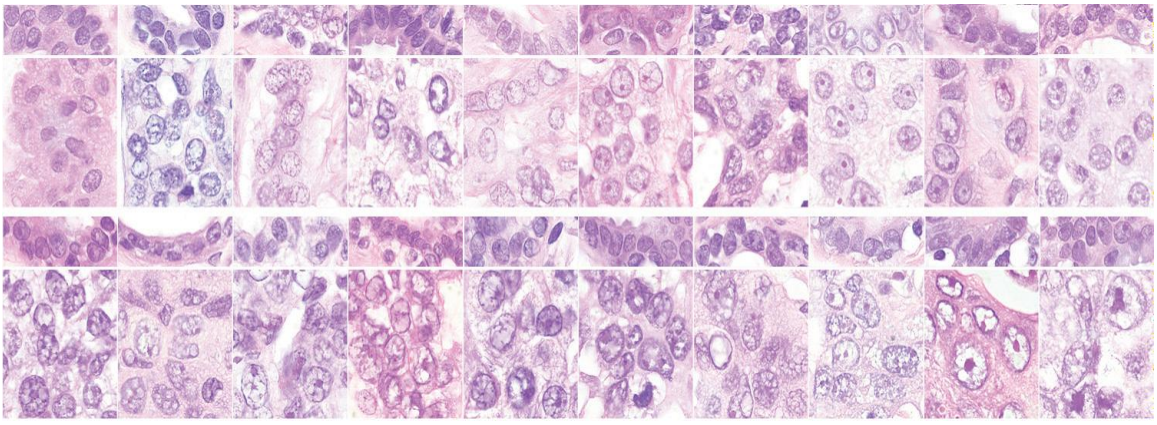
- 0-7/ 10 ساحات عالية التكبير = 1
- 8-15/ 10 ساحات عالية التكبير = 2
- 15</ 10 ساحات عالية التكبير = 3

تضاف النتائج إلى بعضها لتعطي النتيجة **الدرجة النسيجية**

- 3-5 جيدة التمايز، درجة I
- 6-7 متوسطة التمايز، درجة II
- 8-9 سيئة التمايز، درجة III



الشكل (9) التمايز الأنبوبي في سرطان الثدي. ثلاث حالات من سرطانة ثدي تظهر تسلسلاً في التمايز الغدي/الأنبوبي. الصورة (A) تبدي أكثر من 75% من التمايز الأنبوبي وبالتالي تعطى الدرجة 1. (B) درجة 2 حيث وجود بعض التمايز ولكن أقل من 75%. بينما تبدي (C) أقل من 10% من التمايز الأنبوبي وهو مايعطيها درجة 3.



الشكل (10) يبين نوى لعشرين حالة سرطان ثدي متتابعة مع زيادة في الدرجة النووية (من اليسار إلى اليمين ومن الأعلى إلى الأسفل) وفوق كل حالة مقارنة مع نوى نسيج الثدي الطبيعي. تعتبر الحالة الأولى فقط من الدرجة 1 نووياً. تمثل بقية الحلالت في الصف الأعلى درجة 2. بينما يمثل الصف السفلي درجة 3.

تقييم درجة التكاثر عن طريق الكيمياء المناعية النسجية

تم تطوير عدة تحاليل كيمياء مناعية نسجية تستخدم أضداداً لبروتينات مرتبطة بتكاثر الخلية. تعطي هذه الكواشف مقياس ثابت للتكاثر في نقطة من الزمن و ليس معدل التكاثر.
Ki-67 هو ضد وحيد النسيلة لعناصر نووية من خط خلوي مشتق من لمفوما هودجكن[42]. يتفاعل الضد مع مستضد نووي يظهر في الخلايا المتكاثرة خلال الدورة الخلوية لكنه غائب في الخلايا الهامدة[43].

لأن توسيم Ki-67 يحدث خلال كامل الدورة الخلوية، فإن نسبة الخلايا الإيجابية تكون بشكل مستمر أعلى وضعف نسبة الخلايا في S-phase. غير أنه يمكن لإيجابية Ki-67 ألا تعكس بدقة الفعالية الانقسامية تحت بعض الظروف.

تكون القيمة الوسطية للخلايا إيجابية Ki-67 (3% إلى 4%) في آفات الثدي السليمة وبشكل فعلي أقل من القيمة الوسطية (16% إلى 17%) في سرطانات الثدي [44,45]. ترتبط عامل النمو لـ Ki-67 بشكل وثيق بالدرجة في معظم الأورام، بحيث يكون بأعلى مستوى في السرطانات سيئة التمايز و السرطانات القنيوية الغازية مع مواصفات زؤانية [45,46,47,48].

استنتجت إحدى الدراسات أن كشف Ki-67 يمثل أداة قيمة وبديلاً موضوعياً جيداً لحساب الإنقسامات عندما يستخدم في نظام وضع الدرجات " يكون للسرطانات الفصيصية و المخاطية عامل نمو منخفض إلى متوسط، بينما تأخذ السرطانات اللبية أكثر من 50% من الخلايا إيجابية Ki-67. تميل الأورام سلبية مستقبلات الاستروجين و البروجسترون أن يكون لها إيجابية عالية لـ Ki-67 [45,49]. أفادت دراسات عدة عن وجود ارتباط عكسي واضح بين تلوين Ki-67 و الشفاء من المرض و نسبة البقيا بشكل عام [50-54].

المستقبلات الهرمونية Hormone receptors

تستخدم التحاليل الحالية المناعة الكيماوية النسيجية لكشف مستقبلات الهرمون النووية، وهو ما يتوافق مع نتائج أفضل و ينبئ باستجابة جيدة للمعالجة الهرمونية. تستجيب 80% من السرطانات ايجابية ER و PR للعلاج الهرموني، في حين تستجيب 40% منها فقط في إيجابية واحدة منها. إن السرطانات إيجابية الإستروجين أقل احتمالا للاستجابة للمعالجة الكيماوية. بشكل معاكس، يكون للسرطانات سلبية كلا المستقبلين احتمال أقل من 10% للاستجابة للعلاج الهرموني واحتمال أكبر للاستجابة للعلاج الكيماوي.

تمتلك خلايا الثدي البشروية الطبيعية مستقبلات للإستروجين و البروجسترون و تتكاثر تحت تأثيرهما. إن إزالة الهرمونات الداخلية عبر استئصال المبايض أو حصر أثرها دوائياً (عبر استخدام tamoxifen أو مثبطات الأروماتاز) يمكن أن تبطئ أو تمنع نمو الورم وغالباً تزيد من البقيا.

سريرياً: يتم تقييم حالة مستقبلات الاستروجين أساسيا لتحديد إمكانية استفادة المرضى من العلاج الهرموني و هي أيضاً عامل إنذاري ثانوي. يتم تقييم حالة مستقبلات البروجسترون لتحديد عدد قليل من السرطانات (5% في معظم الدراسات) و التي هي إيجابية PR و سلبية ER و لكنها تستجيب للعلاج الهرموني. و يعد البروجسترون عامل إنذارٍ ثانوي.

تقييم الحالة الهرمونية للورم:

أفضل طريقة لتقييم حالة مستقبلات ER,PR هي باستخدام الكيمياء المناعية النسجية على نسيج مثبت بالفورمالين ومدمج بالبارافين

لقد قامت كل من American Society of Clinical Oncology و the College of American Pathologists (ASCO/CAP) بنشر دليل التوصيات لفحص مستقبلات ER,PR في سرطان الثدي بالكيمياء المناعية النسجية [55-56]. وأبرز نقاط هذه التوصيات هي:

- يجب أن يورد المشرح المرضي نسبة الخلايا الفعالة مناعياً
- تعتبر الأورام التي تأخذ تلوين 1% أو أعلى من خلايا السرطانة الغازية إيجابية
- يجب أن يتضمن معدل شدة التلوين (ضعيف، متوسط أو قوي)
- يجب أن يعطي المشرح المرضي تفسيراً فيما إذا كانت العينة إيجابية أو سلبية.
- إن وضع نتيجة مركبة تعتمد على النسبة والشدة (Allred, H, Quick scores) هو اختياري.

- يجب وضع العينات في 10% فورمالين معتدل الدريئة بعد إزالتها من المريض بمدة لا تزيد عن ساعة واحدة (أقل من ذلك بشكل مثالي)
- يجب ألا يقل زمن التثبيت عن 6 ساعات ولا يزيد عن 72 ساعة.
- يمكن استخدام خلايا الثدي الطبيعية كشواهد داخلية إيجابية.
- تركز الاختبارات الحالية وهذه الأدلة فقط على ER alpha. على الرغم من وجود بيانات تقترح أن ارتفاع ER beta في حال الورم إيجابي ER alpha يشير إلى درجة أكبر من الاستجابة للعلاج، إلا أن هذه البيانات لا تزال بدئية.

يوجد طريقتان لقياس الـ ER باستخدام الشدة والنسبة المئوية للخلايا الإيجابية وهما Allred score [57] و H score [58] (جدول (1-5) و جدول (1-6)). يصنف النظامان كلاهما سرطانات الثدي في مجموعات متشابهة و لكن غير متطابقة [59] . عندما تستخدم أضداد عالية الألفة وأنظمة كشف عالية الحساسية، تتوضع معظم السرطانات إما في فئات واضحة الإيجابية (7 أو 8) أو واضحة السلبية (0) [61,60].

جدول (1-5). Allred Score لتقييم مستقبلات الإستروجين و البروجسترون

يدمج Allred Score نسبة الخلايا الإيجابية وشدة التفاعل. تضاف الدرجتان معاً لوضع الدرجة النهائية مع 8 احتمالات للقيم.

PS	**Positive Cells,%**	IS	**Intensity of Positivity**
0	0	0	None
1	<1	1	Weak
2	1-10	2	Intermediate
3	11-33	3	Strong
4	34-66		
5	>67		

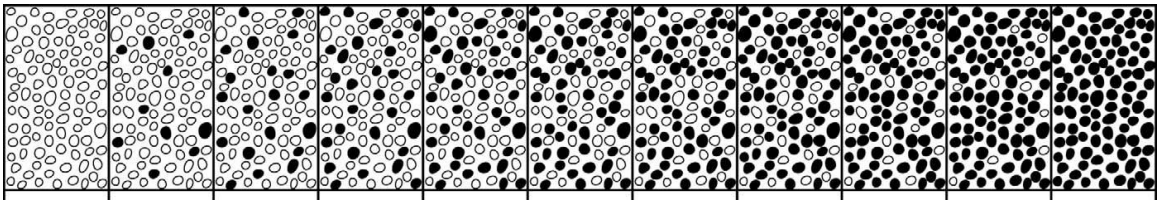
تجمع الدرجتين لإعطاء النتيجة النهائية

Total Score: PS + IS	Interpretation
0,1,2	Negative
3,4,5,6,7,8	Positive

جدول (1-6) H score لتقييم مستقبلات الإستروجين والبروجسترون	
تقرر نتيجة H score بمضاعفة النسبة المئوية التي تبدي شدة تلوين (تعطى علامة من 0 إلى 3) وجمع النتائج. يوجد 300 نتيجة محتملة. في هذا النظام، <1% تعتبر نتيجة سلبية.	
طريقة حساب H score	
Percentage Of Cells	Value Multiplied
Cells with no signal	% x 0 = 0
Cells with weak signal	% x 1 =
Cells with moderate signal	% x 2 =
Cells with strong signal	% x 3 =
Total score =	

يمكن تقدير نسبة الخلايا الإيجابية على المجهر كما هو موضح بالشكل (11)

تشير شدة الإيجابية إلى الإيجابية النووية. تتأثر شدة الإيجابية بكمية البروتين الموجود، بالإضافة لكمية الضد والمستضد في نظام الكشف المناعي



شكل (11). تقدير النسبة المئوية للخلايا الإيجابية للتلوين المناعي لمستقبلات ER

حالة Her2/Neu

(c-*erb*B-2) *HER2/neu* هو جين ورمي يرمز الغليكوبروتينات عبر الغشاء مع فعالية تيروزين كيناز تعرف ب p185، و التي تنتمي إلى عائلة مستقبلات عامل نمو البشرة. يمكن قياس فرط تعبيره بواسطة الكيمياء المناعية النسجية أو تقنية ال FISH (أو مماثله المولد للون) و يوجد توافق جيد بين الطريقتين.

انطلق جدل حاد خلال السنوات الماضية بالنسبة لمميزات الطريقتين، زاده توافر trastuzumab (Herceptin) كعامل علاجي. استنتج معظم العاملين في هذا المجال بأن افضل مقاربة من حيث فعالية التكلفة هو البدء بإجراءالكيمياء المناعية النسجية، و التي يمكن وضع درجة لها حسب الجدول 3. يمكن التوقف عند هذا الإجراء بأمان في حال كانت النتيجة 3 أو 0، حيث تكون التوافقية بين فرط التعبير الجيني أو عدمه -على التوالي- مقاسة بواسطة ال FISH تقريبا 100%. ينصح باستخدام ال FISH عندما تكون نتيجة الفحص المناعي 1+ أو 2+، وتكون النتيجة المحصلة منه هي المعيار.

جدول (1-7) تصنيف درجة التلوين المناعي النسجي لتعبير HER2/neu

نمط التلوين	الدرجة	تقييم تعبير بروتين HER2/*NEU*
عدم وجود تلون أو ملاحظة تلون غشائي في أقل من 10% من الخلايا الورمية	0	سلبي
تلون غشائي ضعيف في أكثر من 10% من الخلايا الورمية. التلون في جزء من الغشاء	1+	سلبي
ملاحظة تلون غشائي كامل ضعيف إلى متوسط في أكثر من 10% من الخلايا الورمية	2+	إيجابي ضعيف
ملاحظة تلون كامل قوي في أكثر من 30% (سابقا 10%) من الخلايا الورمية	3+	إيجابي بشدة

فيما يخص علاقته بأنماط الورم، يلاحظ وجود فرط تعبير ال HER2/neu تقريبا في كل حالات السرطانة اللابدة العالية الدرجة (النمط الزؤاني)، في 20-30% من حالات السرطانة القنوية الغازية، وفي نسبة صغيرة من حالات السرطانة الفصيصية الغازية[62-65]. بشكل معاكس، يلاحظ غيابه في السرطانة الأنبوبية و سرطانات الدرجة الأولى الأخرى[66,67].

يرتبط تضخيم HER2/neu عكسا مع تعبير الإستروجين و البروجسترون[66].

إن مصداقية التلوين المناعي النسجي لـ HER2/neu هو مدعوم بحقيقة وجود تغاير بسيط داخل الورم[68]، خصوصا في الأورام ذات التضخيم عالي الدرجة[69].

قامت ASCO/CAP مؤخراً بنشر دليل التوصيات الخاص بفحوص HER2/neu في سرطان الثدي[70].

وفقاً لهذا المنشور المسترك، تعتبر نتيجة HER2/neu إيجابية:

- تلوين درجة +3 بالكيمياء المناعية النسجية (تلوين غشائي منتظم > 30% من خلايا الورم الغازية)، أو
- نتيجة FISH أكثر من ست نسخ من جينة HER2/neu، أو
- نسبة FISH (إشارة HER2/neu إلى كرموزوم 17) > 2.2.

و نتيجة HER2/neu سلبية:

- تلوين درجة +1 أو 0 بالكيمياء المناعية النسجية ، أو
- نتيجة FISH أقل من 4 نسخ من جينة HER2/neu بالنواة، أو
- نسبة FISH < 1.8.

التصنيف الجزيئي لسرطان الثدي

مقدمة

ميزت دراسات سرطانات الثدي التي تستخدم تنميط التعبير المورثي عدة أصناف لسرطان الثدي إلى حد أبعد من الأنماط إيجابية أو سلبية المستقبلات الهرمونية. أكثر الأنماط الجزيئية المميزة بين السرطانات إيجابية المستقبلات الهرمونية هي المجموعات Luminal A و Luminal B.

بينما تعتبر مجموعات HER2 و basal-like من الأنماط الجزيئية المميزة ضمن سرطانات الثدي سلبية المستقبلات الهرمونية. تختلف هذه الأنماط الجزيئية لسرطان الثدي فيما بينها بما يتعلق بنماذج التعبير الجيني، الخواص السريرية، الاستجابة للمعالجة، و الإنذار.

الأنماط الجزيئية Molecular subtypes

قدمت التقنيات الحديثة التي تعتمد فحص الـ DNA، RNA و بروتينات السرطانات هيكلاً لتصنيفات جزيئية جديدة والتي درست أساساً على نمط السرطانات القنيوية الغازية NST [71] (شكل 12). حدد تنميط التعبير الجيني، الذي يعتمد قياس الكميات النسبية لـ mRNA لكل جينة، خمسة نماذج كبرى من أنماط التعبير الجيني ضمن مجموعة من سرطانات ذات نمط NST[71]: luminal A، Luminal B، normal، basal-like، و HER2.

تتوافق هذه الأصناف الجزيئية مع الإنذار و الاستجابة للعلاج، ولذلك هي ذات أهمية سريرية.

- ***"Luminal A":*** (40% إلى 55% من سرطانات NST): وهي أكبر مجموعة وتتألف من سرطانات إيجابية ER و سلبية HER2/neu. إن التأشير الجيني محكوم بعشرات الجينات تحت تأثير الـ ER. تظهر السرطانات إيجابية الـ ER أيضاً انتساخاً متزايداً للجينات التي يعتقد أنها مميزة للخلايا اللمعية الطبيعية. معظمها جيدة أو متوسطة التمايز، وتحصل غالبا عند النساء بعد الإياس.

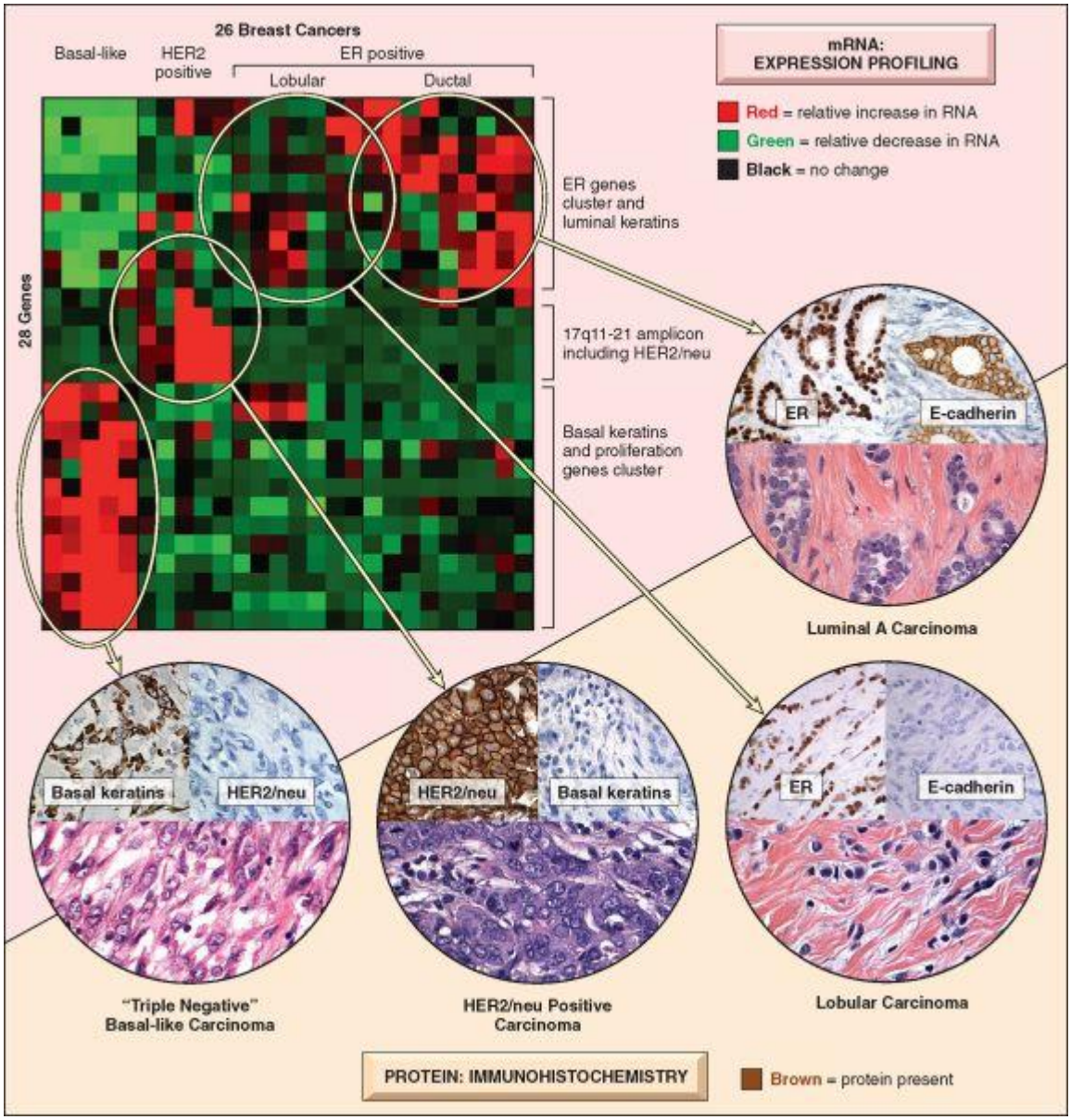
تكون هذه السرطانات عموماً بطيئة النمو وتستجيب جيداً للعلاج الهرموني. بشكل معاكس، يستجيب عدد ضئيل منها للعلاج الكيميائي التقليدي. تتوافر حالياً اختبارات تجارية التي تستخدم أنسجة مثبتة بالفورمالين وقد تم تطويرها لتحديد هذه الأنماط الجزيئية [72]. بالإضافة إلى ذلك، تسعى التجارب السريرية لتحديد أنماط أو تركيبات علاجات كيميائية أخرى التي يمكن أن تكون فعالة في السرطانات إيجابية الـ ER.

- "***Luminal B***" (15% إلى 20% من سرطانات NST): تعطي هذه السرطانات تعبيراً لـ ER أيضاً ولكنها عموماً أعلى درجةً، ذات معدل تكاثري أعلى، وغالبا ماتعطي فرط تعبير لـ HER2/neu. يشار إليها أحياناً على أنها سرطانات "ثلاثية الإيجابية". تؤلف المجموعة الكبرى من سرطانات إيجابية الـ ER التي لها احتمالية أكبر لنقائل العقد اللمفاوية والتي يمكن أن تستجيب للعلاج الكيميائي.

- ***"HER2 positive"*** (7% إلى 12% من سرطانات NST): تمثل هذه المجموعة السرطانات سلبية الـ ER التي لديها فرط تعبير بروتين HER2/neu . يكون فرط التعبير في أكثر من 90% من السرطانات إيجابية الـ HER2/neu بسبب تضخيم قطعة في الـ DNA على 17q21 والتي تتضمن جينة HER2/neu وعدد متغير من الجينات المجاورة. يسيطر هذا الجزء المضخم على التأشير الجيني لهذه المجموعة (شكل 12). تحاليل HER2/neu -التي تتضمن قياس عدد النسخ الجينية عبر FISH، مستوى mRNA بالمصفوفات الجينية، والبروتين عبر الكيمياء المناعية النسجية- تكون غير طبيعية في معظم هذه السرطانات. في حالات نادرة، يمكن أن يحدث فرط التعبير البروتيني كنتيجة لآليات غير التضخيم الجيني [73]. هذه السرطانات عادة سيئة التمايز، لها معدل انقسامي عالي، وتترافق بتردد عالي للنقائل الدماغية.

- ***"Basal-like"***: هذه السرطانة مميزة بغياب PR،ER و HER2/neu ووجود تعبير واسمات نمطية للخلايا العضلية البشروية (مثال، كيراتينات قاعدية، P-cadherin، p63، أو laminin)، الخلايا السليفة، أو الخلايا الجذعية المفترضة (cytokeratin 5/6). سرطانات Basal-like هي سرطانات ثلاثية السلبية (ER-PR-HER2/neu). تتضمن هذه المجموعة السرطانات اللبية، السرطانات الحؤولية، و السرطانات ذات المراكز المصلبة. تعتبر السرطانات basal-like موضع اهتمام بسبب خواصها الجينية والوبائية الفريدة. إن العديد من السرطانات التي تظهر في نساء لديهن طفرات في BRCA1 هي من هذا النمط. يوجد أيضاً زيادة في نسبة حدوثها في بعض المجموعات الإثنية وعند الشابات.تكون هذه السرطانات عالية الدرجة ولها معدل انقسامي عالي. تترافق بسلوك عدواني، نقائل متكررة إلى الأحشاء والدماغ، وهي ذات إنذار سيء. غير أن حوالي 15% إلى 20% لديها استجابة باثولوجية كاملة للعلاج الكيماوي، لذلك يمكن تحقيق الشفاء في هذه المجموعة.

- "***Normal breast-like***" (6% إلى 10% من سرطانات NST): وهي مجموعة صغيرة من سرطانات جيدة التمايز إيجابية الـ ER، سلبية HER2/neu ويميزها تشابه نمط تعبيرها الجيني مع النسج الطبيعي. من غير الواضح فيما إذا كانت تشكل نمطاً محدداً أو لا.



شكل (12). تقسيمات التعبير الجيني لسرطانات الثدي

مما سبق، أنماط سرطان الثدي الجزيئية التي ميزتها الدراسات من واسمها الجيني هي: Luminal (A و B و نمط C المشكوك فيه) ، HER2/neu، شبيهة القاعدية basal-like و نمط شبيهة الثدي الطبيعي normal breast-like. يرجح أن يكون النمط الأخير هو عبارة خطأ صنعي أكثر من كونه نمطاً أصلياً لسرطان الثدي، ناتجا عن نقص أو ندرة الورم في العينة المستخدمة في تحليل الشرائح المتعددة microarray.

يمكن تلخيص الخصائص الرئيسية لكل نمط جزيئي بالجدول (1-8) [73-77]. يعتبر نمط basal-like من بين تلك الأنماط هو الأسوأ إنذاراً [76]. من المرجح أن تتم مقاربة كل نمط من سرطانات الثدي بالعلاج بشكل مختلف طالما أن لكل منها خصائصه المتميزة.

النمط الجزيئي				
	Luminal A	Luminal B	HER2/*neu*	Basal-like
نمط التعبير الجيني	التعبير عن السايتوكيراتينات اللمعية (منخفضة الوزن الجزيئي)، و تعبير عالي لمستقبلات الهرمونات و الجينات المرافقة	التعبير عن السايتوكيراتينات اللمعية (منخفضة الوزن الجزيئي)، و تعبير متوسط إلى ضعيف لمستقبلات الهرمونات و الجينات المرافقة	تعبير عالي لـ HER2 و الجينات الأخرى في 17q12 تعبير منخفض لـ ER و الجينات المرافقة	تعبير عالي للجينات البشروية القاعدية، السايتوكيراتينات القاعدية. تعبير منخفض لـ ER و الجينات المرافقة. تعبير منخفض لـ HER2/neu
الخواص السريرية و البيولوجية	50% من سرطانات الثدي الغازية إيجابية ER/PR . سلبية HER2/neu	20% من سرطانات الثدي الغازية إيجابية ER/PR تعبير HER2/neu متغاير (إيجابي أو سلبي) معدل تكاثر و درجة نسيجية أعلى من Luminal A	~15% من سرطانات الثدي الغازية إيجابية ER/PR إيجابية HER2/neu (بالتعريف) طفرة TP53 شائعة احتمال أكبر أن تكون عالية الدرجة و إيجابية العقد.	~15% من سرطانات الثدي الغازية "ثلاثية السلبية" في معظمها: ER/PR و HER2/neu سلبية. معدل تكاثر عالي طفرة TP53 شائعة خلل في وظيفة BRCA1
التوافق النسيجي	السرطانة الأنبوبية السرطانة المصفوية السرطانة القنوية الغازية غير المحددة منخفضة الدرجة السرطانة الفصيصية الاعتيادية	السرطانة القنوية الغازية غير المحددة السرطانة الحليمية (صغيرة الحليمات)	السرطانة القنوية الغازية غير المحددة عالية الدرجة	السرطانة القنوية الغازية غير المحددة عالية الدرجة السرطانة الحؤولية السرطانة اللبية

النمط الجزيئي				
	Luminal A	Luminal B	HER2/*neu*	Basal-like
الاستجابة للعلاج و الحصيلة النهائية للمرض	تستجيب للعلاج الهرموني	تستجيب للعلاج الهرموني (التاموكسيفين و مثبطات الأروماتاز) ولكن ليس بمقدار Luminal A	تستجيب لـ trastuzumab (Herceptin)	لا تستجيب للعلاج الهرموني و لا لـ trastuzumab (Herceptin)
	الاستجابة للعلاج الكيماوي متغيرة	الاستجابة للعلاج الكيماوي متغيرة (استجابة أكثر من Luminal A)	تستجيب للعلاج الكيماوي المعتمد على anthracycline	تبدو حساسة للعلاج الكيمياوي المعتمد على البلاتينيوم و مثبطات الـ PRAP
	جيدة الإنذار	الإنذار ليس جيدا بمقدار Luminal A	إنذار سيئ بشكل عام	إنذار سيئ بشكل عام (ليس سيئاً بكل حالاته)

في الممارسة السريرية

تستخدم ثلاثة واسمات روتينياً لتقييم سرطانات الثدي في الممارسة السريرية، و هي ER، PR، و HER2 و ذلك لوضع تقييم تقريبي للفئة الجزيئية لسرطان الثدي كما هو محدد في تنميطها الجيني [78]. باستخدام هذه المقاربة. تعتبر الأورام إيجابية ER و/أو PR و سلبية HER2/neu من نمط Luminal A، و تلك إيجابية ER و/أو PR و إيجابية HER2/neu من نمط Luminal B، و تلك سلبية ER و/أو PR و إيجابية HER2/neu من نمط HER2، و تلك سلبية ER و/أو PR و سلبية HER2/neu من نمط basal-like.

تشير الدراسات الحديثة إلى أن واسمات أخرى بالإضافة إلى ER، PR و HER2/neu مطلوبة من أجل دقة أكبر في تقييم تقريبي للنمط الجزيئي، خاصة مجموعة basal-like (70-80% منها فقط ثلاثية السلبية) و مجموعة Luminal B (30% منها فقط هي إيجابية HER2) .
يمكن تحديد مجموعة basal-like بدقة أكبر باستخدام أضداد CK 5/6 و مستقبل العامل المنمي للبشرة EGFR بالإضافة للتلوينات الثلاثية السابقة

باستخدام هذه الطريقة بالتلوين المناعي النسيجي يمكن تحديد السرطانات المجمعة في مجموعة basal-like بتنميط التعبير الجيني بحساسية 100% و نوعية 76% [79,80].

بالإضافة إلى ذلك، يساعد تقييم معدل التكاثر الممكن تحديده باستخدام تعبير Ki-67 في تحديد السرطانات الواقعة في مجموعة Luminal B بدقة أكبر من استخدام التلوينات الثلاثية لوحدها.
و بذلك –في الوقت الحالي- يكون استخدام مجموع ستة واسمات حيوية هو التركيبة الأنجع في تقييم تقريبي للنمط الجزيئي لسرطانات الثدي المحددة عبر تنميط التعبير الجيني.

النمط الجزيئي				
النمط المناعي	**Luminal A**	**Luminal B**	**HER2/*neu***	**Basal-like**
ER, PR	ER and/or PR+	ER and/or PR+	ER–, PR–	ER–, PR–
HER2 and others	HER2– Low Ki-67 (<14%)	HER2+ or HER2– Ki-67 =14%	HER2+	HER2– CK5/6 and/or EGFR+

الاختبارات الجزيئية الإنذارية

وجدت دراسة تحليلية للتعبير الجيني لحوالي 3000 حالة سرطان ثدي أن واسمات ER، Her2، وواسمات التكاثر يمكن أن تستخدم في تجميع الأورام في أصناف مشابهة لما سبق وصفه (Luminal A ,Luminal B,HER2, Basal-like). بالإضافة، وجد أن جينات التضاعف الخلوي هي القوة المحفزة الأكبر وراء كل الواسمات الإنذارية. أخيراً، أظهرت هذه الدراسة التحليلية أن المؤشرات السريرية لامتداد الورم (مثل حجم الورم وحالة العقد اللمفاوية) تضيف معلومات انذارية مستقلة عن المعلومات المأخوذة من الواسمات الجينية [81].

يستحق اختباران جزيئيان متاحان بشكل تجاري حالياً تعليقاً خاصاً.

OncotypeDX هو تحليل معتمد على تفاعل سلسلة البوليميراز بالانتساخ الراجع يمكن أن يطبق على النسيج المثبت بالفورمالين في بلوكات الشمع. يعتمد على تحليل تعبير 21 جينة ويزودنا بـ(درجة النكس) التي تتوافق مع الحصيلة النهائية للورم، بالإضافة إلى احتمالية الاستجابة للعلاج الهرموني واحتمالية الاستجابة للعلاج الكيماوي [82-85].

يستخدم Mammaprint تحليل تعبير مصفوفة مؤلفة من 70 جينة لتحديد المرضى ذوي الإنذار الجيد أو السيء [86-88]. يتطلب هذا التحليل نسيج ورم محضر بطريقة الخزعة المجمدة Frozen section. ينبغي ملاحظة أنه رغم أن هذين الاختبارين يتم تطبيقهما حالياً في تدبير المرضى، إلا أن قيمتهما النهائية سوف يتم تحديدها بنتائج الدراسات السريرية الاستباقية التي يتم إجراؤها حالياً [88] .

القسم الثاني

الدراسة العملية

ملخص الدراسة

الهدف من الدراسة: دراسة دور المشعرات الهرمونية (ER,PR) ، Her2/Neu ، المشعر الإنقسامي (Ki-67)، و التمايز القاعدي (CK 5/6 , EGFR) في وضع تصنيف لسرطانات الثدي متوافق مع التصنيف الجزيئي.

المرضى والطرائق: أجريت الدراسة بالطريق الاستعادي Retrospective study، حيث شملت مراجعة الملفات السابقة و تقارير التشريح المرضي لـ 77 مريضة لديهن سرطانة ثدي غازية، وذلك في شعبة التشريح المرضي في مستشفى الأسد الجامعي بين عامي 2011 و 2012. تم الحصول على بلوكات الشمع الخاصة بالمرضى و إجراء التلوينات المناعية كاملة لكل حالة وتم وضع النتائج.

النتائج: شملت الدراسة 77 حالة، تراوحت الأعمار بين 31 -75 سنة بعمر وسطي 52.8 سنة.
توزعت أنماط سرطان الثدي الجزيئية بين Luminal A بنسبة 45% ، Luminal B بنسبة 27%، HER2 بنسبة 14%، و Basal-like بنسبة 14%. وكانت النتائج بالنسبة للسرطانة القنوية الغازية (النمط النسيجي الأشيع والذي شكل 73 % من الحالات) Luminal A بنسبة 30% ، Luminal B بنسبة 33% (الأكثر شيوعاً)، HER2 بنسبة 20%، و Basal-like بنسبة 17%.

الخلاصة: يجمع التصنيف الجزيئي العوامل الانذارية المختلفة من مشعرات هرمونية ومناعية ومشعرات انقسامية وتمايز قاعدي، وإن تحديد هذا في حالات سرطانة الثدي يضيف عاملاً إنذارياً مهماً، ويوجه باتجاه انتقاء العلاج الهدفي الأكثر فعالية.

هدف الدراسة

دراسة دور المشعرات الهرمونية (ER,PR) ، Her2-Neu ، المشعر الإنقسامي (Ki-67)، و التمايز القاعدي (CK 5/6 , EGFR) في وضع تصنيف لسرطانات الثدي متوافق مع التصنيف الجزيئي.

أهمية الدراسة

وضع التشخيص و النمط النوعي لبعض أنواع سرطانات الثدي باستعمال التلوينات المناعية و الهرمونية المختلفة، مما يسمح بوضع تصنيف لسرطانات الثدي متوافق مع التصنيف الجزيئي الذي أبدت الدراسات أهميته في وضع إنذار أكثر دقة و انتقاء المعالجة النوعية الأكثر جدوى و مقارنة هذا التصنيف مع الأنماط النسيجية المعروفة و العلامات الإنذارية و السريرية.

طريقة الدراسة

قمنا بدراسة استعادية (retrospective) لحالات المريضات المشخص لديهن سرطانة ثدي غازية ، وذلك في مستشفى الأسد الجامعي في مدينة دمشق، وذلك بين عامي 2011-2012.

تم الحصول على 77 حالة مشخصة سرطانة ثدي غازية للدراسة بعد استبعاد عدة حالات لعدم توفر البلوكات الشمعية الخاصة بها، أو بسبب صغر حجم العينة وعدم كفايتها لإجراء تلوينات مناعية، وبعد استبعاد الحالات التي أبدت شاهداً سلبياً أو خللاً في التلوين لأسباب متعلقة بطريقة حفظ العينة كما هو مبين في مراحل إجراء الدراسة

شملت مراحل الدراسة ما يلي:

1. الرجوع إلى أرشيف قسم التشريح المرضي بين عامي 2011-2012 في مستشفى الأسد الجامعي، وذلك لدراسة التقارير النهائية، والمقاطع النسيجية الملونة بتلوين الهيماتوكسلين إيوزين والمجرى لها بعض التلوينات المناعية غير المعتمدة في دراستنا مثل E-cadherin (وعددها 15 حالة)، والحصول على البلوكات الشمعية الخاصة بها لاستكمال الدراسة.
2. مراجعة المقاطع الملونة بـ H&E و انتقاء المقاطع التي احتوت على شاهد داخلي من نسيج الثدي الطبيعي، أو وضع مقطع شاهد بجانب مقطع الورم.

3. تطبيق التلوينات المناعية على جميع الحالات، وقد أجريت هذه المرحلة في قسم التشريح المرضي، كلية الطب البشري.

4. تم استبعاد الحالات التي ضمت شاهداً سلبياً في تلوين ER.

5. دراسة الحالات الملونة بالهياتوكسيلين إيوزين ووضع النمط النسيجي والدرجة النسيجية لها.

6. دراسة محضرات التلوينات المناعية وتقييمها وتصوير المناسب منها.

7. تمت أرشفة كل الحالات والنتائج الكترونياً باستخدام برنامج Microsoft Access 2010، حيث ساعدنا البرنامج في وضع الجداول والمخططات وتحليل نتائج الدراسة

طريقة إجراء التلوينات المناعية

على الرغم من تواجد طرائق عديدة لتطبيق الدراسة المناعية إلا أنه قد تم اللجوء إلى الطريقة المعتمدة في مخبر التشريح المرضي في كلية الطب البشري – جامعة دمشق وهي الطريقة الأولى التي طبقت في المشافي الجامعية والمعتمدة على تعليمات الشركة المنتجة للأضداد:

- جميع العينات مثبتة بالفورمول، ومدمجة بالشمع.
- تم إجراء مقاطع بسماكة 4-7 ميكرون ومدها على بللورات مطلية بالجيلاتين.
- حُضنت البللورات بدرجة حرارة 60 لمدة 24 ساعة، ثم تم نزع الشمع بغسلها بالكزيلول، وإعادة إماهتها، ووضعها في كحولات متدرجة (95%-100%).
- تم وضعها في محلول Target Retrieval الممدد بنسبة 10% في الماء المقطر، وغليها في المايكرويف لمدة 10 دقائق مع تفقدها كل 5 دقائق، وتعويض المحلول المتبخر بالماء المقطر.
- تُركت المحضرات لتبرد في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق، ثم وُضعت في محلول Wash buffer الممدد بنسبة 10% في الماء المقطر لمدة 10 دقائق.
- تم استخدام طريقة Avidin-Biotin-Peroxidase Complex كما يلي:

1. إضافة الضد الممدد بدرجة مناسبة، وحضنها بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق ثم غسلها بمحلول Wash buffer.

2. إضافة Link و Streptavidin (بحسب الـ Kit المستعمل)، وحضنها بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق ثم غسلها بمحلول Wash buffer.
3. إضافة الكروموجين الممدد، وحضنها لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة، ثم غسلها بالماء مباشرةً.
4. تلوّن بعدها بالهيماتوكسيلين، وتغسل بالماء الجاري، ثم يُسحب الماء منها بواسطة الكحولات المتدرجة، وتوضع في الكزيلول، ثم تُستّر.

يحضر محلول الكروموجين بإضافة 10 ميكرون من الكروموجين المركز إلى 5 مل من محلول DAB، ومن ثم تمزج جيداً.

الواسمات المناعية النسيجية الكيميائية المستخدمة

الواسم المناعي	باهاء محلول Target Retrieval	الـ KIT المستعمل
ER	9	LSAB
PR	9	LSAB
HER2/neu	9	LSAB
EGFR	9	LSAB
Ck 5/6	9	LSAB
Ki-67	9	LSAB

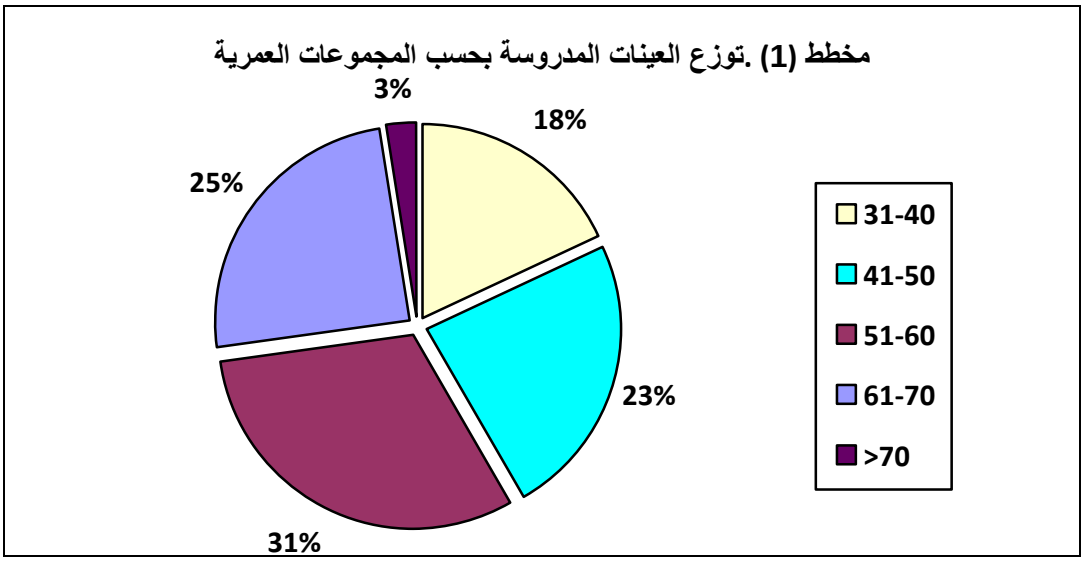
نتائج الدراسة

توزع الحالات حسب المجموعات العمرية

امتدت أعمار المرضى في الحالات المدروسة بين 31 سنة و 75 سنة، حيث كان العمر الوسطي **52.3** سنة .يبين الجدول (2-1) والمخطط (1) توزع الحالات المدروسة بحسب المجموعات العمرية :

المجموعة العمرية	العدد	النسبة
40-31	14	%18
50-41	18	%23
60-51	24	%31
70-61	19	%25
70<	2	%3
المجموع	77	%100

جدول (2-1) توزع الحالات المدروسة بحسب المجموعات العمرية



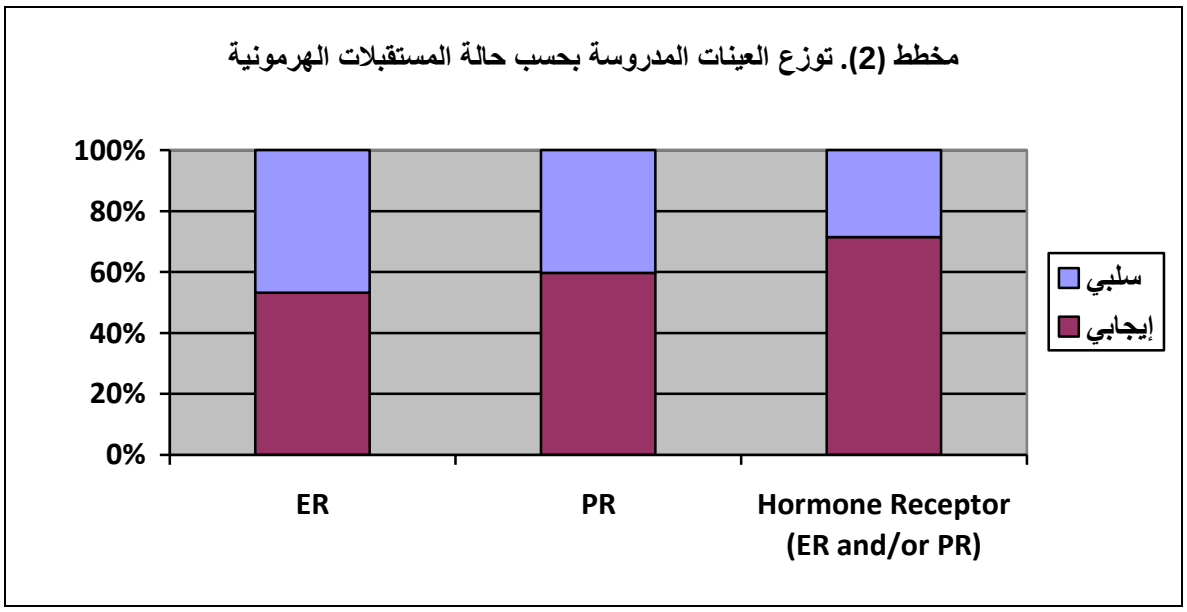
نلاحظ من الجدول (2-1) والمخطط (1) أن ما يزيد عن نصف الحالات كانت في أعمار أكبر من 50 سنة، حيث كانت المجموعات العمرية الأكبر هي بين 51-60 وبين 61-70 سنة وشكلت 31%، 25% من الحالات على التوالي، مع ملاحظة أن المجموعات التي ضمت أعماراً تقل عن 50 سنة تجاوزت نسبتها 40% من الحالات.

توزع الحالات المدروسة بحسب حالة المستقبلات الهرمونية

تمت دراسة الحالات بإجراء التلوينات الهرمونية بكل من ER و PR، واعتمدنا على نظام Allred (انظر صفحة 27 جدول (1-5)) لتقييم درجة إيجابية المستقبلات وتقرير الحالة الهرمونية للعينات المدروسة، وكما ذكرنا سابقاً فقد استبعدت الحالات التي ترافقت بشاهدٍ سلبي.

	ER	PR	المستقبل الهرموني (ER and/or PR)	النسبة المئوية
إيجابي	45	46	55	71%
سلبي	32	31	22	29%
المجموع	77	77	77	100%

جدول (2-2). يبين توزع الحالات المدروسة بحسب حالة المستقبلات الهرمونية



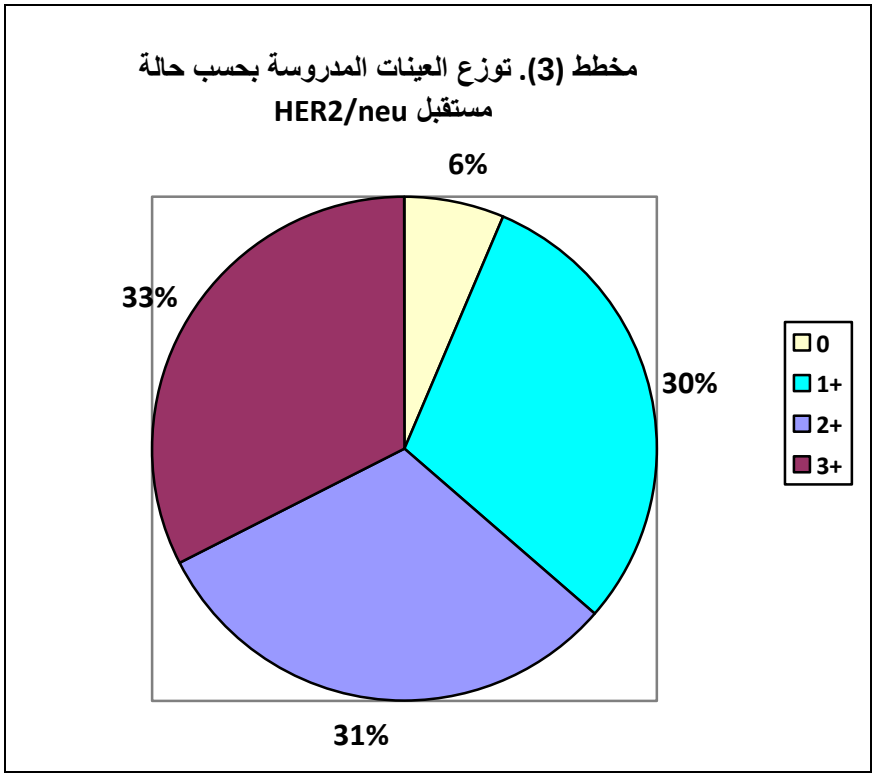
نلاحظ أن 71% من العينات كانت إيجابية المستقبلات الهرمونية، 58% من العينات إيجابية ER، 60% من العينات إيجابية PR، بينما كانت 18% من العينات إيجابية المستقبل الهرموني (ER and/or PR) هي إيجابية فقط للـ PR.

توزع العينات بحسب حالة مستقبل HER2/neu بالتلوينات المناعية

تمت دراسة حالة مستقبل HER2/neu باستخدام التلوينات المناعية، وتقدير درجة الإيجابية بحسب الجدول (1-7) في الصفحة (29). كما قمنا بإجراء مقارنة داخلية للتلوين المناعي بين الخلايا الورم والنسيج الطبيعي الشاهد حيث قمنا بتعديل درجة إيجابية الورم بطرح درجة إيجابية النسيج الطبيعي إن وجدت [89].

حالة HER2/neu	0	1+	2+	3+	المجموع
العدد	5	24	23	25	77
النسبة المئوية	%6	30%	31%	33%	%100

جدول (2-3). توزع العينات المدروسة بحسب درجة إيجابية مستقبل HER2/neu



أبدت نسبة 33 % من العينات إيجابية قوية (درجة +3) وهو ما اعتبر في الدراسة إيجابية لمستقبل HER2/neu، بينما أبدت نسبة 30 % درجة (+1) و 6 % سلبية تماماً (درجة 0)، وهو ما اعتبر بمجموعه (36 %) سلبية لمستقبل HER2/neu.

بالنسبة للحالات التي أبدت إيجابية ضعيفة (درجة +2 وتشكل 30% من الحالات)، فقد تم اللجوء إلى قيمة المشعر الانقسامي Ki-67 لتحديد تصنيفها الجزيئي.

توزع الحالات بحسب المشعر الانقسامي Ki-67:

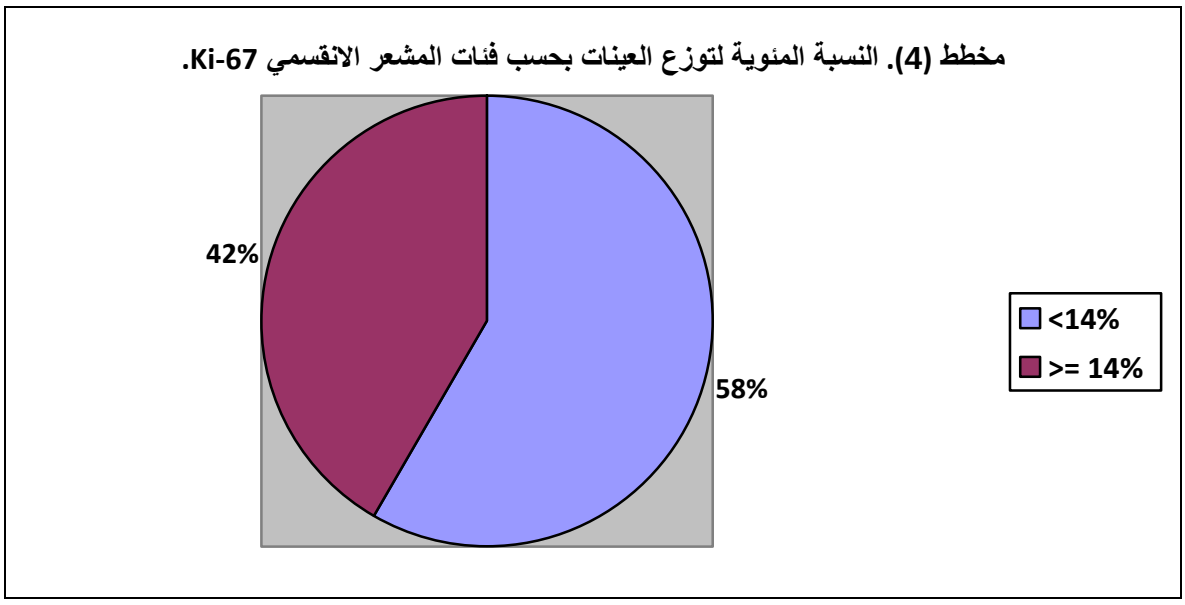
تمت دراسة العينات بحسب المشعر الانقسامي mitotic Index باستخدام التلوين المناعي Ki-67، حيث تم تقدير النسبة المئوية للنوى ذات الإيجابية.

قسمت الحالات المدروسة إلى مجموعتين بحسب قيمة Ki-67 واعتُمِدت القيمة الحدية (14%) لتحديد هذا التقسيم وذلك بما يلزم التصنيف الجزيئي

قيمة Ki-67	<14%	≥14%	المجموع
العدد	45	32	77
النسبة المئوية	%58	%42	%100

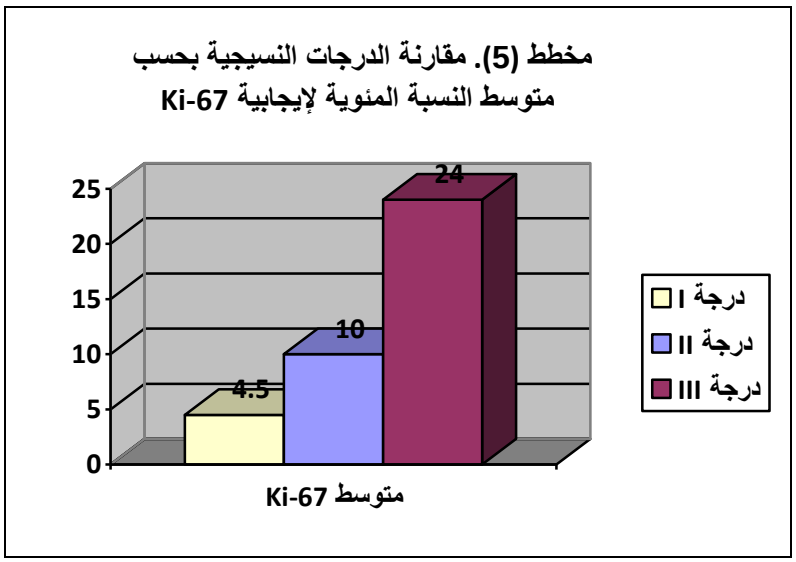
جدول(2-4). توزع العينات بحسب فئات المشعر الانقسامي Ki-67.

مخطط (4). النسبة المئوية لتوزع العينات بحسب فئات المشعر الانقسمي Ki-67.



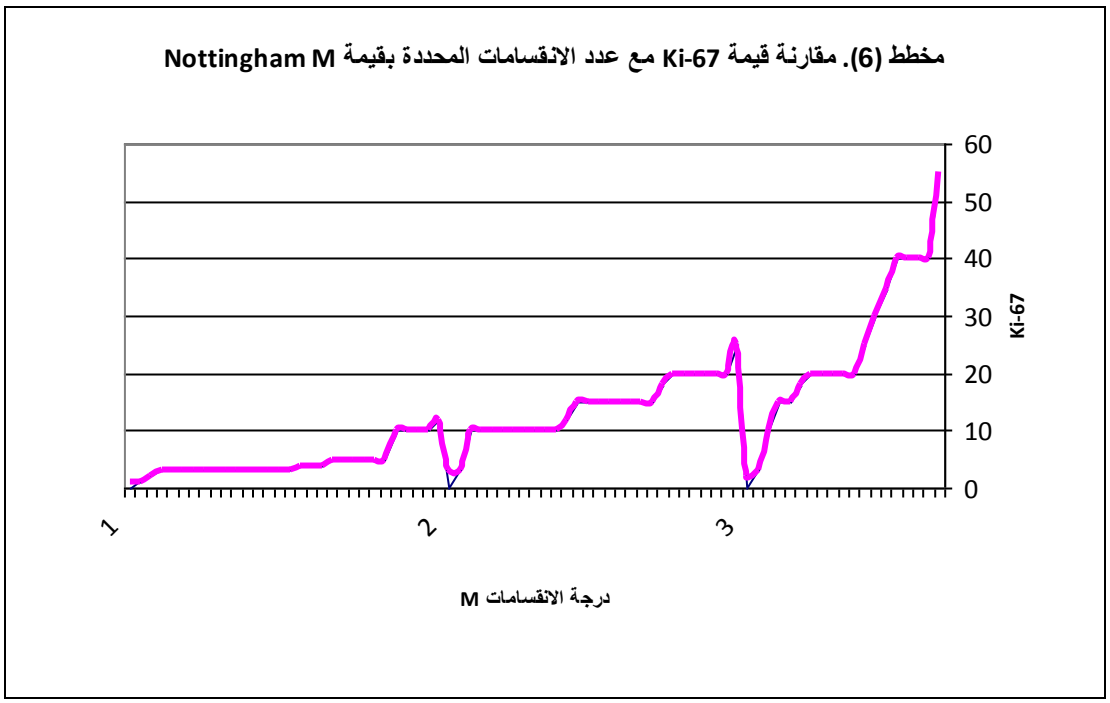
نلاحظ أن 58% من الحالات كانت فيها النسبة المئوية للمشعر الانقسامي أقل من 14%، و قد كان متوسط النسبة المئوية لـ Ki-67 حوالي 13 %.

تزداد قيمة Ki-67 بزيادة الدرجة النسيجية للورم، فقد وجد في دراستنا أن متوسط قيمة Ki-67 كان 4.5، 10، و 24 بالنسبة للدرجات I، II، و III على التوالي (مخطط 5).



قمنا بإجراء مقارنة بين النسبة المئوية لإيجابية Ki-67 وقيمة Nottingham M التي تعتمد على العد المباشر للأشكال الانقسامية باستخدام المجهر الضوئي.

لاحظنا توافقاً في زيادة قيمة Ki-67 مع زيادة قيمة Nottingham M وهو يدل على مصداقية جيدة للتلوين المناعي.

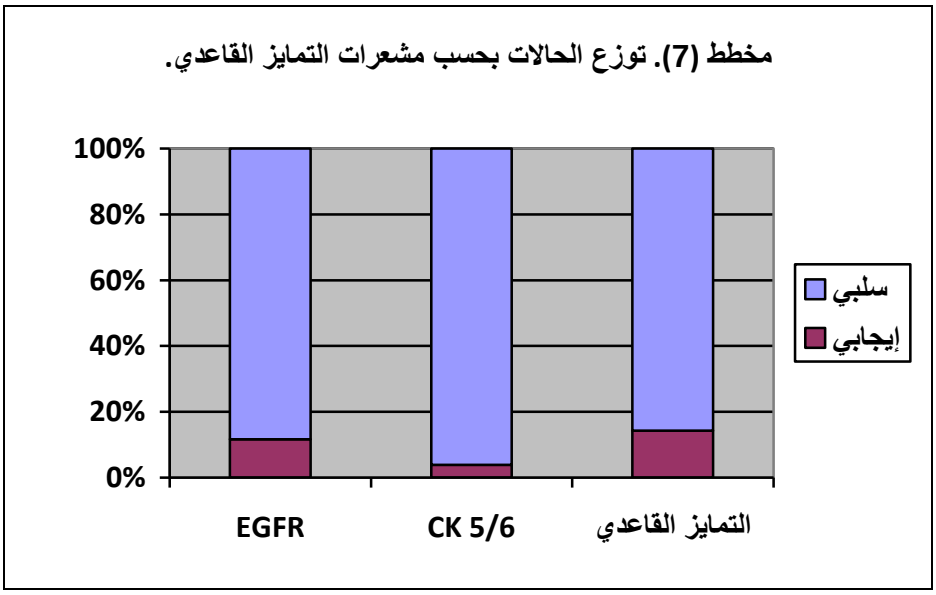


توزع الحالات بحسب مشعرات التمايز القاعدي

تم إجراء تلوينين مناعيين لتحري التمايز القاعدي وهما EGFR (مستقبل العامل المنمي للبشرة) و CK 5/6 (سايتوكيراتين) وكانت النتائج بحسب الجدول (2-5) والمخطط (7)

	EGFR	CK 5/6	التمايز القاعدي	النسبة المئوية
إيجابي	9	3	11	%14
سلبي	68	74	66	%86
المجموع	77	77	77	100%

جدول (2-5). توزع الحالات بحسب مشعرات التمايز القاعدي



كانت نسبة إيجابية EGFR تساوي 12% بينما لم تتجاوز نسبة CK 5/6 المئوية 4% من الحالات، في حين وصلت نسبة إيجابية أحدهما أو كليهما إلى 14% من الحالات، وهي نسبة الحالات التي صنفت basal-like في التصنيف الجزيئي كما سنرى لاحقاً.

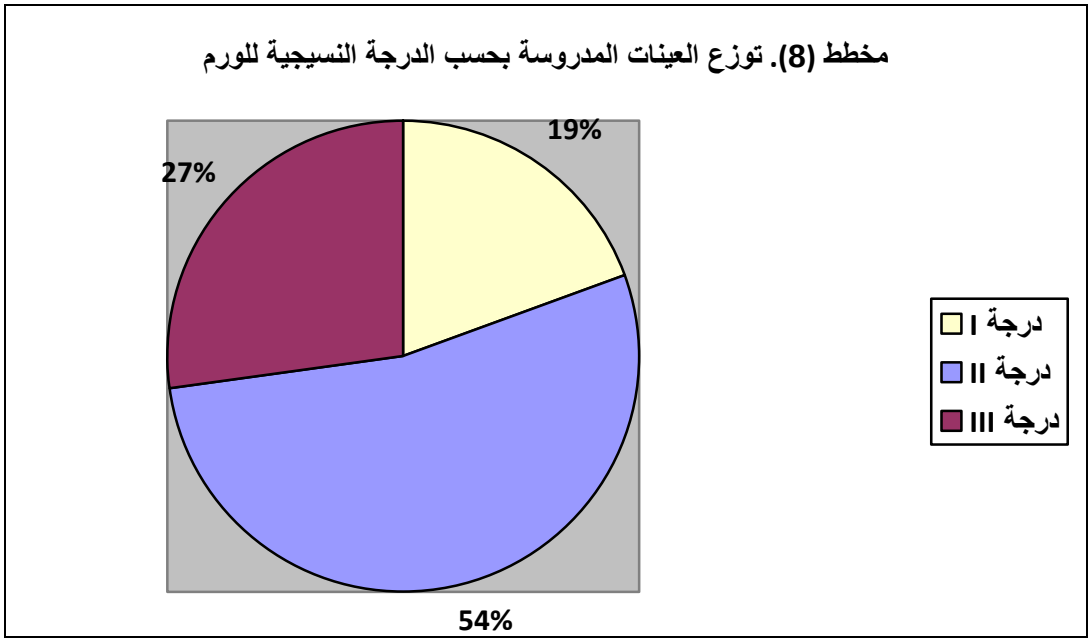
توزع الحالات بحسب الدرجة النسيجية للورم

تم اعتماد نظام نوتنغهام Nottingham Score لوضع الدرجة النسيجية للورم والذي يعتمد على دراسة العينات تحت المجهر الضوئي ووضع الدرجة النسيجية اعتماداً على التمايز الغدي/الأنبوبي، أشكال النوى، وعدد الانقسامات (صفحة 27). كانت النتائج كم هو موضح في الجدول (2-5) والمخطط (7)

الدرجة النسيجية	عدد العينات	النسبة المئوية
درجة I	15	%19
درجة II	41	%54
درجة III	21	%27
المجموع	77	%100

جدول (2-6). توزع العينات المدروسة بحسب الدرجة النسيجية للورم

مخطط (8). توزع العينات المدروسة بحسب الدرجة النسيجية للورم



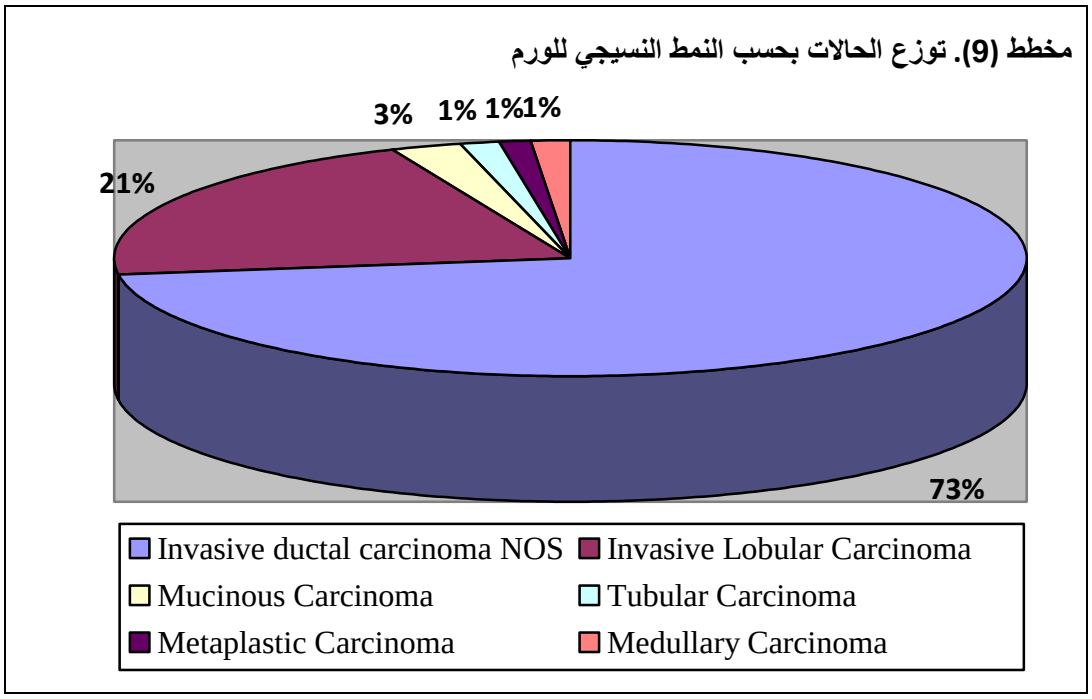
نلاحظ أن ما يزيد عن نصف الحالات (54%) كانت من الدرجة II نسيجياً، وما يزيد عن ربع الحالات (27%) كانت عالية الدرجة (III).

توزع الحالات بحسب التصنيف النسيجي للورم

تم اعتماد المعايير المورفولوجية المجهرية لتحديد النمط النسيجي للأورام المدروسة، كما ساعدت بعض التلوينات المناعية التي تم إجراؤها سابقاً على العينات في التمييز بين بعض حالات السرطانة القنوية الغازية والسرطانة الفصيصية الغازية وخاصة تلوين E-Cadherin.

النمط النسيجي	العدد	النسبة المئوية
Invasive ductal carcinoma NOS	56	%73
Invasive Lobular Carcinoma	16	%21
Mucinous Carcinoma	2	%3
Tubular Carcinoma	1	%1
Metaplastic Carcinoma	1	%1
Medullary Carcinoma	1	%1
المجموع	77	%100

جدول (2-7). توزع الحالات المدروسة بحسب النمط النسيجي للورم



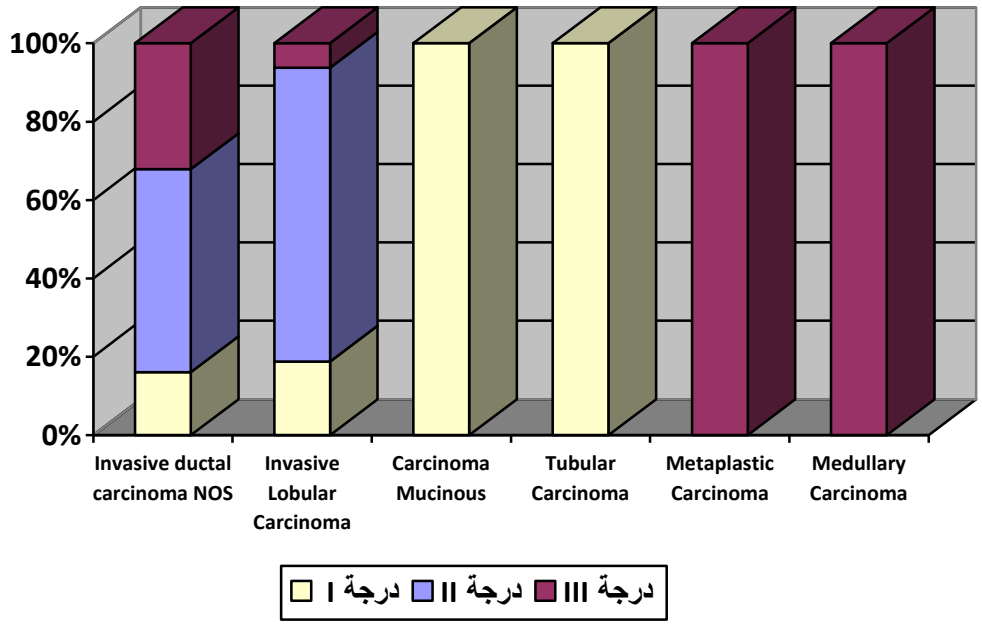
مقارنة الأنماط النسيجية مع الدرجة النسيجية وتوزعها

قمنا بدراسة توزع الدرجة النسيجية للحالات بحسب النمط النسيجي لها، وكانت النتائج حسب الجدول (2-8) والمخطط (10).

النمط النسيجي / الدرجة	درجة I	درجة II	درجة III	المجموع
Invasive ductal carcinoma NOS	9	29	18	56
Invasive Lobular Carcinoma	3	12	1	16
Mucinous Carcinoma	2			2
Tubular Carcinoma	1			1
Metaplastic Carcinoma			1	1
Medullary Carcinoma			1	1
المجموع	15	41	21	77

جدول (2-8). توزع الدرجة النسيجية للحالات بحسب النمط النسيجي.

مخطط (10). توزع الدرجة النسيجية للحالات بحسب النمط النسيجي.



نلاحظ أن 52% من حالات السرطانة القنوية الغازية غير المحددة كانت من الدرجة II نسيجياً، بينما كانت من الدرجة III في ثلث الحالات (32%)، في حين أبدت معظم حالات السرطانة الفصيصية الغازية (75%) درجة متوسطة II نسيجياً.

حالات السرطانة الأنبوبية والموسينية كانت من الدرجة I نسيجياً، بينما أبدت حالات السرطانة اللبية والحؤولية درجة III نسيجياً.

توزع الحالات بحسب النمط الجزيئي للسرطان

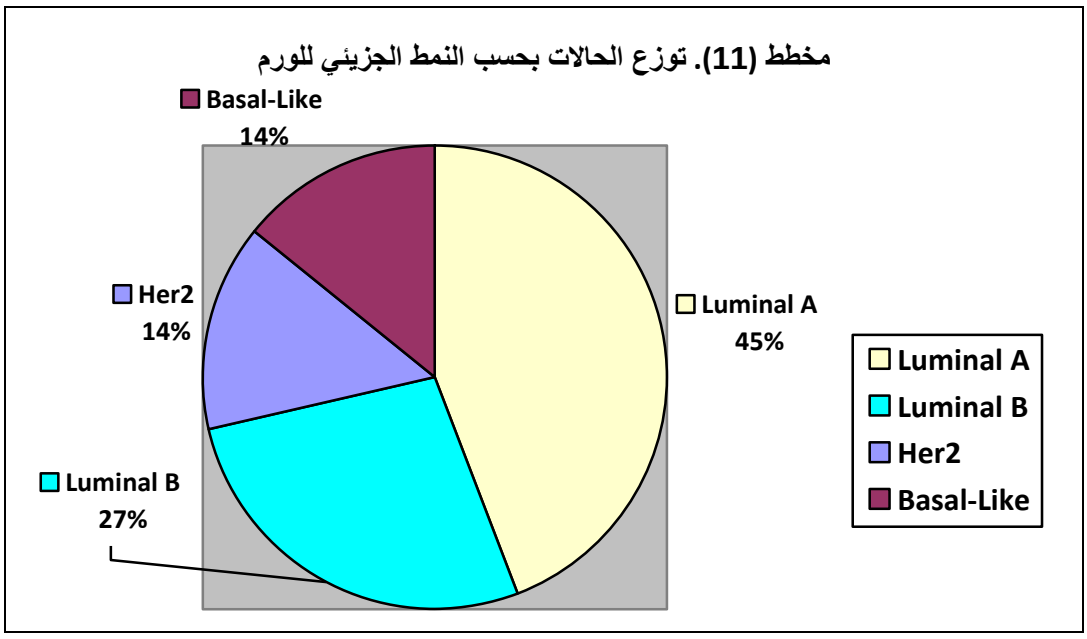
تم تحديد النمط الجزيئي للسرطان عن طريق الكيمياء المناعية النسجية وذلك حسب الجدول التالي

النمط الجزيئي				
النمط المناعي	Luminal A	Luminal B	HER2/*neu*	Basal-like
ER, PR	ER and/or PR+	ER and/or PR+	ER–, PR–	ER–, PR–
HER2 and others	HER2– Low Ki-67 (<14%)	HER2+ or HER2– Ki-67 ≥14%	HER2+	HER2– CK5/6 and/or EGFR+

وكانت النتائج حسب الجدول (2-9) والمخطط (11)

النمط الجزيئي	Luminal A	Luminal B	Her2	Basal-Like	المجموع
عدد العينات	34	21	11	11	77
النسبة المئوية	45%	27%	%14	%14	%100

جدول (2-8). توزع الحالات بحسب النمط الجزيئي للورم



كما نلاحظ فإن معظم الحالات (72%) كانت من نمط Luminal (وهي بأي حال نسبة الحالات التي ابدت إيجابية المستقبل الهرموني) بحيث توزعت 45 % من النمط A و 27% من النمط B.

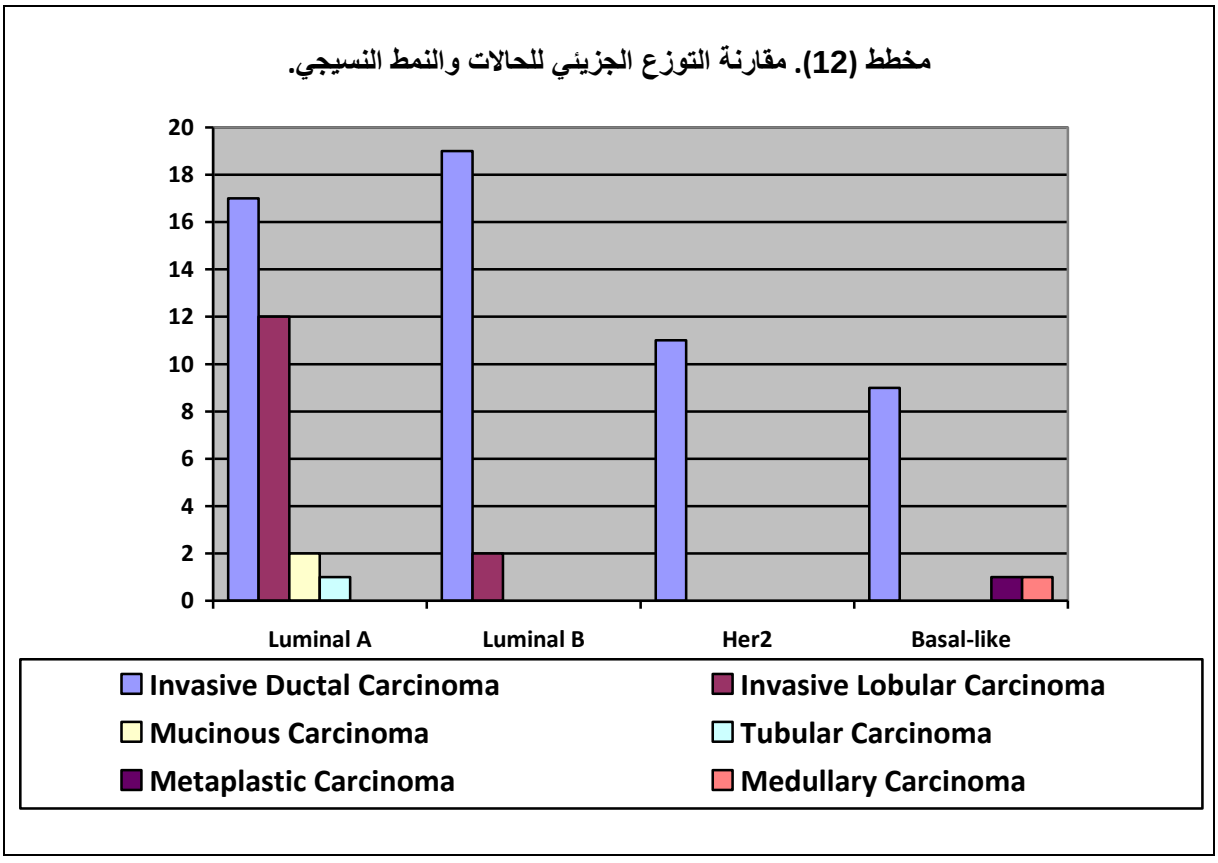
توزعت الحالات المتبقية بشكل متساوٍ بين نمطي HER2 (14%) و basal-like (14%).

مقارنة توزع النمط الجزيئي مع النمط النسيجي للحالات

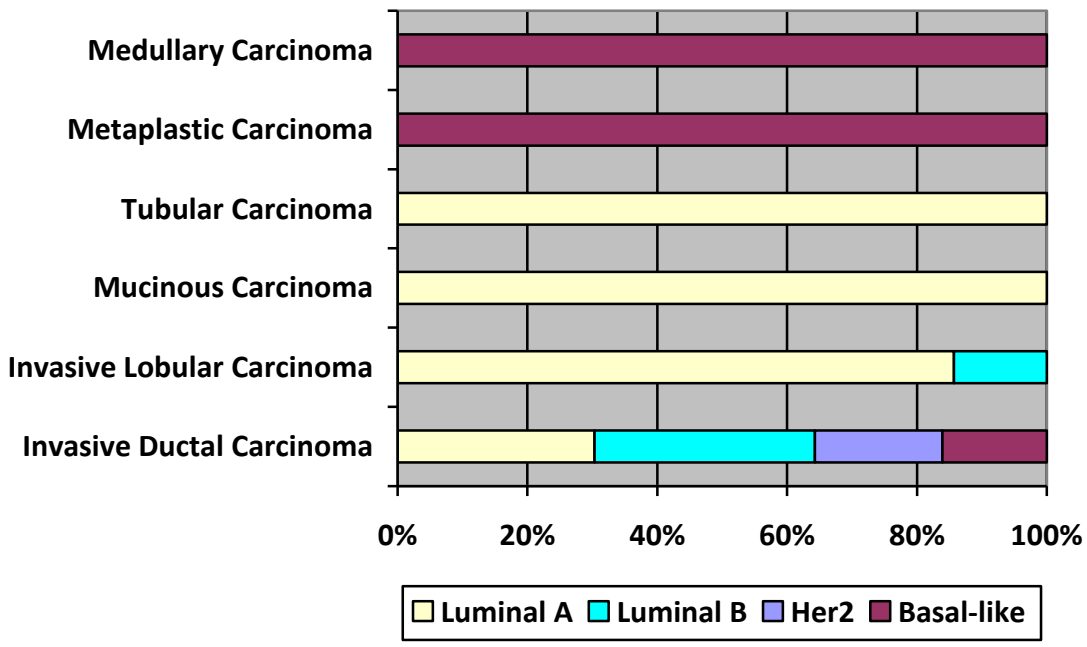
قمنا بدراسة مقارنة تبين توزع الأنماط النسيجية للحالات المدروسة بحسب النمط الجزيئي، وبينت النتائج التالية

	Luminal A	Luminal B	Her2	Basal-like	المجموع
Invasive Ductal Carcinoma	17	19	11	9	56
Invasive Lobular Carcinoma	14	2			16
Mucinous Carcinoma	2				2
Tubular Carcinoma	1				1
Metaplastic Carcinoma				1	1
Medullary Carcinoma				1	1
المجموع	28	27	11	11	77

جدول (2-10). مقارنة توزع الحالات بحسب النمط الجزيئي والنمط النسيجي للورم



مخطط (13). مقارنة توزع النمط النسيجي بحسب النمط الجزيئي



اشتملت حالات Luminal A على أربعة أنماط نسيجية (قنوية، فصيصية، موسينية، و أنبوبية)، بينما ضمت حالات Luminal B نمطين اثنين (قنوية وفصيصية)، فيما اقتصرت حالات HER2 على نمط قنوي فقط. أما حالات Basal-like فقد ضمت 3 أنماط وهي قنوية، حؤولية ولبية.

كما نلاحظ من المخطط (13) أن حالات السرطانة القنوية الغازية توزعت كما يلي : Luminal A 30%، Luminal B 33%، HER2 20%، و Basal-like 17%.

أما حالات السرطانة الفصيصية الغازية فقد توزعت على Luminal A بنسبة 88% و Luminal B بنسبة 12%.

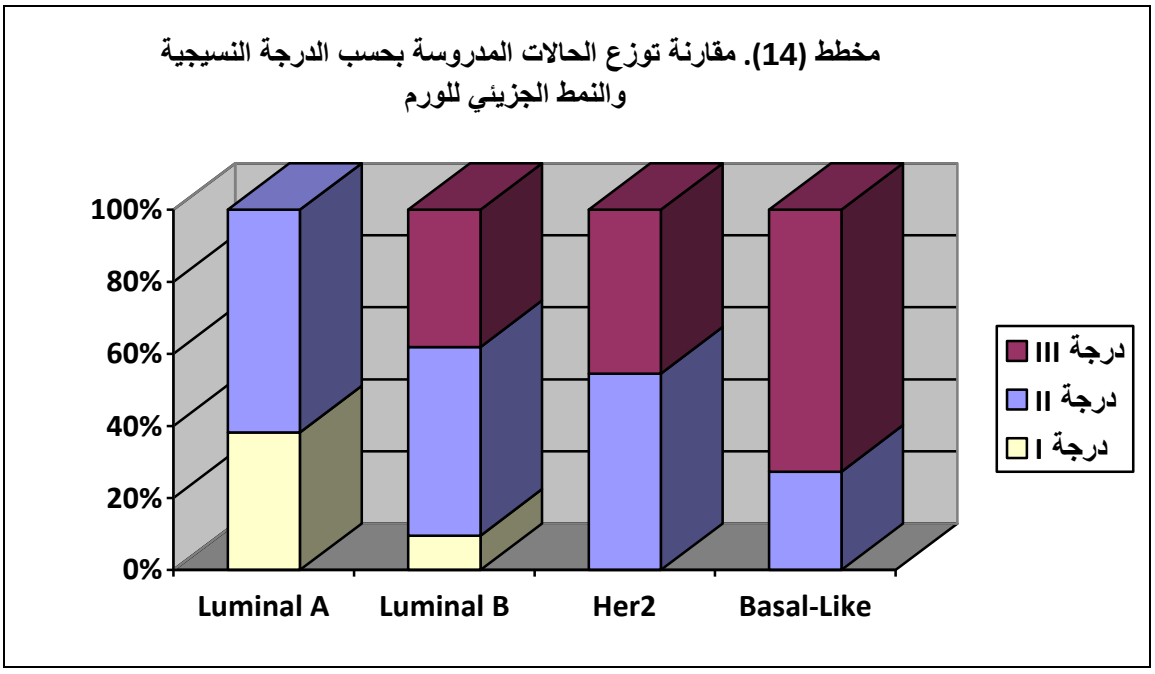
السرطانة الموسينية و السرطانة الأنبوبية ارتبطت بالنمط Luminal A فقط، بينما كانت حالات السرطانة اللبية والحؤولية من النمط basal-like.

مقارنة توزع النمط الجزيئي مع درجة الورم

قمنا بإجراء مقارنة توزع الحالات المدروسة بحسب الدرجة النسيجية والنمط الجزيئي للورم، وكانت النتائج كما هو مبين في الجدول (2-11) والمخطط (14)

النمط الجزيئي	درجة I	درجة II	درجة III	المجموع
Luminal A	13	21		34
Luminal B	2	11	8	27
Her2		6	5	11
Basal-Like		3	8	11

جدول (2-11). مقارنة توزع الحالات بحسب الدرجة النسيجية للورم والنمط الجزيئي

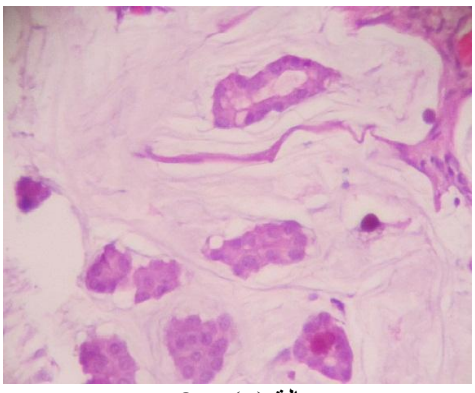


نلاحظ من المخطط (14) **أن الدرجة النسيجية تزداد مع الانتقال من اليسار إلى اليمين، أي من النمط Luminal A إلى النمط basal-like. فبينما تتوزع حالات Luminal A على الدرجة I (38%) والدرجة II (62%) مع عدم وجود حالات من الدرجة III، نجد أن نسبة الحالات من الدرجة III في نمط basal-like تصل إلى (72%) مع عدم وجود حالات من الدرجة I.**

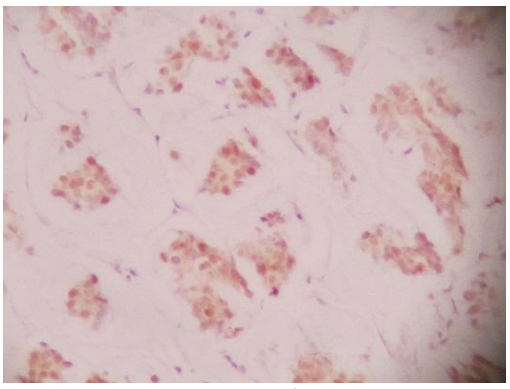
أمثلة عن بعض الحالات التي تمت دراستها

الحالة الأولى

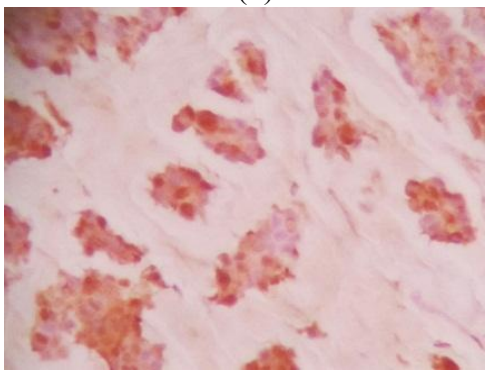
العمر	33 سنة					
النمط النسيجي	سرطانة موسينية Mucinous carcinoma					
الدرجة النسيجية حسب Nottingham Score	Nottingham T	2	Score= 5			
	Nottingham N	2				
	Nottingham M	1				
	الدرجة النسيجية	درجة I				
المناعيات	ER	PR	Her2	EGFR	CK 5/6	Ki-67
	Positive	Positive	1+ (Negative)	Negative	Negative	3 %
النمط الجزيئي	Luminal A					



حالة (1). H&E



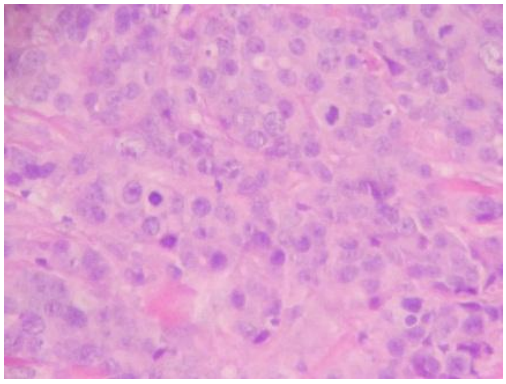
حالة (1). ER



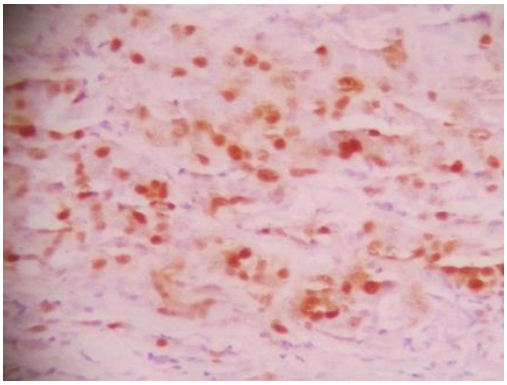
حالة (1). PR

الحالة الثانية

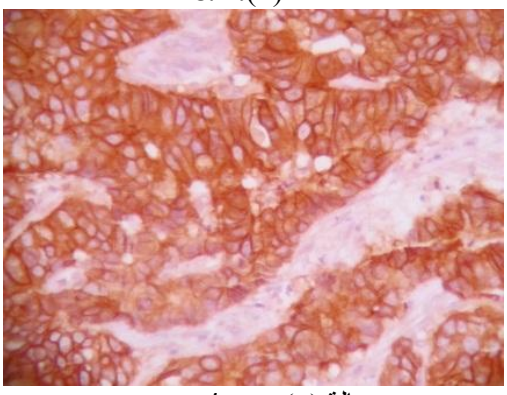
العمر	65 سنة					
النمط النسيجي	سرطانة قنوية غازية Invasive ductal carcinoma					
الدرجة النسيجية حسب Nottingham Score	Nottingham T	3	Score= 9			
	Nottingham N	3				
	Nottingham M	3				
	الدرجة النسيجية	درجة III				
المناعيات	ER	PR	Her2	EGFR	CK 5/6	Ki-67
	Positive	Positive	3+ (Positive)	Negative	Negative	55 %
النمط الجزيئي	Luminal B					



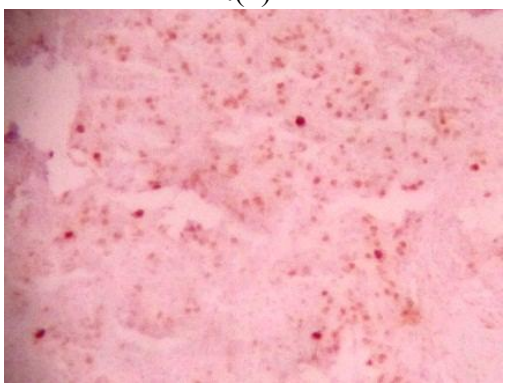
حالة (2). H&E



حالة (2). PR



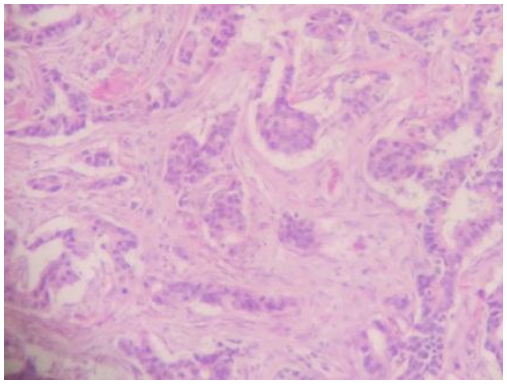
حالة (2). HER2/neu



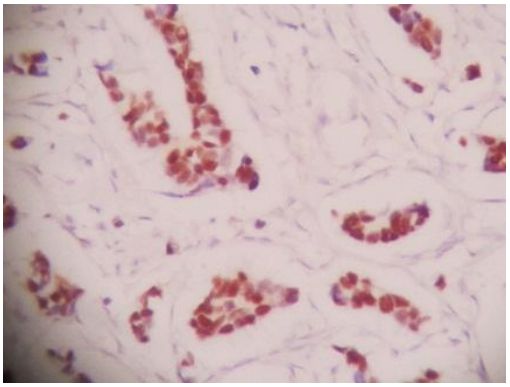
حالة (2). Ki-67

الحالة الثالثة

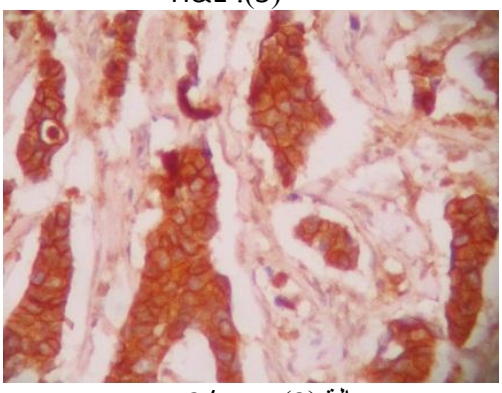
العمر	34 سنة					
النمط النسيجي	سرطانة قنوية غازية Invasive ductal carcinoma					
الدرجة النسيجية حسب Nottingham Score	Nottingham T	2	Score= 6			
	Nottingham N	2				
	Nottingham M	2				
	الدرجة النسيجية	درجة II				
المناعيات	ER	PR	Her2	EGFR	CK 5/6	Ki-67
	Positive	Positive	3+ (Positive)	Negative	Negative	15 %
النمط الجزيئي	Luminal B					



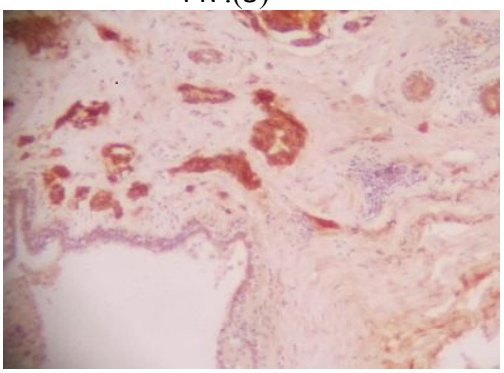
حالة (3). H&E



حالة (3). PR



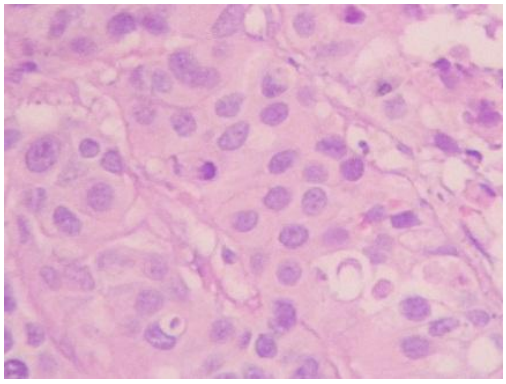
حالة (3). HER2/neu



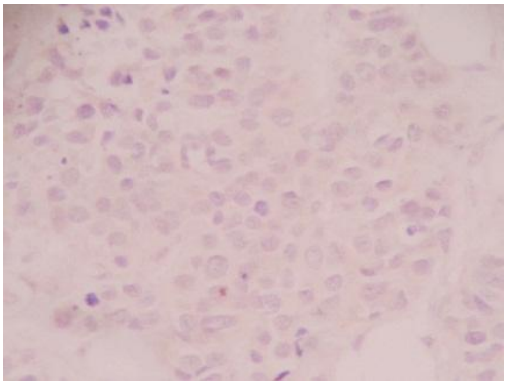
حالة (3). صورة تبين إيجابية HER2 إلى جانب نسيج طبيعي يبدي سلبية تامة للتلوين

الحالة الرابعة

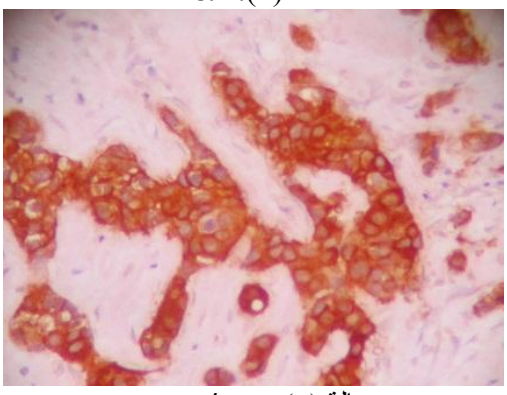
العمر	73 سنة					
النمط النسيجي	سرطانة قنوية غازية Invasive ductal carcinoma					
الدرجة النسيجية حسب Nottingham Score	Nottingham T	3	Score= 8			
	Nottingham N	2				
	Nottingham M	3				
	الدرجة النسيجية	درجة III				
المناعيات	ER	PR	Her2	EGFR	CK 5/6	Ki-67
	Negative	Negative	3+ (Positive)	Negative	Negative	15 %
النمط الجزيئي	Her2					



حالة (4). H&E



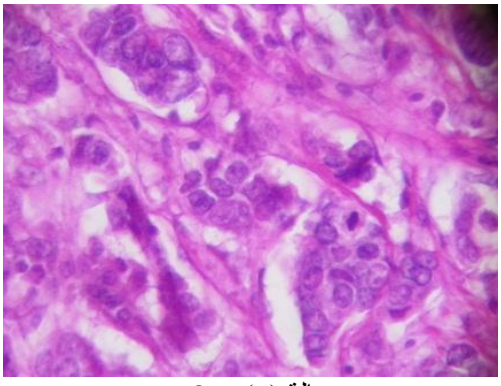
حالة (4). ER



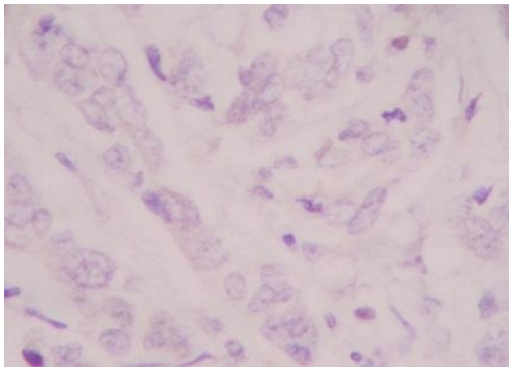
حالة (4). HER2/neu

الحالة الخامسة

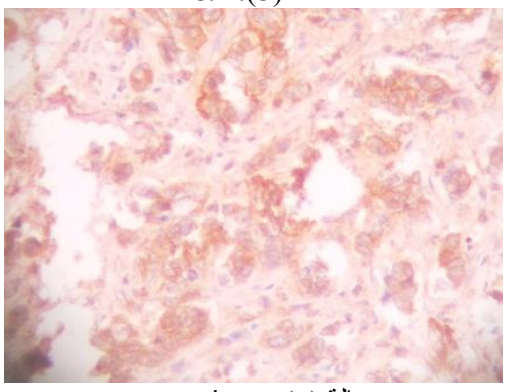
العمر	66 سنة					
النمط النسيجي	سرطانة قنوية غازية Invasive ductal carcinoma					
الدرجة النسيجية حسب Nottingham Score	Nottingham T	2	Score= 8			
	Nottingham N	3				
	Nottingham M	3				
	الدرجة النسيجية	درجة III				
المناعيات	ER	PR	Her2	EGFR	CK 5/6	Ki-67
	Negative	Negative	2+ (equivocal)	Positive	Negative	20 %
النمط الجزيئي	Basal-like					



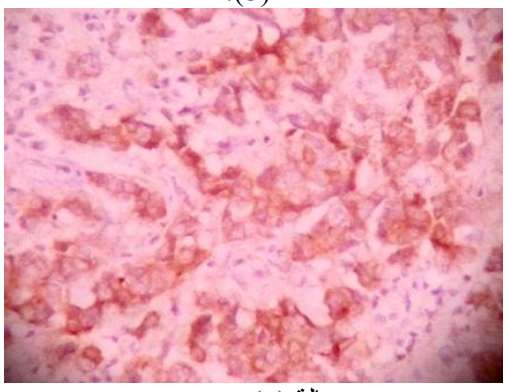
حالة (5). H&E



حالة (5). ER



حالة (5). HER2/neu



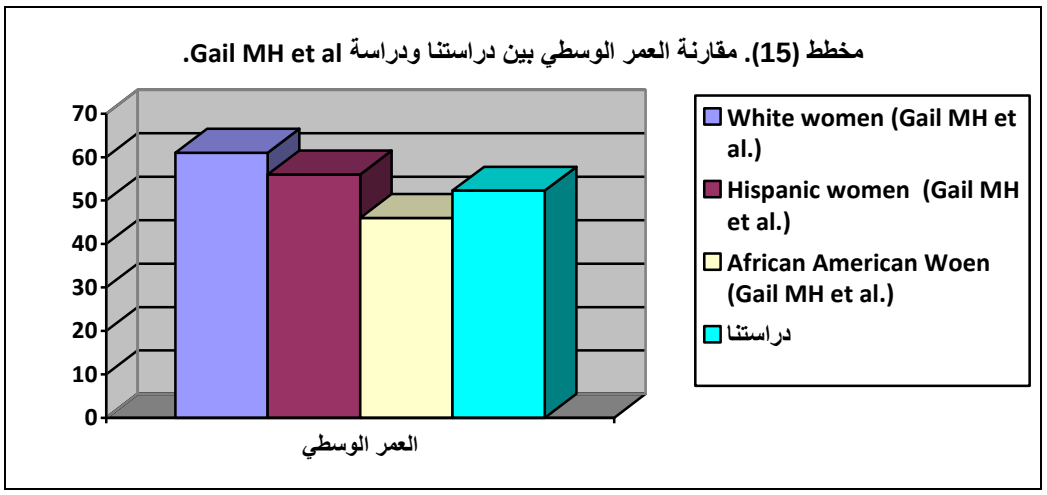
حالة (5). EGFR

مناقشة النتائج ومقارنتها بالدراسات العالمية

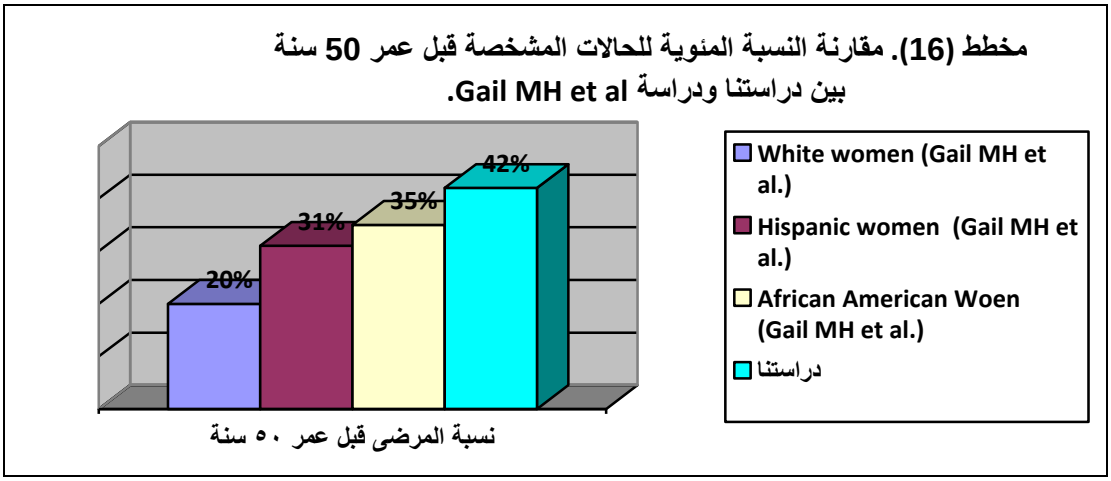
التوزع العمري

قمنا بإجراء مقارنة بين التوزع العمري في دراستنا ودراسة Gail MH وزملائه[2، 3] التي تمت على مرحلتين في عامي 1989 و 2007 بحيث قدمت مقارنة في عوامل الاختطار لسرطان الثدي بين مجموعات عرقية معينة.

إن العمر الوسطي في دراستنا (52.3 سنة) هو أقل من العمر الوسطي عند المريضات من الجنس الأبيض (61 سنة)، وأقل من العمر الوسطي عند المريضات من الأصل اللاتيني (56 سنة)، بينما هو أعلى من العمر الوسطي عند المريضات من أصل إفريقي (46 سنة) . مخطط (14).



كما قمنا بمقارنة النسبة المئوية للحالات المشخصة قبل عمر 50 سنة بين دراستنا ودراسة Gail MH et al.، ويبين المخطط (15) أن دراستنا كانت ذات النسبة الأعلى مقارنة مع الأعراق المختلفة.



يطرح العمر الوسطي المنخفض مع نسبة التوزع العمري العالية في الأعمار أقل من 50 سنة أهمية الدراسات الوراثية والبيئية لتحديد أدق لسببيات سرطان الثدي في بلادنا.

المستقبلات الهرمونية

كانت جميع الحالات في بعض الأنماط النسيجية (الفصيصية، الأنبوبية، الموسينية) إيجابية المستقبل الهرموني وهي حالات منخفضة إلى متوسطة الدرجة النسيجية، في حين كانت 36% من حالات السرطانة القنوية الغازية سلبية المستقبلات الهرمونية وتوافقت مع درجات نسيجية متوسطة إلى عالية. أما بقية الأنماط النسيجية (اللبية والحؤولية) كانت سلبية المستقبلات الهرمونية وعالية الدرجة.

يمكننا أن نستنتج أن إيجابية المستقبلات الهرمونية تتوافق مع درجات نسيجية منخفضة رغم وجود بعض الحالات إيجابية المستقبلات الهرمونية وعالية الدرجة النسيجية.

إن نسبة إيجابية المستقبلات الهرمونية (71%) مع توزعها بحسب الأنماط النسيجية في دراستنا تتوافق مع معظم الدراسات العالمية، رغم انخفاض نسبة إيجابية ER على حساب ارتفاع نسبة إيجابية PR.

مستقبل HER2/neu

رغم أن تحديد فرط تعبير HER2/neu بدقة يحتاج إلى اتمام الدراسة باستخدام تقنيات أخرى مثل CISH أو FISH، إلا أن النسبة العالية للإيجابية القوية (درجة +3) في دراستنا (33%) مقارنة بالدراسات العالمية (حوالي 20%) باستخدام التلوينات المناعية النسجية والتي اعتمدنا فيها على المقارنة مع شاهد من النسيج الطبيعي مما يرفع من نوعية وحساسية الدراسة يمكن أن تشكل دليلاً على زيادة في عدوانية الأورام في الحالات المدروسة وتطرح أهمية المعالجة الهدفية باستخدام Herceptin في تلك الحالات.

المشعر الانقسامي Ki-67

إن نتائج تحديد قيمة المشعر الانقسامي Ki-67 توافقت مع كل العوامل الانذارية الأخرى في الدراسة. فكما بيّنا بالمقارنات التي تم إجراؤها، كانت قيمة المشعر الانقسامي تزداد بزيادة الدرجة النسيجية للورم، وإذا طبقنا نفس المقارنة على مشعرات أخرى سنحصل على نتيجة مماثلة، فمثلاً، قيمة Ki-67 تزداد بزيادة إيجابية مستقبل HER2/neu وتنقص مع إيجابية المستقبلات الهرمونية. رغم أن القيمة الوسطية في دراستنا (13%) كانت أقل مما تقترحه بعض الأبحاث (16%)، إلا أن قيمته بالنسبة للأنواع الأكثر درجة

كانت متوافقة مع الدراسات العالمية، فكانت قيمته مثلاً (54%) في حالة السرطانة اللبية التي من المعروف أنه تكون قيمته فيها أكثر من 50% .

مشعرات التمايز القاعدي

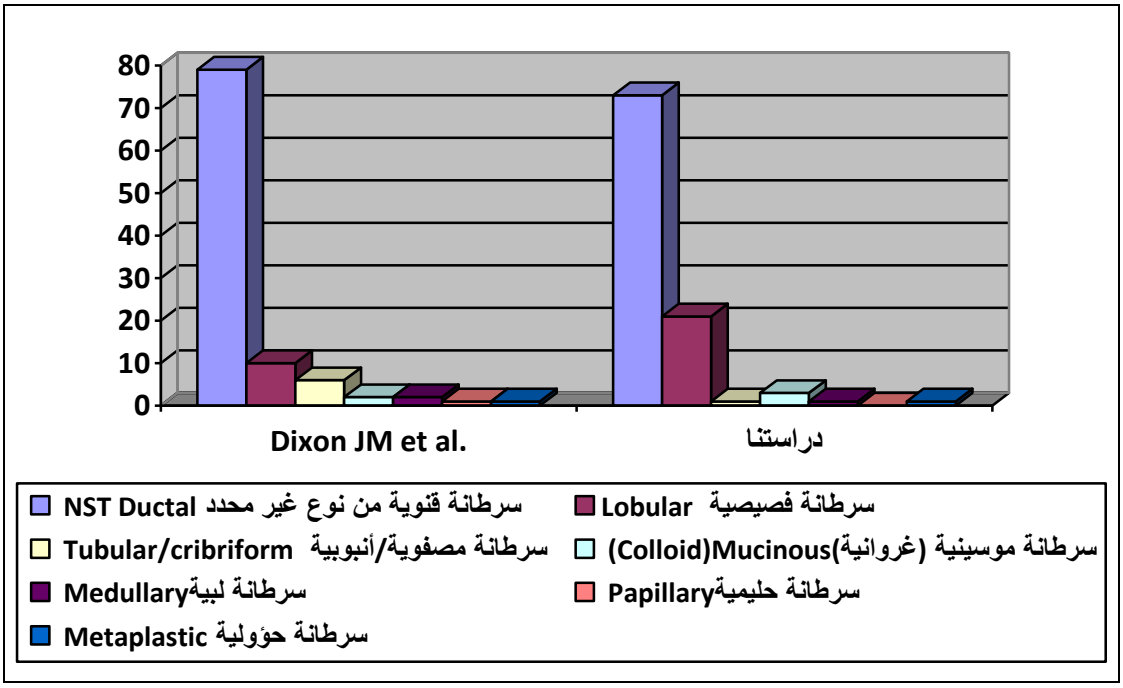
توافقت إيجابية مشعرات التمايز القاعدي في دراستنا مع سلبية المشعرات الثلاث (ER,PR, HER2) أي في الأورام ثلاثية السلبية Triple-negative.

كان لـ EGFR دوراً أكبر في تحديد إيجابية مشعرات التمايز القاعدي من تلوين CK 5/6.

مقارنة توزع الأنماط النسيجية بين دراستنا و الدراسات العالمية

يبين الجدول التالي مقارنة بين دراستنا ودراسة Dixon JM et al. [21] بالنسبة لتوزع الأنماط النسيجية

النمط النسيجي	Dixon JM et al.	دراستنا
سرطانة قنوية من نوع غير محدد NST Ductal	79	73
سرطانة فصيصية Lobular	10	21
سرطانة مصفوية/أنبوبية Tubular/cribriform	6	1
سرطانة موسينية (غروانية) Mucinous(Colloid)	2	3
سرطانة لبية Medullary	2	1
سرطانة حليمية Papillary	1	0
سرطانة حؤولية Metaplastic	1	1



جدول (2-12). مخطط (17). مقارنة توزع النمط النسيجي بين دراستنا ودراسة Dixon JM et al.

نلاحظ مما سبق تقارباً في النتائج مع وجود بعض الفروقات بين الدراستين، حيث نلاحظ زيادة واضحة في نسبة حدوث السرطانة الفصيصية الغازية (أكثر من الضعف) بالنسبة لدراستنا. أيضاً لم تحتوِ دراستنا على حالات سرطانة حليمية ويعزى ذلك إلى صغر حجم العينة.

الأنماط الجزيئية ومقارنة توزعها بين دراستنا و الدراسات العالمية

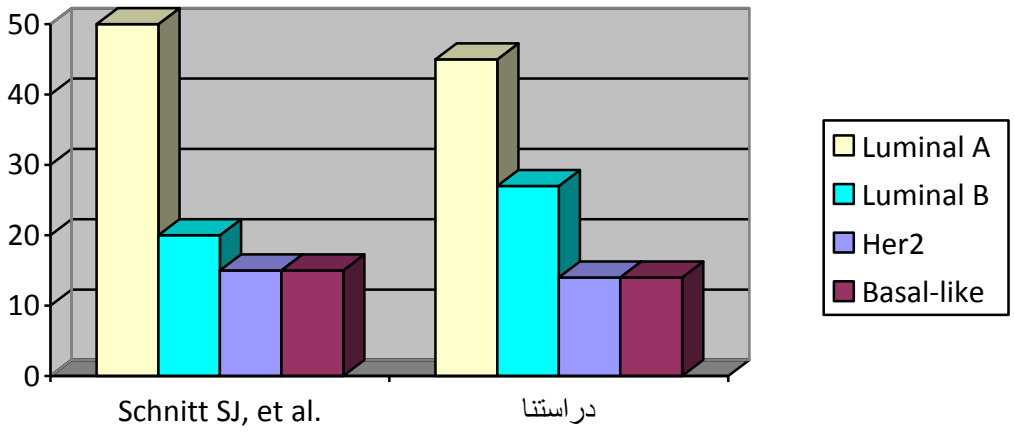
إن تحديد النمط الجزيئي باستخدام المناعة النسجية الكيميائية يعتبر تجميعاً للعوامل الإنذارية التي تستخدم هذه الطريقة. الحالات التي صنفت على أنها Luminal (وضمت النسبة الأكبر من الحالات) هي الحالات إيجابية المستقبلات الهرمونية وهي ذات درجات منخفضة إلى متوسطة، وقد تم تمييز الدرجات الأعلى فيها (النمط B) عبر المشعر الانقسامي ومستقبل HER2/neu والذي ساهم في تمييز نمط Her2 أيضاً. بينما كانت مشعرات التمايز القاعدي الطريقة الأنجح في تمييز حالات basal-like الأكثر عدوانية بين تلك الأنماط.

قمنا بإجراء مقارنة بين دراستنا ودراسة Schnitt SJ. et al. [90] بالنسبة لتوزع الأنماط الجزيئية، وذلك حسب الجدول (2-13) والمخطط (18)

النمط الجزيئي	Schnitt SJ, et al.	دراستنا
Luminal A	50	45
Luminal B	20	27
Her2	15	14
Basal-like	15	14

جدول (2-13). مقارنة توزع الأنماط الجزيئية بين دراستنا ودراسة Schnitt et al.

مخطط (18). مقارنة لتوزع الأنماط الجزيئية بين دراستنا ودراسة Schnitt et al.



نلاحظ توافقاً جيداً بين الدراستين مع ملاحظة أن دراستنا كانت فيها حالات Luminal B بنسبة أعلى على حساب Luminal A التي كانت بنسبة أقل.

لابد لنا أن نذكر هنا أن زيادة نسبة Luminal B في دراستنا كانت بشكل واضح على حساب نمط السرطانة القنوية الغازية (النمط الأشيع نسيجياً) والذي كان فيها نمط Luminal B هو الأعلى نسبة (33%) وهذا ما لا يتوافق مع الدراسات العالمية، حيث يبقى نمط Luminal A هو الأعلى، مما يدل على زيادة في عدوانية السرطانات إيجابية المستقبلات الهرمونية عندنا، وهو ما ارتبط بشكل أساسي بزيادة نسبة إيجابية مستقبل HER2/neu .

التوصيات

نظراً لكون سرطانة الثدي في بلادنا هي من أكثر السرطانات تواتراً ومسؤولة عن عدد كبير من الوفيات المسببة عن السرطان فلابد من وضع كافة الامكانات الطبية والادارية للتصدي لهذه الأفة، ونوصي من خلال دراستنا بما يلي:

- تأسيس أرشيف منظم ومؤتمت للمستشفيات الجامعية، وذلك لربط كافة الأقسام الطبية السريرية والتشخيصية بهدف الحصول على المعلومات السريرية الخاصة بكل مريض عند الحاجة.
- استخدام برامج الحاسب المناسبة عند إجراء الدراسات والتي تساهم بتحليل النتائج بطريقة أكثر فعالية ودقة.
- إجراء التلوينات الهرمونية والمناعية لجميع سرطانات الثدي وتحديد الحالة الهرمونية وحالة HER2/neu والمشعر الانقسامي لتوجيه المعالجة بطريقة أكثر هدفية ودقة.
- إستخدام تلوينات مناعية مختلفة لتحديد النمط القاعدي في سرطانات الثدي ثلاثية السلبية للوصول إلى التلوين المناعي الأنسب والأكثر حساسية ونوعية.
- إجراء دراسات تنميط مورثي عن طريق تحليل RNA ومقارنتها مع دراسات التنميط المورثي عن طريق التلوينات المناعية للوصول إلى دقة أكبر في الدراسة.
- الاتجاه إلى تنميط جميع سرطانات الثدي جزيئيا ودراسة الحالات الوراثية وكشف الجينات لتحديد الانذار وانتقاء العلاج الأفضل والأكثر هدفية.
- إجراء الأبحاث المناسبة على سرطانات الثدي باستخدام الاختبارات الجزيئية (OncotypeX أو Mammaprint) للمساهمة في تحديد الانذار وانتقاء العلاج.

المراجع

1. Bocker W, et al: Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. *Lab Invest* 2002; 82:737.
2. Gail MH, et al: Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81:1879.
3. Gail MH, et al: Projecting individualized absolute invasive breast cancer risk in African American women. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99:1782.
4. Russo J, et al: Full-term pregnancy induces a specific genomic signature in the human breast. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17:51.
5. Bradbury AR, Olopade OI: Genetic susceptibility to breast cancer. *Rev Endocr Metab Disord* 2007; 8:225.
6. Garcia-Closas M, et al: Heterogeneity of breast cancer associations with five susceptibility loci by clinical and pathological characteristics. *PLOS Genetics* 2008; 4:e10000054.
7. Pageau GJ, et al: The disappearing Barr body in breast and ovarian cancers. *Nat Rev Cancer* 2007; 7:628.
8. Yager JD, Davidson NE: Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 354:270.
9. Desta Z, Flockhart DA: Germline pharmacogenetics of tamoxifen response: have we learned enough?. *J Clin Oncol* 2007; 25:5147.
10. Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100:57
11. Hahn WC, Weinberg RA: Rules for making human tumor cells. *N Engl J Med* 2002; 347:1593.
12. Allred DC, et al: Ductal carcinoma in situ and the emergence of diversity during breast cancer evolution. *Clin Cancer Res* 2008; 14:370.
13. Iqbal M, et al: Subgroups of non-atypical hyperplasia of breast defined by proliferation of oestrogen receptor-positive cells. *J Pathol* 2001; 193:333.
14. Campbell LL, Polyak K: Breast tumor heterogeneity. Cancer stem cells or clonal evolution?. *Cell Cycle* 2007; 6:2332.
15. Stingl J, Caldas C: Molecular heterogeneity of breast carcinomas and the cancer stem cell hypothesis. *Nat Rev Cancer* 2007; 10:791.

16. Wellings SR: A hypothesis of the origin of human breast cancer from the terminal ductal lobular unit. *Pathol Res Pract* 1980; 166:515.
17. Murad TM: A proposed histochemical and electron microscopic classification of human breast cancer according to cell of origin. *Cancer* 1971; 27:288.
18. Shipitisin M, et al: Molecular definition of breast tumor heterogeneity. *Cancer Cell* 2007; 11:259.
19. Gauthier ML, et al: Abrogated response to cellular stress identifies DCIS associated with subsequent tumor events and defines basal-like breast tumors. *Cancer Cell* 2007; 12:479.
20. Tavassoli FA, Devilee P, eds. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2001.
21. Dixon JM et al.: Long-term survivors after breast cancer. Br J Surg 72:445, 1985.
22. Burstein HJ, et al: Ductal carcinoma in situ of the breast. *N Engl J Med* 2004; 350:1430.
23. Vos CB, Cleton-Jansen AM, Berx G, de Leeuw WJ, ter Haar NT, van Roy F, et al: E-cadherin inactivation in lobular carcinoma in situ of the breast: an early event in tumorigenesis. *Br J Cancer* 1997; 76:1131-1133.
24. Pinder SE, Elston CW, Ellis IO: *Invasive carcinoma-usual histological types*. In: Elston CW, Ellis IO, ed. The breast systemic pathology, vol. 13. Edinburgh: Churchill-Livingstone; 1998:283-337.
25. Kollias J, Elston CW, Ellis IO, Blamey RW: Early-onset breast cancer: histopathological and prognostic considerations. *Br J Cancer* 1997; 75:1318-1323.
26. Dixon JM, Anderson TJ, Page DL, Lee D, Duffy SW: Infiltrating lobular carcinoma of the breast. *Histopathology* 1982; 6:149-161.
27. Du Toit RS, Locker AP, Ellis IO, Elston CW, Nicholson RI, Blamey RW: Invasive lobular carcinomas of the breast: the prognosis of histopathological subtypes. *Br J Cancer* 1989; 60:605-609.
28. Green I, McCormick B, Cranor M, Rosen PP: A comparative study of pure tubular and tubulolobular carcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol* 1997; 21:653-657.
29. Cabral AH, Recine M, Paramo JC, McPhee MM, Poppiti R, Mesko TW: Tubular carcinoma of the breast: an institutional experience and review of the literature. *Breast J* 2003; 4:298-301.

30. Diallo R, Schaeffer KL, Bankfalvi A, Decker T, Ruhnke M, Wülfing P, et al: Secretory carcinoma of the breast: a distinct variant of invasive carcinoma assessed by comparative genomic hybridization and immunohistochemistry. *Hum Pathol* 2003; 34:1299-1305.
31. Komenaka IK, El-Tamer MB, Troxel A, Hamele-Bena D, Joseph KA, Horowitz E, et al: Pure Mucinous carcinoma of the breast. *Am J Surg* 2004; 187:528-532.
32. Rapin V, Contesso G, Mouriesse H, Bertin F, Lacombe MJ, Piekarski JD, et al: Medullary breast carcinoma: a reevaluation of 95 cases of breast cancer with inflammatory stroma. *Cancer* 1988; 61:2503-2510.
33. Nassar H, Wallis T, Andea A, Dey J, Adsay V, Visscher D: Clinicopathologic analysis of invasive micropapillary differentiation in breast carcinoma. *Mod Pathol* 2001; 14:836-841.
34. Downs-Kelly E, Nayeemuddin KM, Albarracin C, Wu Y, Hunt KK, Gilcrease MZ: Matrix-producing carcinoma of the breast: an aggressive subtype of metaplastic carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:534-541.
35. Drudis T, Crispinita A, Hoeven KV, Cordon-Cardo C, Rosen PP: The pathology of low-grade adenosquamous carcinoma of the breast: an immunohistochemical study. *Pathol Annu* 1994; 2:181-197.
36. Lakhani SR, Jacquemier J, Sloane JP, Gusterson BA, Anderson TJ, van de Vijver MJ, et al: Multifactorial differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:1138-1145.
37. Venable JG, Schwartz AM, Silverberg SG: Infiltrating cribriform carcinoma of the breast: a distinctive clinicopathologic entity. *Hum Pathol* 1990; 21:333-338.
38. Arpino G, Clark GM, Mohsin S, Bardou VJ, Elledge RM: Adenoid cystic carcinoma of the breast molecular markers, treatment, and clinical outcome. *Cancer* 2002; 94:2119-2127.
39. Diallo R, Schaeffer KL, Bankfalvi A, Decker T, Ruhnke M, Wülfing P, et al: Secretory carcinoma of the breast: a distinct variant of invasive carcinoma assessed by comparative genomic hybridization and immunohistochemistry. *Hum Pathol* 2003; 34:1299-1305.
40. Miremadi A, Pinder SE, Lee AH, Bell JA, Paish EC, Wencyk P, et al: Neuroendocrine differentiation and prognosis in breast adenocarcinoma. *Histopathology* 2002; 40:215-222.
41. Ellis IO, Elston CW. Histologic grade. In: O'Malley FP, Pinder SE, eds. *Breast Pathology.* Philadelphia, PA: Elsevier; 2006: 225–233.

42. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer 1983;31:13–20.
43. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of cell proliferation- associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. J Immunol 1984;133:1710–1715.
44. Kamel OW, Franklin WA, Ringus JC, et al. Thymidine labeling index and Ki-67 growth fraction in lesions of the breast. Am J Pathol 1989;134:107–113.
45. Gerdes J, Lelle RJ, Pickartz H, et al. Growth fractions in breast cancers determined in situ with monoclonal antibody Ki-67. J Clin Path 1986; 39:977–980.
46. Isola JJ, Helin HJ, Helle MJ, et al. Evaluation of cell proliferation in breast carcinoma. Comparison of Ki-67 immunohistochemical study, DNA flow cytometric analysis, and mitotic count. Cancer 1990;65:1180–1184.
47. Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. J Clin Oncol 2005;23:7212–7220.
48. Kuenen-Boumeester V, Van Der Kwast ThH, Van Laarhoven HAJ, et al. Ki-67 staining in histologic subtypes of breast carcinoma and fine needle aspiration smears. J Clin Pathol 1991;44:208–210.
49. Veronese SM, Gambacorta M. Detection of Ki-67 proliferation rate in breast cancer. Correlation with clinical and pathologic features. Am J Clin Pathol 1991;95:30–34.
50. Sahin AA, Ro J, Ro JY, Blick MB, et al. Ki-67 immunostaining in node-negative stage I/II breast carcinoma. Significant correlation with prognosis. Cancer 1991;68:549–557.
51. Bouzubar N, Walker KJ, Griffiths K, et al. Ki67 immunostaining in primary breast cancer: pathological and clinical associations. Br J Cancer 1989;59:943–947.
52. Lelle RJ, Heidenreich W, Stauch G, et al. The correlation of growth fractions with histologic grading and lymph node status in human mammary carcinoma. Cancer 1987;59:83–88.
53. Weikel W, Beck T, Mitze M, et al. Immunohistochemical evaluation of growth fractions in human breast cancers using monoclonal antibody Ki-67. Breast Cancer Res Treat 1991;18:149–154.

54. Pierga J-Y, Leroyer A, Viehl P, et al. Long term prognostic value of growth fraction determination by Ki-67 immunostaining in primary operable breast cancer. Breast Cancer Res Treat 1996;37:57–64.
55. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Hammond ME, Allred DC, Valenstein PN: Recommendations for validating estrogen and progesterone receptor immunohistochemistry assays. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134:930-935.
56. Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, Fitzgibbons PL, Francis G, Goldstein NS, Hayes M, Hicks DG, Lester S, Love R, Mangu PB, McShane L, Miller K, Osborne CK, Paik S, Perlmutter J, Rhodes A, Sasano H, Schwartz JN, Sweep FCG, Taube S, Torlakovic EE, Valenstein P, Viale G, Visscher D, Wheeler T, Williams RB, Wittliff JL, Wolff AC: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28:2784-2795.Arch Pathol Lab Med 2010, **134**: 907–922>
57. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol.* 1999;17(5):1474–1481.
58. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, et al. Estrogen receptor analyses: correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med.* 1985;109(8):716–721.
59. Shousha S. Oestrogen receptor status of breast carcinoma: Allred/H score conversion table. *Histopathology.* 2008;53(3):346–347.
60. Collins LC, Botero ML, Schnitt SJ. Bimodal frequency distribution of estrogen receptor immunohistochemical staining results in breast cancer: an analysis of 825 cases. *Am J Clin Pathol.* 2005;123(1):16–20.
61. Nadji M, Gomez-Fernandez C, Ganjei-Azar P, Morales AR. Immunohistochemistry of estrogen and progesterone receptors reconsidered: experience with 5,993 breast cancers. *Am J Clin Pathol.* 2005;123(1):21–27.
62. Dawkins HJ, Robbins PD, Smith KL, Sarna M, Harvey JM, Sterrett GF, Papadimitriou JM: What's new in breast cancer? Molecular perspectives of cancer development and the role of the oncogene c-erbB-2 in prognosis and disease. *Pathol Res Pract* 1993; 189:1233-1252.

63. De Potter CR, Schelfhout A-M: The neu-protein and breast cancer. *Virchows Archiv* 1995; 426:107-115.
64. Kaptain S, Tan LK, Chen B: Her-2/neu and breast cancer. *Diagn Mol Pathol* 2001; 10:139-152.
65. Rosenthal SR, Weilbaecher KN, Quigley C, Fisher DE: Comparison of HER-2/neu oncogene amplification detected by fluorescence in situ hybridisation in lobular and ductal breast cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2002; 10:40-46.
66. Lal P, Tan LK, Chen B: Correlation of HER-2 status with estrogen and progesterone receptors and histologic features in 3,655 invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2005; 123:541-546.
67. Oakley 3rd GJ, Tubbs RR, Crowe J, Sebek B, Budd GT, Patrick RJ, Procop GW: HER-2 amplification in tubular carcinoma of the breast. *Am J Clin Pathol* 2006; 126:55-58.
68. Shin SJ, Hyjek E, Early E, Knowles DM: Intratumoral heterogeneity of her-2/neu in invasive mammary carcinomas using fluorescence in-situ hybridization and tissue microarray. *Int J Surg Pathol* 2006; 14:279-284.
69. Brunelli M, Manfrin E, Martignoni G, Miller K, Remo A, Reghellin D, Bersani S, Gobbo S, Eccher A, Chilosi M, Bonetti F: Genotypic intratumoral heterogeneity in breast carcinoma with HER2/neu amplification: evaluation according to ASCO/CAP criteria. *Am J Clin Pathol* 2009; 131:678-682.
70. Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25:118-145.
71. Peppercorn J, et al: Molecular subtypes in breast cancer evaluation and management: divide and conquer. *Cancer Invest* 2008; 26:1.
72. Harris L, et al: American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25:5287.
73. Constantinidou A, Jones RL, Reis-Filho JS: Beyond triple-negative breast cancer: the need to define new subtypes. *Expert Rev Anticancer Ther* 2010; 10:1197-1213.

74. Correa Geyer F, Reis-Filho JS: Microarray-based gene expression profiling as a clinical tool for breast cancer management: are we there yet?. *Int J Surg Pathol* 2009; 17:285-302.
75. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D: Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406:747-752.
76. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Eystein Lonning P, Borresen-Dale AL: Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:10869-10874.
77. Weigelt B, Horlings HM, Kreike B, Hayes MM, Hauptmann M, Wessels LF, de Jong D, Van de Vijver MJ, Van't Veer LJ, Peterse JL: Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types. *J Pathol* 2008; 216:141-150.
78. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, et al. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? J Clin Oncol 2005;23:7350–7360.
79. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. Clin Cancer Res 2004;10:5367–5374.
80. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. Clin Cancer Res 2008;14:1368-1376.
81. Wirapati P, Sotiriou C, Kunkel S, et al. Meta-analysis of gene expression profiles in breast cancer: toward a unified understanding of breast cancer subtyping and prognosis signatures. Breast Cancer Res 2008;10:R65.
82. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay topredict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. N Engl J Med 2004;351:2817–2826.
83. Habel LA, Shak S, Jacobs MK, et al. A populationbased study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node-negative patients. Breast Cancer Res 2006;8:R25.
84. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. J Clin Oncol 2006;24:3726–3734.
85. Sparano JA, Paik S. Development of the 21-gene assay and its application in clinical practice and clinical trials. J Clin Oncol 2008;26:721–728.

86. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A geneexpression signature as a predictor of survival in breast cancer. N Engl J Med 2002;347:1999–2009.
87. Buyse M, Loi S, van't Veer L, et al. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. J Natl Cancer Inst 2006;98:1183–1192.
88. Cardoso F, Van't Veer L, Rutgers E, et al. Clinical application of the 70-gene profile: the MINDACT trial. J Clin Oncol 2008;26:729–735.
89. Allen M Gown, Lynn C Goldstein, Todd S Barry, Steven J Kussick, Patricia L Kandalaft, Patricia M Kim and Christopher C Tse et al. High concordance between immunohistochemistry and fluorescence *in situ* hybridization testing for HER2 status in breast cancer requires a normalized IHC scoring system. modpathol.2008, 83: 1271–1277.
90. *Schnitt SJ. Will molecular classification replace traditional breast pathology? Int J Surg Pathol 2010,* ***18:*** *162S–166S*