

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZĂ DE DOCTORAT
REZUMAT

*CONTRIBUȚII LA STUDIUL HISTOLOGIC
AL PATOLOGIEI TUMORALE A SÂNULUI*

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC,
Prof. Univ. Dr. ȘTEFANIA CRĂIȚOIU

STUDENT DOCTORAND
MARIA CIOBANU

CRAIOVA 2013

CUPRINS

INTRODUCERE	3
STADIUL CUNOAȘTERII	3
CAPITOLUL I. Histologia și histofiziologia glandei mamare.....	3
CAPITOLUL II. Carcinogeneza la nivelul glandei mamare.....	4
CAPITOLUL III. Markerii moleculari ai cancerului de sân.....	4
CONTRIBUȚII PERSONALE	5
CAPITOLUL IV. Studiul histologic al carcinoamelor lobulare invazive de glandă mamară	5
CAPITOLUL V. Studiul imunohistochimic al carcinoamelor lobulare invasive de glandă mamară.....	7
CONCLUZII GENERALE	11
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	12

Cuvinte cheie : adenocarcinom de glandă mamară, variante histopatologice, markeri imunohistochimici

INTRODUCERE

Cancerul mamar este una din cele mai frecvente tumori maligne întâlnite la femei, cu mortalitate și morbiditate în continuă creștere. Este o afecțiune multifactorială heterogenă, cu un spectru larg de subseturi fenotipice de tumori cu grad de agresivitate variat.

Toate aceste date m-au motivate în alegerea temei pentru lucrarea de față, care încearcă să sublinieze importanța examenului histologic și mai ales a imunohistochimiei în prognosticul și terapia tumorilor maligne mamare.

Studiul nostru și-a propus investigarea histologică și imunohistochimică a carcinoamelor mamare invazive.

În final au fost selectate pentru intervalul de timp investigat 2006-2011 un număr de 25 de cazuri de carcinoame lobulare invazive de glandă mamară ce au constituit obiectul studiului histopatologic, investigându-se principalele caracteristici morfologice microscopice.

A fost efectuată o analiză statistică cu ajutorul programului SPSS versiunea 11.0 pentru Windows.

Anticorpul folosit în studiul imunohistochimic au „știtit” îndeosebi prognosticul adenocarcinoamelor mamare lobulare invazive investigate.

STADIUL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL 1

HISTOLOGIA ȘI HISTOFIZIOLOGIA GLANDEI MAMARE

Glandele mamare, organe rudimentare la bărbat și fără semnificație patologică deosebită, la femeie sunt structuri complexe, hormonodependente axului hipotalamo-hipofizo-ovarian, asociate sistemului genital și care suferă alături de organele genitale feminine modificări morfofuncționale ciclice în perioada de activitate genitală a femeii, perioadă cuprinsă între inițierea ciclului menstrual (menarhă) și menopauză (marcată de oprirea ciclului menstrual).

Fiecare glandă mamară este structurată din lobi, în număr de 10-25 care sunt înconjurați de țesut conjunctiv și adipos. Fiecare lob glandular reprezintă o glandă tubulo-acinoasă compusă sau tubulo-alveolară ramificată. Lobii sunt alcătuiți din 20-40 lobuli. Fiecare lobul este format din 10-100 alveole (unități secretorii tubulo-saculare).

În structura fiecărui lob, deci în structura fiecărei glande mamare, există două componente: o componentă epitelială (parenchimul) și o componentă conjunctivă (stroma).

Glanda mamară prezintă variații structurale fiziologice în decursul vieții fiecărei persoane, variații dependente de etapele evolutive individuale și implicit de statusul hormonal al fiecărei persoane.

În decursul vieții individuale, începând cu dezvoltarea intrauterină a glandelor mamare, acestea prezintă modificări epitelio-mezenchimale permanente între pubertate și menopauză, peste care se suprapun modificări aparute episodice în perioadele menstruale și de graviditate.

CAPITOLUL 2

CARCINOGENEZA LA NIVELUL GLANDEI MAMARE

Deși există mai multe tipuri de cancer, procesul de bază, care se desfășoară în mai multe etape, este similar pentru toate tipurile de cancer și poartă denumirea de carcinogeneză. Carcinogeneza începe atunci când agenții cancerigeni determină deteriorarea ADN-ului într-o celulă (o mutație genică) și/sau modificări ale componentelor celulare sau ale activității celulelor, ceea ce le poate predispune la cancer. Degradarea mecanismelor de control care acționează în sensul inhibării proliferărilor celulare reprezintă un prim pas în carcinogeneză și această modificare dă naștere la clone.

Carcinogeneza umană este un proces care se desfășoară în mai multe stadii, este unul de durată și care în final conduce la transformarea celulei normale într-o celulă malignă. Se descriu următoarele etape: inițierea tumorală, promoția tumorală, conversia malignă și progresia tumorală.

Două tipuri de gene, protooncogenele și genele supresoare tumorale, joacă roluri importante în dezvoltarea unei tumori.

Au fost propuse cel puțin cinci modele de carcinogeneză: modelul mutațional, instabilitatea genomului, modelul non genotoxic, modelul darwinist și ultimul model bazat pe micromediu și pe teoria morfostazică.

CAPITOLUL 3

MARKERII MOLECULARI AI CANCERULUI DE SÂN

Fiecare tip de celulă prezintă biomarkeri care sunt caracteristici și prin care se identifică capacitatea genelor sau proteinelor de a-și îndeplini funcțiile. Biomarkerii reprezintă astfel o măsură obiectivă de evaluare a proceselor biologice normale, a proceselor patologice sau a răspunsurilor farmacologice la o anumită terapie. Ei pot de asemenea facilita definirea moleculară a bolilor, pot să furnizeze inform Studii de specialitate semnaleză existența unui număr mare de markeri tumoral care oferă posibilitatea gestionării bolnavilor de cancer prin depistarea precoce, corectitudinea diagnosticării și prin alegerea celei mai corespunzătoare alternative terapeutice, ceea ce este în beneficiul pacienților. Biomarkerii sunt folosiți pentru detectarea cancerului, diagnosticul corect, aprecierea prognosticului și selectarea tratamentului. Ei pot fi de asemenea folosiți și pentru a localiza tumora, pentru determinarea stadiului, subtipului acesteia și răspunsul la terapie.

Există mai multe categorii de markeri: markeri citogenetici și citokinetici, biomarkeri genetici, biomarkeri epigenetici, celule ca biomarkeri, biomarkeri virali, antigeni ai cancerului (biomolecule) bazați pe biomarkeri, biomarkeri metabolici, biomarkeri terapeutici.

Markerii moleculari specifici cancerului de sân sunt următorii: gena p53, HER-2/neu, RAS. Transformarea oncogenică într-o celulă normală apare când receptorul proteic HER-2 este supraexprimat la suprafața celulei. Mutațiile oncogenice ale genei RAS duc la schimbări în structura proteinei RAS care, la rândul ei, cauzează o creștere la nivelul RAS- GTP în celule.

CAPITOLUL 4

STUDIUL HISTOPATOLOGIC AL CARCINOAMELOR LOBULARE INVASIVE DE GLANDĂ MAMARĂ

Materialul histopatologic a provenit din cazistica Laboratorului de Anatomie Patologică a Spitalului Clinic de Urgență, Nr. 1, Craiova și a fost reprezentat de blocurile de parafină arhivate. În final au fost selectate pentru intervalul de timp investigat 2006-2011 un număr de 25 de cazuri de carcinoame lobulare invazive de glandă mamară ce au constituit obiectul studiului histopatologic.

Din registrul anatomopatologic de înscriere a cazuisticii am preluat datele privind diagnosticul histopatologic al afecțiunii și aspectele de macroscopie ale tumorilor pentru cazurile studiate retroactiv.

Menționăm că studiul histopatologic a investigat principalele caracteristici morfologice microscopice ale carcinoamelor lobulare invazive de glandă mamară.

Examenul histopatologic în conformitate cu clasificarea OMS (2003) a tumorilor de glandă mamară a dus la subîmpărțirea celor 25 de cazuri de carcinoame lobulare invazive în următoarele categorii, redate în **Tabelul 4.1**.

Tabelul 4.1 Aspectele clinicopatologice majore ale adenocarcinoamelor lobulare invazive de glandă mamară luate în studiu

Subtipuri histopatologice	Vârstă	Grad histologic			pTNM				N	
		1	2	3	I	II	III	IV	N0	N+
Clasic	45	+			+				+	
Clasic	56	+				+			+	
Clasic	58		+			+				+
Clasic	62		+				+			+
Clasic	64		+			+			+	
Clasic	55	+			+				+	
Clasic	61		+			+				+
Clasic	53				+				+	
Clasic	57	+			+				+	
Clasic	58	+				+				+
Clasic	69		+			+			+	
Alveolar	57	+				+			+	
Solid	59		+			+			+	
Solid	62		+				+			+
Solid	65			+			+			+
Solid	67			+				+		+
Tubulolobular	49	+			+				+	
Tubulolobular	55	+				+			+	
Trabecular	51		+				+			+
Pleomorf	58		+			+			+	
Pleomorf	63			+			+			+
Histiocitoid	58		+			+			+	
Histiocitoid	61		+				+			+
Histiocitoid	62		+				+			+
Histiocitoid	59	+				+			+	

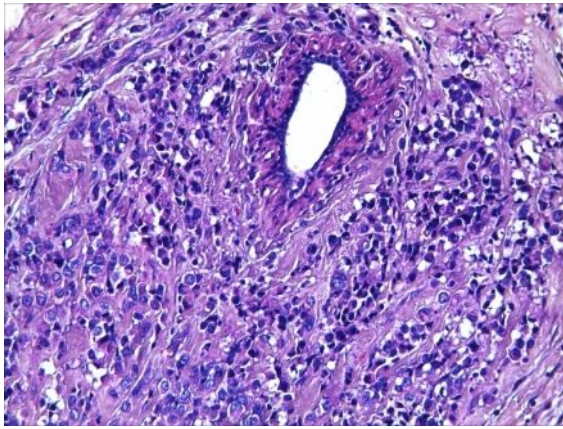


Fig. 4.2 Adcc. lobular invaziv mamar varianta clasică. Dispunerea targetoidă a celulelor tumorale pe mai multe linii circulare, concentrice în jurul unui duct restant dilatat- detaliu. Col HE, X100.

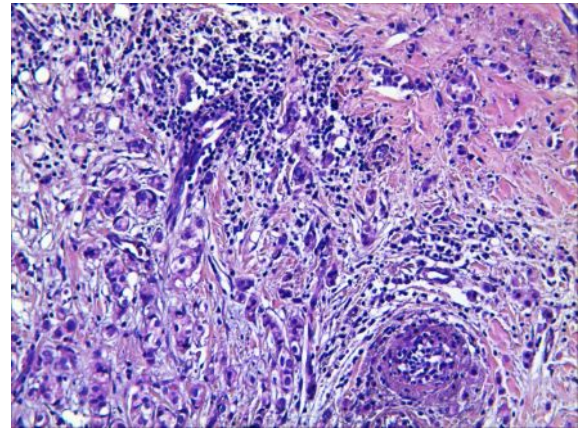


Fig. 4.7 Adcc. lobular invaziv mamar varianta clasică. Stromă fibroasă infiltrată inflamator. Col HE, X100.

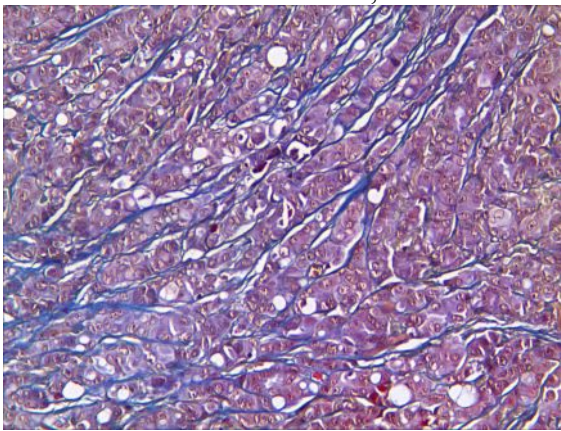


Fig. 4.14 Adcc. lobular invaziv mamar varianta solidă septuri fine conjunctive ce separă plajele carcinomatoase. Col tricromică Masson, X100.

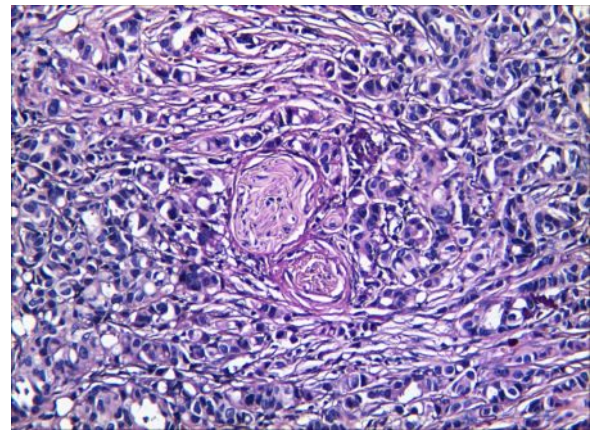


Fig. 4.20 Adcc. lobular invaziv mamar varianta solidă – detaliu cu invazia perineurală. Col HE, X100.

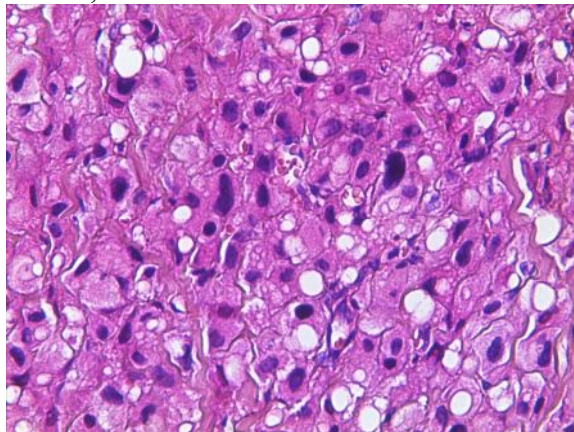


Fig. 4.24 Adcc. lobular invaziv mamar varianta histiocitoidă – proliferare carcinomatoasă solidă histiocit-like. Col HE, X200.

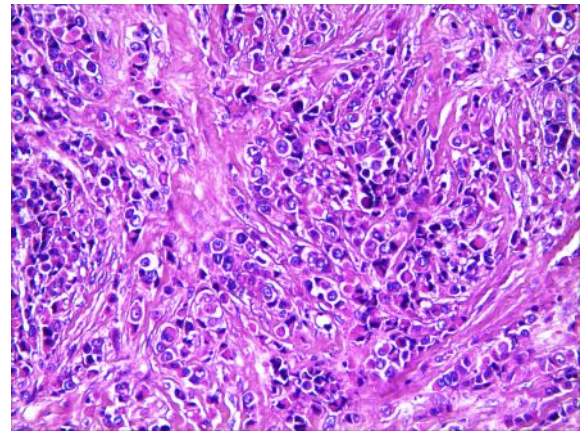


Fig. 4.33 Adcc. lobular invaziv mamar varianta pleomorfă – proliferări multifocale nodulare separate de o stromă fibroasă densă. Col HE, X100

Multe dintre caracteristicile clinicomorfologice ale carcinomului mamar lobular invaziv clasic au fost confirmate și de studiul nostru. Astfel, am evidențiat faptul că vârsta medie de diagnosticare a fost de 58 de ani, tumorile au fost în

principal cu gradul 1 de diferențiere (63,63%) și în peste 90% din cazuri stadiul pTNM a fost stadiul I/II și fără diseminare limfoganglionară (63.63%)

Referitor la cazurile non-clasice de carcinom mamar lobular invaziv studiul nostru a stabilit o vârstă medie de dezvoltare de 59 de ani, gradul de diferențiere tumorală a fost predominant 2 (50%), iar stadiul pTNM cel mai frecvent diagnosticat a fost stadiul II/III (fiecare cu câte 43%), în 50% fiind prezentă și diseminarea limfoganglionară. Totuși, când am comparat diferenții parametrii morfoclinici între cele două grupe histopatologice de carcinom mamar lobular invaziv clasic și non-clasic pentru ambele categorii de vârstă (<58 ani și >58 ani) nu am găsit nici o diferență semnificativă statistică

CAPITOLUL 5

STUDIUL IMUNOHISTOCHEMIC AL CARCINOAMELOR LOBULARE INVAZIVE DE GLANDĂ MAMARĂ

În studiul imunohistochemic, materialul cercetat a fost reprezentat de cele 25 de cazuri de carcinoame lobulare invazive de glandă mamară ce au constituit obiectul studiului histopatologic. Acest studiu a fost unul de tip cu detecție enzimatică folosind ca metodă de lucru tehnica LSAB (Labelled Streptavidin-Biotin2 System). Am utilizat anticorpi concentrați dezvoltați în șoarece sau iepure direcționați împotriva omului, ale căror principale caracteristici sunt redată în tabelul de mai jos (**Tabel 5.1**).

Tabelul nr. 5.1 Anticorpi utilizați în studiul adenocarcinoamelor mamare lobulare invazive

Anticorp	Clona	Demascare antigenică	Diluția	Control pozitiv
ER	1D5	citrat pH 6	1:40	Carcinom endometrial
PR	PgR 636	citrat pH 6	1:40	Carcinom endometrial
c-erbB-2		citrat pH 6	1:300	Carcinom mamar ductal invaziv
Podoplanină	D2-40	citrat pH 6	1:100	Amigdala
VEGF-C		citrat pH 6	1:100	Amigdala
Flt-4	BB49	citrat pH 6	1:100	Amigdala

Anticorpii folosiți în acest studiu au „țintit” îndeosebi prognosticul adenocarcinoamelor mamare lobulare invazive investigate. Astfel unii s-au adresat:

- ▶ evaluării statutului hormonal și încadrarea cazurilor în principalele grupe moleculare de cancer mamar: ER, PR și c-erbB-2;
- ▶ aprecierii microdensității vaselor limfatice: podoplanina;
- ▶ aprecierii potențialului prolimfangiogen al celulelor tumorale: VEGF-C și VEGFR-3.

Statusul combinativ al receptorilor a fost structurat pe 6 profiluri distincte după cum urmează: ER-, PR-, Her-2-; ER-, PR-, Her-2+; ER+, PR-, Her-2-; ER+, PR-, Her-2+; ER+, PR+, Her-2- and ER+, ER+, PR+, Her-2-.

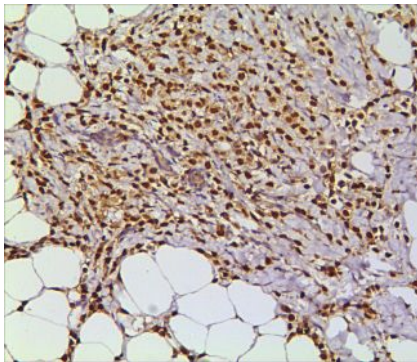


Fig. 5.3 Adcc. lobular invaziv mamar varianta clasică – Reactivitate nucleară la ER a proliferărilor neoplazice cu pattern targetoid. Col IHC-DAB, X100..

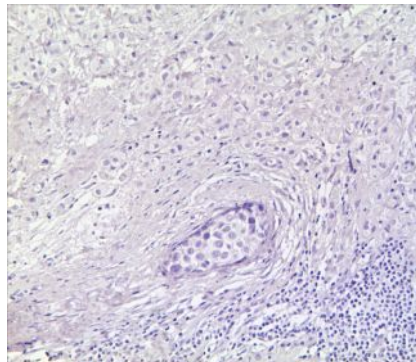


Fig. 5.7 Adcc. lobular invaziv mamar varianta clasică – Absența reactivității nucleare la PR a proliferărilor neoplazice și a carcinoamelor lobulare ”in situ” asociate. Col IHC-DAB, X100

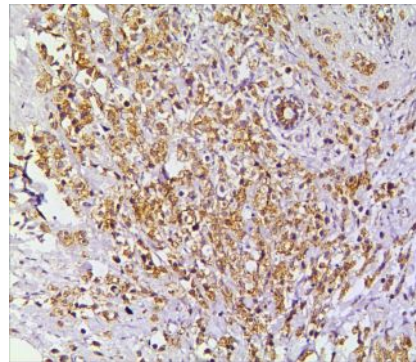


Fig. 5.10 Adcc. lobular invaziv mamar varianta clasică – Reactivitate Her2 membranară (scor 2) a proliferărilor neoplazice cu pattern targetoid. Col IHC-DAB, X100

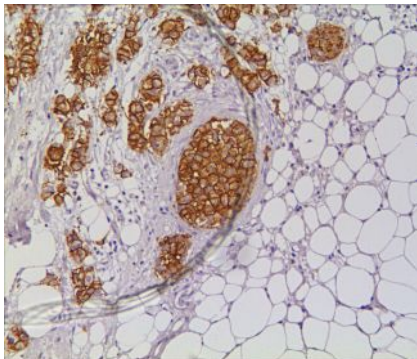


Fig. 5.12 Adcc. lobular invaziv mamar varianta clasică – Reactivitate Her2 membranară (scor 3) a proliferărilor neoplazice și a carcinoamelor lobulare ”in situ” asociate. Col IHC-DAB, X10

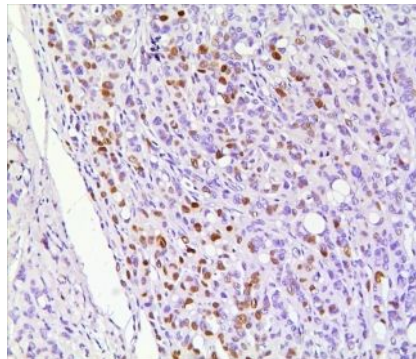


Fig. 5.15 Adcc. lobular invaziv mamar varianta solidă – Reactivitate nucleară la PR a proliferărilor neoplazice cu pattern solid. Col IHC-DAB, X100.

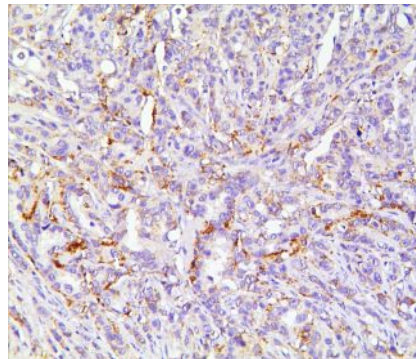


Fig. 5.17 Adcc. lobular invaziv mamar varianta solidă – Reactivitate Her2 predominant membranară (scor 2) a proliferărilor neoplazice cu pattern solid. Col IHC-DAB, X100

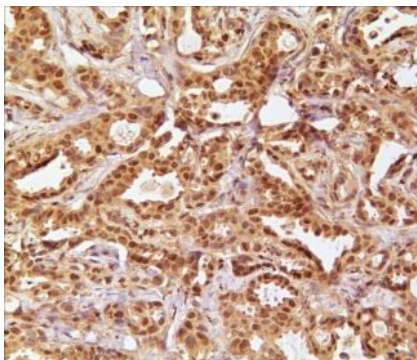


Fig. 5.26 Adcc. lobular invaziv mamar varianta tubuloalveolară – Reactivitate nucleară la ER a proliferărilor neoplazice cu pattern tubuloalveolar. Col IHC-DAB, X100

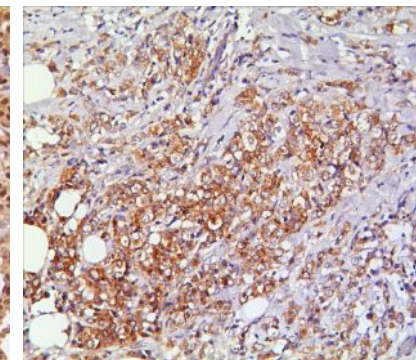


Fig. 5.36 Adcc. lobular invaziv mamar varianta pleomorfă – Reactivitate membranară la Her2 a proliferărilor neoplazice cu pattern pleomorf. Col IHC-DAB, X100.

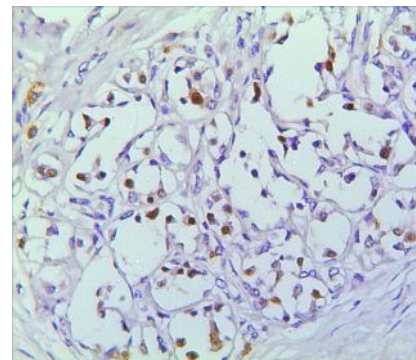


Fig. 5.40 Adcc. lobular invaziv mamar varianta alveolară – Reactivitate nucleară la PR a proliferărilor neoplazice cu pattern alveolar. Col IHC-DAB, X200.

Per total, în adenocarcinoamele lobulare invazive nonclasice procentajul statusului hormonal ER+ versus ER- nu a fost diferit pentru diferitele grupe de vârstă.

Nu am consemnat diferențe nici în ceea ce privește distribuția statusului ER versus grad de diferențiere tumorală, respectiv stadiul pTNM, sau invazia limfoganglionară. Referitor la statusul hormonal PR+ am observat frecvența sa mai mare printre pacienții de >59 de ani, în timp ce statusul PR- a fost mai întâlnit la bolnavele cu vârsta <59 de ani

Procentajul statusului Her2+ versus Her2- nu a înregistrat diferențe semnificative în funcție de grupele de vârstă. De asemenea nu au fost înregistrate diferențe nici în funcție de gradul de diferențiere tumorală, de stadiul pTNM și nici în raport cu invazia limfoganglionară $\chi^2(1, N = 14) = 0.000, p = 1.000$.

Cum în cadrul subtipului nonclasic cele mai frecvente subvariante au fost cele solidă și respectiv histiocitoidă am urmărit decelarea unor diferențe semnificative ale statusului hormonal versus invazie în cadrul acestor varietăți histopatologice. Procentajul statusului hormonal ER+ versus ER- nu a fost diferit pentru aceste 2 varietăți. În plus cele mai multe tumori PR+ au avut un pattern solid (toate cele 4 cazuri), în timp ce cazurile PR- au fost mai frecvent histiocitoide (3 din 4 cazuri). Toate tumorile Her2+ au fost de tip histiocitoid, în timp ce tumorile solide au în fost în cea mai mare parte Her2- (3 din 4 cazuri) Nu au existat diferențe în ceea ce privește statusul invaziei limfoganglionare între cele 2 varietăți. Diferențe nu au fost semnalate nici în ceea ce privește stadiul pTNM și nici gradul de diferențiere tumorală.

Analiza statistică (**Tabel 5.3**) a scos în evidență asocierea subtipului molecular luminal A cu subtipul histopatologic clasic de carcinom mamar lobular invaziv. Din cele 4 cazuri de carcinom lobular solid 3 au aparținut subtipului molecular luminal A, iar unul subtipului luminal B.

Pentru varianta histopatologică histiocitoidă am consemnat apartenența a două cazuri la subtipul Her2, iar a celorlalte două la subtipul molecular luminal B.

Cele două cazuri de carcinom lobular tubulolobular au corespuns din punct de vedere al clasificării moleculare subtipului luminal B, ca de altfel și singurul caz de carcinom lobular trabecular.

Singurul caz de carcinom alveolar a fost încadrat la subtipul molecular luminal A, iar pentru varianta pleomorfă s-a stabilit că unul din cazuri a corespuns subtipului molecular luminal B, iar celălalt a fost încadrat în subtipul Her2.

Din grupul carcinoamelor mamare lobulare nonclasice, subtipul pleomorf pare a fi o variantă particulară mult mai agresivă și cu un profil imunohistochimic distinct, respectiv cu o rată scăzută de expresie a receptorilor hormoni și o rată înaltă de expresie a receptorului Her2. Totuși datele referitoare la expresia receptorilor hormoni în această variantă particulară de carcinom lobular sunt controversate.

În plus indiferent de subtipurile moleculare sau histopatologice, microdensitatea vaselor limfatice a variat în același sens cu imunoreactivitatea pentru factorii proangiogeni VEGF-C și VEGFR3, valorile cele mai mari înregistrându-se în ariile peritumorale. Se pare că valorile cele mai mari ale

microdensității vaselor limfatice se corelează cu scorurile cele mai mari ale imunoreactivității markerilor VEGF-C și VEGFR3, mai ales în ariile peritumorale.

În cadrul cazuisticii investigate de noi am raportat o rată de expresie a lui VEGFR-3 de 64%, cu reactivitatea cea mai mare în subtipurile histopatologice clasic și solid, și respectiv în subtipurile moleculare luminal A și Her2, dar fără să existe diferențe semnificative statistice (cel mai probabil datorită numărului mic de cazuri). Totuși grupând datele în categorii mai largi, respectiv în grupele morfologice clasic și nonclasic, iar molecular în categoriile luminal A și luminal B, statistic am consemnat faptul că cele mai mari valori ale microdensității vasculare limfatice s-au corelat cu nivelurile cele mai mari ale expresiei VEGFR-3, în special în ariile peritumorale. În plus, expresia lui VEGFR-3 a fost semnificativ mai mare în subtipul molecular A comparativ cu luminal B

Tabel 5.3 Distribuția diverselor subtipuri histopatologice de adenocarcinom mamar lobular invaziv raportat la principalele subtipuri moleculare de cancer mamar

Subtipuri	ER, PR, HER-2 status			
	Basal like	Her 2	Luminal A	Luminal B
Clasic				+
Clasic				+
Clasic			+	
Clasic			+	
Clasic			+	
Clasic			+	
Clasic			+	
Clasic				+
Clasic	+			
Clasic			+	
Clasic				+
Alveolar			+	
Solid			+	
Solid				+
Solid			+	
Solid			+	
Tubulolobular				+
Tubulolobular				+
Trabecular				+
Pleomorf		+		
Pleomorf				+
Histiocitoid				+
Histiocitoid		+		
Histiocitoid		+		
Histiocitoid				+

CONCLUZII GENERALE

- In cadrul cazuisticii investigate au prevalat cazurile de carcinom lobular invaziv de tip non-clasic (54%);
- Cele mai frecvente subtipuri histopatologice ale carcinoamelor lobulare invazive non-clasice au fost cele cu pattern solid și histiocitoid;
- Aspectul extrem de heterogen al proliferărilor tumorale atât din punct de vedere al creșterii tumorale cât și al diferențierilor citologice face ca diagnosticul anatomopatologic al acestor variante să fie unul extrem de dificil. La aceasta se adauga asocierea în cadrul aceleiași tumori de mai multe patternuri, a unor arii de carcinom lobular in situ și chiar de carcinom ductal invaziv;
- Stratificarea histopatologică a cazurilor de carcinom lobular invaziv este utilă întrucât există diferențe notabile de reactivitatea pentru receptorii hormonali și respectiv Her2 și prin urmare și răspunsuri diferite ale acestor bolnavi la terapia cu inhibitori ai acestor receptori.
- Potrivit clasificării moleculare, cel mai frecvent întâlnit subtip în cazuistica investigată a fost cel luminal B (44%), urmat de cel luminal A (40%).
- Analiza statistică a evidențiat asocierea mai frecventă a tipului molecular Luminal A cu varianta clasică histopatologică de carcinom lobular invaziv.
- Deși nu am remarcat diferențe semnificative în ceea ce privește distribuția receptorilor hormonali și a receptorilor Her2 în raport cu principalii parametrii morfoclinici investigați, am constatat prevalența statusul PR- în rândul bolnavilor cu vârsta sub 58 de ani, în timp ce statusul PR+ a fost mai frecvent înregistrat la bolnavi de peste 58 de ani.
- Statusul combinativ cel mai frecvent întâlnit pentru această varietate de carcinom lobular invaziv a fost ER+PR-Her2+ și ER+PR+Her2-, fiecare cu câte 28,6%.
- Luând în considerare numai subtipurile moleculare A și B am consemnat cele mai ridicate scoruri imunoreactive ale markerilor pro-limfangiogeni VEGF-C și VEGFR3 îndeosebi în tipul luminal A.
- Un astfel de imunoprofil sugerează existența unui proces de limfangiogeneză specific în raport cu variantele histopatologice și moleculare de carcinom lobular invaziv, fapt ce poate avea certe implicații prognostice și terapeutice pentru bolnavii ce dezvoltă o astfel de formă de cancer mamar.
- Pe baza unui astfel de studiu aprofundat, cu utilizarea unui panel larg de markeri, cazuistica poate să fie mai bine încadrată în diferitele subtipuri, ceea ce este util aplicării celei mai eficiente conduite terapeutice, cât și aprecierii prognosticului și recurenței afecțiunii.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Arens N, Bleyl U, Hildenbrand R. Her2Neu, p53, Ki67, and hormone receptors do not change during neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Virch Arch* 2005; 446: 489-496.
2. Arnaout-Alkarain A, Kahn HJ, Narod SA, et al. Significance of lymph vessel invasion identified by the endothelial lymphatic marker D2-40 in node negative breast cancer. *Mod Pathol*. 2007;20:183-191.
3. Buchanan CL, Flynn LW, Murray MP et al. Is pleomorphic lobular carcinoma really a distinct clinical entity? *J. Surg. Oncol*. 2008; 98; 314–317.
4. Cangiarella J, O'Connell Mazzei E, Weg N, Limaye A, Waisman J. Aspiration biopsy in a case of apocrine adenocarcinoma with foam cells (myoblastomatoid or histiocytoid adenocarcinoma). *Diagn Cytopathol* 2002; 26: 320–23.
5. Choi WW, Lewis MM, Lawson D, et al. Angiogenic and lymphangiogenic microvessel density in breast carcinoma: correlation with clinicopathologic parameters and VEGF-family gene expression. *Mod Pathol*. 2005;18:143-152.
6. Ciobanu M, Eremia IA, Pirici D, Crăițoiu Ș. Breast invasive lobular carcinoma: a retrospective clinicopathologic study of 25 cases. *Rom J Morphol Embryol*. 2012;53(3):533-48.
7. Crăițoiu Ș. *Histologie specială*. Ed. Medicală Universitară, Craiova 2003.
8. Cristofanilli M, Gonzalez-Angulo A, Sneige N, et al. Invasive lobular carcinoma classic type: response to primary chemotherapy and survival outcomes. *J Clin Oncol* 2005;23:41–8.
9. Dabski K, Milgrom H, Stoll HL Jr. Breast carcinoma metastatic to eyelids: Case report and review of the literature. *J Surg Oncol* 1985; 29: 233–6.
10. Eisenberg BL, Bagnall JW, Harding CT III. Histiocytoid carcinoma: A variant of breast cancer. *J Surg Oncol* 1986; 31: 271–4.
11. El-Gohary YM, Metwally G, Saad RS, Robinson MJ, Mesko T, Poppiti RJ. Prognostic significance of intratumoral and peritumoral lymphatic density and blood vessel density in invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol*. 2008 Apr;129(4):578-86.
12. Fechner RE. Histologic variants of infiltrating lobular carcinoma of the breast. *Hum Pathol*. 1975;6:373-378.
13. Ferlicot S, Vincent-Salomon A, Médioni J, Genin P, Rosty C, Sigal-Zafrani B, Fréneaux P, Jouve M, Thiery JP, Sastre-Garau X. Wide metastatic spreading in infiltrating lobular carcinoma of the breast. *Eur J Cancer* 2004;40:336-341.
14. Gad A, Azzopardi JG: Lobular carcinoma of the breast: a special variant of mucin-secreting carcinoma. *J Clin Pathol* 1975, 28:711-6.
15. Geyer FC, Marchio C, Reis-Filho JS. The role of molecular analysis in breast cancer. *Pathology*. 2009;41(1):77-88.

16. Greene F, Page D, Fleming I: AJCC cancer staging manual. 6 edition. New York. Springer; 2002.
17. Jacobs M, Fan F, Tawfik O. Clinicopathologic and biomarker analysis of invasive pleomorphic lobular carcinoma as compared with invasive classic lobular carcinoma: an experience in our institution and review of the literature. *Ann Diagn Pathol.* 2012 Jun;16(3):185-9.
18. Jacquemier, J., Mathoulin-Portier, M. P., Valtola, R., Charafe-Jauffret, E., Geneix, J., Houvenaeghel, G., Puig, B., Bardou, V. J., Hassoun, J., Viens, P., and Birnbaum, D. Prognosis of breast-carcinoma lymphagenesis evaluated by immunohistochemical investigation of vascular-endothelial-growth-factor 3. *Int. J. Cancer,* 89: 69–73, 2000.
19. Kinsella MD, Nassar A, Siddiqui MT, Cohen C. Estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and HER2 expression pre- and post- neoadjuvant chemotherapy in primary breast carcinoma: a single institutional experience. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012;5(6):530-6. Epub 2012 Jul 29.
20. Kitamura H, Kitamura H, Shimizu S, Matsukawa H, Arita E. Histiocytoid breast carcinoma: A case report with immunohistochemical and ultrastructural studies. *Breast Cancer* 1996; 3:57–63.
21. Maynard PV, Davies CJ, Blamey RW, et al . Relationship between estrogen- receptor content and histological grade in human primary breast tumor. *Br J Cancer* 1978;38:745-8.
22. Merino MJ, Livolsi VA. Signet ring carcinoma of the female breast (a clinicopathologic analysis of 24 cases). *Cancer* 1981, 48, 1830–1837.
23. Mersin H, Yildirim E, Gulben K, Berberoglu U. Is invasive lobular carcinoma different from invasive ductal carcinoma? *Eur J Surg Oncol.* 2003;29:390-395.
24. Raica M, Cimpean AM, Ceausu R, Ribatti D. Lymphatic microvessel density, VEGF-C, and VEGFR-3 expression in different molecular types of breast cancer. *Anticancer Res.* 2011 May;31(5):1757-64.
25. Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N, et al. Prognostic significance of HER-2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *Int J Cancer.* 1991;49:44-49.
26. Rosen P, Oberman HA. *Tumors of Mammary Gland.* Washington, DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1993.
27. Rosen PP. *Rosen's breast pathology.* 3rd edn. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/ Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
28. Tashiro T, Hirokawa M, Iuchi K, Emoto K, Tanaka T, Monobe Y, Sano T. Cytology of pleomorphic lobular carcinoma with apocrine cell differentiation of the breast. A case report. *Acta Cytol.* 2003 Mar-Apr;47(2):265-9.

29. Taucher S, Rudas M, Gnant M, Thomanek K, Dubsky P, Roka S, Bachleitner T, Kandioler D, Wenzel C, Steger G, Mittlböck M, Jakesz R Sequential steroid hormone receptor measurements in primary breast cancer with and without intervening primary chemotherapy. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10: 91-98.
30. Williams CS, Leek RD, Robson AM, et al. Absence of lymphangiogenesis and intratumoral lymph vessels in human metastatic breast cancer. *J Pathol.* 2003;200:195-206.
31. Winston CB, Hadar O, Teitcher JB, et al. Metastatic lobular carcinoma of the breast: patterns of spread in the chest, abdomen, and pelvis on CT. *AJR Am J Roentgenol* 2000;175:795–800.