



**T. C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**METASTATİK VE NONMETASTATİK MEME
KARSİNOMLARINDA HÜCRE SIKLUS PROTEİNLERİNİN
(YB-1ve CDC6) EKSPRESYONU**

**Dr. Marina ÇEKİRDEK
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru SERİNSÖZ**

MERSİN-2011

**T. C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**METASTATİK VE NONMETASTATİK MEME
KARSİNOMLARINDA HÜCRE SIKLUS PROTEİNLERİNİN
(YB-1ve CDC6) EKSPRESYONU**

**Dr. Marina ÇEKİRDEK
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru SERİNSÖZ**

**Bu tez Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje
Koordinasyon
Birimi tarafından BAP-TF CTB (MÇ) 2010-5 TU proje numarası
ile desteklenmiştir.**

MERSİN-2011

ÖNSÖZ

Tez çalışmamda konunun belirlenmesinden tamamlanmasına kadar olan süreçte yardım ve desteğini sunan, ihtisasım boyunca öğrenimime katkıda bulunan ve mesleğimi sevdiren sayın hocam Doç. Dr. Ebru SERİNSÖZ'e teşekkür ederim.

Eğitimimde emeği geçen, bilgi ve tecrübelerini paylaşarak bir patolog olarak gelişimime katkıda bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Ayşe POLAT, Prof. Dr. Duygu DÜŞMEZ APA, Prof. Dr. Leyla CİNEL, Doç. Dr. İclal GÜRSES, Yrd. Doç. Dr. Tuba KARA ve Yrd. Doç. Dr. Rabia BOZDOĞAN ARPACI'ya teşekkür ederim.

İhtisasım süresince birlikte çalışma onuruna eriştiğim değerli meslektaşlarım Dr. Gülcan KAYA, Dr. Özlem GÜBÜR, Dr. Canan PORGALI, Dr. Didar GÜRSOY ve Dr. Esen ÖZYEDEK'e hayatıma neşe kattıkları ve birlikte yarattığımız o mükemmel çalışma ortamı için teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında immünohistokimyasal boyamaların hazırlanmasında baştan sona yardım ve emeğini esirgemeyen sayın Esin KANBER başta olmak üzere tüm laboratuvar personelimize teşekkür ederim.

Çalışma sonuçlarının istatistik değerlendirilmesinde yardım ederken sabır ve şevkat gösteren sayın Yrd. Doç. Gülhan OREKİCİ'ye teşekkür ederim.

Tezimi BAP-TF CTB (MÇ) 2010-5 TU proje numarası ile destekleyen Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim. Beni yetiştirerek bu günlere gelmemi sağlayan ve hala yardımlarını esirgemeyen annem Tatyana SAPLİNA ve babam Vladimir SAPLİN, kayınvalidem Fatma ÇEKİRDEK, en sıkıntılı anlarımda beni sabırla dinleyen ve yanımda olup desteğini esirgemeyen eşim Yılmaz ÇEKİRDEK'e, bana huzur ile kaygı birlikte tattıran ve en sıkıntılı günlerimde hayatın gerçek değerlerini hep hatırlatan kızlarım Melisa ve Nisa'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	7
1. GİRİŞ VE AMAÇ	9
2. GENEL BİLGİLER	11
2.1. Memenin Anatomisi	11
2.2. Memenin Embriyolojisi	13
2.3. Memenin Histolojisi	14
2.3.1. Prepubertal Dönemde Meme Histolojisi	16
2.3.2. Laktasyon Döneminde Meme Histolojisi	17
2.3.3. Postmenopozal Dönemde Meme Histolojisi	17
2.3.4. Erkek Memesinin Histolojisi	17
2.4. Meme Kanseri	18
2.4.1. İnsidans	18
2.4.2. Etyopatogenez	19
2.4.2.1. Ailesel Meme Kanseri	19
2.4.2.2. Sporadik Meme Kanseri	20
2.4.3. Karsinogenez Mekanizmaları	20
2.5. Meme Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflandırması	27
2.6. Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörler	30
2.6.1. Meme Tümörlerinin Moleküler Sınıflandırması	32
2.6.2. YB1	34
2.6.3. CDC6	36
2.6.4. D2-40	37
2.6.5. CD34	39
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	40
3.1. Olgu Seçimi ve Çalışma	40
3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme	41
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	45
4. BULGULAR	46
4.1. Vakaların Klinikopatolojik Özellikleri	46
4.2. ÖR, PR ve CerbB2 ile İmmünreaktivite Statüsü	48

4.3.	YB1, D2-40 ve CD34 ile Elde Edilen İmmünboyanma Sonuçları	49
5.	TARTIŞMA	64
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	69
	KAYNAKLAR	70
	SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	89
	ŞEKİLLER DİZİNİ	90
	TABLolar DİZİNİ	91

ÖZET

Y-box binding protein (YB1), tek sarmallı DNA ve RNA'ye bağlanan ve transkripsiyon, RNA metabolizması ve protein sentezini düzenleyici fonksiyona sahip olan evrim boyunca korunmuş bir protein ailesine aittir. Meme kanseri dahil malign lezyonlarda artmış YB1 ekspresyonu saptanmaktadır ve YB1 nükleer ekspresyonunun tümörün hızlı proliferasyonu, ilaç rezistansı ve kötü prognoz ile korele olduğu bilinmektedir. YB1'in nükleusa doğru yer değişimi hücre siklusu tarafından düzenlenmektedir.

Cell division cycle 6 (CDC6), hücre siklusunda ve DNA replikasyonunun başlatılmasında rol oynayan bir faktördür. İnsan kanser türlerinde en sık karşılaşılan ve p16^{INK4a}, p15^{INK4b} ve ARF (p53 gen aktivatörü) gibi tümör süpresör genleri kodlayan İNK4/ARF lokus inaktivasyonunun sebebinin CDC6'nın hatalı düzenlemesi olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca aberan DNA replikasyonuna neden olarak ve genomik instabiliteye yol açarak CDC6'nın onkogeneze katkıda bulunduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda meme kanseri olgularında YB1'in immünhistokimyasal ekspresyon paternleri ve menopozal durum, histolojik derece, hormonal reseptör durumu, aksiler lenf nodu durumu, tümör boyutu, lenfovasküler invazyon gibi klinikopatolojik özelliklerle ilişkileri yanı sıra CDC6 ekspresyonu araştırıldı. Lenfovasküler invazyon ve tümördeki damar yoğunluğu sırasıyla D2-40 ve CD34 immünhistokimyasal incelemesi ile değerlendirildi. Serimiz 30'u lenf nodu metastazı bulduran ve 30'u lenf nodu metastazı buldurmeyen toplam 60 meme karsinomu vakasından oluşmaktaydı. Çalışmamızda immünhistokimyasal ekspresyon formolde fikse parafine gömülü dokularda araştırıldı. CDC6, literatürdeki verilere göre tümör hücrelerinde nükleer ve daha az derecede sitoplazmik boyanma göstermektedir. Yayınlarda nükleer boyanmanın onkojenik özelliği belirlendiği bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda nükleer boyanma elde edilmediğinden boyanma sonuçları değerlendirmeye alınmadı. YB1 proteini çoğunlukla sitoplazmada yerleşimli olup, az oranda nükleusta da bulunmaktadır. Fakat proliferasyon düzenleyici rolünde nükleer lokalizasyonun kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Nükleer boyanma paterni lenf nodu metastazı olan 3 vakada izlendi. Sitoplazmik boyanmada lenf nodu pozitif ve lenf nodu negatif vakaların arasında boyanma skorlarında anlamlı bir fark saptanmadı.

Literatürde son çalışmalara göre YB1 boyanma paterninin ve boyanma tespitinin kullanılan antikor epitopuna bağı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ve östrojen reseptörü ve HER2 antikorlarında da olduğu gibi güvenilirliği üst düzeye taşımak için çalışılacak klonda standardizasyonun şart olduğu ortaya çıkmaktadır.

Anahtar kelimeler: CDC6, hücre siklusu, meme karsinomu, YB1.

ABSTRACT

Investigation of Cell Cycle Protein (YB1 And CDC6) Expression in Metastatic and Nonmetastatic Breast Carcinomas

The Y-box binding protein 1 (YB1) belongs to a family of evolutionarily conserved, multifunctional Y-box proteins that bind single-stranded DNA and RNA and function as regulators of transcription, RNA metabolism, and protein synthesis. YB1 is over-expressed in many malignant tumours, including breast cancer and nuclear expression correlates with high levels of proliferation, drug resistance, and poor prognosis. It's nuclear translocation is cell cycle-regulated.

Cell division cycle 6 (CDC6) is essential for the initiation of DNA replication. CDC6 deregulation may cause the inactivation of the INK4/ARF locus which encodes three important tumor suppressor genes: p16^{INK4a}, p15^{INK4b} and ARF, an activator of p53. Inactivation of this locus is one of the most frequent events in human cancer. The oncogenic properties of CDC6 can also arise from the genomic instability associated with the imperfect DNA replication.

In our study immunohistochemical expression patterns of YB1, its relationship to clinicopathological parameters such as menopausal status, grade, hormonal receptor status, nodal status, tumor size and vascular invasion and expression patterns of CDC6 were investigated. Lymphovascular invasion and microvessel density in tumor tissue were evaluated by D2-40 and CD34, respectively. Our cohort comprised of 30 axillary lymph node positive and 30 axillary node negative invasive breast carcinomas. Immunohistochemical expression of these markers were investigated in formalin fixed paraffin embedded tissues. According to the literature the nuclear expression of CDC6 is more predictive in its oncogenic property. In our study we didn't observe nuclear expression of CDC6 in tumour cells, therefore we didn't include CDC6 staining results in our statistical analysis. YB1 mostly locates in cytoplasm but its nuclear accumulation becomes more important in its proliferative function. In our study 3 metastatic breast cancer cases showed nuclear YB1 staining. There was no significant difference in cytoplasmic expression scores of YB1 between metastatic and nonmetastatic carcinomas.

Recent studies show that discrepancy in YB1 expression patterns and its assessment depends on the antibody epitope used. In order to get maximum reliability in staining estimation, as was made with estrogen and Her2 receptors, standardisation of available clones seems to be necessary.

Keywords: Breast cancer, CDC6, cell cycle, YB1.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri, deri tümörleri dışında kadınlarda en sık görülen malignitedir. Derinin skuamöz hücreli karsinomu ve bazal hücreli karsinomu göz önüne alınmadan 2008 yılında yapılan bir çalışmaya göre kadınlarda meme kanseri insidansı %26 ile birinci sıradadır¹. Yine aynı çalışmada kanser nedeni ölümler arasında meme kanseri %15 ile akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır¹. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 100000 kadın meme kanseri tanısı almakta ve 30000 kadın bu hastalık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Tüm dünyada her yıl yaklaşık olarak 1000000 yeni vaka görülmektedir². Ülkemizde Sağlık Bakanlığı 2008 yılı verilerine göre meme kanseri 19.9/100000 insidans ile kadınlarda en sık görülen kanserdir³. Mevcut diğer verilere göre, doğu bölgelerimizde 20/100.000, batı bölgelerimizde ise 40-50/100.000 oranında bir sıklık verilebilir⁴. Bu sıklık farkı, batı Türkiye'deki yaşamın Avrupa'dakine benzerliğinden kaynaklanmaktadır. Kadınlardaki 4 kanserden biri memede yerleşmekte olup, meme kanseri en sık kanserden ölüm nedenidir⁴. Sağlık Bakanlığı tarafından hesaplanmış 2012 yılı beklenen hasta sayısı 51990'dır⁴. Seksen yıldır meme kanseri insidansının artması, yeni tanı ve tedavi yöntemlerini geliştirmek amacı ile yoğun çalışmalar yapılmasına neden olmuştur¹.

Meme kanserli olguların büyük bir kısmı sporadik olmakla birlikte kalıtsal ya da ailesel meme kanserleri tüm meme kanserlerinin yaklaşık %13'ünü oluşturmaktadır⁵.

Over hormonlarının kritik rol oynadığı bilinmekle birlikte sporadik insan meme kanserinin fizyopatolojisi hala tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Bu konu üzerinde günümüzde çok sayıda moleküler ve immünohistokimyasal çalışma yapılmaktadır.

İnsan karsinogenezinde yer alan hücre siklus mediatörlerinin rolünün önemi tartışılmazdır. Hücre siklusu kontrol noktalarını düzenleyen genlerin kaybı veya fonksiyonel yetersizliği birçok insan kanserinde saptanmıştır. Bu tip genetik hasar, kanser gelişimi yanı sıra mevcut olan kanser tedavilerine direnç veya hassasiyet mekanizmalarında da rol oynamaktadır. Y-box binding protein-1 (YB1), hem ilaç dirençliliğinden sorumlu genleri, hem büyüme faktör

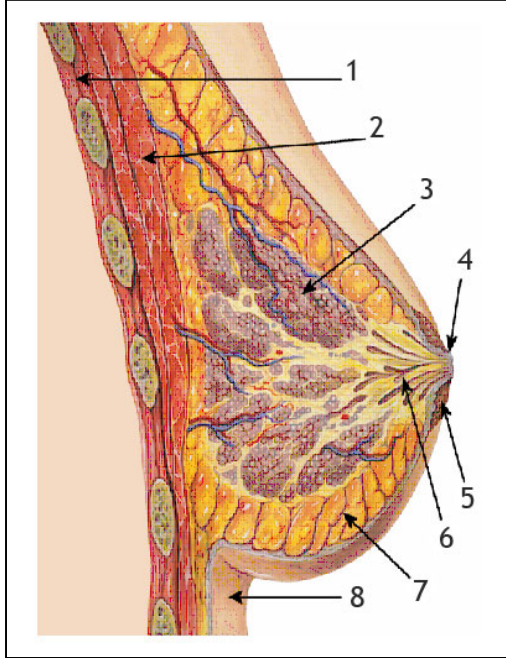
reseptörlerini aktive ederek hücre büyüme ve geniş spektrum ilaç dirençliliğinde önemli rol oynamaktadır⁶⁻⁹. Çeşitli çalışmalarda bu proteinin overekspresyonunun artmış hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu ve böylelikle bir kanser belirteci olduğu, farklı solid tümörlerde artmış YB1 ekspresyonunun klinik gidiş ile ters bir ilişkide bulunduğu ve nükleer ekspresyonunun kötü prognoz ile korele olduğu gösterilmiştir¹⁰⁻¹². YB1'nin sessizliği tümör hücre siklusunun arestine yol açarken önemli bir kanser moleküler tedavi hedefi olabileceği tahmin edilmektedir¹³.

CDC6'nın (cell division cycle 6), aberan DNA replikasyonunun sebebi olabileceği ve bazı kanser tiplerinde artmış ekspresyon göstermesi nedeniyle onkogeneziste yer aldığı düşünülmektedir^{14,15}. Ayrıca hücre bölünmesinde rol oynaması nedeniyle displastik ve malign hücre popülasyonunun saptanmasında konvansiyonel biyolojik belirteçlerinden daha hassas olabileceği öne sürülmüştür¹⁶.

Çalışmamızda formolde fikse parafine gömülü dokulardan elde edilen kesitlerde lenf nodu metastazı olan ve olmayan meme kansinomlarında immünohistokimyasal yöntem kullanılarak YB1 ve CDC6 proteinlerinin ekspresyonuna bakılmıştır. Aynı zamanda bu iki farklı meme kansinom grubunda CD34 ve D2-40 gibi kan ve lenfatik damar belirleyicileri kullanılarak tümör içerisinde mikrodamar yoğunluğu ve tümör çevresindeki damarlarda tümör trombüsü varlığı araştırılmıştır. Şüpheli vakalarda D2-40 belirleyicisi kullanılarak lenfatik damar invazyonunun varlığı ve böylelikle prognozunun belirlenmesinde faydası araştırılmıştır. İmmünohistokimyasal boyama aşamasında "double staining" yöntemi kullanılarak CD34 ve YB1 aynı kesit üzerinde değerlendirilerek tümör içinde vasküler yapılarda ve tümör hücrelerinde YB1 ekspresyon paterni araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Memenin anatomisi



- 1-Göğüs duvarı
- 2-Pektoral kas
- 3-Süt bezi lobları
- 4-Meme başı
- 5-Areola
- 6-Süt kanalları
- 7-Yağ dokusu
- 8-Cilt

Şekil 1: Normal meme anatomisi.

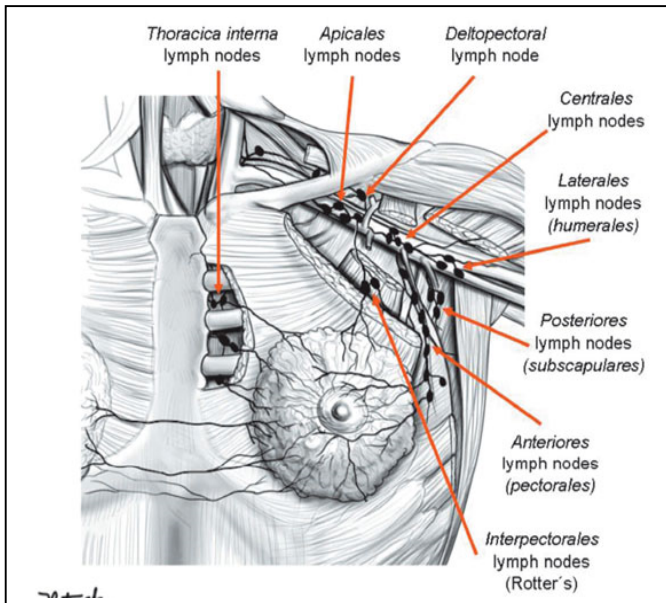
Temel görevi yeni doğana süt temini olan meme dokusu özelleşmiş bir epitel ve organa spesifik bir stromadan oluşmaktadır (**Şekil 1**). Ağırlığı 30 gr'dan az, 1000 gr'dan fazla olabilir. Memenin ağırlığı ve şeklini, dokunun çoğunu oluşturan yağ dokusu belirlemektedir⁶.

Meme, göğüs ön duvarında transvers ekseninde sternumun lateral kenarı ile orta aksiller hat arasında, vertikal ekseninde ise 2. ve 6. kostalar arasında yer alır ve aksillaya doğru kuyruk şeklinde (tail of Spence) uzanım göstermektedir¹⁷.

Ortasında 4. interkostal aralık hizasında meme başı ve bunun çevresinde pigmente bir alan olan areola bulunur¹⁸. Meme dokusunun yaklaşık 3/4 kadarı pektoralis major, kalan 1/4'lük kısmı ise lateralde serratus anterior kası üzerinde bulunur. Meme dokusu, üzerini örten deriye "Cooper' in asıcı bağları" ile tutunur¹⁷.

Meme, arteria torasica interna, arteria aksillaris ve arteria interkostalisler tarafından beslenir. Venöz drenajı internal torasik ven, vena interkostalisler ve

aksiller ven ile aksillaya doğru olur^{2,19}. Memenin sinirsel innervasyonu ise 4., 5. ve 6. torasik sinirlerin anterior ve lateral kutanöz dalları ile sağlanır¹⁸. Memenin aksiller, internal torasik ve posterior interkostal lenfatikler olmak üzere üç ana drenaj yolu vardır (**Şekil 2**). İlk meme lenfatikleri 1786 yılında Cruikshank tarafından ayrıntılı şekilde tarif edilmiştir. Yaklaşık 100 yıl sonra Sappey, laktasyondaki bir memeye lenfatikler yoluyla civa enjeksiyonu uygulandıktan sonra civanın areolanın altındaki bir damar pleksusuna doğru drenajını saptamıştır. Böylelikle memenin kutanöz ve parankimal lenfatikleri arasında kollaterallerin var olduğu ortaya çıkmıştır¹⁹. Kutanöz lenfatikler-memenin süperior, medial ve inferior kutanöz lenfatiklerinin çoğu-subareolar pleksus da dahil olmak üzere ipsilateral aksillaya drene olur. Memenin alt bölgesindeki kutanöz lenfatikler ise epigastrik pleksusa ve sonra karaciğere ve intraabdominal lenf nodüllerine giden lenfatiklere boşalabilir¹⁷. Memenin lenfatik akımının %75 ve daha fazlası aksiller lenfatiklere drene olmaktadır. Aksilladaki lenf nodülleri 6 gruptur ve interpektoral fasyada yerleşimli olanlar Rotter's lenf nodülleridir¹⁹. İnternal torasik lenfatikler, meme lenf akımının %25'ten azını taşır. Bu bölgeye ait lenfatik damarlar içe dönerek pektoralis major kasını ve interkostal kasları delip internal torasik meme nodüllerine ulaşırlar. Posterior interkostal lenfatikler, toraks içinde, kosta ve vertebraların birleşim yerlerinin önündeki posterior interkostal lenf nodüllerine açılır. Ayrıca supra- ve infraklaviküler ve intramammar lenf nodüllerine drene olan lenfatikler de mevcuttur¹⁹.



Şekil 2: Memenin lenfatik drenajı.

2.2. Memenin Embriyolojisi

İlk olarak gestasyonun 5. haftasında primitif süt çizgisi aksiller bölgeden inguinal bölgeye uzanan epidermal bir kalınlaşma olarak belirir²⁰. Fetüs gelişiminde göğüs bölgesi dışındaki alanlarda bu kalınlaşmaların büyük kısmı regrese olur. Süt çizgilerin gerilemediği yerlerde postnatal dönemde ektopik meme dokusu veya aksesuar meme başı görülebilir; bu fenomen en sık aksilla, meme altı katlantılar ve vulvada izlenebilir^{17,19}.

Fetal yaşamın erken evrelerinde meme gelişimi seks steroid hormonlarından bağımsızdır. On beşinci haftada meme dokusu geçici olarak testosterona duyarlı hale gelir. Testosteronun asıl hedefi mezenkimdir. Testosteron epitelyal sap etrafında yoğunlaşan mezenkimi stimüle ederek meme tomurcuğunun deri altında izole olmasını sağlar. Solid epitelyal sütunlar mezenkim içine gelişir ve segment-lob oluşumuna yol açar. Fetal papiller dermis gelişmekte olan epitelyal kordları örter ve sonunda meme duktuslarını ve loblarını saran vaskülarize fibröz stromayı oluşturur. Kollajenden zengin retiküler dermis Cooper ligamentini şekillendirir. Yirminci-otuzikinci gestasyonel haftalar arasında kollajenöz stroma içerisinde mezenkimden yağ dokusu gelişir. Son 8 haftada epitelyal kordlar dallanarak kanalize olur ve lobüloalveolar yapılar meydana getirir. Doğuma yakın meme başı oluşur. Gebeliğin son birkaç haftasında fetal meme bezleri maternal ve plasental steroid hormonlara duyarlı olup, asiner ünitelerde sekretuar aktiviteyi başlatır. Doğum sırasında maternal ve plasental seks steroid hormonları çekilince prolaktin sekresyonu başlar, bu da kolostrum sekresyonunu stimüle eder. Doğumu takiben ilk ayda kandaki hormon seviyesi düşer ve bezler inaktif hale gelir. Puberteye kadar meme dokusu genellikle hafif dallanma gösteren laktiferöz duktuslardan ibaret olur, bazen rudimenter lobuler yapılara rastlanabilir. Hayatının 4. ayına kadar fetal memede periduktal stromada ekstramedüller hematopoezis odakları görülebilir.

Erişkin meme bezi gelişimi pubertede östrojen ve progesteron siklik sekresyonuna bağlı olarak başlar. Fakat gelişiminde başka birçok steroid ve peptid hormon rol oynamaktadır. Östrojen etkisinden dolayı duktuslar uzar, dallanır ve döşeyici epitel kalınlaşır. Bu süreç progesterondan bağımsızdır. Rölatif östrojen dominansından dolayı periduktal bağ dokusu yoğunlaşır, yağ dokusu depolanır. Östrojenden sonra siklik olarak gelen progesteron etkisine

bağlı olarak lobüloasiner gelişim ve bağ dokusu büyümesi birbirine paralel olarak devam eder. Memenin gelişimi ağırlıklı şekilde pubertede gerçekleşip, 3. dekatta da devam eder. Terminal diferansiyasyon ise sadece gebelikte görülür. Menopozda ise parankimal lobüloalveoler yapıların regresyonu ile karakterli involüsyonel değişiklikler gerçekleşir^{17,19}.

2.3. Memenin Histolojisi

Erişkin kadının meme dokusu değişken miktarda fibröz doku ve yağ dokusundan oluşan stroma içerisinde gömülü lobüler asiner üniteler, duktüller ve duktuslardan ibarettir. Duktal-lobüler yapılar segmentler veya loblar oluşturmaktadır. Birçok kitapta meme başında 15-20 duktal orifis varlığından ve dolayısıyla memede bu kadar da lob sayısından bahsedilmektedir. Kontrast madde enjeksiyonu kullanan çalışmalarda ise sadece 5-10 adet ayrı meme duktal sistemi tespit edilmiştir. Meme başındaki duktal orifis sayısının ve gerçek meme duktal sistem sayısının arasındaki fark iki şekilde açıklanabilir: bazı orifisler sebace glandlara veya nonduktal tübüler yapılara aittir ya da bazı laktiferöz duktuslar meme başına açılmadan önce dallanır veya kör sonlanmaktadır.

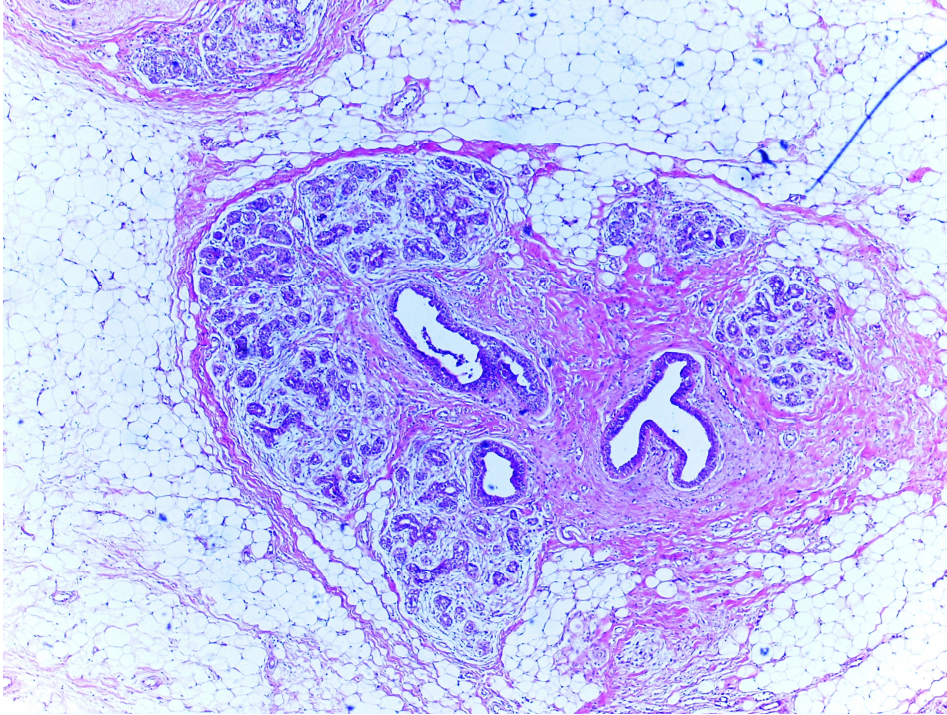
Her lob bağ dokusu ile sarıdır ve pek çok lobüle ayrılır. Lobüller, bazal lamina ile çevrili 10-100 kadar alveole dallanır. Alveollere duktül ya da asinüs de denir. Lobların herbiri meme başındaki laktiferöz sinüse açılır. Laktiferöz sinus, laktiferöz duktusların meme başına açılmadan önce oluşturduğu genişlemedir ve memenin segmental duktal sistemi bu sinüsle başlar.

Laktiferöz duktuslar major (segmental) duktuslara, major duktuslar ise terminal (subsegmental) duktuslara dallanır. Terminal duktuslar lobüllerde sonlanır. Her bir lobül ve bu lobun terminal duktusu memenin temel yapısal birimi olan terminal duktus lobüler ünitesini (TDLÜ) oluşturur (**Şekil 3**). Bu tübüler yapıları, içte tek sıra epitelyal hücreler, dışta myoepitelyal hücreler döşer. En dışta ise bazal tabaka bulunur.

Lüminal epitelyal hücreler, küboidal veya kolumnar şekilde olup, soluk eozinofilik sitoplazma ve üniform oval nükleusa sahiptir. Bu hücreler düşük moleküler ağırlıklı sitokeratinleri (7, 8, 18 ve 19) eksprese etmektedir.

Myoepitelyal hücreler, yassılaştırmış nükleuslu zor seçilebilen hücre şeklinden geniş şeffaf sitoplazmalı epitelioid hücre şekline kadar değişken

olabilirler. Bazen iğsi şekilde myoid görünümlü olanlarına da rastlanmaktadır. Myoepitelyal hücreler, S-100 proteini, Aktinler, Kalponin, Düz kas myozin ağır zinciri, p63, CD10 ve yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratinleri (5/6, 14 ve 17) eksprese edebilirler¹⁷. Ayrıca son çalışmalarda 3. tip myoepitelyal hücre saptanmıştır. Bu hücreler duktal-lobüler sistemde dağınık şekilde bulunurken hem glandüler epitelyal, hem myoepitelyal hücreye doğru diferansiyasyon gösterebilen progenitor hücreler olduğu düşünülmektedir. Fakat progenitor hücre varlığı henüz herkes tarafından kabul edilmiş bir görüş değildir²¹. Bazal tabaka, tip IV kollajenden oluşmaktadır. Laminin, meme duktuslarını, duktülleri ve asiner yapıları sarmaktadır.



Şekil 3: Normal erişkin kadın memesinde terminal duktal lobül ünitesinin morfolojik görünümü (H&E, x40).

İn situ ve invaziv karsinom dahil olmak üzere memenin patolojik durumlarının çoğunun TDLÜ'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Sıklıkla görülen lezyonlardan orta veya büyük çaplı duktuslarda gelişebilen tek lezyon soliter intraduktal papillomdur.

Lobülleri saran stroma yoğun, kollajenize fibröz stroma özelliği gösterirken lobül içi stroma daha gevşek ve mikzomatöz görünümündedir. İntralobüler stroma değişken sayıda lenfosit, plazma hücresi, makrofaj ve mast

hücreleri içermektedir. Ekstralobüler stromada ise bazen önemi bilinmeyen multinükleer dev hücreler görülebilir¹⁷.

Ektodermden gelişen ve doğumla birlikte veya doğumdan hemen sonra mezenkimal dokunun proliferasyonu ile oluşan meme başı çok sayıda sebace ve apokrin gland içerir¹⁷. Meme başı ve areolayı örten deri çok katlı yassı epitelden oluşmaktadır. Bazen epidermis içinde Paget hücrelerine benzer şeffaf hücreleri görmek mümkündür. On beş-yirmi beş adet laktiferöz duktus, meme başı tabanına ulaştıktan sonra laktiferöz sinüsü oluşturmak üzere dilate olurlar. Bu sinüsler, meme başı yüzeyinin hemen altındaki koni şeklindeki ampullada sonlanır. Laktasyonda olmayan memede ampulla tipik olarak lümende epitelyal döküntüler içerirken, laktasyon sırasında sütle dolar. Meme başının gövdesi sirküler ve longitudinal düz kaslar, kollajenöz ve elastik liflerden oluşur. Bu kas liflerinin kontraksiyonu, lokal venöz staz ile meme başı ereksiyonunu ve süt sinüslerinin boşalmasını sağlar. Areolar bölgede, sebace aparat ve ilgili laktiferöz duktusu içeren Montgomery glandları ve cilt üzerinde bu glandların açıldığı yerlerde oluşturdukları kabarıklıklar-tüberküller bulunur. Bunlar gebelikte genişleyerek sekresyon yaparken, sebace glandların tersine menopoiz sonrası involüsyona uğrarlar. Meme dokusunu örten deri; kıl follikülleri, sebace glandlar ve ektrin ter bezleri içerir. Buradan süperfisiyel fasyanın yüzeysel ve derin tabakalarına doğru fibröz bantlar uzanır. Fibrozis veya kitle etkisi ile bu fibröz bantların traksiyonu, meme başı ve meme derisinde çekintilere neden olur^{5,17}. Ayrıca meme parankimi içerisinde intramammar lenf nodülü görülebilir.

2.3.1. Prepubertal Dönemde Meme Histolojisi

Prepubertal dönemde meme dokusu, laktiferöz sinüsler ve laktiferöz duktuslardan oluşur. Bu dönemde meme dokusunda asinus ve lobül yapıları gelişmemiş durumdadır. Duktusları çevreleyen stroma ise gevşek bağ dokusundan oluşmaktadır. Fetal memede nadir de olsa ekstramedüller hematopioezis izlenebilmekte ve doğumdan sonraki ilk 4 aya kadar bu durum devam edebilmektedir. Bu nedenle prepubertal dönemde bazen duktusların arasındaki stromada persistan mononükleer hematopioetik hücreler görülebilmektedir¹⁷.

2.3.2. Laktasyon Döneminde Meme Histolojisi

Gebelik döneminde meme dokusunda epitelyal hücre proliferasyonu nedeniyle lobül ve asini sayısında dramatik bir artış olur. Bu dönemde epitelyal hücre proliferasyonu artmış östrojen, progesteron, prolaktin ve büyüme hormonu etkisiyle gerçekleşmektedir. Ayrıca adrenal glukokortikoidler ve insülin hormonu da bu dönemde etkilidir¹⁷.

Laktasyondaki memede lobülleri oluşturan asinuslar dilate görünümündedir. Asini epitelleri, büyümüş, sitoplazmik vakuolizasyonlar içeren, lümene doğru protrüzyonlar oluşturan, yer yer hobnail görünümünde hücrelerden oluşmaktadır. Myoepitelyal hücreler azalmış ve daha az belirgin şekil alır.

Laktasyon süresince lobüllerde involusyon gerçekleşir. Bu süreç aylar sürebilir. İnvolusyon gösteren lobüller sıklıkla plazma hücreleri ve lenfositler tarafından infiltre edilmiş görünümündedir. Bazen gebe olmayan kadınlarda izole sekretuar değişiklikler gösteren lobüller izlenebilmektedir. Buna sıklıkla rezidüel laktasyone lobül denmesine rağmen, kadın nullipar olabilir¹⁹.

2.3.3. Postmenopozal Dönemde Meme Histolojisi

Postmenopozal dönemde östrojen ve progesteronun azalmasına bağlı olarak TDLÜ'lerde atrofi ve involusyon gerçekleşir. Bu durum; asinusların büyüklüğü ve kompleksitesinde azalma ve özelleşmiş intralobüler stromada azalma ile karakterizedir. Duktuslarda ise değişken derecede ektazi izlenir. Postmenopozal memede glandüler doku ve kollajenöz stromada belirgin azalma ve adipöz dokuda belirgin artış olur. Postmenopozal dönemdeki involusyonun son aşamasında meme dokusunda hyalinize bağ dokusu ile çevrili ya da yağ dokusu içine gömülmüş durumda atrofik asinuslar ve duktuslardan oluşan TDLÜ'ler izlenir¹⁷.

2.3.4. Erkek Memesinin Histolojisi

Erişkin erkek memesi kadın memesinde olduğu gibi değişken miktarda kollajen ve yağ dokusundan oluşan stroma içerisine gömülmüş glandüler epitelyal yapılardan oluşmaktadır. Ancak glandüler epitelyal yapılar lobül formasyonu göstermeyen dallanan duktus yapılarından oluşur⁶.

2.4. Meme Kanseri

Çevre dokulara invazyon ve uzak organlara belirgin metastaz eğilimi ile karakterize bir grup malign epitelyal tümördür. Büyük çoğunluğu adenokarsinomlardır ve meme parankim epitelinden, özellikle de TDLÜ'den köken aldıklarına inanılır. Meme kansinmaları, farklı prognostik veya klinik karaktere sahip geniş bir histopatolojik yelpaze sergiler¹⁰. Meme kanserlerinin %15-30'u in situ karsinom, %70-85'i invaziv karsinomdur. İn situ karsinomların %80'i duktal, %20'si lobüler tiptedir. İnvaziv karsinomların %79'u invaziv duktal karsinom, %10'u invaziv lobüler karsinomdan oluşmaktadır^{2,5}. Kanseler dışında memenin diğler lezyonları; nonproliferatif meme değişiklikleri (duktus ektazisi, kistler, apokrin değişiklikler, hafif duktal epitelyal hiperplazi, adenozis, kompleks özellikler içermeyen fibroadenom), atipisiz proliferatif hastalıklar (orta-şiddetli duktal epitelyal hiperplazi, sklerozan adenozis, papillom, radyal skar, kompleks özellikler içeren fibroadenom), atipili proliferatif hastalıklar (atipili duktal hiperplazi, atipili lobüler hiperplazi) olarak sınıflanabilir⁶. Nonproliferatif meme değişiklikleri invaziv karsinom açısından risk taşımazken atipisiz proliferatif hastalıklar 1,5-2 kat risk taşımaktadır. Atipili proliferatif hastalıkların relatif riski ise 4-5 kattır²².

2.4.1. İnsidans

İnvaziv meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanserdir¹. Meme kanseri insidansı, birçok epitelyal tümör gibi, yaşla birlikte hızla artmaktadır. Kuzey Amerika ve Avrupa ülkeleri ile Avustralya gibi gelişmiş ülkeler yüksek risk altındaki ülkeler olup bu coğrafi lokalizasyonlarda 75 yaş altındaki kadınların % 6'sında invaziv meme kanseri görülmektedir²⁰. Meme kanseri riski, daha az gelişmiş Afrika, Güney Asya ve Doğu Asya ülkelerinde ise gelişmiş ülkelerdekini üçte biri kadardır. Düşük insidansa sahip tek gelişmiş ülkenin Japonya olduğu bildirilmektedir²³. Seksenli yılların başından itibaren hastalık riski, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde yükselmektedir. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı 2008 yılı verilerine göre meme kanseri 19.9/100000 insidans ile kadınlarda en sık görülen kanserdir³.

2.4.2. Etyopatogenez

Meme kanseri etyolojisi multifaktöriyel olup diyet, reproduktif faktörler, radyasyon maruziyeti, daha önceden var olan benign meme hastalıkları ve hormonal imbalans gibi faktörleri içerir. Reproduktif ve hormonal faktörler arasında erken menarş, geç menopoz, düzenli ovüler menstrüel sikluslar, oral kontraseptif kullanımı, nulliparite ve ilk full-term gebeliğin ileri yaşta olması yer almaktadır²⁰.

Meme kanseri gelişiminde en büyük risk faktörleri hormonal ve genetik (aile öyküsü) faktörlerdir. Buna bağlı olarak meme kanserleri, hormonal maruziyet ile ilişkili olan sporadik kanserler ve aile öyküsü ya da germ line mutasyonlar ile ilişkili olan herediter kanserler olmak üzere ikiye ayrılabilir⁵.

2.4.2.1. Ailesel Meme Kanseri

Ailesel meme kanserleri tüm meme kanserlerinin yaklaşık %13'ünü oluşturmaktadır⁵. Ailesinde meme kanseri öyküsü olduğu bilinen bir kadında meme kanseri gelişme riskinin yüksek olduğu yaklaşık 50 yıldır bilinen bir gerçektir. Birinci derece akrabalarından birinde meme kanseri olan bir kadında relatif risk 2,1'dir²⁰. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda bazı histolojik tipler [invaziv lobüler karsinom (İLK) ve invaziv tübüler karsinom] ve multisentrisitenin aile öyküsü ile ilişkili olduğu bildirilmiştir²⁰.

Ailesel kanserlerin %25'i BRCA1 ve BRCA2 genleri ile ilişkilidir. Her iki gen de tümör baskılayıcı olarak görev yapmaktadır ve bu genlerde fonksiyon kaybı sonucu malignite riski ortaya çıkar. Herediter karsinomlarda bir mutant BRCA geni kalıtsal olarak geçerken diğeri somatik mutasyonla inaktive olur. BRCA1 ilişkili meme kanserleri sıklıkla kötü diferansiye, sinsityal büyüme paterni olan, iterek büyüyen, lenfositik yanıt oluşturan ve hormon reseptörü ekspresyonu ya da Her-2/neu aşırı ekspresyonu olmayan tümörlerdir. BRCA2 ilişkili meme kanserlerinin ayrı bir morfolojik görüntüsü yoktur⁵.

Herediter kanserlerin %10'undan azı başka gen sorumluluğunda gelişmektedir²⁴. Şu an üzerinde en çok çalışma yapılan 5 farklı gen daha tanımlanmıştır⁵. Bu genler hücre siklus kontrol noktası kinaz geni (CHEK2), p53 geni (Li-Fraumeni Sendromu), fosfataz tensin homolog geni (PTEN) (Cowden Sendromu), serin/treonin kinaz (LKB1) geni (Peutz-Jeghers Sendromu) ve ATM (Ataksi telenjektazi taşıyıcılığı) genidir²⁴⁻²⁷. Sporadik meme kanserlerinde %19-

57 oranında p53 mutasyonu, nadir PTEN ve ATM mutasyonları görülürken LKBI geninin sporadik kanserlerde rol oynadığına dair kanıt yoktur⁵.

Tüm bu bilgilerin ışığında herediter kanserlerin üçte ikisi hala aydınlatılabilmemiş değildir. Varlığı tartışmalı olan BRCA3 geni ile ilgili çalışmalar devam etmektedir²⁸. Herediter kanser gelişimini açıklayabilmek için birçok zayıf penetran genin birlikte rol aldığı poligenik bir karsinogenezis modeli üzerinde çalışmalar sürmektedir²⁹⁻³¹. Bu modele göre çoğu meme kanseri bu gen kombinasyonlarına sahip kadınlarda ortaya çıkmaktadır. Bu genlerin tanımlanması, kadınların düşük risk ve yüksek risk gruplarına ayrılmasına olanak verebilmesi açısından önemlidir¹⁹.

2.4.2.2. Sporadik Meme Kanseri

Sporadik insan meme kanseri için en büyük risk faktörleri hormon maruziyeti ile ilişkili olan cinsiyet, doğurganlık, emzirme, dışarıdan östrojen kullanımı, menarş ve menopoz yaşı gibi faktörlerdir⁵. Bu kanserlerin çoğunluğu postmenopozal kadınlarda görülür ve östrojen reseptörlerini (ÖR) daha fazla eksprese ederler. Meme kanseri gelişiminde östrojenin iki büyük rolü vardır. Östrojen metabolitleri mutasyonlara neden olarak DNA'ya hasar veren serbest radikaller oluşturabilir³². Ayrıca östrojen, hormonal etkileri ile premalign lezyonları ve kanser hücre proliferasyonunu devam ettirmektedir⁵. Fakat bazı meme karsinomlarında ÖR negatiftir veya meme karsinomu yüksek östrojen maruziyeti olmayan kadınlarda da oluşabilir. Şüphesiz ki, meme kanseri gelişiminde başka mekanizmalar da rol oynamaktadır.

2.4.3. Karsinogenezis Mekanizmaları

Bütün dünyada tanı konulmuş meme kanseri vakalarının %40-75'ini duktal tip kanser oluşturmaktadır^{20,33}. Her bir meme kanserinde tek bir genetik veya fonksiyonel değişiklik bulunmaz. Genel karsinogenezis modeline göre normal bir hücre malign olmak için 7 yeni özellik kazanmalıdır. Bunlar kusurlu DNA onarımı, büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik, büyümeyi inhibe eden sinyallere duyarsızlık, apoptozisten kaçma, sınırsız çoğalma potansiyeli, devam eden anjiogenezis, dokulara invazyon ve metastaz yapma yeteneğidir^{5,34}. Herediter kanserlerde bu değişikliklerin bir ya da daha fazlası germ-line mutasyonlar ile olur. Her yeni özellik tek bir gendeki değişikliklerle ilgili

olabilir. Örneğin; ÖR genindeki değişiklik neticesinde hücre, büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik özelliğini kazanır. Diğer yandan p53 mutasyonunda olduğu gibi tek bir hücrenel değişiklik hücrenin bu özelliklerden birden fazlasını kazanmasını sağlayabilir. Çünkü p53 mutasyonu olan hücrelerde hücre siklusu, DNA onarımı ve apoptozis etkilenmektedir⁵.

Meme kanseri açısından en az risk taşıyan morfolojik değişiklik epitelyal hücre proliferasyonudur. Bu erken değişikliklerin büyüme karşıtı sinyallere duyarsızlık, apoptozisten kaçınma ve büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Bu erken dönemlerde bile hormon reseptörlerinin anormal eksprese edildiğine dair kanıtlar vardır. Heterozigosite kaybı neticesinde oluşan genetik instabilite daha sonra ortaya çıkan bir değişikliktir. Bu özellik proliferatif hastalıklarda nadiren tespit edilirken atipik hiperplazilerde daha sık görülmektedir. Duktal karsinoma *in situ*'da (DKİS) ise hemen her zaman genetik instabilite vardır. Nükleer büyüme, düzensizlik ve hiperkromazi şeklinde gözlenen belirgin anöplöidi sadece yüksek dereceli DKİS ve bazı invaziv karsinomlarda görülür. Sınırsız replikasyon potansiyelinin nedeninin DKİS'lerin duktal sistemi tamamen doldurma yeteneği olduğu düşünülmektedir. DKİS bulunan bazı duktusların çevresinde artmış anjiogenezis görülmektedir. Bunun nedeni malign hücrelerden gelen doğrudan uyarı, stromal hücrelerden gelen ikincil uyarı ya da myoepitelyal hücrelerde anjiogenezis inhibisyonunun kaybıdır⁵.

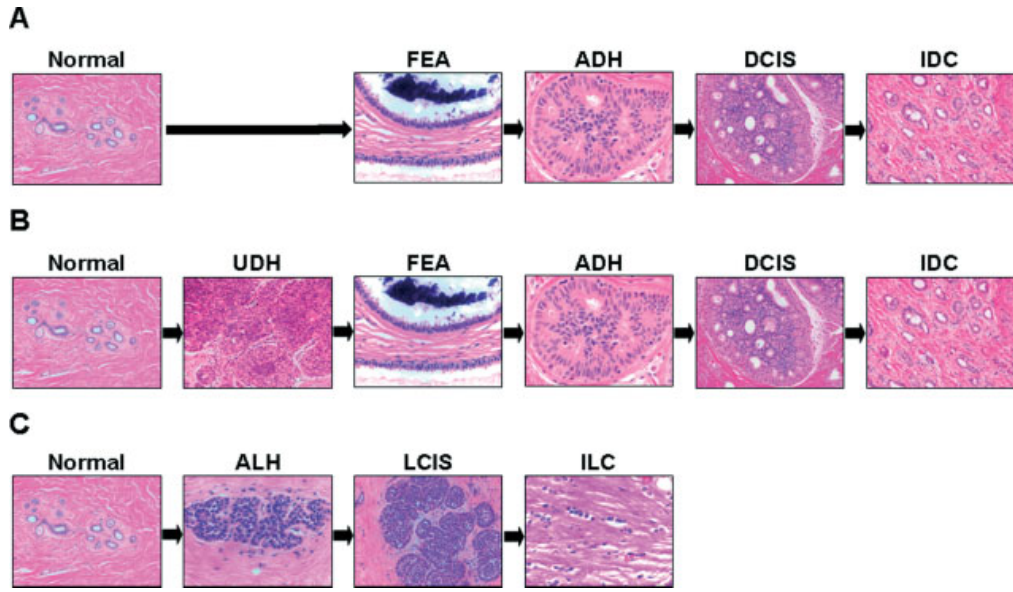
Karsinomların biyolojik ve morfolojik özellikleri genellikle *in situ* dönemde ortaya çıkar. Çoğu olguda *in situ* lezyon, eşlik eden invaziv karsinomla benzer özelliktedir.

Karsinogenezisin en son basamağı olan, duktuslarda ve lobüllerde bazal membranla sınırlı *in situ* lezyonun invaziv karsinoma dönüşmesi en az anlaşılan basamaktır. İnvazyon için gerekli özel gen fonksiyonlarının tanımlanması zordur. Meme kanseri progresyonunu araştıran güncel çalışmalardan elde edilen veriler ışığında benign proliferatif lezyonlar ve preinvaziv lezyonların invaziv karsinomlarla ilişkisi her geçen gün biraz daha aydınlatılmaktadır.

Epidemiyolojik ve morfolojik gözlemlerin sonucunda birkaç meme kanseri gelişim şeması oluşturulmuştur (**Şekil 4**)³⁵.

Duktal karsinom için iki gelişim şeması sunulmuştur: 1. Wellings ve arkadaşları tarafından sunulan şemada invaziv ve metastatik duktal karsinomun

mutlak prekürsörü olmayan flat epitelyal atipi (FEA), atipik duktal hiperplazi (ADH) ve DKİS mevcuttur³⁶⁻⁴⁰; 2. Epidemiyolojik çalışmaların sonucunda FEA ve DKİS arasındaki intermedian bir aşama olarak atipisiz (usual) duktal hiperplazi (UDH) öne sürülmüştür^{41,42}. Fakat immünohistokimyasal⁴³⁻⁴⁵ ve son moleküler biyolojik bulgular UDH'nin ADH'nin prekürsörü olmadığını ve böylelikle ikinci şemanın geçersiz olduğunu göstermektedir.



Şekil 4: A-Klasik duktal kanser gelişim şeması; B-Alternatif duktal kanser gelişim şeması; C-Lobüler kanser gelişim şeması. FEA, Flat epitelyal atipi; ADH, Atipik duktal hiperplazi, DCIS, Duktal karsinoma in situ; IDC, İnvaziv duktal karsinom; UDH, atipisiz duktal hiperplazi; ALH, atipik lobüler hiperplazi; LCIS, Lobüler karsinoma in situ; ILC, İnvaziv lobüler karsinom.

Lobüler tip kanser için invaziv lobüler karsinomdan önce atipik lobüler hiperplazi (ALH) ve lobüler karsinoma *in situ* (LKİS) içeren bir şema hazırlanmıştır.

Meme karsinogenezinde kanser hücre kaynağı açısından sporadik klonal gelişim modeli ve kanser kök hücre (cSC) modeli olmak üzere iki ana model kabul edilmektedir⁴⁶⁻⁴⁸. Birinci modelde herhangi bir meme epitelyal hücresi rastgele mutasyona uğrayabilmektedir. Bir süre sonra en uygun genetik ve epigenetik değişiklikleri içeren bu hücreler tümör gelişimine katkıda bulunabilirler. Alternatif cSC modelinde ise sadece kök ve progenitor hücreler

(kanser içinde bulunan küçük tümör hücre grubu) tümörü başlatmakta ve devam ettirebilmektedir. Bu iki hipotez birbirini ekarte etmemektedir. Kök hücreleri de klonal gelişime uğrayabilir ve böylelikle bu iki model arasında bir köprü olarak çalışabilmektedir^{49,50}.

Tümörün klinik davranışı histolojik derecesi ile ilişkili oluşu için ilk moleküler düzeydeki çalışmalar tümörün genomik değişiklikleri ile tümör derecesi arasındaki ilişki üzerinde durmaktaydı^{51,52}. Birçok çalışmada 16. kromozomun uzun kolundaki (16q) kayıp düşük dereceli İDK'da yüksek dereceli İDK'lara göre çok daha sık görülmüştür⁵³⁻⁵⁵. Daha da spesifik olarak söylemek gerekirse, düşük dereceli İDK'larda sıklıkla reküren 16q kaybı ve 1q, 16p ve 8q kazanımı izlenirken, yüksek dereceli tümörlerde 8p, 11q, 13q, 1p ve 18q kaybı, 8q, 17q, 20q ve 16p kazanımı ve 17q12 ve 11q13 amplifikasyonları mevcuttur⁵³. Bu bulgular, düşük dereceli İDK'ların yüksek dereceli İDK'lara dediferansiyasyon yolu ile dönüşme hipotezine karşı gelmektedir^{56,57}.

Perou ve arkadaşlarının moleküler düzeyde meme kanseri heterojenitesini anlamak için yaptıkları çalışmanın sonucunda gen ekspresyon profiline dayanarak iki reseptör pozitif (Luminal A ve Luminal B) ve iki reseptör negatif (ERBB2 ve bazal tip) olmak üzere dört "intrinsik" alt tip tespit edilmiştir⁵⁸⁻⁶². Bu dört tipe ek olarak Farmer ve arkadaşları mikroarray tekniği kullanarak araştırdıkları bir grup meme tümörü içinde apokrin moleküler alt tipi tarif etmiştir⁶³. Moleküler apokrin karsinomlar androjen reseptörü (AR) ekspresyon eder ve ÖR negatiftir. Bu tümör tipi bazal grup dışında kalan reseptör negatif olan tümörlerin çoğunu oluşturmaktadır ve tahminen bütün meme karsinomları arasında %8-14 oranında görülmektedir. Perou ve arkadaşlarının⁵⁸ çalışmasını takiben meme kanseri prognozunu belirleme potansiyeline sahip başka grup gen ekspresyonları da araştırılmıştır⁶⁴⁻⁶⁸. Bu çalışmada incelenen genler farklı olmasına rağmen prognoza etkilerinin benzer olması bu genlerin aynı biyolojik yolları kullandığını düşündürmüştür. Fan ve arkadaşları tarafından karşılaştırma yolu ile meme kanseri gen ekspresyonunu araştıran bir çalışmada bu biyolojik prensibin moleküler yollarının aslında tümör derecesi ve hücre proliferasyonunu içerdiğini göstermiştir⁶⁹. Bu görüşü destekleyen sonraki çalışmalar⁷⁰⁻⁷⁵ sadece tümör derecesi/proliferasyonunu gösteren gen

ekspresyonu belirleyicilerinin kompleks multi-gen ekspresiyonlu setlerle eşdeğer bir prognoza sahip olduğunu ortaya koymuştur.

İnvaziv lobüler karsinomlar (İLK), bütün invaziv meme kanserlerin %10-14'ünü oluşturmaktadır. Yapılan konvansiyonel sitogenetik ve karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) analizlerinde düşük dereceli İDK'larda görülen 16q reküren kaybı klasik İLK'da da saptanmıştır⁷⁶⁻⁸⁰. Bu bulgular, düşük dereceli İDK'un ve klasik İLK'un ortak bir genetik gelişme yolunu paylaştıklarını desteklemektedir⁸¹. Son zamanlarda Weigelt ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada İLK'a ait spesifik bir transkripsiyonel profil tespit edilmiştir. Bu profilde hücre adezyonu, hücreler arası sinyal iletimi ve aktin hücre iskeleti sinyal iletimi ile ilgili genler mevcuttur⁸².

Preinvaziv lezyonlarda yapılan çalışmaların^{54,54,83-93} sonuçları aşağıdaki gibi özetlenebilir: a) İDK gibi DKİS gelişimi, tümör derecesine bağlı iki farklı genetik yola sahiptir ve DKİS İDK'un direkt prekürsörüdür; b) ADH, düşük dereceli DKİS'nun prekürsörüdür; c) FEA, genetik olarak ADH'ye bağlıdır ve büyük olasılıkla onun prekürsörüdür; d) UDH, genomik düzeyde en çok normal meme epiteline yakındır ve ADH'nin prekürsörü değildir; e) Mikroglandüler adenozis, yüksek dereceli DKİS lezyonlarının prekürsörü olabilir.

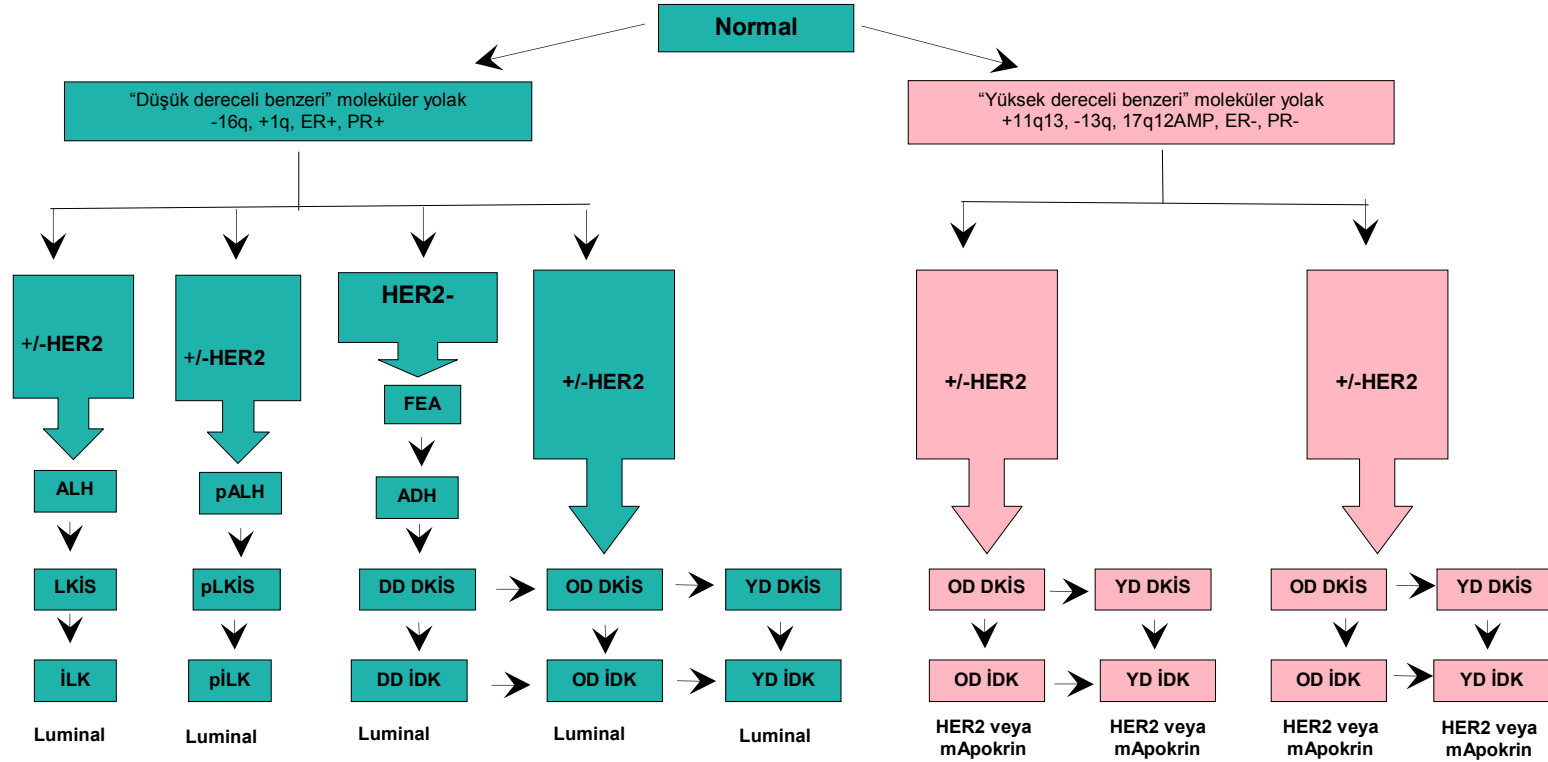
Ma ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada preinvaziv ve invaziv lezyonlar arasında major transkripsiyonel değişikliklerin olmadığı, gen ekspresyonundaki farklılıkların en belirgin yüksek dereceli lezyonlarda olmak üzere niteliksel olmaktan çok sayısal olduğu gösterilmiştir⁹⁴. Bu çalışmada özel bir grup gen ekspresyonunun tümör evresine değil, tümör derecesine bağlı olduğu ilk defa gösterilmiştir. Ayrıca, ADH ve düşük dereceli DKİS'nun (düşük dereceli İDK'nun da) neredeyse aynı olan gen profilinde östrojen reseptör fenotipi ile ilgili genlerin, yüksek dereceli DKİS'nun (yüksek dereceli İDK'un da) gen ekspresyon profilinde ise mitotik aktivite ve hücre siklusu ile ilgili genlerin bulunduğu tespit edilmiştir. Farklı birkaç çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir⁹⁵⁻⁹⁸.

LKİS'nun genomik değişikliklerini araştıran birkaç çalışmada ortak noktanın 16q kaybı olduğu gösterilmiştir^{80,98-100}. Böylelikle bu çalışmalar LKİS'nun İLK'nun direkt prekürsörü olduğunu göstermektedir. Ayrıca sabit 16q kaybı hem LKİS'nun, hem düşük dereceli DKİS ve İDK'un muhtemel ortak bir genetik gelişim yolu olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarda Mastracci ve

arkadaşları⁹⁹ ve Morandi ve arkadaşları¹⁰⁰, ALH, LKİS ve İLK'larda 16q kaybının ortak olduğunu ve böylelikle her üç lezyonun bir gelişim sekansına ait olduğunu göstermektedirler.

Geçmişte meme kanseri konusunda yapılan araştırmalar genellikle epitelyal hücrelerle ilgili idi. Tümör mikroçevresindeki non-neoplastik hücrelerin rolünü araştıran çalışmalar azdı. Daha sonra yapılan çalışmalarda, kanserin gelişiminde önemli yer alan non-epitelyal hücrelerle malign epitelyal hücreler arasında çift yönlü iletişimin varlığı tespit edilmiştir¹⁰¹⁻¹⁰⁴. Allinen ve arkadaşları, klon ile sınırlı genetik değişikliklerinin neoplastik epitelyal hücrelerde bulunduğunu, kanser gelişiminin devamında ise gen ekspresyon değişikliklerinin bütün hücrelerde gerçekleştiğini göstermişlerdir¹⁰⁵. Bu çalışmada gen ekspresyonları arasındaki farklılık en çok normal ve DKİS'deki myoepitelyal hücreler arasında tespit edilmiştir. Çalışmadaki genlerin bir kısmı, migrasyon, invazyon ve otokrin/parakrin kontrol mekanizmalarında rol alan proteinleri ve hücre üzerindeki reseptörleri kodlamaktaydı. Ayrıca, *in situ* ve invaziv karsinom arasında epitelyal hücrelerde gen ekspresyonunda bariz bir değişiklik saptanmazken stromal hücre genlerinde ve özellikle hücre dışı matriks proteinlerini ve matriks metaloproteinazlarını kodlayan genlerde belirgin ekspresyon değişiklikleri tespit edilmiştir⁹⁴. Bu değişikliklerin yanında aynı hücrelerde klonal genetik değişikliklerin olmaması böyle bir gen ekspresyon paterninden epigenetik modifikasyonların sorumlu olabileceğini düşündürmektedir^{35,106-107}.

Son on yıl içerisinde meme kanserinin farklı basamaklarında yapılan çeşitli genomik ve transkriptomik analitik çalışmaların sonucunda aşağıdaki yorumlar yapılabilmektedir: 1) tümör derecesine bağlı iki farklı moleküler genetik meme kanser gelişim yolağı mevcuttur (**Şekil 5**); 2) tümör mikroçevresindeki epitelyal ve non-epitelyal komponentlerde gen ekspresyon düzeyinde en büyük moleküler değişiklikler lokal invazyondan önce yer almaktadır; 3) epitelyal komponentte, meme kanserinin preinvaziv ve invaziv aşamaları arasında, major bir gen ekspresyon değişikliği olmaz; 4) non-epitelyal komponentte ise preinvaziv ve invaziv evreler arasında dramatik epigenetik değişiklikler ve gen ekspresyon değişiklikleri yer almaktadır³⁵.



Şekil 5: Farklı meme kanseri gelişim yolları. ALH, atipik lobüler hiperplazi; LKİS, lobüler karsinom *in situ*; pALH, pleomorfik atipik lobüler hiperplazi; pLKİS, pleomorfik lobüler karsinom *in situ*; FEA, flat epitelyal atipi; ADH, atipik duktal hiperplazi; Bazal, bazal-benzeri; mApokrin, moleküler apokrin; DD, düşük dereceli; OD, orta dereceli; YD, yüksek dereceli.

Genomik ve transkriptomik verilere dayanarak meme kanserinin farklı gelişim yollarından geçtiği tespit edilmiştir. Fakat klinik veriler, bu farklı yolların herbirinin içinde tümörlerin hala çok heterojen olduğunu ve bu geliştirilmiş moleküler şemanın bile çok basit kaldığını göstermektedir.

2.5. Meme Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflandırması

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO 2003) önerdiği sınıflama aşağıda verilmiştir²⁰.

Epitelyal Tümörler

İnvaziv duktal karsinom, NOS-Spesifiye edilmemiş

Mikst tip karsinom

Pleomorfik karsinom

Osteoklastik dev hücreli karsinom

Koryokarsinomatöz özellikler içeren karsinom

Melanotik özellikler içeren karsinom

İnvaziv lobüler karsinom

Tübüler karsinom

İnvaziv kribriform karsinom

Medüller karsinom

Müsinöz karsinom ve bol müsin içeren diğer tümörler

Müsinöz karsinom

Kistadenokarsinom ve kolumnar hücreli müsinöz karsinom

Taşlı yüzük hücreli karsinom

Nöroendokrin tümörler

Solid nöroendokrin karsinom

Atipik karsinoid tümör

Küçük hücreli karsinom / yulaf hücreli karsinom

Büyük hücreli nöroendokrin karsinom

İnvaziv papiller karsinom

İnvaziv mikropapiller karsinom

Apokrin karsinom

Metaplastik karsinomlar

Pür epitelyal metaplastik karsinomlar

Skvamöz hücreli karsinom

Spindle hücre metaplazili adenokarsinom

Adenoskuamöz karsinom

Mukoepidermoid karsinom

Mikst epitelyal / mezenkimal metaplastik karsinomlar

Lipidden zengin karsinom

Sekretuar karsinom

Onkositik karsinom

Adenoid kistik karsinom

Asinik hücreli karsinom

Glikojenden zengin şeffaf hücreli karsinom

Sebase karsinom

İnflamatuar karsinom

Lobüler neoplazi

Lobüler karsinoma in situ

İntraduktal proliferatif lezyonlar

Duktal hiperplazi (usual)

Flat epitelyal atipi

Atipik duktal hiperplazi

Duktal karsinoma in situ

Mikroinvaziv karsinom

İntraduktal papiller neoplaziler

Santral papillom

Periferik papillom

Atipik papillom

İntraduktal papiller karsinom

İntrakistik papiller karsinom

Benign epitelyal proliferasyonlar

Adenozis içeren varyantlar

Sklerozan adenozis

Apokrin adenozis

Blunt duktal adenozis

Mikroglandüler adenozis

Adenomyoepitelyal adenozis

Radial skar / kompleks sklerozan lezyon

Adenomlar

Tübüler adenom

Laktasyon adenomu

Apokrin adenom

Pleomorfik adenom

Duktal adenom

Myoepitelyal Lezyonlar

Myoepitelyozis

Adenomyoepitelyal adenozis

Adenomyoepitelyoma

Malign myoepitelyoma

Mezenkimal Tümörler

Hemanjiom

Anjiomatozis

Hemanjioperisitom

Psödoanjiomatöz stromal hiperplazi

Myofibroblastom

Fibromatozis (agresif)

İnflamatuar myofibroblastik tümör

Lipom

Anjiolipom

Granüler hücreli tümör

Nörofibrom

Schwannom

Anjiosarkom

Liposarkom

Rabdomyosarkom

Osteosarkom

Leiomyom

Leiomyosarkom

Fibroepitelyal Tümörler

Fibroadenom

Filloides tümör

Benign

Borderline

Malign

Periduktal stromal sarkom, düşük dereceli

Meme hamartomu

Meme Başı Tümörleri

Meme başı adenomu

Syringomatöz adenom

Meme başının Paget hastalığı

Malign Lenfoma

Diffüz büyük B hücreli lenfoma

Burkitt lenfoma

MALT tipi extranodal marjinal zon B hücreli lenfoma

Foliküler lenfoma

Metastatik Tümörler

Erkek Meme Tümörleri

Jinekomasti

Karsinom:

İnvaziv

İn situ

2.6 Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörler

Tanı anında tedaviden bağımsız olarak hastalığın seyri ile ilgili bilgi verebilen prognostik faktörlerin bulunması bir grup düşük riskli hastanın gereksiz tedavi almalarını önleyebilir. Prognostik faktörler genellikle tümörün büyümesi, invazyonu veya metastatik potansiyeli ile ilgili patolojik parametrelerdir. Rutin patoloji raporu içinde yer alan lenf nodu tutulumu, tümör boyutu, histolojik derece ve lenfovasküler invazyon gibi parametreler uzun zamandır kullanılan en önemli prognostik faktörlerdir. Prognostik faktörler yanı sıra uygulanacak tedavinin hedefini veya o hedefin ekspresyonu/fonksiyonu ile ilgili modülatörleri gösteren prediktif faktörler de mevcuttur. Her-2 ve hormon reseptörlerinin ise hem prognostik hem de prediktif rolleri vardır. Bu faktörler arasında tümör boyutu ve nodal tutulum daha çok tümör yükünü gösteren prognostik faktörlerken, hormon reseptörleri, tümör derecesi ve Her-2

ekspresyonu tümör biyolojisini yansıtan çoğu zaman prognostik ama aynı zamanda prediktif değerleri de olabilen parametrelerdir¹⁰⁸.

Tümör boyutu arttıkça aksiler nod tutulumundan bağımsız olarak nüks riskinin arttığı bilinmektedir.

Tutulan aksiller nod sayısı hem nüks hem de sağkalım ile yakından ilişkilidir. Lenf nodu tutulumu olan olgularda 5 yıllık sağkalım oranının %70-80, 5 yıllık nüks oranının ise yaklaşık %20 olduğu bilinmektedir.

Histolojik derece güçlü bir prognostik faktör olarak karşımıza çıkar ancak subjektif bir parametredir. Dereceyi saptamada sıklıkla kullanılan metod Bloom-Richardson derecelendirme sistemidir.

Histolojik derecenin hem relaps hem de meme kanserine bağlı ölümleri artırıcı bir prognostik faktör olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur¹⁰⁹⁻¹¹².

Lobüler ve duktal karsinomların prognozları benzerdir, ancak bazı nadir görülen *histolojik tiplerin* prognozu adjuvan sistemik tedavi gerektirmeyecek kadar iyidir. Bunlar arasında tübüler, müsinöz (kolloid), papiller, kribriiform, adenoid kistik ve medüller kanser sayılabilir. Bu histolojik tipler, genellikle tümör boyutu küçük olan nod negatif hastalarda görülür. Mikropapiller ve metaplastik histolojik tiplerin kötü prognozlu olduğu bildirilmiştir¹⁰⁸.

Hormon reseptörleri negatif olan tümörlerin en azından tedaviden sonraki ilk 5-10 yılda daha kötü prognozlu olduğu bilinmektedir. Son yıllarda hormon reseptörlerinin adjuvan kemoterapi açısından da bir prediktif değeri olduğu yapılan büyük randomize çalışmaların sonuçları ile ve EBCTCG'un (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group) metaanalizinde doğrulanmıştır. Reseptör negatif hastalarda kemoterapiden alınan mutlak fayda daha yüksektir^{113,114}. Her-2 aşırı ekspresyonu meme kanserli hastalarda bazı klinik sonuçlara yol açar. Her-2 pozitifliği kötü prognoz ile ilişkilidir; daha yüksek nüks ve mortaliteye yol açar. Bugün meme kanserinde Her-2 durumunun başlıca iki klinik kullanımı mevcuttur: a) kemoterapiye yanıtın öngörülmesi, b) monoklonal antikor tedavisinden yararlanabilecek hastaların seçimi^{115,116}.

Hücre siklusu, apoptozis, anjiogenezis ve hücre proliferasyonu ile ilgili çok sayıda belirtecin meme kanserinde prognostik ve prediktif rollerini araştıran pek çok yayın bulunmaktadır. Ancak bu faktörlerin hiçbirisi henüz prospektif çalışmalar çerçevesinde değerlendirilmediğinden, her yerde bakılması pratik

olmadığından veya test yöntemleri her koşulda aynı sonuca ulaşamadığından standart olarak kullanımı önerilmemektedir¹⁰⁸.

Son yıllarda yapılan gen ekspresyon çalışmaları spesifik genetik özelliklere göre adjuvan tedavi alması gereken hasta grubunun, klasik patolojik faktörlere göre adjuvan kemoterapi alması gereken gruba göre yüzde olarak daha az sayıda hastayı içerdiğini, yani nod negatif hastaların klasik prognostik faktörler çerçevesinde riskleri belirlenip, ona göre adjuvan tedavi almalarına karar verildiğinde gereğinden fazla kemoterapi aldığı sonucuna varırmıştır. Ancak bu veri henüz prospektif olarak doğrulanmamış olup Avrupa ve Amerika'da devam etmekte olan iki önemli prospektif çalışma bu soruyu gen ekspresyon profiline farklı metodlarla bakarak araştırmaktadır. Genetik araştırmaların sonucunda vakaların %30'unda, çoğunlukla kemoterapiden vazgeçilerek tedavi değiştirilmektedir¹¹⁷. Bunlardan Amerika ve Avrupa'da onaylı kullanılabilen iki tanesi Mammaprint^{118,119} ve Oncotype DX'dir¹²⁰⁻¹²³. Yetmiş genlik profil (Mammaprint) prospektif olarak MINDACT çalışmasında (Avrupa) klasik patolojik risk faktörlerine karşı test edilmektedir¹²⁴. Yirmi bir genlik RS (rekürens skoru) halen Amerika'da bir prospektif çalışma çerçevesinde değerlendirilmektedir (TAILORx)¹²⁵. Hem 70 genlik prognostik skorlamanın (Mammaprint), hem de 21 genlik rekürens skorun (RS) (Oncotype Dx) henüz prospektif çalışmalarla test edilmiş olmadıklarından tedaviyi belirlemede rutin kullanımı önerilmemektedir¹⁰⁸.

2.6.1. Meme Tümörlerinin Moleküler Sınıflandırması

Karsinomlarda DNA, RNA ve proteinlerdeki çok sayıda değişikliği inceleyen yeni teknikler sayesinde invaziv meme kansinimleri biyolojik özelliklerine göre de sınıflandırılmıştır^{59,66,126,127}. Östrojen reseptör pozitif ve negatif kanserlerin farklı gruplara ayrılması da şaşırtıcı değildir. Bunlar; düşük dereceli olan ÖR pozitif ve iyi diferansiye kanserler ile yüksek dereceli olan Her-2 pozitif ve bazal hücre benzeri kanserlerdir⁵. Bu bilgiler ışığında meme kanserleri gen ekspresyon profillerine göre Luminal A, Luminal B, Normal meme benzeri, Her-2/neu overeksprese eden ve bazal hücre benzeri tümörler olarak sınıflandırılmaktadır^{59,128} (Tablo 1).

Luminal tümörler ÖR eksprese eden tümörlerdir. Bu tümörlerin %20'sinden azında p53 mutasyonu görülür ve çoğunluğu derece 1 tümörlerdir.

Hem Luminal A tümörler hem Luminal B tümörler hormon reseptörlerini eksprese etmektedirler, ancak Luminal A tümörler daha çok ÖR ilişkili genleri eksprese ederken (en bilinenler PR, GATA3, Bcl-2, CK8 ve CK18), Luminal B tümörlerde Her-2/neu gibi proliferatif genlerin ekspresyonu fazladır¹²⁹.

ÖR negatif karsinomlar ÖR ekspresyon kaybı neticesinde ya da doğrudan normalde ÖR negatif olan hücrelerden gelişirler. Normal meme benzeri tümörler de ÖR negatif tümörlerdir. Her-2 pozitif karsinomlar genellikle az diferansiye tümörlerdir. Bu gruptaki tümörlerde %40-80 oranında TP53 mutasyonu izlenmektedir. Çoğunlukla derece 3 ve aksiller tutulumu olan tümörlerdir¹²⁹.

Diğer ÖR negatif tümör grubu olan bazal hücre benzeri karsinomlar, myoepitelyal hücre diferansiyasyonunu düşündüren bazal keratin, p-kadherin ve laminin ekspresyonu gibi özelliklere sahiptir ve herediter BRCA1 ilişkili karsinomlar bu gruba örtüşmektedir^{130,131}. Bu gruptaki tümörlerde ÖR ve Her-2 negatiftir.

Ayrıca meme kanseri subtipleri immünohistokimya kullanılarak da ayrılabilir¹³².

Tablo 1: Meme kanserinin moleküler tiplerinin immünohistokimyasal özellikleri.

	Luminal A	Luminal B	Bazal Hücre Benzeri	Her 2/neu (+)
Hormon reseptörü	+	+	-	-
Her- 2/neu	-	+	-	+
CK5/6	-	-	+	-
EGFR	-	-	+	-

2.6.2. YB1

Y-box binding (bağlayıcı) protein 1 (YB1) geni, 1. kromozomda 1p34 pozisyonunda bulunmaktadır. İlk kez, MHC klas II promoter bölgesine ait olduğu gösterilerek 1988 yılında bu ismi almıştır¹³³. YB1, tek sarmallı DNA ve RNA'ye bağlanan ve transkripsiyon, RNA metabolizması ve protein sentezini düzenleyici fonksiyona sahip olan evrim boyunca korunmuş bir protein ailesine aittir¹³⁴. Tüm omurgalılarda YB1 proteini aynı yapıya sahiptir: değişken N-terminal domain, sabit nükleik asit bağlayıcı CSD (cold-shock) domain ve C-terminal kuyruğu (tail domain)^{135,136}. Bu proteinler, soğuk etkisi, beslenme yoksunluğu, hipoksi veya genotoksik etki gibi çevredeki stres faktörlerine karşı hücresel yanıt oluşturmaktadır¹³⁵. YB1, hasar görmüş DNA'ya bağlanmaktadır; bloke olduğu zaman hücre DNA'ları zararlı ajanlara karşı daha hassas olmaktadır¹³⁷. Yüksek YB1 ekspresyonu kalp, kas, karaciğer, akciğer, adrenal bez ve beyin gibi insan fetal dokularda tespit edilmiştir¹³⁸. Bazı embriyonal dokularda, fetal karaciğerde, hasar görmüş ve rejenere olmakta olan karaciğerde¹³⁹ ve proliferatif kolorektal mukozada¹⁴⁰ güçlü YB1 protein ekspresyonu bu proteinin hücre proliferasyonu ile ilgili olduğunu göstermektedir. Meme kanseri^{9,141}, küçük hücre dışı akciğer karsinomu¹⁴², over seröz adenokarsinomu¹⁴³, osteosarkom¹⁴⁴, kolorektal karsinom¹⁴⁰ ve malign melanom¹⁴⁵ gibi birçok malign lezyonda artmış YB1 ekspresyonu saptanmaktadır ve nükleer ekspresyonunun tümörün hızlı proliferasyonu, ilaç rezistansı ve kötü prognoz ile korele olduğu gösterilmiştir¹⁰⁻¹².

YB1, birçok gen düzenleyicisinde bulunan Y-box dizisine (TAACC) bağlanıp, transkripsiyonu olumlu veya olumsuz şekilde etkileyebilmektedir. YB1, siklin A ve siklin B, matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) ve multi-drug rezistans 1 (MDR1, ilaç direnci geni 1) gibi proliferasyon ve kanser ile ilgili genleri aktif hale getirmektedir^{146-148,8}. Yüksek MMP-2 ekspresyonunun, meme karsinomlarında tümör agresivitesi ve azalmış sağkalım ile korele olduğu bilinmektedir¹⁴⁹. YB1, hücre ölümü ile ilgili reseptör FAS ve tümör supresör gen p53 gibi hücre ölümünde rol oynayan genleri baskı altında tutmaktadır¹⁵⁰⁻¹⁵². Ayrıca YB1, RNA splicing (uçları birleştiren) faktör SRp30c ile etkileşmekte ve T lenfositleri aktive eden IL-2'nin mRNA'ini stabilize etmektedir^{153,154}.

YB1 proteini çoğunlukla sitoplazmada yerleşimli olup, az oranda nükleusta da bulunmaktadır. Fakat proliferasyon düzenleyici rolünde nükleer lokalizasyonun kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Nükleusa doğru yer değişimi hücre siklusu tarafından düzenlenmektedir: YB1, G1/S fazı sırasında nükleusta birikmektedir¹⁴⁶. İnsulin-benzeri büyüme faktörü (IGF-1), interferonlar veya trombin ile tedavi, hipertermi ve UV radyasyon gibi hücre dışı uyarıcılara karşı cevap olarak YB1'in nükleer translokasyonunun başlatılabildiği gösterilmiştir^{146,155}.

Primer meme tümörlerin yaklaşık %80'ni 1. kromozomun artmış kopya sayısına sahiptir¹⁵⁶. IGF-1 uygulandığı zaman meme kanseri hücre serisi olan MCF-7 hücrelerinde YB1, Ser102 üzerinden Akt- bağlı fosforilasyona uğramaktadır; bu da YB1'in nükleer translokasyonunu ve anchorage-independent büyümeyi (malignite kriteri) sağlamaktadır¹⁵². Transgenik fare modelinde insan hemaglütinin etiketli YB1, sentrozom amplifikasyonu ve mitotik hata oluşturarak genetik instabiliteyi yaratmakta ve böylelikle çeşitli meme kansinomlarına yol açabilmektedir¹⁵⁷. YB1 aşırı ekspresyonu ayrıca epidermal büyüme faktör reseptörlerini (EGFR) aktive ederek insan meme epitel hücrelerine (HMEC) epidermal büyüme faktöründen bağımsızlığı kazandırmakta ve böylelikle tümör agresivite mekanizmalarında yer almaktadır⁶. Primer meme kanserlerinde YB1, EGFR ve Her-2 promoterlerine bağlanıp, onların ekspresyonlarını kontrol etmektedir⁷. ÖR- α pozitif vakalarda YB1 ekspresyonunun ortadan kaldırılması hem Her-2, hem ÖR- α , hem EGFR ekspresyonunu azaltmaktadır ve nükleer YB1 ekspresyonu HER-2 ile pozitif ve ÖR- α ile negatif korelasyon göstermektedir¹⁰. Hatta relaps ve sağkalım açısından YB1 ekspresyonu, ÖR ve HER-2 durumundan daha da ön plana çıkmaktadır^{10,11}. Ayrıca bir başka çalışmada tümör hücrelerindeki nükleer YB1 ekspresyonunun bu hücrelerde PR negativitesi ve kötü sağkalım ile korele olduğu saptanmıştır¹². DNA replikasyonunda önemli rol oynayan CDC6 (cell division cycle 6) geninin nükleer ekspresyonun da nükleer YB1'in kontrolü altında olduğu gösterilmiştir¹⁵⁸. Ayrıca farklı tümörlerin çevre stromal damarlarında YB1 ekspresyonu görülmektedir¹⁵⁹. Bu da YB1'in sadece tümör hücrelerinin değil, tümöre bağlı endotelial hücrelerin de büyümesinde rol oynadığını ve kanser tedavisinde bir moleküler hedef olabileceğini göstermektedir.

2.6.3. CDC6

Displastik ve malign hücre popülasyonlarının tespitinde artmış mitozun değerlendirilmesi geleneksel yöntemlerden biridir. DNA replikasyonunun başlatılması, hücre siklusundaki birçok sinyal yollarının bir araya gelmesi ile gerçekleşmektedir¹⁶⁰. Dolayısıyla bu aşamada yer alan faktörler bölünen hücre popülasyonunun belirlenmesinde başka konvansiyonel biyolojik belirteçlerden (Ki67, PCNA gibi) daha hassas olabilmektedir¹⁶.

Eukaryotlarda DNA replikasyonunu gerçekleştiren protein-kinaz kompleksleri G1-S faz geçişi sırasında aktifleşmektedir. Kromatinin replikasyona uygun bir şekil alması için G1 fazında ona pre-replikatif kompleksler (pre-RK) bağlanmaktadır¹⁶¹. Genetik ve biyokimyasal çalışmaların sonucunda pre-RK'lerin oluşmasında başlatma faktör rolünün birkaç proteine ait olduğu saptanmıştır¹⁶². Bunlar: ORC (Origin Recognition Complex-Başlama yeri belirleyen kompleks), CDC6, CDT1 ve MCM proteinleridir¹⁶².

Cell division cycle 6 (CDC6), ik kez 1976 yılında maya hücrelerinde hücre siklusunu durduran mutasyonları saptamak için yapılan genetik tarama sırasında saptanmıştır¹⁶⁰. Pregenomik dönemde insan CDC6 geninin klonlanması uzun zaman almıştır¹⁶³. Aslında CDC6 bütün eukaryotik hücrelerde mevcuttur ve onunla ilgili genler *Archaea* ailesine ait üyelerde de saptanmıştır¹⁶⁴. İnsanlarda CDC6 geni 17q21.3 bölgesinde yer almakta ve S-faz promoter genlerini kontrol eden E2F/retinoblastom transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlenmektedir¹⁶⁵⁻¹⁶⁷.

Yaklaşık otuz yıl önce replikasyonun başlatılmasında hata bulunduran maya mutant hücrelerinde CDC6 proteinin önemli fonksiyona sahip olduğu gösterilmiştir^{168,169}. Sonraki çalışmalarda CDC6'nın yüksek eukaryotik hücrelerdeki DNA replikasyonlarında kritik bir rol oynadığı^{170,171}, düzeyi düştüğü zaman insan hücrelerindeki proliferatif kapasitede kayıp olduğu gösterilmiştir^{172,173}.

Hücre transformasyonu sırasında retinoblastom-E2F transkripsiyon yolağının düzenlenmesi sıklıkla bozulmuş olmakta ve böylelikle CDC6 gibi genler kanser hücrelerinde artmış ekspresyon göstermektedir¹⁴. Nöroepitelyal doku tümörlerini, vestibüler schwannomları, meningiomları ve pituiter

adenomları içeren bir grup beyin tümörünün %55'inde yüksek CDC6 protein seviyesi saptanmıştır¹⁷⁴. Ayrıca bir grup mantle hücreli lenfoma¹⁷⁵ ve küçük hücre dışı akciğer karsinomlarının yarısında¹⁷⁶ yüksek CDC6 ekspresyonu tespit edilmiştir.

İnsan kanser türlerinde en sık karşılaşılan¹⁷⁷ İNK4/ARF lokus inaktivasyonunun sebebinin CDC6'nın hatalı düzenlemesi olabileceği gösterilmiştir¹⁵. İNK4/ARF loküsü üç önemli tümör süpresör geni kodlamaktadır: p16^{INK4a}, p15^{INK4b} ve ARF (p53 gen aktivatörü). Bu genlerin inaktivasyonuna yol açan CDC6'nın bu sayede onkojenik aktiviteye sahip olduğu ortaya konmuş olmaktadır. Ayrıca CDC6, aberran DNA replikasyonuna neden olarak genomik instabiliteye yol açıp¹⁷⁸⁻¹⁸¹, onkogeneze katkıda bulunabilmektedir¹⁴.

2008 yılında HER2/TOP2A amplifikasyonu gösteren meme kanseri kültür hücrelerinde yapılan bir genomik araştırmada HER2 ve TOP2A ile 17q12-q21 loküsüne komşuluk yapan ve amplifiye olan birkaç gen arasında CDC6'nın da yer aldığı saptanmıştır¹⁸². Başka bir çalışmada artmış CDC6 ekspresyonunun daha yüksek tümör derecesi ile korele olduğu gösterilmiştir¹⁸³. "Microarray" yöntemi ile yapılan diğer bir çalışmada ÖR pozitif meme karsinomu olgularında düşük CDC6 ekspresyonu iyi prognoz ile korele olarak bulunmuştur¹⁸⁴. Meme kanserli hastalarda yapılan son çalışmaların birinde CDC6'nın nükleer ekspresyonunun büyük ölçüde YB1'nin nükleer pozitifitesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur¹⁵⁸. Bu çalışmada ChIP (Chromatin immunoprecipitation) yöntemi yardımı ile YB1'nin CDC6 üzerindeki düzenleyici bölgeye bağlandığı gösterilmiştir.

2.6.4. D2-40

D2-40, insan podoplanine karşı üretilen bir belirleyicidir. Podoplanin, 38 kD ağırlığına sahip olan müsin tipi bir transmembran glikoproteindir¹⁸⁵. İlk kez 1986 yılında Bailey ve arkadaşları tarafından insan over epitelyal adenokarsinom kültür hücrelerine karşı monoklonal bir antikor (M2A, IgG2a) olarak üretilmiştir ve çalışmalarda fetal testis, seminomlar ve disgerminomlarda ekspresyonu gösterilmiştir¹⁸⁶. 1996 yılında Wetterwald ve arkadaşları tarafından keşfedilip, E11 antijen ismini almıştır. Lenfatik endotelial hücreler dışında koroid pleksus epitel hücrelerinde, tip I alveolar hücrelerde, osteoblastlarda ve peritoneal mezotelyal hücrelerde ekspresyonu saptanmıştır¹⁸⁷. 1997 yılında

Breiteneder-Geleff ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sıçanlarda puromisin etkisi altında gelişen nefroziste podositlerdeki ayak uzantılarda silinme olayında rol oynadığı için podoplanin adını almıştır¹⁸⁸. Daha sonraki araştırmalarda, podoplanin, onkofetal M2A, D2-40 ve tip1 alveolar hücre belirleyicisi hT1α-2'nin (ayrıca insan Aggrus olarak bilinen)- aynı protein olduğu gösterilmiştir^{185,189-191}.

D2-40 ilk başta bir lenfatik endotelial belirleyici olarak ortaya çıkmıştır¹⁹². Fakat takibeden çalışmalarda insan podoplaninin, peritoneal mezotelial hücreler, stromal retiküler hücreler, lenfoid dokudaki folliküler dendritik hücreler, osteositler, ependimal hücreler, hem germ, hem seks-kord stromal kökenli ovariyen ve testiküler hücreler gibi çeşitli normal özellikteki hücre gruplarında da ekspresyonu gösterilmiştir¹⁸⁵. Böylelikle D2-40 çeşitli hücre tiplerinde ve neoplazmlarda eksprese olabilir¹⁹³ (Tablo 2).

Tablo 2: D2-40 ekspresyonu gösteren tümörler.

Lenfanjiyoma
Kaposi sarkomu
Hemanjiyoendotelialyoma
Hemanjiyoblastoma
Adrenal kortikal karsinoma
Epitelioid mezotelialyoma
Primer deri adneksiyal karsinomu
Seminoma/disgerminoma
Folliküler dendritik hücreli tümör
Schwannoma
Epitelioid malign periferik sinir kılıfı tümörü

D2-40, meme kanseri dahil birçok tümörde lenfatik damarlar içinde tümör embolisini göstermek amacı ile başarılı şekilde kullanılmaktadır^{189,192,194,195}. Arnaout-Alkarain ve arkadaşları çalışmalarında lenf nodu negatif olan meme kanseri vakalarında D2-40 kullanarak lenfatik damar invazyonunun diğer klinikopatolojik faktörlerle korelasyonunu ve önemi araştırmışlardır¹⁹⁴. Çalışmaların sonucu olarak D2-40 pozitif lenfatik damar invazyonunun yaş, tümör boyutu, histolojik derece ve ÖR durumu ile korele olduğu saptanmıştır. Ayrıca multivaryant analizde uzak metastazın prognoza etki edebilecek tek önemli faktör olduğu tespit edilmiştir. Buna benzer sonuçlar Braun ve arkadaşları¹⁹⁵ ve Mohammed ve arkadaşlarının¹⁹⁶ çalışmalarından da elde edilmiştir.

Memede D2-40 ile boyanmayı yorumlamak bazen güç olabilir: myoepitelyal hücreler de pozitif boyanabilir ve bu durumda gerçek lenfovasküler invazyonu DKİS'dan ayırdetmek imkansızdır. Bunun gibi durumlarda p63 ve düz kas belirleyicileri yardımcı olabilir¹⁹⁷. Meme myoepitelyal hücreleri dışında D2-40 ayrıca epidermis bazal hücrelerinde¹⁹⁸ ve prostatik glandlarda¹⁹⁹ da eksprese olabilmektedir.

2.6.5. CD34

CD34 antijeni, 110 kD ağırlığında olup, transmembran siyalomüsin protein ailesinin bir üyesidir. Tüm hematopoietik kök ve progenitor hücrelerde eksprese edilmektedir²⁰⁰. Arındırılmış CD34+ olan hücreler radyasyon almış primatlarda²⁰¹ ve kemik iliği olmayan insanlarda²⁰² tam bir hematopoietik sistemi yeniden yaratabilmektedir. CD34 ekspresyonunu umbilikal kordda, hematopoietik hücrelerde, mezenkimal kök hücrelerde, endotelyal progenitor hücrelerde, kan damar endotelinde (plevral lenfatikler istisna olarak dahil), mast hücrelerinde, bazı dendritik hücrelerde ve bazı yumuşak doku tümörlerinde (GİST, PNST gibi) görmek mümkündür²⁰⁴. Bu protein, lenf nodundaki endotelde T-lenfositlerde bulunan L-selektine bağlanıp T-lenfositlerin lenf noduna girişini sağlamaktadır. Böylelikle CD34 önemli bir adezyon molekülü olarak çalışmaktadır²⁰⁴.

Weidner ve arkadaşlarının yaptığı meme karsinomlarında faktör VIII ile boyanan mikrodamarların yoğunluğunu değerlendiren bir çalışmada yoğun neovaskülarizasyon yakın ve uzak metastazların prediktif bir faktörü olarak ortaya çıkmaktadır²⁰⁵.

Martin ve arkadaşları tarafından meme karsinomunda anjiogenezisi araştıran bir çalışmada yüksek mikrodamar yoğunluğunun daha kötü prognoz ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, CD31, CD34 ve FVIIIIRAg gibi endotelyal belirleyiciler kullanılmış, CD34 en hassas ve güvenilir belirleyici olarak tespit edilmiştir²⁰⁶.

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Olgu Seçimi

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşiv materyalinden meme karsinomu tanısı almış mastektomi materyallerine ait H-E preparatlar ve parafin bloklar yeniden değerlendirilerek immünohistokimyasal çalışmalar için uygun ve yeterli doku içeren materyaller biyoistatistik bölümünden de danışmanlık alındıktan sonra çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu şekilde her biri 30 vaka içerecek şekilde iki gruptan (metastatik olan ve olmayan) oluşan çalışma serisi belirlenmiştir.

Lenf nodu negatif olan hastaların Haziran 2010 tarihine kadar olan takip verileri MeÜ Tıp Fakültesi Onkoloji Anabilim Dalı'ndan elde edilmiştir. Bu süre zarfında vakaların tamamı sağ, sağlıklı ve metastazsız olarak yaşamını devam ettirmekte olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Çalışma için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

Patoloji AD arşivinden temin edilen olgulara ait hematoksil-eozin boyalı preparatlar tekrar gözden geçirilmiştir. Her olgu için tümör ve çevredeki doku yeterliliği açısından uygun kesit ve bloklar seçilmiştir.

İnvaziv karsinomlarda histolojik dereceleme için, Bloom-Richardson Sistemi Nottingham Modifikasyonu kullanılmıştır. Bu sisteme göre histolojik derece, tübül formasyonu, mitotik aktivite ve nükleer pleomorfizm dikkate alınarak yapılan skora neticesinde elde edilmektedir (Tablo 3).

Tablo 3: Bloom-Richardson Sistemi Nottingham Modifikasyonu (51).

Tübül formasyonu	
1 puan	Tümörün %75'inde fazlasında tübül formasyonu
2 puan	Tümörde %10-75 arasında tübül formasyonu
3 puan	Tümörün %10'dan azında tübül formasyonu
Nükleer Pleomorfizm	
1 puan	Minimal
2 puan	Orta
3 puan	Belirgin

Mitoz sayısı (Mikroskop: Nikon Optiphot-2)	
1 puan	0-5 mitoz / 10 BBA
2 puan	6-10 mitoz / 10 BBA
3 puan	>11 mitoz / 10 BBA
Grade	
I	Skor: 3,4,5
II	Skor: 6,7
III	Skor: 8,9

Ayrıca invaziv karsinomlu olgularda rutin patolojik inceleme esnasında yapılan ÖR, PR ve Her-2/neu boyalı preparatları arşivden temin edilerek tekrar değerlendirildi. Olguların menopozal durumları hasta dosyaları incelenerek tespit edildi. Dosyalarında menopozal durumları ile ilgili bilgi olmayan olgulardan 50 yaş ve üzerinde olanlar postmenopozal, 50 yaş altında olanlar premenopozal olarak kabul edildi. Diğer klinik ve patolojik özellikler hasta dosyalarından ve patoloji formlarından elde edildi.

3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme

Çalışmamızda immünohistokimyasal inceleme aşamasında **D2-40** (1:50, mouse monoclonal, BIOCARE MEDICAL, USA, Catalog Number: CM 266 A, B, C), **CDC6** (1:500, rabbit monoclonal, EPITOMICS, USA, EPR714(2) klon ve 1:50, rabbit monoclonal, ASSAY BIO TECH, USA, protokol no Q99741), **CD34** (1:50, mouse monoclonal, BIOCARE MEDICAL, USA, Catalog Number: CM 084 A, B, C), ve **YB1** (D299) (1:50, rabbit poliklonal, CELL SIGNALING TECHNOLOGY, USA, Antibody #4202) antikorları kullanıldı. Double staining için **MACH 2 Double Stain 1** (Mouse-AP+Rabbit-HRP Polymer Detection Kit, BIOCARE MEDICAL, USA, Catalog Number: MRCT523 G, H, L), **Betazoid DAB Chromogen Kit** (BIOCARE MEDICAL, USA, Catalog Number: BDB2004 H, L, MM) ve **Vulcan Fast Red Chromogen Kit 2** (BIOCARE MEDICAL, USA, Catalog Number: FR805 H,S, M, BULK, 5L) kullanıldı. Seçilen parafin bloklardan polilizinli lam üzerine alınan 4-5 mikron kalınlığında kesitler aşağıdaki aşamalardan geçirilerek D2-40 immünohistokimyasal boyama işlemi uygulandı:

1. Parafin kesitler 60 derecedeki etüvde 1 saat bekletildi.

2. Ksilende iki kez 15'er dakika bekletildi.
3. Absolü alkolden iki kez 10'ar dakika geçirilerek dehidrate edildi.
4. Preparatlar distile suyla yıkandı.
5. Antijen retrieval aşaması uygulandı (düdüklü tencerede EDTA içinde 5 dakika kaynatıldı)
6. Distile suda yıkandı.
7. %3'lük H₂O₂ ile 10 dakika muamele edildi.
8. Distile su ile 5 dakika yıkandı.
9. Fosfatla tamponlanmış salin (PBS) solüsyonunda 5 dakika yıkandı.
10. Ultra V blok solüsyonu 5 dakika uygulandı.
11. Ultra V blok solüsyonu akıtılarak primer antikolar (D2-40) damlatıldı.
12. Primer antikor ile 90 dakika oda sıcaklığında nemli ortamda inkübasyon yapıldı.
13. PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı.
14. Biotinylated goat anti-polyvalent solüsyonunda 15 dakika bekletildi.
15. PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı.
16. Streptavidin peroksidaz solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
17. PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı.
18. AEC kromojeni 10 dakika uygulandı.
19. Kesitler distile suyla yıkandı.
20. Mayer hematoksilen ile 30 sn süreyle zıt boya yapıldı.
21. Musluk suyunda yıkandı.
22. Lamlar kurutuldu.
23. Mounting medium kullanılarak kapatıldı.

YB-1 ve CD34, CDC6 ve CD34 double staining boyanma prosedürü şu aşamaları içermektedir:

1. Parafin kesitler 60 derecedeki etüvde 1 saat bekletildi.
2. Ksilende iki kez 15'er dakika bekletildi.
3. Absolü alkolden iki kez 10'ar dakika geçirilerek dehidrate edildi.

4. Preparatlar distile suyla yıkandı.
5. Dödüklü tencerede EDTA içinde 5 dakika kaynatılarak antijen retrieval aşaması uygulandı (CDC6 için ayrıca sitrat buffer'de da yapıldı).
6. TBS Buffer'de 5 dakika yıkandı.
7. Lamlar kurutuldu.
8. Ultra V blok solüsyonu 10 dakika uygulandı.
9. Lamlar kurutuldu.
10. Ultra V blok akıtılarak dışarıda hazırlanan 100'er mikrolitre YB1 ve CD34 içeren primer antikor kokteyli aynı dokuya damlatıldı.
11. Primer antikor ile 90 dakika oda sıcaklığında nemli ortamda inkübasyon yapıldı (CDC6 için gece inkübasyonu da uygulandı).
12. Lamlar 3 defa TBS ile yıkandı.
13. Lamlar kurutuldu.
14. Mach 2 Double Stain uygulandı.
15. 30 dakika inkübasyon yapıldı.
16. Lamlar 3 defa TBS ile yıkandı.
17. Lamlar kurutuldu.
18. Betazoid DAB Chromogen 10 dakika uygulandı.
19. Lamlar 3 defa TBS ile yıkandı.
20. Lamlar kurutuldu.
21. Vulcan Fast Red Chromogen 15 dakika uygulandı.
22. Lamlar 3 defa TBS ile yıkandı.
23. Lamlar kurutuldu.
24. Mayer hematoksilen ile 30 sn süreyle zıt boya yapıldı.
25. Lamlar 3 defa TBS ile yıkandı.
26. Lamlar distile suda yıkandı.
27. Lamlar absolü alkolde 15 saniye yıkandı.
28. Lamlar kurutuldu.
29. Ksilenden geçirildikten sonra lamlar kapatıldı.

Çalışmamızda YB1 için immünohistokimyasal boyanma sitoplazmik ve nükleer pozitiflik olarak değerlendirildi. Sitoplazmik boyanma, yaygınlığı ve

yoğunluğu içeren skorlama sistemi kullanarak değerlendirildi: tümör hücrelerinin %25'ten azının boyanması skor 1; %25-50 arasında boyama skor 2; %50'den fazla boyanma ise skor 3 olarak kabul edildi. Boyanma şiddeti subjektif olarak zayıf, orta, güçlü ve buna göre 1, 2, 3 olarak skorlandı. Genel pozitiflik skoru ise yaygınlık ve yoğunluk skorlarının toplamı sonucu elde edildi.

D2-40 ve CD34 immünohistokimyasal boyanması lenfatik ve kan damar endotelinde pozitif boyanma olması durumunda pozitif olarak değerlendirildi. CD34 ve D2-40 için tümör kesitlerinde internal kontrolleri mevcuttu.

D2-40 immünohistokimyasal boyanma sonuçları değerlendirirken intralüminal tümör trombüs varlığına dikkat edildi.

CD34 immünohistokimyasal boyanması ile tümör içinde boyanmış mikrodamarların yoğunluğu değerlendirildi. Tümörün damar açısından en yoğun üç alanı seçildi (x400) ve boyanmış damar sayısı tespit edildi. En yakın damarla ilişkisi olmayan ve CD34 ile boyanmış her tek hücre veya hücre grubu ayrı bir kan damarı olarak kabul edildi. Üç farklı alanın CD34 pozitif damar/hücre grubu sayılıp toplandıktan sonra ortalaması alınarak damar yoğunluğu hesaplandı.

CDC6, literatürdeki verilere göre tümör hücrelerinde nükleer boyanma göstermektedir. Ancak kullandığımız 2 ayrı CDC6 klonu ile farklı immünohistokimyasal prosedürler (antijeni açığa çıkarma aşamasında hem sitrat buffer'de, hem EDTA'da, hem sitrat buffer-EDTA karışımı kullanılarak; primer antikor damlattıktan sonra farklı sürelerde—1 saat ve gece boyunca buzdolabında inkübasyon uygulanarak) denenmiş olmasına rağmen olguların tamamında zemindeki sitoplazmik boyanma dışında boyanma saptanmamıştır. Yurtdışından gelen, markası farklı olan başka bir kit uygulama protokolüne uygun şartlarında da denenmiştir: zeminde sitoplazmik boyanma dışında nükleer boyanma saptanmadı. Kontrol dokularda CDC6 ile bölümümüz dışında 2 farklı patoloji laboratuvarında da immünohistokimyasal olarak sadece zeminde sitoplazmik boyanma saptanmış, nükleer boyanma elde edilmemiştir. Bu nedenle çalışmamızda nükleer pozitifite saptanmayan CDC6 immünohistokimyasal inceleme sonuçları değerlendirmeye alınmamıştır.

Olgularda YB1, D2-40 ve CD34'ün lenf nodu metastazı olan ve olmayan meme karsinomu dokularındaki ekspresyon paterninin, ÖR, PR ve Her-2/neu ekspresyonu, menopozal durum, tümör derecesi ve boyutu, lenfovasküler invazyon gibi klinikopatolojik özelliklerle ilişkisi araştırıldı.

3.3 İstatistiksel Değerlendirme

Yaş parametresinin normal dağılıma uygunluk kontrolü Shapiro Wilk testi ile test edildi. Yaş parametresine ait tanımlayıcı istatistik olarak ortalama ve standart sapmaları verildi. Kategorik yapıdaki sonuçlar için tanımlayıcı istatistik olarak sayı ve yüzde değerleri verildi. Bağımsız iki grup arasında yaş ortalamaları karşılaştırmasında student t testi kullanıldı. Ayrıca bağımsız iki grubun oransal karşılaştırılmasında da z testi kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkilere de ki-kare analizi ile bakıldı.

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 11.5 ve MedCalc®v11.0.1 paket programı kullanıldı. Anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Vakaların Klinikopatolojik Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen 60 meme karsinomlu meme olgusunun tümü kadındı. Olguların 25'i (%41.7) operasyon sırasında premenopozal, 35'i (%58.3) postmenopozaldı.

Lenf nodu negatif olan 30 olgunun yaş ortalaması 52.2 idi. Bu olguların 13'ü (%40.3) tanı anında premenopozal, 17'si (%59.7) postmenopozal idi. Lenf nodu negatif otuz olguda invaziv tümör odağı çapı 1.0-5.0cm arasında değişmekteydi. Olguların 18'si (%60.0) pT1, 9'u (%30.0) pT2, 3'ü (%10.0) pT3 idi. Olgularda lenfovasküler invazyon saptanmadı. Tümör derecesi 7 (%23.3), 14 (%46.7) ve 9 (%30) olguda sırasıyla derece 1, 2 ve 3 olarak tespit edildi. Bu otuz vakalık grupta histopatolojik olarak 23 olgu (%76.7) İDK, 2 olgu (%7.7) İLK ve 5 olgu (%16.6) mikst karsinom olarak sınıflandırıldı. Olguların klinik özellikleri Tablo 4'de özetlenmiştir.

Tablo 4: Lenf nodu negatif olan (LN₀) vakaların klinikopatolojik özellikleri.

Özellik	LN ₀ (n=30)
≤ 49yaş (premenopoz)	13 (%40.3)
≥ 50yaş (postmenopoz)	17 (%59.7) (p=0.2133)
Tümör tipi	
Duktal	23(%76.7)
Lobüler	2 (%7.7)
Diğer (Mikst)	5 (%16.6)
Histolojik Derece	
1	7 (%23.3)
2	14 (%46.7)
3	9 (%30)
pT	
1	18 (%60.0)
2	9 (%30.0)
3	3 (%10)
LVİ (raporda belirtilmiştir)	
Var	0 (%0.0)
Yok	30 (%100.0)

Lenf nodu pozitif olan 30 olgunun yaş ortalaması 53.9 idi. Bu olguların on ikisi (%40) tanı anında premenopozal, on sekizi (%60) postmenopozal idi. Bu otuz olguda invaziv tümör odağı çapı 1.0-15.5 cm arasında değişmekteydi. Olguların 5'i (%16.7) pT1, 17'si (%56.6) pT2, 7'si (%23.3) pT3 ve 1'i (%3.4) pT4 idi. Olgulardan sadece 1'i pT4 olduğu için istatistiksel hesaplamalarda bu olgu evre 3'e dahil edilmiştir. Dokuz olguda (%30.0) 1-3 arası (pN1), 11 olguda (%26.7) 4-9 arası (pN2), 10 olguda (%33.3) 10 ve üzeri (pN3) aksiller lenf nodunda metastaz vardı. Olguların 20'inde (%66.7) lenfovasküler invazyon tespit edilirken 9 olguda (%30.0) lenfovasküler invazyon yoktu. Bir olguda (%3.3) lenfovasküler invazyon raporda belirtilmemiştir.

Histolojik derece sırasıyla 3 olguda (%10.0) derece 1, 15 olguda (%50.0) derece 2 ve 12 olguda (%40.0) derece 3 idi. İnvaziv karsinomlu materyallerin 25'i (%83.3) İDK, 5'i (%16.7) mikst karsinom olarak sınıflandırıldı (Tablo 5).

Tablo 5: Lenf nodu pozitif (LN₁₋₃) vakaların klinikopatolojik özellikleri.

Özellik	LN ₁ (n=9)	LN ₂ (n=10)	LN ₃ (n=11)	p
Yaş ortalaması	52.9 (44-68)	54.9 (38-81)	53.7 (41-79)	-
≤ 49yaş (premenopoz)	4 (%44.4)	4 (%40.0)	4 (%36.3)	0.067
≥ 50yaş (postmenopoz)	5 (%55.6)	6 (%60.0)	7 (%63.7)	
Tümör tipi				0.246
Duktal	8 (%88.9)	7 (%70.0)	10 (%90.9)	
Lobüler	-	-	-	
Diğer (Mikst)	1 (%11.1)	3 (%30.0)	1 (%9.1)	
Histolojik Derecesi				0.288
1	2 (%11.1)	1 (%10.0)	1 (%9.1)	
2	6 (%66.7)	5 (%50.0)	4 (%36.4)	
3	2 (%22.2)	4 (%40.0)	6 (%54.5)	
pT				0.257
1	2 (%22.2)	1 (%10.0)	2 (%18.1)	
2	6 (%66.7)	6 (%60.0)	5 (%45.5)	
3	1 (%11.1)	3 (%30.0)	4 (%36.4)	
LVİ (raporda belirtilmiştir)				0.504
Var	3 (%33.3)	6 (%60.0)	11 (%100)	
Yok	6 (%66.7)	3 (%30.0)	0 (%0)	
Bilgisi yok	0 (%0.0)	1 (%10.0)	0 (%0)	

Tüm olguların yaş ortalaması 53,8 (38-81) olarak hesaplandı. Lenf nodu pozitif ve negatif olanların yaş ortalamaları bakımından istatistik açıdan anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 6).

Tablo 6: Her iki gruptaki yaş ortalaması.

Klinik özelliği	LN ₀			LN ₁₋₃			p
	n	ort	s.sapma	n	ort	s.sapma	
yaş	30	52.2	9.59	30	53.90	11.44	0.535

4.2. ÖR, PR ve Her-2 (CerbB2) ile İmmünreaktivite Statüsü

Olguların reseptör ekspresyon özellikleri ve aralarındaki korelasyon değerleri aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir (Tablo 7, 8a, 8b, 8c).

Tablo 7: ÖR, PR ve Her-2 ekspresyon özellikleri.

Reseptör	LN ₀ (n=29)*	LN ₁ (n=9)	LN ₂ (n=10)	LN ₃ (n=11)
ÖR pozitif	23 (%79.3)	7 (%77.8)	9 (%90.0)	7 (%63.7)
negatif	6 (%20.7)	2 (%22.3)	1 (%10.0)	4 (%36.3)
PR pozitif	6 (%20.7)	7 (%77.8)	8 (%80.0)	5 (%45.5)
negatif	23 (79.3)	2 (%22.3)	2 (%20.0)	6 (%54.5)
Her-2 (3+)	1 (%3.7)	2 (%22.2)	1 (%10.0)	1 (%9.1)
(2+)	1 (%3.7)	1 (%11.1)	1 (%10.0)	2 (%18.2)
(1+0)	27 (%92.6)	6 (%66.7)	8 (%80.0)	8 (%72.7)

*Lenf nodu negatif vakaların birinde reseptör statüsüne ait bilgi yoktur.

Tablo 8a: ÖR, PR ve Her-2 ekspresyon özellikleri ve her iki grup arasındaki korelasyonu (LN₀ ve LN₁).

Reseptör durumu	LN ₀ (n=29)		LN ₁ (n=9)		p
	n	%	n	%	
ÖR pozitive	23	79.3	7	77.8	0.7102
ÖR negative	6	20.7	2	22.3	0.7151
PR pozitive	6	20.7	7	77.8	0.0059
PR negative	23	79.3	2	2.3	0.0060
Her-2 (3+)	1	3.7	2	22.2	0.2806
Her-2 (2+)	1	3.7	1	11.1	0.9889
Her-2 (1+0)	27	92.6	6	66.7	0.1537

Tablo 8b: ÖR, PR ve Her-2 ekspresyon özellikleri ve her iki grup arasındaki korelasyonu (LN₀ ve LN₂).

Reseptör durumu	LN ₀ (n=29)		LN ₂ (n=10)		P
	n	%	n	%	
ÖR pozitive	23	79.3	9	90.0	0.7776
ÖR negative	6	20.7	1	10.0	0.7776
PR pozitive	6	20.7	8	80.0	0.0028
PR negative	23	79.3	2	20.0	0.0028
Her-2 (3+)	1	3.7	1	10.0	0.9589
Her-2 (2+)	1	3.7	1	10.0	0.9589
Her-2 (1+/0)	27	92.6	8	80.0	0.6032

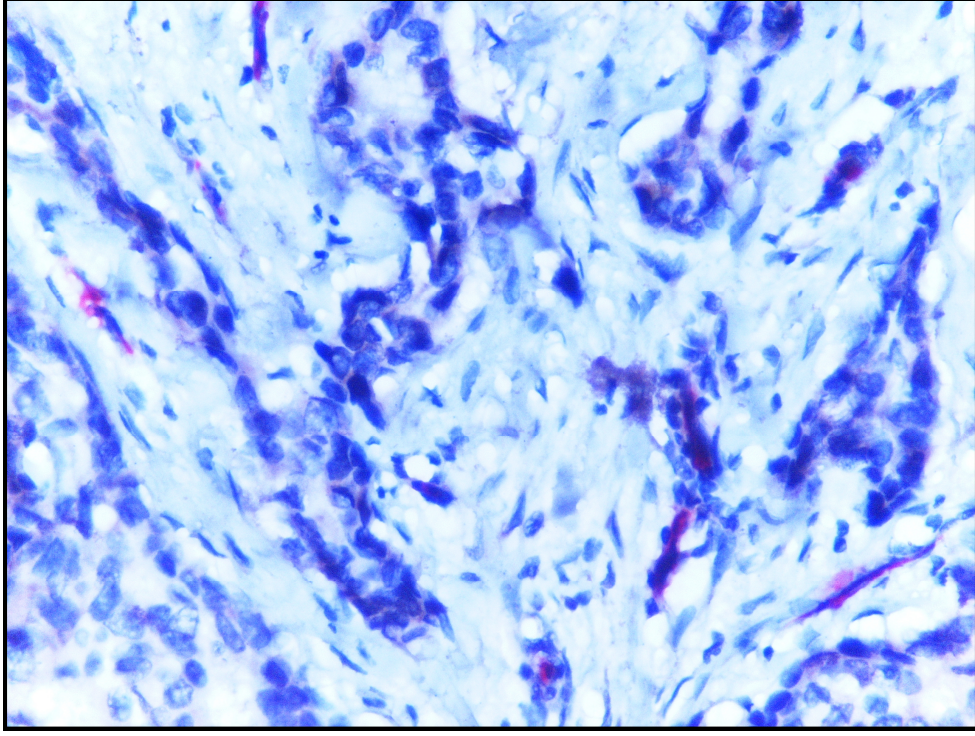
Tablo 8c: ÖR, PR ve Her-2 ekspresyon özellikleri ve her iki grup arasındaki korelasyonu (LN₀ ve LN₃).

Reseptör durumu	LN ₀ (n=29)		LN ₃ (n=11)		P
	n	%	n	%	
ÖR pozitive	23	79.3	7	63.7	0.5428
ÖR negative	6	20.7	4	36.3	0.5428
PR pozitive	6	20.7	5	45.5	0.2413
PR negative	23	79.3	6	54.5	0.2413
Her-2 (3+)	1	3.7	1	9.1	0.9118
Her-2 (2+)	1	3.7	2	18.2	0.3829
Her-2 (1+/0)	27	92.6	8	72.7	0.2504

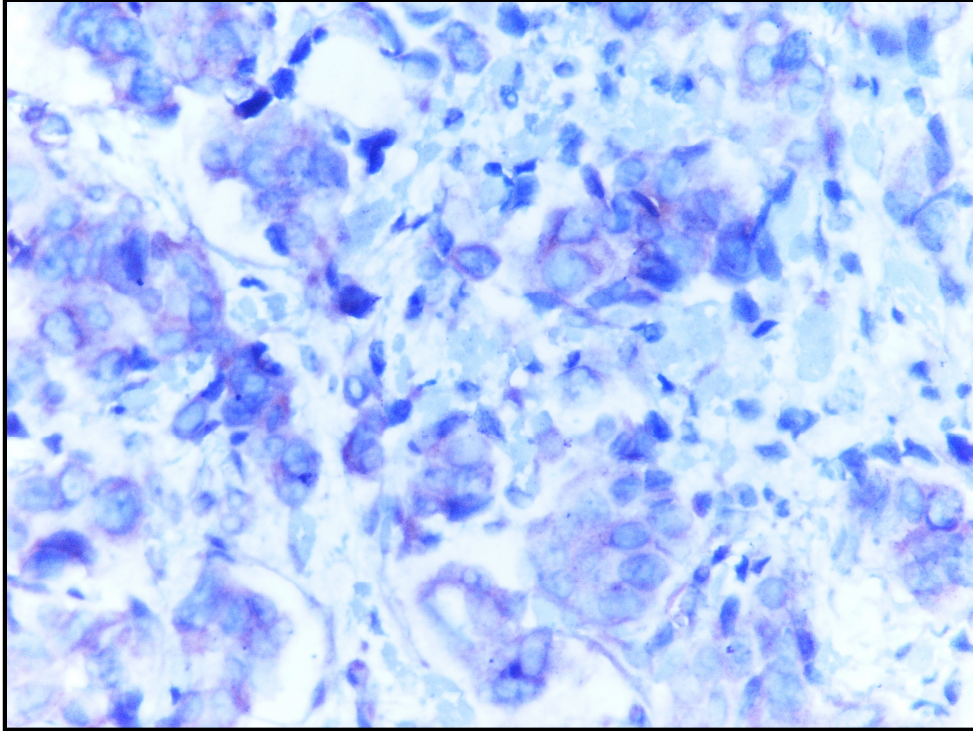
ÖR ekspresyonunda her iki grup arasında belirgin bir fark saptanmadı, fakat PR eksprese eden vakaların oranında lenf nodu pozitif olan vakalarının (LN₁ ve LN₂ gruplarında) lenf nodu negatif olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edildi (p=0,0059 ve p=0.0028).

4.3. YB1, D2-40 ve CD34 ile Elde Edilen İmmünboyanma Sonuçları

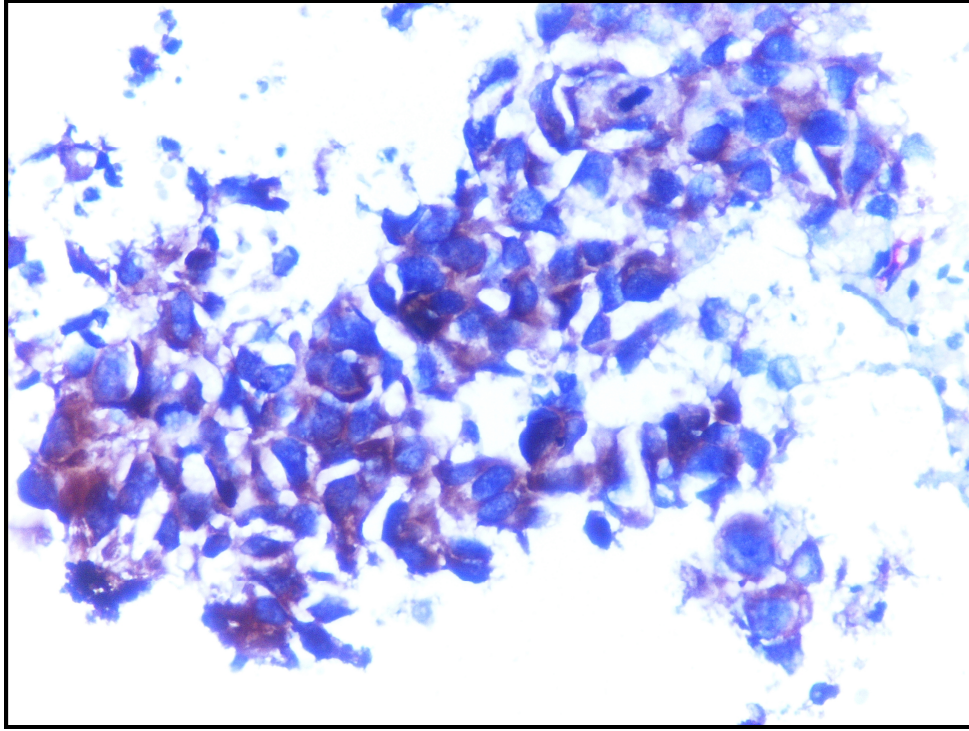
YB1, meme dokusunda hem sitoplazmik hem nükleer boyama yapabilmektedir. Bizim olgularımızda sitoplazmik boyanma paterni dominant olup, zayıf, orta ve güçlü olarak değerlendirildi (Şekil 6, 7, 8).



Şekil 6: YB1 ile tümör hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma (YB1,x400).



Şekil 7: YB1 ile neoplastik hücrelerde orta şiddette sitoplazmik boyanma (YB1, x400).



Şekil 8: YB1 ile neoplastik hücrelerde güçlü sitoplazmik boyanma (YB1, x400).

Lenf nodu negatif olan vakalara YB1 antikorun immünohistokimyasal uygulanması sonucunda sadece bir olguda (%3.3) hiç boyanma saptanmadı. Vakaların 4'ünde (%13.3) güçlü, 18'inde (%60.0) orta ve 7'inde (%23.3) zayıf sitoplazmik boyanma izlendi. Beş vakada (%16.7) sadece fokal alanda zayıf boyanma saptandı (skor 1). Bu vakalarda glandüler yapılar az sayıdaydı. Hiçbir vakada nükleer boyanma saptanmadı (Tablo 9, 10).

Tablo 9: LN₀ vakaların YB1 boyanma sonuçları ve klinikopatolojik bulgular.

No	Menopoz durumu	pT	Hist. derece (grade)	Hist. tip	ÖR	PR	Her2	YB1 sitoplazmik		YB1 nükl.
								Boyan. gücü + yaygın.	Total skor	
1	Premenopoz	2	3	IDK	Neg.	Neg.	Neg.	2+2	4	Yok
2	Premenopoz	1	2	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+3	5	Yok
3	Premenopoz	3	3	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+3	5	Yok
4	Premenopoz	1	1	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+2	4	Yok
5	Postmenopoz	1	1	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+1	2	Yok
6	Premenopoz	2	2	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+3	5	Yok
7	Postmenopoz	1	3	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+2	4	Yok
8	Premenopoz	2	3	IDK	Neg.	Neg.	Neg.	3+3	6	Yok

9	Premenopoz	3	3	IDK	Neg.	Neg.	Neg.	3+3	6	Yok
10	Postmenopoz	1	1	IDK+ tübül. ca	Poz.	Poz.	Neg.	2+1	3	Yok
11	Premenopoz	1	2	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+3	5	Yok
12	Premenopoz	2	3	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+2	4	Yok
13	Postmenopoz	2	3	IDK	Neg.	Neg.	Neg.	2+2	4	Yok
14	Postmenopoz	1	2	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+3	5	Yok
15	Postmenopoz	2	2	IDK+ILK	Poz.	Poz.	Neg.	0+0	0	Yok
16	Postmenopoz	1	2	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+3	5	Yok
17	Postmenopoz	2	2	IDK	Poz.	Poz.	3+	3+3	6	Yok
18	Premenopoz	1	1	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+1	3	Yok
19	Postmenopoz	3	3	Metapl. (iğsi+ skuam)	Neg.	Neg.	Neg.	2+3	5	Yok
20	Postmenopoz	2	3	Metapl. (iğsi+ skuam)	Poz.	Poz.	Neg.	1+1	2	Yok
21	Postmenopoz	1	2	IDK	Neg.	Neg.	Neg.	2+2	4	Yok
22	Postmenopoz	2	2	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+1	3	Yok
23	Postmenopoz	2	2	IDK	Neg.	Neg.	Neg.	1+1	2	Yok
24	Premenopoz	1	1	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+1	2	Yok
25	Postmenopoz	1	2	IDK	Poz.	Poz.	2+	2+3	5	Yok
26	Postmenopoz	1	1	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+3	4	Yok
27	Premenopoz	1	2	IDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+3	5	Yok
28	Postmenopoz	1	2	ILK	Poz.	Poz.	Neg.	3+2	5	Yok
29	Premenopoz	1	2	IDK	Bilgi yok	Bilgi yok	Bilgi yok	1+1	2	Yok
30	Postmenopoz	1	2	ILK	Poz.	Poz.	Neg.	1+2	3	Yok

Tablo 10: LN₀ vakaların YB1 boyanma sonuçları.

Sitoplazmik boyanma kuvveti	Boyanma yaygınlığı			Toplam	
	<%25	%25-%50	>%50		
Güçlü	0	1	3	4 (%13.3)	p 0.503
Orta	3	6	9	18 (%60.0)	
Zayıf	5	1	1	7 (%23.3)	
Boyanma yok	-	-	-	1 (%3.3)	
Toplam vaka sayısı	8	8	13	30	
Nükleer boyanma	0 (%0.0)				

Lenf nodu pozitif olan vakalara YB1 antikorun immünohistokimyasal uygulanması sonucunda beş (%16.7) olguda hiç boyanma saptanmadı. Vakaların 3'ünde (%10.0) güçlü, 13'ünde (%43.3) orta ve 5'inde (%16.7) zayıf

sitoplazmik boyanma izlendi. Bir vakada (%3.3) sadece fokal alanda zayıf boyanma saptandı (skor 1). Üç vakada ise nükleer boyanma saptandı (%10.0). Bu vakalarda zeminde güçlü bir sitoplazmik boyanma vardı (Tablo 11, 12). Ayrıca bu vakalarda hormon reseptörlerinin negatif olduğu dikkati çekti. Damar hücrelerinde boyanma saptanmadı.

Tablo 11: LN₁₋₃ vakaların YB1 boyanma sonuçları ve klinikopatolojik bulgular.

No	Menopoz durumu	pT	Hist. derece (grade)	Hist. tip	ÖR	PR	Her2	YB1 sitoplazmik			YB1 nükl.
								Boyanma gücü x yaygınlık	Total skor	LVI	
1	Postmenopoz	3	3	İDK	Poz.	Neg.	3+	2+3	5	+	Yok
2	Postmenopoz	1	2	İDK+ papiller	Neg.	Neg.	3+	3+3	6		Var
3	Premenopoz	3	3	İDK	Poz.	Poz.	2+	0	0	+	Yok
4	Postmenopoz	2	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	0	0	+	Yok
5	Postmenopoz	2	3	İDK	Poz.	Neg.	Neg.	0	0		Yok
6	Premenopoz	2	2	İDK+ mikropap.	Poz.	Poz.	2+	0	0	+	Yok
7	Postmenopoz	2	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+1	3	+	Yok
8	Postmenopoz	2	3	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+3	4	+	Yok
9	Premenopoz	2	1	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+3	4		Yok
10	Premenopoz	2	2	İDK	Poz.	Poz.	3+	1+1	2		Yok
11	Premenopoz	3	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+2	4	+	Yok
12	Premenopoz	2	3	İDK	Neg.	Neg.	2+	1+3	4	+	Yok
13	Postmenopoz	1	2	LK+İDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+2	4	+	Yok
14	Premenopoz	3	3	İDK	Neg.	Neg.	3+	2+3	5	+	Var
15	Postmenopoz	2	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+1	2		Yok
16	Postmenopoz	2	3	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	2+2	4	+	Yok
17	Postmenopoz	3	3	İDK+LK	Poz.	Poz.	Neg.	1+3	4	+	Yok
18	Postmenopoz	2	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+2	3		Yok
19	Postmenopoz	1	1	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	0	0		Yok
20	Postmenopoz	3	3	İDK	Neg.	Neg.	Neg.	1+3	4	+	Yok
21	Premenopoz	3	3	İDK	Poz.	Neg.	Neg.	2+2	4	+	Yok
22	Postmenopoz	2	2	İDK+LK	Poz.	Poz.	Neg.	1+2	3		Yok
23	Premenopoz	3	1	İDK	Neg.	Poz.	Neg.	2+1	3	+	Yok
24	Premenopoz	3	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+2	3	+	Yok
25	Postmenopoz	2	3	İDK	Neg.	Neg.	Neg.	3+2	5	+	Yok
26	Premenopoz	2	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+3	4	+	Yok
27	Postmenopoz	1	3	İDK	Neg.	Neg.	Neg.	3+3	6	+	Var
28	Postmenopoz	1	2	LK	Neg.	Neg.	2+	2+3	5	+	Yok
29	Premenopoz	2	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+1	2		Yok
30	Postmenopoz	2	2	İDK	Poz.	Poz.	Neg.	1+2	3		Yok

Tablo 12: LN₁₋₃ vakaların YB1 boyanma sonuçları.

Sitoplazmik boyanma kuvveti	Boyanma yaygınlığı			Toplam	P
	<%25	%25-%50	>%50		
Güçlü	0	1	2	3 (%10.0)	0.243
Orta	2	4	3	9 (%30.0)	
Zayıf	3	4	6	13 (%43.3)	
Boyanma yok	-	-	-	5 (%16.7)	
Toplam vaka sayısı	5	9	11	30	
Nükleer boyanma	4 (%13.3)				

Boyanma gücü ve yaygınlığını kullanarak her vaka için total boyanma skoru hesaplandı ve iki grup karşılaştırıldı: boyanma skorları arasında dağılım açısından anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 13, 14 ve 15).

Tablo 13: LN₀ vakaların skora tablosu.

Skor	0	1	2	Toplam	3	4	Toplam	5	6	Toplam
n	1	-	5	6	4	7	11	10	3	13

Tablo 14: LN₁₋₃ vakaların skora tablosu.

Skor	0	1	2	Toplam	3	4	Toplam	5	6	Toplam
n	5	-	3	8	6	10	16	4	2	6

Tablo 15: LN₀ ve LN₁₋₃ vakaların skorları ve korelasyonu.

Skor	LN ₀ n=30	LN ₁₋₃ n=30	p
0	1 (%3.3)	5 (%16.7)	0.1937
1	-	-	
2	5 (%16.6)	(%10.0)	0.7095
Düşük skor, toplam	6 (%20.0)	8 (%26.6)	0.7647
3	4 (%13.3)	6 (%20.0)	0.7263
4	7 (%23.3)	10 (%33.3)	0.5667
Orta skor, toplam	11 (%36.6)	16 (%53.3)	0.2980
5	10 (%33.3)	4 (%13.3)	0.1268
6	3 (%10.0)	2 (%6.6)	0.9925
Yüksek skor, toplam	13 (%43.3)	6 (%20.0)	0.0964

Boyanma skorları ve klinikopatolojik parametreler her grup içinde karşılaştırıldı (Tablo 16a, 16b, 16c, 17a, 17b, 17c).

Tablo 16a: LN₀ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (menopoz durumu ve histolojik derece).

YB1 skor	Menopoz durumu		Histolojik derece		
	Pre	Post	1	2	3
0-2 (n=6)	1 (%16.6)	5 (%83.4)	2 (%33.3)	3(%50.0)	1 (%16.7)
3-4 (n=11)	4 (%36.4)	7 (%63.6)	4 (%36.4)	3 (%27.2)	4 (%36.4)
5-6 (n=13)	7 (%53.8)	6 (%46.2)	0 (%0.0)	9 (%69.2)	4 (%30.8)
p	0.2923		0.1252		

Tablo 16b: LN₀ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (ÖR, PR ve Her2 durumu).

YB1 skor	ÖR durumu		PR durumu		Her-2 durumu		
	+	-	+	-	-	2+	3+
0-2 (n=5)*	4 (%80.0)	1 (%20.0)	4 (%80.0)	1 (%20.0)	5 (%100.0)	0 (%0.0)	0(%0.0)
3-4 (n=11)	8 (%72.7)	3 (%27.3)	8 (%72.7)	3 (%27.3)	11 (%100.0)	0 (%0.0)	0(%0.0)
5-6 (n=13)	10 (%76.9)	3 (%23.1)	10 (%76.9)	3 (%23.1)	11 (%84.6)	1 (%7.7)	1(%7.7)
p	0.9447		0.9447		0.6191		

*Bir vakanın reseptör durumunun bilgisi yoktur.

Tablo 16c: LN₀ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (LVI ve pT durumu).

YB1 skor	LVI		pT		
	+	-	1	2	3
0-2 (n=6)	0 (%0.0)	0 (%0.0)	3 (%50.0)	3 (%50.0)	0 (%0.0)
3-4 (n=11)	0 (%0.0)	0 (%0.0)	7 (%63.6)	4 (%36.4)	0 (%0.0)
5-6 (n=13)	0 (%0.0)	0 (%0.0)	7 (%53.8)	3 (%23.1)	3 (%23.1)
p	-		0.2849		

Tablo 17a: LN₁₋₃ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (menopoz durumu ve histolojik derece).

YB1 skor	Menopoz durumu		Histolojik derece		
	Pre	Post	1	2	3
0-2 (n=8)	4 (%50.0)	4 (%50.0)	1 (%12.5)	5 (%62.5)	2 (%25.0)
3-4 (n=16)	7 (%43.8)	9 (%56.2)	2 (%12.5)	8 (%50.0)	6 (%37.5)
5-6 (n=6)	1 (%16.7)	5 (%83.3)	0 (%0.0)	2 (%33.3)	4 (%66.7)
p	0.4090		0.5790		

Tablo 17b: LN₁₋₃ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (ÖR, PR ve Her2 durumu).

YB1 skor	ÖR durumu		PR durumu		Her-2 durumu		
	+	-	+	-	-	2+	3+
0-2 (n=8)	8 (%100.0)	0 (%0.0)	7 (%87.5)	1 (%12.5)	5 (%62.5)	2 (%25.0)	1 (%12.5)
3-4 (n=16)	13 (%81.3)	3 (%18.7)	13 (81.3)	3 (%18.7)	15 (%93.8)	1 (%6.2)	0 (%0.0)
5-6 (n=6)	1 (%16.7)	5 (%83.3)	0 (%0.0)	6 (%100.0)	2 (%33.3)	1 (%16.6)	2 (%33.3)
p	0.0013		0.0005		0.1158		

Tablo 17c: LN₁₋₃ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (LVI ve pT durumu).

YB1 skor	LVI		pT		
	+	-	1	2	3
0-2 (n=8)	3 (%37.5)	5 (%62.5)	1 (%12.5)	6 (%75.0)	1 (%12.5)
3-4 (n=16)	12 (%75.0)	4 (%25.0)	1 (%6.3)	9 (%56.2)	6 (%37.5)
5-6 (n=6)	5 (%83.3)	1 (%16.7)	3 (%50.0)	1 (%16.7)	2 (%33.3)
p	0.355		0.470		

Her grup kendi içinde değerlendirildikten sonra boyanma skorları ve klinikopatolojik parametreler iki grupta karşılaştırıldı (Tablolar 18-24).

Tablo 18: LN₀ ve LN₁₋₃ vakaların menopoz durumu ve boyanma skorları.

Menopoz / boyanma skoru	LN ₀		LN ₁₋₃		P
	n	%	n	%	
Premenopoz / 0-2	1	16.6	4	50.0	0.4671
Premenopoz / 3-4	4	36.4	7	43.8	0.9888
Premenopoz / 5-6	7	53.8	1	16.7	0.3064
Postmenopoz / 0-2	5	83.4	4	50.0	0.4671
Postmenopoz / 3-4	7	63.6	9	56.2	0.9888
Postmenopoz / 5-6	6	46.2	5	83.3	0.3064

Tablo 19: LN₀ ve LN₁₋₃ vakaların tümör derecesi ve boyanma skorları.

Histolojik derece / boyanma skoru	LN ₀		LN ₁₋₃		p
	n	%	n	%	
Histolojik1 / 0-2	2	33.3	1	12.5	0.7790
Histolojik1 / 3-4	4	36.4	2	12.5	0.3190
Histolojik1 / 5-6	0	0.0	0	0.0	-
Histolojik2 / 0-2	3	50.0	5	62.5	0.9379
Histolojik2 / 3-4	3	27.2	8	50.0	0.4317
Histolojik2 / 5-6	9	69.2	2	33.3	0.3304
Histolojik3 / 0-2	1	16.7	2	25.0	0.7768
Histolojik3 / 3-4	4	36.4	6	37.5	0.7283
Histolojik3 / 5-6	4	30.8	4	66.7	0.3304

Tablo 20: LN₀ ve LN₁₋₃ vakaların patolojik tümör evresi ve boyanma skorları.

Pt / boyanma skoru	LN ₀		LN ₁₋₃		p
	n	%	n	%	
pT1 / 0-2	3	50.0	1	12.5	0.3476
pT 1 / 3-4	7	63.6	1	6.3	0.0055
pT 1 / 5-6	7	53.8	3	50.0	0.7338
pT 2 / 0-2	3	50.0	6	75.0	0.6873

pT 2 / 3-4	4	36.4	9	56.2	0.5354
pT 2 / 5-6	3	23.1	1	16.7	0.7740
pT 3 / 0-2	0	0.0	1	12.5	0.8809
pT3 / 3-4	0	0.0	6	37.5	0.0670
pT3 / 5-6	3	23.1	2	33.3	0.9274

Tablo 21: LN₀ ve LN₁₋₃ vakaların ÖR durumu ve boyanma skorları.

ÖR Durumu / boyanma skoru	LN ₀		LN ₁₋₃		p
	n	%	n	%	
ÖR poz / 0-2	4	80.0	8	100.0	0.7201
ÖR poz / 3-4	8	72.7	13	81.3	0.9545
ÖR poz / 5-6	10	76.9	1	16.7	0.0488
ÖR neg / 0-2	1	20.0	0	0.0	0.7201
ÖR neg / 3-4	3	27.3	3	18.7	0.9545
ÖR neg / 5-6	3	23.1	5	83.3	0.0488

Tablo 22: LN₀ ve LN₁₋₃ vakaların PR durumu ve boyanma skorları.

PR Durumu / boyanma skoru	LN ₀		LN ₁₋₃		p
	n	%	n	%	
PR poz / 0-2	4	80.0	7	87.5	0.7186
PR poz / 3-4	8	72.7	13	81.3	0.9545
PR poz / 5-6	10	76.9	0	0.0	0.0086
PR neg / 0-2	1	20.0	1	12.5	0.7186
PR neg / 3-4	3	27.3	3	18.7	0.9545
PR neg / 5-6	3	23.1	6	100.0	0.0086

Tablo 23: LN₀ ve LN₁₋₃ vakaların Her2 durumu ve boyanma skorları.

Her-2 Durumu / boyanma skoru	LN ₀		LN ₁₋₃		p
	n	%	n	%	
Her-2 0/+1 / 0-2	5	100.0	5	62.5	0.3011
Her-2 0/+1 / 3-4	11	100.0	15	93.75	0.8477
Her-2 0/+1 / 5-6	11	84.6	2	33.3	0.0882
Her-2 +2 / 0-2	0	0.0	2	25.0	0.5815

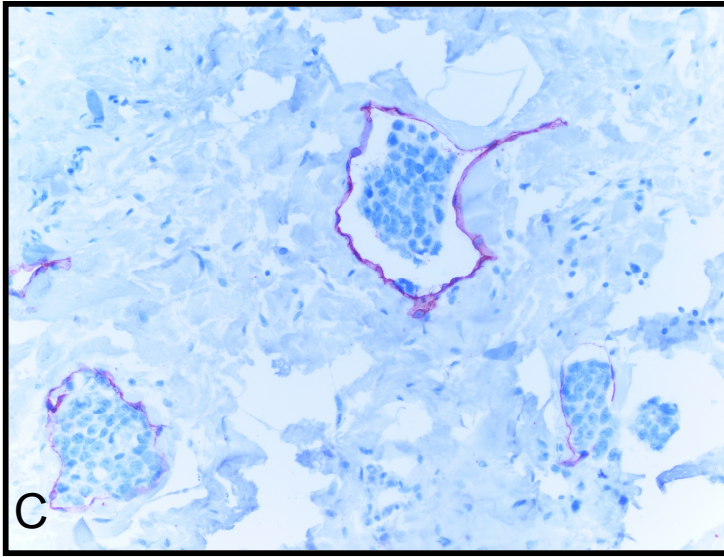
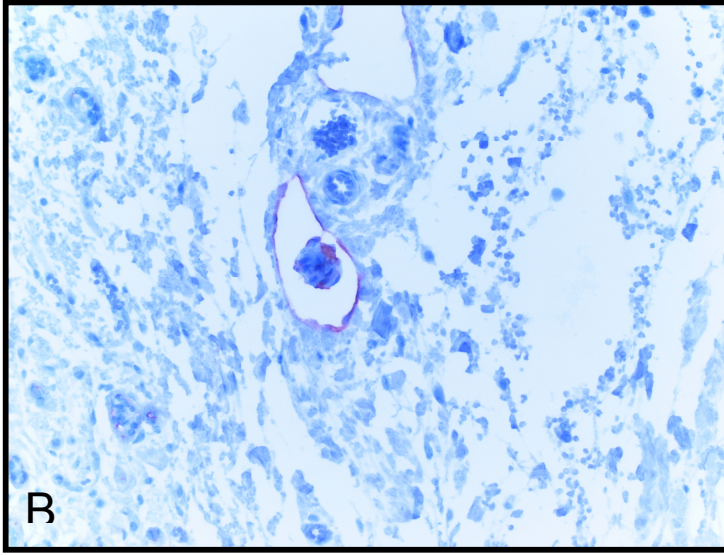
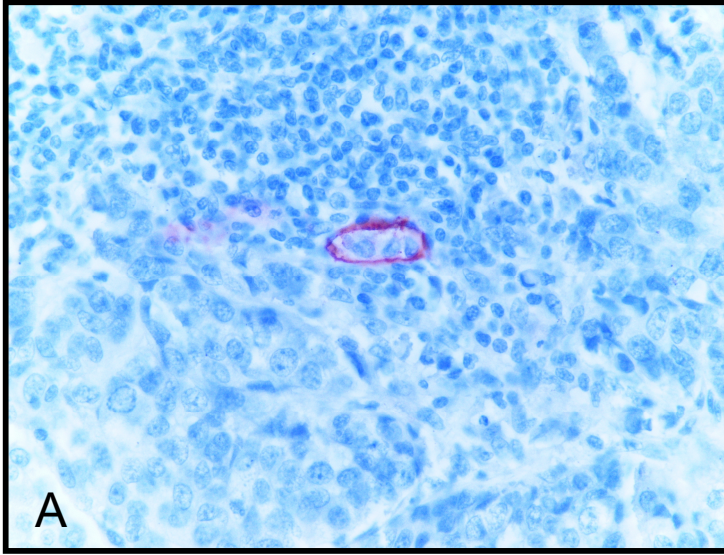
Her-2 +2 / 3-4	0	0.0	1	6.25	0.8477
Her-2 +2 / 5-6	1	7.7	1	16.6	0.8285
Her-2 +3 / 0-2	0	0.0	1	12.5	0.8809
Her-2 +3 / 3-4	0	0.0	0	0.0	-
Her-2 +3 / 5-6	1	7.7	2	33.3	0.4558

Tablo 24: LN₀ ve LN₁₋₃ vakaların LVİ durumu ve boyanma skorları.

LVİ / boyanma skoru	LN ₀		LN ₁₋₃		p
	n	%	n	%	
LVİ poz / 0-2	0	0.0	3	37.5	0.3011
LVİ poz / 3-4	0	0.0	12	75.0	0.0005
LVİ poz / 5-6	0	0.0	5	83.3	0.0011
LVİ neg / 0-2	0	0.0	5	62.5	0.0641
LVİ neg / 3-4	0	0.0	4	25.0	0.2130
LVİ neg /5-6	0	0.0	1	16.7	0.6820

Boyanma skoru, klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığı zaman patolojik evre 1 (pT1) olan vakaların arasında orta güçlü (skor 3-4) boyanma paterni gösteren lenf nodu negatif ve pozitif olan vakalar arasında sayıca anlamlı (p=0.0055) bir fark saptandı (Tablo 20). Yüksek boyanma skoru alan vakalar için ÖR-PR pozitifliğinin lenf nodu negatifliği ile korele (p=0.0086) olduğu saptandı (Tablo 22). Ayrıca orta ve yüksek boyanma skoru alan lenf nodu pozitif vakalarda histolojik kesitlerde lenfovasküler invazyon daha yüksek oranla saptanarak pozitif bir korelasyon gösterdi (Tablo 24). Menopoz, histolojik derece, Her-2 durumu ve boyanma gücü açısından iki grup karşılaştırıldığı zaman anlamlı bir fark bulunmadı.

D2-40, bir lenfatik damar belirleyicisi olup, bizim çalışmamızda da lenfovasküler invazyonu saptamak için kullanıldı. Lenf nodu negatif olan vakaların raporlarında anjiyolenfatik invazyon görülmemiştir. Bu vakaların 3'ünde (%10.0), D2-40 boyası yardımı ile lenfatik damarlar içerisinde tümör trombüsü saptandı (Şekil 9).



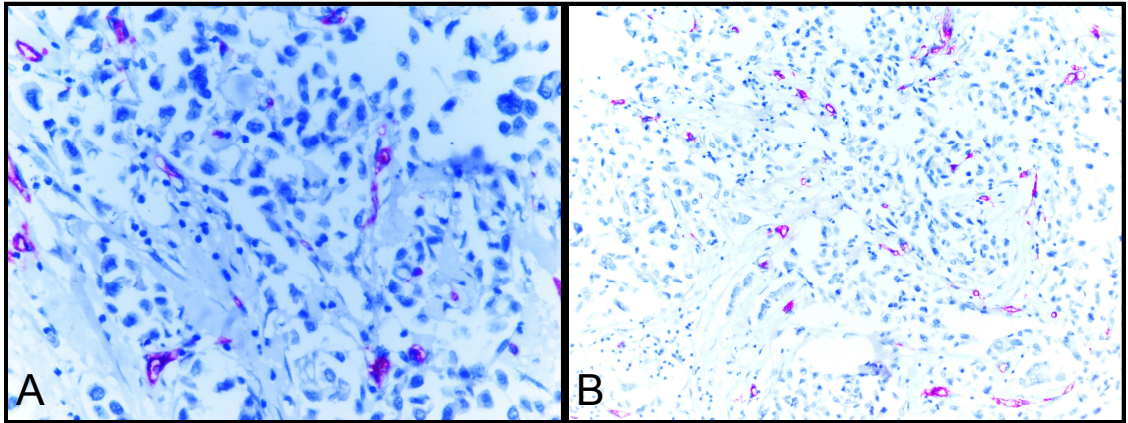
Şekil 9: D2-40 boyası ile saptanan tümör trombüsleri (**A:** D2-40, x400; **B,C:** D2-40, x100).

Lenf nodu pozitif olan vakaların 20'sinin raporlarında lenfovasküler invazyon belirtilmiştir. Bu vakaların 8'inde (%27.6), D2-40 ile boyanmış lenfatik damar içerisinde tümör trombusu saptandı (1 vakada daha önce lenfovasküler invazyon görülmemiştir) (Tablo 25) .

Tablo 25: Lenf nodu durumu ve D2-40 boyası ile saptanan lenfovasküler invazyon.

LVİ durumu	LN ₀ (n=30)	LN ₁ (n=9)	LN ₂ (n=10)	LN ₃ (n=11)	LN ₁₋₃ (n=30)	p
LVİ saptandı	3 (%10.0)	1	3	4	8 (%26.7)	0.1811
LVİ saptanmadı	27 (%90.0)	8	7	7	22 (%73.3)	

CD34, kan damar belirleyicisi olup, çalışmamızda tümör içindeki damar yoğunluğunu belirlemek için kullanıldı (Şekil10).



Şekil 10: Tümör içinde CD34 ile yoğun boyanan damarlar (**A:** CD34, x400; **B:** CD34, x200).

Lenf nodu pozitif olan ve tümör derecesi 1 olan vakaların (n=3) ortalama mikrodamar yoğunluğu 18.0 olarak hesaplandı. Histolojik derecesi 2 olan vakaların (n=15) ortalama mikrodamar yoğunluğu 16.4 ve histolojik derecesi 3 olan vakaların (n=12) ortalama mikrodamar yoğunluğu 17.8 olarak hesaplandı.

Lenf nodu negatif olan ve tümör derecesi 1 olan vakaların (n=7) ortalama mikrodamar yoğunluğu 14.7 olarak hesaplandı. Histolojik derecesi 2 olan vakaların (n=14) ortalama mikrodamar yoğunluğu 15.1 ve histolojik derecesi 3

olan vakaların (n=9) ortalama mikrodamar yoğunluğu 17.1 olarak hesaplandı (Tablo 26).

Tablo 26: Her iki grup vakaların CD34 ile belirlenen mikrodamar yoğunluğu ve tümör derecesi.

Tümör derecesi	LN ₀ vakaların ortalama damar sayısı			LN ₁₋₃ vakaların ortalama damar sayısı			p
	n	Ortalama	S.Sapma	n	Ortalama	S.Sapma	
Derece 1	7	14.71	1.60	3	18.00	1.00	0.012
Derece 2	14	15.14	5.60	15	16.40	6.75	0.591
Derece 3	9	17.11	5.56	12	17.83	5.61	0.772

Her iki grup karşılaştırıldığı zaman derece 1 olan vakalarda lenf nodu metastazı olan olguların olmayanlara göre daha yüksek mikrodamar yoğunluğuna sahip oldukları saptandı (p=0.012).

Çalışmamızda elde edilen bulgular şu şekilde özetlenebilir:

- ÖR ekspresyonunda her iki grup arasında belirgin bir fark saptanmadı, fakat PR eksprese eden vakaların oranında lenf nodu pozitif olan vakaların (LN₁ ve LN₂ gruplarında) lenf nodu negatif olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edildi.
- YB1 ile her iki grupta tümör hücrelerinde farklı derecede sitoplazmik boyanma saptandı.
- YB 1 ile lenf nodu pozitif olguların 3'ünde nükleer boyanma saptandı. Bu örneklerde güçlü sitoplazmik boyanma mevcuttu ve hormon reseptör durumu negatifti.
- Damar endotelinde YB1 ile boyanma saptanmadı.
- YB1 boyanma skoru, klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığı zaman patolojik evre 1 (pT1) olan vakalar arasında orta güçlü (skor 3-4) boyanma paterni gösteren lenf nodu negatif ve pozitif olan vakalar arasında sayıca anlamlı bir fark saptandı.
- YB1 ile yüksek boyanma skoru alan vakalar için ÖR-PR pozitifliğinin lenf nodu negatifliği ile korele olduğu saptandı.
- YB1 ile orta ve yüksek boyanma skoru alan lenf nodu pozitif vakalarda histolojik kesitlerde lenfovasküler invazyon daha yüksek oranla saptanarak pozitif bir korelasyon gösterdi.

- Lenf nodu negatif olan vakaların 3'ünde (%10.0), lenf nodu pozitif olan vakaların 8'inde (%27.6) D2-40 boyası yardımı ile lenfatik damarlar içerisinde tümör trombüsü saptandı.
- Her iki grup karşılaştırıldığı zaman derece 1 olan vakalarda lenf nodu metastazı olan olguların olmayanlara göre daha yüksek mikrodamar yoğunluğuna sahip oldukları saptandı.
- CDC6 ile tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma saptandı.

5. TARTIŞMA

Meme karsinomları, kadınlarda en sık görülen karsinomlardır ve kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada (akciğer karsinomlarından sonra) yer almaktadır¹. Birçok epitelyal tümör gibi insidansı yaşla beraber hızla artar. 1990'dan beri tüm dünyada meme kanseri insidansı 10 kat artmıştır. Bu nedenle meme kanseri ile ilgili etyolojik ve prognostik çalışmalar önem kazanmaktadır²⁰.

Meme karsinomu gelişme olasılığını etkileyen birçok faktör bilinmektedir. Bunların en başında gelenler yaş, uzun süre endojen östrojen etkisine maruz kalma, önceden var olan proliferatif meme hastalığı ve aile öyküsüdür^{2,5}. Elli yıldan fazla bir süredir, meme kanseri için pozitif aile öyküsü olan kadınlarda bu hastalığın gelişme riskinin yüksek olduğu bilinmektedir²⁰. Meme kanseri bazı ailesel olgular dışında 25 yaş altında nadirdir. Diyet, sigara, vücut ağırlığı ve fiziksel aktivite etyolojide rol oynadığı düşünülen diğer faktörlerdir. Erken menarş, geç menopoz, nulliparite, geç çocuk sahibi olma, laktasyon dönemlerinin kısa sürmesi gibi durumlar östrojenik etki süresini artırdığı için meme kanseri gelişim riskini de artırmaktadır^{2,5,20}.

Prognozu etkileyen birçok etken bulunmakla birlikte en önemlisi tanı anında kanserin evresidir²⁰. Tümörün kendi özellikleri ise diğer prognostik faktörleri belirlemektedir. Meme kanserlerinin erken evrede yakalanabilmesi için kanser risklerinin ve bu riskleri taşıyan kişilerin saptanabilmesi oldukça önemlidir.

Son zamanlarda meme kanseri insidansında bir artış gözlenirken, meme kanserine bağlı ölüm oranlarında ise bir azalma dikkati çekmektedir. Sağkalımdaki bu artışta cerrahi tedavi sonrası uygulanan adjuvan tedavilerin katkısı büyüktür²⁰⁷. Adjuvan tedavi kararı vermede son yıllarda önemi gittikçe artan prediktif ve prognostik faktörler yol gösterici olmaktadır. Tedaviden bağımsız olarak hastalık gidişi hakkında fikir veren faktörler prognostik faktörler olup bunlar arasında aksiller lenf nodu durumu, tümör çapı, histolojik derece, lenfovasküler invazyon ve yaş en temel parametreleri oluşturmaktadır^{108,208}. Meme karsinomlarının %77'si 50 yaşın üzerindedir⁵. Çalışmamıza dahil edilen invaziv karsinomlu malign olguların yaş ortalaması 53,8'dir (38-81) ve literatürle uyumludur.

Tedaviye yanıtı belirleyen prediktif faktörler arasında en yaygın olarak kabul görenler endokrin tedaviye yanıtı belirleyen hormon reseptör durumu ve

Her-2/neu durumudur. Hormon reseptörü ve Her-2/neu durumu aynı zamanda prognostik öneme de sahiptir²⁰⁷. Günümüzde meme kanserlerinde endokrin tedaviye yanıtı belirlemek amacıyla ÖR α , PR ve Her-2/neu incelemeleri rutin olarak yapılmaktadır. ÖR α 'nın meme kanserlerinde düşük histolojik derece, negatif aksiller lenf nodu tutulumu, PR ekspresyonu ve hastalısız sağkalım süresi uzunluğu gibi iyi prognoz göstergesi özelliklerle ilişkili olduğu günümüze kadar birçok çalışmada bildirilmiş ve kanıtlanmıştır²⁰⁹. Bizim çalışmamızda ÖR ekspresyonunda her iki grup arasında belirgin bir fark saptanmadı, fakat PR eksprese eden vakaların oranında lenf nodu pozitif olan vakalarının (LN₁ ve LN₂ gruplarında) lenf nodu negatif olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edildi (p=0,0059 ve p=0.0028).

Genomik ve transkriptomik verilere dayanarak meme kanserinin farklı gelişim yollarından geçtiği tespit edilmiştir. Fakat klinik veriler, tanımlanan her bir yolakta bulunan tümörlerin de hala kendi içinde çok heterojen olduğunu ve bu geliştirilmiş moleküler şemanın bile çok basit kaldığını göstermektedir³⁵.

Son yıllarda yapılan gen ekspresyon çalışmaları genetik imzaya göre adjuvan tedavi alması gereken hasta grubunun, klasik patolojik faktörlere göre adjuvan kemoterapi alması gereken gruba göre yüzde olarak daha az sayıda hastayı içerdiğini, yani nod negatif hastaların klasik prognostik faktörler çerçevesinde riskleri belirlenip ona göre adjuvan tedavi almalarında karar verildiğinde genelde gereğinden fazla kemoterapi aldığı sonucuna vardırırmıştır. Ancak bu veri henüz prospektif olarak doğrulanmamış olup Avrupa ve Amerika'da devam etmekte olan iki önemli prospektif çalışma bu soruyu gen ekspresyon profiline farklı metodlarla bakarak araştırmaktadır. Genetik araştırmaların sonucunda vakaların %30'unda, çoğunlukla kemoterapiden vazgeçerek tedavi değiştirilmektedir¹¹⁷.

YB1, tek sarmallı DNA ve RNA'e bağlanan ve transkripsiyon, RNA metabolizması ve protein sentezini düzenleyici olarak fonksiyona sahip olan evrim boyunca korunmuş bir protein ailesine aittir^{133,134}. YB1, hasar görmüş DNA'ya bağlanmaktadır; bloke olduğu zaman hücre DNA'ları zararlı ajanlara karşı daha hassas olmaktadır¹³⁷. Meme kanseri^{9,141} dahil pek çok malignite artmış YB1 ekspresyonu göstermektedir ve nükleer YB1 ekspresyonunun tümörün hızlı proliferasyonu, ilaç dirençliliği ve kötü prognoz ile korele olduğu bilinmektedir⁶⁻¹². Primer meme kanserlerinde YB1, EGFR ve Her-2

promoterlerine bağlanıp, onların ekspresyonlarını kontrol etmektedir⁷ ve nükleer YB1 ekspresyonu HER-2 ile pozitif ve ÖR- α ile negatif korele olmaktadır¹⁰. Hatta relaps ve sağkalım açısından YB1 ekspresyonunun önemi, ÖR ve HER-2 durumundan daha da ön plana çıkmaktadır¹¹. Tümör hücrelerindeki nükleer YB1 pozitivitesi, PR negativitesi ve kötü prognoz ile koreledir¹².

Bazı çalışmalar nükleer boyanmayı kaydederken diğer çalışmalarda vakaların %2'den azında bu boyanma paterni görülmektedir. Nükleer YB1 boyanma paterninin artmış MDR1 ekspresyonu ile ilişkili olduğunu bildiren yayınlar^{8,148} yanı sıra artmış YB1 sitoplazmik boyanmasının daha kötü prognozla korele olduğu gösteren yayınlar da mevcuttur^{11,12,141}. Çalışmamızda lenf nodu negatif olan vakalarda YB1 ile immünohistokimyasal olarak sadece bir olguda (%3.3) hiç boyanma saptanmadı. Vakaların 3'ünde (%13.8) güçlü, 18'inde (%60.0) orta ve 7'sinde (%23.3) zayıf sitoplazmik boyanma izlendi. Beş vakada (%16.7) sadece fokal alanda zayıf boyanma saptandı. Bu vakalarda glandüler yapılar az sayıdaydı. Nükleer boyanma hiç bir vakada saptanmadı.

Lenf nodu pozitif olan vakalarda YB1 ile immünohistokimyasal olarak beş (%16.7) olguda hiç boyanma saptanmadı. Vakaların 3'ünde (%10.0) güçlü, 13'ünde (%43.3) orta ve 5'inde (%16.7) zayıf sitoplazmik boyanma izlendi. Bir vakada (%3.3) sadece fokal alanda zayıf boyanma saptandı. Üç vakada ise nükleer boyanma saptandı (%10.0). Bu vakalarda zeminde güçlü bir sitoplazmik boyanma vardı. Ayrıca üçünde de hormon reseptörlerinin negatif olduğu izlendi.

Yakın zamanda yapılan bir çalışma bu tür farklı boyanma paternlerinin farklı antikör kullanımı ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur²¹⁰. Şu an ticari olarak en az 3 farklı antikör mevcuttur. Bunlardan ikisi, N-terminal epitoplara karşı (AB-a ve AB-b) ve biri C-terminal epitopa (AB-c) karşı gelişmiş antikörlerdir. Birçok çalışmada AB-a epitop kullanılmıştır. Yakın bir zamanda farklı iki meme karsinomu grubunda bu üç epitopun sitoplazmik ve nükleer boyanma paternini araştırmak üzere bir çalışma yapılmıştır²¹⁰. Bu çalışma ile varılan sonuçlar şöyledir: 1. AB-c'ye göre AB-a epitop ile tespit edilen YB1 miktarı daha yüksektir; 2. AB-b epitop, immünohistokimyasal boyamada güvenilir değildir; 3. Bazı tümör dokularında ve stres altında olan hücrelerde nükleer YB1 boyanması sadece AB-a ile tespit edilmektedir (AB-c epitop bu durumda yardımcı olmamaktadır). Bu çalışmaya göre şimdiye kadar yapılmış birçok

çalışmada nükleer boyanma olarak değerlendirilmiş olguların muhtemel bir güçlü perinükleer sitoplazmik boyanma olabileceği öne sürülmüştür.

Bizim çalışmamızda AB-c epitop kullanılmıştır ve sadece lenf nodu pozitif olan grupta üç vakada nükleer boyanma olarak değerlendirilebilecek bir boyanma paterni saptanmıştır. Fakat üç olguda da zeminde güçlü bir sitoplazmik boyanma mevcuttur. Yukarıda bahsedilen çalışmada ise AB-a epitopu ile yalnızca olguların %3'ünde zayıf noktasal bir nükleer boyanma paterninin izlendiği bildirilmektedir²¹⁰. Bizim çalışmamızda nükleer boyanma paterni sadece 3 (%5.0) vakada izlendi; sitoplazmik boyanmada lenf nodu pozitif ve lenf nodu negatif vakaların arasında boyanma skorlarında anlamlı bir fark saptanmadı.

Çalışmamızda hücre proliferasyonunda rol oynadığı bilinen YB1'in tümör içindeki damar proliferasyonunda oynadığı rolün araştırılması için CD34 belirleyicisi ile "double staining" yöntemi kullanılarak kombine edilmesi planlandı. Ancak YB1 ile vasküler yapılarda nükleer veya sitoplazmik boyanma saptanmadı.

Boyanma skoru, klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığı zaman patolojik evre 1 (pT1) vakalar arasında orta güçlü (skor 3-4) boyanma paterni gösteren lenf nodu negatif olan vakalar sayıca anlamlı derecede fazla saptandı (p=0.0055). Güçlü boyanan (skor 5-6) ve ÖR-PR pozitif olan olgu sayısı da lenf nodu negatif olan vakalarda daha yüksekti (p=0.0086). Menopoz, histolojik derece, Her-2 durumu ve boyanma gücü arasında iki grup karşılaştırıldığı zamanda anlamlı bir fark bulunmadı.

D2-40, meme kanseri dahil birçok tümörde lenfatik damar içinde tümör embolisini göstermek amacı ile kullanılmaktadır^{189,192,194,195}. Çalışmalar D2-40 pozitif lenfatik damar invazyonunun yaş, tümör boyutu, histolojik derece ve ÖR durumu ile korele olduğunu göstermiştir¹⁹⁴. Ayrıca multivaryant analizde uzak metastazı belirleyebilecek tek önemli faktör olduğu tespit edilmiştir. Buna benzer sonuçlar başka çalışmalarda da gösterilmiştir^{195,196}. Bizim çalışmamızda lenf nodu negatif olan vakaların raporlarında anjiyolenfatik invazyon görülmemiştir. Bu vakaların 3'ünde (%10.0), D2-40'ın immünohistokimyasal olarak yardımı ile lenfatik damar içerisinde tümör trombüsü saptandı. Lenf nodu pozitif olan vakaların 20'sine ait raporlarda lenfovasküler invazyon belirtilmiştir. Bu vakaların 8'inde (%27.6) D2-40 ile boyanmış lenfatik damar içerisinde tümör

trombüsü saptandı, 1 vakada daha önce lenfovasküler invazyon görülmemiştir. Vaka sayımızın sınırlı olması ve immünohistokimya çalışılan kesitlerin her vaka için sınırlı olmasından dolayı tespit edilen lenfovasküler invazyon sayısı beklenen düzeyde çıkmadı. Her vakada daha çok kesitte immünohistokimyasal inceleme yapılırsa tespit oranının artacağı düşünülmektedir.

CD34 antijeni, 110 kD ağırlığında olup, transmembran siyalomüsin protein ailesinin üyesidir. Hematopoitik stem ve progenitor hücrelerde eksprese edilmektedir²⁰⁰. Weidner ve arkadaşları, faktör VIII'i kullanarak meme kansinomlarında mikrodamarların yoğunluğunu değerlendirirken yoğun neovaskülarizasyonun yakın ve uzak metastazların prediktif bir faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir²⁰⁵. Martin ve arkadaşları tarafından meme kansinomunda anjiogenezisi araştıran bir çalışmada yüksek mikrodamar yoğunluğunun daha kötü hastalık prognozu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir²⁰⁶. Bu çalışmada, CD31, CD34 ve FVIIIIRAg endotelial belirleyicileri kullanılmış, CD34 en hassas ve güvenilir belirleyici olarak tespit edilmiştir²⁰⁶. Bizim çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak CD34 tümör çevresindeki damar yoğunluğunu ölçmek için kullanıldı ve her iki grup karşılaştırıldığı zaman derece 1 olan vakalarda aksiller lenf nodu metastazı olanların olmayanlara göre daha yüksek mikrodamar yoğunluğuna sahip oldukları saptandı ($p=0.012$).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Meme karsinomlarında YB1 kullanılması faydalı olabilir, fakat ÖR ve HER2 antikorlarında da olduğu gibi güvenilirliği üst düzeye taşımak için çalışılacak klonda standardizasyon şarttır. Son çalışmalara göre boyanma paterninin ve boyanma tespitinin kullanılan antikor epitopuna bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yine bu çalışmalara dayanarak YB1'in N-terminaline bağlanan antikorun daha sensitif olduğu bildirilmiştir. Bu epitop kullanılarak benzer hasta gruplarında YB1 ekspresyonunun değerlendirilmesinin daha farklı sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.

CD34, bir damar endotel belirleyicisi olup, damar yoğunluğunun tespitinde yardımcı olabilir ve "double staining" yöntemi ile onkogeneziste önemli rol oynayan belirleyicilerle kombine edilerek uygun antikor seçimi ile anlamlı sonuçlar alınabileceği düşünülmektedir.

D2-40, bir lenfatik belirleyicisi olup rutin tümör preparatlarının incelenmesinde lenfovasküler trombüs saptanmasında faydalıdır ve özellikle aksiller lenf nodu negatif, fakat histolojik derecesi ve davranışı açısından daha agresif davranacağı düşünülen vakalarda kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Neoplasia. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC ed. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: 7th ed. Elsevier Saunders, 2005; 269-342.
2. Rosai J. Breast. In: Rosai J ed. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. New York: 9th ed. Mosby, 2004; 1763-1876.
3. Tuncer M. Cancer control in Turkey. Ministry of Health Department of Cancer Control. Ministry publication number: 740, Ankara 2008: 17-45.
4. Ozmen V: Breast cancer in the World and Turkey. J Breast Health 2008; 4:6-12.
5. Lester SC. Breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC ed. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: 7th ed. Elsevier Saunders, 2005; 1119-1154.
6. Berquin IM, Pang B, Dziubinski ML, et al. Y-box-binding protein 1 confers EGF independence to human mammary epithelial cells. Oncogene 2005; 24, 3177-3186.
7. Wu J, Lee C, Yokom D, et al. Disruption of the Y-box binding protein-1 results in suppression of the epidermal growth factor receptor and HER-2. Cancer Res. 2006 May 1;66(9):4872-9.
8. Uchiumi T, Kohno K, Tanimura H, et al. Enhanced expression of the human multidrug resistance 1 gene in response to UV light irradiation. Cell Growth Differ. 1993 Mar;4(3):147-57.
9. Bargou RC, Jürchott K, Wagener C, et al. Nuclear localization and increased levels of transcription factor YB-1 in primary human breast cancers are associated with intrinsic MDR1 gene expression. Nat Med. 1997 Apr;3(4):447-50.
10. Fujii T, Kawahara A, Basaki Y, et al. Expression of HER2 and estrogen receptor alpha depends upon nuclear localization of Y-box binding protein-1 in human breast cancers. Cancer Res. 2008 Mar 1;68(5):1504-12.
11. Habibi G, Leung S, Law JH, et al. Redefining prognostic factors for breast cancer: YB-1 is a stronger predictor of relapse and disease-

- specific survival than estrogen receptor or HER-2 across all tumor subtypes. *Breast Cancer Res.* 2008;10(5):R86. Epub 2008 Oct 16.
12. Dahl E, En-Nia A, Wiesmann F, et al. Nuclear detection of Y-box protein-1 (YB-1) closely associates with progesterone receptor negativity and is a strong adverse survival factor in human breast cancer. *BMC Cancer.* 2009 Nov 24;9:410.
 13. Kohno K, Izumi H, Uchiumi T, et al. The pleiotropic functions of the Y-box-binding protein, YB-1. *Bioessays* 2003 Jul;25(7):691-8
 14. Borlado LR, Mendez J. CDC6: from DNA replication to cell cycle checkpoints and oncogenesis. *Carcinogenesis* 2008; 29(2):237–243.
 15. Gonzalez S, Klatt P, Delgado S, et al. Oncogenic activity of CDC6 through repression of the INK4/ARF locus. *Nature* 2006; 440: 702–706.
 16. Semple JW, Duncher BP. ORC-associated replication factors as biomarkers for cancer. *Biotechnology Advances* 22 (2004); 621-631.
 17. Collins LC, Schnitt SJ. Breast. In: Mills SE ed. *Histology for Pathologists.* New York: 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007; 55-71.
 18. The Mammæ. In: Gray's Anatomy: <http://www.bartleby.com/107/271.html>
 19. Rosen P. Anatomy and Physiological Morphology. In: Rosen P ed. *Rosen's Breast Pathology* 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009; 1-25.
 20. Tavassoli FA, Devilee P, Ellis IO, et al. Tumours of the Breast. In: Tavassoli FA, Devilee P ed. *WHO Classification of Tumours; Tumours of the Breast and Female Genital Organs.* Lyon: IARC Pres: 2003; 9-112.
 21. Clarke CL, Sandle J, Parry SC, et al. Cytokeratin 5/6 in normal human breast: lack of evidence for a stem cell phenotype. *J Pathol* 2004;204:147-152.
 22. Page DL, Jensen RA. Evaluation and management of high risk and premalignant lesions of the breast. *World J Surg* 1994; 18: 32-38.
 23. Tamaki Y, Kotsuma Y, Miyoshi Y, et al. Breast cancer risk assessment for possible tailored screening for Japanese women. *Breast Cancer* 2009; 16(4):243-7.
 24. de Jong MM, Nolte IM, te Meerman GJ, et al. Genes other than BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. *J Med Genet* 2002; 39: 225-242.

25. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2 (*) 1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat Genet* 2002; 31: 55-59
26. Hemminki A. The molecular basis and clinical aspects of Peutz-Jeghers syndrome. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 735-750.
27. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; 275: 1943–1947.
28. Wooster R, Weber BL. Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 2339-2347.
29. Pharoah PDP, Antoniou A, Bobrow M, et al. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat Genet* 2002; 31: 33-36.
30. Antoniou AC, Pharoah PD, McMullan G, et al. A comprehensive model for familial breast cancer incorporating BRCA1, BRCA2 and other genes. *Br J Cancer* 2002; 86: 76-83.
31. Peto J. Breast cancer susceptibility: a new look at an old model. *Cancer Cell* 2002; 1: 411-412.
32. Miller K. Estrogen and DNA damage: the silent source of breast cancer? *J Natl Cancer Inst* 2002; 95: 100-102.
33. Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM, et al. Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol* 2006; 208: 495–506.
34. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
35. Bombonati A, Sgroi DC. The molecular pathology of breast cancer progression. *J Pathol* 2011; 223: 307–317
36. Wellings SR, Jensen HM. On the origin and progression of ductal carcinoma in the human breast. *J Natl Cancer Inst* 1973; 50: 1111–1118.
37. Wellings SR, Jensen HM, Marcum RG. An atlas of subgross pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions. *J Natl Cancer Inst* 1975; 55: 231–273.

38. Oyama T, Maluf H, Koerner F. Atypical cystic lobules: an early stage in the formation of low-grade ductal carcinoma in situ. *Virchows Arch* 1999; 435: 413–421.
39. Oyama T, Iijima K, Takei H, et al. Atypical cystic lobule of the breast: an early stage of low-grade ductal carcinoma in-situ. *Breast Cancer* 2000; 7: 326–331.
40. Lerwill MF. Flat epithelial atypia of the breast. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 615–621.
41. Page DL, Dupont WD, Rogers LW, et al. Atypical hyperplastic lesions of the female breast. A long-term follow-up study. *Cancer* 1985; 55: 2698–2708.
42. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med* 1985; 312: 146–151.
43. Kusama R, Fujimori M, Matsuyama I, et al. Clinicopathological characteristics of atypical cystic duct (ACD) of the breast: assessment of ACD as a precancerous lesion. *Pathol Int* 2000; 50: 793–800.
44. Otterbach F, Bankfalvi A, Bergner S, et al. Cytokeratin 5/6 immunohistochemistry assists the differential diagnosis of atypical proliferations of the breast. *Histopathology* 2000; 37: 232–240.
45. Boecker W, Moll R, Dervan P, et al. Usual ductal hyperplasia of the breast is a committed stem (progenitor) cell lesion distinct from atypical ductal hyperplasia and ductal carcinoma in situ. *J Pathol* 2002; 198: 458–467.
46. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730–737.
47. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 1976; 194: 23–28.
48. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105–111.
49. Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, et al. Cancer stem cells—perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells. *Cancer Res* 2006; 66: 9339–9344.

50. Barabe F, Kennedy JA, Hope KJ, et al. Modeling the initiation and progression of human acute leukemia in mice. *Science* 2007; 316: 600–604.
51. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis, *Histopathology* 1991; 19: 403–410. *Histopathology* 2002; 41: 151–152; discussion, 152–153.
52. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res* 2010; 12: 207.
53. Roylance R, Gorman P, Harris W, et al. Comparative genomic hybridization of breast tumors stratified by histological grade reveals new insights into the biological progression of breast cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 1433–1436.
54. Buerger H, Otterbach F, Simon R, et al. Different genetic pathways in the evolution of invasive breast cancer are associated with distinct morphological subtypes. *J Pathol* 1999; 189: 521–526.
55. Buerger H, Mommers EC, Littmann R, et al. Ductal invasive G2 and G3 carcinomas of the breast are the end stages of at least two different lines of genetic evolution. *J Pathol* 2001; 194: 165–170.
56. Duffy SW, Tabar L, Fagerberg G, et al. Breast screening, prognostic factors and survival—results from the Swedish two county study. *Br J Cancer* 1991; 64: 1133–1138.
57. Rajakariar R, Walker RA. Pathological and biological features of mammographically detected invasive breast carcinomas. *Br J Cancer* 1995; 71: 150–154.
58. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747–752.
59. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869–10874.

60. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 8418–8423.
61. Sotiriou C, Neo SY, Mc Shane LM, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 10393–10398.
62. Hu Z, Fan C, Oh DS, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics* 2006; 7: 96–103.
63. Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene* 2005; 24: 4660–4671.
64. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 790–800. Review, abstraktı bile yok
65. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 2817–2826.
66. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530–536.
67. Ma XJ, Wang Z, Ryan PD, et al. A two-gene expression ratio predicts clinical outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Cancer Cell* 2004; 5: 607–616.
68. Wang Y, Klijn JG, Zhang Y, et al. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet* 2005; 365: 671–679.
69. Fan C, Oh DS, Wessels L, et al. Concordance among gene expression-based predictors for breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 560–569.
70. 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.
71. Haibe-Kains B, Desmedt C, Piette F, et al. Comparison of prognostic gene expression signatures for breast cancer. *BMC Genomics*. 2008 Aug 21;9:394.

72. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, et al. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 262–272.
73. Ma XJ, Salunga R, Dahiya S, et al. A five-gene molecular grade index and HOXB13:IL17BR are complementary prognostic factors in early stage breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2601–2608.
74. Liedtke C, Hatzis C, Symmans WF, et al. Genomic grade index is associated with response to chemotherapy in patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3185–3191.
75. Toussaint J, Sieuwerts AM, Haibe-Kains B, et al. Improvement of the clinical applicability of the Genomic Grade Index through a qRT–PCR test performed on frozen and formalin-fixed paraffinembedded tissues. *BMC Genomics* 2009; 10: 424.
76. Nishizaki T, Chew K, Chu L, et al. Genetic alterations in lobular breast cancer by comparative genomic hybridization. *Int J Cancer* 1997; 74: 513–517.
77. Loveday RL, Greenman J, Simcox DL, et al. Genetic changes in breast cancer detected by comparative genomic hybridisation. *Int J Cancer* 2000; 86: 494–500.
78. Gunther K, Merkelbach-Bruse S, Amo-Takyi BK, et al. Differences in genetic alterations between primary lobular and ductal breast cancers detected by comparative genomic hybridization. *J Pathol* 2001; 193: 40–47.
79. Richard F, Pacyna-Gengelbach M, Schluns K, et al. Patterns of chromosomal imbalances in invasive breast cancer. *Int J Cancer* 2000; 89: 305–310.
80. Lakhani SR, Collins N, Sloane JP, et al. Loss of heterozygosity in lobular carcinoma in situ of the breast. *Clin Mol Pathol* 1995; 48: M74–78.
81. Simpson PT, Reis-Filho JS, Gale T, et al. Molecular evolution of breast cancer. *J Pathol* 2005; 205: 248–254.
82. Weigelt B, Geyer FC, Natrajan R, et al. The molecular underpinning of lobular histological growth pattern: a genome-wide transcriptomic analysis of invasive lobular carcinomas and grade and molecular

- subtype-matched invasive ductal carcinomas of no special type. *J Pathol* 2010; 220: 45–57.
83. Tavassoli FA, Norris HJ. A comparison of the results of longterm follow-up for atypical intraductal hyperplasia and intraductal hyperplasia of the breast. *Cancer* 1990; 65: 518–529.
 84. Page DL, Rogers LW. Combined histologic and cytologic criteria for the diagnosis of mammary atypical ductal hyperplasia. *Hum Pathol* 1992; 23: 1095–1097.
 85. Buerger H, Otterbach F, Simon R, et al. Comparative genomic hybridization of ductal carcinoma in situ of the breast—evidence of multiple genetic pathways. *J Pathol* 1999; 187:396–402.
 86. O’Connell P, Pekkel V, Fuqua SA, et al. Analysis of loss of heterozygosity in 399 premalignant breast lesions at 15 genetic loci. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 697–703.
 87. Moinfar F, Man YG, Bratthauer GL, et al. Genetic abnormalities in mammary ductal intraepithelial neoplasia-flat type (‘clinging ductal carcinoma in situ’): a simulator of normal mammary epithelium. *Cancer* 2000; 88: 2072–2081.
 88. Simpson PT, Gale T, Reis-Filho JS, et al. Columnar cell lesions of the breast: the missing link in breast cancer progression? A morphological and molecular analysis. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 734–746.
 89. Kasami M, Vnencak-Jones CL, Manning S, et al. Loss of heterozygosity and microsatellite instability in breast hyperplasia. No obligate correlation of these genetic alterations with subsequent malignancy. *Am J Pathol* 1997; 150: 1925–1932.
 90. Boecker W, Buerger H, Schmitz K, et al. Ductal epithelial proliferations of the breast: a biological continuum? Comparative genomic hybridization and high-molecular-weight cytokeratin expression patterns. *J Pathol* 2001; 195: 415–421.
 91. Jones C, Merrett S, Thomas VA, et al. Comparative genomic hybridization analysis of bilateral hyperplasia of usual type of the breast. *J Pathol* 2003; 199: 152–156.
 92. Geyer FC, Kushner YB, Lambros MB, et al. Microglandular adenosis or microglandular adenoma? A molecular genetic analysis of a case

- associated with atypia and invasive carcinoma. *Histopathology* 2009; 55: 732–743.
93. Shin SJ, Simpson PT, Da Silva L, et al. Molecular evidence for progression of microglandular adenosis (MGA) to invasive carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 496–504.
 94. Ma XJ, Salunga R, Tuggle JT, et al. Gene expression profiles of human breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 5974–5979.
 95. Porter D, Lahti-Domenici J, Keshaviah A, et al. Molecular markers in ductal carcinoma in situ of the breast. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 362–375.
 96. Schuetz CS, Bonin M, Clare SE, et al. Progression-specific genes identified by expression profiling of matched ductal carcinomas in situ and invasive breast tumors, combining laser capture microdissection and oligonucleotide microarray analysis. *Cancer Res* 2006; 66: 5278–5286.
 97. Ma XJ, Dahiya S, Richardson E, et al. Gene expression profiling of the tumor microenvironment during breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 2009; 11: R7.
 98. Lu YJ, Osin P, Lakhani SR, et al. Comparative genomic hybridization analysis of lobular carcinoma in situ and atypical lobular hyperplasia and potential roles for gains and losses of genetic material in breast neoplasia. *Cancer Res* 1998; 58: 4721–4727.
 99. Mastracci TL, Shadeo A, Colby SM, et al. Genomic alterations in lobular neoplasia: a microarray comparative genomic hybridization signature for early neoplastic proliferation in the breast. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45: 1007–1017.
 100. Morandi L, Marucci G, Foschini MP, et al. Genetic similarities and differences between lobular in situ neoplasia (LN) and invasive lobular carcinoma of the breast. *Virchows Arch* 2006; 449: 14–23.
 101. Elenbaas B, Weinberg RA. Heterotypic signaling between epithelial tumor cells and fibroblasts in carcinoma formation. *Exp Cell Res* 2001; 264: 169–184.
 102. Price JE, Polyzos A, Zhang RD, et al. Tumorigenicity and metastasis of human breast carcinoma cell lines in nude mice. *Cancer Res* 1990; 50: 717–721.

103. Mehta RR, Graves JM, Hart GD, et al. Growth and metastasis of human breast carcinomas with Matrigel in athymic mice. *Breast Cancer Res Treat* 1993; 25: 65–71.
104. Sternlicht MD, Kedeshian P, Shao ZM, et al. The human myoepithelial cell is a natural tumor suppressor. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 1949–1958.
105. Allinen M, Beroukhi R, Cai L, et al. Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer. *Cancer Cell* 2004; 6: 17–32.
106. Hu M, Yao J, Cai L, et al. Distinct epigenetic changes in the stromal cells of breast cancers. *Nat Genet* 2005; 37: 899–905.
107. Fiegl H, Millinger S, Goebel G, et al. Breast cancer DNA methylation profiles in cancer cells and tumor stroma: association with HER-2/neu status in primary breast cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 29–33.
108. Başaran G. Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörler. In: Aydın S, Akça T. ed. : Meme kanseri. Adana, Nobel kitabevi, 2011; 233-240.
109. 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.
110. Braun M, Flucke U, Debald M, et al. Detection of lymphovascular invasion in early breast cancer by D2-40 (podoplanin): a clinically useful predictor for axillary lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat.* 2008 Dec;112(3):503-11. Epub 2007 Dec 29.
111. Mohammed RA, Martin SG, Gill MS, et al. Improved methods of detection of lymphovascular invasion demonstrate that it is the predominant method of vascular invasion in breast cancer and has important clinical consequences. *Am J Surg Pathol.* 2007 Dec; 31(12):1825-33.
112. Lee AH, Pinder SE, Macmillan RD, et al. Prognostic value of lymphovascular invasion in women with lymph node negative invasive breast carcinoma. *Eur J Cancer.* 2006 Feb;42(3):357-62. Epub 2005 Dec 27.

113. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Clarke M, Coates AS, Darby SC, et al. Adjuvant chemotherapy in oestrogen-receptor-poor breast cancer: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet*. 2008 Jan 5;371(9606):29-40.
114. Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA*. 2006 Apr 12;295(14):1658-67.
115. Dizbay Sak S. Meme kanseri patolojisi. İn: Aydın S, Akça T. ed.: Meme kanseri. Adana, Nobel kitabevi, 2011; 187-213.
116. De Laurentiis M, Arpino G, Massarelli E, et al. A meta-analysis on the interaction between HER-2 expression and response to endocrine treatment in advanced breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11(13):4741.
117. Albain KS. Should genomic profiles be used to determine who should receive adjuvant chemotherapy? *Breast* 2009; 18 (Suppl 1): S17 (Abstr S40).
118. Tian S, Roepman P, van't Veer LJ, et al. Biological functions of the genes in the mammaprint breast cancer profile reflect the hallmarks of cancer. *Biomarker Insights*, 2010 Nov 28;5:129-38.
119. Chen E, Tong KB, Malin JL. Cost-effectiveness of 70-gene mammaprint signature in node-negative breast cancer. *Am J Manag Care*. 2010;16(12):e333-e342.
120. Habel LA, Shak S, Jacobs M, et al. A population-based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node-negative patients. 2006;8(3):R25. Epub 2006 May 31.
121. 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(23):3726-3734.
122. K Albain, W Barlow, S Shak, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal, node-positive, estrogen receptor-positive breast cancer. *Lancet Oncology*. 2010; 11(1):55-65.
123. <http://www.oncotypedx.com/en-US/Breast/PatientCaregiver/OncoOverview.aspx>

124. Bogaerts J, Cardoso F, Buyse M et al. Gene signature evaluation as a prognostic tool: challenges in the design of the MINDACT trial. *Nat Clin Pract Oncol* 2006; 3: 540–551.
125. Sparano JA. TAILORx: trial assigning individualized options for treatment (Rx). *Clin Breast Cancer* 2006; 7: 347–350.
126. Hedenfalk I, Duggan D, Chen Y, et al. Gene expression profiles in hereditary breast cancer. *N Engl J Med* 2001; 344: 539-548.
127. West M, Blanchette C, Dressman H, et al. Predicting the clinical status of human breast cancer by using gene expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 11462-11467.
128. Weigelt B, Horlings HM, Kreike B, et al. Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types. *J Pathol* 2008; 216: 141–150.
129. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005; 23: 7350- 7360.
130. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *J Pathol* 2006; 208: 495-506.
131. Ribeiro-Silva A, Ramalho LN, Garcia SB, et al. p63 correlates with both BRCA1 and cytokeratin 5 in invasive breast carcinomas: further evidence for the pathogenesis of the basal phenotype of breast cancer. *Histopathology* 2005; 47: 458-466.
132. Hannemann J, Kristel P, van Tinteren H, et al. Molecular subtypes of breast cancer and amplification of topoisomerase IIa: predictive role in dose intensive adjuvant chemotherapy. *Br J Cancer* 2006; 95: 1334–1341. Epub 2006 Oct 31.
133. Didier DK, Schiftenbauer J, Woulfe SL, et al. Characterization of the cDNA encoding a protein binding to the major histocompatibility complex class II Y box. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:7322 – 7326.
134. Matsumoto K, Wolffe AP. Gene regulation by Y-box proteins: coupling control of transcription and translation. *Trends Cell Biol.* 1998 Aug;8(8):318-23.
135. Wolffe AP. Structural and functional properties of the evolutionarily

- ancient Y-box family of nucleic acid binding proteins. *Bioessays* 1994; 16:245 – 251.
136. Graumann PL, Marahiel MA. A superfamily of proteins that contain the cold-shock domain. *Trends Biochem Sci* 1998; 23:286.
137. Ohga T, Koike K, Ono M, et al. Role of the human Y box-binding protein YB-1 in cellular sensitivity to the DNA-damaging agents cisplatin, mitomycin C, and ultraviolet light. *Cancer Res.* 1996 Sep 15;56(18):4224-8.
138. Spitkovsky DD, Gilbert DJ, Royer-Pokora NB, et al. Tissue restricted expression and chromosomal localization of the YB-1 gene encoding a 42kD nuclear CCAAT binding protein. *Nucleic Acids Research*, 1992, Vol. 20, No. 4:797-803.
139. Ladomery M, Sommerville J. A role for Y-box proteins in cell proliferation. *Bioessays*. 1995 Jan;17(1):9-11.
140. Shibao K, Takano H, Nakayama Y, et al. Enhanced coexpression of YB-1 and DNA topoisomerase II alpha genes in human colorectal carcinomas. *Int J Cancer*. 1999 Dec 10;83(6):732-7.
141. Janz M, Harbeck N, Dettmar P, et al. Y-box factor YB-1 predicts drug resistance and patient outcome in breast cancer independent of clinically relevant tumor biologic factors HER2, uPA and PAI-1. *Int J Cancer*. 2002 Jan 20;97(3):278-82.
142. Shibahara K, Sugio K, Osaki T, et al. Nuclear expression of the y-box binding protein, yb-1, as a novel marker of disease progression in non-small cell lung cancer. (2001) *Clin. Cancer Res.* 7, 3151–3155.
143. Yahata H, Kobayashi H, Kamura T, et al. Increased nuclear localization of transcription factor YB-1 in acquired cisplatin-resistant ovarian cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2002 Nov;128(11):621-6. Epub 2002 Oct 22.
144. Oda Y, Sakamoto A, Shinohara N, et al. Nuclear expression of YB-1 protein correlates with P-glycoprotein expression in human osteosarcoma. *Clin. Cancer Res.* 1998 Sep;4(9):2273-7.
145. Hipfel R, Schitteck B, Bodingbauer Y, Garbe C. Specifically regulated genes in malignant melanoma tissues identified by subtractive hybridization. *Br J Cancer*. 2000 Mar;82(6):1149-57.

146. Jurchott K, Bergmann S, Stein U, et al. YB-1 as a cell cycle-regulated transcription factor facilitating cyclin A and cyclin B1 gene expression. *J Biol Chem.* 2003 Jul 25;278(30):27988-96. Epub 2003 Apr 14.
147. Mertens PR, Harendza S, Pollock AS, Lovett DH. Glomerular mesangial cell-specific transactivation of matrix metalloproteinase 2 transcription is mediated by YB-1. *J Biol Chem.* 1997 Sep 5;272(36):22905-12.
148. Goldsmith ME, Madden MJ, Morrow CS, Cowan KH. A Y-box consensus sequence is required for basal expression of the human multidrug resistance (mdr1) gene. *J Biol Chem.* 1993 Mar 15;268(8):5856-60.
149. Talvensaaari-Mattila A, Paakko P, Hoyhta M, et al. Matrix metalloproteinase-2 immunoreactive protein: a marker of aggressiveness in breast carcinoma. *Cancer* 1998; 83: 1153-62.
150. Lasham A, Lindridge E, Rudert F, et al. Regulation of the human fas promoter by YB-1, Puralpha and AP-1 transcription factors. *Gene.* 2000 Jul 11; 252(1-2):1-13.
151. Lasham A, Moloney S, Hale T, et al. The Y-box-binding protein, YB1, is a potential negative regulator of the p53 tumor suppressor. *J Biol Chem.* 2003 Sep 12;278(37):35516-23. Epub 2003 Jun 30.
152. Homer C, Knight DA, Hananeia L, et al. Y-box factor YB1 controls p53 apoptotic function. *Oncogene.* 2005 Dec 15;24(56):8314-25.
153. Raffetseder U, Frye B, Rauen T, et al. Splicing factor SRp30c interaction with Y-box protein-1 confers nuclear YB-1 shuttling and alternative splice site selection. *J Biol Chem.* 2003 May 16;278(20):18241-8. Epub 2003 Feb 25.
154. Chen CY, Gherzi R, Andersen JS, et al. Nucleolin and YB-1 are required for JNK-mediated interleukin-2 Mrna stabilization during T-cell activation. *Genes Dev.* 2000; 14: 1236–48.
155. Sutherland BW, Kucab J, Wu J, et al. Akt phosphorylates the Y-box binding protein 1 at Ser102 located in the cold shock domain and affects the anchorage-independent growth of breast cancer cells. *Oncogene.* 2005 Jun 16; 24(26):4281-92.

156. Fehm T, Morrison L, Saboorian H, et al. Patterns of aneusomy for three chromosomes in individual cells from breast cancer tumors. *Breast Cancer Res Treat* 2002;75:227–39.
157. Bergmann S, Royer-Pokora B, Fietze E, et al. YB-1 provokes breast cancer through the induction of chromosomal instability that emerges from mitotic failure and centrosome amplification. *Cancer Res* 2005, 65:4078-4087.
158. Basaki Y, Taguchi K, Izumi H, et al. Y-box binding protein-1 (YB-1) promotes cell cycle progression through CDC6-dependent pathway in human cancer cells. *Eur J Cancer*. 2010 Mar;46(5):954-65. Epub 2010 Jan 14.
159. Takahashi M, Shimajiri S, Izumi H, et al. Y-box binding protein-1 is a novel molecular target for tumor vessels. *Cancer Sci*. 2010 Jun;101(6):1367-73. Epub 2010 Feb 16.
160. Hartwell LH. Sequential function of gene products relative to DNA synthesis in the yeast cell cycle. *J Mol Biol*, 1976;104:803–817.
161. Pelizon C. Down to the origin: Cdc6 protein and the competence to replicate. *TRENDS in Cell Biology* Vol.13 No.3 March 2003, 110-113.
162. Nishitani H, Lygerou Z. Control of DNA replication licensing in a cell cycle. *Benes to Cells*, 2002, 7, 523-534.
163. Williams RS, Shohet RV, Stillman B. A human protein related to yeast Cdc6p. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997 Jan 7; 94(1):142-7.
164. Barry ER, Bell SD. DNA replication in the archaea. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2006 Dec; 70(4):876-87.
165. Hateboer G, Wobst A, Petersen BO, et al. Cell cycle-regulated expression of mammalian CDC6 is dependent on E2F. *Mol Cell Biol*. 1998 Nov; 18(11):6679-97.
166. Ohtani K, Tsujimoto A, Ikeda M, et al. Regulation of cell growth-dependent expression of mammalian CDC6 gene by the cell cycle transcription factor E2F. *Oncogene*, 1998 Oct 8; 17(14):1777-85.
167. Yan Z, DeGregori J, Shohet R, et al. Cdc6 is regulated by E2F and is essential for DNA replication in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998 Mar 31; 95(7):3603-8.
168. Nurse P, Bisset Y. Genetic control of the cell division cycle in the

- fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol. Gen. Genet.* 1976; 146: 167–178.
169. Hereford LM, Hartwell LH. Sequential gene function in the initiation of *Saccharomyces cerevisiae* DNA synthesis. *J. Mol. Biol.* 1974; 84: 445–461.
170. Coleman TR, Carpenter PB, Dunphy WG. The *Xenopus* Cdc6 protein is essential for the initiation of a single round of DNA replication in cell-free extracts. *Cell* 1996; 87: 53–63.
171. Stoeber K, Mills AD, Kubota Y, et al. Cdc6 protein causes premature entry into S phase in a mammalian cell-free system. *EMBO J.* 1998;17: 7219–7229.
172. Petersen BO, Wagener C, Marinoni F, et al. Cell cycle- and cell growth-regulated proteolysis of mammalian CDC6 is dependent on APC-CDH1. *Genes Dev.* 2000; 14: 2330–2343.
173. Madine MA, Swietlik M, Pelizon C, et al. The roles of the MCM, ORC and Cdc6 proteins in determining the replication competence of chromatin in quiescent cells. *J. Struct. Biol.* 2000; 129: 198–210.
174. Ohta S, Koide M, Tokuyama T, et al. Cdc6 expression as a marker of proliferative activity in brain tumors. *Oncol Rep*, 2001; 8:1063–1066.
175. Pinyol M, Salaverria I, Bea S, et al. Unbalanced expression of licensing DNA replication factors occurs in a subset of mantle cell lymphomas with genomic instability. *Int J Cancer*, 2006; 119:2768–2774.
176. Karakaidos P, Taraviras S, Vassiliou LV, et al. Overexpression of the replication licensing regulators hCdt1 and hCdc6 characterizes a subset of non-small-cell lung carcinomas: synergistic effect with mutant p53 on tumor growth and chromosomal instability—evidence of E2F-1 transcriptional control over hCdt1. *Am J Pathol*, 2004;165: 351–1365.
177. Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. *Cell*, 2006;127: 265–275.
178. Ekholm-Reed S, Méndez J, Tedesco D, et al. Deregulation of cyclin E in human cells interferes with prereplication complex assembly. *J Cell Biol*, 2004 Jun 21; 165(6):789-800. Epub 2004 Jun 14.
179. Lengronne A, Schwob E. The yeast CDK inhibitor Sic1 prevents genomic instability by promoting replication origin licensing in late G(1).

- Mol Cell, 2002 May; 9(5):1067-78.
180. Sidorova JM, Breeden LL. Precocious G1/S transitions and genomic instability: the origin connection. *Mutat Res*, 2003 Nov 27;532(1-2):5-19.
 181. Tanaka S, Diffley JF. Deregulated G1-cyclin expression induces genomic instability by preventing efficient pre-RC formation. *Genes Dev*, 2002 Oct 15; 16(20):2639-49.
 182. Arriola E, Marchio C, Tan DS, et al. Genomic analysis of the HER2/TOP2A amplicon in breast cancer and breast cancer cell lines. *Lab Invest*. 2008 May;88(5):491-503. Epub 2008 Mar 10.
 183. Stevens KN, Wang X, Fredericksen Z, et al. Evaluation of associations between common variation in mitotic regulatory pathways and risk of overall and high grade breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 May 24. [Epub ahead of print].
 184. Buechler S. Low expression of a few genes indicates good prognosis in estrogen receptor positive breast cancer. *BMC Cancer* 2009, 9:243.
 185. Ordonez NG, Podoplanin: A novel diagnostic immunohistochemical marker. *Adv Anat Pathol*, 2006; 13: 83-88.
 186. Bailey D, Baumal R, Law J, et al. Production of a monoclonal antibody specific for seminomas and dysgerminomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, 83: 5291–5295.
 187. Wetterwald W, Hofstetter MG, Cecchini B, et al. Characterization and cloning of the E11 antigen, a marker expressed by Rat Osteoblasts and Osteocytes. *Bone* 1996, 18(2): 125-132.
 188. Breiteneder-Geleff S, Matsui K, Soleiman A, et al. Podoplanin, novel 43-kd membrane protein of glomerular epithelial cells, is down-regulated in puromycin nephrosis. *Am J Pathol*. 1997 Oct;151(4):1141-52.
 189. Marks A, Sutherland DR, Bailey D, et al. Characterization and distribution of an oncofetal antigen (M2A antigen) expressed on testicular germcell tumours. *British Journal of Cancer*, 1999; 80(3/4): 569–578.
 190. Ma T, Yang B, Matthay MA, Verkman AS. Evidence against a role of mouse, rat, and two cloned human t1alpha isoforms as a water channel or a regulator of aquaporin-type water channels. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998 Jul;19(1):143-9.

191. Schacht V, Ramirez MI, Hong YK, et al. T1alpha/podoplanin deficiency disrupts normal lymphatic vasculature formation and causes lymphedema. *EMBO J*. 2003 Jul 15;22(14):3546-56.
192. Kahn HJ, Bailey D, Marks A. Monoclonal antibody D2-40, a new marker of lymphatic endothelium, reacts with Kaposi's sarcoma and a subset of angiosarcomas. *Mod Pathol*. 2002;15:434-440.
193. Kalof AN, Cooper K. D2-40 Immunohistochemistry—So Far! *Adv Anat Pathol* 2009;16:62–64)
194. 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.
195. Braun M, Flucke U, Debold M, et al. Detection of lymphovascular invasion in early breast cancer by D2-40 (podoplanin): a clinically useful predictor for axillary lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Dec;112(3):503-11. Epub 2007 Dec 29.
196. Mohammed RA, Martin SG, Gill MS, et al. Improved methods of detection of lymphovascular invasion demonstrate that it is the predominant method of vascular invasion in breast cancer and has important clinical consequences. *Am J Surg Pathol*. 2007 Dec;31(12):1825-33.
197. Rabban JT, Chen YY. D2-40 expression by breast myoepithelium: potential pitfalls in distinguishing intralymphatic carcinoma from in situ carcinoma. *Hum Pathol*. 2008;39:175–183.
198. Niakosari F, Kahn HJ, Marks A, From L: Detection of lymphatic invasion in primary melanoma with monoclonal antibody D2-40: a new selective immunohistochemical marker of lymphatic endothelium. *Arch Dermatol* 2005, 141:440-444.
199. Zeng Y, Opeskin K, Horvath LG, et al. Lymphatic vessel density and lymph node metastasis in prostate cancer. *Prostate* 2005; 65:222-230.
200. Civin CI. Human monomyeloid cell membrane antigens. *Exp Hematol*, 1990;18:461.

201. Berenson RJ, Andrews RG, Bensinger WI, et al. Antigen CD34+ marrow cells engraft lethally irradiated baboons. *J Clin Invest.* 1988; 81:951.
202. Berenson RJ, Bensinger WI, Hill RS, et al. Engraftment after infusion of CD34+ marrow cells in patients with breast cancer or neuroblastoma. *Blood* 1991; 77:1717.
203. <http://en.wikipedia.org/wiki/CD34>
204. Suzawa K, Kobayashi M, Sakai Y, et al. Preferential induction of peripheral lymph node addressin on high endothelial venule-like vessels in the active phase of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 2007 Jul;102(7):1499-509.
205. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med.* 1991 Jan 3;324(1):1-8.
206. Martin L, Green B, Renshaw C, et al. Examining the technique of angiogenesis assessment in invasive breast cancer. *British Journal of Cancer* 1997; 76(8): 1046-1054.
207. Peto R, Boreham J, Clarke M, et al. UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20–69 years. *Lancet* 2000; 355: 1822.
208. Smith I. Adjuvant treatment for early breast cancer. *Ann Oncol* 2005; 16: 82-87.
209. Harris L, Fritsche H, Mennel R, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;33:5287–5312.
210. Woolley AG, Algie M, Samuel W et al. Prognostic association of YB-1 expression in breast cancers: a matter of antibody. *PLoS One.* 2011; 6(6):e20603. Epub 2011 Jun 10.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- YB1 : Y-box binding protein-1
CDC6 : Cell division cycle 6
TDLÜ : Terminal duktus lobüler ünitesi
ÖR : Östrojen reseptörü
PR : Progesteron reseptörü
AR : Androjen reseptörü
DNA : Dezoksiribonükleik asit
RNA : Ribonükleik asit
DKİS : Duktal karsinoma in situ
FEA : Flat epitelyal atipi
ADH : Atipik duktal hiperplazi
UDH : Atipisiz (usual) duktal hiperplazi
ALH : Atipik lobüler hiperplazi
LKİS : Lobüler karsinoma in situ
İLK : İnvaziv lobüler karsinom
CGH : Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
WHO : Dünya Sağlık Örgütü
MMP-2 : Matariks metalloproteinaz-2
MDR1 : Multi-drug rezistans 1
GİST : Gastrointestinal stromal tümörleri
PNST : Periferik sinir kılıfı tümörü
PBS : Fosfatla tamponlanmış salin
TBS : Tris ile tamponlanmış salin
DAB : Diaminobenzidin (kromojen)
AEC : 3-Amino-9-Etilkabazol (kromojen)
EDTA : Etilendiamintetraasetik asit
LN₀ : Lenf nodu metastazı olmayanları (pN₀)
LN₁₋₃ : Lenf nodu metastazı olanları (pN1-pN3)
LVİ : Lenfovasküler invazyon
CHİP : Kromatin immünpresipitasyon (Chromatin immunoprecipitation)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1: Normal meme anatomisi.	11
Şekil 2: Memenin lenfatik drenajı.	12
Şekil 3: Normal erişkin kadın memesinde terminal duktal lobül ünitesinin morfolojik görünümü.	15
Şekil 4: Meme kanseri gelişim şeması.	22
Şekil 5: Farklı meme kanseri gelişim yolları.	26
Şekil 6: YB1 ile tümör hücrelerinde zayıf sitoplazmik boyanma.	50
Şekil 7: YB1 ile neoplastik hücrelerde orta şiddette sitoplazmik boyanma.	50
Şekil 8: YB1 ile neoplastik hücrelerde güçlü sitoplazmik boyanma.	51
Şekil 9: D2-40 boyası ile saptanan tümör trombüsleri.	60
Şekil 10: Tümör içinde CD34 ile yoğun boyanan damarlar.	61

TABLULAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1: Meme kanserinin moleküler tiplerinin immünohistokimyasal özellikleri.	33
Tablo 2: D2-40 ekspresyonu gösteren tümörler.	38
Tablo 3: Bloom-Richardson Sistemi Nottingham Modifikasyonu.	40
Tablo 4: Lenf nodu negatif (LN ₀) vakaların klinikopatolojik özellikleri.	46
Tablo 5: Lenf nodu pozitif (LN ₁₋₃) vakaların klinikopatolojik özellikleri.	47
Tablo 6: Her iki gruptaki yaş ortalaması.	48
Tablo 7: ÖR, PR ve Her-2 ekspresyon özellikleri.	48
Tablo 8a: ÖR, PR ve Her-2 ekspresyon özellikleri ve her iki grup arasındaki korelasyonu (LN ₀ ve LN ₁).	48
Tablo 8b: ÖR, PR ve Her-2 ekspresyon özellikleri ve her iki grup arasındaki korelasyonu (LN ₀ ve LN ₂).	49
Tablo 8c: ÖR, PR ve Her-2 ekspresyon özellikleri ve her iki grup arasındaki korelasyonu (LN ₀ ve LN ₃).	49
Tablo 9: LN ₀ vakaların YB1 boyanma sonuçları ve klinikopatolojik bulgular.	51
Tablo 10: LN ₀ vakaların YB1 boyanma sonuçları.	52
Tablo 11: LN ₁₋₃ vakaların YB1 boyanma sonuçları ve klinikopatolojik bulgular.	53
Tablo 12: LN ₁₋₃ vakaların YB1 boyanma sonuçları.	54
Tablo 13: LN ₀ vakaların skorlama tablosu.	54
Tablo 14: LN ₁₋₃ vakaların skorlama tablosu.	54
Tablo 15: LN ₀ ve LN ₁₋₃ vakaların skorları ve korelasyonu.	54
Tablo 16a: LN ₀ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (menopoz durumu ve histolojik derece).	55
Tablo 16b: LN ₀ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (ÖR, PR ve Her2 durumu).	55
Tablo 16c: LN ₀ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (LVİ ve pT durumu).	55
Tablo 17a: LN ₁₋₃ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular	

(menopoz durumu ve histolojik derece).	56
Tablo 17b: LN ₁₋₃ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (ÖR, PR ve Her-2 durumu).	56
Tablo 17c: LN ₁₋₃ vakaların YB1 boyanma skorları ve klinikopatolojik bulgular (LVİ ve pT durumu).	56
Tablo 18: LN ₀ ve LN ₁₋₃ vakaların menopoz durumu ve boyanma skorları.	57
Tablo 19: LN ₀ ve LN ₁₋₃ vakaların tümör derecesi ve boyanma skorları.	57
Tablo 20: LN ₀ ve LN ₁₋₃ vakaların patolojik tümör evresi ve boyanma skorları.	57
Tablo 21: LN ₀ ve LN ₁₋₃ vakaların ÖR durumu ve boyanma skorları.	58
Tablo 22: LN ₀ ve LN ₁₋₃ vakaların PR durumu ve boyanma skorları.	58
Tablo 23: LN ₀ ve LN ₁₋₃ vakaların Her2 durumu ve boyanma skorları.	58
Tablo 24: LN ₀ ve LN ₁₋₃ vakaların LVİ durumu ve boyanma skorları.	59
Tablo 25: Lenf nodu durumu ve D2-40 boyası ile saptanan lenfovasküler invazyon.	61
Tablo 26: Her iki grup vakaların CD34 ile belirlenen mikrodamar yoğunluğu ve tümör derecesi.	62