



**YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNVAZİV MEME KANSERLERİNDE İNTRATÜMÖRAL ve
PERİTÜMÖRAL LENF ve KAN DAMARI DAĞILIM
YOĞUNLUĞUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ ve BUNUN MEME
KANSERİ MOLEKÜLER ALT TIPLERİYLE ve DİĞER PROGNOSTİK
FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. AYŞEGÜL ERDEM

İSTANBUL – 2012



**YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNVAZİV MEME KANSERLERİNDE İNTRATÜMÖRAL ve
PERİTÜMÖRAL LENF ve KAN DAMARI DAĞILIM
YOĞUNLUĞUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ ve BUNUN MEME
KANSERİ MOLEKÜLER ALT TIPLERİYLE ve DİĞER PROGNOSTİK
FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. AYŞEGÜL ERDEM

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. FERDA ÖZKAN**

İSTANBUL – 2012

TEŞEKKÜR

Tıp Fakültesi Dekanımız Sayın Prof. Dr. Ayça VİTRİNEL'e,

Uzmanlık eğitimimde bana patolojiyi sevdiren, hoşgörülü, huzurlu bir ortam sağlayan, bilgi birikimlerini paylaşarak yetişmeme katkıda bulunan ve bana örnek olan değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Ferda ÖZKAN ve Sayın Doç. Dr. A. Işın Doğan EKİCİ'ye,

Tezimin laboratuvar çalışma ortamının sağlanmasında verdiği destekten dolayı Yrd. Doç. Dr. Ünal USLU'ya, tezimle ilgili bitmek bilmeyen istatistiksel analizleri azimle ve şikayet etmeden gerçekleştiren Akdeniz Üniversitesi Gerontoloji A.D.'da görev yapan Yrd. Doç. Dr. Özgür ARUN'a,

Rotasyon eğitimimde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A.D. ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A.D.'da görev yapan hocalarıma ve bana yardımcı olan asistan arkadaşlarıma,

Asistanlığım boyunca birlikte çalıştığımız, bana her zaman her konuda yardımcı olan, sevgili, çalışkan, laboratuvar arkadaşlarım Ebru TOKA, Ebru ŞAHİN ve Ferah DURMUŞ'a,

Bugünlere gelmemi sağlayan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, bana her zaman güç veren aileme,

Hayatta en büyük şansım olan, değerli eşim Hakan ERDEM'e ve hayatımın anlamı olan, bundan sonra daha çok zaman ayıracağım, biricik oğlum Fatih ERDEM'e,

Sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Dr. Ayşegül ERDEM

ÖZET

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen ve en çok ölüme neden olan malignitedir. Meme kanserinden ölümün sebebi, genellikle metastazdır. Bu nedenle tümörün metastaz potansiyelinin saptanması, tedaviyi belirleyen en önemli faktördür. Tümör vaskülarizasyonunun değerlendirilmesi, özellikle metastaz riskini tahmin etmede yararlı olabilir.

Son yıllarda tümör vaskülaritesi ve prognoz arasındaki ilişki çok sayıdaki solid tümörde olduğu gibi meme kanserinde de yaygın olarak araştırılmaktadır. Ancak anjiyogenez ve lenfanjiyogenez, genellikle birlikte incelenmemektedir. Ayrıca tümörün moleküler yapısı ile tümör vaskülarizasyonunun ilişkisi çok az çalışmanın konusu olmuştur. Bu çalışmada invaziv meme kanserlerindeki kan ve lenf damarı yoğunluklarının hem birbirleriyle, hem moleküler alt tiplerle, hem de klinik ve histopatolojik bulgularla korelasyonunu inceledik. Çalışmamızın amacı, tümör anjiyogenezi ve lenfanjiyogenezinin moleküler sınıflama ile varsa örtüşen noktalarını ortaya çıkarmak ve diğer prognostik faktörlerle ilişkisini incelemektir.

Çalışmaya 40'ı neoadjuvan tedavi almamış, 6'sı tedavi almış toplam 46 invaziv meme karsinomu hastası dahil edildi. Malign veya premalign lezyon içermeyen 6 mamoplasti spesmeni kontrol olarak kullanıldı. İmmünohistokimyasal yöntemle (ER, PR, HER2, Ki67, CK 5/6 ve EGFR) her hastada tümörün moleküler alt tiplendirilmesi yapıldı ve uygun tümör blokları seçilerek aynı bloklara hem CD31 hem D2-40 çalışıldı. Daha sonra bilgisayarlı yarı otomatik görüntüleme sistemiyle tümör içinde, tümör sınırında ve tümör dışında damar yoğunlukları saptandı. Kontrol grubunda ise adenozis çevresinde ve adenozis dışı alanda damar yoğunluğu ölçüldü. Hastaların klinik ve histopatolojik bulguları ayrıntılı olarak incelendikten sonra, moleküler alt tiplere göre değerlendirme yapıldı. Tüm hastalardaki tümör içi, tümör sınırı ve tümör dışı damar yoğunluğu ölçümleri, hem birbirleriyle hem kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Damar yoğunluklarını moleküler, klinik ve histopatolojik bulgularla karşılaştırmak için, sadece neoadjuvan tedavi almayan 40 hasta incelemeye alındı.

Moleküler alt tiplere göre sınıflanan olgular arasında sadece lenf düğümü (LN) metastazı, evre ve Ki67 proliferasyon indeksi açısından anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$); yaş, ailede kanser öyküsü, histolojik tip, histolojik derece, tümör büyüklüğü ve p53 ekspresyonu bakımından anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Tüm hastalarda ortalama damar yoğunluğu değerleri, birbirleriyle karşılaştırıldığında tümör sınırındaki mikrodamar yoğunluğu (MDY) ve lenfatik damar yoğunluğu (LDY), tümör

içi ve tümör dışına göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). Hastalardaki tümör dışı damar yoğunluğu (MDY ve LDY) ölçümleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı fark olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Bu bulgular, tümörde anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin varlığını destekler nitelikteydi. MDY ve LDY arasında ise korelasyon bulunmadı. Bu sonuç, anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin gelişiminde hipoksi gibi ortak tetikleyici mekanizmaların varlığıyla ilgili mevcut bilgilerle uyumlu değildi. Bu nedenle anjiyogenezle lenfanjiyogenezin gelişim mekanizmaları arasında farklılıklar olabileceği varsayıldı.

Damar yoğunlukları moleküler, klinik ve histopatolojik bulgularla karşılaştırıldığında hasta yaşı, tümörün moleküler alt tipi, tümörün ER, PR ve HER2 pozitifliği ve tümör içindeki nekroz oranıyla MDY arasında; tümörün histolojik tipi, tümör büyüklüğü, LN metastazı, evre ve tümörün HER2 pozitifliği ile LDY arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). Tümörün histolojik derecesi, yerleşim yeri, Ki67 proliferasyon indeksi, p53 ekspresyonu, tümördeki yaygın in situ karsinom varlığı, tümöre karşı gelişen iltihabi ve stromal yanıt ile damar yoğunlukları (MDY ve LDY) arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Sonuç olarak “tümör sınırındaki MDY’nu etkileyen ana etkenlerin ER, PR, HER2 pozitifliği, dolayısıyla tümörün moleküler alt tipi; tümör sınırı LDY’nu etkileyen başlıca etkenlerin ise, meme kanserinin majör prognostik faktörleri (LN metastazı, tümör büyüklüğü, evre) ve HER2 pozitifliği” olabileceği düşünüldü.

Bizim çalışmamız, vaka sayısı az olmasına rağmen meme kanseri anjiyogenez ve lenfanjiyogenez mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasında bir ipucu niteliği taşıyabilir. Elde edilen veriler ışığında, tümörün moleküler yapısı ve anjiyogenez üzerine yapılacak çalışmaların, özellikle üçlü negatif meme kanseri hastalarına anti-anjiyogenik tedavi seçeneğini sunabileceğini öngörmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Anjiyogenez, lenfanjiyogenez, invaziv meme kanseri, CD31, D2-40

SUMMARY

Breast cancer is the most frequent and fatal cancer in women. The reason of mortality is commonly the metastases. Thus, disclosing the metastasing capacity of the tumor is the most important factor in the identification of treatment. The evaluation of tumor vascularization may particularly be helpful in predicting the metastatic potential.

In recent years the connection between tumoral vascularity and prognosis has been extensively investigated in breast cancer as in many other solid tumors. However, angiogenesis and lymphangiogenesis have not been commonly evaluated together. In addition, the association between the molecular subtypes and the vascularization of the tumor has been the subject of very few studies. In this study, we investigated the correlations between blood and lymphatic vessel densities in invasive breast cancer and their individual associations with the molecular subtypes, clinical parameters, and the histopathological findings. Our aims were to disclose the overlapping points, if any, of tumoral angiogenesis and lymphangiogenesis with the molecular subtypes and to investigate their interrelations with the other prognostic factors.

In our study, 46 patients with invasive breast carcinoma were included and six of them received neoadjuvant treatment while 40 did not. Six specimens, which did not include malignant or premalignant lesions and obtained after mastoplectomy, were used as the control group. The molecular subtyping was performed with immunohistochemical method (ER, PR, HER2, Ki67, CK 5/6 and EGFR) in each patient and by selecting appropriate tumor paraffin blocks either CD31 or D2-40 were applied to the same blocks. After then, the vascular density was identified at the tumoral border, and inside and outside of the tumor by computerized semiautomatic image system. Vascular density was calculated either at the adenosis zone or in the areas out of the adenosis zone in the control group. After assessment of clinical and histopathological findings of the patients in detail, the analysis was made according to the molecular subtypes. The vascular density calculations at the tumoral border, and inside and outside of the tumor were either compared to each other or to the control group. In the comparison of vascular densities with molecular, clinical and histopathological findings, 40 patients who did not receive neoadjuvant therapy were assessed.

Among the cases classified molecular into subtypes, significant differences were only detected for lymph node (LN) metastasis, stage and Ki67 proliferation index ($p < 0,05$); while

statistical significance could not be disclosed for age, family cancer history, histological type, histological grade, tumor size, and p53 expression ($p>0,05$).

When the mean vessel density values of all patients, when compared to each other, were evaluated, the microvessel density (MVD) and lymphatic vessel density (LVD) at the tumor border were significantly higher than the intratumoral and peritumoral assessments ($p<0.001$). When the tumoral outside vessel density (MVD and LVD) scores were compared to the control group, no significant difference was detected ($p>0.05$). These findings were to support the presences of angiogenesis and lymphangiogenesis. Any correlation between MVD and LVD was not detected. This result was not correlated with the current data related to common triggering mechanisms like hypoxia on the development of angiogenesis and lymphangiogenesis. For this reason, different developmental mechanisms for angiogenesis and lymphangiogenesis were postulated.

When the vessel densities were compared to molecular, clinical and histopathological findings, MVD was significantly different for age, molecular subtype of the tumor, ER, PR ve HER2 positivity of the tumor and intratumoral necrosis rate while LVD was significantly different for histological type, size, LN metastasis, stage, and HER2 positivity of the tumor ($p<0.05$). No significance was detected for histological grade, localization, Ki67 proliferation index, p53 expression, the presence of widespread in situ carcinoma, inflammatory and stromal response against the tumor when compared with MVD and LVD ($p>0.05$). Consequently, “the major parameters affecting MVD at the tumoral border appear to be ER, PR, HER2 positivity while the predominant factors for LVD were the major prognostic factors of breast carcinoma (LN metastasis, tumoral size, stage) and HER2 positivity”.

Although the case number was limited, our study may provide specific clues to better understanding of breast cancer mechanisms for angiogenesis and lymphangiogenesis. According to the data we obtained in this study, we foresee that future studies on molecular tumor type and angiogenesis may provide anti-angiogenic treatment options particularly to triple negative breast cancer patients.

Key words: Angiogenesis, Lymphangiogenesis, Invasive Breast Cancer, CD31, D2-40

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
TÜRKÇE ÖZET.....	II
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	IV
İÇİNDEKİLER.....	VII
TABLO LİSTESİ	IX
ŞEKİL LİSTESİ	XI
KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.A. Memenin Bezi	2
2.A.1. Memenin Anatomisi	2
2.A.2. Memenin Embriyolojisi.....	6
2.A.3. Memenin Histolojisi	7
2.A.4. Memenin Fizyolojisi	10
2.A.5. Memenin Bezinde Anjiyogenez	10
2.B. Vaskülogenez ve Anjiyogenez.....	11
2.B.1. Embriyolojik Dönem	12
2.B.2. Erişkin Dönem.....	14
2.B.3. Anjiyogenezde Rol Oynayan Büyüme Faktörleri ve Reseptörler	16
2.B.4. Anjiyogenezde Düzenleyici Ekstraselüler Matriks Proteinleri	18
2.B.5. Tümör Anjiyogenezi	18
2.B.6. Tümör İnvazyonu ve Metastazı.....	20
2.B.7. Tümör Lenfanjiyogenezi ve Metastaz.....	24
2.C. Meme Kanseri	27
2.C.1. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi.....	27
2.C.2. Meme Kanserinde Evreleme	28
2.C.3. Meme Kanserinde Prognostik Faktörler	29
2.C.4. Meme Kanserlerinde Moleküler Sınıflama ve Prognostik Önemi	35

3.	MATERYAL METOD	40
3.1.	Vaka Seçimi	40
3.2.	Klinik ve Histopatolojik Bulguların Belirlenmesi	40
3.3.	Hastaların Postoperatif Takibi	41
3.4.	İmmünohistokimyasal Çalışma Yöntemi.....	41
3.5.	İmmünohistokimyasal Çalışmanın Değerlendirilmesi.....	43
3.6.	İHK Sonuçlara Göre Vakaların Moleküler Alt Tiplere Ayrılması	44
3.7.	Damara Sayım Yöntemi.....	45
3.8.	Damar Sayımlarına Ait Ölçümlerin Değerlendirilmesi	46
3.9.	İstatistiksel Analiz.....	46
4.	BULGULAR	47
4.1.	Vakaların Yaş Ortalaması ve Yaş Dağılımı.....	47
4.2.	Ailede Kanser Öyküsü	47
4.3.	Hastaların Postoperatif Takibi	48
4.4.	Tümörün Yerleşim Yeri	49
4.5.	Tümörün Histolojik Tipi ve Derecesi	49
4.6.	Tümör Büyüklüğü	50
4.7.	Lenf Düğümü Metastazı ve Perinodal Yayılım	50
4.8.	Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyon	50
4.9.	Evre	50
4.10.	Cerrahi Sınırlar.....	51
4.11.	İn Situ Karsinom ve Yaygın DCIS Varlığı.....	51
4.12.	Tümörde Nekroz Oranı	51
4.13.	Tümöre Karşı İltihabi ve Stromal Yanıt	51

4.14.	Meme Başı ve Meme Derisi	52
4.15.	Çevre Memede Görülen Değişiklikler	52
4.16.	Neoadjuvan ve Adjuvan Tedaviler	52
4.17.	İmmünohistokimyasal Bulgular	52
4.18.	Moleküler Alt Tipler	53
4.19.	Damar Yoğunlukları	57
4.20.	Damar Yoğunlukları ile Moleküler, Klinik ve Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması	60
5.	TARTIŞMA	67
6.	SONUÇ	81
7.	FOTOĞRAFLAR.....	83
	KAYNAKLAR.....	87
	ETİK KURUL ONAYI	96

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. VEGF/VEGFR Sistemi	16
Tablo 2. AJCC Evreleme Sistemi (2010)	28
Tablo 3. AJCC-TNM sınıflamasına göre uzak metastaz (M) durumu	29
Tablo 4: AJCC-TNM sınıflamasına göre lenf düğümü metastaz (N) durumu.....	30
Tablo 5. AJCC-TNM sınıflamasına göre tümör (T) evrelemesi.....	31
Tablo 6. WHO-2003'e göre invaziv meme karsinomlarının histolojik tipleri.	33
Tablo 7. Modifiye Scarff-Bloom-Richardson Dereceleme Sistemi	34
Tablo 8. İHK çalışmada kullanılan primer antikorların özellikleri	42
Tablo 9. Allred skorlama sistemi.....	43
Tablo 10. Gruplara göre vaka sayıları ve yaş ortalamaları.....	47
Tablo 11. Tüm hastaların (Grup 1+2) yaşa göre dağılımları.....	47
Tablo 12. Tüm hastalarda (Grup 1+2) aile öyküsü ile yaş arasındaki ilişki	48
Tablo 13. Tüm hastalarda (Grup 1+2) tümörlerin histolojik tip ve dereceleri	49
Tablo 14. Tüm hastaların (Grup 1+2) tanı sırasındaki evrelerine göre dağılımı.....	50
Tablo 15. Grup 1 ve 2'de tümöre karşı gelişen iltihabi ve stromal yanıt	51
Tablo 16. Tüm hastalarda (Grup 1+2) ER ve PR ile boyanma.....	53
Tablo 17. Tüm hastalarda (Grup 1+2) HER2, CK5/6 ve EGFR ile boyanma.....	53
Tablo 18. Tüm hastalarda (Grup 1+2) Ki67 ve p53 oranları.....	53
Tablo 19. Tümörün moleküler alt tipine göre ortalama yaş değerleri	59
Tablo 20. Tümörün moleküler alt tipine göre ailede kanser öyküsü	54
Tablo 21. Tümörün moleküler alt tipine göre histolojik tipi	55
Tablo 22. Tümörün moleküler alt tipine göre histolojik derecesi.	55
Tablo 23. Tümörün moleküler alt tipine göre tümör büyüklüğü.....	55
Tablo 24. Tümörün moleküler alt tipine göre lenf düğümü metastaz durumu	55
Tablo 25. Tümörün moleküler alt tipine göre Ki67 proliferasyon indeksi.....	56
Tablo 26. Tümörün moleküler alt tipine göre p53 ekspresyonu	56
Tablo 27. Tümörün moleküler alt tipine göre Evre.	56

Tablo 28. Grup 1 ve Grup 2'deki damar yoğunluğu ortalama değerleri	57
Tablo 29. Kontrol grubundaki (Grup 3) damar yoğunluğu ortalama değerleri	57
Tablo 30. Grup 1'de damar yoğunluğu ortalamalarının karşılaştırılması	57
Tablo 31. Grup 2'de damar yoğunluğu ortalamalarının karşılaştırılması	58
Tablo 32. Grup 3 ile Grup 1 ve Grup 2'nin damar yoğunluğu karşılaştırmaları	58
Tablo 33. Grup 3'de damar yoğunluğu ortalamalarının karşılaştırılması	58
Tablo 34. Grup 1'de damar yoğunluğu karşılaştırmaları	58
Tablo 35. Grup 1 ve Grup 2'de kan ve lenf damar yoğunluğu karşılaştırmaları	59
Tablo 36. Grup 1'de yaş grupları ve ortalama damar yoğunluğu	60
Tablo 37. Grup 1'de tümörün histolojik tipi ve ortalama damar yoğunluğu	60
Tablo 38. Grup 1'de tümörün histolojik derecesi ve ortalama damar yoğunluğu	61
Tablo 39. Grup 1'de tümör büyüklüğü ve ortalama damar yoğunluğu	61
Tablo 40. Grup 1'de LN metastaz durumu ve ortalama damar yoğunluğu	61
Tablo 41. Grup 1'de tümörün moleküler alt tipi ve ortalama damar yoğunluğu	62
Tablo 42. Grup 1'de ER, PR, HER2 durumu ve ortalama damar yoğunlukları	62
Tablo 43. Grup 1'de HR, HER2 durumu ve ortalama damar yoğunlukları	62
Tablo 44. Grup 1'de Ki67 proliferasyon indeksi ve ortalama damar yoğunluğu	63
Tablo 45. Grup 1'de p53 ekspresyonu ve ortalama damar yoğunluğu	63
Tablo 46. Grup 1'de tümör yerleşim yeri ve ortalama damar yoğunluğu	63
Tablo 47. Grup 1'de yaygın DCIS varlığı ve ortalama damar yoğunluğu	64
Tablo 48. Grup 1'de tümördeki nekroz oranı ve ortalama damar yoğunluğu	64
Tablo 49. Grup 1'de tümördeki iltihabi yanıt ve ortalama damar yoğunluğu	64
Tablo 50. Grup 1'de tümördeki stromal yanıt ve ortalama damar yoğunluğu	65
Tablo 51. Grup 1'de evre ve ortalama damar yoğunluğu	65
Tablo 52. Grup 1'de uzak metastazı olanlarda ortalama damar yoğunluğu	65
Tablo 53. Grup 1'de lokal nüksü olanlarda ortalama damar yoğunluğu	66
Tablo 54. Grup 1 ve Grup 2'de moleküler, klinik ve histopatolojik bulgulara göre damar yoğunluklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi	66

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Sagittal kesitte meme anatomisi	2
Şekil 2: Memenin bölgesel lenf düğümleri	5
Şekil 3: Memenin duktusları, lobülleri ve stromasının şematik görünümü	7
Şekil 4: Meme lobüllerinin mikroskopik görünümü,.....	8
Şekil 5: Meme epitel hücrelerinin diferansiyasyon aşamasına uygun İHK boyanma özellikleri	9
Şekil 6: Mezoderm germ yaprağının gelişimini gösteren transvers kesitler	12
Şekil 7: Kapillerlerin oluşum aşamaları.....	13
Şekil 8: Presomit embriyoda ekstraembriyonik kan damarlarının gelişimi.....	14
Şekil 9: Erişkinde anjiyogenez mekanizmalarının şematik gösterimi.	15
Şekil 10: Notch sinyalizasyonu ve anjiyogenezis	17
Şekil 11: Tümör anjiyogenezisi.	19
Şekil 12: Metastatik kaskad.	22
Şekil 13: Tümör hücrelerinin epitelyal bazal membrana invazyonu	22
Şekil 14: Tümör lenfanjiyogenezinin şematik gösterimi	24
Şekil 15: Lenfatik damar invazyonu ve sentinel LN metastaz gelişimi	26
Şekil 16: Lenfojen ve hematogen yolla uzak organ metastaz gelişimi	26
Şekil 17: Türkiye’de kadınlarda en sık görülen kanserlerin insidansları.....	27
Şekil 18: mRNA ekspresyon profilleri	38
Şekil 19: İHK boyanma sonuçlarına göre olguların moleküler alt tiplerine ayrılmasının şematik görünümü	55

KISALTMALAR

LMWCK	: Low molecular weight cytokeratin (düşük molekül ağırlıklı sitokeratinler)
HMWCK	: High molecular weight cytokeratin (yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinler)
CK	: Cytokeratin (sitokeratin)
EMA	: Epithelial membrane antigen (epitelyal membran antijeni)
GCDFP-15	: Gross cystic disease fluid protein-15
SMA	: Smooth muscle actin (düz kas aktini)
SMM-HC	: Smooth muscle myosin-heavy chain (düz kas myozini-ağır zincir)
EGFR	: Epidermal growth factor receptor (epidermal büyüme faktörü reseptörü)
VEGF	: Vascular endothelial growth factor (vasküler endotelyal büyüme faktörü)
VEGFR	: Vascular endothelial growth factor receptor (vasküler endotelyal büyüme faktör reseptörü)
HGF	: Hepatocyte growth factor (hepatosit büyüme faktörü)
HKH	: Hematopoetik kök hücre
EPH	: Endotelyal prekürsör hücre
MMP	: Matriks metalloproteinaz
FGF	: Fibroblast growth factor (fibroblast büyüme faktörü)
ESM	: Ekstrasellüler matriks
PDGF	: Platelet-derived growth factor (trombosit kökenli büyüme faktörü)
TGF	: Transforming growth factor (transforme edici büyüme faktörü)
HIF	: Hypoxia-inducible factor (hipoksi tarafından uyarılabilen faktör)
IGFs	: Insulin-like growth factors (insülin benzeri büyüme faktörleri)
bFGF	: Basic fibroblast growth factor (temel fibroblast büyüme faktörü)
LEH	: Lenfatik endotelyal hücreler
LYVE-1	: Lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1
CCR-7	: Chemotactic ligand for chemokine receptor 7

AJCC	: American Joint Committee on Cancer (Amerikan Ortak Kanser Komitesi)
TNM	: Tumor, lymph node, metastasis (tümör, lenf düğümü, metastaz)
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
LN	: Lymph node (lenf düğümü)
DCIS	: Duktal carsinoma in situ (duktal karsinoma in situ-in situ duktal karsinom)
LCIS	: Lobular carsinoma in situ (lobüler karsinoma in situ-in situ lobüler karsinom)
İDK	: İnvaziv duktal karsinom
NST	: No special type (non-spesifik tip, spesifik olmayan tip)
NOS	: Not otherwise spesified (başka şekilde adlandırılmayan, spesifik türlere uymayan)
İLK	: İnvaziv lobüler karsinom
İMK	: İnvaziv meme karsinomu
H&E	: Hematoxylin-eosin (hematoksilin-eozin)
İHK	: İmmünohistokimyasal
BBA	: Büyük büyütme alanı
HR	: Hormon reseptörü
ER	: Östrojen reseptörü
PR	: Progesteron reseptörü
AR	: Androjen reseptörü
HER2	: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
GEP	: Gen ekspresyon profili
TBS	: Tris buffered saline
LVİ	: Lenfovasküler invazyon
MDY	: Mikrovasküler damar yoğunluğu
LDY	: Lenfatik damar yoğunluğu
KT	: Kemoterapi
RT	: Radyoterapi
HT	: Hormon tedavisi
KVS	: Kardiyovasküler sistem
SVO	: Serebrovasküler olay
CAP	: College of American Pathologists

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen ve en çok ölüme neden olan malignitedir. Günümüzde moleküler alandaki gelişmelerin de katkısıyla meme kanseri, morfolojik yapı, biyolojik davranış ve tedaviye yanıtta farklılıklar gösteren heterojen bir hastalık olarak değerlendirilmektedir.

Meme kanserinin evrelemesinde tüm dünyada ortak dil olarak kullanılan tümör-lenf düğümü-metastaz (TNM) sistemi, daha çok tümörlerin anatomik durumunu ortaya koyan bir sınıflama sistemidir. Ancak tümörün biyolojisi TNM sisteminden çok daha karmaşıktır ve TNM sistemi meme kanseri tedavi planlamasında yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle alternatif çözümler için birçok araştırma yapılmaktadır. Bu çabaların amacı, hem tanı aşamasında primer kanserin (özellikle nadir tümörlerde) gerçek portresinin gösterilmesi, hem de tedavi ve izlem aşamasında faydalı yeni prognostik ve prediktif bilgilerin elde edilmesidir. Yeni bulgular, hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Tümörün metastaz potansiyelinin saptanması, tedaviyi belirleyen en önemli faktördür. Bu nedenle metastaz gelişimine neden olabilecek anjiyogenez ve özellikle lenfanjiyogenez mekanizmalarının araştırılması son yıllarda ilgi odağı olmuştur. Ancak tümör lenfanjiyogenezi çelişkili bir konu olmaya devam etmektedir. Ayrıca anjiyogenez ve lenfanjiyogenez genellikle ayrı ayrı incelenen konular olmuştur. Meme kanserinde bir başka ilgi odağı ise, tümörün moleküler yapısıdır. Bu alandaki gelişmeler son derece hızlıdır ve elde edilen bulgular, tümörün moleküler yapısının prognostik önemi olduğunu kanıtlamıştır. Literatürde bu iki alanın birlikte değerlendirildiği çalışma sayısı çok azdır. Biz bu çalışmamızda invaziv meme kanserlerindeki damar yoğunluklarının hem birbirleriyle, hem moleküler alt tiplerle hem de klinik ve histopatolojik bulgularla korelasyonunu inceledik. Amacımız tümör anjiyogenezi ve lenfanjiyogenezinin moleküler sınıflama ile varsa örtüşen noktalarını ortaya çıkarmak ve diğer prognostik faktörlerle ilişkisini incelemektir.

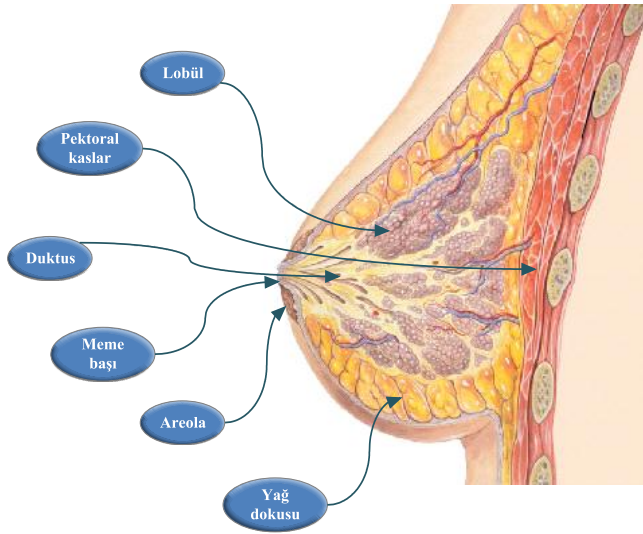
2.GENEL BİLGİLER

2.A. MEME BEZİ

Meme bezi, hem doğumdan sonra oluşması hem de puberte, gebelik, laktasyon ve involüsyon dönemlerinde görülen değişimler nedeniyle anatomik yapılar arasında özel bir yere sahiptir.

2.A.1. MEMENİN ANATOMİSİ

Meme bezi, kadınlarda yarım küre şeklinde olup, kürenin düz olan yüzü linea sternalis ve linea axillaris anterior arasında, T2-T6 kaburgaları düzeyinde göğse yapışmıştır; pektoral kasın üzerinde göğüs ön duvarının yüzeyel fasyası içinde yerleşmiştir. Memenin şekli kişiye, yaşa ve fizyolojik şartlara göre değişir. Erkeklerde ve preadolesan dönemdeki kadınlarda rudimenterdir. Meme dört tabaka içermektedir. Bunlar: Deri, derialtı dokusu, meme bezi, meme-altı gevşek bağ dokusudur [1, 2]. (Şekil 1)



Şekil 1: Sagittal kesitte memenin anatomisi

Deri: Areola bölgesi, meme başı denilen çıkıntı ve onun etrafında 15-20 mm çapında pigmente bir alan ile karakterizedir. Sayıları yaklaşık 15-20 arasında değişen süt kanalları, meme başına küçük deliklerle açılırlar. Areola derisinde bulunan yağ bezleri areola üzerindeki küçük kabartıları (Morgagni tüberküleri) oluştururlar.

Derialtı dokusu: Memenin yağ kapsülünü (capsula adiposa mammae) oluşturan bu doku kesitlerde bezlerin çevresinde yer alır; areola hizasında yoktur; gözeli ve yağlıdır. Bu doku damardan zengin olup, süt verme zamanında büyümektedir.

Meme bezi: Donuk sarı renkte, önden arkaya basık, büyük çapı enine olan bir dokudur. Bezin ön yüzü girintili çıkıntılı, arka yüzü düzdür; bezler daha çok çevrede yer alır; beyazımtırak olan orta kısımda süt kanalları bulunur. Deri ile süperfisyel fasyanın derin yaprağı arasında düzensiz bir şekilde uzanan güçlü bağ dokusu bantları (Cooper'ın suspansör ligamentleri) memenin parankimal dokusunu loblara ayırır. Alveoler olan meme bezleri, 15-20 adet lobun bir araya gelmesinden oluşur. Loblar lobuluslara ve bunlar da asinuslara ayrılırlar. Her bir lob ayrı salgı kanalına sahiptir. Bu kanallarla birlikte loblar anatomik bir birim oluştururlar, bu birimler cerrahi değildir.

Meme arkası gevşek bağ dokusu: Yağ kapsülünün meme arkasında retroglandüler parçası bulunur. Retroglandüler parça ön tabakadan daha incedir. Süperfisyel fasyanın derin yaprağını oluşturur. Meme bezi bu gevşek doku önünde hareket ettirilebilir. Bu fasya yukarıda kalınlaşıp, klavikulanın ön kenarı ve pektoral fasyaya yapışır.

Derin fasya: M. pektoralis major'u saran derin fasya, aşağıda derin abdominal fasya ile devam eder; iç yanda sternum ve klavikulaya, dış yanda yukarıda aksiller fasyaya tutunur. Derin pektoral fasyanın ön yaprağı, kasın dış kenarı boyunca m. pektoralis minor'un fasyası ile, daha aşağıda m. serratus anterior'un fasyası ile birleşir. Derin fasyanın arkaya uzantısı m. latissimus dorsi'nin fasyası ile devamlıdır ve lig. suspensorium aksilla'yı oluşturur.

Memenin Damarları:

Arteriyel Dolaşım: Memenin arteriyel dolaşımı internal torasik, aksiller ve interkostal arterler tarafından sağlanır. Bu damarların oransal katkılarında birçok kişisel varyasyonlar vardır ve sağ-sol meme arasında simetrik bir dolaşım paterni olmayabilir. Birçok kişide memenin arteriyel dolaşımın en önemli kaynağı internal torasik arterin dallarıdır. Yaklaşık % 30 kişide aksiller arter daha az öneme sahiptir ve % 50 kişide ise interkostal arterlerin katkısı yoktur veya çok azdır. Meme parankimindeki arteriyel dolaşımın dalları, ana duktus sistemini spesifik olarak takip etmez [3].

Subklavian arterin bir dalı olan internal torasik arter, internal interkostal kasların arkasından sternumun lateral sınırı boyunca ilerler. Bu arterden çıkan perforan dallar ikinci, üçüncü ve dördüncü interkostal aralıktan interkostal kasları ve pektoralis majör kasını geçerek memenin medial yarısının ve bu bölge cildinin kanlanmasını sağlarlar. Memenin lateral kanlanmasından ise posterior interkostal arterlerin lateral (mammaryan) dalları ve aksiller arterin dalları olan suprema torasik, torakoakromial ve lateral torasik arterler sorumludur. Dış yanda aşağı inen bu arterler, meme başı seviyesinin yukarısında meme başı kompleksini oluştururlar. Bu nedenle radial insizyonlar, memenin üst bölümündeki esas arteriyel

kanlanmayı transvers insizyonlardan daha az yaralayacaktır. Meme başı seviyesi altındaki meme alt bölümü ana damarlardan yoksundur [4-6].

Venöz Dolaşım: Memenin venöz drenajı, arteriyel dolaşımdan daha fazla varyasyon gösterir, fakat arteriyel dolaşımın dağılımını takip etme eğilimindedir. Yüzeysel venler areola etrafında anastomotik bir halka (Haller'in toplardamarlar halkası) oluştururlar. Yüzeysel venöz kompleks, büyük ölçüde internal torasik arterin dallarıyla ilişkide olan transvers venlerden oluşur. Bu damarlar memenin medial tarafındaki internal torasik vene drene olur. Yüzeysel venöz sistemin az bir kısmı suprasternal çentiğe doğru seyrederek ve boynun yüzeysel venlerine drene olur. Derin venöz drenaj ise büyük ölçüde internal torasik venin perforan dalları yoluyla gerçekleşir. Aksiller venin dalları ve III-V. posterior interkostal venlerin perforan dalları da derin venöz drenaja katkıda bulunur [3, 4].

Memenin venöz drenajı, meme kanserinin metastazı açısından önemlidir. Brakiosefalik vene drene olan V. torasica interna ve aksiller vene drene olan V. torasica lateralis yoluyla memenin tümörleri akciğerlere taşınabilir. Vertebral venler ve vertebral pleksus ile doğrudan ilişkili olan interkostal venler ise meme tümörlerinin iskelet ve santral sinir sistemi metastazına neden olabilir [3, 5, 7].

Lenfatik dolaşım: Meme parankiminin üç dominant lenfatik drenaj rotası tanımlanmıştır. Memenin lenfatik drenajının %75'i aksiller lenf düğümü (LN)'lerine, %3-25'i internal mammaryan LN'lerine ve az bir kısmı posterior interkostal LN'lerine doğrudur [3].

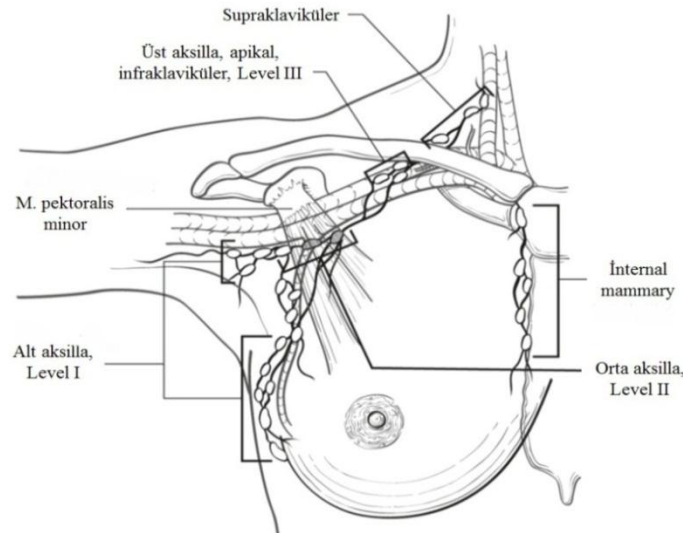
Aksiller lenfatik drenaj, meme kanserinin yayılımındaki major yoldur. Metastatik ilerlemeyi belirlemek için, aksiller LN'leri memedeki aksiller lenfatik drenajın izlediği yola göre derecelendirilmiştir: [3, 5, 7] (Şekil 2).

- a) Level I (alt aksilla): M. pektoralis minor'un lateral kenarı ve altında bulunan LN'leri.
- b) Level II (orta aksilla): M. pektoralis minor'un lateral ve medial kenarlarının arasındaki ve arkasındaki LN'leridir. Bu bölgedeki Rotter's LN'leri interpektoral fasya içerisinde yerleşimlidir.
- c) Level III (üst aksilla): M. pektoralis minor'un medial kenarında ve klavikulanın altında kalan LN'leridir; apikal veya infraklaviküler (subklaviküler) LN'leri olarak da bilinirler. Bu bölge LN'lerinin metastazları daha kötü bir prognozun habercisidir [5].

İnternal mammaryan LN'leri (internal torasik mammaryan LN'leri), endotorasik fasya içinde sternumun kenarında II-VI. interkostal aralıklar boyunca yerleşirler ve daha çok memenin santral ve medial kesimlerinden drenaj alırlar. Bu LN'lerinden gelen lenfatik akım

aksillada, Level III LN grubunda sonlanır. Posterior interkostal LN'leri, kosta ve vertebraların eklem yaptığı göğüs alanında bulunur. Bu LN'lerine akım, posterior interkostal lenfatikler aracılığıyla gerçekleştirilir. İntramammaryan LN'leri, meme dokusu içinde bulunurlar, ancak evrelemede aksiller LN olarak belirtilirler. Supraklaviküler LN'leri, supraklaviküler fossa'da yerleşirler ve evreleme için bölgesel LN olarak kabul edilirler. Bu LN'leri dışında herhangi bir LN metastazının varlığı (alt servikal LN'leri, karşı taraf internal mammaryan veya aksiller LN'lerinin metastazı dahil), uzak metastaz (M1) olarak evrelendirilir [5].

Memenin lenf drenajı yukarıda bahsedilen yollarla sınırlı değildir. Ancak memedeki primer tümörlerin lokalizasyonu ile LN metastaz patternlerinin ilişkisi, tercihli bir lenf akımının söz konusu olduğunu gösterir. Örneğin internal mammaryan LN'leri, aksiller LN'lerine metastazların yokluğunda nadiren etkilenirler. Bir istisnası, primer tümörün memenin medial ve santral bölümünden çıkmasıdır. Aksine üst dış kadranda yerleşimli tümörlerin tek başına internal mammaryan LN'lerine metastaz yapması çok nadiren görülür. Rotter'in internal pektoral LN'lerine metastaz yapan karsinomlar, tipik olarak üst dış ve üst santral bölgelerde yerleşimlidirler. LN metastazının başlangıç alanı gibi gözüken bir veya daha fazla sentinel LN varlığı, LN'lerinin aksillada anatomik ve fonksiyonel dağılımında bir hiyerarşinin varlığını ileri sürmektedir ve bu algı güncel sentinel LN haritalama çalışmaları ile desteklenmektedir [3].



Şekil 2: Memenin bölgesel lenf düğümleri [5].

Memenin Sinirleri: Yüzeysel deri sinirleri plexus servikalis'in supraklaviküler dallarından (nn. supraclaviculares), derin olanlar 2-6. İnterkostal sinirlerden gelir. İnterkostal sinirler, meme bezinde de dağılırlar [2].

2.A.2. MEMENİN EMBRİYOLOJİSİ

Gestasyonun altıncı haftasında aksiller bölgeden inguinal bölgeye uzanan epidermal bir kalınlaşma olarak primitif süt çizgisi belirir. Dokuzuncu hafta civarında ise kaudal bölgedeki kalınlaşma gerilerken, pektoral bölgede yoğun interlober fibröz septalarla birbirinden ayrılan 15-25 kadar lob ortaya çıkar. Laktiferöz duktusların öncülü olan bu yapılar, meme başını oluşturacak olan küçük epitelyal çıkıntıya açılırlar. Gebeliğin son iki ayında duktuslar kanalize olur ve meme çıkıntısı oluşur [8, 9].

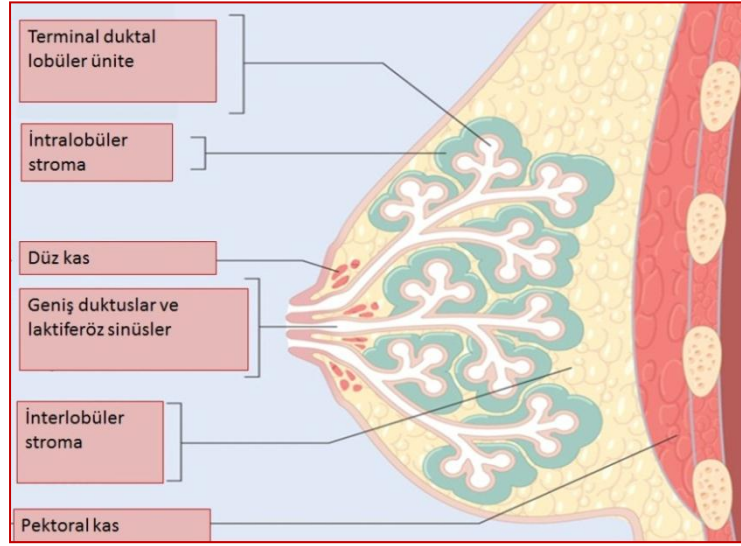
İntrauterin dönemde fetal meme çeşitli hormonların etkisi altındadır. Fetal yaşamın erken evrelerinde meme gelişimi seks steroid hormonlarından bağımsızdır. Yaklaşık dördüncü ayda meme parankimi geçici olarak testosterona karşı sensitize olur. Testosteron epitelyal sap etrafında yoğunlaşan mezenkimi stimüle ederek meme tomurcuğunun deri altında izole olmasını sağlarken alveolar duktal sistemin gelişimini önler. Belirgin bir testosteron maruziyeti yoksa epitelyal tomurcuklar kanalize olmaya başlar ve 20-32. haftada süt duktusları oluşur. Memenin lobüloalveoler gelişimi 32 ile 40. haftalar arasında olur ve bu dönemde spesifik hormonal dalgalanmalardan kısmen bağımsızdır. Doğuma yakın dönemde fetal meme dokusu maternal ve plasental steroidlerden ve prolaktinden etkilenir ve kolostrum sekresyonu oluşur. Doğumda maternal seks steroidleri ve prolaktinin çekilmesi ile bu sekretuar aktivite hayatın birinci veya ikinci ayında sona erer. İnfantın cinsiyeti bu gelişim evresini etkilemez. Maternal steroidler ve prolaktin eksikliğinin devam etmesi ile glandlarda basit duktus organizasyonuna dönüş olur. Bundan sonra meme dokusunun gelişimi ve farklılaşması, steroid ve peptid hormonlara ve büyüme faktörlerine bağlıdır [8].

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 hematopoez izlenebilmekte ve doğumdan sonraki ilk 4 aya kadar bu durum devam edebilmektedir. Bu nedenle prepubertal dönemde bazen duktusların arasındaki stromada persistan mononükleer hematopoetik hücreler görülebilmektedir [8].

Pubertede testosteronun relatif yokluğu, memenin esas gelişimini sağlar. Kadınlarda menarş başlangıcında terminal duktuslardaki lobüller gelişir ve interlobüler stromanın hacmi artar. Yağ dokusu azdır ve meme radyodens görülür. Meme dokusu tam olarak geliştikten sonra menopoza kadar menstrüel siklus sırasında ve gebelikte çeşitli değişiklikler gösterir. Menopozda ise parankimal lobüloalveoler yapıların regresyonu ile karakterli involüsyonel değişiklikler gerçekleşir [8, 10, 11].

2.A.3. MEMENİN HİSTOLOJİSİ

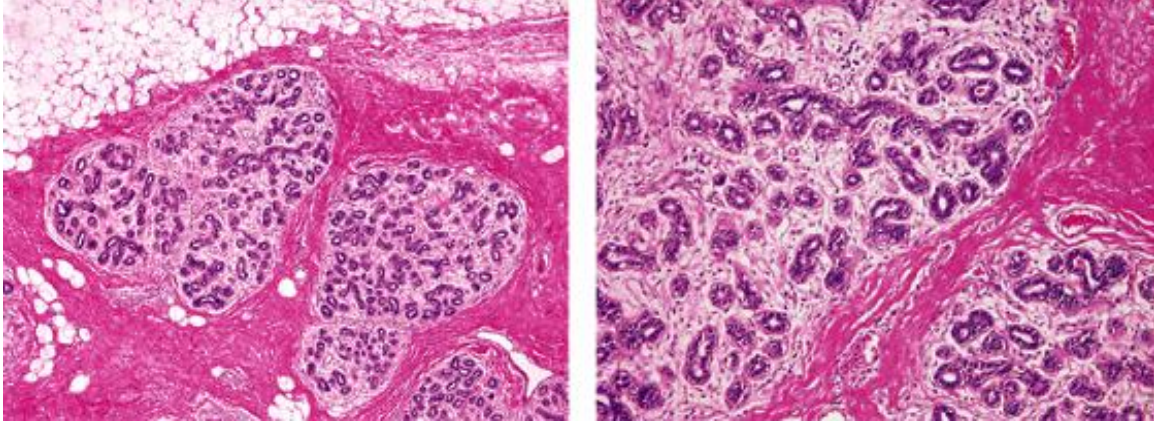
Meme dokusu tipik olarak 15-25 adet lob, lobları birleştiren fibröz doku ve lobları saran yağ dokusundan oluşur. Her lob bağ dokusu ile sarılıdır ve pek çok lobüle ayrılır. Lobüller, bazal lamina ile çevrili 10-100 kadar alveole dallanır. Alveollere duktül ya da asinüs de denir. Lobların her biri meme başındaki laktiferöz sinüse açılır. Laktiferöz sinüs, 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 duktal lobüler üniteyi oluşturur [6, 8, 9, 12] (Şekil 3).



Şekil 3: Memenin duktusları, lobülleri ve stromasının şematik görünümü [12].

Normal memenin histolojik görünümünde duktus ve lobüller iki tip hücre ile döşelidir. İçte tek sıra glandüler (lüminal) hücreler, dışta myoepitelyal hücreler, en dışta ise bazal lamina bulunur. Myoepitelyal hücreler bazal membran üzerinde aralıklı olarak bulunurlar. Bu hücreler laktasyon sırasında süt ejeksiyonuna yardım ederler, ayrıca lobüllerin normal yapısının ve fonksiyonunun korunmasında önemli rolleri vardır. Lüminal hücreler ise süt üretiminde görevlidirler [3, 12]. Lüminal hücreler, kübik ya da prizmatik şekilli, soluk eozinofilik sitoplazmalı, oval uniform çekirdekli hücrelerdir. Myoepitelyal hücreler yassı, basık çekirdekli olabileceği gibi, berrak belirgin sitoplazmalı epitelooid hücreler şeklinde de olabilirler. Bazen de düz kasa benzer şekilde daha eozinofilik sitoplazmalı ve iğsi görünümündedirler. Bazal lamina, tip IV kollagen ve laminin içerir [8, 12].

Meme stromasının büyük bölümünü oluşturan interlobüler stroma yoğun kollajenize fibröz özellik gösterirken, intralobüler stroma daha gevşek ve miksomatöz görünümündedir ve interlobüler stromadan kolaylıkla ayırtedilebilir. Asinüslerin bulunduğu intralobüler alanda stroma hormona duyarlıdır ve seyrek lenfosit içerebilir [6, 9, 12] (Şekil 3, 4).



Şekil 4: Meme lobüllerinin mikroskopik görünümü [8].

Normal meme dokusunun immünohistokimyasal boyanma özellikleri:

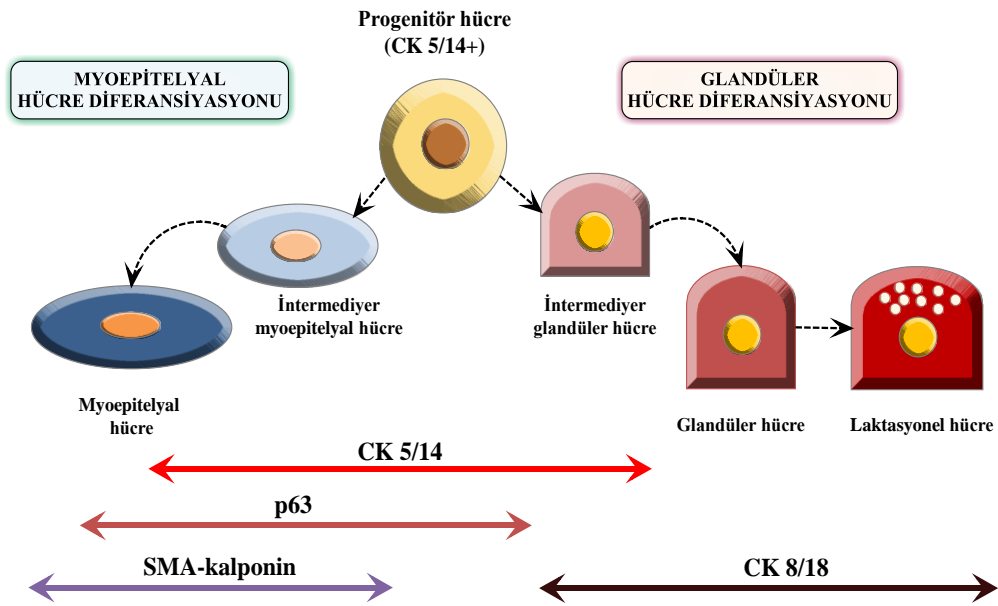
Lüminal ve myoepitelyal hücreler farklı immünofenotipik özellik gösterirler. Lüminal epitel hücreleri düşük molekül ağırlıklı sitokeratinler (LMWCK) ile boyanırlar. Lüminal sitokeratinler de denilen bu grupta CK7, CK8, CK18 ve CK19 bulunur [8, 13]. Lüminal epitel ayrıca EMA, α -laktalbumin, GCDFP-15 ile de boyanır [6]. Normal lüminal epitel hücrelerinin en az % 10'u ER ve PR pozitifdir [14].

Myoepitelyal hücreler genellikle CK5/6, CK14, CK17 gibi yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinleri (HMWCK) ekspres ederler [13]. S-100 protein, SMA, kalponin, SMM-HC, maspin, kalsdesmon, p63 ve CD10 diğer myoepitelyal belirteçlerdir [6, 8]. EGFR, normal memede myoepitelyal hücrelerde pozitif boyanır [15]. Bazal membran ise laminin ve Tip IV kollajen immünohistokimyasal antikorlarıyla reaksiyon verir [6].

Kök hücre (progenitor cell, stem cell) modeli: Son on yılda tanımlanan ve giderek kabul görmekte olan kök hücre modeline göre lüminal ve myoepitelyal hücrelerin her ikisi de terminal duktustaki aynı kök hücreden köken alır [8, 12]. Üçüncü hücre tipi olan ve lüminal yüzde yerleşen kök hücre, sadece CK5/6 veya CK5/14 pozitif olup glandüler ya da myoepitelyal hücre yönüne diferansiyasyon olma yeteneğindedir. Bu diferansiyasyon sırasında ara formlar da mevcuttur [16, 17] (Şekil 5). Karsinogenezdeki kök hücre modeline göre; kök

hücrenin kendini yenileme ve diferansiyasyonunda oluşan aberasyon, malign formasyonda anahtar rol oynamaktadır [18, 19].

Böcker ve arkadaşları normal meme duktus hücrelerini beş tipe ayırmışlardır [16, 17]. Bu sınıflama için bazal belirteç olarak CK5/14, p63, SMA ve kalponin; lüminal belirteç olarak CK8/18/19 kullanmışlardır. Buna göre kök (progenitör, stem) hücre CK5/14 (+), ara (intermediyer) glandüler hücre CK5/14 (+) ve CK8/18/19 (+), matür glandüler hücre CK5/14 (-) ve CK8/18/19 (+), ara (intermediyer) myoepitelyal hücre CK5/14 (+), SMA-kalponin-p63 (+), matür myoepitelyal hücre CK5/14 (-) ve SMA-kalponin-p63 (+) olarak tanımlanmıştır. Normal meme dokusunun yanısıra meme kansinomlarında da inceleme yapılmıştır [16, 20]. Buna göre, invaziv olguların çoğunun matür glandüler hücre özelliğinde olduğu bulunmuştur. Az sayıda tümör hücresi, ara glandüler hücre özelliği göstermiş, kök hücre tipine ise ender olarak rastlanmıştır. İn situ duktal kansinom (DCIS) olgularında ise lüminal yüzdeki hücrelerin tamamı matür glandüler hücre olup, ara glandüler hücre saptanmamıştır; duktusun dış tarafında genellikle ara ve matür myoepitelyal hücreler, nadiren de kök hücreler gözlenmiştir.



Şekil 5: Kök hücre modeline göre meme epitel hücrelerinin diferansiyasyon aşamasına uygun immünohistokimyasal boyanma özellikleri [17].

Yakın zamanda progenitör hücreden daha primitif bir hücrenin var olduğu düşünülmeye başlanmıştır. Buna göre bazı tümörler (metaplastik meme kanserleri ve "claudin low" tümörler), lüminal ve bazal benzeri tümörlerden daha primitif, mezankimal bir hücreden köken almaktadır [21, 22].

2.A.4. MEMENİN FİZYOLOJİSİ

Meme dokusunun gelişmesi ve fonksiyonu birçok hormonun etkisi ile olur. Bu hormonların en önemlileri östrojen, progesteron, prolaktin, oksitosin, tiroid hormonları, kortizol ve büyüme hormonudur. Bu hormonların salgısı hipotalamus, hipofiz ve overlerin nörohümorale kontrolündedir [23].

Östrojen duktus gelişimini başlatırken, prolaktin ve progesteron lobül ve asinüs gelişimini kontrol eder. Prolaktin ayrıca süt salgısını oluşturur. Östrojenin meme üzerine etkisi sitoplazma ve çekirdekdeki reseptörlere bağlandıktan sonra görülür. Östrojen reseptörlerinin sentezini hem östrojen hem de progesteron uyarır. Prolaktin olmadan östrojenin meme gelişimini başlatamayacağı düşünülmektedir. Öte yandan, progesteronun tek başına memeye etkisi yoktur. Memede bulunan progesteron reseptörlerini de östrojen kontrol eder [23].

Gebelikte hem östrojen hem de progesteron kanda yükselir. Bu hormonlar asinüslerin ve duktusların epitelinde artışa yol açar ve meme büyümeye başlar. Kanda ayrıca plasental laktojen de artmaya başladığından meme büyümesi daha da hızlanır [24]. Laktasyon için ise mutlaka prolaktin gereklidir. Prolaktin süt sekresyonunu ve süt proteinlerinin sentezini kontrol eder. Hamilelik sırasındaki yüksek östrojen ve progesteron seviyeleri prolaktin salınımını baskılar. Placenta çıktıktan sonra ani progesteron ve östrojen düşüşü laktasyonu başlatır. [23].

2.A.5. MEME BEZİNDE ANJİYOGENEZ

Memeyi besleyen damarlar aksiller arter, internal torasik arter ve anterior interkostal arterlerin dallarından köken alırlar. Duktal yapılara eşlik eden bu damarların uzantıları alveolleri çevreleyen kapiller ağda sonlanırlar. Pubertede memelerin gelişmesi kan damarlarının yoğun gelişimiyle ilişkilidir. Yapılan hayvan çalışmalarında gelişmiş meme dokusunun gebelik ve laktasyon esnasında hızla genişlemeye ayarlanmış yoğun bir periduktal kapiller ağa sahip olduğu gösterilmiştir. Gebelik esnasında mevcut vasküler yatak endotelial hücrelerin proliferasyonuna bağlı olarak tomurcuklanan anjiyogenez mekanizmalarıyla genişlemektedir. Laktasyon esnasında terminal alveollerin genişlemesi kapiller ağın açılmasını sağlar. Ancak bu evrede vasküler proliferasyon yoktur. Benzer şekilde meme involüsyonunda kapiller yatak giderek azalır.

Diğer organlardaki durumla paralellik gösterecek şekilde VEGF/VEGFR (vasküler endotelial büyüme faktörü ve reseptörü) meme dokusunda en iyi karakterize olmuş anjiyogenez düzenleyici sistemi içerir. Endometriumda VEGF/VEGFR ekspresyonunun

dinamik siklik regülasyon yokluğunun aksine, gebelik ve laktasyon esnasında VEGF ve VEGFR aktivitesi vasküler yatağın genişlemesi ile oldukça iyi korele eş zamanlı düzenlenir. Fare ve ratlarda gebelikte VEGF mRNA ekspresyonu 5 kat artarak düzenlenir. Benzer şekilde laktasyon, VEGF mRNA düzeylerinin 10 katın üzerinde artarak düzenlenmesine sebep olur. VEGF reseptörleri, gebelik ve laktasyon esnasında artmakla birlikte ligand kadar artış gözlenmez. Bu bulgular VEGF/VEGFR sisteminin meme bezinin vasküler genişlemesinde birincil moleküler düzenleyici sistem olduğunu kuvvetle işaret etmektedir. Meme dokusunda VEGF'yi kontrol eden faktörler hakkında çok az şey bilinmektedir. VEGF ve HGF (hepatosit büyüme faktörü)'nin memede gebelik ve laktasyon esnasında karşılıklı düzenlenmesi çarpıcıdır. VEGF arttığında HGF azalmaktadır. Bu durum meme dokusu vaskülarizasyonu bağlamında HGF ve VEGF arasındaki ters ilişki hakkında spekülasyonlara neden olmaktadır. VEGF/VEGFR sisteminin gebelik ve laktasyonda artarak düzenlenmesinin doğrudan anjiyogenez ile ilişkilendirilemeyen pek çok fonksiyonel sonuçları olabilir. Virgin meme dokusundaki kapiller duvar 30-35 nanometrelik nadir fenestrasyonlarla genellikle süreklidir. Laktasyon esnasında alveolleri çevreleyen endotelial hücrelerin sitoplazmik veziküllerinin sayısının artışıyla uyumlu olarak permeabilitede belirgin artış vardır. Bu değişimler, bir anjiyogenezis faktörü ve ek olarak endotelial hücrelerde oldukça güçlü permeabilite düzenleyici olan VEGF tarafından kontrol edilir.

Endokrin düzenleyiciler olarak östrojen, progesteron ve prolaktin meme dokusu anjiyogenezisinde görev alırlar. Endotelial hücreler östrojen reseptörü eksprese ederler ve östrojenlerin bir dizi proanjiogenik fonksiyon tanımları tanımlanmıştır. Benzer şekilde endotelial hücrelerin progesteron reseptörleri eksprese ettikleri bildirilmiştir. Progesteron endotelial hücre kültürlerinde hücre siklusu arrestini indükler, bu nedenle progesteronun meme bezi anjiyogenezinde bir negatif düzenleyici olabileceği ileri sürülmektedir. Prolaktin meme dokusunun gelişmesi ve laktasyon için kritik öneme sahip olsa da meme dokusunun anjiyogenezinde doğrudan etki oluşturmadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte prolaktinin 10-16 kilodaltonluk bir parçasının çok etkin anti-anjiyogenik fonksiyonlarının olduğu bildirilmiştir. Fakat bu parçanın meme dokusu vasküler sistemi üzerine olan etkileri araştırılmamıştır [25].

2.B. VASKÜLOGENEZ ve ANJİYOGENEZ

Anjiyogenez hem yara iyileşmesi, rejenerasyon, iskemik doku vaskülarizasyonu, menstruasyon gibi olaylarda hem de kronik inflamasyon, fibrozis, tümör büyümesi ve diyabetik retinopati gibi süreçlerde çok önemlidir. Bu nedenle, anjiyogenez mekanizmalarını

anlamak ve proanjyogenik & anti-anjyogenik maddelerin tedavi edici etkilerini keşfetmek için büyük çabalar sarfedilmektedir [26-28].

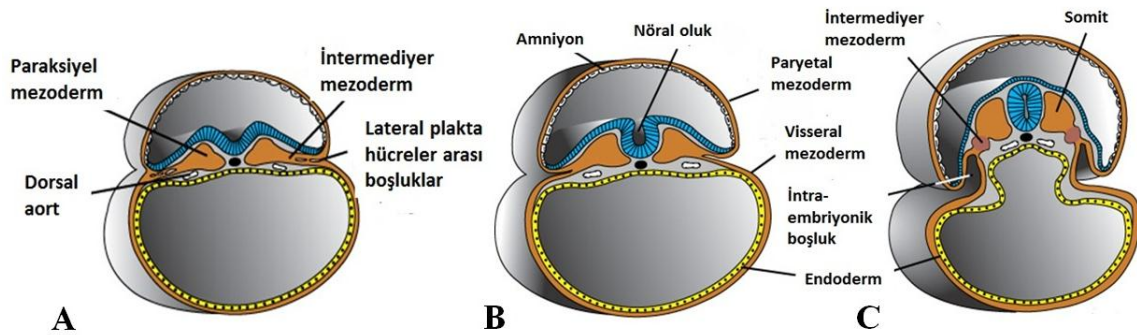
Kan damarları iki şekilde oluşur: 1) Embriyo gelişimi sırasında öncü hücreler vasıtasıyla de nova yoluyla gelişen vaskülogenez. 2) Önceden varolan damarlardan tomurcuklanma gerektiren anjyogenez [29].

2.B.1. EMBRİYONİK DÖNEM: Embriyonik dönem veya organogenez dönemi olarak bilinen intrauterin 3-8. haftalarda her üç germ yaprağının, ektoderm, mezoderm ve endoderm, her birinden bazı özel doku ve organlar gelişir. Embriyonik dönemin sonunda temel ana organ sistemleri ortaya çıkmış olur. Kan hücreleri ve damarlar mezoderm kökenli yapılardır. Başlangıçta orta hattın her iki yanında gevşek bir doku oluşturan mezoderm germ yaprağı, intrauterin 17. gün dolaylarında orta hatta yakın bölgelerde proliferer olur ve paraksiyel mezoderm adı verilen daha kalın bir doku plağı oluşturur. Daha lateralde ise mezoderm yaprağı inceliğini korur ve lateral plak olarak bilinir. Paraksiyel mezoderm ile lateral plakları birleştiren doku parçasına ise intermediyer mezoderm denir. Lateral plak, hücreler arası boşlukların belirmesi ve bu boşlukların daha sonra birleşmesiyle iki tabakaya bölünür (Şekil 6):

a) Amniyon boşluğunu örten mezoderm ile devam eden yaprağa somatik veya paryetal mezoderm tabakası,

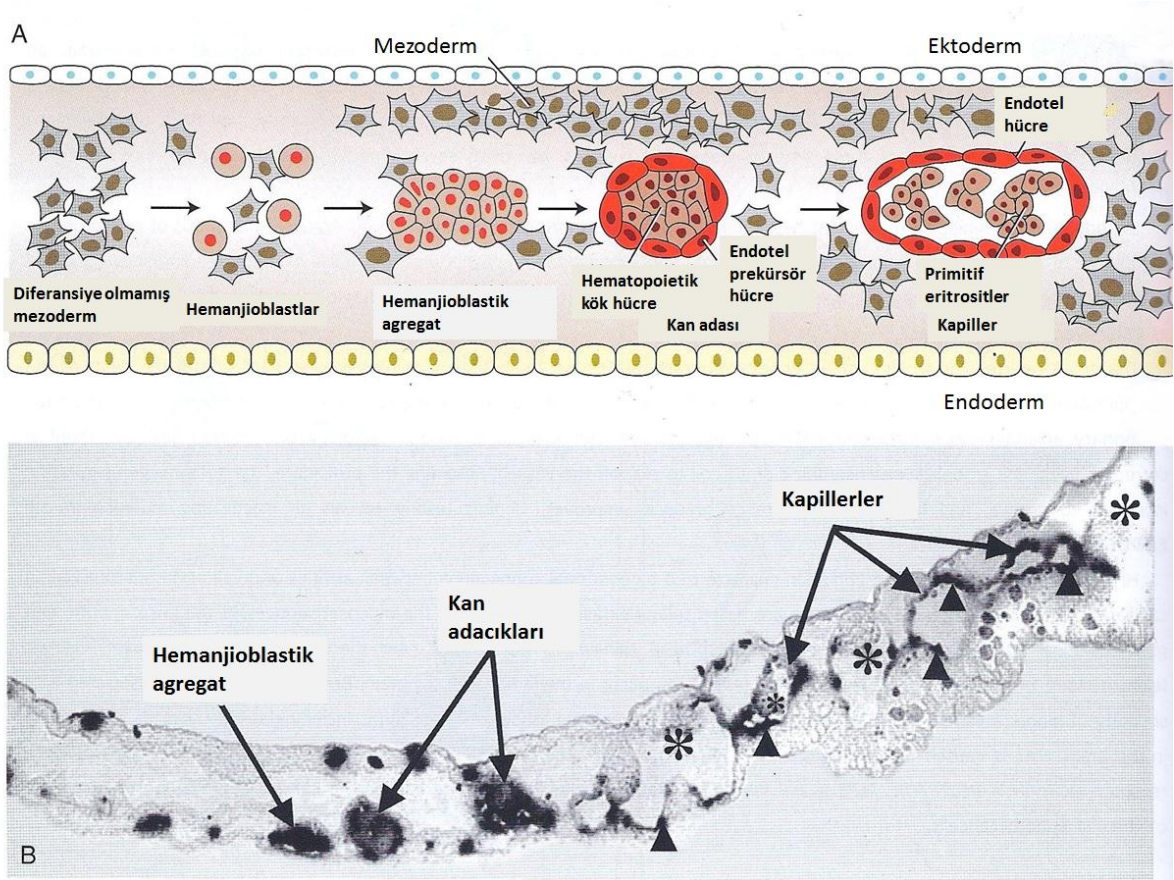
b) Yolk kesesini (vitellüs kesesini) örten mezoderm ile devam eden yaprağa ise splanknik veya visseral mezoderm tabakası adı verilir.

Paryetal ve visseral mezoderm yaprakları embriyonun her iki yanındaki ekstraembriyonik boşlukla devamlılık gösteren yeni bir boşluğu, intraembriyonik boşluğu, çevrelerler.



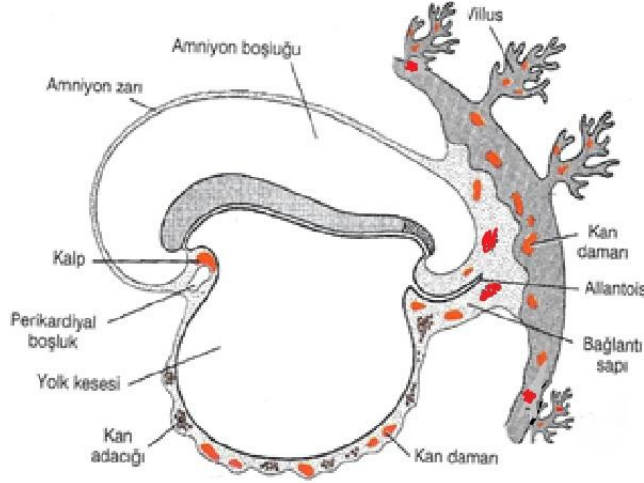
Şekil 6. Mezoderm germ yaprağının gelişimini gösteren transvers kesitler. (A. 19. gün, B. 20. gün, C. 21. gün) [29].

İlk kan hücreleri gelişimin üçüncü haftasında yolk kesesini çevreleyen visseral mezoderm içinde ortaya çıkarlar. Üçüncü haftanın başlarında yolk kesesi duvarındaki visseral mezoderm içinde yer alan bazı hücreler, kan hücreleri ve kan damarlarına dönüşür. Hemanjiyoblast adı verilen bu öncü hücreler, önce hemanjiyoblastik agregat olarak adlandırılan küme ve kordonlar oluştururlar. Daha sonra hücreler arasındaki yarıkların birbirleriyle birleşmeleriyle zamanla kanalize olurlar. Merkezde bulunan hücreler ilkel kan hücrelerine (hematopoetik kök hücre, HKH) dönüşürken, periferdeki hücreler de yassılaşıp bu kan adacıklarını döşeyen öncü endotel hücrelerine (endotelyal prekürsör hücre, EPH veya anjiyoblast) dönüşürler. Bu hücreler, birlikte kan adacıkları olarak tanımlanan yapıyı oluştururlar. Kan adacıkları endotel hücrelerinin tomurcuklanmasıyla hızla birbirine yaklaşıp kaynaşır ve küçük kapiller damarlara organize olurlar (Şekil 7). Vaskülogenez olarak isimlendirilen bu sürecin sonunda küçük kapillerler uzayarak ve aralarında birleşerek öncü primitif vasküler ağı ortaya çıkarırlar [29, 30].



Şekil 7: Kapillerlerin oluşum aşamaları A. Şematik görünüm. B. 15-Somit avian (kanatlı) embriyonun yolk kesesi duvarı [30].

Aynı dönemde bağlantı sapı ve villöz köklerin ekstraembriyonik mezodermi içinde de kan hücreleri ve kapillerler gelişir. Sürekli tomurcuklanarak büyüyen bu ekstraembriyonik damarlar intraembriyonik damarlarla temasa geçerek embriyo ve plasentayı birleştirirler. Kalp tüpü de dahil olmak üzere, intraembriyonik kan hücreleri ve kan damarları ekstraembriyonik damarlarla benzer biçimde gelişirler. Oluşan primer damar ağı anjiyogenez ile genişler ve yeniden biçimlenir [29, 30] (Şekil 8).



Şekil 8: Presomit (yaklaşık 19 günlük) embriyoda ekstraembriyonik kan damarlarının gelişimi [29].

Lenfatik kanallar, kan damarlarına benzer şekilde mezodermal prekürsörlerden vaskülogenez ve anjiyogenez yoluyla oluşurlar. Ancak lenfatiklerin ortaya çıkışı intrauterin beşinci haftadan sonra gerçekleşir [30].

İlk kan hücreleri yolk kesesinin duvarındaki kan adacıklarından ortaya çıkarlarsa da, bu hücre topluluğunun ömrü geçicidir. Kalıcı hematopoetik kök hücreleri, gelişmekte olan mezonefrik böbreğin çok yakınında aort-gonad-mezonefroz bölgesi (AGM bölgesi) adı verilen bir yerde aortayı saran mezoderminden gelişirler. Bu hücreler karaciğerde kolonize olarak bu organı ikinci ve yedinci aylar arasında en önemli hematopoetik organ durumuna getirirler. Gestasyonun yedinci ayında karaciğerdeki kök hücreleri, kemik iliğine yerleşir ve karaciğer böylece kan yapma görevini yaşam boyunca kan hücrelerinin yapılacağı kemik iliğine devreder [29, 30].

2.B.2. ERİŞKİN DÖNEM: Erişkinlerde kan damarı oluşumu anjiyogenez veya neovaskülarizasyon olarak bilinir ve yakın zamana kadar komşu kan damarlarının dallanması ve yayılmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Son çalışmalar, anjiyogenezin kemik iliğindeki EPH'lerin dokularda toplanmasıyla da oluşabileceğini göstermiştir [26] (Şekil 9).

a) Önceden varolan damarlardan kaynaklanan anjiyogenez: Anjiyogenezin bu tipindeki basamaklar aşağıda sıralanmıştır:

i. Nitrik oksite yanıt olarak gelişen vazodilatasyon ve VEGF'nin uyarısıyla önceden varolan damarlarda geçirgenliğin artışı.

ii. Matriks metalloproteinaz (MMP)'ları ile ana damarın bazal membranında proteolitik zedelenme ve plazminojen aktivatörü ile damarın endotel hücreleri arasındaki bağlantının bozulması.

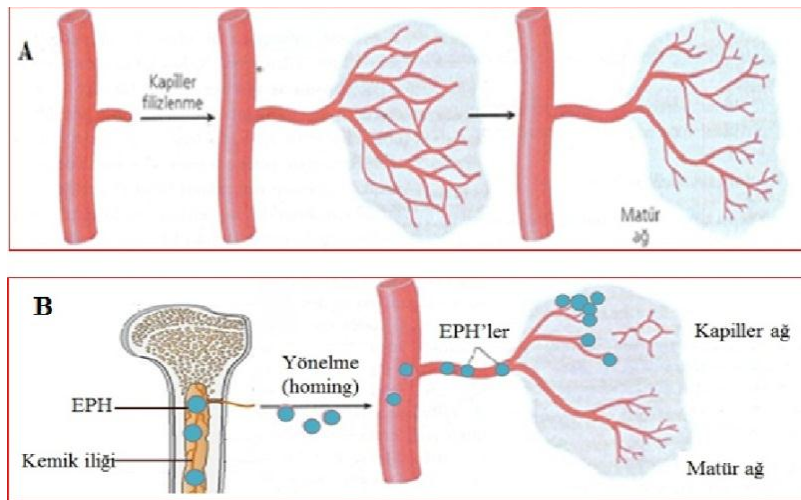
iii. Endotel hücrelerinin anjiyogenik uyarıya doğru göçü.

iv. Göç eden hücrelerin hemen arkasındaki endotel hücrelerinin proliferasyonu.

v. Büyüme inhibisyonu ve kapiller tüplerin yeniden biçimlendirilmesini içeren endotel hücrelerinin maturasyonu.

vi. Periendotelial hücrelerin (küçük kapillerler için perisitleri ve daha büyük damarlar için vasküler düz kas hücrelerini içerir), endotel tüplerini desteklemek ve matür damarı oluşturmak üzere toplanması.

b) EPH ile gerçekleşen anjiyogenez: EPH'lerin kemik iliğinden anjiyogenezin başlatılacağı dokuya gelmesiyle oluşur. Ancak buradaki "hedefe yönelme (homing)" mekanizmasının yapısı tam olarak belli değildir. EPH'lerden köken alan endotel hücreleri sonradan matür kapiller ağı geliştirecek olan, ince bir kapiller pleksus ağı meydana getirir. EPH'ler, kaybedilen endotel hücrelerinin yerine konmasında, vasküler implantların yeniden endotelizasyonunda ve iskemik organların, kütanöz yaraların ve tümörlerin neovaskülarizasyonunda görev alırlar. Dolaşımdaki EPH sayısının vasküler fonksiyonu etkileyebileceği ve kardiyovasküler hastalık riskini belirleyebileceği öne sürülmüştür [26].



Şekil 9: Erişkinde anjiyogenez mekanizmalarının şematik gösterimi. **A.** Daha önceden varolan damarlardan kaynaklanan anjiyogenez. **B.** Kemik iliğinden gelen EPH'ler ile gerçekleşen anjiyogenez [12].

2.B.3 ANJİYOGENEZDE ROL OYNAYAN BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE RESEPTÖRLER

Pek çok büyüme faktörü anjiyogenik aktivite gösterir ancak birçok kanıt VEGF'nin embriyonik vaskülogenez ve erişkin anjiyogenezinde en önemli büyüme faktörü olduğunu göstermektedir [26, 29, 31-33] (Tablo1).

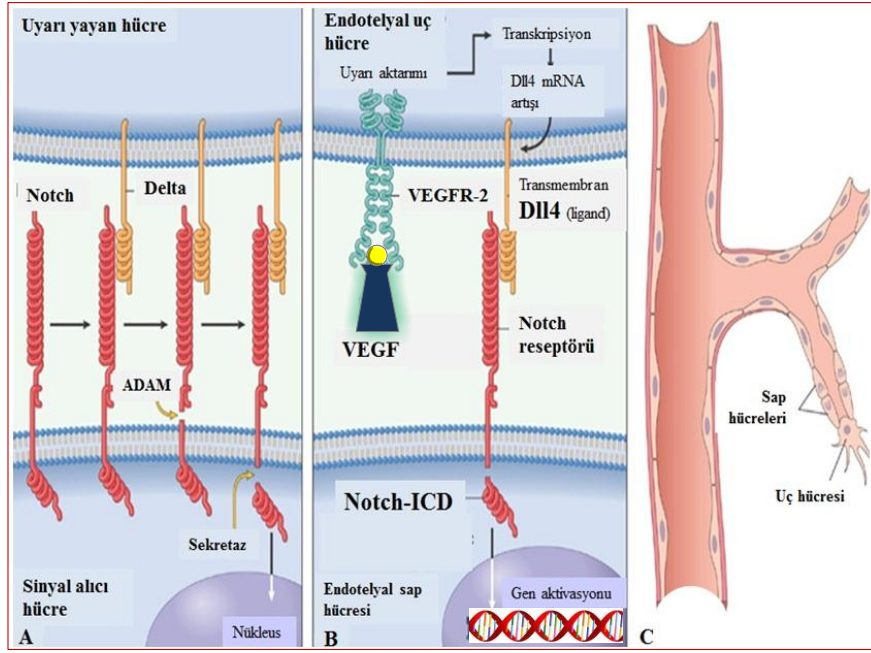
VEGF pek çok stromal ve mezenkimal hücre tarafından salgılanır. VEGF'nin değişik reseptörleri vardır, fakat anjiyogenezdeki en önemli reseptörü, bir tirozin kinaz reseptörü olan, VEGFR-2'dir. VEGFR-2 insanlarda KDR, farelerde FLK-1 olarak da bilinir. VEGFR-2, endotel hücreleri, onların prekürsörleri, pek çok malign tümör hücresi ve diğer bazı hücreler tarafından eksprese edilir. EPH ile gerçekleşen anjiyogenezde, VEGFR-2 aracılığıyla etki eden VEGF, hem EPH'lerinin kemik iliğinden mobilizasyonunu uyarır hem de bu hücrelerin anjiyogenez bölgelerindeki proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu artırır. Önceden varolan damarlardan köken alan anjiyogenezde ise, VEGF sinyali, endotel hücrelerinin yaşam süresini, proliferasyonunu ve motilitesini uyararak yeni kapillerlerin tomurcuklanmasını başlatır. Endotel hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve migrasyonu FGF-2 (fibroblast büyüme faktörü-2) tarafından da artırılabilir [26].

Tablo 1. VEGF/VEGFR Sistemi

Aile üyeleri	VEGF (VEGF-A), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, PlGF ve svVEGF
Üretim	Çeşitli erişkin dokularda düşük düzeylerde, glomerül podositleri ve kardiyak myositler gibi az sayıda bölgede ise yüksek düzeyde eksprese edilir.
Uyarıcı Ajanlar	Hipoksi, TGF- β , PDGF, TGF- α
Reseptörler	VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3 (lenfatik endotelial hücrelerde)
Fonksiyonlar	Anjiyogenez uyarır, vasküler geçirgenliği artırır, endotelial hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu uyarır, VEGF-C seçici olarak lenfatik damarlarda hiperplaziyi uyarır, endotelial plazminojen aktivatörü, plazminojen aktivatör inhibitörü-1, doku faktörü ve interstisyel kollojenaz ekspresyonlarını artırır.

Yakın zamanda vaskülogenezin düzenlenmesinde "Notch yolağı" denilen yeni bir mekanizma tanımlanmıştır. Bu mekanizma ile VEGF cevabı azaltılarak aşırı anjiyogenez engellenir ve yeni damarların düzgün dallanması sağlanır. Notch ligand ve reseptörleri, türler arasında korunmuş, membrana bağlı moleküllerdir. Memelilerde beş tane Notch ligandı (Jagged 1, Jagged 2, Dll-1, Dll-3 ve Dll-4) ve dört tane transmembran reseptörü (Notch 1-4) vardır. Dll-4 (Delta like ligand-4) endotelial hücrelere özgüdür, arter ve kapillerlerde

eksprese edilirken, venlerde edilmez; bu ligandın önemi tek Dll-4 allelinden yoksun farelerin embriyonik ölümleriyle gösterilmiştir. Anjiyogenez esnasında “uç hücre (tip cell)” denilen başı çeken hücre proliferasyona ve migrasyona uğrarken, “ sap hücreleri (stalk cells)” mevcut damarla bağlantılarını devam ettirirler (Şekil 10C). VEGF, uç hücrelerde Dll-4’ü indüklerken, Notch1 ve Notch-4 sap hücrelerinde eksprese edilirler. Komşu uç ve sap hücrelerinde Dll-4 ve Notch reseptörleri arasındaki etkileşim, reseptörün iki aşamalı proteolitik bölünmesine yol açar (Şekil 10A). Böylece ortaya çıkan parçacığa Notch-ICD (Notch-intracellular domain) denir. Notch-ICD, nukleusa aktarılarak VEGF yanıtını baskılayan genleri aktive eder (Şekil 10B). Dll-4’ün blokajı endotelial hücrelerin artan proliferasyonuna ve kapiller tomurcuklanmaya neden olur; VEGF blokajının tam tersi etkileri vardır ve aynı zamanda endotelial hücrelerin yaşam süresini azaltır [26, 34, 35].



Şekil 10: Notch sinyalizasyonu ve anjiyogenez (A. Notch reseptörünün ligand bağlandığında iki aşamalı (ADAM proteaz ve sekretaz enzimleri tarafından) bölünmesi ve Notch-ICD'nin ortaya çıkışı. B. Endotelial uç ve sap hücrelerindeki VEGF/VEGFR-2 ile Dll-4/Notch reseptörü arasındaki ilişki. C. Anjiyogenezde tomucuklanan damardaki uç hücre ve sap hücreleri [26].

Kapiller oluşumuna yol açan olay ne olursa olsun, yeni oluşan damarlar son derece frajildir. Damarların stabilizasyonu için perisitlerin ve düz kas hücrelerinin toplanması, ekstrasellüler matriks (ESM) proteinlerinin depolanmasını gereklidir. Anjiopoetin 1 ve 2, PDGF (trombosit kökenli büyüme faktörü) ve TGF (transforme edici büyüme faktörü) stabilizasyon sürecine katılırlar.

VEGF ekspresyonunu artıran sitokinler, büyüme faktörleri (TGF- β , PDGF, TGF- α gibi) ve özellikle doku hipoksisi gibi durumlar fizyolojik ve patolojik anjiyogenezi etkileyebilir. VEGF transkripsiyonunu düzenleyen HIF hipoksi tarafından uyarılır [26, 27].

2.B.4. ANJİYOGENEZDE DÜZENLEYİCİ EKSTRASELLÜLER MATRİKS PROTEİNLERİ

Anjiyogenezin anahtar komponenti, yeni damar oluşumu için gerekli olan endotel hücrelerinin motilitesi ve yönlendirilmiş güçleridir. Bu süreçler farklı protein sınıfları ile kontrol edilir [26]:

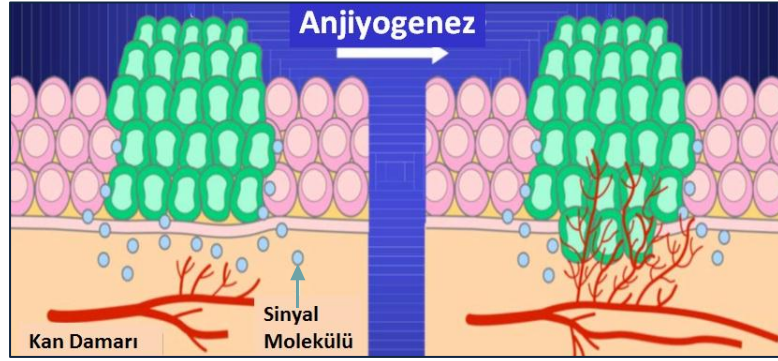
- 1) İntegrinler (özellikle $\alpha V\beta 3$), yeni kan damarlarının oluşumu ve devamının sağlanması için önemlidirler. İntegrin ekspresyonu hipoksi ile uyarılır. Birden fazla etki mekanizması vardır. Hem metalloproteinazlar ile doğrudan etkileşirler hem de VEGFR-2'ye bağlanarak aktivitesini düzenlerler. Ayrıca fibronektin, trombospondin ve osteopontin gibi ESM proteinlerinin adezyonlarına aracılık ederler [36, 37].
- 2) Matrisellüler proteinler (trombospondin-1, SPARC ve tenasin-C), hücre-matriks etkileşimini destabilize ederek anjiyogenezi etkilerler. [38].
- 3) Proteinazlar (plazminojen aktivatörleri ve MMP'ları), endotel invazyonu sırasında dokuların yeniden biçimlendirilmesinde önemlidirler. Ayrıca bu proteinler, ekstrasellüler proteinleri birbirinden ayırarak, VEGF ve FGF-2 gibi anjiyogenezi uyaran matrikse bağlı büyüme faktörlerinin serbest kalmasına yol açarlar. Proteinazlar, aynı zamanda kollajenin anjiyogenik ve anti-anjiyogenik etkili (endostatin gibi) fragmanlarının serbest kalmasına neden olabilirler [39].

2.B.5. TÜMÖR ANJİYOGENEZİ

Tümörler beslenmeleri için gerekli olan konak damarlarının büyümesini uyarırlar. Vaskülarizasyon olmazsa tümörler, difüzyon sınırı olan 1-2 mm çaptan veya kalınlıktan daha fazla büyüyemezler [40]. Anjiyogenez yalnız tümör büyümesi için değil, metastaz için de gereklidir. Neovaskülarizasyonun tümör büyümesi üzerinde ikili bir etkisi vardır: Perfüzyon, besin maddelerini ve oksijeni sağlarken, yeni oluşmuş endotelial hücreler, insülin benzeri büyüme faktörleri (IGFs), PDGF gibi polipeptid büyüme faktörlerini salgılayarak komşu tümör hücrelerinin büyümesini uyarır [28, 41].

Yapılan çalışmalar, tümörlerin anjiyogenezde rol alan mekanizmaların tamamının tetiğini çekme kapasitesine sahip faktörler ürettiğini göstermektedir. Tümör anjiyogenezi, endotelial hücre prekürsörlerini bir araya getirerek veya fizyolojik anjiyogenezde olduğu gibi

mevcut kapillerlerden tomurcuklanarak oluşabilir. Ancak, tümörün kan damarları kıvrıntılı, düzensiz şekilli ve sızdıran özellikte olmaları ile normal damarlardan ayrılırlar. Tümör ile ilgili anjiyogenik faktörler, doğrudan tümör hücreleri tarafından üretilebileceği gibi, tümörü infiltre eden inflamatuvar hücreler (örneğin makrofajlar) veya stromal hücreler tarafından da üretilebilir. Tümör ile ilişkili anjiyogenik faktörlerin en önemlileri VEGF ve bFGF (temel fibroblast büyüme faktörü)'dir [42] (Şekil 11).



Şekil 11. Tümör anjiyogenezi (Küçük lokalize bir tümör, çeşitli sinyal moleküllerinin aktivasyonu ile gelişen anjiyogenez sonucu büyüeyebilen ve yayılabilen bir tümör haline gelir.)

DeneySEL ve klinik veriler çoğu insan tümörünün erken dönemlerde anjiyogenezi uyarmadığını göstermektedir. Aylarca ve yıllarca dolaşım desteği geliştirmeden in situ olarak kalan tümör hücrelerinin bazıları daha sonra anjiyogenik fenotipe dönüşür. Bu değişiklik “anjiyogenik değişim (anjiyogenik switch)” olarak bilinir [43]. Anjiyogenik değişimin moleküler temeli tam olarak açık olmamakla birlikte, anjiyogenik faktörlerin üretimini artırması ve/veya anjiyogenez inhibitörlerinin kaybıyla ilgili olabilir. Tümör hücreleri tarafından doğrudan üretilen veya tümöre yanıt olarak stromal hücreler tarafından üretilen proteazlar, anjiyogenik ve anti-anjiyogenik faktörler arasındaki dengenin düzenlenmesine katılırlar. Çoğu proteaz, ESM’lerde depolanan proanjiyogenik bFGF’ü açığa çıkarır; aksine plazminojen, kollajen ve transtretinin proteolitik parçalanması ile sırasıyla üç potent anjiyogenez inhibitörü olan anjiyostatin, endostatin ve vaskülostatin üretilir. Anjiyogenik değişim, hipoksi gibi çeşitli fizyolojik uyarılarla kontrol edilir. Oksijenin kısmi yokluğu, oksijene duyarlı bir transkripsiyon faktörü olan ve VEGF ya da bFGF gibi bir grup proanjiyogenik sitokinin transkripsiyonunu aktive eden HIF’i uyarır. Bu faktörler endotel hücrelerin proliferasyonunu uyaran anjiyogenik bir gradient oluştururlar ve tümör içine yeni damarların büyümesini yönlendirirler. VEGF aynı zamanda yeni damarların yoğunluğunu ve dallanmasını düzenlemede belirgin rol oynayan Notch sinyal yolağını aktive eden ligandların ekspresyonunu artırır. Hem proanjiyogenik hem de anti-anjiyogenik faktörler kanserde sıklıkla

mutasyona uğrayan pek çok başka gen tarafından düzenlenir. Örneğin normal hücrelerde p53, trombospondin-1 gibi anti-anjiyogenik molekülün ekspresyonunu stimüle ederken, VEGF gibi proanjiyogenik moleküllerin ekspresyonu baskılar. Bu nedenle p53 kaybı anjiyogenez için çok daha kolaylaştırıcı bir ortam sağlar. VEGF'nin transkripsiyonu, RAS-MAP kinaz yolağından gelen sinyallerden etkilenirken, RAS veya MYC mutasyonları, VEGF üretimini artırır [42].

2.B.6. TÜMÖR İNVAZYONU VE METASTAZI

İnvazyon ve metastaz, kanserle ilgili mortalite ve morbiditenin major nedenleridir. Metastatik kaskad iki faza ayrılır: a) ESM'in invazyonu, b) vasküler yayılım ve tümör hücrelerinin yerleşmesi [42] (Şekil 12,13).

a) Ekstrasellüler Matriksin İnvazyonu: Dokular birbirlerinden iki tip ESM ile kompartmanlara ayrılarak organize olur; bazal membran ve interstisyel bağ dokusu. Farklı tipte organize olmalarına rağmen ESM'in bu komponentlerinden her biri kollajenler, glikoproteinler ve proteoglikanlardan oluşur. Tümör hücreleri metastatik kaskadın çeşitli evrelerinde ESM ile etkileşime girerler. ESM invazyonu, dört basamağa ayrılabilen aktif bir süreçtir (Şekil 13):

- i. Tümör hücrelerinin birbirinden ayrılması,
- ii. ESM'in parçalanması,
- iii. Matriks komponentlerine yapışma,
- iv. Tümör hücrelerinin migrasyonu.

Normal hücreler çeşitli adezyon molekülleri aracılığıyla birbirlerine ve çevrelerine düzenli bir şekilde yapışırlar. Bunlar içinde kaderin ailesi özel bir önem taşır. Kolon ve meme adenokarsinomları da dahil olmak üzere çok sayıda epitelyal tümörde e-kaderin ekspresyonu azalır. Transmembran glikoproteini olan e-kaderinler, plazma membranının altında bulunan protein yapısındaki kateninler aracılığıyla hücre iskeletine bağlanırlar. E-kaderin normal fonksiyonunu kateninlere bağlanarak gerçekleştirebilir. Tümör invazyonu sırasında intersellüler adezyon moleküllerindeki değişiklikler veya katenin genindeki mutasyonlar sonucu hücreler birbirlerinden ayrılırlar. Normal hücrelerin adezyon kaybı, apoptozu indüklerken, tümör hücreleri apoptozu dirençlidir [42].

İnvazyonun ikinci adımı, bazal membran ve interstisyel bağ dokusunun proteolitik enzimler aracılığıyla lokal olarak parçalanmasıdır. Bu aşamada tümör hücreleri doğrudan kendileri proteolitik enzim sekrete ederler veya konak hücrelerini (örneğin; fibroblastlar ve makrofajları) proteaz salgılamaları için uyarırlar. Proteazların aktivitesi, normalde anti-

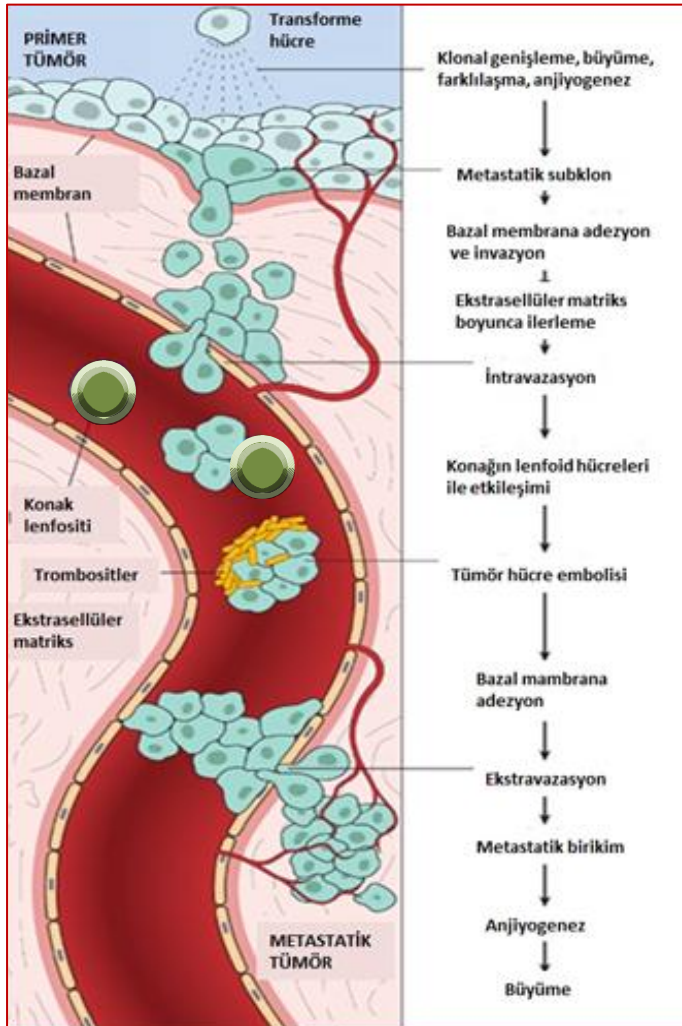
proteazlar tarafından sıkı bir şekilde kontrol altında tutulur. Tümörün invazyon gösterdiği sınırdaki proteaz / anti-proteaz dengesi proteazlar lehine gelişir. Tümör hücresi invazyonunda MMP'ları, katepsin-D ve ürokinaz plazminojen aktivatörü gibi birçok farklı proteaz ailesi olaya karışır. Matriks yıkımının en belirgin sonucu, tümör hücrelerinin invazyonu için bir yol oluşturmasıdır. Bununla birlikte kollajen ve proteoglikanlardan kaynaklanan parçalanma ürünlerinin büyümeyi uyarıcı, anjiyojenik ve kemotaktik etkileri de vardır. MMP9 ve daha az oranda MMP2, kollajen Tip IV'ü parçalar ve bazal membranda sekestre olan VEGF'yi mobilize eder. Ayrıca kollajen IV'ün parçalanması ile hem anjiyojenik hem de anti-anjiyojenik etkili (endostatin ve tumstatin gibi) fragmanlar ortaya çıkar. Son zamanlarda in vivo deneysel görüntüleme çalışmaları, tümör hücrelerinin "ameboid migrasyon" denilen çok daha hızlı ikinci bir invazyon şekline adapte olabileceğini göstermiştir [45]. Bu tip migrasyonda tümör hücreleri, matriksin içindeki alanları keserek açmak yerine sıkışarak geçer. En azından invitro olarak tümör hücreleri iki migrasyon formu arasında geçiş yapıyor gibi görünmektedir. Bu durum klinik araştırmalarda MMP inhibitörlerinin umut kırıcı performansını açıklayabilir [42, 45-51].

İnvazyonun üçüncü adımı, ESM proteinlerine tümör hücrelerinin bağlanmasındaki değişiklikleri içerir. Tümör hücrelerinin bazal membrandaki laminin ve fibronektine reseptör aracılı bağlanmasının, invazyon ve metastazdaki önemi ile ilgili çok güvenilir bulgular mevcuttur. Normal hücreler gibi tümör hücreleri de fibronektin, laminin, kollajen gibi ESM'in birçok komponenti için reseptör olarak görev yapan integrinleri eksprese ederler. Bununla birlikte neoplastik epitelial hücreler, daha yüksek miktarda ve normal dokuda bulunmayan integrinleri eksprese edebilirler. Ayrıca kollajen IV ve lamininin parçalanması, tümör hücre reseptörlerinin bağlanacağı yeni alanları ortaya çıkararak migrasyonu stimüle eder [42].

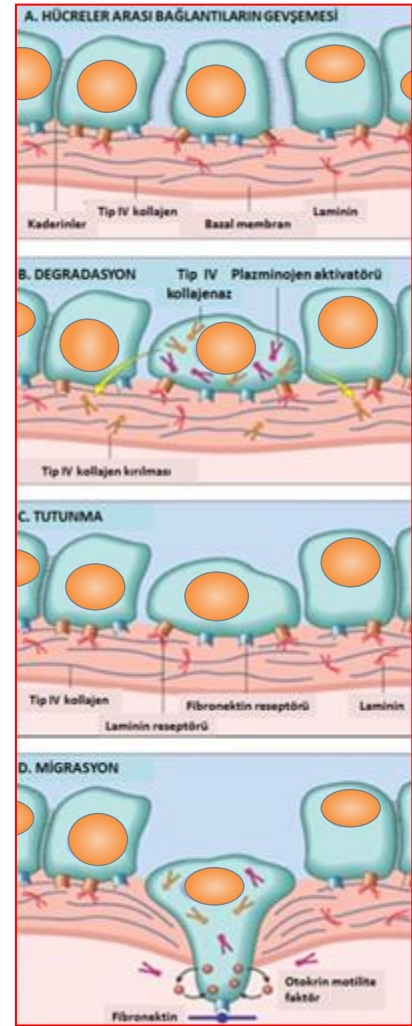
İnvazyonun son adımı olan migrasyon, pek çok reseptör ve sinyalizasyon proteininin rol oynadığı çok aşamalı ve karmaşık bir süreçtir. Bu aşamada tümör hücreleri matriks proteoliz alanları ve parçalanmış bazal membran boyunca ilerler. Bu hareket, otokrin motilite faktörleri gibi tümörden köken alan sitokinler tarafından yönlendiriliyor ve güçlendiriliyor gibi görünmektedir. Ayrıca matriks bileşenlerinin (ör: kollajen ve laminin) ve bazı büyüme faktörlerinin (ör: IGFs I ve II) ve stromal hücrelerde üretilen HGF'nin de tümör hücreleri için kemotaktik etkileri vardır [42].

Son yıllarda ESM ve stromal hücrelerin, tümör hücrelerinin geçişi sırasında sadece statik bir engel olmakla kalmayıp, tümör oluşumu ve gelişimindeki karşılıklı sinyalizasyonun olduğu bir ortamı temsil ettikleri görülmüştür. Tümörle etkileşime giren stromal hücreler, fibroblastlar kadar doğal ve kazanılmış bağışıklık hücrelerini de içerirler [42, 52].

b) Vasküler Yayılım ve Tümör Hücrelerinin Yerleşmesi: Tümör hücreleri dolaşıma girdiklerinde savunma mekanizmalarının yıkıcı etkilerine daha duyarlı hale gelirler. Dolaşımdaki tümör hücreleri, kendi aralarında veya trombositlerle kümeler halinde birikme eğilimindedir. Trombosit-tümör agregatlarının oluşumu tümör hücresinin yaşama ve implantasyon yeteneğini kolaylaştırabilir. Tümör embolisinin uzak bölgelerde ekstravazasyonu, endotele adezyonu ve daha sonra bazal membranı aşmasıyla gerçekleşir. Bu süreçlerde de daha önce anlatılanlara benzer şekilde adezyon molekülleri (integrinler, laminin reseptörleri) ve proteolitik enzimler rol alır. Normal T lenfositlerinden ekspresye edilen CD44, bu hücrelerin seçilmiş lenfoid dokulara migrasyonunu sağlar. CD44 adezyon molekülünün aşırı ekspresyonunun metastatik yayılıma yardımcı olduğu düşünülmektedir. Gittikleri yeni bölgelerde tümör hücrelerinin proliferere olmaları, damar kaynağı geliştirmeleri ve konak savunmasından kaçması gerekir [42, 53, 54].



Şekil 12: Metastatik kaskad. Bir tümörün hematogen yayılımında izlediği aşamaların şematik çizimi [42].



Şekil 13: Tümör hücrelerinin epitelyal bazal membrana invazyonundaki olaylar sırasının şematik gösterimi [42].

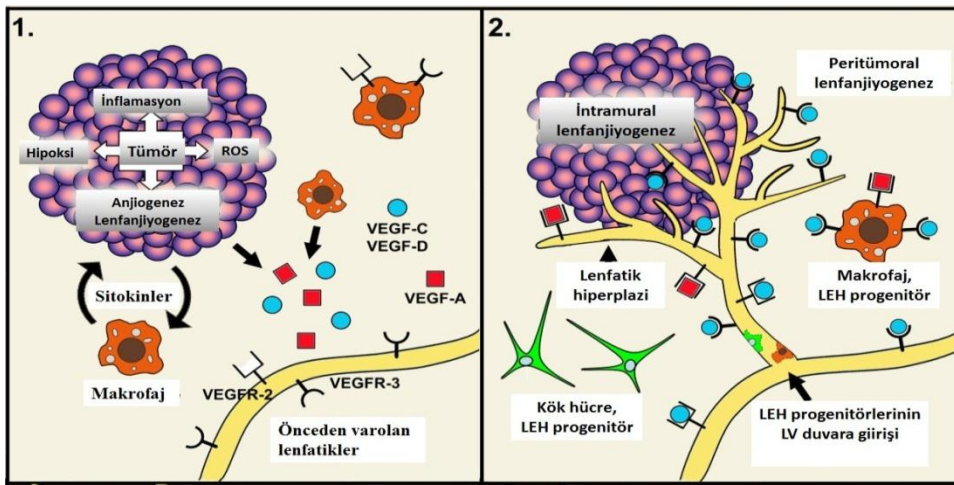
Tümör hücreleri, köken aldıkları organizmanın savunma mekanizmalarından kaçışlarındaki tüm yeteneklerine rağmen, uzak organlarda kolonize olmakta oldukça etkisizdirler. Küçük tümörlerden bile günlük olarak milyonlarca tümör hücresi dolaşıma salınır. Hiç metastatik lezyon geliştirmeyen hastalarda bile kan dolaşımında ve kemik iliğindeki küçük odaklarda, bu hücreler saptanabilir. Progresyon olmadan mikrometastazların uzun süreli varlığını ifade eden “latent kalma (dormancy) konsepti” melanom, meme ve prostat kanserlerinde oldukça iyi tanımlanmıştır. Kolonizasyonun moleküler mekanizmaları fare modellerinde yeni çözülmüş olmakla birlikte tümör hücrelerinin, stromal hücreler üzerine etki eden sitokinler, büyüme faktörleri ve ESM proteinleri sekrete ederek, karşılığında kendileri için yerleşilebilir metastatik bir alan oluşturdukları görülmektedir. Örneğin kemiğe meme kanseri metastazları, metastatik alandaki osteoklastların aktivasyonuna bağlı olarak osteolitikdir. Meme kanseri hücreleri paratiroid hormon ilişkili protein (PTHrP) sekrete ederler. PTHrP, osteoblastları stimüle ederek RANKL (receptor activator of nuclear factor kB ligandı) yapar. Ardından RANKL osteoklastları aktive eder, kemik matriksini degrades ederek, matriks içine gömülü IGF ve TGF- β gibi büyüme faktörlerini açığa çıkarır. Metastaz mekanizmalarının moleküler düzeyde daha iyi anlaşılmasıyla, hedefe yönelik tedavi seçeneklerimiz gelişecektir [42].

Metastaz Gelişiminin Moleküler Genetiği: Neden bazı tümörlerin metastaz yaptıklarını ve metastatik tümör fenotiplerinin ortaya çıkışını açıklamak için birkaç geçerli teori vardır. Bu konudaki görüşlerden birine göre, bazı tümör alt klonları (metastatik varyantlar) metastazda yer alan tüm basamakları tamamlayacak olan gen ürünlerinin doğru bir kombinasyonuna sahiptir ve bu metastatik varyantlar metastaza neden olur. Alternatif bir hipoteze göre ise metastaz, primer tümördeki birçok hücrede veya hücrelerin çoğundaki multipl anomalilerin sonucu ortaya çıkar (metastatik imza). Metastatik imza yalnız kanser hücrelerinin kendilerine ait özelliklerini değil, aynı zamanda stroma komponentleri, infiltrasyon oluşturan immün hücrelerin varlığı ve anjiyogenezis gibi mikroçevre karakteristiklerini de kapsar. Üçüncü bir hipotez, aynı onkojenik mutasyonlar ile indüklenen kanserlerin farklı metastatik sonuçlarının olduğu deneysel çalışmalardan hareketle, kişinin özgeçmişindeki genetik yapısının ve bunun sonucu gen ekspresyonunda oluşan varyasyonun, metastaz oluşumuna katkıda bulunduğunu kabul eder. Oldukça güçlü onkogenler bile arka plandaki kişisel genetik yapıdan belirgin şekilde etkilenirler. Dördüncü hipoteze göre tümör, nadir tümör kök hücrelerinden gelişir, dolayısıyla metastazları da tümör kök hücrelerinin bizzat kendilerinin yayılımını gerektirir [42, 55-59].

2.B.7. TÜMÖR LENFANJİYOGENEZİ ve METASTAZ

Anjiyogenez mekanizmaları çok iyi açıklanmıştır. Lenfanjiyogenez mekanizmaları ise spesifik endotelial belirteçlerin yokluğundan dolayı yakın zamana kadar iyi bilinmiyordu. Ancak 2000’li yılların başlarında LYVE-1, podoplanin, D2-40, prox-1 ve VEGFR-3 gibi lenfatik belirteçlerin bulunmasıyla lenfanjiyogenezi açıklamaya yönelik yüzlerce araştırma yapıldı [60-62].

Tümör lenfanjiyogenezi, başlıca filizlenerek oluşan lenfanjiyogeneze dayalıdır ve bu nedenle özellikle lenfatiklerden zengin dokuda büyüyen tümörlerde gözlenir. Lenfanjiyogenik faktörlerin uyarısıyla lenfatik damarlar filizlenmeye başlar. Tümör içinde ve tümör çevresinde lenfatik endotelial hücreler (LEH)’in proliferasyonu ile yeni lenfatik damarlar oluşur. Büyüyen bir tümörde hipoksik koşullar ve büyümeyi teşvik eden ortam, tümör hücrelerini, tümör stroma hücrelerini ve tümörü infiltre eden inflamatuvar hücreleri, bir grup büyüme faktörü (VEGF, FGF, PDGF, Anjiopoetin, HGF, IGFs) eksprese etmeye teşvik eder ve böylece tümör içinde yeni damarların oluşumu indüklenir (anjiyogenik switch). Bu sırada klasik lenfanjiyogenik faktörler olan VEGF-C ve VEGF-D’nin VEGFR-3 reseptörlerine bağlanmasıyla, tümör lenfatik damar oluşumu uyarılır. Oluşan yeni lenf damarları özellikle peritümöral bölgede yer alırlar (Şekil 14-1). Birçok olayda lenfanjiyogenik etkisi olan diğer anjiyogenik faktörlerin, tümör lenfanjiyogeneze ne düzeyde katkıda buldukları tartışmaya açık bir konudur. Filizlenen lenfanjiyogeneze ek olarak prekürsör (progenitör) LEH ve kemik iliğinden köken alan hücreler de, kanser ve diğer durumlarda (özellikle inflamatuvar patolojik durumlar) doğrudan lenfatik damarların oluşumuna katkıda bulunurlar [60-62] (Şekil-14-2).



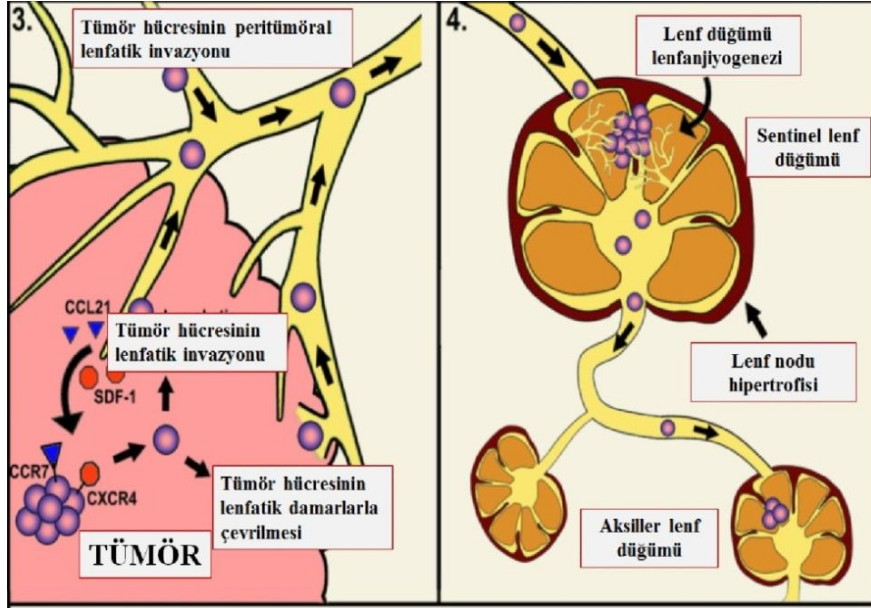
Şekil 14: Tümör lenfanjiyogenezinin şematik gösterimi (1.Hipoksi vb durumlarda eksprese edilen büyüme faktörlerinin lenfanjiyogenezi uyarması. 2. LEH proliferasyonu ve prekürsör LEH-kemik iliğinden köken alan hücrelerin katkısıyla oluşan lenfanjiyogenez.) [62]

Malign neoplazmlarda metastatik yayılımın dört ana yolu vardır: 1) Hematojen yayılım, 2) lenfatik yayılım, 3) lokal invazyon ve 4) vücut boşluklarına direkt ekilme [63]. Mezenkimal ve epitelyal malign tümörler, bu yollardan herhangi birini kullanabilirler. Ancak mezenkimal tümörler genellikle hematojen yolla yayılırken, epitelyal tümörler daha çok bölgesel lenf nodlarına yayılımı tercih ederler [64].

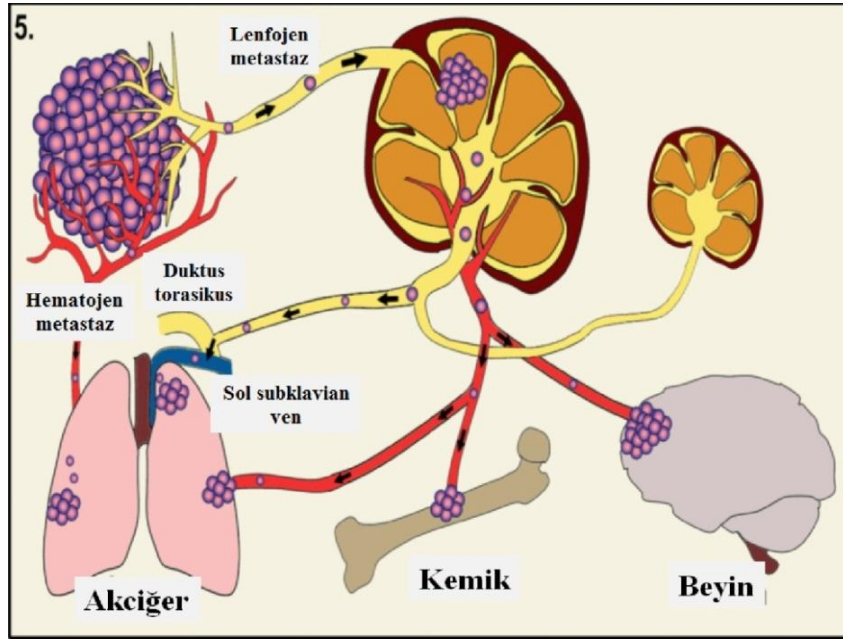
Lenfatik sistem, neoplastik yayılım için mükemmel bir yoldur. Bunun başlıca üç nedeni vardır: 1) Başlangıç lenfatik damarları, kan kapillerlerinden daha büyüktür ve onlar gibi süreklilik gösteren bazal membranları yoktur. 2) Lenfatik sistem içindeki akım hızı, kan dolaşımından daha yavaştır. 3) Lenf sıvısının içeriği, interstisyel sıvıya çok benzer ve tümör hücrelerinin canlılığını sağlayabilme yeteneğine sahiptir. Kan dolaşımı ise hem yüksek akım hızı nedeniyle tümör hücresinde mekanik deformasyona neden olur, hem de içerdiği antikorlar hücrede serum toksisitesi yapar [64].

Meme kanserlerinde bölgesel LN'ları, primer tümörün en fazla metastaz yaptığı yerlerdir. Lenfatik damarlara tümör infiltrasyonu, metastatik tümör hücrelerinin primer tümör alanını terk edebilmeleri için bir fırsat sunar. Bu sırada, spesifik büyüme faktörleri ve kemokinlerin salınımı aracılığıyla tümör hücre büyümesi ve invazyonu için parakrin sinyalizasyon yolağı oluşturulur [65, 66]. Yakın zamana kadar, bölgesel LN'larına tümör yayılımının sadece afferent lenfatik kanallardan ve doğal lenfatik drenaj yolu ile pasif yolla (zaten mevcut olan lenfatik damarların içerisine interstisyel sıvı ve proteinlerle birlikte) olduğuna inanılırdı. Daha sonraki çalışmalarda primer tümör hücresinin VEGF-C ve VEGF-D aracılığı ile lenfanjiyogenezi başlatarak lenfatik yayılımda direkt rol oynadığı gösterilmiştir [67, 68]. Bazı çalışmalarda VEGF-C salınımının LDY ve LN metastazı ile uyumlu olduğu bulunmuştur [69, 70]. Ayrıca lenfanjiyogeneizde görevli bir kemokin reseptörü olan CCR-7'nin, insan meme kanseri hücrelerinde ve metastazlarında çokça eksprese edildiği saptanmıştır [71]. Aşırı derecedeki VEGF-A eksprese eden tümörlerde ise sentinel LN lenfanjiyogenezinin metastaz öncesi indüklendiği gösterilmiştir [72]. Bu değişikliklerle primer tümörlerin yeni lenfatik damar oluşumlarını indükleyerek gelecekteki metastaz alanlarını hazırlamaya başladıkları söylenebilir.

Meme kanseri, malign melanom, prostat kanseri, ve kolon kanserinde tümörün drene olduğu ilk LN'deki (sentinel LN) metastaz varlığı, kanser hücresi yayılımının birinci aşaması olarak kabul edilir. Bu anlayış kanser hücrelerinin yayıldıkları tümör alanından, önce lenfatik sistem aracılığıyla LN'lerine, sonra kan dolaşımına ve uzak organlara yayıldıkları gözlemine dayalıdır [60-62] (Şekil 15 ve 16).



Şekil 15: Tümör hücrelerinin lenfatik damar invazyonu (3) ve sentinel LN metastazının gelişimi (4). (Tümör hücreleri aktif olarak tümör içi ve tümör çevresindeki lenfatik damarların içine girebilirler veya pasif olarak lenfatik damarlar tarafından çevrenirler. Her iki etkileşim sonucu sentinel LN metastazı gelişir. Aktif metastaz, lokal lenfatik sistem tarafından eksprese edilen kemokinler (CCL21 ve SDF-1) tarafından, CCR7 veya CXCR4 reseptörleri eksprese eden tümör hücrelerinin kemotaktik hareketinin sağlanması sonucu gerçekleşir.) [62]



Şekil 16: Lenfojen ve hematogen yolla uzak organ metastazı gelişimi. Uzak organ metastazı, kan damarı ve lenfatik damarların her ikisi aracılığı ile de ortaya çıkabilir. Tümör hücreleri, lenfatik damarlar boyunca sentinel LN'a doğru yayılır, sonrasında LN'daki kan damarları aracılığıyla kan dolaşımına girebilir veya lenfatik dolaşımda ilerleyip torasik duktus yoluyla venöz dolaşıma girer. Her iki yol da uzak organ metastazı ile sonuçlanır [62].

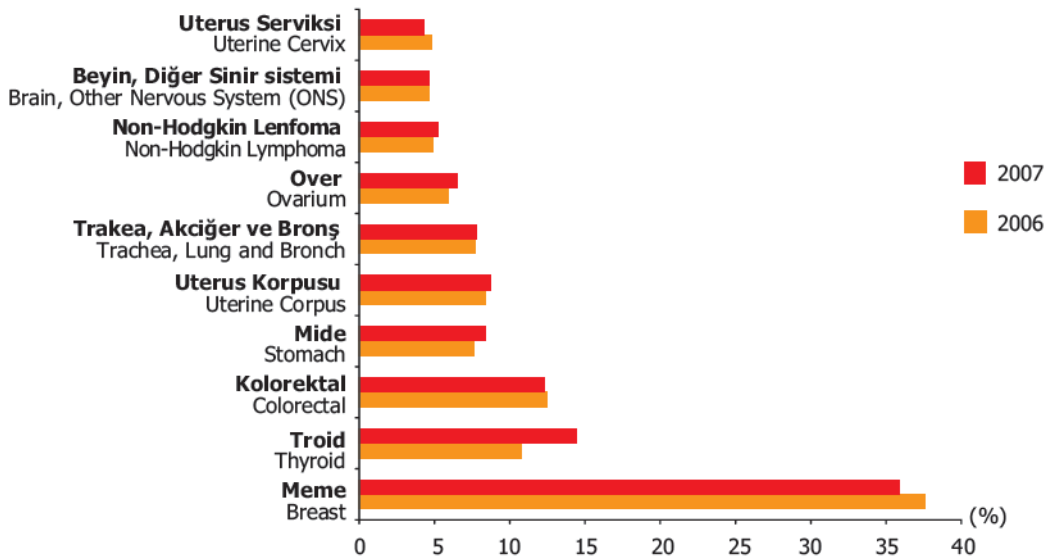
2.C. MEME KANSERİ

Meme kanseri ekonomik olarak hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda en sık gözlenen kanserdir [73].

2.C.1. MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Dünya genelinde 2008 yılında yaklaşık 12,7 milyon yeni kanser hastası ve 7,6 milyon kansere bağlı ölüm vakası tahmin edilmiştir. Meme kanseri kadınlardaki tüm kanserlerin %23'ünden ve kansere bağlı ölümlerin %14'ünden sorumlu tutulmaktadır. Meme kanseri vakalarının yaklaşık yarısı ve buna bağlı ölümlerin % 60'ı gelişmekte olan ülkelere gözlenmektedir. Genel olarak Batı ve Kuzey Avrupa, Avustralya/Yeni Zelanda, Kuzey Amerika'da insidans oranları yüksektir. Güney Amerika, Karayibler ve Kuzey Afrika ise orta endemisiteye sahiptir. Öte yandan Sahra-altı Afrika ve Asya'da meme kanseri insidansı düşüktür [73]. Ancak çoğu düşük ve orta gelirli ülkede insidans oranları, gelişmiş ülkelere göre daha hızlı artmaktadır.

2000'li yıllarda meme kanseri insidansının ülkemizde coğrafi, ekonomik, sosyal ve kültürel faktörlere göre değişim gösterdiği bildirilmektedir. Ülkenin batısındaki insidans (50/100.000), ülkenin doğusuna göre (20/100.000) iki kat yüksek bulunmuştur. Bu durum erken menarş, geç menopoz, 30 yaş üstündeki ilk doğum, daha az emzirme ve diğer benzer faktörlere bağlı görünmektedir [74]. 2011 yılında yayınlanan son Türkiye İstatistik Yıllığı'nda ülkemizde kanser dağılımı irdelenmektedir [75]. Bu yılda kanser epidemiyolojisine ait en güncel veri 2007 yılına aittir. Ülkemizde kadınlarda genel kanser insidansı 100.000'de 165 iken, meme kanseri insidansı ülke genelinde 100.000'de 36 olarak bildirilmektedir (Şekil 17).



Şekil 17: Türkiye'de kadınlarda en sık görülen kanserlerin insidansları (100.000 nüfusta), 2011 yılı Türkiye İstatistik Yıllığı'ndan alınmıştır.

2.C.2. MEME KANSERLERİNDE EVRELEME

Meme kanseri evrelemesinde en son 2010 yılında güncellenen AJCC (Amerikan Ortak Kanser Komitesi)'nin tümör, lenf düğümü, metastaz (TNM) sınıflaması kullanılmaktadır. T; tümör büyüklüğünü, N; bölgesel lenf düğümlerinin tutulumunu, M; ise uzak metastazları gösterir [5]. (Tablo 2)

Tablo 2. AJCC Evreleme Sistemi (2010) [5]

EVRE	T (Primer tümör)	N (Lenf Düğümü)	M (Uzak Metastaz)	5 Yıllık Yaşam
0	DCIS, LCIS, Paget hast. (Tis)	LN metastazı yok (N0)	Uzak metastaz yok	%92
IA	İnvaziv karsinom ≤ 2 cm (T1)	LN metastazı yok (N0)		
IB	Primer tümör kanıtı yok (T0) İnvaziv karsinom ≤ 2 cm (T1)	LN'da mikrometastaz (N _{mi})* LN'da mikrometastaz (N _{mi})	Uzak metastaz yok	%87
IIA	Primer tümör kanıtı yok (T0) İnvaziv karsinom ≤ 2 cm (T1) İnvaziv karsinom 2-5 cm (T2)	1-3 pozitif LN (N ₁)** 1-3 pozitif LN (N ₁) LN metastazı yok (N0)	Uzak metastaz yok	%75
IIB	İnvaziv karsinom 2-5 cm (T2) İnvaziv karsinom > 5 cm (T3)	1-3 pozitif LN (N ₁) LN metastazı yok (N0)		
IIIA	Primer tümör kanıtı yok (T0) İnvaziv karsinom ≤ 2 cm (T1) İnvaziv karsinom 2-5 cm (T2) İnvaziv karsinom > 5 cm (T3) İnvaziv karsinom > 5 cm (T3)	4 -10 pozitif LN (N ₂ ***) 4 -10 pozitif LN (N ₂) 4 -10 pozitif LN (N ₂) 1-3 pozitif LN (N ₁) 4 -10 pozitif LN (N ₂)	Uzak metastaz yok	%46
IIIB	İnvaziv karsinom deri veya göğüs duvarına invaze veya inflamatuvar karsinom (T4)	LN metastazı yok (N0) 1-3 pozitif LN (N ₁) 4 -10 pozitif LN (N ₂)		
IIIC	Herhangi bir T	10 $>$ pozitif LN (N ₃)****		
IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	Uzak metastaz var	%13

DCIS (duktal karsinoma in situ), LCIS (lobüler karsinoma in situ), LN (lenf düğümü).

*T0 veya T1 tümörle birlikte LN'de mikrometastaz (N_{mi}) varlığı önceki sınıflamada Evre IIA olarak değerlendirilirken, yeni sınıflamada (AJCC-2010) Evre IB olarak değerlendirilmeye başlandı.

**N1: 1-3 ipsilateral aksiller metastatik LN varlığı ve/veya internal mammariyan LN'de sentinel LN diseksiyonu ile tespit edilen metastaz

***N2: 4-9 ipsilateral aksiller metastatik LN varlığı veya aksillada tutulum olmaksızın internal mammariyan lenf LN'de klinik olarak tespit edilebilen metastaz

****N3: ≥ 10 ipsilateral metastatik LN varlığı veya infraklaviküler LN tutulumu veya ≥ 1 aksiller LN tutulumu durumunda klinik olarak tespit edilen internal mammariyan LN tutulumu veya ≥ 3 aksiller LN tutulumu durumunda internal mammariyan LN'de mikroskopik tutulum veya ipsilateral supraklaviküler LN tutulumu.

2.C.3. MEME KANSERLERİNDE PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Meme kanserli hastaların prognozu çok değişkendir. Meme karsinomlarında prognostik faktörler majör ve minör olarak gruplandırılabilir. Majör prognostik faktörler, hastanın mortalite riskini gösteren en önemli belirteçler olup, AJCC'nin TNM evreleme sisteminde yer almaktadır [5, 12] (Tablo 2). Minör prognostik faktörler ise daha çok hastanın kemoterapi (KT) ve/veya hormon tedavisinden (HT) yarar görüp göremeyeceğine karar verilmesinde rol oynar [12].

Majör Prognostik Faktörler:

1. Tümörün invaziv veya insitu karsinom olması: Tanım olarak in situ karsinom, duktal sistemde sınırlı olup metastaz yapma özelliği taşımaz. Bu nedenle yeterli tedavi alan DCIS'lı kadınların büyük çoğunluğunun kür şansı vardır. Aksine, invaziv karsinomların en az yarısına tanı esnasında lokal ya da uzak metastaz eşlik etmektedir [12]. DCIS ve bunlardan gelişen invaziv karsinomların dereceleri ve histolojik tipleri arasında önemli ilişki olduğu bulunmuştur. Örneğin düşük dereceli olan tübüler karsinom, mikropapiller ya da kribriform DCIS'dan gelişir; yüksek dereceli bir invaziv duktal karsinom ise solid veya komedo DCIS'dan gelişmektedir [3].

2. Uzak metastaz: Meme karsinomları uzak metastazlarını en sık akciğer, kemik, karaciğer, adrenal gland, beyin ve meninkslere yapmaktadır. Özellikle HT'ne cevap veren hastalarda adjuvan terapiler ile uzun süreli remisyonlar sağlanabilmesine rağmen, uzak metastazın varlığı tam kür sağlanmasını olanaksız kılmaktadır [12]. (Tablo 3)

Tablo 3. AJCC-TNM sınıflamasına göre uzak metastaz (M) durumu [5]

M durumu	Uzak Metastaz
M0	Uzak metastaz varlığının radyolojik ve klinik olarak kanıtı yok
cM0(i+)*	Moleküler veya mikroskopik olarak dolaşımda, kemik iliğinde veya bölgesel LN'leri dışındaki dokularda tespit edilebilen 0,2 mm'den, küçük semptom veya bulgu vermeyen tümör hücre birikimleri var
M1	Klinik veya radyolojik olarak tespit edilebilen ve/veya histolojik olarak 0,2 mm'den büyük uzak metastaz varlığı

* M0(i+) kategorisi AJCC-TNM 2010 sınıflamasına yeni eklenmiş olup, hastanın evresini değiştirmez. M0(i+) hastalar T ve N grubuna göre evrelendirilir.

3. Lenf düğümü metastazı: İnvaziv karsinomlarda uzak metastaz yokluğunda aksiller LN'lerinin tutulumu, en önemli prognostik faktördür [12]. Bir LN'de metastaz bulunma olasılığı metastatik odağın çapı, LN'nun çapı ve makroskopide diseke edilen LN sayısı ile ilişkilidir. Hematoksilin-eozin (H&E) ile morfolojik olarak negatif olduğu düşünülen bir LN'de, seri kesitlerle ve immünohistokimyasal (İHK) yöntemle metastaz çıkma olasılığı %10-20 arasında değişmektedir [7]. TNM sınıflamasında bölgesel LN tutulumu klinik ve patolojik olmak üzere iki şekilde değerlendirilir. Klinik sınıflamada aksiller, supraklaviküler gibi tutulan LN'nin yeri ve klinik olarak (fizik muayene ve lenfosintigrafi dışındaki görüntüleme yöntemleriyle) tutulum olup olmaması esas alınırken, patolojik sınıflamada tutulan LN sayısı ve mikrometastaz için metastatik odağın çapı da önem kazanmaktadır [5]. (Tablo 4).

Tüm LN'leri negatif olan bir olguda 10 yıllık sağkalım %70-80 iken, 1-3 pozitif LN varlığında bu oran %35-40'a, 10'dan fazla pozitif LN varlığında ise %10-15'e düşmektedir. LN'e makrometastazların prognostik önemi kanıtlanmıştır, ancak mikrometastazların klinik önemi açık değildir. Aksiller LN metastazı olmayan kadınların yaklaşık %10-20'sinde uzak metastaz vardır ve yaklaşık aynı sayıda hasta meme kanseri nedeniyle ölmektedir. Bu hastalarda metastaz, internal mammaryan LN'leri veya hematogen yolla ortaya çıkıyor olabilir [12].

Tablo 4: AJCC-TNM sınıflamasına göre lenf düğümü metastaz (N) durumu [5]

N durumu	Lenf Düğümü Metastaz Durumu (Patolojik Sınıflama)
pNx	Bölgesel LN'lerinin durumu bilinmiyor.
pN0	H&E ile bölgesel LN metastazı yok.
pN0 (i-)	H&E ya da İHK ile tespit edilebilen tümör hücresi yok.
pN0 (i+)*	H&E ya da İHK ile 0,2 mm'den küçük izole tümör hücreleri varlığı.
pN0(mol-)	Histolojik LN metastazı yok, moleküler teknikler (RT-PCR)** negatif.
pN0(mol+)	Histolojik LN metastazı yok, moleküler teknikler (RT-PCR) pozitif.
pN1mi***	Mikrometastaz (0,2 mm ve/veya 200 hücreden fazla, fakat 2 mm'den küçük).
pN1	1-3 ipsilateral aksiller metastatik LN varlığı ve/veya internal mammaryan LN'de sentinel LN diseksiyonu ile tespit edilebilen metastaz.
pN2	4-9 ipsilateral aksiller metastatik LN varlığı veya aksillada tutulum olmaksızın internal mammaryan LN'lerinde "klinik olarak tespit edilebilen"**** metastaz.
pN3	≥10 ipsilateral metastatik LN varlığı veya infraklaviküler LN metastazı veya ≥1 fazla aksiller LN metastazı durumunda klinik olarak tespit edilen internal mammaryan LN metastazı veya ≥3 aksiller LN metastazı durumunda internal mammaryan LN'lerinde mikrometastaz/sentinel LN diseksiyonu ile tespit edilebilen metastaz veya ipsilateral supraklaviküler LN metastazı.

*İzole tümör hücreleri, histolojik kesitte H&E ve İHK olarak tespit edilebilen 200 hücreden az veya 0.2 mm'den küçük gruplardır. İTH içeren LN'leri pozitif LN olarak kabul edilmez, ama toplam LN sayısı içine dahil edilirler.

**RT-PCR (reverse transcriptase/polymerase chain reaction)

*** Mikrometastaz 2 mm (0,2 cm)'den küçük, makrometastaz (pozitif LN) 2 mm'den büyük metastazdır.

****Görüntüleme yöntemleri (lenfosintigrafi dışında) veya klinik muayene ile tespit edilen ve malignite lehine fazla şüpheli bulguları olan veya sitolojik olarak ince iğne aspirasyon biyopsisinde patolojik makrometastaz varlığı tahmin edilen.

4. Tümör çapı: Tümör çapı, LN tutulumundan sonra, en önemli ikinci parametre olup, tek başına kullanılabilen en önemli prognostik faktördür [3, 7, 12]. TNM sınıflamasında tümör boyutları için patolojik ve klinik sınıflamada benzer ölçütler kullanılır [5] (Tablo 5). LN tutulumundan bağımsız bir faktör olmakla birlikte tümör çapı arttıkça aksiller LN tutulumu olasılığı da artar. LN tutulumu olmayan bir olguda karsinom alanının çapı 1 cm'den az ise bu hastanın 10 yıllık sağkalım oranı %90'nın üzerindeyken 2 cm'in üstündeki tümörlerde bu oran %77'ye düşer [12].

Tablo 5: AJCC-TNM sınıflamasına göre tümör (T) evrelemesi [5]

T durumu	Tümör büyüklükleri	
TX	Ölçülebilecek nitelikte primer tümör yok, değerlendirilemeyen primer tümör	
T0	Primer tümöre ait bulgu yok	
Tis	Tis(DCIS)	
	Tis(LCIS)	
	Tis(Paget) (primer başka tümör yok)	Meme başının Paget hastalığı, meme parankiminde altta yatan invaziv karsinom ve/veya karsinoma in situ ile ilişkili değildir. Paget hastalığı ile ilişkili olan meme parankimi karsinomu, parankimal hastalığın büyüklüğü ve özellikleriyle sınıflandırılır; ancak Paget hastalığının varlığı belirtilir.
T1	2 cm veya daha küçük boyutlu tümör	Tm1 (mikroinvazyon $\leq 0,1$ cm)
		T1a ($> 0,1 - \leq 0,5$ cm)
		T1b ($> 0,5 - \leq 1$ cm)
		T1c ($>1 - \leq 2$ cm)
T2	2- 5 cm çaplı tümör	
T3	5 cm'den büyük tümör	
T4	Herhangi bir büyüklükteki tümörün deri veya göğüs duvarına direkt yayılımı veya inflamatuvar karsinom	T4a (göğüs duvarına yayılım)
		T4b (ödem, ülserasyon veya aynı memede satellit cilt nodülü)
		T4c (Ta+Tb)
		T4d (inflamatuvar karsinoma)

Multipl invaziv odak görülen olgularda, odaklar aynı kadranda ise multifokalite, farklı kadrarlarda ise multisentrisiteden bahsedilir. Multisentrik veya multifokal tümörlerde, AJCC evrelemede büyük boyutlu tümör odağı esas alınır [3]. Multifokalite/multisentrisite varlığı bağımsız bir prognostik faktör olmamakla birlikte hastaya yapılacak olan meme koruyucu cerrahi veya mastektomi kararının verilmesinde önemlidir [76]. Tek odaklı veya multifokal karsinomlarda tümör boyutu kullanıldığında, LN metastaz sıklığının aynı olması beklenir. Ancak yapılan bir çalışmada multisentrik tümörlerin, tek odaklı aynı boyuttaki tümörlerle karşılaştırıldığında daha düşük sağkalım süresi gösterdiği bulunmuştur [77].

5. Deri veya göğüs duvarı tutulumu (lokal ilerlemiş hastalık): Sıklıkla eş zamanlı bir uzak metastazın varlığı ile ilişkilidir [12]. AJCC sınıflamasında göğüs duvarı tutulumu T4a, cilt tutulumu T4b'ye denk gelmektedir (Tablo 5). Göğüs duvarı invazyonu kotların, interkostal kasların veya serratus anterior kasının tutulumunu ifade eder; ancak pektoral kası içermez. Bu nedenle pektoral kasın tümör tarafından tutulumu göğüs duvarı invazyonu olarak kabul edilmez [5]. T4b klinik olarak deride ödem, ülserasyon veya satellit nodüllerin görülmesini gerektirir. Sadece histopatolojik incelemede görülen dermal infiltrasyon T4b tanımlaması için yeterli değildir. Paget hastalığı DCIS'in epidermis içinde yayılımı olup AJCC sınıflamasının deri tutulumunda önemi yoktur [5, 7].

6. İnflamatuvar karsinom: AJCC sınıflamasında T4d'ye karşılık gelir (Tablo 5). Meme derisinde portakal kabuğu görünümüne neden olan eritem, endurasyon, ödem, ısı artışı ve hassasiyet ile karakterizedir. Tümör trombuslarının lenfatik damarlarda yaptığı obstrüksiyon nedeniyle oluşur. Klinik bir tanıdır ve patolojik incelemede dermiste lenfovasküler invazyonun görülmesi ile desteklenir. Klinik olarak yeterli kriterlerin olmadığı durumlarda, sadece histomorfoloji ile inflamatuvar karsinom tanısı konulamaz [5]. İnflamatuvar karsinomlu olgularda 3 yıllık sağkalım sadece %3-10 kadardır [12].

Minör Prognostik Faktörler:

1. Histolojik tip: Histolojik tiplendirme için WHO (Dünya Sağlık Örgütü) 2003 sınıflaması kullanılmaktadır [7] (Tablo 6). İnvaziv meme karsinomlarının çoğunluğu (%79'u) invaziv duktal karsinom (İDK), % 10'u invaziv lobüler karsinom (İLK), % 6'sı tübüler/kribriform karsinom, % 2'si müsinöz (kolloid) karsinom, % 2'si medüller karsinom, % 1'i papiller karsinom, % 1'inden azı metaplastik karsinom morfolojisindedir [12].

Tümörün %50'den fazlası spesifik tiplere uymuyorsa "İDK/NST (İDK/NOS)" şeklinde adlandırılır. Non-spesifik tümör (NST) % 50'den azsa tübüler, lobüler vb.

komponent de isimlendirmeye eklenir ve tümör mikst olarak kabul edilir [7]. Kombine tümörlerin çoğunda tübüler karsinom komponenti mevcuttur. İnvaziv lobüler karsinomla (İLK) birliktelik % 6 olarak bildirilmektedir. İDK/NST’de 30 yıllık sağkalım % 20’lerde iken tübüler, müsinoz, medüller, lobüler ve papiller karsinom gibi spesifik tiplerde % 60’lara ulaşmaktadır [12]. Mikst tümörlerde prognoz, baskın olan tip gibidir [3].

Medüller karsinom dışında, spesifik tip karsinomların çoğu orta derecede diferansiye, ER pozitif ve HER2 negatiftir. Bu olumlu prognoz, muhtemelen bu özelliklere sahip olmayan, bazı nadir spesifik tip karsinomlar için geçerli değildir [12].

Tablo 6: WHO-2003 sınıflamasına göre invaziv meme karsinomlarının histolojik tipleri [7].

İnvaziv Meme Karsinomları
• İDK (NST/NOS)
• İLK
• Tübüler karsinom
• İnvaziv kribriform karsinom
• Medüller karsinom
• Müsinöz (kolloidal) karsinom
• Nöroendokrin tümörler
• İnvaziv papiller karsinom
• İnvaziv mikropapiller karsinom
• Apokrin karsinom
• Metaplastik karsinom <ul style="list-style-type: none"> ○ Pür epitelyal metaplastik karsinom ○ Mikst epitelyal / mezenkimal metaplastik karsinom
• Lipidden zengin karsinom
• Sekretuar karsinom
• Onkositik karsinom
• Adenoid kistik karsinom
• Asinik hücreli karsinom
• Glikojenden zengin berrak hücreli karsinom
• Sebase karsinom
• İnflamatuar karsinom

2. Histolojik derece (grade): Tümörün histolojik derecesi hesaplanırken en sık “Nottingham Histolojik Skor (Modifiye Scarff-Bloom-Richardson Dereceleme Sistemi)” kullanılır [12]. Bu sistemde tübülüs yapımı, çekirdek pleomorfizmi ve mitoz sayısı değerlendirilir [78] (Tablo 7).

Mitoz sayısı hesaplanırken bazı noktalara dikkat etmek gerekir. Sayım 40’lık büyütmede tümör periferinden yapılmalı ve mitozun en çok görüldüğü yer esas alınmalıdır. Ayrıca her mikroskopta görülen alanın çapı farklı olduğundan kullanılan mikroskoba göre sayım

yapılmalıdır. Ellis ve arkadaşları farklı 26 mikroskopta görülen alana göre olması gereken mitoz sayısını belirlemişlerdir [3, 7].

Histolojik derecenin yüksek olması, LN tutulumu ve tümör çapından bağımsız olarak, uzak metastaz ve kısa sağkalım süresi ile ilişkilidir [7]. Histolojik derecenin prognoz üzerindeki etkisinin LN tutulumuna eşit ve tümör boyutundan daha fazla olduğu bulunmuştur [79].

Tablo 7: Modifiye Scarff-Bloom-Richardson Dereceleme Sistemi [78].

	Histolojik değerlendirme	Skor***
Tübülüs yapımı	Tümörün %75'inden fazlası	1
	Tümörün %10–75'i	2
	Tümörün %10'dan azı	3
Çekirdek pleomorfizmi	Küçük, düzgün, uniform çekirdek	1
	Çekirdek boyutunda hafif artış	2
	Çekirdek boyutlarında belirgin değişiklik	3
Mitoz (10 BBA) * (0,44 mm, 0,152 mm²)**	0–5	1
	6–10	2
	11 ve fazla	3

*BBA: Büyük büyütme alanı

**Mitoz sayısı kullanılan mikroskobun tipine göre değişmektedir. Tabloda Nikon Labophot marka mikroskop için kullanılan değerler gösterilmiştir.

*****Histolojik derece I** (toplam skor 3-5) iyi diferansiye, **histolojik derece II** (toplam skor 6-7) orta derece diferansiye, **histolojik derece III** (toplam skor 8-9) az diferansiye tümör olarak değerlendirilir.

3. Östrojen ve progesteron reseptörü (ER ve PR): Meme karsinomlarının %50–85'i ER eksprese eder ve genellikle postmenopozal kadınlarda daha sıktır. ER ve/veya PR ekspresyonu olgunun HT'den fayda göreceğini gösterir. ER ve PR'nin birlikte pozitif olduğu durumlarda HT'ye cevap verme şansı %80 iken, birinin pozitif olması halinde bu oran %40'tır. ER ve PR'nin birlikte negatif olduğu tümörler, HT'ye %10'dan daha az yanıt verme eğilimindedir [12].

4. HER2 (Human epidermal growth factor receptor 2): HER2 (c-erb B2) hücre kontrolünde çeşitli büyüme faktörleri için koreseptör görevi olan bir transmembran glikoproteinidir. Meme karsinomlarının %20–30'unda eksprese edilir. Olguların %90'ında overekspresyonu 17q21 üzerindeki gen amplifikasyonu ile ilgilidir. Bu İHK veya floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle tespit edilebilir. Çoğu çalışmanın sonucuna göre HER2

pozitifliği kötü prognozla ilişkili bulunmasına rağmen monoklonal antikor olan trastuzumab (Herceptin) tedavisine cevap şansı doğmaktadır [12].

5. Lenfovasküler invazyon (LVI): Artmış LN metastazı olasılığı ile ilişkili olup kötü bir prognostik faktördür. Tümör periferinde görülmesi anlamlıdır [12]. Sadece H&E kesitlerle değerlendirme yapıldığında invaziv karsinomların %15’inde lenfatik tümör trombüsü görülmektedir. Bunların çoğu aksiller metastazla gitmekle birlikte LN tutulumu negatif olguların %5-10’unda da lenfatik invazyon görülebilmektedir. Kan damarı invazyonu görülme sıklığı daha az olup H&E boyalı kesitlerde birbirinden ayrılmaları zor olduğu için, bazı araştırmacılar lenfatik ve kan damarı invazyonunu “lenfovasküler invazyon” olarak birlikte değerlendirmektedir [3].

6. Proliferasyon indeksi: Flow sitometri, timidin labeling indeks veya hücre siklusunda salınan proteinlerin (örn. siklinler, Ki67) İHK olarak tespit edilmesiyle ölçülebilir. Proliferasyon hızının yüksek oluşu kötü prognostik faktördür [12]. ER-PR negatif olgularda Ki67 indeksi yüksek olup kısa sağkalım süresi ile ilişkilidir [3]. Siklin D1 amplifikasyonu meme tümörlerinin %15–20’sinde mevcut olup kötü prognozla ilişkilidir [7].

7. DNA içeriği: Anöploid tümörler diploid olanlara göre daha kötü prognozludur [12]. Anöploidi kısa sağkalım süresi, ER negatifliği ve yüksek histolojik derece ile ilişkilidir [3]. Meme karsinomlarının yaklaşık %25’inde Tp53 mutasyonları mevcut olup bu olgular genelde tedaviye yanıt vermezler ve sağkalım süreleri kısadır [7].

8. Neoadjuvan tedavi cevabı: Çoğu hasta cerrahiye takiben adjuvan tedavi alır. Neoadjuvan tedavi ise hastanın cerrahiden önce tedavi edildiği alternatif bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım yaşam süresini artırmamakla birlikte, tümörün KT’ye cevap derecesi güçlü bir prognostik faktördür. Tedaviye en iyi yanıt veren kanserler kötü diferansiye, ER negatif ve nekroz alanlarına sahip olanlardır. Patolojik tam yanıt veren (meme veya LN’lerinde rezidüel kanserin saptanmadığı) hasta alt grubu, grubun tümünde gözlenen kötü prognozun aksine, %95’den fazla uzun dönem yaşam süresine sahiptir [12].

9. Gen ekspresyon profili (GEP): GEP’nin çıkarılmasının yaşam süresi, rekürrensiz dönemi öngördüğü gösterilmiştir ve hatta çeşitli KT uygulamalarından fayda görebilecek hastaları da tanımlamaktadır. Hızlı dondurulmuş doku gerektiren yöntemlerin klinik pratikte uygulanması zordur. Ancak formalin ile fikse edilmiş, parafine gömülü dokuları kullanan alternatif yaklaşımlar, klinik uygulamaya girmeye başlamaktadır. GEP’ler, karsinomlar hakkında çok kapsamlı bilgiler sağlamakla birlikte en önemli prognostik faktörlerden ikisi olan tümör büyüklüğü veya LN durumuyla çok da uyumlu değildir [12].

2.C.4. MEME KANSERLERİNDE MOLEKÜLER SINIFLAMA ve PROGNOSTİK ÖNEMİ

Meme kanseri; morfolojik, prognostik ve tedaviye cevap açısından oldukça heterojen bir hastalık olup bu heterojenite nedeni olarak tümörün köken aldığı hücrelerdeki farklılık, farklı onkogen aktivasyonu ve/veya tümör supresor gen fonksiyon kayıplarındaki değişik kombinasyonlar suçlanmaktadır. Fakat uzun süre morfoloji temelli bir klasifikasyon temelinden hareket edilmiştir.

Son 10 yılda moleküler çalışmalar hız kazanmış cDNA mikroarray yöntemi ile binlerce genin eş zamanlı olarak değerlendirilmesi imkanı doğmuştur. Tümör dokusu örneklerinden GEP çıkarılarak meme kanserlerinde yeni moleküler klasifikasyona gidilmiştir.

Sporadik meme kanserleri arasında gen ekspresyon farklılıklarını belirleyen ilk kapsamlı ve çığır açan girişim, 2000 yılında Perou ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilerek meme tümörleri dört ana gruba ayrıldı: 1) Lüminal hücre benzeri, 2) Bazal hücre benzeri, 3) Normal epitel benzeri, 4) HER2 pozitif grup [80].

Sonraki çalışmalarda lüminal hücre benzeri grup içinde lüminal A ve lüminal B olmak üzere 2 alt grup daha tanımlandı [81, 82] (Şekil 18). Meme kanserinin bu alt moleküler gruplarının ekspresyon farklılıkları doğrulandı [81, 83-86].

Lüminal: En büyük gruptur. ER pozitifdir ve normal lüminal hücrelerin özellikleri olduğu düşünülen genlerin artmış transkripsiyonunu gösterirler. Lüminal A'da ER ile ilişkili genler daha fazla eksprese edilirken, lüminal B'de proliferatif genlerin ekspresyonu daha fazladır ve genellikle HER2 ekspresyonu yüksektir. Lüminal A, postmenopozal kadınlarda sıktır, genellikle iyi ve orta düzeyde diferansiye olup yavaş büyürler ve HT'ne iyi yanıt verirler. Lüminal B tipi kanserlerin ise LN metastazı eğilimi vardır [12].

Bazal benzeri: Üçlü negatif (ER/PR negatif, HER2 negatif) tümörler olup, myoepitelyal hücre ve kök (progenitör) hücre belirteçlerinin (ör: CK5/6, CK14, CK17, p-kaderin, p63, laminin) ekspresyonu yüksektir [12]. Bazal benzeri karsinomların %5-45'inde ER pozitifliği bildirilmiştir [87]. Genellikle yüksek proliferasyon hızı ve yüksek histolojik dereceye sahip, sık visseral organ ve beyin metastazının görüldüğü kötü prognozlu tümörlerdir. Ancak %15-20'si KT'ye tam patolojik yanıt verir ve bu grupta şifa (kür) mümkün olabilir. Bazı etnik gruplarda ve genç kadınlarda insidansları artar. Ayrıca BRCA1 gen mutasyonu olan çoğu karsinom bazal benzeri tiptedir [12]. Çoğu İDK (%80.9), bir kısmı metaplastik ve tükrük bezi benzeri yapıdadır [88]. Medüller karsinom ve adenoid kistik karsinom bu gruptadır. Bazal hücre benzeri grubun heterojen olduğu ve alt gruplara bölünebileceği düşünülmektedir [12]. Metaplastik meme kanserlerinin moleküler olarak heterojen (diğerlerinden farklı) olduğu,

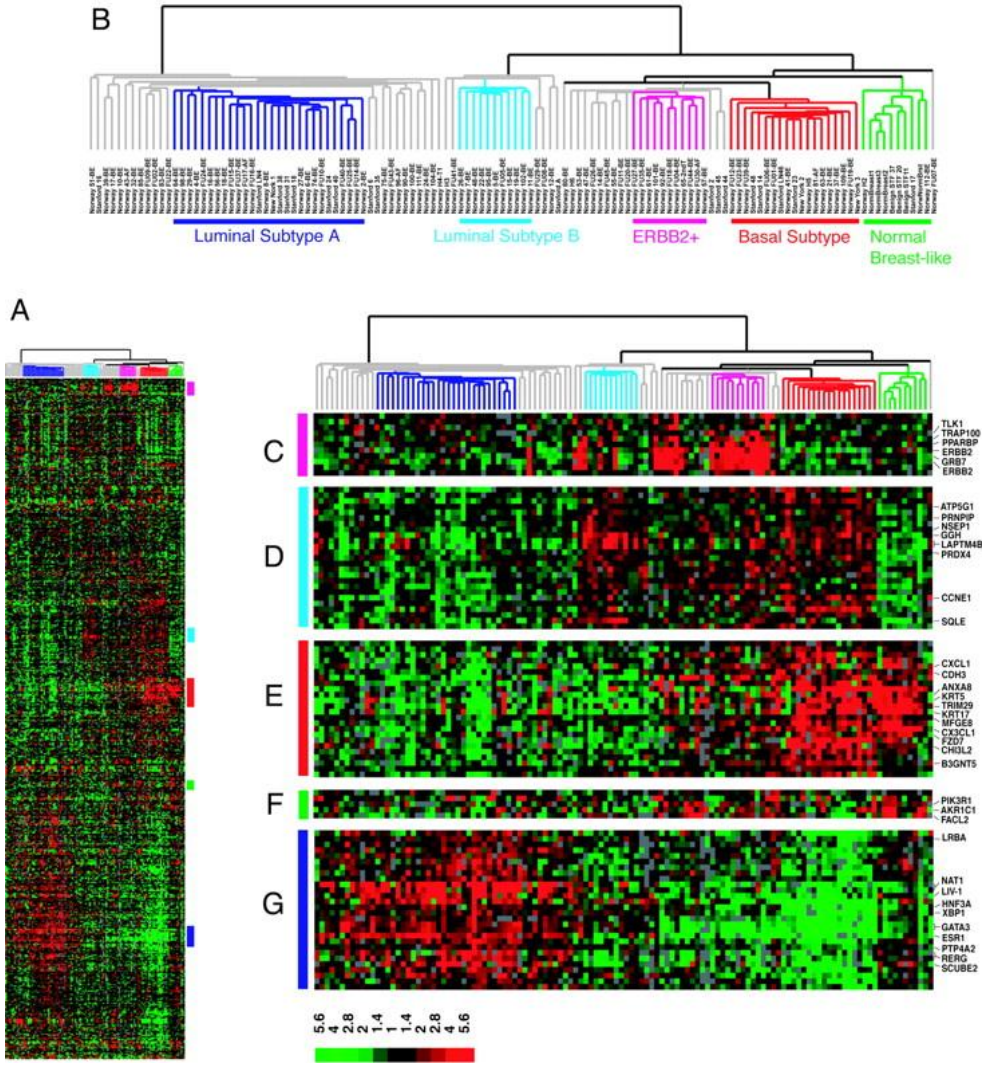
bazal benzeri grupta olmadığını savunan yayınlar vardır [22]. “Claudin low” tümörler insan ve fare modellerinde nadir görülen bir alt tiptir; claudin-3, claudin-4, e-cadherin, EpCAM ve mucin-1’in ekspresyon yokluğu ile karakterizedir. Metaplastik meme kanserleri ve ”claudin low” tümörlerin gen ekspresyon paternleri birbirine benzer, bu tümörlerin muhtemelen lüminal ve bazal benzeri tümörlerden daha primitif mezenkimal bir hücreden köken aldığı düşünülmektedir [21].

HER2 eksprese eden: HER2 onkogen ekspresyonu yüksek olup, ER negatif tümörlerdir. Genellikle kötü diferansiyedirler ve yüksek proliferasyon hızları vardır. Beyin metastazı sık görülür [12]. HER2 reseptörü pozitif olanların büyük kısmı, HER2 genetik alt tipine değil lüminal B alt tipine girer. Lüminal A tümörlerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha fazla grade 3 tümör bu grupta yer alır ve daha sık aksiller LN metastazı izlenir [89]. Ancak hedefe yönelik (anti-HER2) tedaviye iyi yanıt verirler.

Normal meme benzeri (null tip): Gen ekspresyon biçiminin normal dokuya benzerliği ile karakterizedir. Özgün bir tümör ekspresyon biçimi olup olmadığı henüz belli değildir [12].

Bu moleküler alt tiplerin prognostik açıdan birbirlerinden önemli farkları olduğu gösterilmiştir. Bazal-benzeri ve HER2 eksprese eden tip prognozu en kötü olan gruplar iken lüminal A en iyi prognozlu alt tiptir. Normal meme benzeri tipteki tümörlerin bazal benzeri olanlara göre, lüminal A tipindekilerin ise lüminal B’ye göre daha iyi prognoz gösterdikleri bildirilmektedir [81, 82]. Lüminal A tümörler için sadece endokrin tedavi yeterli olabilir. Ancak lüminal B’ler için endokrin tedaviye ek olarak HER2 spesifik tedavisi (trastuzumab ve/veya lapatinib) ve KT önerilmektedir. HER2 eksprese eden tip için HER2 spesifik tedavisi ve KT önerilirken, bazal benzeri tip için sadece KT önerilmektedir [90, 91].

Mikroarray çalışmaları başlıca İDK (NST)’a odaklanmıştır. Meme kanserlerinin spesifik tiplerinin kısmen nadir olmasına bağlı olarak histolojik tipin ortaya koyduğu biyoloji ve klinik davranış fazla dikkate alınmamıştır. B.Weigelt ve Reis-Filho ile arkadaşları çeşitli histolojik alt tiplerin intrinsik ve histolojik tiplemesi arasındaki uyumlara bakan bir dizi çalışma yaptılar [92, 93]. İnvaziv meme karsinomları GEP’lerine göre sınıflandığında, İDK/NST tüm moleküler kanser alt tiplerini içerir. Tübüler, müsinöz ve nöroendokrin spesifik tipleri, lüminal alt tipiyle uyumludur. İnvaziv lobüler ve mikropapiller karsinomlar da genellikle lüminal alt tipin içindedir. Apokrin karsinom ve pleomorfik karsinom, “apokrin alt tip” denilen ayrı bir grup içinde toplanır. Adenoid kistik ve medüller karsinom bazal benzeri karsinomun içinde kategorize edilmişlerdir. Metaplastik karsinomlar ise bazal benzeri alt tip veya claudin-low moleküler alt tipin içinde olabilir [94].



Şekil 18: 115 tümör dokusu ve 7 non-malign dokudan alınan “intrinsic” gen seti (mRNA ekspresyon profilleri). **A.** 534 gen ve 122 doku örneğinden oluşan gen ekspresyonu skalası (Her dikey sütun bir doku örneğini, her yatay sütun bir genden elde edilen veriyi temsil eder) **B.** Tümörün 5 alt grubunun şemasal gösterimi **C.** HER2 (c-erb B2) onkogeni ile ilişkili gen demeti **D.** Lüminal B alt tip ile ilişkili gen demeti **E.** Bazal alt tip ile ilişkili gen demeti **F.** Normal meme benzeri grup ile ilişkili gen demeti **G.** Yüksek derecede ER’nin eksprese edildiği lüminal A alt tipi ilişkili gen demeti. Standart ile karşılaştırıldığında kırmızı renk mRNA’da artışı, yeşil renk azalmayı, siyah renk değişim olmadığını gösterir. [81] numaralı kaynaktan alınmıştır.

Prognostik açıdan önemleri anlaşıldıktan sonra moleküler alt tipleri daha kolay ve ucuz yolla tespit edebilmek amacıyla İHK çalışmalar yapılmış, eş zamanlı DNA mikroarray yöntemi ile karşılaştırılarak sınıflamada kullanılabilecek en uygun antikorlar belirlenmeye çalışılmıştır. Gerek DNA mikroarray, gerekse İHK çalışmalarda sınıflamanın temelini ER ve HER2 pozitifliği oluşturmaktadır. Sadece ER, PR ve HER2’yi kullanarak sınıflama yapan araştırmacılar; ER ve/veya PR pozitifse “lüminal A”, ER ve/veya PR ile birlikte HER2 pozitifse “lüminal B”, sadece HER2 pozitifse “HER2 eksprese eden tip”, her üç belirleyici de negatifse (triple negatif) “bazal-benzeri tip” olarak kabul etmişlerdir [76, 95]. Ancak genellikle bazal benzeri grubu lüminal gruptan ayırmak için çeşitli myoepitelyal belirteçler

kullanılmıştır; bunlar içinde en yararlı olanları CK 5/6 ve EGFR'dir [96]. ER, PR, HER2, EGFR ve CK5/6 den oluşan beşli panel bazal benzeri meme kanserini ER, PR ve HER2'dan daha spesifik olarak tanımlar ve beklenen yaşam süresini daha iyi tahmin etmeyi sağlar [97]. ER, HER2, EGFR ve CK5/6 den oluşan dördü panelin bazal benzeri fenotipi tanımlamada özgüllüğü (spesifitesi) %100, duyarlılığı (sensitivitesi) %76 bulunmuştur [98]. Farklı sınıflandırmalarda, antikor ekspresyonu olmayan olgular birçok araştırmacı tarafından null tip olarak kabul edilmektedir [13, 97, 99-101]. Null tipin ayrı bir grup olmadığını, myoepitelyal belirteçleri fokal ya da zayıf eksprese eden bazal benzeri tümörler ve yeterli ER ekspresyonu gösteremeyen lüminal tipteki tümörlerden oluştuğunu, veya teknik aksaklıklar nedeniyle boyanamayan tümörlerin de bu grupta yer aldığını düşünen araştırmacılar da vardır [98]. Yakın zamana kadar İHK olarak en kabul edilebilir moleküler sınıflama **lüminal A** (HR pozitif, HER2 negatif), **lüminal B** (HR pozitif, HER2 pozitif), **HER2 eksprese eden tip** (HR negatif, HER2 pozitif), **bazal benzeri tip** (HR negatif, HER2 negatif, en az bir bazal belirleyici pozitif) ve **null tip** (HR negatif, HER2 negatif, bazal belirleyiciler negatif) şeklindeydi [97, 99, 101]. Ancak ER pozitif tümörlerdeki mevcut sınıflamaların tedaviye cevabı yeterince öngöremeyişi ve alt tiplerin klinik yansımalarının farklı olması nedeniyle doğru sınıflandırma için yeni arayışlar içine girilmiştir. Sonuçta lüminal A ve lüminal B alt tiplerinin ayırımında Ki67 için bir eşik (cut off) değeri belirlenmiş ve ER pozitif tümörler için yeni bir sınıflama önerilmiştir. Buna göre eşik değeri değişebilmekle birlikte, Ki67 proliferasyon indeksi %14 veya üstünde olan ER ve/veya PR pozitif tümörler de lüminal B alt tipi içine alınmıştır [90]. Gen ekspresyonlarıyla karşılaştırıldığında İHK olarak lüminal A ve lüminal B'nin bu şekilde ayırımının %77 duyarlılık (%95 CI) ve %78 özgüllük (%95 CI) ile suboptimal doğruluğu gösterilmiştir [102]. Ayrıca üçlü negatif ve bazal benzeri meme kanserleri yaklaşık %80 oranında örtüşse de, medüller ve adenoid kistik karsinoma gibi uzak metastaz riski düşük, prognozu iyi olan bazı üçlü negatif spesifik histolojik tipleri bazal benzeri tümörlerden ayırmada CK 5/6 ve EGFR'nin yetersiz kaldığı söylenmektedir [90].

Moleküler alt tiplendirme dışında prognoza ve tedaviye yönelik farklı İHK çalışmaları da yapılmaktadır. Androjen reseptörü (AR) daha iyi prognozla ilişkili önemli bir belirteçtir ve özellikle ER negatif meme kanserlerinin tedavisinde hedef olarak kullanılabilir [103]. Tavassoli ve arkadaşları tümör gelişiminde etkinliği bilinen 15 çeşit İHK antikor kullanarak yaptıkları bir çalışmada %92,34 ve %89,8 oranında prediktivite bulmuşlardır [104]. Oncotype DX, 21 genin RT-PCR ile incelendiği bir testtir. Bu şekilde ER pozitif, LN metastazı olmayan hastalarda rekürrens ihtimalleri derecelendirilir. Yapılan bir çalışmada ER, PR, HER2 ve Ki67 kullanılarak, Oncotype-DX ile benzer sonuçlar elde edilebilmiştir [105].

3. MATERYAL METOD

3.1. Vaka Seçimi

Bu çalışmaya Aralık 2005 ile Mart 2011 yılları arasında Yeditepe Üniversite Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 46 invaziv meme karsinomu (İMİK) hastası dahil edilmiştir. Vakaların hepsi kadın olup tüm hastalara sentinel LN veya aksiller LN diseksiyonu yapılmıştır. Vakaların hepsinde tümör boyutu en az 0.8 cm çapındadır. Vakaların 40'ı neoadjuvan tedavi almamış (Grup 1), 6'sı neoadjuvan tedavi almış (Grup 2) hastalardan oluşmaktadır. Redüksiyon mammoplasti uygulanan 6 hasta ise kontrol grubu olarak alınmıştır (Grup 3). Kontrol vakalarının histopatolojik incelenmesinde sadece fibrokistik değişiklikler mevcut olup, premalign veya malign lezyon izlenmemiştir.

3.2. Klinik ve Histopatolojik Bulguların Belirlenmesi

46 adet İMİK vakasına ait H&E boyalı lamalar patoloji raporlarıyla birlikte tekrar gözden geçirildi. Hastaların tanı anındaki yaşları, tümörün lokalizasyonu, tümör odağı sayısı, en büyük tümör çapı, histolojik tipi, histolojik derecesi, toplam ve pozitif aksiller LN sayısı, lenfovasküler ve perinöral invazyonun olup olmadığı, cerrahi sınır durumu, in situ karsinom ve yaygın in situ karsinom varlığı, nekroz oranı, tümöre karşı iltihabi ve stromal yanıtın derecesi, meme başı, meme derisi ve çevre memede görülen değişiklikler kaydedildi. Ayrıca hastalar İHK olarak moleküler alt tiplere ayrıldıktan sonra yaş, ailede kanser öyküsü, histolojik tip, histolojik derece, tümör büyüklüğü, evre, LN ve uzak metastaz durumu, Ki67 ve p53 oranları açısından karşılaştırıldı. Hastaların histopatolojik değerlendirmesi WHO-2003 sınıflamasına göre yapıldı [7]. Histolojik derecelendirme için "Modifiye Scarff-Bloom-Richardson Derecelendirme Sistemi" kullanıldı [7]. Tümör büyüklükleri ve LN metastazı değerlendirmeleri, 2010-AJCC TNM sınıflaması esas alınarak yapıldı [5]. Çevre memede görülen değişiklikler non-proliferatif meme değişiklikleri (fibrokistik değişiklikler, hafif hiperplazi, fibroadenom), atipisiz proliferatif hastalık (orta veya ağır derecede hiperplazi, sklerozan adenozis, intraduktal papillom, kompleks fibroadenom, radyal skar), atipili proliferatif hastalık (atipik duktal ve atipik lobüler hiperplazi) ve in situ karsinom olacak şekilde ayrıldı [12].

Her olgunun "Hastane İşletim Sistemi" içindeki bilgileri taranarak malignite açısından hastanın aile öyküsü, lokal nüks ve uzak metastaz durumu, evresi, adjuvan ve neoadjuvan aldığı tedaviler, postoperatif takip süresi ve takip şekli belirtildi. Evrelendirmede AJCC 2010 sınıflamasındaki ölçütler esas alındı [5].

3.3. Hastaların Postoperatif Takibi

Çalışmamıza dahil edilen 38 hasta Yeditepe Üniversite Hastanesi Medikal Onkoloji Kliniği ve/veya Genel Cerrahi Kliniği tarafından takip edilmiştir. İlk kontrollerinde hastaların genel muayene, evrelendirme ve tedavi planları yapılmıştır. KT alan hastalar, tedavi süresince kısa aralıklarla kontrol edilirken; KT ve/veya radyoterapi (RT) sonrası genel değerlendirme yapılan hastalar, hasta remisyonunda ise ilk yıl 2-3 ayda bir, daha sonra ilk beş yıl altı ayda bir, beş yıldan sonra ise yılda bir kez kontrole çağrılmışlardır. Kontrollerinde meme ve genel muayene dışında, rutin kan tetkikleri, meme ve aksiller ultrasonografi, akciğer grafisi ve batin ultrasonografisi istenmiştir. Gerektiğinde kemik sintigrafisi, PET/CT (positron emission tomography/ computed tomography) ve kemik mineral dansitometresi yapılmıştır.

Hastalardan sekiz tanesinin postoperatif takipleri hastanemiz dışında yapılmıştır. Bu hastalardan altısının postoperatif klinik bilgileri takip eden doktorlarından alınmıştır. Yurtdışında yaşayan iki hastanın postoperatif takip bilgileri ise elde edilememiştir.

3.4. İmmünohistokimyasal Çalışma Yöntemi

Grup1, Grup 2 ve Grup 3'deki tüm vakalara CD31 ve D2-40 İHK boyaması yapıldı. Grup 1 ve Grup 2'de daha önce patoloji raporlarında ER ve PR ve HER2 negatif olarak belirtilen üçlü negatif olgulara CK 5/6 ve EGFR uygulandı. Ayrıca arşivde Ki67 ve p53 İHK lamları bulunmayan olgulara Ki67 ve p53 boyaları çalışıldı.

İHK çalışma streptavidin-avidin-biotin yöntemiyle yapıldı. %10'luk formaldehit ile fikse edilmiş, parafin bloklara gömülü dokulardan yapılan 3 µm kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Lamlar bir gece önceden 56°C'ye ayarlanmış etüve konuldu. Ertesi gün şalelere alınan lamlar 3 kez 5'er dakika ksilende tutularak deparafinizasyon tamamlandı. Ardından sırasıyla 3 kez 5'er dakika absolü alkol (% 99'luk alkol), 3 kez 5'er dakika %96'luk alkolde bekletildi ve distile suya alınarak rehidratasyon sağlandı. Daha sonra antijen retrieval aşamasına geçildi. Lamlar CK5/6, CD31 ve D2-40 için %10'luk EDTA, Ki67 ve p53 için %10'luk sitrat buffer solüsyonuna alınıp hızlı doku takip (RHS) cihazında 20 dakika kaynatıldı. İşlem sonunda 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı. Daha sonra bütün lamlar distile suda yıkandıktan sonra kenarları kurulandı ve kesitlerin etrafı hidrofobik kalem (pappen) ile çizilip nem kabini/inkubasyon kabinine (humidity chamber) dizildi. Her dokunun üzerine hidrojen peroksit damlatılıp 10 dakika beklenerek endojen peroksidaz blokajı sağlandı. EGFR'nin antijen retrieval aşaması için hidrojen peroksit aşamasından sonra oda ısısında 15 dakika proteolitik enzim (carezyme III pronase) uygulandı. Bu süre sonunda bütün lamlar 2 kez 3'er dakika, içinde TBS (tris buffered saline) solüsyonu bulunan şalelerde

yıkandı. Tekrar nem kabinine dizilen lamlara 5 dakika protein blokajı (super blok/UV blok) uygulandı. Sonra silkelenerek primer antikorlar damlatıldı (CD31, CK5/6, EGFR, Ki67 ve p53 kullanıma hazır formdaydı. D2-40'a 1:100 oranında dilüsyon uygulanılarak kullanıldı) (Tablo 8). Kesitlerin yüzeylerinin kurumamasına ve nemli kalmasına dikkat edilerek oda ısısında inkübasyona bırakıldı (CK5/6 için 45 dakika, CD31, EGFR, Ki67 ve p53 için 1 saat, D2-40 için 1,5 saat). İnkübasyon sonunda lamlar, içinde TBS bulunan şalelere alınıp yıkandı. Daha sonra lamlar nem kabinine konularak sekonder antikor damlatıldı (anti-polyvalent biotinylated antibody) 10 dakika bekletilip, TBS solüsyonunda yıkandı. Tekrar nem kabinine konularak konjuge antikor (streptavidin peroksidaz) damlatıldı. 10 dk bekletildikten sonra sürenin bitiminde dokular tekrar TBS solüsyonunda yıkanıp ardından kromojen solüsyonu (Diaminobenzidin, DAP) damlatıldı. Yaklaşık 5 dakika (kesitlerde mikroskopik olarak kahverengi renk değişikliği görülünceye kadar) bekletilip lamlar distile su ile yıkandı. Ardından Mayer's hematoksilin ile 2 dakika karşıt (kontrast) boyama yapıldıktan sonra distile su ile yıkandı. Lamlar alkolden geçirilerek kuruduktan sonra kapama solüsyonu (consult-mount) ile kapatılarak ışık mikroskobunda değerlendirmeye hazır hale getirildi.

Tablo 8: İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorların özellikleri

Antikor	Klon	Konsantrasyon	Ürün Markası	Pozitif Kontrol
ER	ID5	Kullanıma hazır	GENEMED	Normal meme
PR	Y85	Kullanıma hazır	GENEMED	Normal meme
HER2	EP1045Y	Kullanıma hazır	BIOCARE	Meme kanseri
Ki67	GM010	Kullanıma hazır	GENEMED	Tonsil
P53	Bp53-12	Kullanıma hazır	SCYTEK	Kolon karsinomu
CD 31	JC/70A	Kullanıma hazır	SCYTEK	Plasenta
D2-40	D240	1:100	BIOCARE	Meme ve kolon karsinomu
CK5/6	CK5/6.007	Kullanıma hazır	BIOCARE	Deri
EGFR	H11	Kullanıma hazır	BIOCARE	Deri

3.5. İmmünohistokimyasal Çalışmanın Değerlendirilmesi

Yeni çalışılan İHK boyamalar (CD31, D2-40, CK5/6 ve EGFR) ile birlikte arşivde vakalara ait daha önce raporlanmış ER, PR, HER2, Ki67 ve p53 boyamaları da tekrar değerlendirildi. Değerlendirmeler Olympus BX 51 ışık mikroskopunda 400x (40x objektif lens, 10x oküler lens, 0.237 mm²) büyütme kullanılarak yapıldı. Her olgu için her bir antikorun pozitifliği veya negatifliği belirlendi. ER ve PR için hem boyanma şiddetinin hem de boyanma oranının birlikte değerlendirildiği Allred skorlama sistemi kullanıldı [106, 107] (Tablo 9); %1'in altında hafif şiddetteki boyanmalar negatif olarak kabul edildi [108, 109]. Buna göre olgular negatif (toplam skor 0, 2), zayıf derecede pozitif (toplam skor 3, 4), orta derecede pozitif (toplam skor 5, 6), şiddetli derecede pozitif (toplam skor 7, 8) boyanmanın olduğu 4 gruba ayrıldı. HER2 için tümör hücrelerinin en az %30'unda kuvvetli komplet membranöz boyanma (skor 3) pozitif olarak değerlendirildi [110]. Bazal belirteç olarak çalışılan CK5/6 için tümör hücresinde sitoplazmik boyanma, EGFR için ise membranöz boyanma pozitif kabul edildi. Ki67 proliferasyon indeksini belirlemek için; "Uluslararası Meme Kanseri Çalışma Grubu" nun 2010'da önerdiği şekilde tümör periferinden 500 hücre sayıldı [111]. Elde edilen değerler Ki67 proliferasyon indeksi düşük (%20'nin altı), yüksek (%20-70 arası), çok yüksek (%70'in üstü) olacak şekilde üç gruba ayrıldı; p53 ekspresyonu gösteren olgular da aynı şekilde gruplandırıldı.

Tablo 9: Allred skorlama sistemi (A. Boyanma oranı, B. Boyanma şiddeti)

A.Boyanma oranı (%)	Skor*
0	0
< 1	1
1-10	2
11-33	3
34-66	4
67-100	5

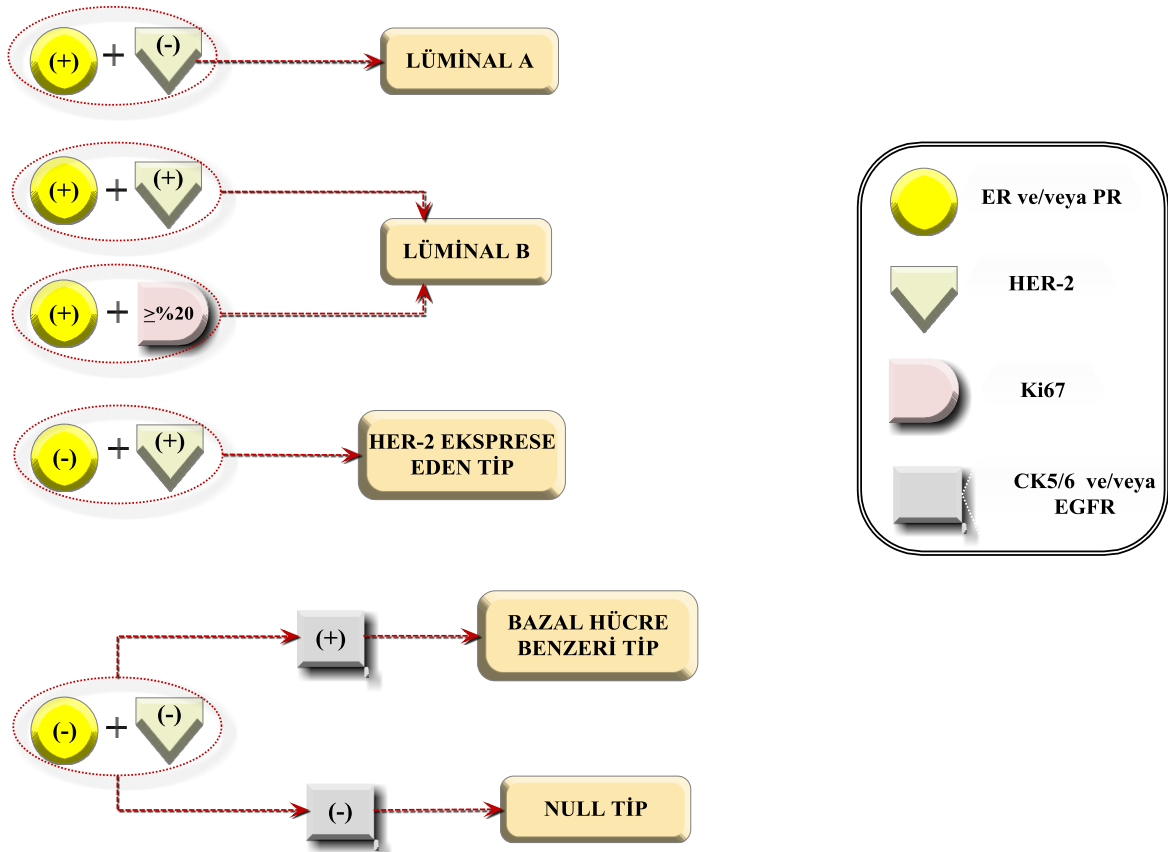
B.Boyanma şiddeti	Skor*
Zayıf	1
Orta	2
Şiddetli	3

* Boyanma oranı ve boyanma şiddeti skorlarının toplanmasıyla **toplam skor** elde edilir; toplam skor 0-8 arasında değişir.

3.6. İmmünohistokimyasal Boyanma Sonuçlarına Göre Vakaların Moleküler Alt Tiplere Ayrılması

Hastaları İHK boyanma özelliklerine göre moleküler alt tiplere ayırmak için ER, PR, HER2, EGFR, CK5/6 ve Ki67'den oluşan panel kullanıldı [90, 102].

Hastalar öncelikle HR (+) ve HR (-) olarak iki gruba ayrıldı. ER ve/veya PR pozitif olan olgular HR (+) kabul edildi ve lüminal grup olarak sınıflandı. Bunların içerisinde sadece HR eksprese edenler "lüminal A"; hem HR hem HER2 (+) olan veya HR (+) ve Ki67 proliferasyon indeksi \geq %20 olan olgular ise "lüminal B" olarak gruplandı. HR (-) olan ancak HER2 (+) olgular "HER2 eksprese eden tip" olarak ayrıldı. HR ve HER2 negatif (üçlü negatif) olgularda, CK5/6 ve EGFR'den en az biri ile pozitiflik gösterenler "bazal hücre benzeri (bazal-like) tip" olarak sınıflandı. Tüm antikorlarla negatif olan olgular ise "normal meme benzeri (null tip)" olarak kabul edildi (Şekil 19).



Şekil 19: İHK boyanma sonuçlarına göre olguların moleküler alt tiplerine ayrılmasının şematik görünümü.

3.7. Damar Sayım Yöntemi

Önce Grup 1 ve Grup 2'deki hastalara ait arşivdeki tümör içeren tüm H&E boyalı lamalar tarandı. Tümör boyutunun en büyük olduğu ve çevre dokunun en fazla görülebildiği bloklar İHK boyamalar için seçildi. Gerektiğinde (küçük tümör, yetersiz peritümöral doku vb) birden fazla blok kullanıldı. Seçilen bloklara hem CD31 hem de D2-40 İHK boyamaları yapıldı. Teknik sorunlar olduğunda boyamalar tekrarlandı.

Damar sayımları Yeditepe Üniversitesi Analiz Laboratuvarı'nda bulunan sitoloji iş istasyonunda (Stereological Workstation), The Stereo Investigator Version 7.5 (Microbrightfield, Colchester, VT, USA) Programı kullanılarak yapıldı. Bu sistem ile, Leica DM4000B ışık mikroskopunda x4'lük objektif için görülen alanın 37.75 katı büyütülmüş halini, bilgisayarda ölçümler için kullanılan video görüntüsüne yansıtılmak mümkündür. Kullanılan yarı otomatik sitoloji iş istasyonu şu alt birimlerden oluşmaktadır:

- CCD dijital kamera (Optronics Microfire 1600x1200P, Goleta, CA, USA)
- İmaj yakalama kartı (ATI FireGL Advance Micro Device, Camberly, UK)
- Bilgisayar ve bilgisayar tarafından kontrol edilen motorize örnek evreyici (Bioprecision, Howtrone, NY, USA)
- Mikrokatör (Heidenhein, Traunreut, Germany)
- Işık mikroskobu (Leica DM 4000B, Wetzlar, Germany)

Grup 1 ve Grup 2'deki damar sayımları için CD31 ve D2-40 İHK boyamasına ait lamalar önce küçük büyütmede (x40) tarandı. Sonra 10'luk objektifde (x100) tüm alanın tamamına yakınında tümör içi, tümör sınırı ve tümör dışında ayrı ayrı ölçümler yapıldı. Bunun için bir kenarı 500 mikron olan kareler kullanıldı. Ölçüm yapılan alanlarda tümör içi, tümör sınırı ve tümör dışında damar yoğunluğunun en fazla olduğu dörder kare seçildi. Bu dört karedeki damar sayımları toplandığında 1milimetrekaredeki damar sayısı elde edilmiş oldu. Elde edilen değerler, hem CD31 hem de D2-40 için tümör içi & sınırı & dışı olarak ayrı ayrı kaydedildi. Ayrıca Grup 1'deki 8 hastada tümör dışında, adenozis çevresi alanlarda damar yoğunluğu ölçümleri yapıldı. Kontrol grubunda (Grup 3) adenozis çevresi ve adenozis dışı alandaki damar yoğunlukları da aynı yöntemle sayıldı.

3.8. Damar Sayımlarına Ait Ölçümlerin Değerlendirilmesi

CD31 kan damarı endoteline orta düzeyde spesifikken, D2-40 lenf damarı endotelini oldukça spesifik olarak boyar [112]. D2-40, lenfatik damarların endotel hücrelerini boyadığı halde, kan damarlarının endotel hücrelerini boyamaz (Fotoğraf 2). CD31 ise genellikle lenf damarı endotelini boyamaz (Fotoğraf 1). Bu nedenle CD31 çalışılan kesitlerdeki boyanan damarlar kan damarı, D2-40 çalışılan kesitlerde boyanan damarlar lenf damarı olarak sayıldı. Elde edilen sayımlardan bir milimetrekaredeki mikrovasküler damar yoğunluğu (MDY) ve lenfatik damar yoğunluğu (LDY) hesaplandı.

Damar yoğunluğu ortalamaları tüm gruplarda ölçüldü. Ancak damar yoğunluklarını (MDY) ve LDY), klinik ve histopatolojik bulgularla karşılaştırmak için yalnız neoadjuvan tedavi almamış hasta grubunu (Grup 1) kullandık.

3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma) yanısıra paired sample t-test, independent sample t-test, Anova ve Chi-square testlerinden oluşan hipotez testleri ve korelasyon analizi gerçekleştirildi. Damar yoğunluklarının birbirleriyle karşılaştırılmasında paired sample t-test, independent sample t-test ve korelasyon analizi yapıldı. Diğer karşılaştırmalarda ise Anova ve Chi-square testleri kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Vakaların yaş ortalaması ve yaş dağılımı

Bu çalışmada toplam 46 adet İMK vakası ve 6 adet kontrol vakası incelendi. Grup 1 (neoadjuvan tedavi almayan hastalar), Grup 2 (neoadjuvan tedavi almış hastalar), Grup 3 (kontrol grubu) ve Grup1+2 (tüm hastalar)'nin yaş ortalaması ve vaka sayıları aşağıdaki tabloda verilmektedir (Tablo 10).

Tablo 10. Gruplara göre vaka sayıları ve yaş ortalamaları

GRUPLAR				
	Grup 1	Grup 2	Grup3	Grup 1+2
Vaka sayısı	40	6	6	46
Vakaların yaşları	53,87±15,49	56,50 ±13,57	44±4,19	54,22±15.14

Tüm hastalar (Grup 1+2) değerlendirildiğinde yaş dağılımı 27 yaş ile 84 yaş arasında bulundu. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 11).

Tablo 11. Tüm hastaların (Grup 1+2) yaşa göre dağılımları

Hasta dağılımı	Hasta sayısı n (%)	Hasta dağılımı	Hasta sayısı n (%)
≤ 40 yaş	8 (%17,39)	< 40 yaş	8 (%17,39)
41-50 yaş	12 (%26,08)	40-60 yaş	25 (%54,34)
51-70 yaş	16 (%34,78)	> 60 yaş	13 (%28,26)
≥ 70 yaş	10 (%21,74)		

4.2. Ailede kanser öyküsü

Hastaların %69,56'sında (n=32) meme kanseri öyküsü saptanmazken, ailede meme kanseri öyküsü olanların toplam oranı %30,43(n=14) bulundu. Tüm hastalar (Grup 1+2) için 1. derece (anne, baba, çocuklar ve kardeşler) veya 2. derece (torunlar, büyükbaba, babaanne, anneanne) akrabalarında meme kanseri öyküsü olan 9 hasta, 3. derece (kardeş çocukları, hala, teyze, amca, dayı) veya daha uzak akrabalarında meme kanseri öyküsü olan 5 hasta, ailede meme kanseri dışında kanser öyküsü olan 10 hasta saptandı. 22 hastada ise ailede herhangi

bir kanser öyküsü bulunmuyordu. Hastalardan 2'sinin babasında meme kanseri öyküsü vardı. Hastaların aile öyküsü ile yaşları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,067) (Tablo 12).

Tablo 12. Tüm hastalarda (Grup 1+2) aile öyküsü ile yaş arasındaki ilişki

Ailede Kansere Öyküsü	Hasta Sayısı	Yaş	p değeri
Yok	22 (%47,82)	59,86±14,09	
Meme Ca dışında Ca (+)	10 (%21,73)	46,60±15,46	0,067
≥ 3.derece akrabalarda meme Ca (+)	5 (%10,86)	53,22±15,14	
1-2. derece akrabalarda meme Ca (+)	9 (%19,56)	46,80±10,59	

Bu çalışmadaki en genç yaşta meme kanseri tanısı alan 27 yaşındaki hastanın anneannesinde meme kanseri, annesinde ve halasında over kanseri, dedelerinde prostat kanseri ve akciğer kanseri öyküsü tespit edildi; ayrıca bu hastada BRCA-1 mutasyonu saptandı.

4.3. Hastaların postoperatif takibi

Tüm hastalar (Grup 1+2) için postoperatif olarak 5 yıl'dan fazla takip edilen hasta sayısı 8, 2-5 yıl arası takip edilen hasta sayısı 24, 1-2 yıl arası takip edilen hasta sayısı 10, 1 yıldan az takip edilen hasta sayısı 2'dir. Yurtdışında yaşayan 2 hastanın postoperatif takibi ise yapılamamıştır. Hastaların 38'i Yeditepe Üniversite Hastanesi Medikal Onkoloji Kliniği ve/veya Genel Cerrahi Kliniği tarafından takip edilirken, 8 hastanın postoperatif takipleri hastanemiz dışında yapılmıştır.

Tüm hastaların (Grup 1+2) toplam 6'sında uzak metastaz tespit edildi, bunlardan 3'ünde tanı sırasında uzak metastaz mevcutken, diğer 3'ünde postoperatif takipleri sırasında 15, 18 ve 60. aylarda uzak metastaz ortaya çıktı. Postoperatif takiplerde 2 hastada lokal nüks tespit edildi (postoperatif 9. ve 18. aylarda), bu iki hastanın aynı zamanda metastazı da vardı. Hastalardan 4 tanesi (yaş ort. 78,5) meme kanseri dışı nedenlerle (KVS hastalığı, akciğer enfeksiyonu, SVO) postoperatif takip sırasında öldü. Ayrıca bir hastada postoperatif 5. yılda karşı memede Ca, bir hastada postoperatif 10. ayda folliküler varyant papiller tiroid karsinomu, bir hastada postoperatif 1. yılda midede nöroendokrin tümör, bir hastada postoperatif 3. yılda bilateral primer over karsinomu tespit edildi.

Tüm hastalar (Grup 1 ve 2) içinde meme kanseri nedeni ile ölen hasta olmadığı için ortalama takip süresi ve genel takip süresi aynı olup, 39,84±19,64 ay bulundu. Bu hesaplamalara takibi olmayan iki hasta dahil edilmedi.

4.4. Tümörün yerleşim yeri

Tümör, hastaların 24'ünde sağ meme, 22'sinde sol memede olup, bunların 28'i (%60,87) dış kadran, 6'sı (%13,04) iç kadran, 6'sı (%13,04) santral bölge yerleşimliydi, 6'sında (%13,04) ise tam olarak lokalize edilemeyen tümör (yaygın dağılım veya multifokalite/multisentrisite nedeniyle) vardı. Tümör 36 (%78,26) olguda tek odaklı iken, 10 (%21,74) olguda multifokalite ya da multisentrisite saptandı.

Karşı memede 6 (%13,04) olguda invaziv karsinom, 3 (%6,52) olguda in situ karsinom mevcuttu. Karşı memedeki in situ karsinomların hepsi senkron tespit edilirken, invaziv karsinom; hastalardan birinde senkron (Evre I), birinde 2,5 yıl önce (Evre I), ikisinde 5 yıl önce (Evre I), birinde 34 yıl önce (Evre I), birinde ise 5 yıl sonra (Evre III) saptanmıştı.

4.5. Tümörün histolojik tipi ve derecesi

Hastaların 39'u (%84,78) İDK, 4'ü (%8,69) İLK morfolojisindeydi. Mikst tipte invaziv karsinom (İDK+İLK), apokrin karsinom ve karsinosarkom morfolojisinde birer olgu saptandı. İLK ve mikst tipte invaziv karsinom (İDK+İLK) tanısı alan hastalara e-kaderin; karsinosarkom tanısı alan hastaya GCDFP-15, CK-7, vimentin, SMA, desmin ve CD34; apokrin karsinom tanısı alan hastaya GCDFP-15, AR ve HMB-45 İHK boyamaları ilave olarak yapılmıştı. Hastaların 3'ü (%6,52) derece I (iyi diferansiye), 22'si (%47,83) derece II (orta derecede diferansiye), 21'i (%45,65) derece III (az diferansiye) olarak değerlendirildi (Tablo 13).

Tablo 13. Tüm hastalarda (Grup 1+2) tümörlerin histolojik tip ve histolojik dereceleri

Histolojik Tipler	Histolojik Derece			Toplam Histolojik Tip
	I (n=3)	II (n=22)	III (n=21)	
İDK	3	16	20	39 (%84,78)
İLK	–	4	–	4 (%8,69)
Mikst (İDK+İLK)	–	1	–	1 (%2,17)
Karsinosarkom	–	–	1	1 (%2,17)
Apokrin karsinom	–	1	–	1 (%2,17)

4.6. Tümör büyüklüğü

Hastaların 14'ü (%30,43) T1 (2 cm ve daha küçük), 18'i (%39,14) T2 (2-5 cm arasında), 10'u (%21,73) ise T3 (5 cm den büyük) olarak değerlendirildi. T4 ile uyumlu olan 4 (%8,70) olgunun ikisinde göğüs duvarı invazyonu, ikisinde direkt yayılımla meme başı tutulumu (epidermiste ülserasyon) mevcuttu. Multipl tümörü olan olgularda tümör çapı olarak en büyük odağın çapı esas alındı ve histolojik derece, histolojik tip gibi parametreler de bu odağa göre değerlendirildi.

4.7. Lenf düğümü metastazı ve perinodal yayılım

Hastaların 36'sına (%78,26) aksiller LN diseksiyonu, 10'una (%21,74) sentinel LN diseksiyonu yapıldı. Hastaların 24'ü (%52,17) N0 (LN metastazı yok), 7'si (%15,22) N1 (1-3 adet pozitif aksiller LN), 8'i (%17,39) N2 (4-10 adet pozitif aksiller LN), 7'si (%15,22) N3 (10 > pozitif aksiller LN) ile uyumlu bulundu. Evre IV uzak metastazı olan hastalardan bir tanesinin LN'larında 0.2 mm'den küçük izole tümör hücreleri saptandı [pN0 (i+)].

LN metastazı tespit edilen hastaların (22 hasta), 14'ünde (%63,64) perinodal yayılım tespit edilirken 8'inde (%36,36) perinodal yayılım izlenmedi.

4.8. Lenfovasküler ve perinöral invazyon

Hastaların 36'sında (%78,26) LVİ mevcut iken, 10'unda (%21,74) LVİ saptanmadı. LVİ saptanan 14 hastada (%30,43) henüz LN metastazının olmadığı görüldü.

Hastaların 29'unda (%63,04) perinöral invazyon mevcut iken, 17'sinde (%36,96) perinöral invazyon tespit edilmedi. LVİ saptanmayan 2 hastada perinöral invazyon saptandı.

4.9. Evre

Tüm hastaların (Grup 1+2) tanı sırasında 11'i (%23,92) Evre I, 16'sı (%34,78) Evre II, 16'sı (%34,78) Evre III, 3'ü Evre IV (%6,52) olarak değerlendirildi (Tablo 14). Postoperatif takipleri sırasında metastazları ortaya çıkan 3 hastanın evresi değişti. Bu hastalardan birinin tanı sırasındaki evresi Evre IA, birinin Evre IIA, diğerinin ise Evre IIB olarak belirlenmişti.

Tablo 14. Tüm hastaların (Grup 1+2) tanı sırasındaki evrelerine göre dağılımı

Hasta sayısı	EVRE I		EVRE II		EVRE III			EVRE IV
	IA	IB	IIA	IIB	III A	III B	III C	IV
n	11	-	10	6	9	1	6	3
(%)	(%23,92)		(%21,74)	(%13,04)	(%19,56)	(%2,17)	(%13,04)	(%6,52)
Toplam	11 (%23,92)		16 (%34,78)		16 (%34,78)			3 (%6,52)

4.10. Cerrahi sınırlar

Tüm hastaların üçünde cerrahi sınıra bitişik invaziv karsinom, birinde cerrahi sınıra bitişik in situ karsinom saptandı. 11 hastada cerrahi sınıra 0,5 cm'den daha yakın, 13 hastada cerrahi sınıra 0,5-1 cm uzaklıkta in situ veya invaziv karsinom saptandı. 18 hastada ise cerrahi sınırlara 1 cm'den daha yakın invaziv veya in situ karsinom saptanmadı. Cerrahi sınırdaki invaziv karsinomu olan üç hastaya postoperatif adjuvan RT verildi. Ortalama 60 ay takip yapılan bu hastalarda lokal nüks veya uzak metastaz saptanmadı. Cerrahi sınıra bitişik in situ karsinom saptanan hasta ise postoperatif 6. ayda SVO nedeniyle öldü.

4.11. İn situ karsinom ve yaygın DCIS varlığı

Tüm hastaların 35'inde (%76,09) tümör içinde veya çevresinde in situ karsinom izlenirken, 11'inde (%23,91) in situ karsinom saptanmadı. İn situ karsinomun derecesi hastaların 6'sında derece I, 4'ünde derece II, 25'inde derece III olarak değerlendirildi.

Tüm hastaların 14'ünde (%30,43) yaygın DCIS (invaziv karsinom alanının % 25 veya daha fazlasını oluşturan DCIS) varlığı izlendi; takiplerinde hiçbirinde lokal nüs izlenmedi.

4.12. Tümörde nekroz oranı

Tüm hastalar (Grup 1 ve 2) için tümörde nekroz oranı %25'in üstünde olan 6 (%13,04) hasta, nekroz oranı %25'in altında olan 7 (%15,22) hasta tespit edildi. 19 (%41,3) hastada tümörde nekroz izlenmedi, 14 (%30,44) hastada ise sadece DCIS lümeninde nekroz saptandı. Nekroz oranı %25'in üstünde olan 6 hastanın 2'si neoadjuvan RT+HT, 1'i neoadjuvan KT almıştı. Neoadjuvan tedavi almayan diğer 3 hastanın histolojisi İDK, derece III ile uyumluydu; moleküler alt tip olarak 2'si null tip, 1'i bazal benzeri tipti.

4.13. Tümöre karşı iltihabi ve stromal yanıt

Tüm hastalar (Grup 1 ve 2) için tümöre karşı şiddetli derecede lenfositik iltihabi yanıt gösteren 9 (%19,57) hasta, orta derecede lenfositik iltihabi yanıt gösteren 19 (%41,30) hasta, hafif derecede lenfositik iltihabi yanıt gösteren 18 (%39,13) hasta tespit edildi (Tablo 15).

Tablo 15. Grup 1 ve Grup 2'de tümöre karşı gelişen iltihabi ve stromal yanıt

Hastalar	İltihabi yanıt			Stromal yanıt		
	Derece I	Derece II	Derece III	Derece I	Derece II	Derece III
Grup 1	16	18	6	4	20	16
Grup 2	2	1	3	2	2	2
Toplam	18	19	9	6	22	18
(%)	(%39,13)	(%41,30)	(%19,57)	(%13,04)	(%47,83)	(%39,13)

Tüm hastalar (Grup 1 ve 2) için tümöre karşı şiddetli derecede stromal yanıt (desmoplazi) gösteren 18 (%39,13) hasta, orta derecede desmoplazi gösteren 22 (%47,83) hasta, hafif derecede desmoplazi gösteren 6 (%13,04) hasta tespit edildi (Tablo 15).

4.14. Meme başı ve meme derisi

Tüm hastalar (Grup 1 ve 2) için meme başında (epidermise 1 cm'den yakın alanda) in situ karsinom saptanan 4 hasta, invaziv karsinom saptanan 5 hasta vardı. Bunlardan 2'si epidermise invazyon gösteriyordu. Hastaların 37'sinde ise meme başında in situ veya invaziv karsinom saptanmadı. Ayrıca hastaların hiçbirinde Paget Hastalığı izlenmedi.

Hastaların (Grup 1 ve 2) 5'inde meme derisine (epidermise) 0.5 cm veya daha yakın alanda invaziv tümör saptandı, bu hastaların 2'sinde aynı zamanda meme başında invaziv karsinom mevcuttu. 41 hastada ise meme derisinde invaziv veya in situ karsinom izlenmedi.

4.15. Çevre memede görülen değişiklikler

Tüm hastalar (Grup 1 ve 2) için çevre memede sadece non-proliferatif meme değişiklikleri (fibrokistik değişiklikler, hafif hiperplazi, fibroadenom) içeren 27 (%58,7) hasta, atipisiz proliferatif hastalık (orta veya ağır derecede hiperplazi, sklerozan adenozis, intraduktal papillom, kompleks fibroadenom) içeren 15 (%32,6) hasta bulunurken, 2 (%4,35) hastada atipili proliferatif hastalık (atipik duktal hiperplazi) ve 2 (%4,35) hastada tümörden uzak alanda in situ karsinom izlendi.

4.16. Neoadjuvan ve adjuvan tedaviler

Hastaların toplam 6'sına neoadjuvan tedavi aldı (Grup 2), 40 hasta neoadjuvan tedavi almadı (Grup 1). Neoadjuvan tedavi alan hastaların 2'sine sadece HT, 2'sine HT+RT, 1'ine HT+KT, 1'ine sadece KT verildi.

Hastaların toplam 33'ü adjuvan HT, 32'si adjuvan KT, 28'i adjuvan RT aldı. Bu hesaplamalara takip bilgisi olmayan 2 hasta ilave edilmedi.

Evre IIA'daki ER pozitif bir hastaya ileri yaşta (84 yaşında) olması ve ek sağlık problemleri (demans, opere femur kırığı, SVO) nedeniyle tedavinin yan etkileri düşünülerek adjuvan veya neoadjuvan tedavi verilmedi. Bu hasta postoperatif 42. ayda akciğer enfeksiyonu nedeniyle öldü. Ayrıca 39 yaşında ER pozitif Evre IV bilateral sürrenal metastazı olan bir hastaya neoadjuvan KT sonrası bilateral sürrenalektomi ve bilateral salpingooferektomi yapıldığı için HT verilmedi.

4.17 İmmünohistokimyasal bulgular

Tüm hastalar için (Grup1+2); hormon reseptörü (HR) pozitif (ER+ ve/veya PR +) 36 hasta, HR negatif (ER - ve PR -) 10 hasta tespit edildi. ER pozitif hasta sayısı 30 (%65,22),

ER negatif hasta sayısı 16 (%34,78) bulundu. ER ve PR'nin birlikte pozitif olduğu 28 (%60,87) hasta, ER negatifken PR'nin pozitif olduğu 6 (%13,04) hasta mevcuttu. HER2 pozitif olan toplam 11 (%23,91) hasta, HR negatifken HER2 pozitif 2 hasta saptandı. HER2 pozitif hastalardan 2'si İLK'du. Hem HR'lerinin (ER ve PR) hem de HER2'nin negatif olduğu, üçlü negatif immünofenotip gösteren 8 hasta vardı.

Tüm hastalara (Grup 1+2) ait ER, PR, HER2, CK5/6, EGFR, Ki67 ve p53 İHK çalışma sonuçları aşağıdaki şekilde bulunmuştur (Tablo 16-18).

Tablo 16. Tüm hastalarda (Grup 1+2) ER ve PR ile boyanma durumu

Hormon Reseptörü	Hormon reseptörü boyanma durumu (Toplam skor)			
	Negatif veya %<1 pozitif (0,2)	Zayıf derecede pozitif (3, 4)	Orta derecede pozitif (5, 6)	Şiddetli derecede pozitif (7, 8)
ER	16 (%34,78)	2 (%4,34)	8 (%17,39)	20 (%43,48)
PR	14 (%30,43)	3 (%6,52)	7 (%15,22)	22 (%47,83)

Tablo 17. Tüm hastalarda (Grup 1+2) HER2, CK 5/6 ve EGFR ile boyanma durumu

	NEGATİF	POZİTİF	TOPLAM (n)
HER2	35 (%76,09)	11 (%23,91)	46
CK 5/6	4*	4	8
EGFR	7*	1**	8

*CK 5/6 ve EGFR sadece üçlü negatif (ER-,PR-,HER-) 8 hastada bakıldı.

**EGFR pozitif olan vaka, aynı zamanda CK5/6 pozitif boyanma da gösterdi.

Tablo 18. Tüm hastalarda (Grup 1+2) Ki67 proliferasyon indeksi ve p53 ekspresyon oranları

	Negatif	Düşük (< %20)	Yüksek (%20-70)	Çok yüksek (>70)
Ki67	-	19 (%41,30)	24 (%52,18)	3 (%6,52)
p53	15 (%32,61)	9 (%19,56)	4 (%8,70)	18 (%39,13)

4.18. Moleküler alt tipler

Tüm hastalar (Grup 1+2) İHK boyanma özelliklerine göre moleküler alt tiplere ayrıldığında; 15 (%32,61) hasta lüminal A, 21 (45,64) hasta lüminal B, 2 (%4,35) hasta HER2 eksprese eden tip, 4 (%8,70) hasta bazal benzeri tip ve 4 (%8,70) hasta null tip ile uyumlu bulundu (Tablo 19).

Lüminal B grubuna alınan toplam 21 hastanın 12'si HER2 negatif olup, Ki67 proliferasyon indeksi %20'nin üzerindeydi, 9 (%42,85) hasta ise HR ile birlikte HER2 ekspresyonu gösteriyordu. HER2 pozitif toplam 11 vakanın 9'u lüminal B grubuna girerken, sadece 2 hasta HER2 eksprese eden gruba girdi.

Üçlü negatif immünofenotip gösteren toplam 8 hasta saptandı. Bu hastalardan CK5/6 ve/veya EGFR boyanan toplam 4 hasta bazal benzeri alt tip olarak, CK5/6 ve/veya EGFR boyanmayan diğer 4 hasta ise null tip olarak sınıflandı.

Moleküler alt tiplerine ayrılan tüm hastalar (Grup 1+2); yaş, aile öyküsü, histolojik tip, histolojik derece, tümör büyüklüğü, LN metastazı ve evre açısından incelendi (Tablo 19-27).

Tablo 19. Tümörün moleküler alt tipine göre ortalama yaş değerleri

Moleküler Alt Tip	Hasta Sayısı	Ortalama Yaş	p değeri
Lüminal A	15 (%32,61)	59,00±16,02	0,211
Lüminal B	21 (%45,64)	51,52±10,59	
HER2 eksprese eden tip	2 (%4,35)	52,00±12,72	
Bazal benzeri tip	4 (%8,70)	42,75±26,96	
Null tip	4 (%8,70)	63,00±16,26	

Tablo 20. Tümörün moleküler alt tipine göre ailede kanser öyküsü

Aile öyküsü	Lüminal A	Lüminal B	HER2	Bazal	Null	p
Ailede Ca öyküsü (-)	12 (% 80)	8 (% 38,1)	0	1 (% 25)	1 (25)	0,061
Meme Ca dışında Ca (+)	3 (% 20)	5 (% 23,8)	1 (% 50)	1 (% 25)	0	
≥ 3.derece akrabalarda meme Ca (+)	0	3 (% 14,3)	1 (% 50)	0	1 (% 25)	
1-2. derece akrabalarda meme Ca (+)	0	5 (% 23,8)	0	2 (% 50)	2 (% 50)	

Tablo 21. Tümörün moleküler alt tipine göre histolojik tipi

Histolojik Tip	Lüminal A	Lüminal B	HER2	Bazal	Null	p
IDK	14 (% 93,3)	17 (% 81)	2 (% 100)	3 (% 75)	3 (% 75)	0,085
ILK	1 (% 6,7)	3 (% 14,3)	0	0	0	
Mikst	0	1 (% 4,7)	0	0	0	
Karsinosarkom	0	0	0	0	1 (% 25)	
Apokrin Ca	0	0	0	1 (% 25)	0	

Tablo 22. Tümörün moleküler alt tipine göre histolojik derecesi

Histolojik derece	Lüminal A	Lüminal B	HER2	Bazal	Null	p
I	3 (% 20)	0	0	0	0	0,067
II	9 (% 60)	11 (% 52,4)	1 (% 50)	1 (% 25)	0	
III	3 (% 20)	10 (% 47,6)	1 (% 50)	3 (% 75)	4 (% 100)	

Tablo 23. Tümörün moleküler alt tipine göre tümör büyüklüğü

Tümör boyutu	Lüminal A	Lüminal B	HER2	Bazal	Null	p
T1	7 (% 46,7)	5 (% 23,8)	0	1 (% 25)	1 (% 25)	0,302
T2	5 (% 33,3)	7 (% 33,3)	2 (% 100)	1 (% 25)	3 (% 75)	
T3	1 (% 6,7)	8 (% 38,1)	0	1 (% 25)	0	
T4	2 (% 13,3)	1 (% 4,8)	0	1 (% 25)	0	

Tablo 24. Tümörün moleküler alt tipine göre lenf düğümü metastaz durumu

LN durumu	Lüminal A	Lüminal B	HER2	Bazal	Null	p
N0	11 (% 73,4)	7 (% 33,3)	0	3 (% 75)	3 (% 75)	0,038
N1	2 (% 13,3)	5 (% 23,8)	0	0	0	
N2	2 (% 13,3)	3 (% 14,3)	2 (% 100)	0	1 (% 25)	
N3	0	6 (% 28,6)	0	1 (% 25)	0	

Tablo 25. Tümörün moleküler alt tipine göre Ki67 proliferasyon indeksi

Moleküler alt tipler	Ki67 Proliferasyon indeksi (n)			p değeri
	<%20	%20-%70	>%70	
Lüminal A	%73,7 (14)	%4,2 (1)	-	< 0,001
Lüminal B	%10,5 (2)	%70,8 (17)	%66,7 (2)	
HER2	-	%8,3 (2)	-	
Bazal benzeri	%10,5 (2)	%8,3 (2)	-	
Null	%5,3 (1)	%8,3 (2)	%33,3 (1)	

Tablo 26. Tümörün moleküler alt tipine göre p53 ekspresyonu

Damar yoğunluğu	p53 ekspresyonu (n)				p
	Negatif	<%20	%20-%70	>%70	
Lüminal A	%33,5 (5)	%44,4 (4)	%75,0 (3)	%16,7 (3)	0.250
Lüminal B	%60 (9)	%44,4 (4)	-	%44,4 (8)	
HER2	-	-	-	%11,1 (2)	
Bazal benzeri	%6,7 (1)	%11,1 (1)	-	%11,1 (2)	
Null	-	-	%25,0 (1)	%16,7 (3)	

Tablo 27. Tümörün moleküler alt tipine göre Evre

Evre	Lüminal A	Lüminal B	HER2	Bazal	Null	p
Evre I	6 (% 40)	4 (% 19,1)	0	1 (% 25)	0	0,035
Evre II	6 (% 40)	5 (% 23,8)	0	2 (% 50)	3 (% 75)	
Evre III	1 (% 6,6)	12 (% 57,1)	2 (% 100)	0	1 (% 25)	
Evre IV	2 (% 13,3)	0	0	1 (% 25)	0	

Tüm hastalar (Grup 1+2) içinde lokal nüks olan iki hastadan biri bazal benzeri, diğeri null tipteydi. Toplam altı hastada uzak metastaz saptanmıştır. Bunların üç tanesi tanı sırasında varken, üç tanesi takip sırasında ortaya çıkmıştır. Tanı sırasında varolan metastaz vakalarından ikisi lüminal A, biri bazal benzeri moleküler alt tipteydi. Sonradan ortaya çıkan metastaz vakalarının ise biri lüminal A, ikisi null tipteydi.

4.19. Damar yoğunlukları

Grup 1 ve Grup 2'deki; tümör içi, tümör sınırı ve tümör dışında ölçülen ortalama damar yoğunluğu değerleri (MDY ve LDY) Tablo 28'de gösterilmektedir.

Tablo 28. Grup 1 ve Grup 2'deki damar yoğunluğu ortalama değerleri

GRUP	CD31 T.içi	CD31 T.sınırı	CD31 T.dışı	D2-40 T.içi	D2-40 T.sınırı	D2-40 T.dışı
Grup 1 (n=40)	97,88±32,19	155,70±44,11	62,95±11,41	15,17±6,15	50,98±10,19	29,92±6,14
Grup 2 (n=6)	74,67±23,61	117,17±44,35	53,50±22,61	27,33±13,39	48,50±8,87	27,67±7,17

Grup 3'deki (kontrol grubunda); adenozis çevresi ve adenozis dışı alanlarda ölçülen ortalama damar yoğunluğu (MDY ve LDY) değerleri Tablo 29'da gösterilmektedir.

Tablo 29. Kontrol grubundaki (Grup 3) damar yoğunluğu ortalama değerleri

GRUP	CD31 Aden.dışı	CD31 Adenozis	D2-40 Aden.dışı	D2-40 Adenozis
Kontrol grubu (n=6)	60,67 ±4,63	107,00 ±20,14	31,50 ±4,41	34,50 ±4,68

Grup 1'de tümör içi-tümör sınırı, tümör sınırı-tümör dışı ve tümör içi-tümör dışı arasındaki damar yoğunlukları (MDY ve LDY) arasında anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 30).

Tablo 30. Grup 1'de damar yoğunluğu ortalamalarının karşılaştırılması

Damarlar	Karşılaştırılan alanlar	Ortalama	95% CI	t	df	p
CD31	Tümör içi-Tümör sınırı	-57,82±24,91	(-65,79)-(-49,85)	-14,67	39	<0.001
	Tümör sınırı-Tümör dışı	92,75±39,33	80,16-105,33	14,91	39	<0.001
	Tümör içi-Tümör dışı	34,92±27,68	26,07-43,77	7,97	39	<0.001
D2-40	Tümör içi-Tümör sınırı	-35,80±8,99	(-38,67)-(-32,92)	-25,16	39	<0.001
	Tümör sınırı-Tümör dışı	21,05±6,72	18,89-23,20	19,78	39	<0.001
	Tümör içi-Tümör dışı	-14,75±6,93	(-16,96)-(-12,53)	13,45	39	<0.001

Grup 2'de tümör içi-tümör sınırı ve tümör sınırı-tümör dışı arasındaki damar yoğunlukları (MDY ve LDY) arasında anlamlı fark bulunmuştur. Ancak tümör içi-tümör dışı arasındaki damar yoğunlukları (MDY ve LDY) arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 31).

Tablo 31. Grup 2’de damar yoğunluğu ortalamalarının karşılaştırılması

Damarlar	Karşılaştırılan alanlar	Ortalama	95% CI	t	df	p
CD31	Tümör içi-Tümör sınırı	-42,50±36,21	(-80,50)-(-4,49)	-2,87	5	0.035
	Tümör sınırı-Tümör dışı	63,66±24,83	37,60-89,72	6,28	5	0.002
	Tümör içi-Tümör dışı	21,16±27,66	(-7,86)-50,20	1,87	5	0.12
D2-40	Tümör içi-Tümör sınırı	-21,16±10,30	(-31,98)-(-10,35)	-5,32	5	0.004
	Tümör sınırı-Tümör dışı	20,83±4,16	16,46-25,20	12,24	5	<0.001
	Tümör içi-Tümör dışı	-0,33±12,27	(-13,21)-(-12,54)	-0,06	5	0.95

Grup 1 ve Grup 2’deki, hem CD31 ile hem de D2-40 ile ölçülen, tümör dışı alandaki ortalama damar yoğunluğu değerleri, Grup 3’deki adenozis dışı alandaki ortalama damar yoğunluğu değerleri ile karşılaştırılmıştır. Grup 1’de ayrıca adenozis çevresi alanlarda damar yoğunluğu ölçümü yapılan 8 hastanın ortalama değerleri ile Grup 3’deki adenozis çevresi damar yoğunluğu ortalama değerleri karşılaştırılmıştır. Yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 32).

Tablo 32. Grup 3 ile Grup 1 ve Grup 2’nin damar yoğunluğu (tümör dışı, adenozis çevresi ve adenozis dışı alanlardaki) karşılaştırmaları

Karşılaştırılan gruplar		Ortalama damar yoğunlukları (n)		t	df	p
		Grup 1	Grup 3			
Grup 1 - Grup 3	CD31	Tümör dışı (40) 62,95± 11,41	Adenozis dışı (6) 60,67± 4,63	0,480	44	0,663
		Adenozis çevresi (8) 124,50±15,64	Adenozis çevresi (6) 107,00±20,14	1,835	12	0,091
	D2-40	Tümör dışı (40) 29,93±6,14	Adenozis dışı (6) 31,50±4,41	-0,602	44	0,550
		Adenozis çevresi (8) 38,63±6,90	Adenozis çevresi (6) 34,50±4,68	1,257	12	0,233
Grup 2 - Grup 3		Grup 2	Grup 3			
	CD31	Tümör dışı (6) 53,50±22,61	Adenozis dışı (6) 60,67±4,63	-0,760	10	0,465
	D2-40	Tümör dışı (6) 27,67±7,17	Adenozis dışı (6) 31,50±4,41	-1,115	10	0,291

Kontrol grubunda adenozis çevresi ve adenozis dışı alandaki damar yoğunlukları arasında, CD31 ile anlamlı fark bulunurken, D2-40 ile anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 33). Grup 1’de ise hem CD31 ile hem de D2-40 ile adenozis çevresi ve tümör dışı (adenozis dışı) alandaki damar yoğunlukları arasında anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca Grup1’de adenozis çevresi ve tümör sınırındaki damar yoğunlukları da anlamlı olarak farklıdır (Tablo 34).

Tablo 33. Grup 3’de damar yoğunluğu ortalamalarının (adenozis çevresi ve adenozis dışı alanlardaki) karşılaştırılması

	Karşılaştırılan alanlar	Ortalama	95% CI	t	df	p
CD31	Adenozis çevresi-Adenozis dışı	-46,33±19,75	(-67,06)-(-25,60)	-5,74	5	0.002
D2-40	Adenozis çevresi-Adenozis dışı	-3,00±3,22	(-6,38)-(0,38)	-2,27	5	0.072

Tablo 34. Grup 1’de (adenozis çevresinde damar sayımı yapılan hastalarda), damar yoğunluğu karşılaştırmaları

Damar Yoğunlukları (n=8)						
Damar	Adenozis Çevresi Sayım	Diğer Alan	Sayım	t	df	p
CD31	124,50±15,64	Tümör içi	105,25±18,59	-2,224	7	0,062
		Tümör sınırı	164,62±24,80	-4,252	7	0,04
		Tümör dışı	73,50±13,74	10,434	7	<0,001
D2-40	38,63±6,90	Tümör içi	14,88±3,94	9,791	7	<0,001
		Tümör sınırı	56,25±7,83	-6,499	7	<0,001
		Tümör dışı	35,13±6,24	2,568	7	0,037

Hem Grup 1, hem de Grup 2 için; CD31 ile D2-40 damar yoğunlukları arasında ne tümör içinde, ne tümör sınırında ne de tümör dışında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (Tablo 35).

Tablo 35. Grup 1 ve Grup 2’de kan ve lenf damar yoğunluğu (MDY ve LDY) karşılaştırmaları

	Ölçüm alanı	r değeri*	p değeri
Grup 1 (n=40)	Tümör içi	-0.002	0.99
	Tümör sınırı	-0.161	0.322
	Tümör dışı	-0.242	0.134
Grup 2 (n=6)	Tümör içi	0.434	0.390
	Tümör sınırı	0.607	0.202
	Tümör dışı	0.678	0.139

*p değeri anlamsız olunca r değeri dikkate alınmaz. p anlamlı ise r değerine göre korelasyon analizi yapılır. Genellikle r değeri <0,2 zayıf, 0,2-0,7 arasında orta, >0,8 güçlü korelasyon olduğunu gösterir.

4.20. Damar yoğunlukları ile moleküler, klinik ve histopatolojik bulguların karşılaştırılması

Damar yoğunluklarını, moleküler, klinik ve histopatolojik bulgularla karşılaştırmak için yalnız neoadjuvan tedavi almamış hasta grubunu (Grup 1) inceledik. Grup 1'deki ortalama damar yoğunluğu (MDY ve LDY) değerleri ile hastaların yaş grupları, tümörün histolojik tipi, histolojik derecesi, büyüklüğü, LN metastaz durumu, tümörün moleküler alt tipi, ER, PR, HER2 boyanma durumu, Ki67 proliferasyon indeksi, p53 ekspresyonu, tümörün yerleşim yeri, yaygın DCIS varlığı, tümörün nekroz oranı, tümöre karşı gelişen iltihabi&stromal yanıtın derecesi ve klinik evresi karşılaştırıldı (Tablo 36-51). Grup 1'de sadece üç hastada uzak metastaz ve iki hastada lokal nüks geliştiği için, istatistiksel olarak karşılaştırma yapılmadı; uzak metastaz ve lokal nüks gelişen hastalardaki ortalama damar yoğunluğu değerleri verildi (Tablo 52-53). Klinik ve histopatolojik bulgulara göre damar yoğunluklarının farkları toplu olarak değerlendirildi (Tablo 54).

Tablo 36. Grup 1'de yaş grupları ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	40 yaş altı (n=7)	40-60 yaş (n=22)	60 yaş üstü (n=11)	p değeri
CD31 tm içi	136,29±50,97	91,95±20,17	85,27±15,54	0,001
CD31 tm sınırı	211,71±67,72	145,05±22,51	141,46±33,19	<0,001
CD31 tm dışı	71,57±11,13	64,45±10,63	54,45±7,73	0,003
D2-40 tm içi	14,57±4,31	16,00±7,45	13,91±4,013	0,640
D2-40 tm sınırı	51,43±15,60	52,86±8,17	46,91±9,64	0,291
D2-40 tm dışı	31,57±9,46	31,05±5,34	26,64±4,13	0,110

Tablo 37. Grup 1'de tümörün histolojik tipi ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	İDK (n=34)	İLK (n=4)	Mikst (n=1)	KS** (n=1)	Apokrin Ca (n=1)	p değeri*
CD31 tm içi	97,24±34,25	106,75±19,36	82	84	100	0,912
CD31 tm sınırı	156,29±47,19	154,50±18,30	123	193	173	0,880
CD31 tm dışı	63,00±11,69	62,75±13,72	61	97	64	0,998
D2-40 tm içi	13,82±4,08	22,50±11,90	30	27	17	0,002
D2-40 tm sınırı	50,32±90,97	51,00±13,14	62	60	62	0,495
D2-40 tm dışı	29,88±6,49	28,25±1,50	38	37	30	0,584

*p değeri sadece IDK ve ILK ortalamalarını karşılaştırmaktadır (Anova test). **KS (Karsinosarkom)

Tablo 38. Grup 1’de tümörün histolojik derecesi ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Histolojik Derece			p değeri
	I (n=3)	II (n=20)	III (n=17)	
CD31 tm içi	97,67±15,30	90,45±22,81	106,65±41,57	0,321
CD31 tm sınırı	151,67±22,00	145,05±30,76	168,94±56,81	0,262
CD31 tm dışı	61,00±5,19	62,15±13,01	64,24±10,47	0,826
D2-40 tm içi	12,00±5,29	16,40±7,40	14,29±4,37	0,389
D2-40 tm sınırı	44,33±5,13	50,85±9,16	52,29±11,84	0,470
D2-40 tm dışı	27,67±0,57	29,90±5,03	30,35±7,80	0,792

Tablo 39. Grup 1’de tümör büyüklüğü ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Tümör Büyüklüğü				p değeri
	T1 (n=13)	T2 (n=16)	T3 (n=9)	T4 (n=2)	
CD31 tm içi	85,38±23,00	102,19±25,68	110,00±50,25	90±14,42	0,311
CD31 tm sınırı	142,69±34,49	160,88±49,56	166,00±50,41	152,50±28,99	0,620
CD31 tm dışı	62,15±15,96	61,88±9,79	65,78±7,77	64,00±00	0,866
D2-40 tm içi	14,08±4,03	14,25±4,58	18,67±10,03	14,00±4,24	0,297
D2-40tm sınırı	45,69±9,07	50,06±9,051	59,22±9,52	55,50±9,19	0,014
D2-40 tm dışı	29,00±5,80	28,75±6,66	33,56±5,57	29,00±1,41	0,260

Tablo 40. Grup 1’de lenf düğümü metastazı ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Lenf Düğümü Metastaz Durumu				p değeri
	N0 (n=22)	N1 (n=7)	N2 (n=5)	N3 (n=6)	
CD31 tm içi	101,27±40,95	98,14±19,81	88,20±10,49	93,17±17,58	0,854
CD31 tm sınırı	160,00±56,33	147,00±19,90	147,60±27,01	156,83±23,12	0,893
CD31 tm dışı	62,73±11,76	58,86±9,95	68,00±16,24	64,33±7,28	0,594
D2-40 tm içi	13,77±3,75	13,71±4,99	16,80±7,53	20,67±10,50	0,077
D2-40 tm sınırı	45,50±8,55	51,00±7,46	58,60±2,79	64,67±3,98	<0,001
D2-40 tm dışı	28,50±5,62	28,14±7,90	34,00±3,74	33,83±5,26	0,089

Tablo 41. Grup 1’de tümörün moleküler alt tipi ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Lüminal A (n=13)	Lüminal B (n=19)	HER2 (n=2)	Bazal (n=4)	Null Tip (n=2)	p değeri
CD31 tm içi	89,15±21,33	90,37±19,24	86,00±8,48	158,50±58,88	116,50±9,19	<0.001
CD31 tm sınırı	141,15±28,97	147,16±26,64	131,00±5,65	222,00±73,86	223,50±67,17	0.001
CD31 tm dışı	60,69±13,17	62,68±11,03	56,50±2,12	72,25±9,10	68,00±2,82	0,392
D2-40 tm içi	12,54±3,12	17,53±7,64	13,00±2,82	15,00±5,09	12,50±0,70	0,216
D2-40 t.sınırı	45,77±5,89	54,05±10,48	57,00±1,41	50,75±18,28	50,00±7,07	0,212
D2-40 tm dışı	28,08±6,27	31,32±5,67	31,00±1,41	30,00±10,19	27,50±3,53	0,662

Tablo 42. Grup 1’de tümörün ER, PR ve HER2 boyanma durumu ve ortalama damar yoğunlukları

Reseptör Boyanma Durumu	Hasta sayısı	CD31			D2-40			
		T.içi	T.sınırı	T.dışı	T.içi	T.sınırı	T.dışı	
ER	Negatif (skor 0-2)	13	113,92	174,92	63,92	16,53	53,61	30,84
	Zayıf (skor 3-6)	10	91,00	153,80	65,30	15,20	53,30	30,30
	Şiddetli (skor 7-8)	17	89,64	142,11	60,82	14,11	47,58	29,00
			p=0,088	p=0,054	p=0,587	p=0,577	p=0,198	p=0,711
PR	Negatif (skor 0-2)	11	117,09	181,72	64,54	13,81	48,90	28,18
	Zayıf (skor 3-6)	9	93,88	150,00	63,88	18,33	52,88	29,66
	Şiddetli (skor 7-8)	20	89,10	143,95	61,65	14,50	51,25	31,00
			p=0,059	p=0,064	p=0,774	p=0,211	p=0,687	p=0,481
HER2	Negatif	29	99,79	159,96	62,72	14,51	48,82	29,10
	Pozitif	11	92,81	144,45	63,54	16,90	56,63	32,09
			p=0,548	p=0,042	p=0,842	p=0,278	p=0,029	p=0,173

Tablo 43. Grup 1’de tümörün HR ve HER2 boyanma durumu ve ortalama damar yoğunlukları

Reseptör Boyanma Durumu	Hasta sayısı	CD31			D2-40		
		T.içi	T.sınırı	T.dışı	T.içi	T.sınırı	T.dışı
HR (+)	32	89,87	144,71	61,87	15,50	50,68	29,83
HR (-)	8	129,87	199,62	67,25	13,87	52,12	29,62
		p<0,001	p<0,001				
HR (+)/HER2 (-)	23	88,13	143,65	60,60	14,60	48,39	29,08
HR (+)/HER2 (+)	5	93,60	153,00	67,80	13,60	53,40	30,60
HR (-)/HER2 (+)	2	86,00	131,00	56,50	23,00	57,00	31,00
HR (-)/HER2 (-)	6	144,50	222,50	70,83	14,16	50,50	29,16

Tablo 44. Grup 1’de Ki67 proliferasyon indeksi ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Ki67 Proliferasyon indeksi (%)			p değeri
	<%20 (n=18)	%20-%70 (n=19)	>%70 (n=3)	
CD31 tm içi	100,83	94,42	93,00	0,804
CD31 tm sınırı	158,61	152,78	165,30	0,829
CD31 tm dışı	65,33	63,42	59,00	0,667
D2-40 tm içi	13,33	16,68	15,30	0,395
D2-40 tm sınırı	48,05	53,10	53,00	0,277
D2-40 tm dışı	29,55	30,52	28,30	0,859

Tablo 45. Grup 1’de p53 ekspresyonu ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	p53 ekspresyonu				p değeri
	Negatif (n=13)	<%20 (n=8)	%20-%70 (n=4)	>%70 (n=15)	
CD31 tm içi	106,77	91,63	92,00	95,07	0,689
CD31 tm sınırı	157,85	150,00	165,75	154,20	0,947
CD31 tm dışı	67,38	60,75	55,50	62,27	0,265
D2-40 tm içi	16,77	15,38	12,25	14,47	0,592
D2-40 tm sınırı	50,38	52,38	44,50	52,47	0,563
D2-40 tm dışı	28,15	30,75	27,25	31,73	0,361

Tablo 46. Grup 1’de tümörün yerleşim yeri ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Tümör yerleŐimi				p değeri
	Dış kadran (n=26)	İ kadran (n=5)	Santral bölge (n=5)	Diğer (n=4)	
CD31 tm içi	96,65±35,18	100,80±12,79	110,40±39,82	86,50±19,05	0,736
CD31 tm sınırı	152,73±41,00	169,60±59,26	169,20±63,33	140,75±15,96	0,689
CD31 tm dışı	63,23±13,31	63,60±9,71	63,20±6,35	60,00±4,54	0,963
D2-40 tm içi	14,58±3,97	14,40±3,91	15,60±8,50	19,50±14,64	0,523
D2-40tm sınırı	49,62±9,24	49,00±9,74	50,20±12,31	63,25±9,28	0,085
D2-40 tm dışı	29,81±5,81	27,60±6,50	29,60±7,09	34,00±7,39	0,491

Tablo 47. Grup 1’de tümörde yaygın DCIS varlığı ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Yaygın DCIS (-) (n=27)	Yaygın DCIS (+) (n=13)	p değeri
CD31 tm içi	98,48±37,30	96,62±18,72	0,866
CD31 tm sınırı	153,78±43,95	159,69±45,97	0,697
CD31 tm dışı	60,67±10,19	67,69±12,74	0,068
D2-40 tm içi	15,59±6,53	14,31±5,40	0,543
D2-40 tm sınırı	50,67±11,24	51,62±7,95	0,787
D2-40 tm dışı	29,59±6,92	30,62±4,27	0,628

Tablo 48. Grup 1’de tümördeki nekroz oranı ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Nekroz oranı			p değeri
	Nekroz yok veya sadece DCIS lümeninde (n=32)	Nekroz < %25 (n=5)	Nekroz > %25 (n=3)	
CD31 tm içi	89,47±18,32	128,60±63,54	136,33±34,96	<0,001
CD31 tm sınırı	143,84±22,98	180,00±76,49	241,67±56,97	<0,001
CD31 tm dışı	61,09±10,87	72,40±14,10	67,00±2,64	0,361
D2-40 tm içi	15,78±6,53	13,80±3,96	11,00±2,64	0,223
D2-40tm sınırı	52,19±9,60	47,60±12,70	43,67±12,05	0,158
D2-40 tm dışı	30,44±5,87	29,60±8,26	25,00±5,00	0,132

Tablo 49. Grup 1’de tümöre karşı gelişen iltihabi yanıtın derecesi ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Tümöre karşı iltihabi yanıt			p değeri
	Hafif (n=16)	Orta (n=18)	Şiddetli (n=6)	
CD31 tm içi	86,89±15,06	104,22±43,65	108,67±15,43	0,194
CD31 tm sınırı	145,25±22,72	159,28±55,13	172,83±50,48	0,393
CD31 tm dışı	59,06±11,96	64,83±11,26	67,67±8,18	0,188
D2-40 tm içi	14,31±7,23	15,39±5,82	16,83±4,11	0,691
D2-40 tm sınırı	50,00±10,09	52,39±11,43	49,33±6,91	0,734
D2-40 tm dışı	28,75±5,99	30,62±6,60	31,00±5,58	0,621

Tablo 50. Grup 1’de tümöre karşı gelişen stromal yanıtın derecesi ve ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Tümöre karşı stromal yanıt			p değeri
	Hafif (n=4)	Orta (n=20)	Şiddetli (n=16)	
CD31 tm içi	98,00±11,34	100,40±40,87	94,69±23,09	0,875
CD31 tm sınırı	141,25±22,33	159,55±49,89	154,50±41,58	0,753
CD31 tm dışı	57,75±5,79	63,20±13,33	63,94±9,92	0,631
D2-40 tm içi	13,00±4,69	15,55±5,23	15,25±7,60	0,759
D2-40 tm sınırı	49,50±8,85	48,95±10,56	53,88±9,91	0,348
D2-40 tm dışı	29,25±6,36	29,95±6,29	30,06±6,30	0,974

Tablo 51. Grup 1’de evre ve ortalama damar yoğunlukları

Evre	CD31			D2-40		
	Tm içi	Tm sınırı	Tm dışı	Tm içi	Tm sınırı	Tm dışı
I (n=11)	84,73±24,10	136,55±33,93	59,82±13,66	14,27±4,36	44,55±9,28	28,64±5,44
II (n=15)	112,20±43,08	174,00±58,93	63,00±10,35	13,80±4,05	46,73±7,60	27,40±6,75
III (n=13)	92,31±16,44	149,46±22,14	66,43±14,39	17,38±8,90	60,46±5,54	33,92±4,25
IV (n=1)*	100	173	64	17	62	30
p değeri	0,156	0,166	0,706	0,445	<0,001	0,030

* Evre IV’de tek hasta olduğu için bu hasta hesaplama dışı bırakıldı.

Tablo 52. Grup 1’de uzak metastazı olan hastalarda ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Metastaz yok (n=35)	Tanı anında metastaz* (n=1)	Takiplerde metastaz* (n=2)
CD31 tm içi	99,14±33,65	100	85
CD31 tm sınırı	158,40±44,73	173	130,5
CD31 tm dışı	63,57±11,84	64	59
D2-40 tm içi	15,00±5,97	17	24
D2-40 tm sınırı	50,60±10,44	62	50
D2-40 tm dışı	50,60±10,44	30	26

*Metastaz saptanan hastaların vaka sayıları düşük olduğundan p değeri verilememiştir. Hesaplamalara takibi olmayan 2 hasta dahil edilmemiştir.

Tablo 53. Grup 1’de lokal nüksü olan hastalarda ortalama damar yoğunlukları

Damar yoğunluğu	Lokal nüks yok (n=36)	Lokal nüks var* (n=2)
CD31 tm içi	98,05	105,00
CD31 tm sınırı	156,36	174,50
CD31 tm dışı	63,25	65,00
D2-40 tm içi	14,88	15,00
D2-40 tm sınırı	50,44	58,50
D2-40 tm dışı	30,08	27,50

*Lokal nüks saptanan hastaların vaka sayıları düşük olduğundan p değeri verilememiştir. Hesaplamalara takibi olmayan 2 hasta dahil edilmemiştir.

Tablo 54. Moleküler, klinik ve histopatolojik bulgulara göre damar yoğunluklarının istatistiksel fark bakımından değerlendirilmesi

Klinik veya histopatolojik bulgular	MDY			LDY		
	T.içi	T.sınırı	T.dışı	T.içi	T.sınırı	T.dışı
Hasta yaşı	+	+	+	-	-	-
Tümörün histolojik tipi**	-	?	-	+	-	-
Tümörün histolojik derecesi	-	-	-	-	-	-
Tümörün büyüklüğü	-	-	-	-	+	-
LN metastaz durumu	-	-	-	-	+	-
Tümörün moleküler alt tipi	+	+	-	-	-	-
ER ile boyanma durumu	+	+	-	-	-	-
PR ile boyanma durumu	+	+	-	-	-	-
HER2 ile boyanma durumu	?	+	-	-	+	-
Ki67 proliferasyon indeksi	-	-	-	-	-	-
p53 ekspresyonu	-	-	-	-	-	-
Tümörün yerleşim yeri	-	?	-	-	?	-
Yaygın DCIS varlığı	-	-	-	-	-	-
Tümördeki nekroz oranı	+	+	-	?	?	?
Tümöre karşı iltihabi yanıt	?	?	-	-	-	-
Tümöre karşı stromal yanıt	-	-	-	-	-	-
Evre***	-	-	-	-	+	+
Uzak metastaz durumu	*	*	*	*	*	*
Lokal nüks	*	*	*	*	*	*
Sağkalım süresi	*	*	*	*	*	*

(+) İstatistiksel olarak anlamlı fark var. (-) İstatistiksel olarak anlamlı fark yok. (?) İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı, ancak dikkat çeken özellikler var. (*) İstatistiksel çalışma yapılmadı. (**) Sadece İDK ve İLK değerlendirildi. (***) Evre IV’de bir hasta olduğu için bu hasta değerlendirme dışı bırakıldı.

5. TARTIŞMA

Meme kanseri, dünyada kadınlarda en sık görülen ve en çok ölüme neden olan malignite olup, kanserden ölümün sebebi, genellikle metastazdır [73]. Bu nedenle tümörün metastaz potansiyelinin saptanması, tedaviyi belirleyen en önemli faktördür. Tümör vaskülarizasyonunun değerlendirilmesi, özellikle metastaz riskini tahmin etmede yararlı olabilir. Son yıllarda tümör vaskülaritesi ve prognoz arasındaki ilişki, çok sayıdaki solid tümörde olduğu gibi meme kanserinde de yaygın olarak araştırılmaktadır [113-120].

Tümör anjiyogenezi, neoplazi gelişimi sırasında tümörün otonom olarak yeni ve daha fazla besleyici damarlara sahip olması gerektiği kanısı ve spesifik kan damarı belirteçlerinin (CD31, CD34, Faktör VIII vb) çokluğu nedeni ile iyi tanımlanmıştır. Tümör lenfanjiyogenezi ise geçmişte spesifik lenfatik endotelyal belirteçlerin yokluğuna bağlı olarak çelişkili bir konu olmuştur. Yakın zamana kadar farklı organlarda tümör hücrelerinin lenfatik sisteme girişi ile ilgili çok az şey biliniyordu. Son yıllarda spesifik lenfatik endotelyal belirteçlerin (LYVE-1, Podoplanin, D2-40, Prox-1, VEGFR-3 vb) bulunmasıyla kanserde lenfanjiyogenezin analizi de mümkün olmuştur [61, 112].

Anjiyogenezin değerlendirilmesinde mikrodamar yoğunluğu (MDY) ölçümleri kullanılmaktadır. Weidner ve arkadaşları tarafından 1991'de tanımlanan MDY, küçük büyütmede sayısız mikrodamar izlenimi veren "vasküler hot spot (sıcak nokta)" denilen alanlardaki damar sayımıyla saptanır [121]. Vasküler sıcak noktaların, biyolojik önemi olan lokalize alanları temsil ettiği düşünülmektedir. Çünkü bunlar baskın olarak dolaşıma girecek olan en yüksek anjiyogenik potansiyele sahip tümör hücresi klonlarından köken alırlar ve hematojen metastazlara neden olurlar.

Peter Vermulen ve arkadaşları 1996'da solid tümörlerin anjiyogenezinde damar sayımının değerlendirilmesine ait yöntem ve kriterlerle ilgili ilk uluslararası konsensusu yayınladılar [122]. Daha sonra 2002'de ikinci bir uluslararası konsensus raporu oluşturuldu [123]. Her iki raporda da damar sayımının standardizasyonunun sağlanmasıyla, anjiyogenezde tümör içi MDY'nun prognostik bir gösterge olarak kullanılabilmesi ve dahası premalign lezyonların malign transformasyon riskinin ve kanser tedavisine yanıtın güvenilir bir göstergesi olması amaçlanmıştır.

Anjiyogenez üzerine yapılan çeşitli çalışmalar [121, 124-127] sonucunda, 1999 yılında CAP (College of American Pathologists) MDY'nu meme kanseri için üzerinde daha fazla araştırma yapılması gereken (kategori III sınıfta) prognostik bir faktör olarak kabul etti

[128]. MDY ile LN metastazı veya yaşam süresi arasında anlamlı ilişki saptanmayan çalışmalar [129, 130] olsa da geniş kapsamlı çalışmalarda ve meta-analizlerde MDY'daki artış, özellikle LN negatif İMK hastalarında düşük sağkalım oranı ile ilişkili bulundu [131, 132]. Japonya'da yapılan yaklaşık 500 meme kanseri hastasında MDY'nun incelendiği bir çalışmada ise, MDY ve kan damarı invazyonunun birlikte değerlendirilmesinin, hematojen yayılımı göstermede LN metastaz durumundan daha güvenilir bir prognostik faktör olduğu belirtildi [133]. 2004 yılında bir anti-VEGF monoklonal antikoru olan Bevacizumab'ın, içlerinde meme kanserinin de olduğu birçok kanserin tedavisinde kullanılması onaylandı [42, 44].

2000'li yılların başlarından itibaren spesifik lenfatik endotelial belirteçlerle yapılan çalışmalarda lenfanjiyogenezin moleküler kontrolü, kanserde lenfanjiyogenez gelişimi ve lenfanjiyogenezin metastaz oluşumu üzerine etkisi ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır [60-62]. Meme kanserinde lenfatik damar invazyonunun prognoz üzerine olan kötü etkisinin kanıtlanmasıyla 2005 yılındaki St. Gallen Uluslararası Konsensusu'nda operabl meme kanserlerinde peritümöral LVİ varlığı, adjuvan tedavi endikasyonu olarak kabul edilmiştir [134].

Anjiyogenezle benzer olarak tümörle ilişkili lenfatik damar yoğunluğu (LDY), genellikle sıcak noktalardaki lenfatik damarların sayılmasıyla değerlendirilmiştir. Dokudaki oksijen basıncındaki lokalize değişimler anjiyogenez için gerçekten güvenilir bir yönlendirici iken, lenfanjiyogenez ve hipoksi arasındaki ilişki çelişkilidir. Bu nedenle vasküler sıcak noktalarda LDY'nun ölçülmesi, MDY'nin aksine tartışmalı bir konu olmuştur [135].

Solid tümörlerdeki lenfanjiyogenez ölçüm methodology ile ilgili ilk uluslararası konsensus 2006 yılında gerçekleştirilmiştir [136]. Buna göre LDY ölçümlerinde, lenfatik endotele yüksek derecede (%95 oranında) spesifik ve duyarlı bir belirteç olduğu kanıtlanan D2-40 kullanılmalıdır [137]. Damar yoğunluğu ölçümleri için "Chalkley nokta merceği metodu" denilen bir yöntem önerilmiştir [138]. Ayrıca D2-40 ile birlikte Ki67 İHK çalışması yapılarak proliferen ve non-prolifere lenfatik endotelial hücrelerin sayılmasının, lenfanjiyogenezin devam eden gelişimini yansıtacağı belirtilmiştir [136]. Bu yöntem, Weidner'in MDY'nun ölçümünde önerdiği metoddan daha objektiftir. Bilgisayarlı imaj analiz sistemi ise, ışık mikroskopunda gözle yapılan damar sayımlarından hem daha objektiftir hem de tekrar edilebilir niteliktedir. Bununla birlikte özel ekipman gerektirdiği için yaygın kullanıma uygun olmaması ve stromal kompartmandaki endotelial olmayan yapıların, karıştırıcı sinyaller vererek hatalı sonuçlara neden olabilmesi bu yöntemin kısıtlayıcı yönleridir [136]. Choi ve

arkadaşları 2005'te İMK'lerinde D2-40 kullanarak ışık mikroskopunda direkt gözle sayılan ve bilgisayarlı imaj analizi ile sayılan lenfatik damar sayım sonuçlarını karşılaştırmışlar, sonuçların önemli ölçüde birbirleriyle uyumlu olduğunu göstermişlerdir [139].

D2-40 seçici olarak kan damarlarını boyamayıp lenfatik damarların endotelini boyar [112]. Bununla birlikte, D2-40 komşu peritümöral parankimdeki normal duktus ve lobüllerin myoepitelyal hücrelerini de boyayabilir. Ancak myoepitelyal hücrelerdeki boyanma paterni, normalde lenfatik endotelyumun karakteristik güçlü lineer ekspresyon paterni yerine, membranöz, granüler, düzensiz, zayıf ve daha ince bir boyanma şeklindedir. Özellikle DCIS'lardaki myoepitelyal hücrelerin boyanması, boyanma paterni dikkate alınmadığında lenfatik damar invazyonu ile karışabilir [140, 141].

Aksiller LN metastazı, meme kanserlerinde sistemik metastazın genellikle ilk alanı ve önemli bir prognostik faktör olmasına rağmen, meme kanserinde lenfanjiyogenezin varlığı meme kanseri literatüründeki en çelişkili konulardan birisidir [142, 143]. Farklı kanser tiplerindeki çalışmalarda, LDY'nun derecesi ile lenfanjiyogenik faktör ekspresyonları arasında ve lenfatik metastaz varlığı ile yaşam süresi arasında önemli derecede korelasyon bulunmuştur [144-146].

Literatürde meme kanserlerinde lenfatik ve kan damarı yoğunluklarının birlikte değerlendirildiği çalışma sayısı fazla değildir. El-Gohary ve ark. yaptıkları bir çalışmada, 48 İMK'de hem tümör içi hem de tümör çevresindeki MDY ve LDY; LN metastazı, tümörün nükleer derecesi, histolojik derecesi ve klinik evre ile uyumlu bulunmuştur. Aynı çalışmada MDY ve LDY'nun, hastaların sağkalım süresi ile direkt ilişkisi gösterilememiş, ancak yüksek LDY'da daha fazla LVİ görülmesi nedeniyle bunun sağkalım süresini etkilediği söylenmiştir [119]. Choi ve ark. yaptığı benzer bir çalışmada, 29 İMK hastasında MDY ile tümörün büyüklüğü, histolojik derecesi, LN metastazı ve evre arasında anlamlı ilişki saptanırken, LDY ile LN metastazı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Aynı çalışmada ER, PR ve HER2 ile MDY ve LDY arasında korelasyon bulunmamıştır [139]. Lee ve ark. yaptığı 80 İMK'nun incelendiği bir başka çalışmada ise meme kanserinde lenfatik damar invazyonunun prognostik öneminin, kan damarı invazyonundan fazla olduğu bulunmuştur [147].

Bizim çalışmamızda İMK'lerinde damar yoğunluğunun prognostik önemini araştırabilmek için, önce tüm hastaların klinik ve histopatolojik bulguları ayrıntılı olarak araştırıldı. Buna göre çalışmamıza dahil edilen 46 İMK hastasında meme kanseri görülme yaş aralığı (27-84 yaş), genel literatürle uyumludur. Tanı sırasındaki yaş ortalaması (yaklaşık 54 yaş), Türkiye ortalamaları ile benzer değerlerdedir (Tablo 10). Yaş dağılımları ise Türkiye

ortalamları ile genel olarak uyumlu olmakla birlikte 70 yaş ve üstü hastaların sayısının fazlalığı dikkat çekicidir (Tablo 11).

Meme kanserlerinin önemli kısmı reproduktif dönemde tanı alır. Çok nadir olsa da puberteden sonra görülmeye başlar ve 25 yaşından sonra menopozal döneme kadar hızlı bir artış olur, daha sonra artış oranı azalır ve 75-80 yaşlarında zirveye eriştikten sonra hafif bir azalma görülür [6, 7]. Türkiye Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu tarafından yürütülen Meme Kanseri Hasta Kayıt Programının istatistiksel analizlerine göre, ülkemizde meme kanseri ortalama yaşı 51,5'tir (12-97 yaş aralığı) [148]. Hastaların %20,2'si ≤ 40 yaş hastalardan oluşurken 41-50 yaş, 51-70 yaş, ≥ 70 yaşlarındaki hastaların oranları sırasıyla %31, %40,7 ve %8,2'dir [74]. Bu oranlar Ortadoğu ve Asya ülkeleri ile benzerdir [149]. Batı ülkelerinde 40 yaş altındaki hastaların oranı ise %10'un altındadır [150, 151]. İngiltere'de yaşayan beyaz kadınlarda meme kanseri tanısı sırasındaki ortalama yaş 67, Afrika kökenli kadınlarda ise 46 olarak bildirilmiştir [150]. Aynı şekilde Amerika'da tanı sırasındaki ortalama yaş, beyaz kadınlarda 61, ABD'de yaşayan İspanyol veya Latin Amerika kökenli kadınlarda 56, Afrika kökenli Amerikalı kadınlarda 46 olarak bildirilmektedir.

Bizim çalışmamızda, aile öyküsünde meme kanseri olanların oranı, yaklaşık %30 bulundu. Ailede kanser öyküsü olanların sayısı ise tüm hastaların yaklaşık yarısını oluşturuyordu (Tablo 12). Bu değerler, genel literatüre göre oldukça yüksek bulundu. Genel literatürde genetik faktörlerin meme kanseri için risk faktörü olsa da hastaların çoğunda aile öyküsü olmadığı, yaklaşık %13-14 oranında aile öyküsü saptandığı bildirilmiştir [12]. Türkiye'de Meme Kanseri Hasta Kayıt Programı istatistiksel analizlerine göre meme kanserlerinde aile öyküsü %14,5 oranındadır [74]. İstanbul Tıp Fakültesi'nde yaklaşık 1500 meme kanseri hastası ve 2000 kontrol vakasıyla yapılan bir çalışmada ise meme kanserlerinde aile öyküsü oranı %25 olarak hesaplanmıştır [152].

Mammografinin 1980'li yıllardan itibaren yaygın olarak kullanılması ile küçük, LN negatif meme karsinomlarının görülme sıklığı artarken, büyük, ileri evre meme karsinomlarının (Evre II-IV) sıklığı hafif derecede azalmıştır [12]. Türkiye'de Meme Kanseri Hasta Kayıt Programı istatistiksel analizlerine göre meme kanserlerinde tanı sırasında Evre I olan hastalar %26,86, Evre II olanlar %52,82, Evre III olanlar %15,5 ve Evre IV olanlar %4,7 oranındadır. Aynı çalışmada tümör boyutlarının, hastaların %9,5'ünde ≤ 1 cm, %34,7'sinde 1-2 cm, %49,4'ünde 2-5 cm olarak tespit edildiği, 5 cm'in üzerindeki tümörlerin oranının sadece %6,4 olduğu bulunmuştur [74]. Bizim çalışmamızda hastaların tanı anında hem evresinin, hem de tümör büyüklüğünün Türkiye ortalamasından fazla olduğu görüldü. Tanı anında Evre I ve Evre IV aşamasındaki hasta oranları Türkiye ortalamasına yakınken,

özellikle Evre II'deki hastaların oranının azalıp Evre III'dekilerin artması dikkati çekti (Tablo 14). Benzer şekilde tanı anında T1 büyüklüğündeki tümörlerin oranı yaklaşık %30, T2 büyüklüğündekiler yaklaşık %40 bulunurken, T3 ve T4 büyüklüğündeki tümörlerin oranı toplam %30'u buluyordu. LN metastazı olan hastaların oranı ise yarıya yakındı ve bunların yarısından fazlası perinodal yayılım gösteriyordu. Ayrıca hastaların sadece beşte birinde LVİ tespit edilmedi, LVİ tespit edilmeyen hastalardan ikisinde perinöral invazyon mevcuttu.

Meme kanserlerinde tümörün yerleşim yeri oranı, sağ ve sol meme için çok yakın olup; sol memede sağa göre hafif derecede yüksektir. Meme tümörlerinin yaklaşık %40-50'si üst dış kadranda, % 17'si santral bölgede görülürken tümörün diğer yerleşim yerleri sıklık sırasına göre üst-iç kadran, alt-dış kadran ve alt-iç kadran şeklinde devam etmektedir [6, 7]. Çalışmamızda tümörün yerleşim yeri genel literatür bilgileriyle uyumluydu. Hastalarda sağ ve sol meme arasında belirgin fark gözlenmezken, tümörlerin yaklaşık % 60'ı dış kadran, yaklaşık % 13'ü santral bölge yerleşimli bulundu.

Multisentrisite lobüler karsinomlarda duktal karsinomlara oranla daha sık görülür. Yapılan bir çalışmada multisentrisite oranı %13,4 olarak bildirilmektedir [6]. Bizim çalışmamızda multisentrisite tespit edilen vakaların hepsi İDK (NOS) morfolojisinde olup, multisentrisite / multifokalite oranı yaklaşık %20 bulunmuştur. Bu oranın yüksekliğinin, seçilmiş bazı vakalarda radyolojik görüntüleme yöntemlerinin yardımıyla işaretlenen şüpheli alanın tümünün megakaset kullanılarak örneklenmesi sonucuna bağlı olduğu düşünülmüştür.

İMK olan hastalarda karşı memede karsinom gelişme riski, normal popülasyona göre yaklaşık beş kat fazla iken, ailede meme kanseri öyküsü varsa daha da yüksek bulunmuştur. Lobüler karsinomda ise bu oran % 25-50'ye kadar yükselebilir [6]. Çalışmamızda karşı memede yaklaşık %13 olguda invaziv karsinom, %6,5 olguda in situ karsinom saptandı. Olguların çoğu İDK (NOS) morfolojisinde olup, bilateral İMK olan vakaların yarısının 1. veya 2. derece akrabalarında meme kanseri öyküsü bulunuyordu.

Genel literatürde de İMK'larının yaklaşık %80'i İDK, diğerleri spesifik tip olarak bildirilmektedir [12]. Bizim serimizdeki İMK'larının histopatolojisi literatürle benzer bir dağılım gösteriyordu; olguların çoğunluğu (yaklaşık %85) İDK morfolojisindeydi, diğerleri spesifik tiplerdi (Tablo 14).

Bizim çalışmamızda, histolojik derece 3 (az diferansiye) ve histolojik derece 2 (orta derecede diferansiye) oranı birbirine çok yakın olup, histolojik derece 1 (iyi diferansiye) oranı yaklaşık %6,5 bulundu (Tablo 14). İngiltere'de 2000-2005 yılları arasında yapılan ulusal bir epidemiyolojik analize göre semptomatik meme kanserlerinde histolojik derecelerin oranının sırasıyla 2:3:5 (%20, %30, %50) şeklinde dağılım göstermesi ve toplam vakaların yarısının

histolojik derece 3 (az diferansiye) olması gerektiği söylenmektedir [153, 154]. Aksi halde bunun bir tespit veya değerlendirme sorunundan kaynaklanabileceği uyarısında bulunmaktadır.

Bizim çalışmamızda üç hastada cerrahi sınıra bitişik invaziv karsinom saptandı. Bu hastalara postoperatif adjuvan RT verildi. Ortalama 60 ay takip yapılan bu hastalarda lokal nüks veya uzak metastaz saptanmadı. İnvaziv ve in situ karsinomlarda cerrahi sınır negatifliği ile ilgili görüş birliği yoktur; değişik çalışmalarda 1-5 mm arasında farklı rakamlar verilmiştir [155-157]. Amerika'da lokal nüks açısından 1 mm, 2 mm ve "mikroskopik" cerrahi sınır negatifliğinde fark olmadığı söyleyen çalışmalar da vardır [158].

Meme kanseri moleküler alt tiplerini belirlemek için değişik sınıflamalar kullanılmıştır. Ancak her ne kadar farklı şekilde sınıflama yapılmış olsa da, çalışmaların hepsinde lüminal (HR eksprese eden) tip en sık görülen (yaklaşık %65–75) moleküler alt tiptir ve bu grup içinde lüminal A, lüminal B'den daha fazladır [76, 95, 101, 159]. Kuzey Amerika ve Avrupa'da meme kanserli hastaların %12-20'si bazal benzeri GEP ve/veya üçlü negatif immünofenotiptedir [80, 81, 88, 97, 160]. Benzer şekilde Çin'de yapılan yaklaşık iki bin vakalık bir çalışmada bu oran %18,5 olarak belirtilmiştir [95]. Türkiye'de, üçlü negatif meme kanseri hastalarının oranı, Hacettepe'de yapılan iki ayrı çalışmada %10,6 ve %12,3 olarak verilmiştir [161, 162]. HER2 eksprese eden tip ise genellikle üçlü negatif immünofenotipten daha az sıklıkta (%5-15) görülür [12, 97, 160, 163]. İHK yöntem ile moleküler alt tiplendirme yaptığımız bizim çalışmamızda, literatürle uyumlu olarak hastaların yaklaşık dörtte üçünün (%78,25) lüminal tipde olduğunu tespit ettik. Üçlü negatif olgular %17,39, HER2 eksprese eden tip ise %4,34 bulundu. Bununla birlikte, lüminal B oranı, lüminal A'dan biraz daha fazla bulundu (Tablo 19). Bunun nedeni HR pozitifliği ile birlikte %20'nin üzerinde Ki67 proliferasyon indeksine sahip olguları da lüminal B sınıfına almamızdan kaynaklanıyordu. Bu şekilde lüminal B grubuna alınan olgular, HR ve HER2 pozitifliği gösterenlerden fazlaydı. Bu oran, lüminal B'nin sadece %30-50'sinde HER2 ekspresyonu olduğunu söyleyen yayınlar ile uyumlu bulundu [97]. Ayrıca bizim çalışmamızda moleküler sınıflama yapılırken tüm evrelerdeki (Evre I-IV) hastalar çalışmaya dahil edildi. Hem evre hem de tümör büyüklüğünün Türkiye ortalamasından fazla olduğu hastalarımızın Ki67 proliferasyon indeksinin de yüksek olacağı ve bunun lüminal B grubu sayısını artıracacağı öngörüldü.

Bazal benzeri alt tipin bazı etnik gruplarda ve genç kadınlarda insidansı artar. Lüminal A ise daha çok postmenopozal kadınlarda sıktır [12, 95, 97, 159]. Bazı araştırmacılar Asya'lı kadınlarda lüminal A'nın gençlerde daha fazla görüldüğünü bulmuşlar ve bu sonuçların etnik farklılıktan kaynaklandığını düşünmüşlerdir [164]. Başka bir çalışmada HER2 eksprese eden

tipin yaşla ilişkisinin olmadığı, lüminal B'nin lüminal A'ya göre daha genç kadınlarda görüldüğü bildirilmiştir [159]. Bizim çalışmamızda da genel literatürle uyumlu olarak en genç yaş ortalaması bazal benzeri tipte (42 yaş) bulundu. Lüminal A'daki yaş ortalaması (59 yaş), lüminal B'dekinden (51 yaş) fazlaydı. HER2 eksprese eden tipin yaş ortalaması (52 yaş) lüminal B'ye yakın bulunurken, yaş ortalaması en büyük olan grup Null tipti (63 yaş) Ancak istatistiksel olarak hasta yaşı ile moleküler alt tipler arasında anlamlı ilişki saptayamadık (Tablo 19).

BRCA1 gen mutasyonu olan çoğu karsinom bazal benzeri tiptedir [12]. Yapılan bir çalışmada lüminal A ve HER2 eksprese eden tiplerdeki olguların çoğunun sporadik olup, bazal benzeri tümörlerin genelde ailesel olduğu bildirilmiştir [101]. Bizim çalışmamızda ailede meme kanseri öyküsü, lüminal A'da hiçbir hastada saptanmazken, en fazla (%75) null tipteki hastalarda görüldü. Ancak moleküler alt tipler ile aile öyküsü arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 20).

Histolojik olarak spesifik tip meme kanserleri, apokrin karsinom dışında, homojen olup genellikle sadece bir moleküler alt tipe aittir [92, 93]. Apokrin karsinom pleomorfik lobüler karsinom ile birlikte “moleküler apokrin” denilen ayrı bir grup içinde toplanmıştır. Artmış androjen sinyalizasyonuna sahip meme kanserlerinin spesifik bir alt grup oluşturduğunu öne süren araştırmacılar, bu fikirlerini apokrin karsinom ve pleomorfik lobüler karsinomun birlikte görülmesi gerçeği ile desteklemektedirler [165]. Hem DCIS hem de invaziv apokrin karsinom İHK olarak hemen her zaman ER (-)/AR (+)'dir. Ancak nadiren ER (-)/AR (-) veya ER (+) fenotipler de bildirilmiştir [94]. Apokrin karsinomların yarıya yakını HER2 pozitifdir, ayrıca yüksek oranda EGFR ve CK5/6 pozitifliği gösterirler. Dolayısıyla apokrin karsinomların bir kısmı HER2 grubuyla bir kısmı da bazal benzeri meme kanserleriyle İHK olarak benzer. Ancak moleküler apokrin tip meme karsinomları, belirgin bir şekilde HER2 grubuyla örtüşse de bazal benzeri gruptan ayrı tanımlanmış bir grup gen göstermektedirler [166]. 2009 St. Gallen Konsensusu'nda apokrin karsinom, medüller karsinom ve adenoid kistik karsinomun üçlü negatif meme kanserleri içinde sınıflanabileceği ancak iyi prognozlarından dolayı bazal benzeri tipten ayrılması gerektiği ve bu hastalara KT gerekmediği kararı alınmıştır [167]. Bu nedenle ER (-)/PR (-)/HER2 (-) apokrin karsinomların, bazal benzeri karsinomlardan ayırımında AR kullanılmasının gerekli olduğu söyleyen çalışmalar vardır [166]. Bizim çalışmamızda histolojisi apokrin karsinom ile uyumlu olan 83 yaşındaki hasta klinik Evre IV (T4N3M1) aşamasındaydı, ayrıca hastada postoperatif 9. ayda lokal nüks ve çoklu uzak organ metastazı da (kemik, karaciğer, akciğer) gelişti. Hastanın İHK bulgularında ER (-)/PR (-)/HER2 (-)/EGFR (-) olup AR ve CK 5/6 pozitif

bulundu. Ancak hasta agresif klinik seyirinden dolayı bazal benzeri grupta değerlendirildi. Bazal benzeri gruptaki diğer hastalarımız İDK histolojisi ile uyumlu (Tablo 21).

Metaplastik karsinomlar, bazal benzeri alt tip veya claudin-low moleküler alt tipin içinde olabilir [94]. Karsinosarkomlar metaplastik meme kanserleri içinde en az görülen tiplerden biridir ve literatürde olguların çoğu 50 yaş üzerindedir [168, 169]. Bizim çalışmamızda karsinosarkom tanısı alan hastamız 75 yaşında olup üçlü negatif (ER, PR ve HER2 negatif). Ancak tekrarlanan çalışmalara rağmen CK 5/6 ve EGFR ile pozitif boyanma göstermediği için Null tip içinde değerlendirildi. Çalışmamızda İLK hastalarının hepsi lüminal gruba girerken, İDK tanısı alanlar tüm moleküler alt tipleri içeriyordu. Tümörün histolojik tipi ile moleküler alt tipi arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 21).

Moleküler çalışmalar, tümör davranışının belirlenmesinde tümör biyolojisinin önemini ortaya koymuştur. Farklı histolojik derecedeki kanserler genom ve protein düzeyinde ayrı moleküler profiller sergilerler; histolojik derece I ve histolojik derece III tümörler aslında ayrı ayrı hastalıklardır. Tümörün histolojik derecesinin, tümörün moleküler özelliklerini, lenf nodu tutulumu ve tümör boyutundan daha iyi yansıttığı gösterilmiştir [170]. Lüminal A moleküler alt tipindeki tümörler genellikle düşük histolojik derece gösterirken, bazal benzeri alt tipin histolojik derecesi genellikle yüksektir [88, 91]. Bizim çalışmamızda tümörün moleküler alt tipi ile histolojik derecesi ve tümör büyüklüğü arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Ancak bütün histolojik derece I tümörler lüminal A grubundaydı. Ayrıca null tipin tamamı, bazal tipin yaklaşık %75'i derece III tümörlerden oluşuyordu. Lüminal B ve HER2 eksprese eden gruplarda ise, birbirine yakın oranda (yaklaşık %50 oranında) derece II ve derece III tümörler bulunuyordu (Tablo 22).

Lüminal B ve HER2 moleküler alt tiplerin LN metastaz eğilimi vardır [12, 89]. Bizim çalışmamızda literatür bilgileriyle uyumlu olarak lüminal A'ların yaklaşık 3/4'ü LN metastazı yapmazken lüminal B'lerin yaklaşık 2/3'ü LN metastazı gösteriyordu. HER2 eksprese eden grupta vaka sayısı az olsa da hastaların tamamında LN metastazı olması dikkat çekiciydi. Bazal ve null tiplerin 3/4'ünde LN metastazı yoktu. Tümörün moleküler alt tipi ile LN metastazı arasında anlamlı ilişki saptandı (Tablo 24).

Lüminal A'da ER ile ilişkili genler daha fazla eksprese edilirken, lüminal B'de proliferatif genlerin ekspresyonu daha fazladır. Bazal benzeri alt tip ve HER2 eksprese eden tipin genellikle yüksek proliferasyon hızları vardır [12, 87, 91, 171]. HR negatif kanserler genellikle agresiftirler ve kötü prognoza sahiptirler. Üçlü negatif meme kanserlerinde tümör boyutlarının daha büyük, p53 ekspresyonunun daha yüksek, lokal nüks ve uzak metastazın daha fazla olduğunu söyleyen çalışmalar vardır [88, 171]. Bununla birlikte LN negatif meme

kanserlerinde p53 ekspresyonunun prognostik değerinin olmadığını söyleyen çalışmalar da bulunmaktadır [172]. Bizim alışmamızda tümörün moleküler alt tipi ile evre ve Ki67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı ilişki saptandı (Tablo 25 ve 27); tümör büyüklüğü ve p53 ekspresyonu ile anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 23 ve 26). Lüminal A'nın %80'i Evre I ve Evre II tümörlerden oluşurken, Lüminal B'nin yarısı, HER2 eksprese eden grubun hepsi Evre III tümörlerden oluşuyordu. Bazal benzeri tip tümörlerin %75'i Evre I ve II tümörlerden, null tipin %75'i ise Evre II tümörlerden oluşuyordu (Tablo 27). Lüminal A grubunun %75'inde Ki67 proliferasyon indeksi %20'nin altındayken, bazal benzeri grubun yarısında, null tipin %75'inde, lüminal B'nin yaklaşık %90'ında, HER2 eksprese eden tipin ise tamamında Ki67 proliferasyon indeksi %20'nin üstünde idi. %70'in üzerinde Ki67 proliferasyon indeksi gösteren az sayıdaki vaka ise lüminal B ve null tipteydi (Tablo 25).

Bizim alışmamızda lokal nüks gelişen hasta sayısı 2, uzak metastaz gelişen toplam hasta sayısı 6 olup, vakaların 3'nde uzak metastaz tanı sırasında vardı, diğer 3' ise postoperatif takipler sırasında tespit edilmişti. Moleküler alt tip olarak lokal nüks gelişen iki hastadan biri bazal benzeri tip, diğeri null tipti. Tanı sırasında varolan metastaz vakalarından ikisi lüminal A, biri bazal benzeri moleküler alt tipte iken, takip sırasında ortaya çıkan metastaz vakalarının ise biri lüminal A, ikisi null tip olarak sınıflandırılmıştı.

Çalışmamızda MDY ve LDY lmleri, ölçüm alanı “ tümör içi, tümör sınırı ve tümör dışı” olmak üzere üç bölgeye ayrılarak yapıldı. Bu şekilde yapılan ayrımla hem tümör içi-tümör sınırı, hem tümör içi-tümör dışı hem de tümör sınırı-tümör dışı damar yoğunluklarının karşılaştırılabilmesi amaçlandı.

Neoadjuvan tedavi almamış hasta grubunda (Grup 1) damar yoğunluğ ölçümü yapılan bütün alanlar arasında (tümör içi-tümör sınırı, tümör sınırı-tümör dışı, tümör içi-tümör dışı), hem MDY'de hem de LDY'da anlamlı fark saptandı (Tablo 28 ve 30). Tümör sınırındaki MDY ve LDY, tümör içi ve tümör dışına göre belirgin şekilde fazlaydı. Bu bulgu tümörde anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin varlığını kanıtlar nitelikteydi. Ayrıca MDY tümör içinde tümör dışına göre, LDY tümör dışında tümör içine göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fazla bulundu. MDY'nin tümör içinde fazla bulunması tümör anjiyogenezini destekliyordu. LDY'nun tümör dışında fazla bulunması ise bize göre, tümör lenfanjiyogenezinin, tümör anjiyogenezinden farklı mekanizmaları olabileceğini gösteriyordu. Literatürde solid tümörlerde özellikle de İMK'lerindeki peritümöral lenfatik damarların varlığına ilişkin fikir birliğine rağmen [115-117, 173, 174], intratümöral lenfatik damarların varlığı çelişkili bir konu olmuştur. Geçmişteki bazı çalışmalarda solid tümörlerde proliferasyon olan kanser hücrelerine bağlı olarak artan interstisyel basıncı nedeniyle, intratümöral lenfatik

damarların olmadığı, tümör sınırındaki lenfatiklerin tümör hücrelerinin yayılımını kolaylaştırdığı kabul edilmiştir [175, 176]. İMK'larında RNA izolasyonu ile yapılan bir RT-PCR çalışmasında ise intratümöral lenfatiklerin varlığı gösterilmiştir [177]. Bazı çalışmalarda ise intratümöral lenf damarlarının, peritümöral bölgedeki lümenleri açık lenf damarlarının aksine, düzleşmiş yapıda olduklarına dikkat çekilmiştir [119]. Bununla birlikte peritümöral değil, intratümöral lenfatik damarların lenfatik metastaz için önemli olduğunu belirten birçok çalışma da vardır [118, 178, 179].

Neoadjuvan tedavi alan hasta grubunda (Grup 2), tedavi almayan grupla benzer şekilde tümör sınırındaki MDY ve LDY, tümör içi ve tümör dışına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulundu. Ancak bu grupta tümör içi-tümör dışı MDY ve LDY'da anlamlı fark bulunmadı (Tablo 28 ve 31). Neoadjuvan tedavi alan grupta tümör içi MDY azalma eğiliminde iken, LDY artma eğilimi gösteriyordu. Bunun nedeninin daha çok tedaviye bağlı olarak gelişen nekroza kaynaklandığı düşünüldü.

Tüm hastalardaki (Grup 1+Grup 2) tümör dışı damar yoğunluğu (MDY ve LDY) ölçümleri, kontrol grubundaki (Grup 3) adenozis çevresi ve adenozis dışı alandaki damar yoğunluğu ölçümleri ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (Tablo 32). Bu bulgu anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin tümöre özgü olarak geliştiğini, tümör dışını fazla etkilemediğini destekler nitelikteydi.

Hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda adenozis çevresindeki alanlarda MDY ölçümlerinin, adenozis dışı alandakinden fazla olması dikkat çekici bulundu (Tablo 33 ve 34). Ölçüm yapılan hasta grubundaki adenozis çevresi damar yoğunluğu (MDY ve LDY) ölçümleri ise, kontrol grubundakilerle istatistiksel olarak farklı değildi. Her iki grubun ölçümündeki benzerlik, mekanizmanın aynı olduğunu gösteriyordu. Literatürde adenozis çevresi ve adenozis dışı damar yoğunluklarının karşılaştırıldığı bir çalışma bulunamadı.

MDY ve LDY arasında ne Grup 1'de ne de Grup 2'de bir korelasyon bulunmadı (Tablo 35). Bu bulgu, anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin gelişiminde hipoksi gibi ortak tetikleyici mekanizmaların varlığıyla ilgili bilgilerle uyumlu değildi.

Damar yoğunluklarının (MDY) ve LDY), klinik, histopatolojik bulgularla ve moleküler özelliklerle karşılaştırmasını yapabilmek için sadece neoadjuvan tedavi almamış hasta grubunda (Grup 1) araştırma yaptık.

Buna göre hasta yaşı, tümörün moleküler alt tipi, ER/PR/HER2 pozitifliği ve tümör içindeki nekroz oranıyla MDY yoğunluğu arasında, tümörün histolojik tipi, tümör büyüklüğü, LN metastazı, klinik evre ve HER2 pozitifliği ile LDY arasında anlamlı fark saptandı. Tümörün histolojik derecesi, yerleşim yeri, Ki67 proliferasyon indeksi, p53 ekspresyonu,

tümördeki yaygın DCIS varlığı, tümöre karşı gelişen iltihabi ve stromal yanıt ile damar yoğunlukları (MDY ve LDY) arasında ise anlamlı fark saptanmadı. Grup 1’de sadece üç hastada uzak metastaz (biri tanı sırasında mevcut olan, diğer ikisi postoperatif takip sırasında ortaya çıkan) ve iki hastada lokal nüks olduğu için, bu hastalarda damar yoğunlukları açısından istatistiksel karşılaştırma yapılmadı. Ayrıca meme kanseri nedeniyle kaybedilen hastamız olmadığı için, sağkalım süreleri ile damar yoğunlukları açısından araştırma yapılmadı (Tablo 54).

Hasta yaşıyla, ortalama damar yoğunluğu ölçümleri değerlendirildiğinde hem tümör içi, hem tümör sınırı hem de tümör dışı alanda MDY ile hasta yaş grupları arasında anlamlı fark saptandı. MDY ölçümleri, 40 yaş altındaki hasta grubunda en fazla iken, 40-60 yaş arasındaki hastalarda daha az, 60 yaş üstü grupta en az bulundu. Hasta yaşıyla LDY ölçümleri arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 36).

Tümörün histolojik tipi ile ortalama damar yoğunluğu ölçümleri arasındaki istatistiksel karşılaştırma, diğer histolojik tiplerde birer tane vaka olduğu için İDK ve İLK arasında yapılabildi. Buna göre İDK ve İLK’daki damar yoğunlukları (MDY ve LDY) karşılaştırıldığında; sadece tümör içi LDY ölçümlerinde anlamlı fark bulundu. İLK’lardaki tümör içi LDY, İDK’daki LDY’den anlamlı olarak daha fazlaydı. Ayrıca istatistiksel hesaplamaya girmeyen diğer histolojik tiplerdeki damar yoğunluklarında da dikkat çekici farklılıklar görüldü. Özellikle apokrin karsinom ve karsinosarkom olgularında tümör sınırındaki MDY’leri, ortalama damar yoğunluğunun üzerinde bulundu (Tablo 37)

Tümörün büyüklüğü ile ortalama damar yoğunlukları arasındaki ölçümlerde sadece tümör sınırındaki LDY ölçümlerinde anlamlı fark saptandı. Tümör büyüdükçe tümör sınırındaki LDY’nun arttığı görüldü. Buna göre LDY, T1 grubuna giren tümörlerde en az, T2 ‘de daha fazla, T3’de en fazla bulundu. T4 grubuna giren tümörler ise T3’dekine yakın değerlerde LDY’na sahipti. Tümör büyüklüğü ile MDY arasında ise anlamlı fark saptanmadı (Tablo 39).

LN metastazı ile damar yoğunlukları arasındaki ölçümlerde sadece tümör sınırındaki LDY ölçümlerinde anlamlı fark saptandı. Buna göre LN olmayan tümörlerde tümör sınırındaki LDY en az bulunurken, N1, N2 ve N3 grubuna giren tümörlerde sırayla artan oranda LDY tespit edildi. LN metastaz durumu ile MDY arasında ise anlamlı fark saptanmadı (Tablo 40). Literatürde çeşitli çalışmalarda, peritümöral LDY’nun LN metastazlarının varlığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [115-117, 173, 174]. Ayrıca retrospektif bir çalışmada Dadras ve ark., peritümöral lenfatik damarların büyüklüğünün insan malign melanomlarındaki LN metastazı ile korelasyon gösteren en anlamlı bağımsız faktör olduğunu bulmuşlardır [115].

Tümördeki nekroz oranına göre ortalama damar yoğunlukları değerlendirildiğinde, tümör içi ve tümör sınırındaki MDY'lerinde anlamlı farklılık bulundu (Tablo 48). Nekroz oranı arttıkça tümör içi ve tümör sınırındaki MDY'nun arttığı görüldü. Bu bulgu, genel kabul gören "hipoksi ile anjiyogenezin uyarıldığı" görüşüyle uyumlu bulundu [26, 27]. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, nekroz oranı arttıkça LDY'nun düşme eğiliminde olması, "hipoksi ile lenfanjiyogenezin uyarıldığı [60-62]" görüşüyle uyumsuzdu. Bu nedenle anjiyogenezle lenfanjiyogenezin gelişim mekanizmaları arasında farklılıklar olabileceği düşünüldü.

Tümörün evresi ile ortalama damar yoğunluğu ölçümleri arasında istatistiksel karşılaştırma yaparken Evre IV'de tek hasta olduğu için bu grup hesaplama dışı bırakıldı. Bununla birlikte tümörün evresi ile ortalama damar yoğunlukları değerlendirildiğinde tümör sınırı ve tümör dışındaki LDY'lerinde anlamlı farklılık bulundu. Buna göre tümörün evresi arttıkça tümör sınırı ve tümör dışındaki LDY'nun arttığı görüldü. Tümörün evresi ile MDY arasında ise anlamlı fark saptanmadı (Tablo 51).

Tümörün yerleşim yeri ile damar yoğunlukları (MDY ve LDY) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemekle birlikte, tümör sınırındaki MDY'nun, dış kadran yerleşimli tümörlerde, santral ve iç kadran yerleşimli tümörlere göre daha fazla olması dikkat çekici bulundu. Ayrıca yaygın yerleşim ve multisentrisite nedeniyle lokalize edilemeyen tümörlerde özellikle tümör sınırında, MDY diğer (dış kadran, iç kadran ve santral bölge) yerleşimli tümörlerden daha az bulunurken, LDY'nun daha fazla olduğu görüldü (Tablo 46). Tümöre karşı gelişen iltihabi yanıt ile damar yoğunlukları (MDY ve LDY) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemekle birlikte, tümöre karşı gelişen iltihabın derecesi arttıkça tümör içi ve tümör sınırında MDY'daki artış dikkat çekici bulundu (Tablo 49).

Tümörün moleküler alt tipi, ortalama damar yoğunlukları ile birlikte değerlendirildiğinde, tümör içindeki ve tümör sınırındaki MDY'leri arasında anlamlı fark bulundu. Üçlü negatif meme kanserlerindeki tümör içi ve tümör sınırındaki MDY değerlerinin diğer moleküler tiplerden belirgin şekilde fazla olduğu görüldü. HER2 eksprese eden grupta ise tümör sınırındaki LDY ölçümlerinin diğer moleküler alt tiplere göre daha yüksek seviyede olması dikkat çekiciydi. Lüminal A ve lüminal B grupları arasında damar yoğunlukları açısından belirgin farklılık izlenmedi. Aynı şekilde bazal benzeri tip ve null tip arasında belirgin farklılık tespit edilmedi (Tablo 41).

Tümörün ER ve PR boyanma durumuna göre ortalama damar yoğunlukları değerlendirildiğinde tümör içi ve tümör sınırındaki MDY'lerinde anlamlı derecede fark saptanırken, LDY açısından belirgin fark izlenmedi. MDY açısından ER negatif tümörlerde

tümör içinde ve tümör sınırında, ER pozitif tümörlere göre belirgin derecede farklılık izlenirken, ER boyanma şiddeti ile damar yoğunlukları arasında anlamlı fark izlenmedi. Benzer şekilde MDY açısından PR negatif tümörlerde, PR pozitif tümörlere göre belirgin derecede farklılık gözlenirken, ER boyanma şiddeti ile damar yoğunlukları arasında anlamlı fark tespit edilmedi. Sonuç olarak HR negatif tümörlerdeki tümör içi ve tümör sınırı MDY, HR pozitif gruba göre anlamlı derecede fazla bulundu. Ortalama damar yoğunlukları tümörün HER2 boyanma durumuna göre değerlendirildiğinde ise, tümör sınırındaki LDY'da anlamlı derecede farklılık bulundu. Buna göre HER2 pozitif tümörlerde, tümör sınırındaki LDY, HER2 negatif tümörlerden anlamlı derecede yüksek bulundu. Ayrıca HER2 negatif grupta tümör içi ve tümör sınırındaki MDY, HER2 pozitif gruptakine göre fazla bulundu. Üçlü negatif (ER, PR, HER2 negatif) grupta ise tümör içi ve tümör sınırındaki MDY, HR pozitif gruptaki MDY'dan daha da fazlaydı (Tablo 42 ve 43) (Fotoğraf 3, 7 ve 8).

Meme kanserlerinde moleküler alt tipler ile damar yoğunluğu ilişkisi, yakın zamana kadar üzerinde fazla araştırma yapılmamış bir konuydu. 2009 yılında Çin'de yapılan LN negatif 90 İMK hastasının dahil edildiği bir çalışmada üçlü negatif meme kanserleri diğer moleküler tiplerle karşılaştırıldı [180]. Buna göre üçlü negatif meme kanserlerinde LDY, lenfatik invazyon ve VEGF-C&VEGF-D ekspresyonunun anlamlı derecede yüksek olduğu gösterildi. 2010 yılında yine Çin'de yapılan 108 İMK hastasının incelendiği bir başka çalışmada ise MDY ve LDY ile tümör boyutu, tümörün histolojik derecesi, LN metastazı ve evre arasında pozitif korelasyon bulunduğu halde ER, PR ve HER2 durumu ile damar yoğunlukları arasında ilişki saptanmamıştır [181]. 2010 yılında Avusturya'da yapılan yaklaşık 150 vakalık bir çalışmada HER2 ekspresyonu ile VEGF-C ekspresyonu arasında, VEGF-C ile LDY arasında ve LDY ile LVI arasında anlamlı ilişki bulundu [182]. 2011 yılında Romanya'da yapılan yine küçük bir çalışmada ise İHK olarak LDY, VEGF-C ve VEGFR-3 ile meme kanseri moleküler alt tipleri arasındaki ilişki araştırılmıştır [183]. Buna göre; bu belirteçlerin en yüksek olduğu alt tipler HER2 eksprese eden tip ve lüminal B iken, bazal benzeri tip belirteçlerin en düşük bulunduğu tiptir. HER2 eksprese eden tip; LDY, VEGF-C ve VEGFR-3 ile pozitif korelasyonun olduğu tek moleküler alt tiptir. İntratümöral ve peritümöral LDY'nin en düşük olduğu alt tip ise null tiptir. 2011 yılında Amerika'da yapılan yaklaşık 1800 İMK hastasında İHK olarak VEGF ile moleküler alt tiplerin ilişkisi ve yaşam süresinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise VEGF ekspresyonu ile moleküler alt tipler arasında anlamlı ilişki bulunmuştur [184]. Buna göre; lüminal A ile karşılaştırıldığında lüminal B, HER2 ve bazal benzeri tipte VEGF düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca VEGF ekspresyonunun prognostik bir belirteç olmakla birlikte, non-metastatik meme kanseri

hastalarının hormonal tedaviye cevabı açısından prediktif bir değeri olmadığı saptanmıştır. 2011 yılında İngiltere’de E.A. Rakha’nın da aralarında bulunduğu bir grup araştırmacı yaklaşık 1000 İMK hastasında MDY ve LDY’nu birlikte değerlendirmişler, sonuçta üçlü negatif meme kanserlerinde MDY’nun diğer moleküler alt tiplerden anlamlı derecede yüksek, vasküler invazyon oranının ise benzer olduğunu bulmuşlardır [185]. Bu nedenle üçlü negatif meme kanserlerinin anti-anjiyogenik tedaviden fayda görebileceğini söylemişlerdir. Ayrıca vasküler invazyonun sağkalım süresini azalttığını tespit etmişlerdir. Daha sonra yine 2011 yılında yapılan 430 İMK’nun incelendiği çok merkezli başka bir çalışmada da benzer şekilde, vasküler proliferasyonun bazal benzeri alt tipte arttığı saptanmış; bu bulgunun tedavi için hedef olabileceği belirtilmiştir [186]. Bu çalışmanın devamında 2012’de yayınlanan diğer bir yayında meme kanserinde mikrovasküler proliferasyonun, özellikle yüksek histolojik dereceye sahip ER negatif tümörlerde, hastalığın progresyonu açısından önemli olduğu bulunmuştur [187].

Bizim çalışmamız genel olarak değerlendirildiğinde tümör sınırında MDY’nu etkileyen faktörlerin hasta yaşı, tümörün moleküler alt tipi, tümörün ER, PR, HER2 pozitifliği ve tümörün nekroz oranı olması (Tablo 54) şöyle bir yorumu akla getirmektedir: “Tümördeki MDY’nu etkileyen ana etkenler; tümördeki ER, PR, HER2 pozitifliği dolayısıyla tümörün moleküler alt tipidir. Hasta yaşı ve nekroz oranı ise MDY’nu etkileyen sekonder etkenlerdir.” Çünkü bizim Grup 1’deki hastalarımız içinde %25’in üstünde nekrozu olan üç vaka vardı ve bunların hepsi üçlü negatif (ER, PR, HER2 negatif) immünotipideydi. Hasta yaşı ise sadece tümör sınırındaki değil, tümör içindeki ve tümör dışındaki MDY’nu da etkiliyordu (Tablo 36). Sonuç olarak üçlü negatif meme kanserlerindeki MDY, diğer moleküler alt tiplere göre daha fazla bulunmuştur (Tablo 41) (Fotoğraf 3, 7 ve 8). Bu bulgu literatürdeki son yapılan çalışmalar ile uyumludur [185-187].

Çalışmamız genel olarak değerlendirildiğinde, tümör sınırındaki LDY’nu etkileyen etkenlerin tümör büyüklüğü, LN metastazı, evre ve tümördeki HER2 boyanma durumu olduğu saptanmıştır (Tablo 54). Buradaki üç etkenin meme kanseri için majör prognostik faktör [12] olması dikkati çekicidir. Diğer bir majör prognostik faktör olan uzak metastaz durumu, metastatik hasta sayısının azlığından dolayı bizim çalışmamızda değerlendirilememiştir. Ancak Grup 1’de tanı sırasında metastazı olan tek hastamızın, tümör sınırı LDY değerinin, metastazı olmayan hastalardan daha fazla olduğu görülmüştür (Tablo 52). Literatürde LDY ile metastaz arasında anlamlı ilişkinin saptandığı çalışmalar vardır [59]. Buna göre “meme kanserinde tümör sınırı LDY’nu etkileyen başlıca etkenlerin, majör prognostik faktörler ve tümörün HER2 boyanma durumu olduğu” söylenebilir.

6. SONUÇ

Meme kanserlerinde tümör yayılımının lenfatik damarlar ile bölgesel LN'larına ve sonrasında sistemik dolaşıma doğru olması, genel olarak kabul edilen metastaz yolağıdır. Ancak hematojen ve lenfojen yolak arasındaki rölatif katkıyı belirlemek çok zordur.

Meme kanseri için LN tutulumu ve uzak metastaz gelişimi en önemli prognostik faktörlerdir. Böyle önemli prognostik faktörleri düzenleyen mekanizmaların araştırılması, altta yatan agresif moleküler bir yolak olup olmadığının klinik olarak tespitini sağlayabilir. Tümör gelişimindeki anjiyogenez ve lenfanjiyogenez mekanizmalarının tam olarak anlaşılması, hem hastalarda potansiyel LN metastazı ve uzak metastaz gelişimini önleyecek tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde hem de uzak metastaz riskinin tespit edilerek sağkalım süresinin tahmin edilmesinde yararlı olabilir.

Biz bu çalışmada İMK'deki kan ve lenf damarı yoğunluklarının hem birbirleriyle, hem moleküler alt tiplerle, hem de klinik ve histopatolojik bulgularla korelasyonunu inceledik. Amacımız tümör anjiyogenez ve lenfanjiyogenezinin moleküler sınıflama ile varsa örtüşen noktalarını ortaya çıkarmak ve diğer prognostik faktörlerle ilişkisini incelemektir.

Çalışmamız sonucunda, genel literatürle uyumlu olarak tümör sınırındaki MDY ve LDY, tümör içi ve tümör dışına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Tümör içi MDY, genellikle tümör sınırındaki MDY ile benzer oranlardaydı. Tümör içi LDY'nun ise özellikle neoadjuvan tedavi alan hasta grubunda arttığı saptandı. Tümör içi LDY, literatürde tartışmalı bir konu olmuştur. Bizim gözlemimize göre, tümördeki hem MDY hem de LDY değerlendirilirken, özellikle tümör sınırındaki ölçümler esas alınmalıdır. Bununla birlikte tümör içi MDY ölçümleri de dikkate alınabilir. Ancak tümör içinde lenf damarları çoğu zaman kollabe görünümde olduğundan, tümör içi LDY ölçümleri yanıltıcı sonuçlar verebilir. Tümör dışı damar yoğunluğu ise kontrol grubuyla benzerdir.

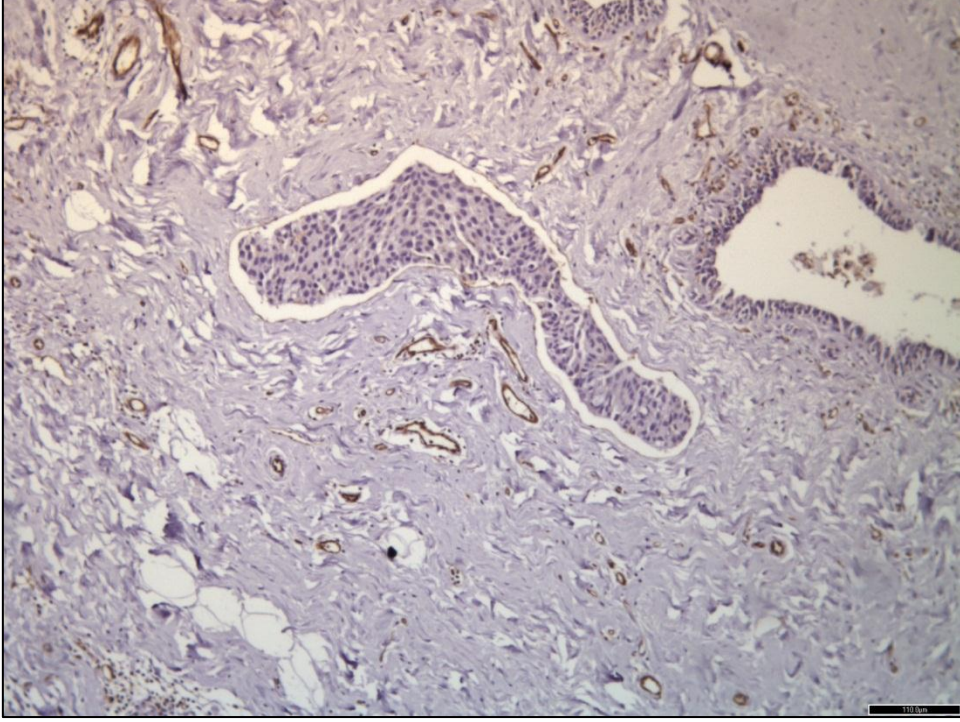
Bu çalışmada gerek tümör sınırı ve tümör dışı alandaki damar yoğunluğu ölçümlerinin gerekse hasta ve kontrol grubunda yapılan ölçümlerin karşılaştırmaları sonucunda tümörde anjiyogenez ve lenfanjiyogenez gelişimi gösterildi. Ancak tümörde MDY ve LDY arasında korelasyon bulunmadı. Bu bulgu, anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin gelişiminde hipoksi gibi ortak tetikleyici mekanizmaların varlığıyla ilgili mevcut bilgilerle uyumlu değildi. Bu nedenle anjiyogenez ve lenfanjiyogenezin gelişim mekanizmaları arasında farklılıklar olabileceği düşünüldü.

Damar yoğunluğunu ölçümleri ile birlikte moleküler, klinik ve histopatolojik bulgular genel olarak değerlendirildiğinde tümör sınırında MDY'nu etkileyen faktörlerin hasta yaşı, tümörün moleküler alt tipi, tümörün ER, PR, HER2 pozitifliği ve tümörün nekroz oranı olduğu bulundu. Üçlü negatif meme kanserlerindeki tümör içi ve tümör sınırı MDY'nun, diğer moleküler alt tiplere göre daha fazla olduğu görüldü (Tablo 41) (Fotoğraf 3, 7 ve 8). Genel olarak değerlendirildiğinde, tümör sınırındaki LDY'nu etkileyen etkenlerin tümör büyüklüğü, LN metastazı, evre ve tümördeki HER2 boyanma durumu olduğu saptanmıştır. Tümörün histolojik derecesi, yerleşim yeri, Ki67 proliferasyon indeksi, p53 ekspresyonu, tümördeki yaygın DCIS varlığı, tümöre karşı gelişen iltihabi ve stromal yanıt ile damar yoğunlukları (MDY ve LDY) arasında ise anlamlı fark saptanmadı.

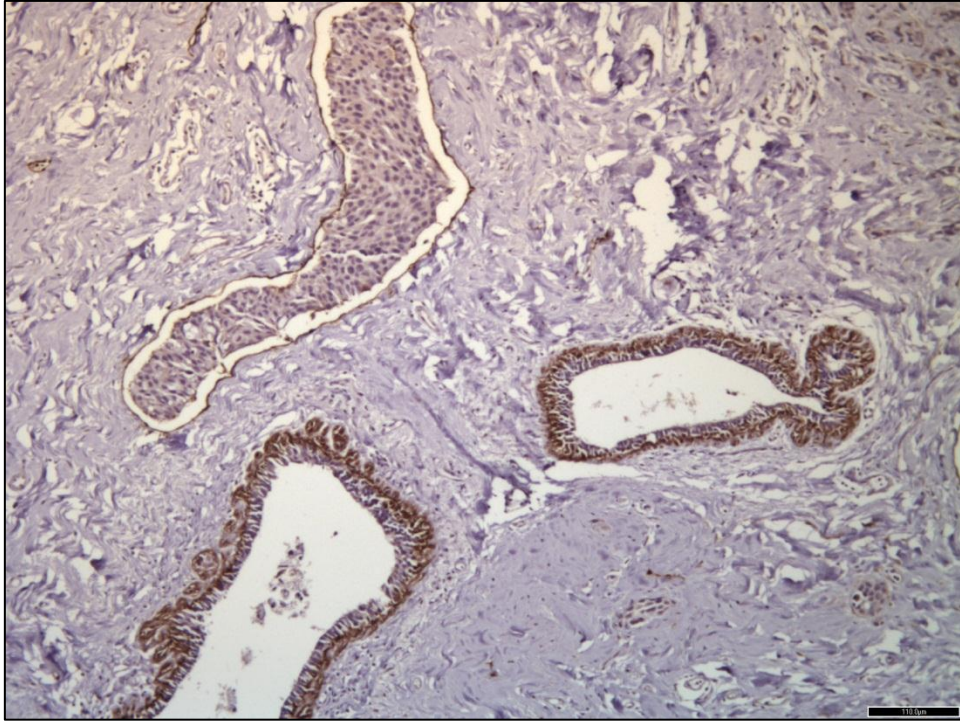
Literatürde anjiyogenez ve lenfanjiyogenez ile ilgili çok fazla çalışma olmasına rağmen, bu çalışmalarda genellikle sadece anjiyogenez veya sadece lenfanjiyogenez ile ilgili araştırmalar yapıldığı görülmektedir. Halbuki uzak metastaz gelişiminde hematojen ve lenfojen yolak arasındaki rölatif katkıyı belirlemek önemli olabilir. Ayrıca yakın zamana kadar gözardı edilse de, tümörün ER, PR, HER2 pozitifliğini araştıran çalışmalar, özellikle tümör anjiyogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir. Moleküler çalışmaların yoğun bir şekilde meme kanseri tanı ve tedavisine girdiği günümüzde, biz tümörün moleküler yapısıyla vaskülarizasyonu arasında örtüşen alanlar bulunabileceğini düşünmekteyiz.

Bizim çalışmamız, meme kanseri anjiyogenez ve lenfanjiyogenez mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasında bir ipucu niteliğinde olabilir. Ancak hasta sayısının az olması ve hasta dağılımının gruplar arasında dengesiz olması, bu çalışmanın kısıtlayıcı yönleri olmuştur. Bu nedenle MDY ve LDY'nun birlikte ölçüldüğü, ayrıntılı olarak klinik ve histopatolojik özelliklerinin incelendiği ulusal düzeyde çok merkezli çalışmaların yapılmasının ve hastaların moleküler özelliklerinin araştırılmasının uygun olacağı görüşündeyiz. Ancak sonuçları tümüyle değiştirebileceğinden özellikle damar yoğunluğu ölçümlerinde ve tümörün moleküler alt tiplendirmesinde standardizasyonun sağlanmasının çok önemli olduğununun bilinciyle hareket etmemiz gerekir.

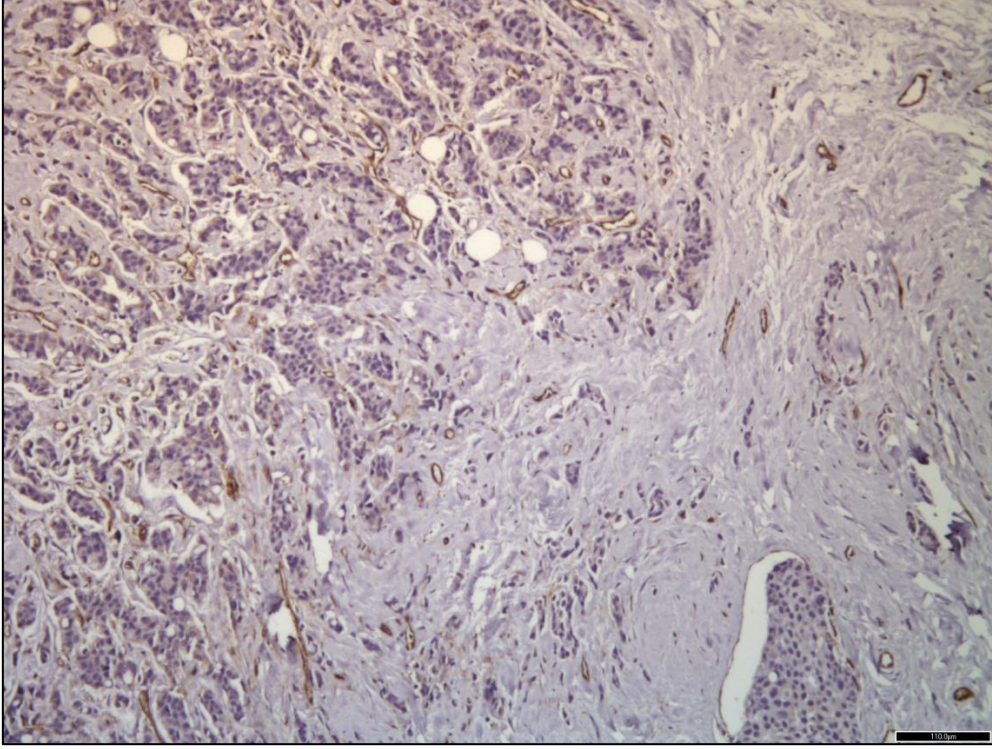
7. FOTOĞRAFLAR



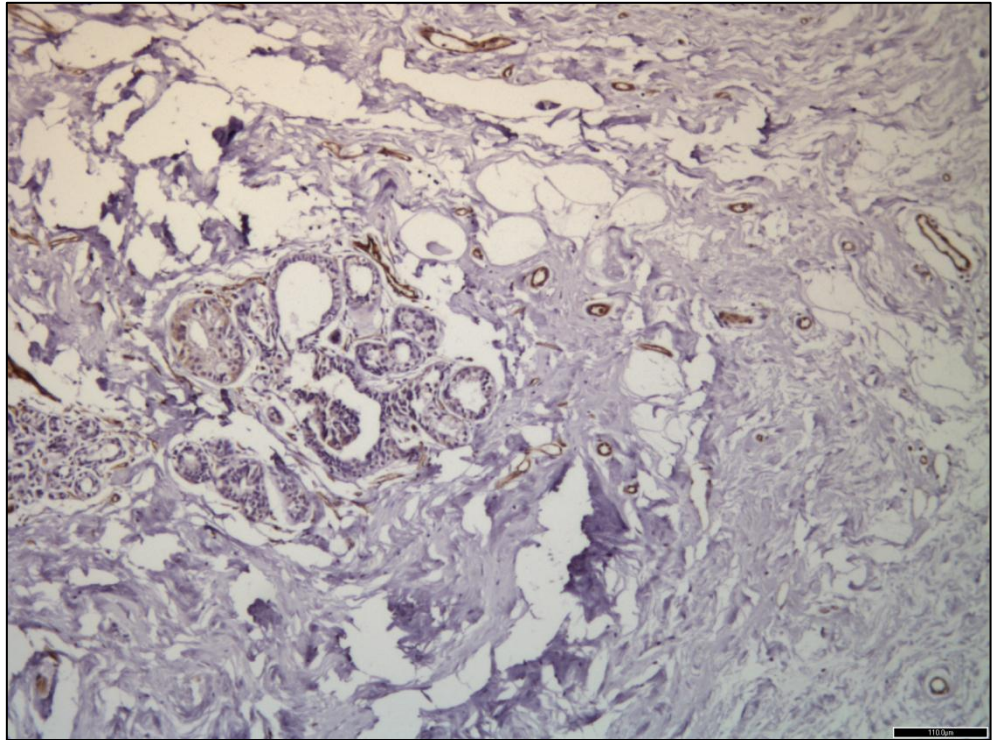
Fotoğraf 1. Tümör sınırında CD31 ile LVİ alanında lenfatik damar endoteli boyanmadı, çevredeki mikrovasküler damarların endoteli boyandı. (10x10)



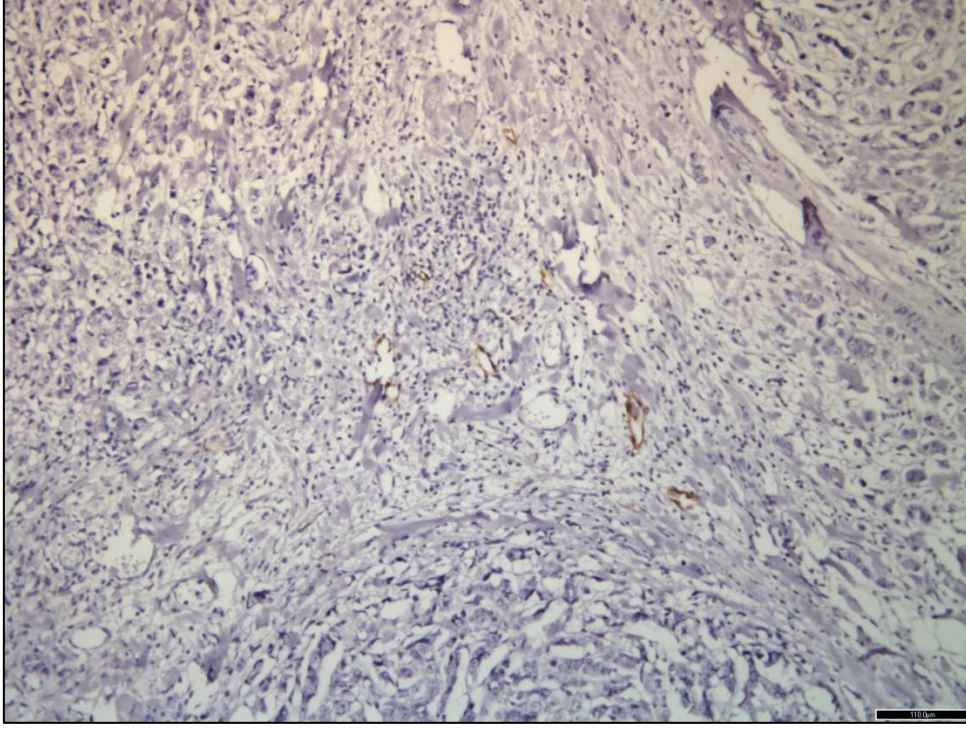
Fotoğraf 2. Fotoğraf 1'deki aynı alanda, D2-40 ile LVİ alanındaki lenfatik damar endoteli boyandı, çevredeki mikrovasküler damar endoteli boyanmadı. Ancak çevre duktusların myoepitelyal hücrelerinde aberan boyanma izlendi. (10x10)



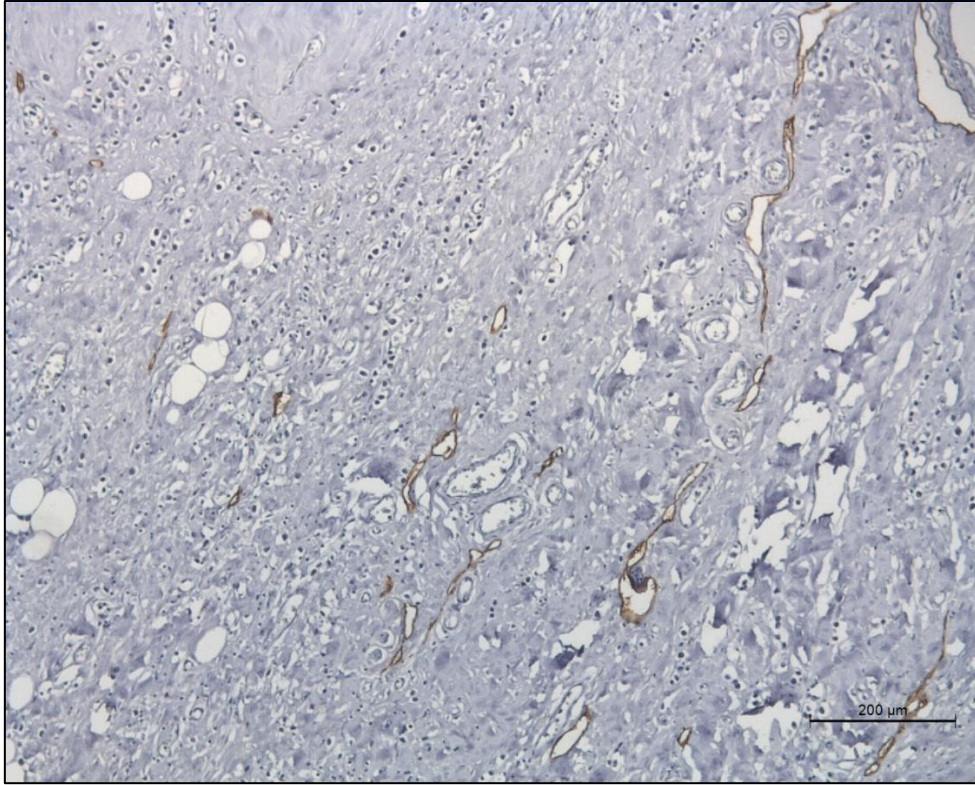
Fotoğraf 3. ER pozitif tümör sınırında CD31 ile boyanan mikrovasküler damarlar (10x10)



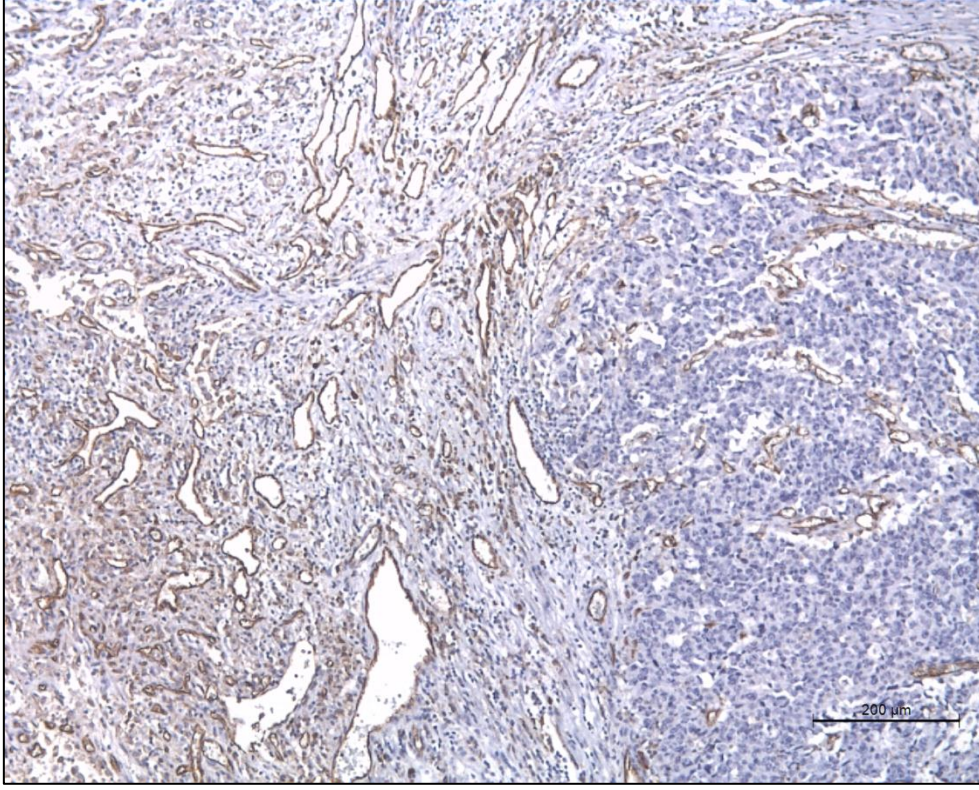
Fotoğraf 4. Tümör dışındaki adenozis alanlarının çevresinde CD31 ile boyanan mikrovasküler damarlar (10x10)



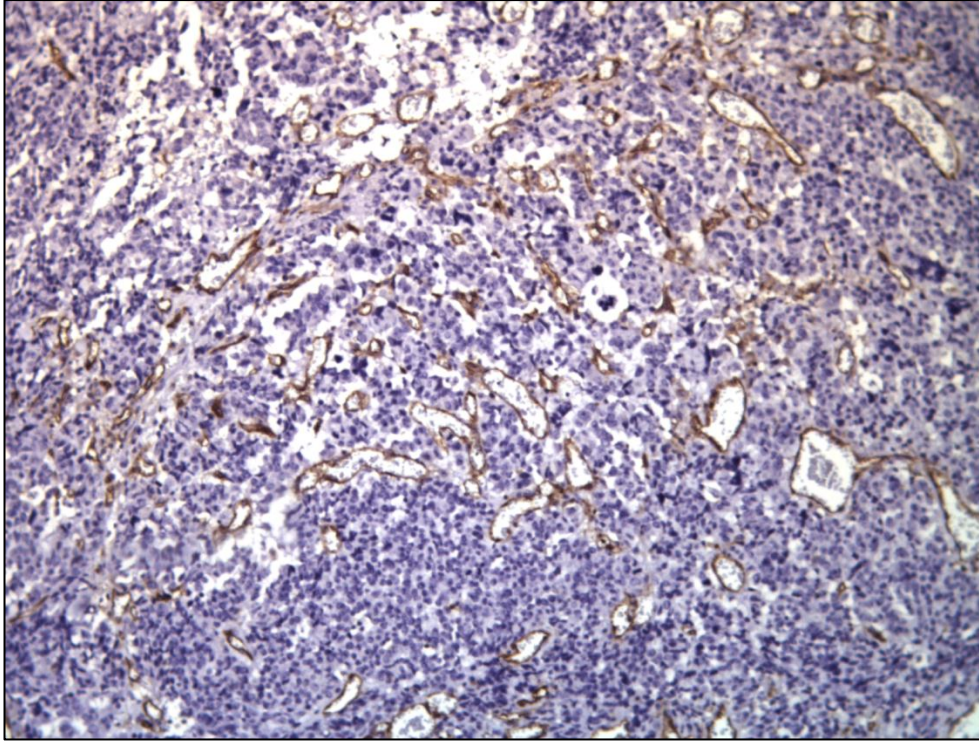
Fotoğraf 5. İnvaziv duktal karsinomda tümör içinde D2-40 ile boyanan lenfatik damarlar (10x10)



Şekil 6. İnvaziv lobüler karsinomda tümör içinde D2-40 ile boyanan lenfatik damarlar (10x10)



Fotoğraf 5. Bazal benzeri tip (üçlü negatif) tümör sınırında CD31 ile boyanan mikrovasküler damarlar (10x10)



Fotoğraf 5. Bazal benzeri tip (üçlü negatif) tümör içinde CD31 ile boyanan mikrovasküler damarlar (20x10)

KAYNAKLAR

1. Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM. Gray's Anatomy for Students. Toronto, Ontario: Elsevier Churchill Livingstone, **2005**.
2. Kopuz C. Göğüs Ön ve Yan Duvarlarının Anatomisi. In: Yucel O, Genç O, eds. Torasik Konjenital Anomaliler ve Cerrahisi. Ankara: Journal of Clinical and Analytical Medicine Kitap serisi, Derman Tıbbi Yayıncılık **2011**:42-51.
3. Rosen PP. Rosen's Breast Pathology. 3 ed. New York: Lippincott Williams and Wilkins, **2009**.
4. Ferner H, Staubesand J. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası. 18 ed. Munchen, **1985**.
5. AJCC Cancer Staging Manual. In: Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, eds. Breast. 7 ed. Chicago: American Joint Committee of Cancer, Springer Co, **2010**:345-76.
6. Breast. In: Rosai J, ed. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10 ed. Edinburgh: Elsevier Co, **2011**:1659-770.
7. Tavassoli FA, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press, **2003**.
8. Collins LC, Schnitt SJ. Breast. In: Mills SE, Sternberg SS, eds. Histology for Pathologists. 3 ed. New York: Lippincott Williams and Wilkins, **2004**:55-71.
9. Tavassoli FA. Normal development and anomalies. In: Tavassoli FA, ed. Pathology of the Breast 2ed: Appleton&Lange, **1999**:1-24.
10. Howard BA, Gusterson BA. Human breast development. J Mammary Gland Biol Neoplasia **2000** Apr;5(2):119-37.
11. Monaghan P, Perusinghe NP, Cowen P, Gusterson BA. Peripubertal human breast development. Anat Rec **1990** Apr;226(4):501-8.
12. Lester SC. The Breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, eds. Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, **2010**:1065-95.
13. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. J Pathol **2004** Jun;203(2):661-71.
14. Elizabeth M, Hammond H. Hormone receptors in breast cancer: Clinical utility and guideline recommendations to improve test accuracy. In: Dizon DS, ed. Uptodate, **May 2012**.
15. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression and co-expression of the members of the epidermal growth factor receptor (EGFR) family in invasive breast carcinoma. Br J Cancer **2004** Oct 18;91(8):1532-42.
16. Boecker W, Buerger H. Evidence of progenitor cells of glandular and myoepithelial cell lineages in the human adult female breast epithelium: a new progenitor (adult stem) cell concept. Cell Prolif **2003** Oct;36 Suppl 1:73-84.
17. Bocker W, Hungermann D, Decker T. Anatomy of the breast. Pathologe **2009** Feb;30(1):6-12.
18. Gusterson BA, Ross DT, Heath VJ, Stein T. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. Breast Cancer Res **2005**;7(4):143-8.
19. Luo J, Yin X, Ma T, Lu J. Stem cells in normal mammary gland and breast cancer. Am J Med Sci **2010** Apr;339(4):366-70.
20. 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** Dec;198(4):458-67.
21. Prat A, Perou CM. Mammary development meets cancer genomics. Nat Med **2009** Aug;15(8):842-4.
22. Hennessy BT, Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. Cancer Res **2009** May 15;69(10):4116-24.
23. Farrar WB, Walker MJ, Minton JP. Physiology of the breast. In: Donegan WL, Spratt JS, eds. Cancer of the breast. 4 ed: W.B.Saunders, **1995**:43-51.
24. Brisken C, O'Malley B. Hormone action in the mammary gland. Cold Spring Harb Perspect Biol **2010** Dec;2(12):a003178.

25. Augustin HG. Angiogenesis in the female reproductive system. In: Clauss M, Breier G, eds. *Mechanisms of angiogenesis*. Basel: Birkhauser Verlag, **2005**:35-52.
26. Tissue renewal, regeneration, and repair. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, eds. *Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, **2010**:79-110.
27. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* **2003** Jun;9(6):669-76.
28. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* **2003** Jun;9(6):653-60.
29. Sadler TW. Third to eight weeks: The embryonic period. *Langman's Medical Embryology*. 12 ed. Montana: Lippincott William Wilkins, **2012**:63-85.
30. Shoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. Development of the Vasculature. *Larsen's Human Embryology*. 4 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, **2009**:385-433.
31. Dvorak HF. VPF/VEGF and the angiogenic response. *Semin Perinatol* **2000** Feb;24(1):75-8.
32. Yazır Y. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF):Reseptörleri ve Fonksiyonları. *Cumhuriyet Üniv Tıp Fak Derg* **2007**;29(3):128-36.
33. Brown LF, Detmar M, Claffey K, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS* **1997**;79:233-69.
34. Holderfield MT, Hughes CC. Crosstalk between vascular endothelial growth factor, notch, and transforming growth factor-beta in vascular morphogenesis. *Circ Res* **2008** Mar 28;102(6):637-52.
35. Siekmann AF, Covassin L, Lawson ND. Modulation of VEGF signalling output by the Notch pathway. *Bioessays* **2008** Apr;30(4):303-13.
36. Iivanainen E, Kahari VM, Heino J, Elenius K. Endothelial cell-matrix interactions. *Microsc Res Tech* **2003** Jan 1;60(1):13-22.
37. Stupack DG, Cheresch DA. Integrins and angiogenesis. *Curr Top Dev Biol* **2004**;64:207-38.
38. Bornstein P, Sage EH. Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Curr Opin Cell Biol* **2002** Oct;14(5):608-16.
39. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* **1997** Jan 24;88(2):277-85.
40. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol* **2002** Dec;29(6 Suppl 16):15-8.
41. Nagy JA, Dvorak AM, Dvorak HF. VEGF-A and the induction of pathological angiogenesis. *Annu Rev Pathol* **2007**;2:251-75.
42. Stricker TP, Kumar V. Neoplasia. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, eds. *Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, **2010**:359-30.
43. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer* **2003** Jun;3(6):401-10.
44. Sonpavde G. Bevacizumab in colorectal cancer. *N Engl J Med* **2004** Oct 14;351(16):1690-1; author reply -1.
45. Sahai E. Illuminating the metastatic process. *Nat Rev Cancer* **2007** Oct;7(10):737-49.
46. Overall CM, Kleinfeld O. Tumour microenvironment - opinion: validating matrix metalloproteinases as drug targets and anti-targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* **2006** Mar;6(3):227-39.
47. Rydlova M, Holubec L, Jr., Ludvikova M, Jr., et al. Biological activity and clinical implications of the matrix metalloproteinases. *Anticancer Res* **2008** Mar-Apr;28(2B):1389-97.
48. Roy R, Yang J, Moses MA. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. *J Clin Oncol* **2009** Nov 1;27(31):5287-97.
49. John A, Tuszynski G. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis. *Pathol Oncol Res* **2001**;7(1):14-23.
50. Amalinei C, Caruntu ID, Giusca SE, Balan RA. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. *Rom J Morphol Embryol* **2010**;51(2):215-28.
51. Martin MD, Matrisian LM. The other side of MMPs: protective roles in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* **2007** Dec;26(3-4):717-24.
52. Tlsty TD, Coussens LM. Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu Rev Pathol* **2006**;1:119-50.

53. Lin EH, Jiang Y, Deng Y, Lapsiwala R, Lin T, Blau CA. Cancer stem cells, endothelial progenitors, and mesenchymal stem cells: "seed and soil" theory revisited. *Gastrointest Cancer Res* **2008** Jul;2(4):169-74.
54. Fidler IJ. Seed and soil revisited: contribution of the organ microenvironment to cancer metastasis. *Surg Oncol Clin N Am* **2001** Apr;10(2):257-69, vii-viii.
55. Ramaswamy S, Ross KN, Lander ES, Golub TR. A molecular signature of metastasis in primary solid tumors. *Nat Genet* **2003** Jan;33(1):49-54.
56. Hynes RO. Metastatic potential: generic predisposition of the primary tumor or rare, metastatic variants-or both? *Cell* **2003** Jun 27;113(7):821-3.
57. Nguyen DX, Massague J. Genetic determinants of cancer metastasis. *Nat Rev Genet* **2007** May;8(5):341-52.
58. Hunter KW. Host genetics and tumour metastasis. *Br J Cancer* **2004** Feb 23;90(4):752-5.
59. Yang H, Crawford N, Lukes L, Finney R, Lancaster M, Hunter KW. Metastasis predictive signature profiles pre-exist in normal tissues. *Clin Exp Metastasis* **2005**;22(7):593-603.
60. Christiansen A, Detmar M. Lymphangiogenesis and cancer. *Genes Cancer* **2011** Dec;2(12):1146-58.
61. Albrecht I, Christofori G. Molecular mechanisms of lymphangiogenesis in development and cancer. *Int J Dev Biol* **2011**;55(4-5):483-94.
62. Ran S, Volk L, Hall K, Flister MJ. Lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in breast cancer. *Pathophysiology* **2010** Sep;17(4):229-51.
63. Pepper MS. Lymphangiogenesis and tumor metastasis: myth or reality? *Clin Cancer Res* **2001** Mar;7(3):462-8.
64. Reis-Filho JS, Schmitt FC. Lymphangiogenesis in tumors: what do we know? *Microsc Res Tech* **2003** Feb 1;60(2):171-80.
65. Cassella M, Skobe M. Lymphatic vessel activation in cancer. *Ann N Y Acad Sci* **2002** Dec;979:120-30.
66. Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG, et al. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. *Nat Med* **2001** Feb;7(2):192-8.
67. Karpanen T, Egeblad M, Karkkainen MJ, et al. Vascular endothelial growth factor C promotes tumor lymphangiogenesis and intralymphatic tumor growth. *Cancer Res* **2001** Mar 1;61(5):1786-90.
68. Oliver G, Detmar M. The rediscovery of the lymphatic system: old and new insights into the development and biological function of the lymphatic vasculature. *Genes Dev* **2002** Apr 1;16(7):773-83.
69. Salven P, Lymboussaki A, Heikkila P, et al. Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C are expressed in human tumors. *Am J Pathol* **1998** Jul;153(1):103-8.
70. George ML, Tutton MG, Janssen F, et al. VEGF-A, VEGF-C, and VEGF-D in colorectal cancer progression. *Neoplasia* **2001** Sep-Oct;3(5):420-7.
71. Muller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* **2001** Mar 1;410(6824):50-6.
72. Hirakawa S, Kodama S, Kunstfeld R, Kajiya K, Brown LF, Detmar M. VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J Exp Med* **2005** Apr 4;201(7):1089-99.
73. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* **2011** Mar-Apr;61(2):69-90.
74. Özmen V. Dünyada ve Türkiye’de Meme Kanseri. *Meme Sağ Derg* **2008**;4(2):2-9.
75. 2011 Türkiye İstatistik Yıllığı. Ankara: Türkiye İstatistik Kurumu Matbaası, **2012**.
76. Wiechmann L, Sampson M, Stempel M, et al. Presenting features of breast cancer differ by molecular subtype. *Ann Surg Oncol* **2009** Oct;16(10):2705-10.
77. Andea AA, Bouwman D, Wallis T, Visscher DW. Correlation of tumor volume and surface area with lymph node status in patients with multifocal/multicentric breast carcinoma. *Cancer* **2004** Jan 1;100(1):20-7.
78. Page DL, Ellis IO, Elston CW. Histologic grading of breast cancer. Let's do it. *Am J Clin Pathol* **1995** Feb;103(2):123-4.

79. Sundquist M, Thorstenson S, Brudin L, Nordenskjold B. Applying the Nottingham Prognostic Index to a Swedish breast cancer population. South East Swedish Breast Cancer Study Group. *Breast Cancer Res Treat* **1999** Jan;53(1):1-8.
80. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* **2000** Aug 17;406(6797):747-52.
81. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2003** Jul 8;100(14):8418-23.
82. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2001** Sep 11;98(19):10869-74.
83. Pusztai L, Ayers M, Stec J, et al. Gene expression profiles obtained from fine-needle aspirations of breast cancer reliably identify routine prognostic markers and reveal large-scale molecular differences between estrogen-negative and estrogen-positive tumors. *Clin Cancer Res* **2003** Jul;9(7):2406-15.
84. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2003** Sep 2;100(18):10393-8.
85. Fan C, Oh DS, Wessels L, et al. Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer. *N Engl J Med* **2006** Aug 10;355(6):560-9.
86. Hu Z, Fan C, Oh DS, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics* **2006**;7:96.
87. Rakha EA, Ellis IO. Triple-negative/basal-like breast cancer: review. *Pathology* **2009** Jan;41(1):40-7.
88. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* **2007** Jan 1;109(1):25-32.
89. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* **2005** Oct 10;23(29):7350-60.
90. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn HJ. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol* **2011** Aug;22(8):1736-47.
91. Geyer FC, Rodrigues DN, Weigelt B, Reis-Filho JS. Molecular classification of estrogen receptor-positive/luminal breast cancers. *Adv Anat Pathol* **2012** Jan;19(1):39-53.
92. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: how special are they? *Mol Oncol* **2010** Jun;4(3):192-208.
93. Weigelt B, Horlings HM, Kreike B, et al. Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types. *J Pathol* **2008** Oct;216(2):141-50.
94. Masuda S. Breast cancer pathology: the impact of molecular taxonomy on morphological taxonomy. *Pathol Int* **2012** May;62(5):295-302.
95. Zhao J, Liu H, Wang M, et al. Characteristics and prognosis for molecular breast cancer subtypes in Chinese women. *J Surg Oncol* **2009** Aug 1;100(2):89-94.
96. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* **2006** Feb;19(2):264-71.
97. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* **2008** Mar 1;14(5):1368-76.
98. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* **2004** Aug 15;10(16):5367-74.
99. Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, Kim HH, Kim SB, Gong G. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol* **2006** Sep;37(9):1217-26.

100. Liu H, Fan Q, Zhang Z, Li X, Yu H, Meng F. Basal-HER2 phenotype shows poorer survival than basal-like phenotype in hormone receptor-negative invasive breast cancers. *Hum Pathol* **2008** Feb;39(2):167-74.
101. Matos I, Dufloth R, Alvarenga M, Zeferino LC, Schmitt F. p63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch* **2005** Oct;447(4):688-94.
102. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* **2009** May 20;101(10):736-50.
103. Subik K, Lee JF, Baxter L, et al. The Expression Patterns of ER, PR, HER2, CK5/6, EGFR, Ki-67 and AR by Immunohistochemical Analysis in Breast Cancer Cell Lines. *Breast Cancer (Auckl)* **2010**;4:35-41.
104. Charpin C, Tavassoli F, Secq V, et al. Validation of an immunohistochemical signature predictive of 8-year outcome for patients with breast carcinoma. *Int J Cancer* **2012** Aug 1;131(3):E236-43.
105. O'Toole SA, Selinger CI, Millar EK, Lum T, Beith JM. Molecular assays in breast cancer pathology. *Pathology* **2011** Feb;43(2):116-27.
106. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* **1998** Feb;11(2):155-68.
107. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* **1999** May;17(5):1474-81.
108. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* **2010** Jun 1;28(16):2784-95.
109. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Senn HJ. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer. *J Clin Oncol* **2001** Sep 15;19(18):3817-27.
110. Meme Çalışma Grubu, Meme Patolojisi Rehberi, 2010: Patoloji Dernekleri Federasyonu, **2010**.
111. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst* **2011** Nov 16;103(22):1656-64.
112. Van den Eynden GG, Van der Auwera I, Van Laere SJ, et al. Distinguishing blood and lymph vessel invasion in breast cancer: a prospective immunohistochemical study. *Br J Cancer* **2006** Jun 5;94(11):1643-9.
113. Kawakami M, Furuhashi T, Kimura Y, et al. Expression analysis of vascular endothelial growth factors and their relationships to lymph node metastasis in human colorectal cancer. *J Exp Clin Cancer Res* **2003** Jun;22(2):229-37.
114. Niki T, Iba S, Tokunou M, Yamada T, Matsuno Y, Hirohashi S. Expression of vascular endothelial growth factors A, B, C, and D and their relationships to lymph node status in lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* **2000** Jun;6(6):2431-9.
115. Dadras SS, Paul T, Bertoncini J, et al. Tumor lymphangiogenesis: a novel prognostic indicator for cutaneous melanoma metastasis and survival. *Am J Pathol* **2003** Jun;162(6):1951-60.
116. Franchi A, Gallo O, Massi D, Baroni G, Santucci M. Tumor lymphangiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma: a morphometric study with clinical correlations. *Cancer* **2004** Sep 1;101(5):973-8.
117. Hachisuka T, Narikiyo M, Yamada Y, et al. High lymphatic vessel density correlates with overexpression of VEGF-C in gastric cancer. *Oncol Rep* **2005** Apr;13(4):733-7.
118. Beasley NJ, Prevo R, Banerji S, et al. Intratumoral lymphangiogenesis and lymph node metastasis in head and neck cancer. *Cancer Res* **2002** Mar 1;62(5):1315-20.
119. El-Gohary YM, Metwally G, Saad RS, Robinson MJ, Mesko T, Poppiti RJ. Prognostic significance of intratumoral and peritumoral lymphatic density and blood vessel density in invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* **2008** Apr;129(4):578-86.

120. Pallares J, Rojo F, Iriarte J, Morote J, Armadans LI, de Torres I. Study of microvessel density and the expression of the angiogenic factors VEGF, bFGF and the receptors Flt-1 and FLK-1 in benign, premalignant and malignant prostate tissues. *Histol Histopathol* **2006** Aug;21(8):857-65.
121. 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.
122. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, et al. Quantification of angiogenesis in solid human tumours: an international consensus on the methodology and criteria of evaluation. *Eur J Cancer* **1996** Dec;32A(14):2474-84.
123. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, et al. Second international consensus on the methodology and criteria of evaluation of angiogenesis quantification in solid human tumours. *Eur J Cancer* **2002** Aug;38(12):1564-79.
124. Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol* **1992** Apr;3(2):65-71.
125. Fox SB. Tumour angiogenesis and prognosis. *Histopathology* **1997** Mar;30(3):294-301.
126. Weidner N. Tumor angiogenesis: review of current applications in tumor prognostication. *Semin Diagn Pathol* **1993** Nov;10(4):302-13.
127. Weidner N. Tumoural vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow. *J Pathol* **1998** Feb;184(2):119-22.
128. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* **2000** Jul;124(7):966-78.
129. Ludovini V, Sidoni A, Pistola L, et al. Evaluation of the prognostic role of vascular endothelial growth factor and microvessel density in stages I and II breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* **2003** Sep;81(2):159-68.
130. Fridman V, Humblet C, Bonjean K, Boniver J. Assessment of tumor angiogenesis in invasive breast carcinomas: absence of correlation with prognosis and pathological factors. *Virchows Arch* **2000** Dec;437(6):611-7.
131. Uzzan B, Nicolas P, Cucherat M, Perret GY. Microvessel density as a prognostic factor in women with breast cancer: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Cancer Res* **2004** May 1;64(9):2941-55.
132. Hansen S, Grabau DA, Sorensen FB, Bak M, Vach W, Rose C. The prognostic value of angiogenesis by Chalkley counting in a confirmatory study design on 836 breast cancer patients. *Clin Cancer Res* **2000** Jan;6(1):139-46.
133. Kato T, Kameoka S, Kimura T, Nishikawa T, Kobayashi M. The combination of angiogenesis and blood vessel invasion as a prognostic indicator in primary breast cancer. *Br J Cancer* **2003** Jun 16;88(12):1900-8.
134. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* **2005** Oct;16(10):1569-83.
135. Shields JD, Borsetti M, Rigby H, et al. Lymphatic density and metastatic spread in human malignant melanoma. *Br J Cancer* **2004** Feb 9;90(3):693-700.
136. Van der Auwera I, Cao Y, Tille JC, et al. First international consensus on the methodology of lymphangiogenesis quantification in solid human tumours. *Br J Cancer* **2006** Dec 18;95(12):1611-25.
137. Evangelou E, Kyzas PA, Trikalinos TA. Comparison of the diagnostic accuracy of lymphatic endothelium markers: Bayesian approach. *Mod Pathol* **2005** Nov;18(11):1490-7.
138. Fox SB, Gatter KC, Leek RD, et al. More about: Tumor angiogenesis as a prognostic assay for invasive ductal breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* **2000** Jan 19;92(2):161-2.
139. Choi WW, Lewis MM, Lawson D, et al. Angiogenic and lymphangiogenic microvessel density in breast carcinoma: correlation with clinicopathologic parameters and VEGF-family gene expression. *Mod Pathol* **2005** Jan;18(1):143-52.
140. Kanner WA, Galgano MT, Atkins KA. Podoplanin expression in basal and myoepithelial cells: utility and potential pitfalls. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* **2010** May;18(3):226-30.

141. Rabban JT, Chen YY. D2-40 expression by breast myoepithelium: potential pitfalls in distinguishing intralymphatic carcinoma from in situ carcinoma. *Hum Pathol* **2008** Feb;39(2):175-83.
142. Vleugel MM, Bos R, van der Groep P, et al. Lack of lymphangiogenesis during breast carcinogenesis. *J Clin Pathol* **2004** Jul;57(7):746-51.
143. Agarwal B, Saxena R, Morimiya A, Mehrotra S, Badve S. Lymphangiogenesis does not occur in breast cancer. *Am J Surg Pathol* **2005** Nov;29(11):1449-55.
144. Kandemir NO, Barut F, Bektas S, Ozdamar SO. Can lymphatic vascular density be used in determining metastatic spreading potential of tumor in invasive ductal carcinomas? *Pathol Oncol Res* **2012** Apr;18(2):253-62.
145. Shayan R, Achen MG, Stacker SA. Lymphatic vessels in cancer metastasis: bridging the gaps. *Carcinogenesis* **2006** Sep;27(9):1729-38.
146. Stacker SA, Baldwin ME, Achen MG. The role of tumor lymphangiogenesis in metastatic spread. *FASEB J* **2002** Jul;16(9):922-34.
147. Lee JA, Bae JW, Woo SU, Kim H, Kim CH. D2-40, Podoplanin, and CD31 as a Prognostic Predictor in Invasive Ductal Carcinomas of the Breast. *J Breast Cancer* **2011** Jun;14(2):104-11.
148. <http://www.mdkk.org/memekanseri>.
149. Agarwal G, Pradeep PV, Aggarwal V, Yip CH, Cheung PS. Spectrum of breast cancer in Asian women. *World J Surg* **2007** May;31(5):1031-40.
150. Bowen RL, Duffy SW, Ryan DA, Hart IR, Jones JL. Early onset of breast cancer in a group of British black women. *Br J Cancer* **2008** Jan 29;98(2):277-81.
151. Hankey BF, Miller B, Curtis R, Kosary C. Trends in breast cancer in younger women in contrast to older women. *J Natl Cancer Inst Monogr* **1994**(16):7-14.
152. Ozmen V, Ozcinar B, Karanlik H, et al. Breast cancer risk factors in Turkish women--a University Hospital based nested case control study. *World J Surg Oncol* **2009**;7:37.
153. <http://www.cancerscreening.nhs.uk/breastscreen/publications/nhsbsp58-poster.pdf>.
154. Pathology reporting of breast disease, A Joint Document Incorporating the Third Edition of the NHS Breast Screening Programme's Guidelines for Pathology Reporting in Breast Cancer Screening and the Second Edition of The Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Cancer Histopathology: NHSBSP Publication No 58, **2005**.
155. Dunne C, Burke JP, Morrow M, Kell MR. Effect of margin status on local recurrence after breast conservation and radiation therapy for ductal carcinoma in situ. *J Clin Oncol* **2009** Apr 1;27(10):1615-20.
156. Zavagno G, Goldin E, Mencarelli R, et al. Role of resection margins in patients treated with breast conservation surgery. *Cancer* **2008** May 1;112(9):1923-31.
157. Houvenaeghel G, Lambaudie E, Buttarelli M, et al. [Margin status in invasive breast cancer]. *Bull Cancer* **2008** Dec;95(12):1161-70.
158. Şahin AA. Surgical margin evaluation in patients treated with breast-conserving therapy. In: Robb GL, Singletary SE, eds. *Advanced Therapy of Breast Disease* 2ed: BC Decker, **2004**:341-9.
159. Ihemelandu CU, Leffall LD, Jr., Dewitty RL, et al. Molecular breast cancer subtypes in premenopausal and postmenopausal African-American women: age-specific prevalence and survival. *J Surg Res* **2007** Nov;143(1):109-18.
160. Dawood S, Hu R, Homes MD, et al. Defining breast cancer prognosis based on molecular phenotypes: results from a large cohort study. *Breast Cancer Res Treat* **2011** Feb;126(1):185-92.
161. Aksoy S, Dizdar O, Harputluoglu H, Altundag K. Demographic, clinical, and pathological characteristics of Turkish triple-negative breast cancer patients: single center experience. *Ann Oncol* **2007** Nov;18(11):1904-6.
162. Turkoz FP, Solak M, Petekkaya I, et al. Association between common risk factors and molecular subtypes in breast cancer patients. *Breast* **2012** Sep 13.
163. Malhotra GK, Zhao X, Band H, Band V. Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biol Ther* **2010** Nov;10(10):955-60.

164. Lin CH, Liao JY, Lu YS, et al. Molecular subtypes of breast cancer emerging in young women in Taiwan: evidence for more than just westernization as a reason for the disease in Asia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2009** Jun;18(6):1807-14.
165. Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene* **2005** Jul 7;24(29):4660-71.
166. Tsutsumi Y. Apocrine carcinoma as triple-negative breast cancer: novel definition of apocrine-type carcinoma as estrogen/progesterone receptor-negative and androgen receptor-positive invasive ductal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* **2012** May;42(5):375-86.
167. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol* **2009** Aug;20(8):1319-29.
168. Pitts WC, Rojas VA, Gaffey MJ, et al. Carcinomas with metaplasia and sarcomas of the breast. *Am J Clin Pathol* **1991** May;95(5):623-32.
169. Wargotz ES, Norris HJ. Metaplastic carcinomas of the breast. III. Carcinosarcoma. *Cancer* **1989** Oct 1;64(7):1490-9.
170. 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(4):207.
171. de Ruijter TC, Veeck J, de Hoon JP, van Engeland M, Tjan-Heijnen VC. Characteristics of triple-negative breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* **2011** Feb;137(2):183-92.
172. Erdem O, Dursun A, Coskun U, Gunel N. The prognostic value of p53 and c-erbB-2 expression, proliferative activity and angiogenesis in node-negative breast carcinoma. *Tumori* **2005** Jan-Feb;91(1):46-52.
173. Bono P, Wasenius VM, Heikkila P, Lundin J, Jackson DG, Joensuu H. High LYVE-1-positive lymphatic vessel numbers are associated with poor outcome in breast cancer. *Clin Cancer Res* **2004** Nov 1;10(21):7144-9.
174. Gombos Z, Xu X, Chu CS, Zhang PJ, Acs G. Peritumoral lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor C expression in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res* **2005** Dec 1;11(23):8364-71.
175. Padera TP, Kadambi A, di Tomaso E, et al. Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumor lymphatics. *Science* **2002** Jun 7;296(5574):1883-6.
176. Clarijs R, Ruiter DJ, de Waal RM. Lymphangiogenesis in malignant tumours: Does it occur? *J Pathol* **2001** Feb;193(2):143-6.
177. Van der Auwera I, Van Laere SJ, Van den Eynden GG, et al. Increased angiogenesis and lymphangiogenesis in inflammatory versus noninflammatory breast cancer by real-time reverse transcriptase-PCR gene expression quantification. *Clin Cancer Res* **2004** Dec 1;10(23):7965-71.
178. Maula SM, Luukka M, Grenman R, Jackson D, Jalkanen S, Ristamaki R. Intratumoral lymphatics are essential for the metastatic spread and prognosis in squamous cell carcinomas of the head and neck region. *Cancer Res* **2003** Apr 15;63(8):1920-6.
179. Kuroyama S, Kobayashi N, Ohbu M, Ohtani Y, Okayasu I, Kakita A. Enzyme histochemical analysis of lymphatic vessels in colon carcinoma: occurrence of lymphangiogenesis within the tumor. *Hepatogastroenterology* **2005** Jul-Aug;52(64):1057-61.
180. Liu HT, Ma R, Yang QF, Du G, Zhang CJ. Lymphangiogenic characteristics of triple negativity in node-negative breast cancer. *Int J Surg Pathol* **2009** Dec;17(6):426-31.
181. Zhen LF, Ye CS, Liu MF, Ding GP, Liao JJ. [Expressions of D2-40 and CD34 in invasive ductal carcinoma of the breast and the clinical implications]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* **2010** Jul;30(7):1548-51.
182. Schoppmann SF, Tamandl D, Roberts L, et al. HER2/neu expression correlates with vascular endothelial growth factor-C and lymphangiogenesis in lymph node-positive breast cancer. *Ann Oncol* **2010** May;21(5):955-60.
183. Raica M, Cimpean AM, Ceausu R, Ribatti D. Lymphatic microvessel density, VEGF-C, and VEGFR-3 expression in different molecular types of breast cancer. *Anticancer Res* **2011** May;31(5):1757-64.
184. Liu Y, Tamimi RM, Collins LC, et al. The association between vascular endothelial growth factor expression in invasive breast cancer and survival varies with intrinsic subtypes and use

- of adjuvant systemic therapy: results from the Nurses' Health Study. *Breast Cancer Res Treat* **2011** Aug;129(1):175-84.
185. Mohammed RA, Ellis IO, Mahmmod AM, et al. Lymphatic and blood vessels in basal and triple-negative breast cancers: characteristics and prognostic significance. *Mod Pathol* **2011** Jun;24(6):774-85.
186. Nalwoga H, Arnes JB, Stefansson IM, Wabinga H, Foulkes WD, Akslen LA. Vascular proliferation is increased in basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **2011** Dec;130(3):1063-71.
187. Arnes JB, Stefansson IM, Straume O, et al. Vascular proliferation is a prognostic factor in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **2012** Jun;133(2):501-10.

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİTESİ KARAR FORMU

KURUL ADI	YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİTESİ
AÇIK ADRES	YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ Devlet Yolu Ankara Cad. No: 102-104, 34752 Kozyatağı, İstanbul
TELEFON	0216 578 47 97
E-POSTA	gulin.demir@yeditepe.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	İnvaziv meme kanserlerinde , intratümöral ve peritümöral lenf ve kan damarı dağılım yoğunluğunun değerlendirilmesi ve bunun meme kanseri moleküler alt tipleriyle diğer prognostik faktörlerle ilişkisi.		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU			
	EUDRACT NUMARASI			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Araş.Gör.Dr. Ayşegül Erdem		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Patoloji		
	KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI			
	KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	T.C YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	T.C YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ			
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>
		FAZ 4 <input type="checkbox"/>	BE/BY <input type="checkbox"/>	DİĞER <input type="checkbox"/>
	İLAC ARASTIRMA <input type="checkbox"/>	DIŞI <input type="checkbox"/>	DİĞER ise belirtiniz: Belirtiniz:	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	
			ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	22.03.2011		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>	
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>	
	İLAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME
KOMİTESİ KARAR FORMU

SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>
DİĞER	<input type="checkbox"/>

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 098	Tarih:22/03 / 2010
	Araş.Gör.Dr.Ayşegül Erdem sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik bir sakınca bulunmadığına toplantıya katılan değerlendirme kurulu üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

DEĞERLENDİRME KOMİTESİ BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komitesi Kuruluş ve Çalışma Esasları.
---------------	---

DEĞERLENDİRME KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. R. Serdar ALPAN
DEĞERLENDİRME KOMİTESİ ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. R. Serdar Alpan	Farmakoloji	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. S. Sami Kartı	Hematoloji	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. M. Reha Cengizler	Pediyatri	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Serdar Öztezcan	Biyokimya	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yard. Doç. Dr. Baki Ekçi	Genel Cerrahi	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç Dr. Ferda Özkan	Patoloji	YÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yard. Doç Dr. Elif Vatanoğlu	Deontoloji	YÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Nural Bekiroğlu	Biyostatistik	MÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Esra Can Say	Diş Has. Ted.	YÜDF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Meriç Köksal	Eczacılık	YÜEF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ali Rıza Okur	Hukuk	YÜHF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Başar Atalay	Bevin Cerrahi	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

* : Araştırma ile İlişki
** : Toplantıda Bulunma

Önemli Not: Çalışmanızın Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komitesi tarafından onaylanan protokole göre yürütülmesi ve çalışma protokolündeki değişikliklerin kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.