

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

MEME KARSİNOMLARINDA ANJİOGENEZİN
HİSTOPATOLOJİK VERİLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI

(ASSESSMENT OF TUMOR ANGIOGENESIS AND
HISTOPATHOLOGICAL FEATURES IN BREAST
CARCINOMAS)

Uzmanlık Tezi

Dr. Şafak ALEMDAROĞLU ERSÖZ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Havvanur TURGUTALP

Trabzon, 2002

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
İÇİNDEKİLER	I
KISALTMALAR	II
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2-27
MATERYAL-METOD	28-30
BULGULAR	31-43
TARTIŞMA	44-48
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	49-50
ÖZET	51
İNGİLİZCE ÖZET	52
KAYNAKLAR	53-62

KISALTMALAR

İDK	İnfiltratif duktal karsinom
DKİS	Duktal karsinoma in situ
İLK	İnfiltratif lobüler karsinom
TK	Tübüler karsinom
MK	Medüller karsinom
AMK	Atipik medüller karsinom
ÖR	Östrojen reseptörü
PR	Progesteron reseptörü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
E-CD	E-Cadherin
CD	Cathepsin D
CD-st	Stromal hücrelerdeki Cathepsin D
CD-t	Tümör hücrelerindeki Cathepsin D
FVIII	Factor VIII Related Antigen

GİRİŞ

Meme karsinomları, farklı büyüme hızları ve metastaz kapasiteleri olan, değişik hücre klonlarından oluşan heterojen bir neoplazmdır. Bu özellik, aynı patolojik ve klinik evredeki hastaların farklı klinik davranışlar göstermesini kısmen açıklayabilir. Erken evre meme kanserli hastalarda; tedavi oranlarını artırabilmek için, mevcut tedavilerin daha fazla yarar sağlayabileceği yollardan biri, daha belirleyici prognostik faktörlerin kullanılmasıdır. Böylece yüksek risk grubundaki hastalar saptanabilir. Bu açıdan tümör anjiogenezisi umut verici olabilir (1). Tümörün büyümesi ve metastaz yapabilmesi için ilk basamağı oluşturan anjiogenezis yanısıra, başka faktörler de meme kanseri metastaz ve invazyonunda önemlidir. Metastazın proteolitik sürecinde, ürokinaz plazminojen aktivatörleri, cathepsin B, D ve plazmin gibi proteazlar, meme kanser invazyonunda rol oynamaktadır (2). Ayrıca kanser biyolojisinde önem taşıyan hücre-hücre adhezyon molekülü E-cadherin'deki fonksiyon kaybı da tümör hücrelerinin invazyonunu kolaylaştırmaktadır (3).

Bu çalışmada; daha ileri bilgi edinmek için, tümör anjiogenezisi, cathepsin D ve E-cadherin'in dağılımı incelendi. Bu yeni prognostik faktörler ile histopatolojik bulguların (histolojik greyd, lenf düğümü tutulumu, kapsül dışı yayılım, nekroz, lenfositik infiltrasyon, peritümöral lenfovasküler invazyon, duktal karsinoma in situ varlığı, mitoz sayısı) ilişkisi araştırıldı.

GENEL BİLGİLER

EMBRİYOLOJİ

İnsan embriyosunda primitif süt çizgisi, hafifçe kalınlaşmış ektodermden iki ventral band halinde gebeliğin beşinci haftasında görülür. Bir çift süt çizgisi aksilladan kasık bölgesine kadar uzanır. Kısa bir süre sonra, torasik-pektoral bölgedeki küçük bir kısım dışında bandların çoğu geriler. Gebeliğin 7-8. haftaları arasında süt çizgisinin kalınlaşmasıyla meme taslağı oluşur. Bunu meme başı gelişimi takip eder. Meme başının düz kasları ve areola 12-16. haftalar arasında göğüs duvarındaki mezenkimal hücre farklanmasıyla gelişir. Takiben, epitelyal tomurcuklar görülür ve 16. hafta civarında 15-20 epitelyal şerit oluşur. Meme gelişiminin bu başlangıç evresinin hormonlardan bağımsız geliştiğine inanılır. Seks farklılıkları, östrojen ve testosteron etkisi altında, ilk trimestrin sonuna doğru belirgin olmaya başlar. Bu evredeki antiandrojenik engelleme veya testosteron reseptör yokluğunda meme gelişimi dişi yönde gerçekleşir.

Üçüncü trimestr sırasında, plasental hormonlar epitelyal şeritleri belirli bir yöne kanalize etmeye başlarlar. Bu süreç 20-32. hafta arasında devam eder. Meme lobüllerinin gelişimi 32-40. haftalar arasında meme dokusunda katlantılı bir artışla tamamlanır. Bu arada meme başı ve areola pigmente olur. Doğumda, meme duktusları küçük, dar, depresif bir meme çukuruna açılır. Daha sonra meme çukurundan meme başı kabarıklığı oluşur (4).

Postnatal Evre

Çocukluk ve Puberte:

Annedeki hormonların plasenta yolu ile geçişi sonucunda bazı yeni doğanlarda geçici olarak meme hiperplazisi görülür. Yenidoğanda meme başında kolostrum benzeri sıvı görülebilir. Bu sekresyon cadı sütü olarak bilinir. Sekretuar materyalle dolu duktal yapılarla karakterize hiperplastik meme dokusu doğumdan sonra 3-4. hafta civarında geriler. Nadiren hiperplastik meme dokusu puberteye kadar kalır. Diskoid tomurcuğun patolojik bir lezyon sanılarak çıkarılması meme yokluğu ile sonuçlanır.

Çocukluk çağı sırasında primer duktus sisteminde bazı dallanmalar görülür, ama puberteye kadar anlamlı değişiklikler olmaz. Puberte ve erişkin dönemde pitüiter gland ve overler tarafından salgılanan hormonların etkisiyle değişiklikler başlar. Over kaynaklı östrojenik hormonlar, periduktal stromanın proliferasyonu ile eş zamanlı olarak duktus sisteminde dallanma ve büyümeye neden olur. Progesteron ile birlikte östrojen sekresyonu lobüler ünitlerin gelişimini sağlar (4).

ANATOMİ

Erişkin meme, başlangıçtaki hormonal aktivitenin yükselmesini takiben yaklaşık 3-4 yılda son halini alır. Ortalama erişkin kadın memesi 10-12 cm çapında ve 5-7 cm kalınlıktadır. Vertikal aksisi 2-6. kostaya, horizontal aksisi orta aksiller çizgiden sternum köşesine kadar uzanmaktadır (4). Normal erişkin kadın memesi 30 gr.'dan daha az ve 500 gr.'dan daha fazla olacak şekilde geniş bir aralığa sahiptir. Boyut ve yoğunluk kişinin vücut yapısına bağlıdır. Meme dokusunun küçük bir kısmı aksillaya uzanır.

Memenin üst ve orta kısmı pektoralis majör kasının üzerindedir. Lateral kısmı serratus anterior kasının 3-4. dijitalyonu üzerinde yayılır. Alt kısım, kısmen serratus anterior, eksternal oblik ve superior rektus kasının fasyasının medialindedir.

Meme venöz akımı, yüzeysel ve derin sistem olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Transvers venler ciltaltı yağ dokusunda seyrederek, daha sonra perforan damarlarla birleşerek internal torasik vene boşalır. Longitudinal venler, suprasternal çentiğe doğru yükselir ve boyun alt kısım yüzeysel venlerine boşalır.

Derin ven sistemi üçe ayrılır. En büyükleri, internal torasik venin perforan dallarıdır ve innominat venlere boşalır. Göğüs duvarı, pektoral kaslar ve derin meme dokusunun dirençli aksiler ven aracılığı ile sağlanır. Üçüncü derin ven sistemi interkostal venler aracılığıyla posteriora yönelir. Bu venler vertebral ve azigos venler ile ilişki halinde superior vena kavaya açılır.

Bu üç venöz yol sonunda pulmoner kapiller ağa yönelmektedir ve kanserlerde akciğere metastatik karsinom için uygun bir rota oluşturmaktadır.

Memenin lenfatik akım yönü özellikle önemlidir. Dört ana lenfatik yola açılır: Kütanöz, aksiller, internal torasik ve arka interkostal lenfatikler.

Kütanöz lenfatikler, dermal papilla çevresinde dallanan yüzeysel ve memenin subareolar bölgesindeki duktusları izleyen daha derin bir perilobüler ağdan oluşur. Kütanöz lenfatiklerin çoğunluğu aksillaya direne olur. Memenin alt sınırından itibaren kütanöz lenfatik damarlar, rektus abdominus kılıfında yer alan epigastrik ağa boşalabilir ve subdiafragmatik ve subperitoneal lenfatik ağa boşalır. Lenfatik akım, daha sonra karaciğer lenfatikleri ve batın içi lenf düğümleri ile devam edebilir.

Aksilla memenin lenfatik akımının çoğunu almaktadır. Altı grup aksiller lenf düğümü vardır ve hepsi kostokorakoid fasyanın altında yer alır. Eksternal meme lenf düğümleri, pektoralis majör kasının lateral kenarında ve 2-6. kosta arasında seyreden lateral torasik artere komşudur. Skapuler lenf düğümleri, subskapuler damarlarla ve

bunların torakodorsal dalları ile yakın ilişkilidir. En kolay ele gelen, aksillanın merkezindeki sentral lenf düğümleridir. Aksiller lenf akımının en büyük kısmını alır ve metastazın en sık bulunduğu grubu oluşturur. İnterpektoral düğümler (Rotter's) pektoralis majör ve minör arasında bulunur. Aksiller ven lenf düğümleri, aksiller venin lateral, kaudal ve ventralinde yer alır. Aksiller venden ince bir fasya ile ayrılır. Subklaviküler lenf düğümleri en medialdeki gruptur. Torakoakromial venin başlangıç noktasından aksillanın apeksine doğru uzanır. Aksillanın bütün diğer bölgelerinden gelen lenfatik akım, subklaviküler lenf düğümlerine boşalır.

Memenin lenf akımının %3-25'i internal torasik lenfatik yolla olur. Lenfatik damarlar pektoralis majör ve interkostal kasları delerek internal meme nodlarına ulaşırlar. Bu lenf düğümleri, internal torasik lenfatik gövde boyunca ve her bir sternal kenarda üç-dört tane olmak üzere dağılmıştır (5).

HİSTOLOJİ

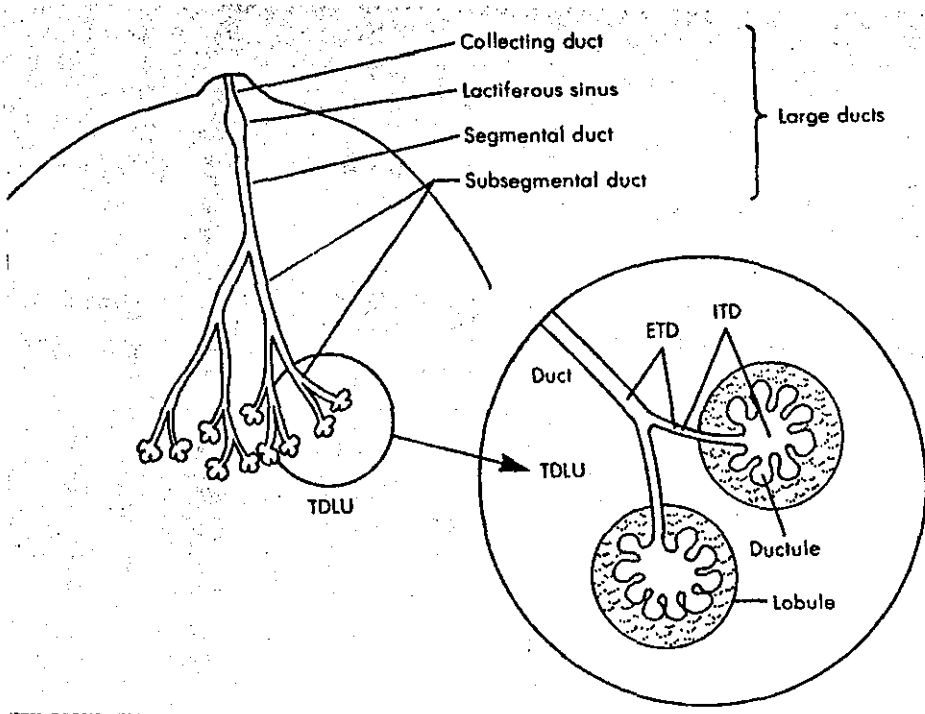
Memebaşı-Alveolar Kompleks:

Memebaşı, duyu sinir sonlanmalarından zengin, areola ile çevrili kompleksin merkezinde yer alır ve 4. interkostal üzerinde kabarıklık oluşturur. Memebaşı nodülü düz kas ve elastik doku bandlarından oluşur. İçerisinden laktifer duktuslar geçer. Düz kas bantları radyal ve longitudinal dizilim özelliğine sahiptir. Laktifer duktuslar boyunca uzanan longitudinal kas demetleri memebaşı ereksiyonundan sorumludur (4). Meme karsinomu nedeniyle opere edilen hastaların mastektomi materyallerinin rutin incelenmesinde memebaşlarının yaklaşık %17'sinde lobül yapısı tanımlanmaktadır (6). Çevresindeki sirküler areola 2-6 cm arasında değişen çapa sahiptir. Memebaşının ve areolanın epidermal yüzeyi oldukça kırışık bir görünümde ve çevre deriden daha koyu renktedir. Meme başı ve areola çok katlı skuamöz epitelle örtülüdür. Yüzey epitelde şeffaf hücreler bulunabilir. Bu hücrelerin sitoplazmalarında müsin yoktur, çekirdekleri normal olup karsinoembriyjenik antijen ile reaksiyon vermez. Paget hücrelerinden bu yönleriyle ayrılabilir. Memebaşı ve areolada sebace ve apokrin bezler bulunur, ancak kıl follikülleri yalnızca areolanın periferinde mevcuttur. Areola yüzeyi Montgomery tüberkülleri olarak bilinen yuvarlak yükselti nedeniyle noktalı görünüme sahiptir. Montgomery tüberkülleri, Montgomery glandı denilen büyük sebaceöz glandların duktuslarının açıldığı yerdir. Areolar bölgenin dermal papillası genellikle uzundur. Bu nedenle yüzeye kadar uzanan kapiller damarlara izin vermektedir. Bu özellik areolaya pembe rengi verir (4).

Erişkin Duktus Sisteminin Yapısı:

Meme dokusu 15-20 segment veya lob içerir (7). Her lob bir boşaltıcı duktusa açılır. Laktiferöz duktuslar meme başına tek bir duktus ile açılır. Loblar bağ dokusu ile çevrilidir ve birçok lobüle bölünmüştür. Meme dokusunun temel yapısal birimleri olan lobüller, sayıları 10-100 arasında değişen alveollere bölünmüştür (5). 13-15 yaş arasında duktuslar uzar ve dallanmaya başlar (8). Üç boyutlu stereomikroskopik tekniklerle duktus sisteminin dallanan yapısı doğrulanmıştır. 19 yaşındaki bir kadının memesinin değerlendirilmesinde dallanan duktusların bir diğerine penetre olmadığı gösterilmişse de son bir çalışmada intersegmental anastomoze duktusların olabileceği ispatlanmıştır (9,10). Terminal duktus/lobüler ünit (TDLU) olarak bilinen kısım lobülleri oluşturan asiniler ile birlikte terminal duktusun küçük bir kısmıdır (4). Meme lob yapısı Şekil 1'de şematize edilmiştir.

Şekil 1: Meme lob yapısının şematize edilmiş görüntüsü. ETD:Ekstralobüler terminal duktus, İTD:İntralobüler terminal duktus, TDLU:Terminal duktus lobüler ünit



Mikroskopik Anatomi:

Meme, bazal membran ile çevrili duktus, duktuli ve lobüloasiner yapılar ve fibroblast, yağ ve damar içeren kollajenöz stromadan oluşur. İmmatür meme duktuler ve alveoler yapıları çift sıralı, bazalde kuboidal ve yüzeyde alçak silindirik epitel ile döşelidir. Duktus epitel hücreleri; alveoler epitelyal hücrelerin aksine, az mitokondri ve seyrek endoplazmik retikuluma sahiptir. Alveoler epitel; hormonal etki altında, A, B ve myoepitelyal hücelere ayrılırlar. Kolumnar bazofilik luminal A hücreleri ribozomlardan zengindir ve aktif sekresyondan sorumludur. A ve myoepitelyal hücrelerin öncüsü olduğu düşünülen B hücreleri, şeffaf sitoplazmalı ve yuvarlak çekirdekli bazal hücrelerdir. Myoepitelyal hücreler myofibril içerir ve yoğun bir çekirdeğe sahiptir. Siklusun luteal fazında, formol tespitli dokuların HE ile boyalı kesitlerinde şeffaf görünüm veren glikojen birikimi söz konusudur. Kontraktıl ektodermal düz kas hücreleri oksitosine myometriyal mezodermal hücrelerden 10-20 kat daha hassastır. Myoepitelyal hücrelerin inervasyonu yoktur. Epitelyal elementler epitelyal stromal bileşke ile çevrilidir (5).

FİZYOLOJİ

Meme boyutu, yoğunluğu ve nodülaritesi menstrüel döngü ile ilişkilidir. Manyetik rezonans çalışmalar, menstrüel döngünün farklı fazlarında memenin su içeriğinin %25-30 arasında değiştiğini göstermiştir. Glandüler nodülarite premenstrüel dönemde belirgin olabilir ve klinik olarak tümör şeklinde yorumlanabilir. Geç luteal faz esnasında elde edilen örneklerin histolojisinde kistik değişiklikler sıklıkla görülmektedir (5).

Vogel ve arkadaşları menstrüel döngü ile birlikte memedeki morfolojik değişiklikleri beş dönemde tanımlamıştır (11). İlk dönem (erken folliküler veya postmenstrüel) 3-7. günleri kapsar. Asinileri döşeyen epitel, iki veya üç sıralı hücre tabakası oluşturur. Lümen net tanımlanamaz. Asiner epitelyal hücreler küçük, poligonal, soluk eozinofilik sitoplazma ve koyu, merkezde yerleşim gösteren çekirdek içerir. Lobül ve asiniler çoğunlukla kompakttır.

Stroma yoğun ve hücrelidir. En yüksek mitotik aktivite döngünün daha geç döneminde apoptozis ile birlikte görülür.

Folliküler dönemde (8-14. günler) morfolojik olarak farklı üç hücre belirginleşir. Myoepitelyal hücrelerin şeffaf sitoplazmaları, küçük çekirdekleri vardır. İntermedyete soluk sitoplazmalı B hücreleri, bu dönemde de kalıcıdır. A tipi hücreler, iyi tanımlanan bir lümen çevresinde bazal çekirdek ve bazofilik sitoplazmadan oluşmaktadır. Stroma yoğun kalır, ancak daha az hücreli ve daha eozinofilik kollajen içerir.

Meme dokusu ovulasyonla birlikte ve 15-20. günler arasında progesteronun artmasıyla birlikte luteal döneme girer. Bu dönemin belirgin özelliği vakuolizasyondur. Myoepitelyal hücrelerde glikojen içeriğinin artmasına bağlı balonlaşma görülür. Lümen bir önceki döneme kıyasla genişlemiştir ve aktif apikal tomurcuklanma ile eozinofilik sekresyon içerir. Lobül boyut ve terminal duktus sayısında artış vardır (12). Stroma gevşer ve bazal lamina daha az görünür hale gelir.

Sekretuar dönemde (21-27.günler) genişlemiş lümenler ve apokrin sekresyon içeren luminal hücreler görülür. Apikal tomurcuklanma progestasyonel etki sonucunda oluşur. Ultrastrüktürel çalışmalarda polizom, düz endoplazmik retikulumda artış, Golgide genişleme ve sekretuar vakuoller, aktif protein sentezini desteklemektedir (5). Lobül boyut ve asini sayısındaki artış bu sırada, en yüksek düzeydedir. Diğer belirgin özellik stromada ödem olmasıdır. Önceden bahsedildiği gibi, mitotik aktivite menstrüel döngünün bu döneminde en üst noktadadır (13).

Takiben 28-32. günlerde östrojen ve progesteron azalır. Apokrin tomurcuklanma azalır, ancak asiner lümen eozinofilik granüler sekresyonla dolu halde kalır. Luminal hücreler dar bazofilik sitoplazmaya sahiptir. Bazal hücreler glikojen nedeniyle şişkin halde kalır. Lobül boyutunda ve asini sayısında azalma görülür (12). Stroma yeniden yoğun hücreliliği gösterir. Doku postmenstrüel döneme yeniden girdiğinde luminal hücreler daha az bazofilik olur, bazal hücrelerdeki vakuolizasyon azalır, asiner lümen daralır ve döngü yeniden başlar. Meme dokusu en az hacme menstruasyondan sonraki 5-7. günlerde sahiptir (5).

Gebelik ve Laktasyon:

Gebelikte, meme epitelyal hücre proliferasyonu devam eder. Fibroadipöz stroma azalarak lobüloasiner yapılarda belirgin artış görülür. Epitelyal büyüme ile birlikte olan stromal değişiklikler damarlanmada artış ve yağ hücrelerinde azalma şeklindedir. Lobüloasiner büyüme östrojen, progesteron, prolaktin ve büyüme hormonlarını gerektirmektedir. Bu etki adrenal kortikosteroid ve insulin ile artırılmaktadır (5,14). Yüzeysel venlerin genişlemesiyle birlikte tanımlanan meme büyümesi gebeliğin 5-8. haftasında görülür. Aynı zamanda; meme başı ve areolanın renginde koyulaşma olur. Kolostrum 3. ay civarında alveollerde birikmeye başlar.

İkinci trimester ile birlikte meme alveoelleri yassılaştırmış ve tek tabakalı olarak görülür, ancak duktuslar iki tabakalı halini devam ettirmektedir (5). Meme epitelyal proliferasyon oranı hamileliğin ortasında azalmaya başlar, alveoller epitel presekretuar

fonksiyonu yerine getirmek için farklanır (14). Gebeliğin ortasında alveoler meme hücreleri yağlı süt ve proteinleri aktif olarak sentezler, ancak az bir kısmı asiner lümene salınır. Meme boyutunda devam eden artışın kolostrum sekresyonu ile meme alveollerinin ilerleyici genişlemesinin sonucu olduğuna inanılmaktadır. Yağ ve bağ dokusu oldukça azalmıştır. Gebelik boyunca prolaktin sekresyonu artar, ancak luteal ve plasental seks steroidleri, prolaktinin sekretuar etkisini baskılar. Doğumdan sonra prolaktin bağımlı laktasyon başlar.

Süt sentezi emzirme ile devam eder. Çünkü emme refleksi hem prolaktin hem de kortikotropik hormonları serbestleştirir. Meme dokusunun uyarılmasında oksitosin de salınır. Bu posterior pitüiter hormon myoepitelyal hücrelerde kasılmaya neden olur. Laktasyon doğumdan sonra 4-6 ay sürer. Laktasyonun kesilmesi ile meme dokusunda gerileme başlar. Yaklaşık 3 ay civarında gerileme tamamlanır (5).

Menapoz:

Menapoz sonrası meme dokusundaki gerileme, genelde parankimal lobüloasiner yapıların azalmasıyla karakterizedir (15). Lobüllerde, duktuler epitelyal ve myoepitelyal hücre tabakaları geriler. Lümen kapalı ve bazal lamina belirgin bir şekilde kalınlaşmıştır. Çevreleyen lobüler stroma, kalınlaşmış bazal laminayla karışan yoğun hiyalinize doku halini alır. Süreç ilerledikçe, sonunda lobüller hiyalinize nodül halini alır. Kalan lobüllerde de asini sayısında reproduktif dönemdekine kıyasla üçte bir oranında azalma görülür ve bazı yaşlı kadınlarda her lobülde üç veya dört asini kalır. Asinilerde kistik atrofi olarak bilinen hafif-orta derecede genişleme atrofik memelerde görülür (4).

Postmenapozal dönemde, yaklaşık 50 yaşından sonra, glandüler dokuda belirgin azalma ile birlikte stromal değişiklikler meydana gelir. Yağ depolarında ve bağ dokusunda nispi artış vardır (5).

MEME KARSİNOMLARI

Klasik İnfiltratif Duktal Karsinom (İDK)

Bütün invaziv meme karsinomlarının %47-75'ini oluşturur (16,17). Meme karsinomlarının herhangi bir özel tipi olarak sınıflandırılmayan lezyonları için NOS (not otherwise specified) veya infiltratif duktal karsinom (invaziv duktal karsinom) terimi kullanılır. İDK tanısı, intra duktal karsinom eşlik etsin veya etmesin tümörün büyüme özelliğine dayandırılmaktadır.

Kliniğe ele gelen kitle ile başvurulur. Genellikle bu anda kitle 2-3 cm boyutuna ulaşmıştır. Bazen daha büyük olabilir ve memenin büyük kısmını işgal edebilir. Deri fiksasyonu, ödem, portakal kabuğu görünümü, memebaşı çekilmesi veya akıntısı, Paget hastalığı ve büyük tümörlerde ülserasyon gibi ilerlemiş hastalık unsurları görülebilir.

İDK ya iyi sınırlı ya da yıldızimsı-ıticsi bir şekilde invaziv sınırlara sahiptir. Yıldızsı tip, yoğun fibrozis ile birlikte ve skiröz karsinom olarak bilinir. Bu tip kanserlerde bir merkezi kitle vardır ve çevresindeki meme dokusu içine ışınal tarzda ilerlemektedir. Genelde sarı renklidir. Nekroz nadir değildir ve yumuşak tebeşirimsi beyaz alanlar şeklinde görülür. İyi sınırlı tümörler daha nadir görülmektedir.

Tümör boyutları birkaç mm'den 14 cm'e kadar değişir. Tümör boyutunun değerlendirilmesi prognoz açısından önemlidir (18).

Mikroskopide tümör sınırları itici veya infiltratif tarzdadır. Düzensiz veya yuvarlak, solid tümör adaları, kordonlar, tek hücrelerle karışık görünümündedir. Az gelişmiş tübüler veya glandüler yapılar kanıt olabilir. Tübül ve hücre kümelerinin çevresinde myoepitelyal tabaka, bazal lamina bulunmaz. Bu tümörlerin görüntüsü; hücresellüğün derecesine, stromal reaksiyonun yaygınlığına, nekroz varlığına, inflamatuvar hücre reaksiyonuna bağlı olarak değişir. İDK'ların yaklaşık %20'sinde lenfoplazmositer iltihap görülür. Lenfositik infiltrat baskın olarak sitotoksik-supresör fenotipindeki T hücrelerinden oluşur (18). Nekroz olguların %60'ında görülür. Skuamöz, apokrin metaplazi, berrak hücre değişiklikleri görülebilir (19). Stroma fibroblastik, kollajenöz veya elastotik olabilir (18). Elastozis, vakaların %90'ında özellikle ven duvarları ve duktus çevresinde görülür. Kalsifikasyon genelde granüler, nadiren de Psammom cisimciği türündedir (19). Nadiren granülomatöz reaksiyon, tümör çevresinde veya aksiller lenf düğümlerinde infiltratif karsinom ile birlikte görülebilir (20).

İyi örneklenen vakaların çoğunda, in situ duktal karsinom (DKİS) bulunacaktır. Bazı invaziv karsinomlarda lezyonun herhangi bir yerinde invaziv kanser hücreleri ile

birlikte in situ karsinom kalıntıları vardır. Ancak, lezyonların %20'sinde yeterli örnekleme yapılsa dahi, in situ karsinom odakları bulunmayabilir. Bazı tümörlerde hem duktal hem de lobüler in situ karsinom vardır. Olguların küçük bir kısmında İDK ile birlikte in situ lobüler karsinom saptanmıştır (18).

İDK'a eşlik eden DKİS, tümör sınırlarının dışında da artan bir oranda görülmektedir. Daha iyi prognoz ve lenf düğümündeki metastaz sıklığındaki azalma, belirgin DKİS komponentli infiltratif duktal karsinomlar için dikkat çekicidir (21). %25'in üzerinde DKİS bulunan olgular, yaygın in situ komponenti bulunan infiltratif duktal karsinom olarak tanımlanmıştır (22). İnvaziv karsinomlu hastalarda, eş zamanlı veya daha sonradan gelişen in situ karsinom varsa, sağkalım daha iyi bulunmuştur. Bunun nedeninin çoğu meme karsinomlarındaki immunojenlere karşı hücre bağımlı immünite olduğu düşünülmektedir (23).

İnfiltratif lobüler karsinom (ILK)

Waldeyer ve Cornil tarafından 1860 yılında, küçük hücrelerin lineer büyüme özelliği ile karakterize tümör olarak tanımlanmıştır. Haagensen bu tümörlere infiltratif küçük hücreli karsinom adını vermiştir (18).

Bütün meme karsinomları içerisinde %0.7-15'ini oluşturur (24).

ILK geniş bir yaş dağılımına (26-86) sahiptir. 35 yaşından daha genç kadınlar içerisinde karsinomların %2'sini, 75 yaşından daha yaşlı kadınlarda karsinomların %11'ini oluşturur.

Diğer karsinomlarda olduğu gibi, hastaların çoğu ele gelen kitle ile başvururlar. Buna rağmen, bazen, hücresel infiltratın diffüz büyüme özelliğinden dolayı, lezyonun bulunması zor olabilir (18). Bir çalışmada 65 ILK olgusunda %36 oranında ele gelen kitle saptanmamıştır (24). Kitlenin palpabl olmaması küçük olduğu anlamı taşımaz. Büyük tümörler deriye fikse olabilir veya meme başında çekilmeye yol açar. İlginç olarak, İLK'da Paget hastalığı görülmez. ILK, olgularının %14-31'i çok odaklı olarak rapor edilmiştir (25). Olguların %4-28'inde aynı zamanda bilateral meme karsinomu tesbit edilmiştir.

Makroskopik olarak ya düzensiz-infiltratif ya da iyi sınırlı-sert kitle şeklindedir. Bazen tümör çıplak gözle görülemez. Tümör çok küçük olabileceği gibi tüm memeyi kaplayabilir. Tümörün olağan bulgusu, meme dokusu içerisinde kum tanelerine benzeyen çok küçük, ayrı, sert nodüllerdir.

Foote ve Stewart lobüler karsinoma in situ ile birlikte eş zamanlı olarak İLK'un klasik tipini tanımlamıştır. Klasik tip; koheziv ve genellikle stroma içine invaze küçük hücrelerden oluşan kordonlar ile karakterizedir. Neoplastik hücreler; yuvarlak-çentikli çekirdekli ve sitoplazmada lümen içerir. Tümör hücreleri meme stroması içine infiltrat olur, normal duktal yapılar tümör içinde sıkışır ve sıkışan duktuslar çevresindeki tümöral infiltrat hedef tahtası (targetoid) görünümü oluşturur. Bu klasik infiltrasyon şekli, %90 veya daha fazla oranda lobüler neoplazi ile birlikte. Diğer lobüler karsinom tipleri; solid, alveoler, pleomorfik ve bunların karışımından oluşan mikst gruplardır. Gevşek bir düzende birbirine tutunan hücre proliferasyonuna sahip solid tipte; geniş trabekül ve büyük yuva oluşumları, çok ince vasküler kanallar ile birbirinden ayrılmaktadır. Benzer hücre popülasyonu olan alveoler tipte de hücre yuva ve adaları dar bir stroma ile ayrılmıştır. Hücrelerde nükleer pleomorfizm ve atipi nadirdir, bu özellikler yalnızca pleomorfik tipte görülür. Sitoplazmik lümen eozinofilik bir sekresyon içerir. Tubulolobüler tip ise, sıkı veya birbirine yakın tübül oluşumları ve "İndian files" şeklinde hücre kordonlarından oluşur.

İLK'un bütün tipleri, özellikle de solid formu lenfomaya benzemektedir. Bu durumda uygulanacak müdicarmine veya Alcian blue/Periodic acid-Schiff gibi özel histokimyasal boyalar sitoplazmik lümen içeren hücreleri belirlemede yardımcıdır.

İLK'un metastatik özelliği, İDK'dan farklıdır. İskelet sistemi, gastrointestinal sistem, uterus, over, meningeal doku, genitouriner sistem, deri, yaygın serozal-peritoneal ve retroperitoneal metastazlar lobüler karsinomda daha yüksek sıklıkta görülür. Gastrointestinal, jinekolojik ve peritoneal-retroperitoneal metastazlar lobüler karsinomda daha yaygındır (18). Santral sinir sisteminde metastazlar meningeal infiltrat formundadır, duktal karsinomda ise parenkimal depositler şeklindedir (26). Over ve uterus metastazı sıktır. Endometriümda metastazlar kanamaya neden olur. Ancak küçük hücre boyutu ve infiltrasyonun diffüz özelliğinden dolayı kolayca gözden kaçabilir. Kemik iliği metastazları da sıktır. İLK için bir çalışmada 5 yıllık sağkalım oranı %78 olarak belirlenmiştir (27). Klasik İLK'lu ve evre I kadınlarda tedaviden sonraki hastalıksız dönem daha uzundur. Pleomorfik tipte prognoz kötüdür.

Bilateralite İLK'un bütün tiplerinde görülmektedir. Hastaların prognozu tümörler eş zamanlı olmadıkça etkilenmez (18).

Tübüler Karsinom (TK)

Tübüler karsinom, meme karsinomlarının yanıltıcı benign görüntüsü ile karekterli farklı bir tipidir. Çoğu araştırmacı, tübüler karsinom tanısı için, lezyonun en az %75'inin tübüler yapılardan oluşması gerektiğini vurgulamıştır (28). Lezyon tümü ile tübülerden oluşmuşsa pür TK şeklinde tanımlanır. Mikst tiplere ikinci bir infiltratif karsinom eşlik eder. Genelde bu, İDK'dur. Bazı araştırmacılar İDK'un %50'den, bazıları ise %25'ten az olması gerektiğini söylemiştir. TK'ın yaklaşık %65'inde intra duktal karsinom ile birliktelik vardır (29). Lobüler neoplazi %15 vakada tümöre yakın komşulukta görülür (28).

Mamografinin artan kullanımı sonucu daha küçük tümörlerin saptanması TK sıklığını artırmıştır. Pür tübüler karsinom sıklığı %0.4-8 arasındadır (30). Mikst tipler için daha yüksek sıklık belirlenmiştir.

Pür tübüler karsinomlu hastalar, diğerlerine kıyasla daha genç yaşta görülür. Ortalama yaş 50 yaş civarındadır. Kadınların yaklaşık %15'inde, deriye fiksasyon görülmektedir. Bilateralite, pür ve mikst tiplerde %12-38 arasındadır (18). Pozitif aile öyküsü hastaların %40'ında rapor edilmiştir (29).

TK'da tümör boyutu 0.2-12 cm arasındadır. Haagensen serisinde pür TK'un boyutu 2 cm'den küçüktür. Mamografinin artan kullanımı ile serilerin çoğunda pür tümörlerin %80'inde çap 1 cm veya daha küçükken, mikst tiplerin %52'si bu özelliكتedir.

Tümör; reaktif, fibroblastik, bazen kollajenöz stroma ile herbiri diğerinden ayrılan rastgele dağılmış köşeli tübüllerden oluşur. Tübül lümenleri açıktır ve tek sıralı epitel ile döşelidir. Genelde epitelyal hücreler anlamlı atipi göstermez ve mitotik aktivite nadirdir. Vakaların 1/3'ünde apikal tomurcuklanma görülür.

TK ayırıcı tanısında; sklerozan adenozis, mikroglandüler adenozis ve radyal skar başta gelmektedir.

Aksiller lenf düğümü metastazları %0-25 arasında değişir. TK'da nadiren üçten fazla lenf düğümü tutulur. Mikst tipte lenf düğümü metastaz oranı %21-29 arasındadır.

TK'un sağkalım oranı, İDK'dan çok daha iyidir. Mikst tipin prognozu İDK'dan daha iyi, ancak pür TK kadar iyi değildir.

Pür TK'da rekürens %5'ten azdır ve rekürens süresi aylar içinde olabileceği gibi tedaviden 22 yıl sonra da gelişebilir. Mikst tipte rekürens, hastaların %32'sinde gelişir (18,28).

Memenin Müsin Üreten Karsinomları

Müsin üreten meme karsinomlarının başında müsinöz karsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinom gelmektedir. Müsinöz (kolloid) karsinom, stroma ile direkt ilişkili geniş hücre dışı müsin gölcükleri içerir. Jelatinöz görüntü ve kümeler halinde tümör hücreleri ile karakterizedir. Çok az miktarda hücre içi müsin bulunur (18).

Kolloid karsinom, tüm meme karsinomlarının %1-6'sını oluşturur. Ortalama yaş 60'ın üzerindedir (31). Bazı raporlarda daha genç yaş bildirilmiştir (32).

Kolloid karsinom, jelatinöz, parlak görünümde, yumuşak kıvamlıdır. Tümörün kıvamı hücreliliğin derecesine ve hücre dışı müsin miktarına bağlıdır. Tümör boyutu 0.5-20 cm arasında değişir. Ortalama boyut 2.8 cm civarındadır (18).

Mikroskopide tipik kolloid karsinomda yoğun müsin gölcükleri içerisinde yüzen eozinofilik sitoplazmalı uniform görünümdeki hücrelerin oluşturduğu küçük kümeler görülür. Fibrovasküler bağ dokusu bandları, müsin gölcükleri içerisinde belirgindir. Müsin gölcükleri içerisindeki hücre kümeleri solid olabilir, sekonder lümen veya papiller yapı içerebilir. Müsinöz karsinomun pür ve mikst tipleri vardır (18). Mikst tipe en sık eşlik eden tümör İDK'dur (33).

Müsinöz karsinomların pür tiplerinde aksiller lenf düğümü metastazı %4'tür. 4 cm'den küçük kolloid karsinomlar, nadiren metastaz yaparlar. Mikst gruplarda metastaz sıklığı daha fazladır (18).

Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom

WHO, bu karsinomu özel bir antite olarak değil, infiltratif lobüler ve müsinöz karsinomun alt tipi şeklinde tanımlamıştır. Bu tümörün büyük bir kısmı lobüler nitelikte olmasına rağmen, solid ve kribriform tip intra duktal ve hatta İDK'da da taşlı yüzük hücreleri görülebilir. Taşlı yüzük hücreli karsinom, Tavasoli'ye göre müsinöz karsinomun alt tipi değildir. Müsinöz karsinom ve taşlı yüzük hücreli karsinom yalnızca morfolojik değil, klinik davranış açısından da farklıdır.

Bütün meme karsinomlarının %2-4'ünü oluşturur. Klinik bulguları ve makroskopik özellikleri İDK'a benzer. Hastalar ortalama 50 yaş civarındadır. Hücre içi müsin içeren taşlı yüzük hücreleri, sitoplazmik lümeden ayırdedilmelidir. Sitoplazmik lümendeki materyal eozinofiliktir. Buna karşılık, klasik taşlı yüzük hücrelerindeki materyal, şeffaftan hafif mavimsi bir renge kadar boyanır. Belirgin taşlı yüzük içeren tümörler agresif davranırlar (18).

Diğer müsin üreten tümörlerden olan müsinöz kistadenokarsinom son derece nadirdir. Müsinöz kistadenokarsinom, over kökenli müsinöz kistadenokarsinomaya benzer şekilde makrokistler ve solid alanlar içerir. Müsinöz karsinom solid kolumnar tip, şeffaf sitoplazmalı, bazalde yerleşmiş çekirdekli, kolumnar hücrelerle dōşeli komprese lümenli, uzamış bezlerden oluşur. Overin Sertoli hücreli tümörlerine benzer (34).

Medüller karsinom (MK)

Geschicker tanımlayana kadar medüller karsinom özel bir antite değildi. MK' u yeni bir meme kanseri olarak tanımlamıştır. Bu karsinomun primitif meme başı poşundan köken aldığını düşünmüştür. Foot ve Moore bu hastalardaki beş yıllık sağkalım oranını %82 olarak belirlemiştir. Aksiller lenf düğümü metastazı medüller karsinomlu kadınların %43'ünde mevcuttur. Bu hastalardaki daha iyi prognozun lenfoplazmositer iltihap nedeniyle olduğu düşünülmüştür. Ancak Bloom ve arkadaşları MK' lu hastaların prognostik avantaja sahip olmadığı sonucuna varmıştır (18).

Bütün meme karsinomlarının %5-7'sini oluşturur. Ortalama yaş 50 civarındadır. MK, fibroadenom ile karışabilen iyi sınırlı yuvarlak kitle oluşturur. Nadiren kapsüle görünümündedir. Tümör rengi tenden gri-beyaza kadar, sarı nekroz ve kırmızı-kahverengi alanlar içerecek derecede değişir (18). Tümör boyutu 2-4.1 cm arasındadır (35).

Mikroskopide tümör hücreleri bir sinsisyum içinde büyür. Anastomoze kordonlar ve tabakalar gevşek fibroblastik bağ dokusu ile ayrılmıştır. Bez yapısı yoktur. Sinsityal yapı, tümörün en azından %75'ini oluşturur. Tümörün merkezinde nekroz bulunabilir. Tümör hücreleri belirgin pleomorfizm ve çok sayıda mitotik aktivite göstermektedir. Bu karsinomun en belirgin özelliklerinden biri lenfoplazmositer iltihabi hücre reaksiyonudur. Bu karsinomlar tipik ve atipik olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Tipik medüller karsinomun özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Tipik Medüller Karsinomun Mikroskopik Özellikleri

%75'in üzerinde sinsityal büyüme
Tümör sınırı düzgün ve itici tarzda
Orta derecede veya belirgin lenfoplazmositer infiltrasyon
Glandüler yapıların yokluğu
Orta derecede veya belirgin çekirdek pleomorfizmi
Duktal karsinoma in situ yokluğu

Primitif karsinom hücreleri, sınırsız proliferasyon göstererek iyi sınırlı lezyon oluşturmuş, tübül oluşum odakları içeriyor ve lenfoplazmositer infiltrat az veya yoksa atipik medüller karsinom (AMK) olarak tanımlanır (18). AMK'nın mikroskopik özellikleri Tablo 2 'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Atipik Medüller Karsinomun Mikroskopik Özellikleri

%75'in üzerinde sınırsız büyüme
Tümör sınırlarında düzensizlik veya infiltratif nitelik
Hafif lenfoplazmositer infiltrasyon
Nükleer greyd 3
Glandüler dizilim özelliği
Duktal karsinoma in situ varlığı

Bu tümörün davranışı İDK'dan farklı değildir. Klinisyenler açısından, tedavi yaklaşımında bir karışıklıktan kaçınmak için, patoloji uzmanları AMK tanısından sakınmalıdır (35).

Diğer meme tümörleri

Diğer meme tümörlerinden ismen bahsedilecektir.

1. Metaplastik karsinom
2. Apokrin karsinom
3. Histiositoid karsinom
4. Sekretuar karsinom
5. Şeffaf hücreli karsinom
6. Osteoklastik dev hücreli karsinom
7. İnvaziv kribriiform karsinom
8. Koryokarsinomatöz özellikli karsinom
9. İnflamatuar karsinom
10. Adenoid kistik karsinom
11. Melanotik meme karsinomu

MEME KARSİNOMLARINDA PROGNOTİK FAKTÖRLER

Meme karsinomlarında prognoz belirleyici olarak çeşitli nitelikler değerlendirilmiştir. Bu faktörler; meme karsinomlarının, iyi ve kötü prognozlu olarak belirlenmesinde yardımcı olmaktadır (36).

Başlıca prognotik belirleyiciler: Tümörün evresi, tümör tipi, histolojik derecesi, proliferasyon oranı ve hormon reseptör durumudur. Daha sonra yardımcı prognotik faktörler gelir. Bu yardımcı belirleyicilerin bağımsız prognotik faktör olarak değeri henüz tartışmalıdır. Böyle ek, yardımcı belirleyiciler, tekrarlayan hastalık gelişen lenf düğümü tutulmamış vakaların %20-30'unun belirlenmesinde önemli olabilir (36,37).

Evreleme:

Meme kanserlerinin evrenmesi, tümör değerlendirilmesi ve tedavi tipinin belirlenmesinde esastır. Meme karsinomları, lezyonun anatomik yayılım temeline dayanarak dört evrede sınıflandırılmıştır. Evreleme yalnızca, klinik veriler üzerine kurulabilir. Fizik muayeneye tümör boyut, mobilitesi, varsa eşlik eden deri değişiklikleri ve aynı şekilde lenf düğümü ve uzak metastaz değerlendirilmesi dahil edilmelidir.

Buna karşılık, patolojik evrelemede, tümörün görünümü ve boyutunu onaylamak için, primer tümör, aksiller lenf düğümlerinden alınan doku örneklerinin incelenmesi gerekir.

Klinik ve patolojik evreler her zaman birbiri ile ilişkili değildir. Örneğin; meme derisindeki inflamatuvar değişiklikler mutlaka dermal lenfatik invazyonu göstermez ve lenf düğümü tutulumunun varlığı veya yokluğunun klinik tahmini, olguların 1/3'ünde yanlış olarak saptanmıştır. Patolojik evrelemenin avantajı, örneklenen alanlarda lezyonun gerçek yayılımı hakkında kesin bilgi vermesidir (37).

TNM evreleme sistemi (primer tümör, bölgesel lenf düğümleri ve uzak metastaz) ilk kez 1954'te International Union Against Cancer (UICC) tarafından önerilmiştir. Aksiller, transpektoral ve internal meme lenf düğümlerinden başka lenf düğümlerin tutulumu, supraklavikuler, servikal veya karşı taraf internal meme lenf düğümleri, uzak metastaz olarak sınıflandırılmaktadır. Bu başlangıçtan sonra, American Joint Committee for Cancer (AJCC) TNM sınıflamasını 1997'de yeniden düzenlemiştir (37,38).

Lenf Düğümü Metastazı

Pozitif aksiller lenf düğümü sayısı, mastektomi ile tedavi edilen invaziv karsinomlu vakalarda en önemli prognotik faktördür. Sağkalım, tekrarlayan hastalık, tekrarlama aralığı ve başarısız tedavi pozitif aksiller lenf düğümlerinin sayısı ile ilişkilidir.

Daha fazla lenf düğümü, metastatik tümör ile tutulduğunda prognoz kötüdür. Aksiller lenf düğümü metastazı olmadığı zaman 5 yıllık sağkalım oranı %82.8 iken, bir pozitif lenf düğümünde %80.1'e, iki pozitif lenf düğümünde %64.6'ya, üç pozitif lenf düğümünde %70'e düşmektedir. Dört-altı lenf düğümü tutulduğunda %54.1 gibi şiddetli bir düşüş görülmektedir. Yedi-oniki lenf düğümü tutulumunda %50 oranında sağkalım görülmektedir (39). Prognostik amaç için, nodal tutulum üç kategoride gruplanmıştır;

1- Nodal tutulum olmayan, 2- 1-3 arasında (+), 3- 4 veya daha fazla (+) lenf düğümü şeklindedir (40). Nodal tutulumu olmayan ve bir lenf nodu pozitif olan olgular arasında sağkalım açısından çok az fark vardır. Bu nedenle aynı grup içinde değerlendirmek uygun olabilir. Buna rağmen, uzun süreli izlemlerde, tüm sağkalım ile hastalısız sağkalım arasında daha anlamlı fark bulunmuştur (37).

Aksiller lenf düğümlerinde mikroskopikten çok makroskopik tümör prognozu zit yönde etkilemektedir. Mikroskopik metastazların önemi ile ilgili değişik görüşler vardır (41,42,43). Bazı çalışmalarda lenf düğümü negatif olarak tanı almış hastaların preparatların immunhistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmesinde %29'unda mikrometastaz gösterilmiştir. Bu vakaların %18'inde uzak metastaz görülmüştür (44).

Uluslararası Meme Kanseri Çalışma Grubu; başlangıçta aksiller lenf düğümü negatif düşünülen 921 meme kanseri üzerinde yaptığı bir çalışmada, lenf düğümlerinin %9'unda mikrometastaz saptamıştır (42). Rutin tek preparatın incelenmesi ile gözden kaçan mikrometastazların saptanmasında immunhistokimya yararlı bir tekniktir. İmmunhistokimyasal metodlarla yapılan çalışmalar ile lenf düğümü tutulumu saptanan olgularda, İDK'lu kadınlar için daha yüksek oranda rekürens ve daha az sağkalım oranı rapor edilmiştir (45). Fikse aksiller lenf düğümü olan hastalarda prognoz, mobil olanlardan daha kötüdür (46).

Barth ve arkadaşları, T1 meme karsinomlu 918 vakalık bir seride lenf düğümü metastazının bağımsız habercisi olan dört faktör belirlemiştir: Tümör boyutu, palpabl olup olmadığı, nükleer greydi ve lenf/damar invazyonu (47).

Aksiller lenf düğümü diseksiyonunun yol açtığı komplikasyonları azaltmak için, aksiller lenfatik bölgede primer meme tümörünün direne olduğu ilk lenf düğümünün (sentinel nod) saptanması önemlidir. Sentinel nod, operasyon esnasında vital blue ve sülfür kolloid bileşimi ile boyanır. Sentinel lenf düğümü biyopsisi adjuvan tedavi için hastaların seçiminde yeterli bilgiyi sağlamaktadır (37).

TNM 1997 sınıflamasında Rotter lenf düğümü tutulumu level II aksiller lenf düğümü tutulumu ile eşit sayılmıştır. İnternal meme lenf düğümlerindeki metastatik tümör görüntüsü, özellikle tedavi almayan olgularda on yıldan az bir sağkalım ile birlikte dir. Hem aksiller hem de internal meme lenf düğümleri tutulmuş hastaların prognozu kötü görülmektedir. Ya aksiller ya da internal meme lenf düğümleri pozitif hastaların 5 yıllık hayatta kalma oranı yalnızca %56 ve %52 iken, her ikisinin pozitif olduğu olgularda bu oran %24'e düşmektedir. Supraklavikuler lenf düğümleri tutulmuşsa prognoz çok daha kötüdür. Üç veya daha fazla lenf düğümünde kapsül dışına yayılım varsa ve apikal lenf düğümleri tutulmuşsa olumsuz bir prognoz ile birlikte dir (37). Meme kanserli aksiller lenf düğümü metastazı olan 143 kadının %58.7'sinde kapsül dışı yayılım görülmüştür. Kapsül dışı yayılım ile tutulan lenf düğümü sayısı ve boyutu arasında direkt bir ilişki saptanmıştır, 1-3'e kadar lenf düğümü pozitif olan hastaların yalnızca %38.5'unda, 4-7'ye kadar %77.5'inde ve 8 ve üstünde %92'sinde kapsül dışı yayılım bulunmuştur. Kapsül dışı yayılımı bulunan kadınlar için tüm olası hayatta kalma süresi anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Yalnızca birden üçe kadar lenf düğümü pozitif olan hastalarda fark saptanmamıştır. Kapsül dışı yayılımı olan hastalarda aksiller rekürens sıklığında artış görülmemiştir (48).

Vasküler İnvazyon

Kan damarları ve lenfatik boşluklar, invaziv karsinom çevresinde veya içerisinde tümör hücreleri tarafından istila edilebilir. Vasküler boşluklar hemen her zaman kolayca tanımlanamaz ve FactorVIII, CD31, CD34 veya Ulex europaeus gibi endotelyal işaretleyiciler bile kan damarlarını lenfatik boşluklardan ayırt edemez. Geçmişte tümör embolisinin lokalizasyonunun, çok küçük bir önem taşıdığı düşünülmüştür (49). Ancak günümüzde, infiltratif karsinom çevresindeki vasküler invazyonun belirlenmesinin önemli olduğu görülmektedir. Lokal rekürens ve uzak metastazların değerli bir haber vericisi olarak kabul görmektedir (46,50). Bir çalışmada, aksiller lenf düğümü tutulumu bulunan 33 hastanın %69'unda vasküler invazyon varken, aksiller tutulumu olmayan 30 olgunun %26'sında vasküler invazyon saptanmıştır (51). Davis ve arkadaşlarının bildirdiği bir çalışmada, vasküler invazyon bulunan hastaların %27'sinde, invazyonu olmayanların %18'sinde uzak metastaz gösterilmiştir (52). Orbo ve arkadaşları, lenfatik damar invazyonunun lenf düğümü tutulumu konusunda tümör boyutu, konturları, histolojik greyd ve tipinden daha belirleyici olduğu sonucuna varmıştır (49).

Tümör Boyutu

Farklı merkezlerde tekrarlanan çalışmalarda, invaziv meme karsinomlarının en büyük çapının belirlenmesi, bağımsız prognostik faktörlerin en önemlisi olarak ortaya çıkarılmıştır (46). Lenf düğümü tutulumu ile birlikte evreleme için gerekli üç özellikten ikisini oluşturmaktadır. Tümör boyutunun artması ile lenf düğümü metastazı arasında direkt bir ilişki saptanmıştır. 10 mm'den küçük tümöre sahip kadınların %29'unda aksiller lenf düğümü metastazı varken, 50 mm veya daha büyük çapa sahip vakalarda bu oran %54 olarak belirlenmiştir (37). Histolojik kesitler üzerinde tümör boyutunun ölçüldüğü bir çalışmada 0.5 cm veya daha küçük tümörlerin hiçbirinde rekürens gelişmezken lenf düğümü negatif ve 1 cm'den küçük tümörlerin yalnızca %3'ünde lokal rekürens ve %5'inde uzak metastaz görülmüştür (53). Tümör boyutunun artmasıyla lenf düğümü pozitif vakaların yüzdesinde artış ve 5 yıllık sağkalımda azalma saptanmıştır (46). Silverstein ve arkadaşları, 5 mm ve daha küçük tümörlerin %3'ünde metastaz, 51 mm'den daha büyük tümörlü kadınlar arasında pozitif lenf düğümü olan hastaların oranında %60'a varan artış belirlemiştir (54).

Rosen ve arkadaşları, tümör boyutunun sağkalım üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, 1 cm ve daha küçük tümörlerde 10 ve 20 yıllık izlemlerde relapsız sağkalım oranını sırasıyla, %91 ve %87, 1 cm'den büyük tümörlerde ise %73 ve %68 olarak belirlenmiştir (55).

Tümör Tipi

Tümör tipi önemli olmasına rağmen, tümörün evresini etkilemez. Meme karsinomlarının bazı tipleri (tübüler, müsinöz ve adenoid kistik karsinom) temelde düşük greydlı kanserlerdir. Aksiller lenf düğümü tutulumu ya yoktur ya da çok az sıklıkta görülür ve oldukça iyi prognozlidir. Az diferansiye taşlı yüzük ve inflamatuvar karsinom ve karsinosarkomlar genellikle agresif neoplazmlardır. Kural olarak, düşük dereceli karsinomlar yüksek derecelilerden daha iyi prognoza sahiptir (37). MK'un davranışı ile ilgili değişen görüşler vardır (56). Bazı çalışmalar, bu tümörün daha az agresif gidişini desteklemekle beraber, Ellis ve arkadaşları, kesin morfolojik kriterler uygulansa dahi, MK'lu kadınlar için olumlu sonuç elde edememişlerdir (16). Fisher ve arkadaşları 1990 yılındaki bir çalışmada MK'un prognozunu, İDK ve İLK ile benzer olduğunu rapor etmiştir (57).

Meme karsinomlarının alt tiplerine yönelik 1995'teki raporda, bütün meme karsinomları arasında %67.9 ile İDK'un ilk sırada yer aldığı, 5 yıllık sağkalım oranının %79 olduğu bildirilmiştir. İLK, meme karsinomlarının %6.3'ünü oluşturmakta ve 5 yıllık sağkalım oranı %82'dir (58).

Tümör Greydi

Tümör greydi, evrelemede bir parametre olarak kullanılmamasına rağmen, önemli bir diğer prognostik belirleyicidir (59).

Haagensen, 164 mastektomi spesmeninde büyüme paterni, hücre morfolojisi ve çevre stroma reaksiyonları başlığı altında 15 özelliği değerlendirmiştir. 6 özellik ile sağkalım arasında ilişki saptamıştır. Üç derecede incelediği tümörlerde 5 yıllık sağkalım oranı sırasıyla %80,%38 ve %13'tür.

1950'de Bloom farklı derece sistemlerini yeniden inceleyerek üç faktörün yer aldığı bir yöntem önermiştir. Bunlar: Tübül formasyonunun derecesi, çekirdek boyut, biçim ve boyanma özellikleri, çekirdek hiperkromazisi ve mitotik aktivitedir. Buna göre tümörler düşük, orta ve yüksek dereceli olarak sınıflandırılmıştır.

Birkaç yıl sonra, Bloom ve Richardson greydleme sistemini kolaylaştıran bir puanlama sistemi geliştirdiler. Üç özelliğin herbiri 3 puan üzerinden, sırasıyla hafif, orta ve belirgin dereceyi yansıtacak şekilde puanlandı. 3-5 puan arası greyd I, 6-7 greyd II ve 8-9 greyd III olarak belirlendi.

Black ve arkadaşları tübül formasyonu ve nükleer özelliklerin ayrı ayrı prognostik önemini değerlendirmiş ve yalnızca nükleer morfolojinin önemli olduğu sonucuna varmıştır. Pratikte alışıldığının aksine, greyd 0 ve 1 en az diferansiye veya anaplastik, greyd IV ise iyi diferansiye neoplazmları yansıtmaktaydı. Bu ters numaralandırma nükleer derecelendirme sisteminin rahatsız edici yanı olarak kalmıştır ve uygulamada bu nedenle destek görmemiştir.

Fisher ve arkadaşları, Bloom-Richardson ve Black-Speer yöntemlerinin her ikisini de kullanarak yeni bir metot geliştirmişlerdir. Bu yöntem ile Black ve Speer nükleer greydleme sistemindeki 5 kategoriyi 3'e indirmiş ve ters numaralandırmayı ortadan kaldırmışlardır. Histolojik greyd; nükleer greyd ve tübül yapılarının varlığı ile belirlenmektedir. Bu sistemde de greyd ile patolojik ve klinik özellikler arasında tutarlı bir ilişki bulunmuştur (37).

Elston, Bloom-Richardson greydleme sisteminin yeniden uyarlanmış şeklini uygulamaya sokmuştur. Elston ve arkadaşları, greydlemenin invaziv duktal karsinomlarda

yerine getirildiğine, özel tipteki meme karsinomlarında derecelendirmenin genelde yapılmadığına dikkati çekmişlerdir (60). Bununla birlikte, daha sonraki çalışmalar, özel tipler dahil, bütün meme karsinomlarının greydlenmesi gerektiği yönündedir. Elston ve arkadaşlarının ortaya çıkardığı bu yöntemdeki en önemli değişiklik, çekirdek hiperkromazisi ve mitotik aktivite grubundadır. Gerçek hiperkromazi tanımlamak ve piknotik çekirdekten ayırmak güç olduğundan dolayı bu grup sistemden çıkarılmıştır. Yalnızca mitotik figürler sayılmaktadır. Elston metodunda, tübül formasyonu tümörün bütün sahalarında (>%75) görülüyorsa 1 puan, orta derecede tübül yapıları (%10-75), solid alanlar ile karışık durumda ise 2 puan, çok az (<%10) veya hiç tübül yapısı görülüyorsa 3 puan verilerek değerlendirilmektedir. Çekirdek pleomorfizmin incelenmesinde, boyut ve biçim farklılıkları göz önüne alınmaktadır. Tümör hücreleri genelde aynı nitelikteyse veya çok az farklılık gösteriyorsa 1, çekirdek boyut ve biçiminde orta derecede farklılık varsa ve nadiren çekirdekçik görülüyorsa 2, belirgin değişiklik varsa, bir veya birkaç adet çekirdekçik içeriyorsa 3 puan verilmektedir .

Mitotik oranın belirlenmesinde, tümörün mitozdan zengin kısımlarında veya periferinde en azından on alanda mitoz sayılmalıdır. Tümör bu sahalardaki toplam mitoz sayısına bağlı olarak 1-3 arasında skorlanır. Değişik mikroskoplarda alan çapı ve objektif büyütmesi, skora için belirlenen mitoz sayısının alt ve üst sınırlarında farklılığa neden olmaktadır. Orijinal bir çalışmada, 0.59 mm çaplı ve x25 objektifli mikroskopta, mitoz puanlaması 0-9 mitoz için 1, 10-19 mitoz için 2, 20 ve üzeri için 3'tür. Bir diğesinde ise 0.44 mm çaplı ve x40 objektifli mikroskopta 0-5 mitoz sayısı 1, 6-10 mitoz sayısı 2, 11 ve üzeri 3 puan almıştır (60) .

Tümörün greydlenmesi, üç özelliğin değerlendirilmesinden sonra, toplam puan üzerinden yapılır.

Greyd I: 3-5 puan, iyi diferansiye

Greyd II: 6-7 puan, orta derecede diferansiye

Greyd III: 8-9 puan, az diferansiye

Greydleme sistemleri halen gelişim halindedir ve son sistem henüz ortaya çıkmamıştır (37).

Greydleme sayısını üçten ikiye düşüren Fisher ve arkadaşları, evre I lenf düğümü negatif, iyi nükleer greydli kadınlarda 8 yıllık sağkalım %86, kötü nükleer greydli hastalarda sağkalım %64 olarak bulunmuştur (57).

Bazı araştırcılar mitotik aktivitenin meme kanserlerindeki en güçlü prognostik gösterge, bazıları ise evreden sonra en iyi ikinci belirleyici olduğunu göstermiştir (61,62).

Tümörün en önemli prognostik özellikleri olan boyut, lenf düğümü durumu ve histolojik greyd bulguları temel alınarak, Nottingham grubu tarafından ortaya çıkarılan oldukça basit prognostik bir indeks belirlenmiştir .

Nottingham prognostik indeksi=0.2xTümör boyutu(cm)+ Lenf nodu evresi (1,2,3)
+Tümör greydi (1,2,3)

NPI değeri düşükse prognoz daha iyidir. 15 yılın üzerindeki izlemlerle, iyi prognozlu hasta grubunun sağkalım oranı %81, kötü prognozlu grubun ise %16 rapor edilmiştir (63).

Nekrozun Önemi:

Tümör nekrozunun olası bir prognostik faktör olarak kullanılıp kullanılmayacağı birkaç grup tarafından araştırılmıştır (64,65). Beklendiği gibi; nekroz, tümör boyutu ve greydi ile ilişkilidir. Nekroz varlığında, lenf düğümü tutulumu olsun ya da olmasın sağkalım oranları daha düşüktür. Bununla birlikte, bilinen prognostik faktörler ile uyum sağlandığında tümör nekrozu, sağkalım üzerindeki rolünü kaybetmemektedir (66).

Lenfoplazmositik İnfiltrasyon

İnfiltratif karsinomlarda stromadaki lenfoplazmositik infiltrasyonun prognostik önemi, tartışmalı ve ilginç bir konudur. Reaksiyon çoğunlukla matür lenfositlerden daha az oranda plazma hücrelerinden oluşur. MK'larda plazma hücreleri bol miktardadır. Ancak medüller dışı karsinomların az bir kısmında da görülebilir. Belirgin lenfositik reaksiyon gösteren medüller-dışı duktal karsinomlar, az farklanma eğilimine sahiptir. MK'un iyi prognozu lenfoplazmositik reaksiyona bağlanırken, İDK için aynı sonuç bildirilmemektedir.

Bazı araştırcılar lenfositik cevabın oldukça iyi prognoz kriteri olduğunu, bazıları ise anlamlı farklılık olmadığını rapor etmişlerdir (67).

Meme Karsinomlarında Steroid Reseptörleri:

İnvaziv karsinom içeren biyopsi örneklerinde, östrojen ve progesteron reseptörlerinin belirlenmesi, pratik uygulamada, tedaviye başlamadan önce, rutin olarak yapılmaktadır. Primer meme karsinomlarının %55-65'inde ve memeden metastaz alan tümörlerin %45-55'inde östrojen, reseptörü pozitifdir. Östrojen reseptörü pozitif olan olgular olasılıkla daha iyi prognoza sahiptir (68).

Primer ve metastatik meme karsinomlarının %45-60'ında progesteron pozitifdir. Hem östrojen (ÖR) hem de progesteron (PR) pozitifliği, endokrin uygulamalara tümörlerin cevabını %55'den %80'e çıkarmaktadır (69). Progesteron reseptörleri, meme karsinomlarının davranışını belirlemede östrojen kadar değerli bir hormondur ve progesteron yokluğu kötü seyirle birlikte dir. ÖR negatif ve PR pozitif tümörlerin %46'sı hormonal uygulamalara yanıt verir (37).

Tümör Anjiogenezi:

Anjiogenezi, var olan vasküler yataktan yeni damarların oluşumudur. Anjiogenezi, hücre dışı matriksin yeniden yapılanmasını, endotelial hücrelerin göçü ve çoğalmasını, kapiller oluşumları kapsar. Bu adımlar, bir veya daha fazla sayıda anahtar rol oynayan anjiogenik faktörler aracılığı ile kontrol edilmektedir (70,71). Normalde sıkı kontrol altındadır ve yalnızca üreme, gelişme ve yara iyileşmesi gibi durumlarda görülür.

Anjiogenezi tümör büyümesi gibi patolojik durumlarda da gereklidir (70). Tümörler vaskülarizasyon olmadıkça 2-3 mm'den daha fazla büyüyemezler. Bu zon, kan damarlarından diffüzyon ile oksijen ve besinlerin en fazla ulaşabilecekleri mesafedir. Dolaşım içerisinde bir rota sağlayan yeni gelişmiş vasküler kanallar ve tümör hücreleri arasındaki etkileşim tümörün yayılımı ile sonuçlanır. Bazı çalışmalarda tümör damarlanması ile sağkalım arasında ters bir ilişki belirlenmiştir (72,73). Bu bilgi, tümör büyümesini önlemek için, yeni damar gelişimini baskılayan antianjiogenik tedavi yaklaşımını ön plana çıkarmıştır.

İn vivo ve in vitro anjiogenik aktivite yeteneğine sahip çok sayıda biyolojik faktör vardır. Bunların en önemlileri vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), platelet derived endotelial büyüme faktörü (PdECGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), tümör nekroz faktörü (TNF), transforming growth faktör (TGF) ve bazik fibroblast büyüme faktörüdür (70).

İn vivo ve in vitro şartlarda etkili olan anjiogenik faktörler Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3: Anjiogenik faktörler

Büyüme faktörleri	İn vivo	İn vitro
Heparin bağlayıcı		
aFGF	+	+
bFGF	+	+
VEGF	+	+
TNF ailesi		
TNF- α	+	-
TGF- β ailesi		
TGF- β 1	+	-
EGF ailesi		
TGF- α	+	+
EGF	+	+
Diğerleri		
PdECGF/TP	+	0
IL-1	+	+
IL-4	0	+
Histamin	+	0
Bradikinin	+	0
PGE2	+	+
Fibrin	+	+
Heparin	+	+
Angiogenin	+	+

Devam eden bir süreç olmasına karşın anjiogenezis altı farklı adımda incelenmektedir: Anjiogenik faktörlerin salınımı, endotelial hücrelerde morfolojik değişiklikler, proteolitik enzimlerin serbestleşmesi, endotelial hücre göçü ve kapiller yapı oluşumu ve mikrodamar farklanması. Anjiogenik faktörler, endotelial hücreleri doğrudan doğruya, makrofaj benzeri veya stromal hücreler aracılığı ile uyarabilir. Bu nedenle, anjiogenik faktörler in vitro çalışmalarda sanılanın aksine in vivo koşullarda tam tersi etkileşim gösterir (70).

Anjiogenik faktörlere yanıt olarak endotelyal hücrelerde bazı morfolojik değişiklikler olmaktadır. Endotelyal hücreler bazal laminaya doğru parmak benzeri uzantılar geliştirir. Hücreler arası mesafe belirginleşir ve endotelyal hücreler perisitlerle beraber gergin hale gelirler. Elektron mikroskopik seviyede, endotelyal hücrelerde mitokondri boyut ve sayısında artış, endoplazmik retikulumda yoğunlaşma ve Golgi cisimciğinde belirginleşme görülür.

Kapiller bazal membran ve çevresindeki ekstrasellüler matriks, hem endotelyal hem de tümör hücreleri tarafından salgılanan matriks metalloproteinaz ve plazminojen aktivatörleri gibi çeşitli proteolitik enzimlerin serbestleşmesi ile incelik (70,74). Proteoliz esnasında, anjiogenik uyarıcı ve engelleyici faktörler matriks veya paraekrin hücrelerden de serbestleşir (70).

Bazal lamina ve ekstrasellüler matriksin bozulması, endotelyal hücrelerin ana damardan tomurcuklanma için solid kordonlar halinde göçüne izin vermektedir. Başlangıçta solid kordon olarak göç eden endotelde daha sonra lümen meydana gelir. Kontrol mekanizması tam anlaşılammış olmakla beraber, sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ve adezyon moleküllerinin bu göç adımını düzenlediğine inanılmaktadır (70).

Son yıllardaki bazı çalışmalar, selektin ve integrin ailesinden olan hücre adezyon moleküllerinin inflamasyon, metastaz ve kapiller oluşum sürecinde de önemli bir rol oynadığını göstermiştir (75,76).

Tomurcukların oluşumu esnasında vasküler yapının daha da uzaması için bazı endotelyal hücrelerin bölünmesi gereklidir. Endotelyal hücreler normal dokuda dinlenme halindedir ve ancak 7-10 yılda bir bölünür (70,77). Özellikle hayvanlar üzerinde yapılan otoradyografik çalışmalarda, tümör endotelinin 30-40 kat daha hızlı çoğalabildiğini göstermiştir (70,78). Bununla birlikte, insanlardaki kanser çalışmaları hayvan deneylerindeki endotelyal hücre çoğalmasının çok fazla abartıldığı yönündedir (79).

Yeni gelişen damarlar, endotelyal hücreler yanı sıra tümör hücrelerini de içeren süreklilik göstermeyen, çok sayıda trans endotelyal kanal içeren bir döşemeye sahiptir. Yeni damarların çevresinde değişen miktarlarda laminin, fibronektin ve kollajenden oluşan düzensiz bir bazal lamina ve düz kas, fibroblast ve perisitlerin katkısıyla oluşan stroma vardır. Mikrodamarların yapısal bozukluğu ve VEGF gibi anjiogenik faktörlerin fonksiyonel etkisi, tümör endotelinde geçirgenliğin başlıca sebeplerindendir (70).

Birçok büyüme faktörü anjiogenik aktivite göstermesine rağmen en önemli ve en özel role VEGF sahiptir. Bu faktör çoğu mezenkimal ve stromal hücreden salgılır.

Ancak reseptörleri endotelial hücrelerde bulunmaktadır. VEGF, histaminden 50.000 kat daha güçlü, çok fonksiyonlu bir sitokindir. Mikrovasküler geçirgenliği artırır. Endotelial hücre büyümesini ve anjiogenezisi direkt uyarır.

VEGF vasküler stromanın oluşmasında en azından iki yolla rol oynar:

1-Plazma proteinleri (fibrinojen dahil) için geçirgenliği artırır. Fibrinojen fibrin formunda ekstraselüler matrikste pıhtılaşır. Bu değişiklikler sonucunda fibroblast ve makrofajlar fibrin jeli içerisine kolayca göç etmektedir.

2-Ekstraselüler matriksin proanjiogenik değişikliklerine yol açar (80).

VEGF'nin diğer etkileri: Plazminojen aktivatör ve plazminojen aktivatör inhibitör 1, interstisyel kollajenaz ekspresyonuna endotel hücrelerinden von Willebrand faktörün salınımına neden olur. Bu fonksiyonlarla ekstraselüler matrikste değişikliklere yol açarak vasküler stroma gelişimine neden olmaktadır (80).

Son zamanlarda, baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarda, hepatosit büyüme faktörünün proanjiogenik aktiviteye sahip olduğu ve anjiogenezisi uyardığı rapor edilmiştir (81).

Mikrodamar sayımı ile ilgili çalışmalar, meme tümörlerinde erken metastaz potansiyelini saptamada yardımcı olabilir. Ek olarak, yüksek anjiogenik potansiyelli, evresi ilerlemiş hastalarda antianjiogenik tedavi gerekliliği düşünülebilir (1).

EPİTELYAL CADHERİN

Cadherinler, hücre-hücre adhezyon molekülü olarak hareket eden glikoprotein ailesinin bir üyesidir (3,82). Molekül ağırlığı 124 kilodalton civarında olan glikoprotein içerir ve tek zincir formunda 723-748 aminoasitten oluşur. Sitoplazmik bölgede, aktin mikrofilament ağı ile ilişkili, catenin adı verilen bir grup proteinle etkileşir (82,83). Normal dokuda epitelyal cadherin (E-CD) tüm hücre yüzeyinde, hücreler arası mesafede ise zonula adherensde yoğunlaşmaktadır (82). Cadherinlerin, ilk buldukları yere göre adlandırılan nöral, plasental, retinal cadherin gibi birkaç farklı tipi tanımlanmıştır. E-CD, meme dahil, pekçok dokuda tanımlanmıştır. Yalnızca lenfoid ve bağ dokusunda bulunmaz (84).

Kalsiyum bağımlı cadherinler, embriyo oluşumu sırasında dokuların biraraya gelmesinde ve erişkinde doku yapısının devamlılığının sağlanmasında rol oynar. Kanser biyolojisinde ise hücre-hücre adhezyon moleküllerinin kaybı önem taşımaktadır. Bu nedenle tümör hücre invazyon ve metastazlarında da önemli görülmektedir (85).

CATHEPSİN D

Cathepsin D (CD), aspartat proteaz ailesine ait proteolitik bir enzimdir. Normal hücrelerin lizozomlarında, 52 kilodalton ağırlığındaki aktifleşmemiş öncü bir enzim formunda yapılır. Önce intermedyete (48 kd), daha sonra da matür enzime (34 kd) hızla dönüşür (86).

Lizozomal proteazlar; hücre beslenmesi, kan akımını bozan aterosklerozis gelişiminde, kanser ve dejeneratif hastalık patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Birçok kanser hastalığında hem serumda hem de tümör dokusunda artmış lizozomal enzim aktivitesi gösterilmiştir (87).

CD, normal meme epitel lizozomlarında matür enzim olarak bulunur. Meme karsinomlarında matür enzim oluşum sürecinde bir gecikme nedeniyle, öncü CD enziminin birikim ve sekresyonunda artış görülür. Bu öncü enzim in vitro şartlarda mitojenik aktivite göstermekte ve bazal membranda proteolitik etki oluşturduğu bilinmektedir. Hücre kültür çalışmaları, östrojen bağımlı meme karsinomlarında, östrojene yanıt şeklinde CD varlığını göstermiştir. Bu durum da CD yapımının bazı meme karsinomlarında, östrojen reseptör yolu aracılığıyla düzenlenebileceğini göstermiştir (88,89). CD, meme karsinom hücrelerinde lizozom ve fagolizozomlarda ve bu dokulardaki makrofajlarda bulunmaktadır (89).

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada; 1997-2001 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda infiltratif meme karsinomu tanısı olarak modifiye radikal mastektomi ve aksiller lenf düğümü diseksiyonu uygulanan olgular yer almaktadır. Başlangıçta 60 kadın hasta çalışmaya dahil edilmişken, 5 hastanın 3'ünde mastektomi materyallerinden hazırlanan parafin bloklardan çalışma için yeterli kesit elde edilemediğinden ve 2'sinde parafin bloklara ulaşamadığından (başka hastaneden konsültasyon amaçlı gönderilmiş) bu olgular çalışma dışı bırakıldı. Arşivden 55 olgunun, 24 saat %10 formalin solusyonunda bekletilerek fikse edilen mastektomi materyallerinden hazırlanan kesitleri içeren parafin bloklarına ulaşıldı. Tümörü temsil eden bloklardan histopatolojik inceleme için yeniden 5µm kalınlığındaki kesitler alınarak Hematoksilin-Eozin (HE) ile boyandı. Hastaların biyopsi raporları bilgisayar kayıtlarından elde edildi. Preparatlar; tümör tipi, histolojik greyd, peritümöral lenfovasküler invazyon, nekroz, lenfositik infiltrasyon, duktal karsinoma in situ (DKİS) varlığı, mitoz sayısı ve pozitif lenf düğümlerinde kapsül dışı yayılım olup olmadığı açısından yeniden değerlendirildi. Yaş, tümör boyutu, aksiller lenf düğümü durumu ve tutulan lenf düğümlerinin sayısı biyopsi raporlarından öğrenildi. 55 olgunun 48'i İDK, 4'ü İLK, 1'i AMK, 1'i MK ve 1 tanesi TK idi. Histolojik greydeleme modifiye Bloom-Richardson Elston metodu kullanılarak 3 greyd üzerinden yapıldı. Önceki biyopsi raporuna göre; Greyd 3 olan 2 olgu greyd 2, Greyd 2 olan 6 olgu Greyd 1 ve greyd 2 olan 1 olgu greyd 3 olarak değerlendirildi. Nekroz varlığı, 4 grupta; yok, (+), (++) , (+++) şeklinde değerlendirildi. Lenfoplazmositik infiltrasyon, hafif (grup 1), orta (grup 2) ve şiddetli (grup 3) olmak üzere skorlandı. Mitoz sayısı en aktif 10 sahada (x40) büyütmede sayıldı .

Mikrodamar sayımı için immünohistokimyasal (İHK) boyama yapıldı. Streptavidin-biotin-peroksidaz (ABC) metodu kullanıldı (90). Yeni damar oluşumunu değerlendirmek için, Factor VIII Related Antigen (FVIII) (Z002, Zymed, South San Francisco, CA) ve CD34 (QBEnd/10, Novo Castra, Newcastle-upon-Tyne; UK) endotelial işaretleyicileri seçildi. Çalışmada yer alan diğer parametrelerden E-Cadherin (4A2C7, Zymed, South San

Francisco, CA) ve Cathepsin D (CD) (1C11, Zymed, South San Francisco, CA) dağılımı da aynı yöntemle boyanarak değerlendirildi.

Her tümör için, tümörü temsil eden ve histolojisi damardan zengin olan bir kesitin parafin bloğu seçildi. Dokunun lam üzerine yapışmasını sağlamada HistoGrip (Zymed) kullanıldı. Bu lamlara 4µm kalınlığında iki kesit alınarak bir gece 56°C'de etüvde bekletildi. Deparafinizasyondan sonra ksilen ve alkolde hidrate edildi. FVIII için tripsin, CD34 için pepsin damlatılarak 5 dakika muamele edildi. E-Cadherin için 500 ml sitrat buffer (pH 6) içerisinde kaynatılarak antijenin ortaya çıkmasına yönelik çalışma yapıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için blokaj uygulandı. PBS ile yıkadıktan sonra doku üzerine sırasıyla 50 dakika kullanıma hazır primer antikor, 10 dakika biotin anti-mouse antikor ve 10 dakika streptavidin peroksidaz uygulandı. PBS ile yıkama işlemini takiben 15 dakika aminoethyl carbazole kromojen (AEC) (Zymed) ile muamele edildi. Bu aşamada distile su ile yıkama gerçekleştirildi. Preparatlar, Mayer's hematoksilen ile karşıt boyama sonrası yıkama işleminin ardından kapatma maddesi (mounting medium) ile kapatıldı.

İmmün boyamada, negatif kontrol olarak primer antikor damlatılmayan taraf kullanıldı. Pozitif kontrol olarak; E-Cadherin için benign meme dokusu, Cathepsin D ve diğerleri için yüksek dereceli, damardan zengin bir meme karsinomu seçildi.

Mikrodamar sayısının değerlendirilmesinde FVIII ve CD34 ile boyanan kesitler incelendi. İnfiltratif karsinomlarda, damarlanmanın yoğun olduğu saha, en küçük (x40) büyütmede belirlendi (72,91). Her tümör için, damar sayısının yüksek olduğu üç alanda (x400) büyütmede, (0.55 mm², Olympus BX50 ışık mikroskobu) sayım yapıldı (72,73,91). En yüksek ve ortalama damar sayısı skora için kaydedildi.

Sekiz eritrositten daha fazla hücreyi kapsayan, kalın duvarlı olanlarla ve sklerotik, nekrozlu, iltihaplı sahalarda bulunan damarlar hariç tutuldu. Tek endotel hücre veya hücre kümeleri, lümen olsun ya da olmasın sayıma dahil edildi (72,92).

Cathepsin D (CD) için immünohistokimyasal değerlendirme, tümör hücrelerinde ve stromal hücrelerde ayrı ayrı belirlendi. E-Cadherin ve Cathepsin D dağılımı yarı nicel şekilde, yüzde ile hesaplandı.

İstatistiksel Yöntem

Verilerin istatistiksel analizinde parametrik koşulları sağlayan CD34, FVIII, CD-stromal, gibi ölçümsel verilerde iki grubun karşılaştırılmasında T testi, grup sayısı üç ve daha fazla olduğunda ANOVA testi kullanıldı, post Hoc karşılaştırmalar için Tukey HSD testi kullanıldı. Parametrik koşulları sağlamayan CD-t ve E-CD değerleri için ise non parametrik Mann Whitney U testi ve Kuruskall Wallis Varyans analizi kullanıldı. Ölçümsel veriler arasında ilişki araştırılırken parametrik koşulları sağlayan gruplarda Pearson korelasyon testi, parametrik koşulları sağlamayanlarda Spearman korelasyon testi kullanıldı.

Ölçümsel veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi.

BULGULAR

Morfolojik Bulgular

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda, 1997-2001 yılları arasında tanı alan, 55 infiltratif meme karsinomu çalışmaya alındı.

Hastaların yaş ortalaması $46,5 \pm 12,6$ yıldır. Yaş dağılımı 26-77 arasında idi.

Elli beş primer meme karsinomunun yüzdeleri ile dağılımında; 48'i (%87) infiltratif duktal, 4'ü (%7) infiltratif lobüler, 1'i (%2) atipik medüller, 1'i (%2) medüller, 1'i (%2) ise tübüler karsinomdu.

Tümör boyutu ortalaması $3,52 \pm 1,72$ idi. Tümör boyutları 1-9 cm arasında değişmekteydi.

Aksilladan en az 6, en çok 29 lenf düğümü diseke edilmişti. 43 olguda (%78,18) aksiller lenf düğümü metastazı varken, 12'sinde (%21,82) lenf düğümleri reaktifti. Metastatik lenf düğümü sayısı en az 1, en çok 27 adetti. 17 olguda kapsül dışı yayılım pozitifti. Peritümöral lenfovasküler invazyon, 55 olgunun 19'unda saptandı. Resim 1'de peritümöral lenfovasküler invazyon görülmektedir. CD34 ile damar endotelinde immunboyanma mevcuttu.

Olguların 18'i Greyd I, 24'ü Greyd II ve 13'ü Greyd III idi. Greydlerin infiltratif duktal karsinomlardaki dağılımında 17 olgu Greyd I, 18 olgu Greyd II ve 13 olgu Greyd III olarak skorlandı. İnfiltratif lobüler, medüller ve atipik medüller karsinom orta derecede prognoza sahip grupta yer aldığından Greyd II, tübüler karsinom iyi prognoz grubunda olduğundan Greyd I olarak değerlendirildi (93).

Yirmi üç olguda nekroz saptanmadı. 19'unda (+), 6'sında (++), 7'sinde (+++) nekroz belirlendi.

Lenfoplazmositik infiltrasyon, 34'ünde hafif, 13'ünde orta şiddette ve 8'inde şiddetli nitelikte idi.

İnfiltratif duktal karsinomlarda 48 olgudan 18'inde DKİS saptandı.

Mikrodamar Yoğunluğunun Değerlendirilmesi ve Klasik Prognostik Faktörler ile İlişkisi:

Mikrodamar yoğunluğu; FVIII ve CD34 ile en yüksek ve ortalama skor üzerinden değerlendirildi. FVIII ile çalışılan 11 olguda, hiçbir damarda boyanma saptanmadığından, bu olgular çalışmanın haricinde tutuldu. Her iki endotelial işaretleyiciye ait en yüksek, en düşük ve ortalama değerler Tablo 4'te verildi.

Tablo 4: FVIII ve CD34 ile değerlendirilen mikrodamar yoğunluğuna ait değerler

Değişken	n	En Düşük	En Yüksek	Ortalama
FVIII(en yüksek)	44	18,18	81,82	39,3±15,72
FVIII(ortalama)	44	14,55	64,85	33,33±12,75
CD34(en yüksek)	55	25,45	158,18	59,21±25,11
CD34(ortalama)	55	21,21	133,33	50,87±22,73

Olgularda CD34 ve FVIII ile belirlenen mikrodamar yoğunluğu arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı (en yüksek boyanma için $r=0,601$, $p<0,0001$; ortalama boyanma için $r=0,642$, $p<0,0001$). Ancak olguların genelinde CD34 ile belirlenen damarlardaki boyanma FVIII grubunda yer alanlara göre daha belirgindi (sırasıyla en yüksek boyanma için $59,21±25,11$ ve $39,25±15,72$, $p<0,0001$ ve ortalama boyanma için $50,87±22,73$ ve $33,33±12,75$, $p<0,0001$). Yüksek mikrodamar sayısına sahip CD34 ile boyanmış bir tümör örneği Resim 2'de görülmektedir. Aynı tümör, FVIII ile daha zayıf boyanma niteliğine sahipti (Resim 3).

Lenf düğümü (-) ve (+) olgular ve mikrodamar yoğunluğu ile belirlenen anjiogenezisin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 5,6).

Tablo5: Lenf Düğümü (+) ve (-) olguların CD34 ile değerlendirilen mikrodamar yoğunluk değerleri

Değişken	N	CD34(en yüksek)	CD34(ortalama)
Lenf düğümü(+)	43	56,8± 22,7	48,2±19,5
Lenf düğümü(-)	12	67,9± 32,1	60,4±31,1

Tablo 6: Lenf düğümü (+) ve (-) olguların FVIII ile değerlendirilen mikrodamar yoğunluk değerleri

Değişken	N	FVIII(en yüksek)	FVIII(ortalama)
Lenf düğümü(+)	36	38,7±14,6	32,6±11,9
Lenf düğümü(-)	8	42,0±20,9	36,7±16,7

FVIII ile ölçülen mikrodamar yoğunluğu ve lenfositik infiltrasyon arasında negatif bir ilişki gözlemlendi. Lenfositik infiltrasyonun şiddetli olduğu olgularda, FVIII mikrodamar yoğunluğu belirgin olarak daha azdı. Lenfositik infiltrasyon hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olmak üzere; 3 grupta incelendiğinde, bu gruplar arasında FVIII (en yüksek) sırasıyla 44,1±16,6, 32,0±11,1 ve 28,8±6,8, $p=0,0265$ bulundu.

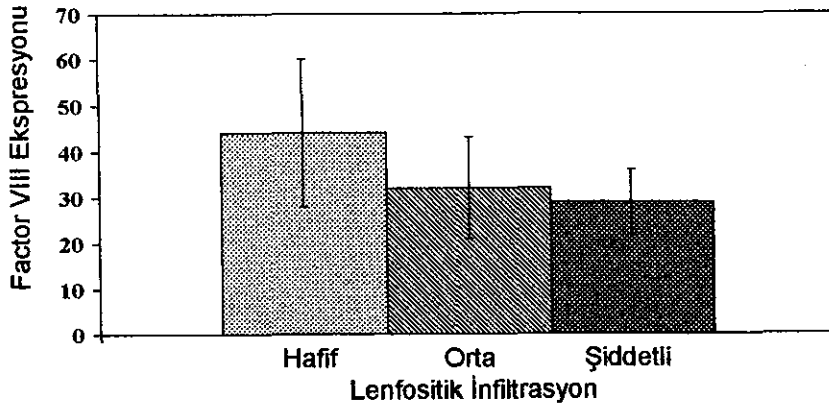
Grup 1 ile Grup 2 ($p=0,034$) ve Grup 3 ($p=0,026$) arasında anlamlı farklılık saptanırken Grup 2 ve Grup 3 arasında farklılık saptanmadı. Benzer bulgular FVIII (ortalama) için de geçerliydi. Sırasıyla 37,4±13,3, 27,3±8,9 ve 24,3±6,4, $p=0,02$. Grup 1 ve 2 arasında $p=0,0022$, Grup 1 ve 3 arasında $p=0,026$ bulundu (Şekil 2).

CD34 ile ölçülen mikrodamar yoğunluğu ve lenfositik infiltrasyon arasında ise istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı.

DKİS komponenti baskın olan tümörlerde, mikrodamarların bu yapılar çevresinde yoğunlaştığı dikkati çekti (Resim 4). Ancak DKİS varlığı ile anjiogenezis arasında korelasyon görülmedi.

Mikrodamar sayısı ile histolojik greyd, peritümöral lenfovasküler invazyon, nekroz, tümör boyutu ve diğerleri arasında korelasyon bulunmadı.

Şekil 2: Factor VIII Ekspresyonu ve Lenfositik İnfiltrasyon Şiddeti Arasındaki İlişki



Lenfositik infiltrasyonun şiddetli olduğu olgularda FVIII mikrodamar yoğunluğu belirgin olarak azalmıştır ($p=0.0265$).

Cathepsin D Dağılımının Klasik Prognostik Faktörler ve Angiogenesis ile İlişkisi:

CD için pozitif reaksiyon, kısmen veya tümüyle sitoplazmik hacmi kaplayan, intrasitoplazmik kahverengi granüller şeklindeydi. CD immünreaktivitesi, tümörler arasında ve hatta aynı tümör içerisinde yerleşim açısından heterojendi (Resim 5,6,7). Teknik sebeplerden dolayı, tümör içerisindeki hiçbir alanda ve pozitif kontrolde boyanma olmadığından CD ekspresyonu 55 olgunun 50'sinde değerlendirilebildi. İmmünreaktivite hem tümör hücrelerinde (CD-t) hem de stromal hücrelerde (CD-st) incelendi. Stromal hücrelerdeki immünboyanma; 41 olgunun 28'inde kuvvetli, 11'inde intermedyete ve 2'sinde zayıf nitelikteydi. 9 olguda stromal hücrelerde boyanma görülmedi ya da %1'den az odaksal boyanma mevcuttu. CD-st dağılımı, olguların 20'sinde %10'un altında, 17'sinde %10-25, 9'unda %26-50 arasında ve 4'ünde %51'in üzerindeydi. CD-st ile boyanma ortalaması $22,96 \pm 16,95$ idi.

Histolojik greyde göre CD-st boyanmasında anlamlı farklılık belirlendi. Buna göre; greyd artıkça stromal hücrelerdeki CD ekspresyonu artmaktaydı. Sırasıyla Greyd I tümörlerde CD-st boyanma ortalaması $9,29 \pm 8,41$, Greyd II tümörlerde $27,3 \pm 20,2$ ve Greyd III'lerde ise $25,4 \pm 19,5$ bulundu ($p=0,0057$). Greyd I-II ve Greyd I-III arasında CD-st

boyanma açısından anlamlı fark saptandı (sırasıyla $p=0,0035$ ve $0,0074$). Greyd II-III arasında fark saptanmadı.

CD-st ve histolojik greyd arasında anlamlı bir korelasyon ilişkisi mevcuttu.

CD-st ile ilişkili diğer faktörler incelendiğinde; mitoz sayısı ($r=0,39$, $p=0,0059$), yaş ($r=0,43$, $p=0,0021$) arasında pozitif korelasyon, CD34 ile değerlendirilen mikrodamar sayısı ile ($r=-0,33$, $p=0,0188$) negatif korelasyon bulundu. Ancak CD-st incelemesi yapılan 50 vakalılık popülasyonda yaş-mitoz sayısı ($r=0,29$, $p=0,043$) arasında pozitif, yaş- CD34 ile değerlendirilen mikrodamar sayısı arasında ($r=-0,28$, $p=0,0509$) negatif korelasyon bulundu (Şekil 3). Bu nedenle CD-st ile de korelasyon gösteren bu değişkenler, multipl regresyon analizi ile değerlendirildi. CD-st ve yaş arasında ($p=0,0068$) bağımsız bir ilişki saptanırken (Şekil 4), mitoz ve CD34 ile ölçülen mikrodamar sayısı arasındaki ilişkinin yaşa bağımlı olduğu ortaya konuldu.

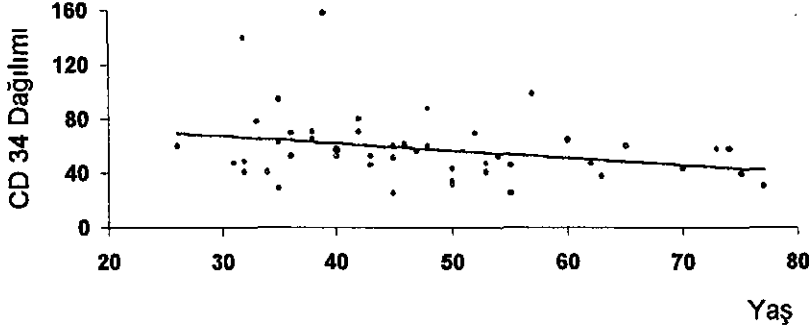
CD-st ile diğer prognostik faktörler arasında ilişki saptanmadı.

CD immünreaktivitesi, olguların 24'ünde tümör hücrelerinde saptandı. 16 olguda immünboyanma; %10'un altında, 6'sında %10-25 arasında ve 2'sinde %25'in üzerindeydi. Bu sonuçlara göre; CD ekspresyonunun tümör hücrelerinden çok, stromal hücrelerde var olduğu görüldü. CD-t ekspresyonu, ancak birkaç yüksek greydli tümörde belirgindi.

CD-t ile FVIII ile değerlendirilen mikrodamar sayısı arasında negatif korelasyon bulundu. Sırasıyla en yüksek ve ortalama mikrodamar sayısı ile CD-t arasındaki ilişkinin r ve p değerleri ; $r=-0,433$, $p=0,022$ ve $r=-0,367$, $p=0,006$ 'dır.

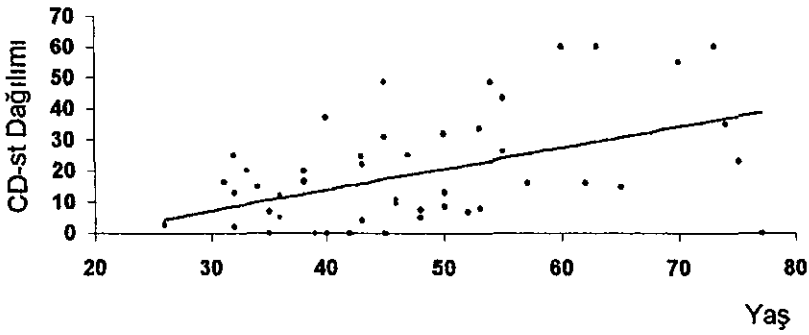
Diğer prognostik faktörler ile CD-t ekspresyonu arasında ilişki belirlenmedi.

Şekil 3: CD 34 Dağılımı Ve Hasta Yaşı Arasındaki İlişki



Hasta gurubunda CD 34 dağılımı ve yaş arasında negatif bir korelasyon gözlenmektedir ($r = -0.28$, $p=0.0509$).

Şekil 4: CD Stromal Dağılımı Ve Hasta Yaşı Arasındaki İlişki



Hasta gurubunda CD stromal dağılımı ve yaş arasında belirgin bir korelasyon gözlenmektedir ($r =0.43$, $p=0.0021$).

E-Cadherin Ekspresyonu ile Tümörlerin Histopatolojik Özelliklerinin İlişkisi:

E-cadherin immünreaktivitesi; epitelyal tümöral komponentte, özellikle tübüler yapıların belirgin olduğu alanlarda, hücrelerarası mesafede membranöz boyanma niteliğinde saptandı (Resim 8,9).

Pozitif kontrolün kullanıldığı olguların 27'sinde E-cadherin immünreaktivitesi görüldü. 27 olgunun 8'i İDK (Greyd I), 10'u İDK (Greyd II), 8'i İDK (Greyd III), biri AMK idi. 17 İDK, 1 MK, 1 TK ve 3 İLK olgusunda immünboyanma görülmedi. Resim 10,11'de pozitif kontrolü üzerinde olan, E-cadherin ile boyanmayan İLK olgusu görülmekte.

E-cadherin ekspresyonunun greydlere göre ortalama boyanmaları Tablo 7'de verildi.

Tablo 7: E-cadherin ekspresyonunun greydlere göre ortalama boyanma değerleri

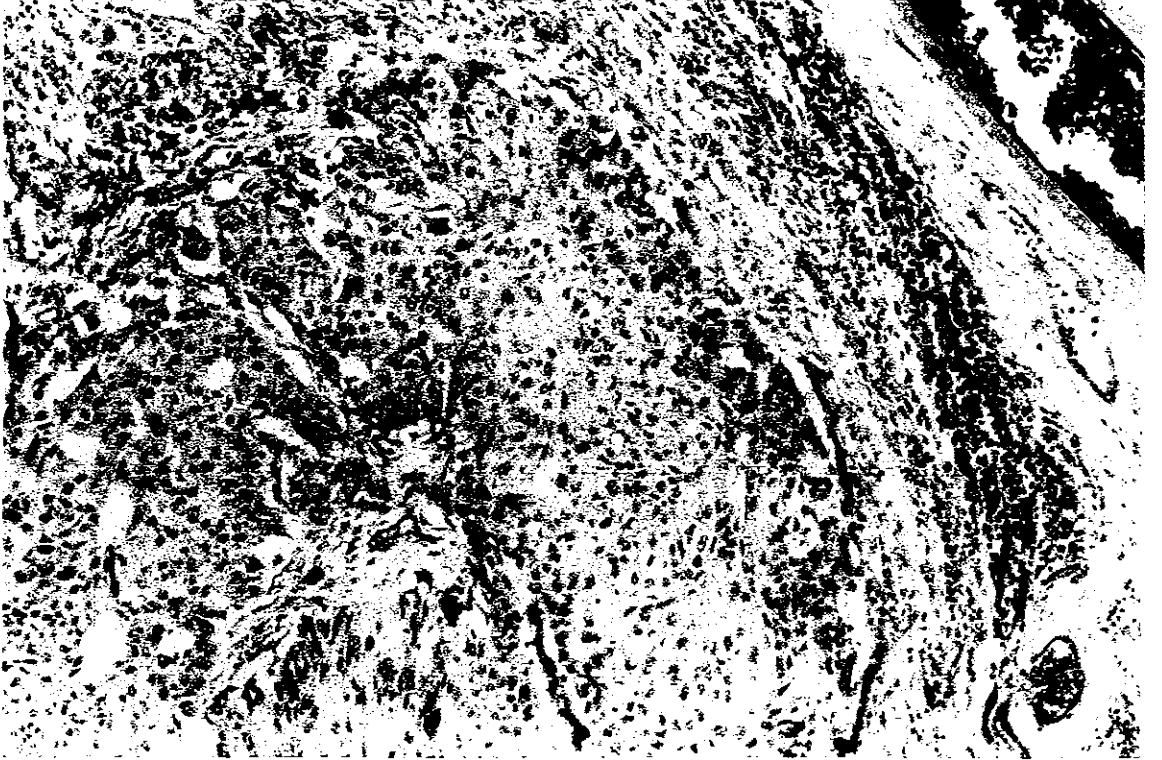
Değişken	E-Cadherin Ortalama Boyanma Değerleri
Greyd I	14,86±29,89
Greyd II	14,59±19,61
Greyd III	21,02±26,37

Bu bulgulara göre; E-cadherin ekspresyonu ile tümör histolojik greydleri arasında fark görülmedi.

E-CD ekspresyonu ve diğer histopatolojik parametreler arasında da belirgin istatistiksel ilişki saptanmadı.



Resim 1: İnfiltratif duktal karsinomda tümör-yağ dokusu komşuluğunda lenfatik invazyonu görülmekte (HEx100).



Resim 2: Bir İDK olgusunda CD34 ile tümör içi mikrodamar yoğunluğu görülmekte (İHKx100).



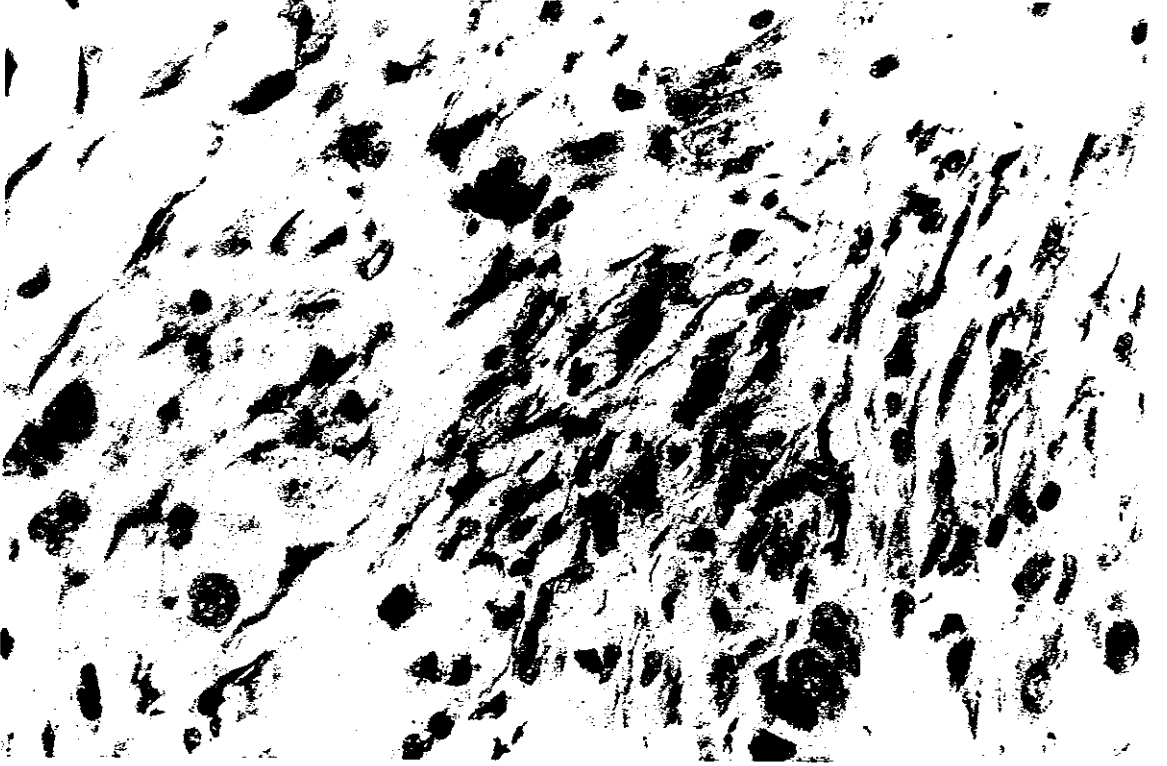
Resim 3: Resim 2'deki aynı olgunun FVIII ile daha zayıf boyandığı görülmekte (İHKx100).



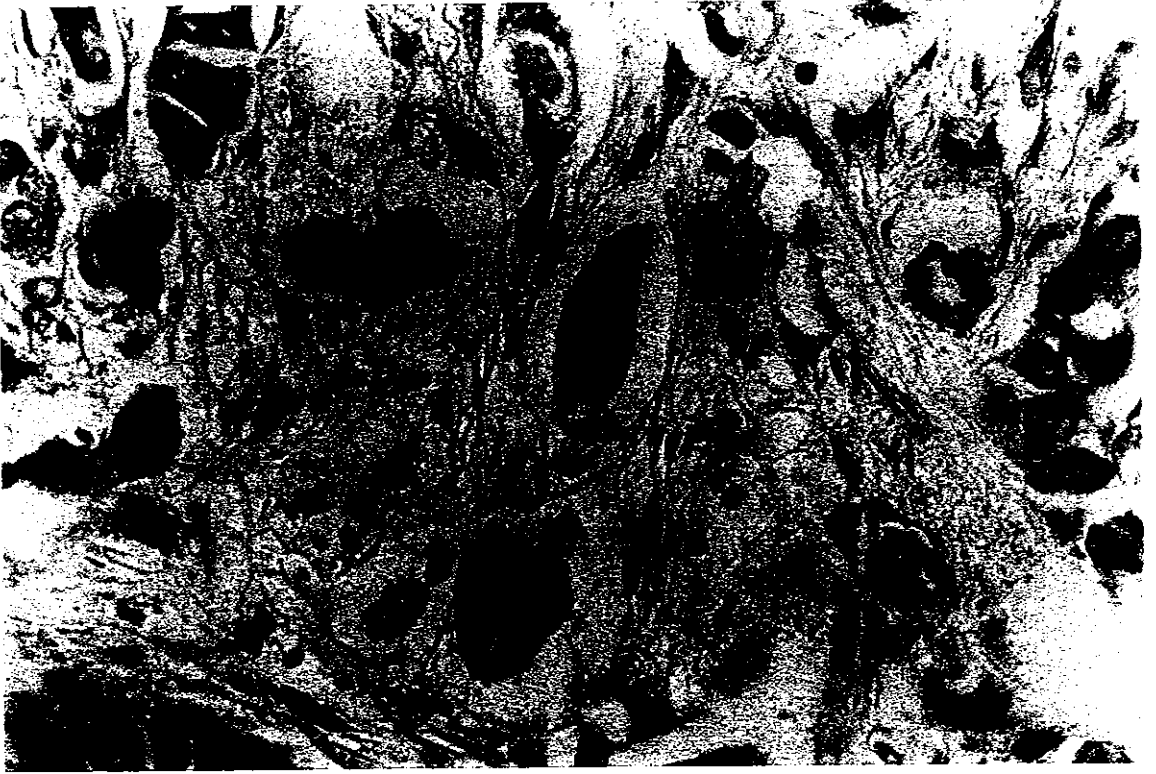
Resim 4: Düşük greydli bir İDK olgusunda, CD34 ile boyanmış preparatta, DKİS çevresinde mikrodamarların arttığı görülmekte (İHKx100).



Resim 5: İDK olgusunda CD ile tümör hücrelerinin yoğun granüler sitoplazmik boyanma gösterdiği görülmekte (İHKx400).



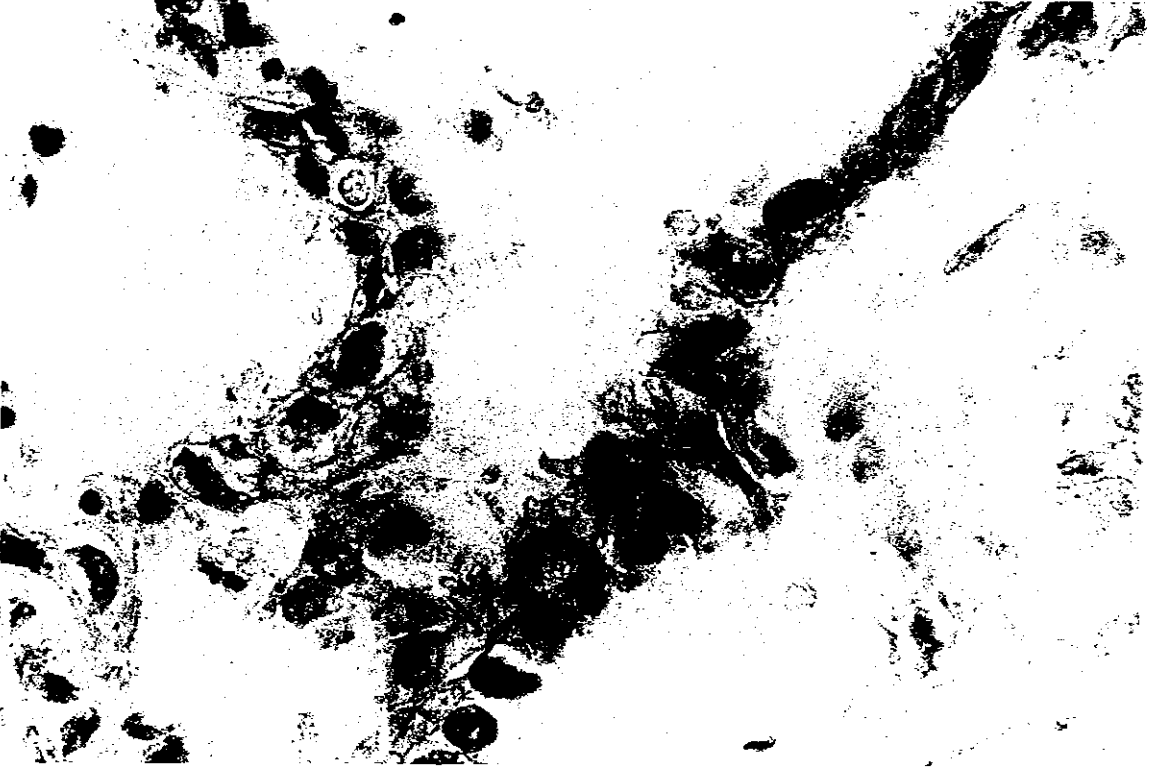
Resim 6: CD ile neoplastik olmayan stromal hücrelerde granüler sitoplazmik boyanma görülmekte (İHKx400).



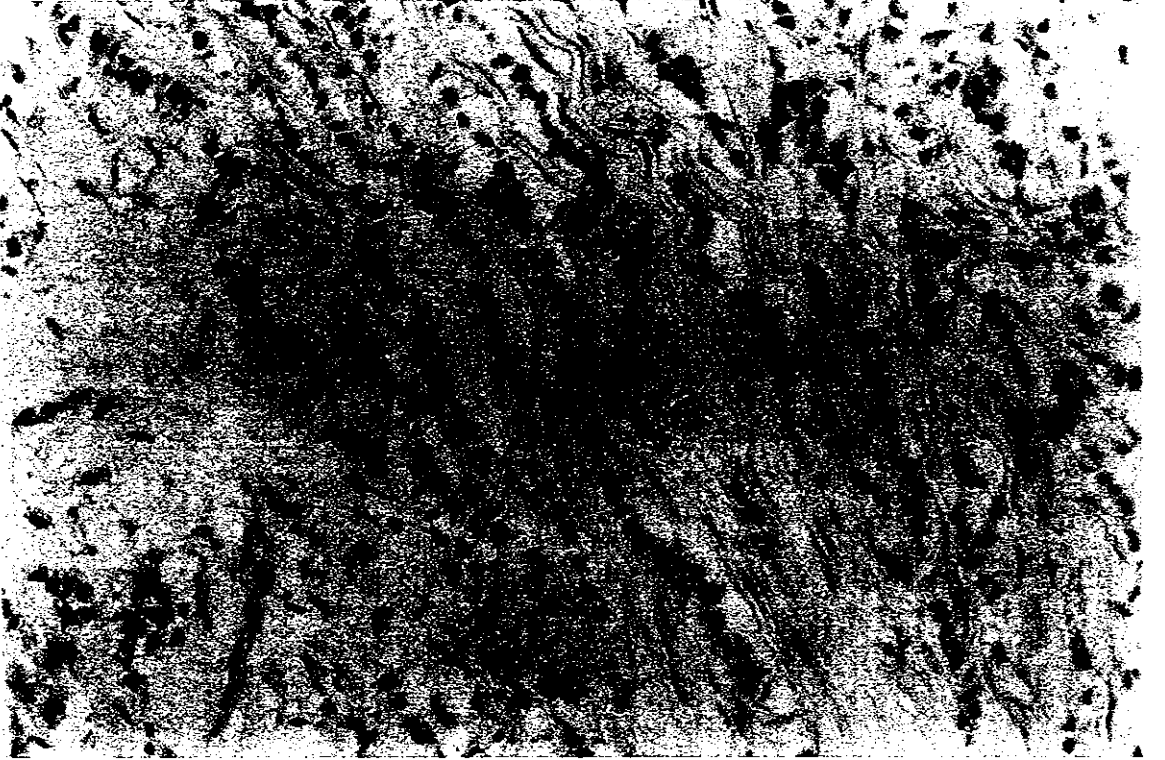
Resim 7: Yüksek greydli Bir İDK olgusunda CD ile hem tümör hem de stromal hücrelerde sitoplazmik boyanma görülmekte (İHKx400).



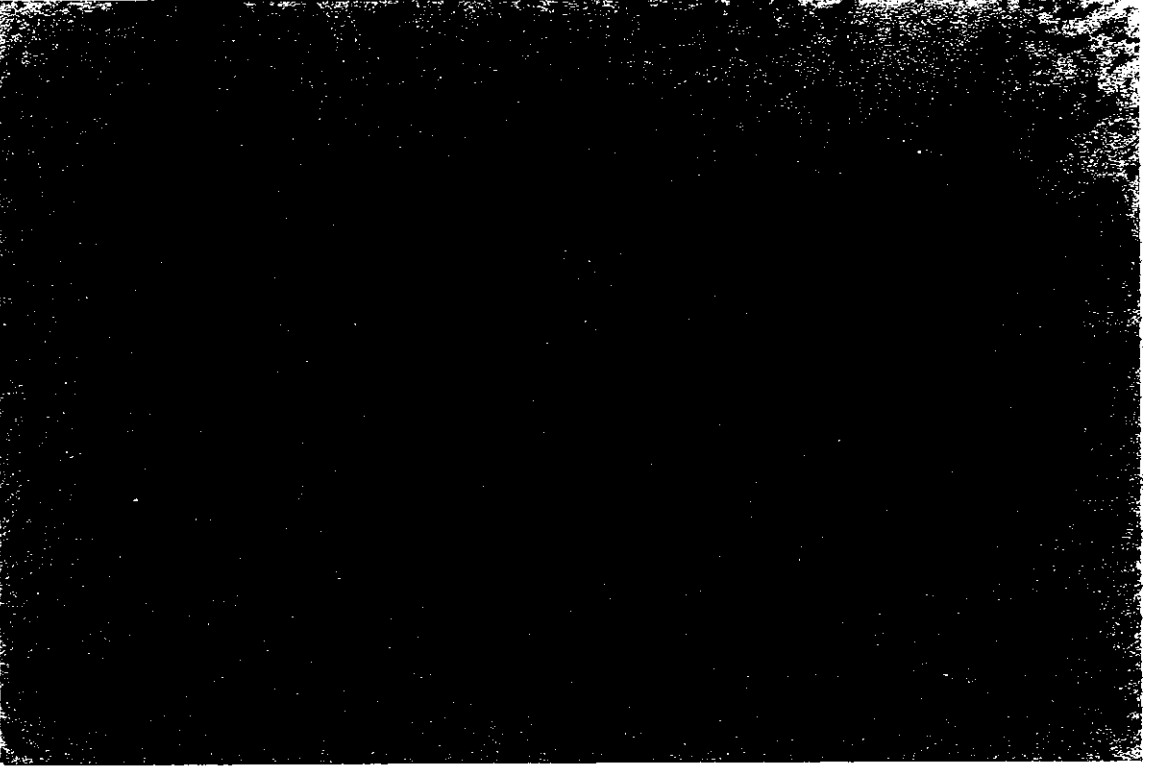
Resim 8: Greyd 2 bir İDK olgusunda tübüler yapıların yoğun olduğu alanlarda E-CD ile sitoplazmik boyanma (İHKx200).



Resim 9: Greyd 2 İDK olgusunda E-CD ile membranöz nitelikte sitoplazmik boyanma görülmekte (İHKx400).



Resim 10: İLK olgusunda E-CD ile immünohistokimyasal boyamada tümör hücrelerinde reaktivite görülmemekte (İHKx200).



Resim 11: Bir önceki İLK olgusuna ait farklı bir alanda, benign görünümdeki duktuslardan birinde bir odakta E-CD immünreaktivitesi görülmekte (İHKx100).

TARTIŞMA

Anjiogenezis, tümör büyümesi ve metastazı için gereklidir. Lenf düğümü (+) ve (-) meme kanser hastaları karşılaştırıldığında, bir prognostik faktör olarak yeni damar oluşumunun rolü değişik çalışmalarla araştırılmıştır. Metastatik hastalığı olanlarda, mikrodamar yoğunluğunun artmış olduğu yönünde bir görüş hakimdir. Ancak biyolojik önemine rağmen, son çalışmalarda meme kanserli hastalarda metastaz olasılığını önceden belirlemede, anjiogenezis ile ilgili tartışmalı sonuçlar belirlenmiştir (94,95). 1991'de Weidner ve arkadaşları, 1992'de Bosari ve arkadaşları aksiller lenf düğümünde metastatik hastalığı olanlarda, daha yüksek mikrodamar varlığı göstermiştir (72,91). 1992'de Hall ve 1995'te Goulding ve arkadaşları ise damarlanma ve metastatik hastalık arasında anlamlı ilişki saptamada başarısız olmuşlardır (93,96).

Bu çalışmada, en son bahsedilen iki araştırmacıyı destekler nitelikte, anjiogenezis ve metastaz arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Bunun sebebi, tümör davranışının belirlenmesinde önemli olan en yüksek anjiogenik aktivite alanlarının yalnızca tümör içeren bir parafin bloktan hazırlanan kesitlerde değerlendirilmesi olabilir. Bu açıdan; en yüksek damar sayısının saptanmasında, örnekleme hatası yapma olasılığı yüksektir. Ancak, diğer araştırmacıların da belirttiği gibi, tümör anjiogenezisi metastaz gelişim sürecinde tek başına yeterli olmayan, basamaklardan biridir. Tümör progresyon ve metastazında birkaç faktörün etkileşimi gerekmektedir. Unutulmamalıdır ki, adrenal adenom ve bronkojenik karsinoid tümör gibi damardan zengin tümörlerde metastaz kapasitesi yoktur (97). Ayrıca, farklı tümörlerde farklı zamanlarda vaskülarizasyonun başladığına dair teoriler de mevcuttur (98). Bu çalışmada da görüldüğü gibi, memede, metastaz özelliği olmayan DKİS çevresinde yeni damar oluşumlarının tanımlanması, tümörün yaşam sürecinde erken bir olay olduğunu göstermiştir (91,95). Aynı şekilde, yüksek greydli prostat intraepitelyal neoplazilerde tanımlanan damarlanmanın benign veya hiperplazik prostat epitelinde daha fazla olması bu görüşü desteklemektedir (99). Anjiogenezis bu nedenle bazı araştırmacılar tarafından preneoplazinin bir işaretidir (100).

Anjiogenezis ile tümör boyutu ve histolojik greyd arasında, ne Bosari ne de diğer bazı araştırmacılar tarafından ilişki gösterilememiştir (72,101,102). Bu çalışmada da böyle bir istatistiksel bağlantı elde edilmedi.

Mikrodamar sayımı ve peritümöral lenfovasküler invazyon arasında Bosari ve arkadaşları 1992'de, Gonzales ve arkadaşları 1999'da anlamlı ilişki göstermiştir. Buna göre peritümöral lenfovasküler invazyonu olanlarda yeni damar oluşum yoğunluğu yüksektir (2,72). Bu çalışmada ise, mikrodamar sayısı ile peritümöral lenfovasküler invazyon arasında korelasyon bulunamadı .

Anjiogenezis ve tümör hücre proliferasyonu (mitoz sayısı) arasında da bir ilişki gösterilemedi. Bu sonuç, bazı araştırmacıların çalışmaları ile aynı nitelikteydi. Buna göre, tümör içi mikrodamar yoğunluğu ve tümör hücre proliferasyonunun birbirinden bağımsız olduğu ve farklı mekanizmalar tarafından kontrol edildiği sonucuna varılmaktadır (2,72).

Miliaris, Van Hoef ve arkadaşları, diğer bazı araştırmacıların aksine, daha genç hastalarda anlamlı derecede daha yüksek ortalama damar sayısı bulmuştur (95,103). Hayvan deneyleri, tümör büyümesinde yeni damar oluşumunun daha yaşlı hayvanlarda zayıf olduğunu göstermektedir. İnsanlarda da artan yaş kanser gelişimi için bir risk faktörü olmasına rağmen, tümör geliştiğinde metastaz ve büyüme daha yavaş orandadır (104). Bu çalışmada da yaşlı kişilerde mikrodamar yoğunluğunun azaldığı istatistiksel olarak belirlendi.

Çalışmada anjiogenezis ve nekroz arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. Bu bulgu, Van Hoef ve arkadaşlarının çalışması ile aynı nitelikteydi (95).

Anjiogenezisin değerlendirilmesinde kullanılan endotelial işaretleyiciler arasında (FVIII ve CD34) pozitif anlamlı korelasyon saptandı. Bu, beklenen bir sonuç olmasına rağmen, FVIII ile elde edilen sonuçlar daha düşük değerlere sahipti. İstatistiksel olarak, FVIII ile değerlendirilen mikrodamar sayımı ile lenfoplazmositer infiltrasyon arasında negatif bir ilişkinin varlığı, inflamasyonun endotel hücreleri üzerinde ne gibi bir etki yaptığı sorusunu akla getirmektedir. Kan akımı ve doku arasında bir etkileşim alanı yaratan vasküler endotelial hücreler, immün ve inflamatuvar yanıt gelişiminde anahtar rol oynarlar. Endotelial hücre fonksiyonları üzerine yapılan çalışmalarda, inflamatuvar hücrelerden salınan interleukin-1 ve interferon- γ 'nın von Willebrand factor ve PECAM-1 içeriğinde azalma veya komple kayıp yaptığı gösterilmiştir (105). Bu sonuç, anjiogenezisin değerlendirilmesinde FVIII harici endotelial işaretleyicilerinin kullanılmasının daha doğru bir seçim olacağı yönündedir .

Önce de belirtildiği gibi, metastaz gelişimi, birkaç faktörün etkileşimi ile meydana gelmektedir. Tümörlerin invaziv ve metastatik potansiyelleri, çok sayıdaki proteaz ile etkilenebilir (86). 1990 yılında Rochefort'un yayınladığı bir raporda, meme kanserlerinde belirlenen proteazlar arasında CD ekspresyonunun kötü prognostik belirleyici olması

önerilmiştir (106). CD'nin aşırı üretiminin meme kanserlerinde progresyonu artırabileceği düşünülmese de rağmen, klinik çalışmalar sınırlıdır ve farklı yöntemler ile elde edilen sonuçlar birbiriyle çelişmektedir. Çalışmaların çoğunda, bütün tümör ekstrelerini değerlendirilmesine yönelik, immünoassay ve Western blot teknikleri kullanılmıştır. Stromal hücrelerin de CD içerdiği bilindiğinden beri, bu çalışmalar tümör hücresi ve nonneoplastik stromal hücreler arasındaki CD ekspresyonunun etkilerini yorumlamada başarısız olmuşlardır. İmmunhistokimyasal çalışmalar ile bu ayırım kolaylıkla yapılmaktadır (86). Bu çalışmada da bu nedenle immünhistokimyasal teknik kullanıldı. Ancak immünhistokimyasal çalışmaların da dezavantajı mevcuttur. CD tayininde kullanılan farklı prosedürler ve değerlendirmede yarı nicel metotların kullanılması sonuçların çelişmesine neden olmaktadır. Ayrıca bir çalışmada doku fiksasyon ve parafin bloklaşmanın CD antijenitesini en azından %40 oranında azalttığı bildirilmiştir (107).

Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında, nonneoplastik stromal hücrelerin CD ile pozitif reaksiyon vermesi, yaş ve histolojik greyde ilişkili bulundu. Buna göre yaş arttıkça ve histolojik greyd yükseldikçe CD ekspresyonu da artmaktaydı. CD-st ile mitoz sayısı arasında pozitif, CD34 ile değerlendirilen mikrodamar sayısı arasında negatif bir ilişki gösterilmesine rağmen, her iki parametrenin multipl regresyon analizi ile değerlendirilmesinde, bu faktörlerin yaşa bağımlı olduğu görüldü. Yüksek histolojik greyd ve CD-st arasındaki ilişki, Nadji, Armas ve arkadaşlarının sonucu ile aynıydı. Ancak daha önceki çalışmaların hiçbirinde yaş ile CD-st arasında bir korelasyon gösterilmemiştir (108,109,110). Bu çalışmada lenf düğümü durumu, tümör boyutu, histolojik tip, peritümöral vasküler invazyon ve diğer parametreler arasında ilişki belirlenemedi. Bu sonuçlardan, tümör agresifliğinin göstergesi olan lenf düğümü tutulumu, peritümöral lenfovasküler invazyon ve artmış tümör boyutu ile CD-st arasında korelasyonun gösterilememesi, diğer araştırmacıların yayınları ile çelişmektedir. Charpin ve arkadaşlarının bir çalışmasında bu farklı sonuçların nedeni, immünhistokimyasal çalışmada standarizasyon eksikliği ve teknik hataya bağlı olduğu düşünülmektedir (107). Bu çalışmada da aynı nedenler söz konusu olabilir.

Tümör hücrelerindeki CD reaktivitesi ve FVIII ile değerlendirilen mikrodamar sayısı arasında negatif ilişkinin saptanması, CD-t'nin tümör anjiogenezisi üzerine etkisi olup olmadığı sorusunu akla getirmektedir. Ancak aynı ilişki CD34 ile boyanan vakalarda saptanmadığından, bu olasılıktan ziyade, CD'nin proteolitik aktivitesi nedeniyle FVIII

ekspresyonunu azalttığı düşüncesi ağır basmaktadır. Nitekim bazı proteazların plazmada von Willebrand faktörü azalttığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (111,112).

Bu bulgu haricinde CD-t ile diğer histomorfolojik bulgular arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir.

Çalışmanın son basamağını oluşturan E-CD dağılımı ve ekspresyonunu inceleyen araştırmacıların sonuçlarına göre, E-CD fonksiyon kaybı tümör gelişimi ve invazyonu ile birliktedir. E-CD'in tümör baskılayıcı olduğu düşünülmektedir. Meme karsinomlarında, sıklıkla 16. Kromozomun q kolundaki E-CD geninde heterozigot kayıp gösterilmiştir (3). Bazı araştırmacılar ise E- CD ekspresyonu ve lenf düğümü metastazı arasında, bir kısmında sınırda anlamlılık olsa dahi, ilişki saptamışlardır. Oka ve Jones gibi araştırmacılar, E-CD boyanmasındaki azalma ile lenf düğümü metastazı arasında anlamlı ilişki saptarken, Siitonen ve arkadaşları sınırda bir ilişki göstermiştir (3,83,113). Lipponen ve Gonzalesin çalışmalarında ise lenf düğümü tutulumu ve E-CD boyanmasında azalma arasında ilişki yoktur (114,115). Bu çalışmada da E-CD immünreaktivitesi ve aksiller lenf düğümü tutulumu arasında ilişki, son grupta yer alan araştırmacıları destekler nitelikteydi.

E-CD dağılım ve ekspresyonunu inceleyen araştırmaların çoğunluğunda, tümör greydi ve histolojik tip arasında anlamlı birliktelik görülmüştür. Gamallo ve arkadaşlarının çalışmasında, oldukça diferansiye tümörlerde E-CD ekspresyonu güçlü ve yaygın bir şekilde devam ederken, az diferansiye olanlarda boyanmanın yama tarzında olduğu ya da tüm tümörde hiç görülemediği rapor edilmiştir (84). Bu ve bunun gibi araştırmacıların aksine, Jones ve arkadaşlarının çalışmasında düşük greydli tümörlerde boyanma olsa dahi, istatistiksel olarak greyd ile boyanma derecesi arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir (83). Bizim çalışmamızda hem düşük hem de yüksek greydli İDK olgularında boyanma saptandı. Bu açıdan istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmedi. Ancak Gamallo ve arkadaşlarının çalışmasında da çok sayıda invaziv, yüksek greydli tümörlerde normal E-CD immünreaktivitesinin korunduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, çalışmamızda elde edilen bu sonucun aslında literatür ile çelişkili olmadığı sonucuna varılabilir.

E-CD dağılım ve fonksiyon kaybını araştıran tüm çalışmaların birleştiği nokta, İLK'daki E-CD ekspresyonunun tümüyle kaybolduğu veya azaldığı yönündedir (3,82,83,84,115). Memenin lobüler tümörlerinde malign hücreler, sıklıkla tipik sütunlar oluşturan tek tek hücreler halinde dizilim gösterirler. Bu disosye görünüm, E-CD'in aracılık ettiği hücreler arası adhezyonun azalması nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Jones ve arkadaşlarının sonuçlarına göre, İLK'daki E-CD immünreaktivite kaybı tümör gelişiminde

erken bir olay olarak görülürken, İDK'larda değişen E-CD boyanma ve dağılımı metastatik süreç ile daha direkt ilişkilidir (83). Çalışmamızda, diğer araştırmacıları destekler nitelikte, dört İLK olgusunda E-CD ekspresyonunun tümü ile kaybolduğu görüldü.

Son zamanlardaki bir çalışmada, medüller karsinomların en belirgin bulgusu olan sinsityal büyüme özelliği ile bir yanda E-CD immünreaktivitesi, diğer yanda BRCA1 gen mutasyonu arasında ilişki belirlenmiştir (84). Kesin olmasa da, BRCA1 ve E-CD genlerini içeren mutasyonların sinsitya benzeri gelişime neden olabileceği vurgulanmıştır. Bu çalışmaya dahil edilen 1 MK olgusunda E-CD immünreaktivitesi görülmedi. Ancak bu konu ile ilgili yorum yapmak için büyük serilere ihtiyaç vardır.

Düşük greydli olarak bilinen İTK ve bazı İDK olgularında E-CD immünreaktivitesi görülmemesi, birkaç araştırmacının bahsettiği gibi, immünhistokimyasal çalışmada teknik bir hata olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca kullanılan tespit solüsyonu ve bazen de parafin bloklama yönteminin immünhistokimyasal yöntemleri etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle bu tür çalışmalarda, dokularının optimal koşullarda korunması ve otomatik immünhistokimyasal boyanma yöntemlerin gerekliliği belirtilmektedir (82).

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

55 primer meme karsinomlu olguda, tümör anjiogenezisi, E-CD ve CD dağılımı ile histopatolojik bulguların karşılaştırılmasına yönelik çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Sonuç 1: Çalışmanın başlangıçtaki hedefi, anjiogenezis ve aksiller lenf düğümü metastazı arasında ilişki olup olmadığı sorusuna yanıt bulmaktı. Bu amaçla yapılan çalışmada, mikrodamar sayısı (anjiogenezis) ile metastaz arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu durumda anjiogenezisin bir prognostik faktör olarak kabul edilmesi için çalışmaların farklı yöntemler ile tekrarlanması önerilir.

Sonuç 2: Bazı olgularda DKİS çevresinde yeni damar oluşumlarının yoğunlaşması, anjiogenezisin preneoplazinin bir işareti olduğunu düşündürmüştür.

Sonuç 3: Anjiogenezis ile yaş arasında negatif bir ilişki saptanmıştır. Bu sonuç, yaşlı bireylerde meme tümörlerinin daha az agresif seyrettiği görüşünü desteklemektedir.

Sonuç 4: Anjiogenezis ile tümör boyutu, histolojik greyd, peritümöral lenfovasküler invazyon, mitoz sayısı ve diğer parametreler arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Sonuç 5: FVIII endotelyal işaretleyici ile yapılan mikrodamar sayısı ve lenfoplazmositik infiltrasyon arasında negatif bir ilişki saptanmıştır. Buna göre lenfoplazmositik infiltrasyon arttıkça FVIII ekspresyonu azalmaktadır. Bu sonuç, FVIII'in anjiogenezis çalışmalarındaki değerini azaltmaktadır. Diğer endotelyal işaretleyici olan CD34 daha güvenilir sonuçlar vermiştir.

Sonuç 6: CD-st ekspresyonu ile yaş ve histolojik greyd arasında pozitif anlamlı ilişki saptanmıştır. Yaş ve greyd yükseldikçe, neoplastik olmayan stromal hücrelerdeki CD ekspresyonu artmaktadır. Histolojik greyd ile CD-st arasındaki ilişki, CD'nin kötü prognostik faktörlerden biri olabileceğini göstermektedir.

Sonuç 7: CD-st ve CD-t ile tümör prognozunu etkileyen lenf düğümü durumu, peritümöral lenfovasküler invazyon ve tümör boyutu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Sonuç 8: CD-t immünreaktivitesi ile FVIII ile değerlendirilen mikrodamar sayısı arasında negatif bir ilişki saptanmıştır. Aynı ilişkinin CD34 ile görülmemesi, CD'nin proteolitik aktivitesi nedeni ile FVIII salınımını azalttığı görüşünü desteklemektedir.

Sonuç 9: Çalışmanın son basamağını oluşturan E-CD ile ilgili kısımda, 4 İLK olgusunun E-CD immünreaktivitesi göstermediği görülmüştür. Bu sonuç literatür ile uyumlu olup, İLK'larda hücreler arasındaki ilişkinin azaldığının göstergesidir.

Sonuç 10: E-CD ile lenf düğümü durumu, tümör histolojik greydi ve diğer histopatolojik bulgular arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

ÖZET

Farklı bir çok çalışmada meme karsinomlarında mikrodamar sayısı (anjiogenezis) klinik açıdan bağımsız bir prognostik faktör olarak görülmüştür. Bu çalışmada anjiogenezisin klasik histopatolojik veriler ile karşılaştırılarak prognostik değerinin araştırılması amaçlanmıştır. Aynı zamanda kanser metastaz ve invazyonunda rol oynadığı düşünülen E-Cadherin ve Cathepsin D reaktivitesi incelenmiştir.

Ellibeş primer meme karsinomlu olgu araştırılmıştır. Mikrodamar sayımı için FVIII ve CD34 endotelyal işaretleyiciler ile doku kesitleri immünohistokimyasal yöntem ile boyanmıştır. Mikrodamar sayımında x400 büyütmede 3 en vasküler saha belirlenmiş ve ortalama ve en yüksek değerler çalışmanın verilerini oluşturmuştur. İmmünohistokimyasal çalışma ile E-Cadherin ve Cathepsin D reaktivitesi yarı nicel şekilde yüzde olarak belirlenmiştir.

Mikrodamar sayısı ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Aynı şekilde anjiogenezis ile tümör boyutu, histolojik greyd, peritümöral lenfovasküler invazyon, mitoz sayısı ve nekroz arasında belirgin bir ilişki görülmemektedir. Anjiogenezis göstergelerinden CD34 ile yaş arasında ve FVIII ekspresyonu ile lenfoplazmositik infiltrasyon arasında negatif bir ilişki gözlenmiştir. Mikrodamarlar duktal karsinoma in situ çevresinde yoğunlaşmaktadır. E-Cadherin ve Cathepsin D dağılımına ilişkin olarak, CD-st ekspresyonu ile yaş ve histolojik greyd arasında pozitif anlamlı ilişki saptanmıştır. E-Cadherin reaktivitesi tümör tipi ile ilişki göstermekte ve infiltratif lobüler karsinomlarda boyanma görülmemektedir.

Sonuç olarak, anjiogenezis ile tümörün patolojik özellikleri arasında belirgin bağlantı saptanmamıştır. Bu durumda mikrodamar sayısı (anjiogenezis) bağımsız bir prognostik faktör olarak değerlendirilmemelidir. Mikrodamarların duktal karsinoma in situ çevresinde yoğunlaşması anjiogenezisin preneoplazinin bir işareti olduğunu düşündürmektedir.

SUMMARY

ASSESSMENT OF TUMOR ANGIOGENESIS AND HISTOPATHOLOGICAL FEATURES IN BREAST CARCINOMAS

Different studies have shown that microvessel counting (angiogenesis) is an independent prognostic marker for clinical outcome in breast cancer. The aim of this study was to evaluate the prognostic value of angiogenesis in association with classical histopathological parameters. At the same time, E-cadherin and cathepsin D reactivity, which are thought to play an important role in tumor metastasis and invasion, were studied. Fifty five cases with breast carcinoma were evaluated. Tissue sections were stained for FVIII and CD 34 endothelial markers by immunohistochemical method. Microvessel quantification was performed at x400 magnification in the three most vascular areas of the tumors. Mean and highest values were studied. E-cadherin and cathepsin D reactivity were analyzed by immunohistochemical method and expressed semiquantitatively as percent positivity.

There was not a significant correlation between microvessel counting and lymph node metastasis. Furthermore, angiogenesis was not found to be associated with tumor size, histological grade, peritumoral lymphovascular invasion, mitosis counting, and necrosis. A negative correlation of CD34 with age and FVIII expression with lymphoplasmocyte infiltration was observed. Microvessels were concentrated around the areas of ductal carcinoma in situ. The assessment of E-cadherin and cathepsin D reactivity revealed a positive correlation of CD-st expression with age and histopathological grade. E-cadherin reactivity was significantly related with tumor type, thus there was no staining in infiltrative lobular carcinoma cases.

As a result, we did not find any significant association between angiogenesis and pathological features of the tumors. In this case, microvessel counting should not be regarded as an independent prognostic factor for breast carcinoma. As microvessels were found to be concentrated around the areas of DCIS, angiogenesis might probably be a marker for preneoplasia in the breast.

KAYNAKLAR

1. Gasparini G, Harris AL: Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma: Much more than a new prognostic tool. *J Clin Oncol*, 13(3): 765-782, 1995.
2. Gonzales-Vela MC, Garijo MF, Fernandez F, et al: Cathepsin D in host stromal cells is associated with more highly vascular and aggressive invasive breast carcinoma. *Histopathology*, 34: 35-42, 1999.
3. Siitonen MS, Kononen JT, Helin HJ, et al: Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer. *Am J Clin Pathol*, 105:394-402, 1996.
4. Tavassoli FA: Pathology of the breast. Normal development and anatomy. Stamford. Connecticut. Appleton&Lange. 2th ed. 1999, pp 1-25.
5. Sternberg SS: Histology for pathologist. Breast. 2th edition, Philadelphia New York, Lippincott Raven 1997, pp 71-82.
6. Rosen PP, Tench W: Lobules in the nipple. Frequency and significance for breast cancer treatment. *Pathol Ann* 20:317-322, 1985.
7. Haagensen DC: Diseases of the breast. 3th edition. Philadelphia, WB Saunders, 1986, p 36.
8. Monaghan P, Perusinghe NP, Cowen P, et al: Peripubertal human breast development. *Anat Rec* 226:501-508, 1990.
9. Moffat DF, Going JJ: Three dimensional anatomy of complete duct systems in human breast. Pathological and developmental implications. *J Clin Pathol* 49:48-52, 1996.
10. Ohtaki T, Abe R, Kimijima I, et al: Intraductal extension of primary invasive breast carcinoma treated by breast-conserving surgery. *Cancer* 76:32-45, 1995.
11. Vogel PM, Georgiade NC, Fetter BF, et al: The correlation of histologic changes in the human breast with the menstrual cycle. *Am J Pathol*, 104: 23-34, 1984.
12. Longacre TA, Bartow SA: A correlative morphologic study of human breast and endometrium in the menstrual cycle . *Am J Surg Pathol*, 10:382-393, 1986.

13. Ferguson DJP, Anderson TJ: Morphological evaluation of cell turnover in relation to the menstrual cycle in the “resting” human breast. *Br J. Cancer*, 44:177-181, 1981.
14. Dickson RB, Lippman ME: Growth Factors in breast cancer. *Endocr Rev*, 16:559-589, 1995.
15. Hutson SW, Cowen PN, Bird CC: Morphologic studies of age related changes in normal human breast and their significance in the evolution of mammary cancer. *J Clin. Pathol*, 38:281-287, 1985.
16. Ellis IO, Galea M, Broughton N, et al: Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 20:479-489, 1992.
17. Sakamoto G: Histologic classification of the breast cancer. *Jpn Cancer Clin* 31:105-113, 1985.
18. Tavassoli FA: Pathology of the breast. Infiltrating carcinoma: common and familiar special type. Stamford. Connecticut. Appleton&Lange. 2th ed. 1999, pp 401-480.
19. Rosai J: Ackerman’s Surgical Pathology. 8th ed. Mosby, St. Louis, Missouri 1996, p 1604
20. Coyne J, Haboubi NY: Micro-invasive breast carcinoma with granulomatous stromal response. *Histopathology*, 20:184-185, 1992.
21. Matsukuma A, Enjoji M, Toyoshima S: Ductal carcinoma of the breast. An analysis of proportions of intraductal and invasive components. *Path Res Pract* 187:62-67, 1991.
22. Schnitt SJ, Connolly JL, Harris JR, et al: Pathologic predictors of early local recurrences in stage I. and II. breast cancer treated by primary radiation therapy. *Cancer* 53:1049-1057, 1984.
23. Black MM, Zachrau RE, Hankey BF, et al: Prognostic significance of in situ carcinoma associated with invasive breast carcinoma. *Cancer*, 78: 778-788, 1996.
24. Silverstein MJ, Lewinsky BS, Waisman JR, et al: Infiltrating lobular carcinoma: Is it different from infiltrating duct carcinoma? *Cancer*, 73:1673-1677, 1994

25. Di Costanzo D, Rosen PP, Gareen I, et al: Prognosis of infiltrating lobular carcinoma. An analysis of classical and variant tumors. *Am J Surg Pathol*, 14:12-23, 1990.
26. Fizazi K, Asselain B, Vincent-Salomon A, et al: Meningeal carcinomatosis in patients with breast carcinoma. Clinical features, prognostic factors, and results of a high dose intrathecal methotrexate regimen. *Cancer*, 77:1315-1323, 1996.
27. Toikkanen S, Pylkkanen L, Joensuu H: Invasive lobular carcinoma of the breast has better short and long-term survival than invasive ductal carcinoma. *Br J Cancer*, 76:1234-1240, 1997.
28. Deos PH, Norris HJ: Well-differentiated (tubular) carcinoma of the breast A clinical pathologic study of 145 pure and mixed cases. *Am J Clin Pathol*, 78:1-7, 1982.
29. Mc Divitt RW, Boyce W, Gersell D: Tubular carcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol*, 6:401-411, 1982.
30. Lagios MP, Rose MR, Margolin FR: Tubular carcinoma of the breast. Association with multicentricity, bilaterality and family history of mammary carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 73:25-30, 1981.
31. Clayton F: Pure mucinous carcinomas of breast. Morphologic features and prognostic correlates. *Hum Pathol*, 17: 34-38, 1986.
32. Rasmussen BB: Human mucinous breast carcinomas and their lymph node metastases. A histological review of 247 cases. *Path Res Pract*, 180: 377-382, 1985.
33. Toikkanen S, Kujari H: Pure and mixed mucinous carcinomas of the breast. A clinicopathologic analysis of 61 cases with long-term follow-up. *Hum Pathol*, 20:758-764, 1989.
34. Koenig C, Tavassoli FA: Mucinous cystadenocarcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol*, 22:698-703, 1998.
35. Rapin V, Contesso G, Mouriessse H, et al: Medullary breast carcinoma of 95 cases of breast cancer with inflammatory stroma. *Cancer*, 61:2503-2510, 1988.
36. Carter CL, Allen C, Henson DE: Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*, 63:181-187, 1989.

37. Tavasolli FA: Pathology of the breast. General considerations. Stamford. Connecticut. Appleton&Lange. 2th ed. 1999, pp 27-74.
38. Sobin LH, Wittekind C: TNM classification of malignant tumors: International Union Against Cancer, New York Wiley, 5th ed. 1997, pp 33-34.
39. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, et al: Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update. *Cancer*, 52:1551-1557, 1983.
40. Osborne CK: Prognostic factors in breast cancer. *Princ Pract Oncol* 4;1-11,1990
41. Bussolati G, Guigliotta P, Morra I, et al: The immunohistochemical detection of lymph node metastases in breast cancer. *Br J Cancer*, 54:631-636, 1986.
42. Bettelheim R, Price KN, Gelber RD, et al: International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancers. *Lancet*, 335:1565-1568, 1990.
43. Trojani M, de Mascarel I, Coindre JM, et al: Micrometastases to axillary lymph nodes from invasive lobular carcinoma of breast: Detection by immunohistochemistry and prognostic significance. *Cancer*, 56:838-842,1987.
44. Wilkinson EJ, Hause LL, Hoffman RG, et al: Occult axillary lymph node metastases in invasive breast carcinoma: Characteristics of the primary tumor and significance of the metastases. *Pathol Ann*,17:670-691, 1982.
45. Trojani M, de Mascarel I, Bonichon et al: Micrometastases to axillary lymph nodes from carcinoma of breast . Detection by immunohistochemistry and prognostic significance . *Br J Cancer*, 55:303-306, 1987.
46. Carter CL, Allen C, Henson DE: Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24.740 breast cancer cases. *Cancer*, 63:181-187, 1989.
47. Barth A, Craig PH, Silverstein MJ: Predictors of axillary lymph node metastases in patients with T₁ breast carcinoma. *Cancer*, 79:1918-1922, 1997.
48. Donegan WL, Stine SB, Samter TG: Implications of extracapsular nodal metastases for treatment and prognosis of breast cancer. *Cancer*, 72: 778-782, 1993.
49. Orbo A, Stalsberg H, Kunde D. Topographic criteria in the diagnosis of tumor emboli in intramammary lymphatics. *Cancer*, 66:972-977,1990.

50. Clemente CG, Boracchi P, Andreola S, et al: Peritumoral lymphatic invasion in patient with node negative mammary duct carcinoma. *Cancer*, 69:1396-1403, 1992.
51. Mc Guire WL: Prognostic factors in primary breast cancer. *Cancer Surg*, 5:527-536, 1986.
52. Davis BW, Gelber R, Goldhirsch A, et al: Prognostic significance of peritumoral vessel invasion in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis. *Hum Pathol*, 16:1212-1218, 1985.
53. Lee AK, Loda M, Mackarem G, et al: Lymph node-negative invasive breast carcinoma 1 centimeter or less in size (T1a,bNOMO) Clinicopathologic features and outcome. *Cancer*, 79:761-771, 1997.
54. Silverstein MJ, Gierson ED, Waisman JR, et al: Axillary lymph node dissection for T1a breast carcinoma. *Cancer*, 73:664-667, 1994.
55. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, et al: Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: Analysis of 767 (T1NOMO/T2NOMO) patients with long-term follow up. *J Clin Oncol*, 11:2090-2100, 1993.
56. Gaffey MJ, Mills SE, Fierson HF, et al: Medullary carcinoma of the breast: Interobserver variability in histopathologic diagnosis. *Mod Pathol*, 8:31-38, 1995.
57. Fisher ER, Redmond C, Fisher R, et al: Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Projects: Prognostic discriminants for 8-year survival for node-negative invasive breast cancer patients. *Cancer*, 65: 2121-2128, 1990.
58. Berg JW, Hutter RV: Breast cancer. *Cancer*, 75:257-269, 1995.
59. Nixon AJ, Schnitt SJ, Gelman R, et al: Relationship of tumor grade to other pathologic features and to treatment outcome of patients with early stage breast carcinoma treated with breast conserving therapy. *Cancer*, 78:1426-1431, 1996.
60. Elston CW, Ellis IO: Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long - term follow-up. *Histopathology*, 19:403-410, 1991.
61. Biesterfeld S, Noll I, Noll E, et al: Mitotic frequency as a prognostic factor in breast cancer. *Hum Pathol*, 26: 47-52, 1995.

62. Clayton F: Pathologic correlates of survival in 378 lymph node-negative infiltrating ductal breast carcinomas. Mitotic count is the best single predictor. *Cancer*, 68: 1309-1317, 1991.
63. Ellis IO, Elston CW, Blamey RW: The Nottingham prognostic index (NPI), a combination of multiple prognostic factors derived from the Nottingham Tenovus primary cancer study. *Mod Pathol*, 4:11A, 1991.
64. Cady B: Use of primary breast carcinoma characteristics to predict lymph node metastases. *Cancer*, 79:1856-1861, 1997.
65. Roses DF, Bell DA, Flotte TJ, et al: Pathologic predictors of recurrence in stage I (T1NOMO) breast cancer. *Am J Clin Pathol*, 78:817-820, 1982.
66. Carlomagno C, Perrone F, Lauria R, et al: Prognostic significance of necrosis, elastosis, fibrosis and inflammatory cell reaction in operable breast cancer. *Oncology*, 52:272-277, 1995.
67. Rosen PP: *Rosen's Breast Pathology. Invasive duct carcinoma and morphological prognostic markers.* Philadelphia New York, Lippincott- Raven, 1997, pp 275-293.
68. Maynard PV, Davis CJ, Blamey RW, et al: Relationship between estrogen receptor content and histological grade in human primary breast tumors. *Br J Cancer*, 38:745-748, 1978.
69. Wittliff JL: Steroid hormone receptors in breast cancer. *Cancer*, 53:630-643, 1984.
70. Fox SB, Gatter KC, Harris AL: Tumour Angiogenesis. *J Pathol*, 179:232-237, 1996.
71. Costello P, Mccann A, Carney DN, Dervan PA: Prognostic significance of microvessel density in lymph node negative breast carcinoma. *Hum Pathol*, 26: 1181-1184, 1995.
72. Bosari S, Lee AK, De Lellis RA, et al: Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. *Hum Pathol*, 23: 755-761, 1992.
73. Horak ER, Leek R, Klenk N, et al: Angiogenesis assessed by platelet /endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. *Lancet*, 340: 1120-1124, 1992.

74. Pepper M, Montesano R: Proteolytic balance and capillary morphogenesis. *Cell Differ Dev*, 32: 319-328, 1990.
75. Bischoff J: Approaches to studying cell adhesion molecules in angiogenesis. *Trends Cell Biol*, 5: 69-74, 1995.
76. Luscinikas FW, Lawler J: Integrins as dynamic regulators of vascular function. *FASEB J*, 8: 929-938, 1994.
77. Engerman R, Pfaffenbach D, David M: Cell turnover of capillaries. *Lab. Invest* 17: 738-743, 1967.
78. Denekamp J, Hobson B: Endothelial cell proliferation in experimental tumours. *Br J Cancer*, 46: 711-720, 1982.
79. Vartanian RK, Weidner N: Correlation of intratumoral endothelial cell proliferation with microvessel density (tumor angiogenesis) and tumor cell proliferation in breast carcinoma. *Am J Pathol*, 144: 1188-1194, 1994.
80. Brown LF, Berse B, Jackman RJ, Tognazi K, et al: Expression of vascular permeability factor (Vascular Endothelial Growth Factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol*, 26: 86-91, 1995.
81. Dong G, Chen Z, Li ZY, Yeh NT, et al: Hepatocyte growth factor/scatter factor-induced activation of MEK and PI3K signal pathways contributes to expression of proangiogenic cytokines interleukin-8 and vascular endothelial growth factor in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res*, 1: 61 (15): 5911-5918, 2001.
82. Rasbridge SA, Gillett CE, Sampson SA, et al: Epithelial (E-) and placental (P-) cadherin cell adhesion molecule expression in breast carcinoma. *J Pathol*, 169: 245-250, 1993.
83. Jones JL, Royall JE, Walker RA: E-cadherin relates to EGFR expression and lymph node metastasis in primary breast carcinoma. *Br J Cancer*, 74:1237-1241, 1996.
84. Gamallo C, Palacios J, Suarez A, Pizarro A, et al: Correlation of E-cadherin expression with differentiation grade and histological type in breast carcinoma. *Am J Pathol*, 142: 987-993, 1993.

85. Jacquemier J, Eisinger F, Nogues C, Sun ZZ, et al: Histological type and syncytial growth pattern affect E-cadherin expression in a multifactorial analysis of a combined panel of sporadic and BRCA1- associated breast cancers. *Int J Cancer*, 83: 45-49, 1999.
86. Tetu B, Brisson J, Cote C, Brisson S: Prognostic significance of cathepsin-D expression in node-positive breast carcinoma: an immunohistochemical study. *Int J Cancer*, 55:429-435, 1993.
87. Olszweska D, Drewna T, Makarewicz R, et al: Significance of cathepsin B and D in physiologic and pathologic processes. *Pol Merkuriusz Lek*, 10 (55): 65-70, 2001 (abstract).
88. Rosen PP: Rosen's Breast Pathology. Biological markers of prognosis of prognosis. Lippincott-Raven, Philadelphia New York, 1997, pp 295-320.
89. Roger P, Montcourrier P, Maudelonde T, Brouillet JP, et al: Cathepsin D immunostaining in paraffin-embedded breast cancer cells and macrophages: correlation with cytosolic assay. *Hum Pathol*, 25: 863-871, 1994.
90. Elias JM, Margiotta M, Gaborc D: Sensitivity and detection efficiency of the peroxidase antiperoxidase (PAP), avidin-biotin peroxidase complex (ABC), and peroxidase-labeled avidin-biotin (LAB) methods. *Am J Clin Pathol*, 92: 62-67, 1989.
91. Weidner N, Semple JP, Welch WB, Folkner J: Tumor angiogenesis and metastasis: correlation in invasive breast carcinoma. *N. Engl. J Med*, 324:1-8, 1991.
92. Weidner N: Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat*, 36 (2): 169-180, 1995.
93. Goulding H, Rashid NA, Robertson CF, Bell JA, et al: Assessment of angiogenesis in breast carcinoma: An important factor in prognosis? *Hum Pathol*, 26: 1196-1200, 1995.
94. Marinho A, Soares R, Ferro J, et al: Angiogenesis in breast cancer is related to age but not to other prognostic parameters. *Pathol Res Pract*, 193 (4): 267-273, 1997.
95. Van Hoef MEHM, Knox WF, Dhesi SS, et al: Assessment of tumour vascularity as a prognostic factor in lymph node negative invasive breast cancer. *Eur J Cancer*, 29A:1141-1145, 1993.

96. Hall NR, Fish DE, Hunt N, Goldin RD, et al: Is the relationship between angiogenesis and metastasis in breast cancer real? *J Surg Oncol*, 1: 223-229, 1992.
97. Weidner N: Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol*, 147: 9-18, 1995.
98. Folkman J: What is the evidence that tumours are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst*, 82: 4-6, 1990.
99. Bostwick DG: High grade prostatic intraepithelial neoplasia: The most likely precursor of prostate cancer. *Cancer*, 75: 1823-1836, 1995.
100. Jensen HM, Chen I, Devault MR, et al: Angiogenesis induced by normal human breast tissue Jensen: A probable marker for precancer. *Science*, 218:293-295, 1982.
101. Fox SB, Turner GD, Lee KR, Whitehouse RE, et al: The prognostic value of quantitative angiogenesis in breast cancer and role of adhesion molecule expression in tumor endothelium. *Breast Cancer Res Treat*, 36: 219-226, 1995.
102. Axelsson K, Ljung BM, Moore-II DH, Thor AD, et al: Tumor angiogenesis as a prognostic assay for invasive ductal carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 87: 997-1008, 1995.
103. Miliaras D, Kamas A, Kalekou H: Angiogenesis in invasive breast carcinoma: is it associated with parameters of prognostic significance? *Histopathology*, 26:165-169, 1995.
104. Bonnier P, Romain S, Charpin C, Lejeune C, et al: Age as a prognostic factor in breast cancer: relationship to pathologic and biologic features. *Int J Cancer*, 17: 62(2): 138-144, 1995.
105. Holzinger C, Weissinger E, Zuckermann A, Imhof M, et al: Effects of interleukin-1,-2,-4,-6, interferon-gamma and granulocyte/macrophage colony stimulating factor on human vascular endothelial cells. *Immunology Lett*, 35(2): 109-117, 1993.
106. Rochefort H: Cathepsin D in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 16: 3-13, 1990.

107. Charpin C, Garcia S, Bouvier C, Martini F, et al: Cathepsin D detected by automated and quantitative immunohistochemistry in breast carcinomas: correlation with overall and disease free survival. *J Clin Pathol*, 50: 586-590, 1997.
108. Nadji M, Fresno M, Nassiri M, Conner G, et al: Cathepsin D in host stromal cells, but not in tumor cells, is associated with aggressive behavior in node-negative breast cancer. *Hum Pathol*, 27: 890-895, 1996.
109. Armas OA, Gerald WL, Lesser ML, et al: Immunohistochemical detection of cathepsin D in T2N0M0 breast carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 18: 158-166, 1994.
110. Tetu B, Brisson J, Lapointe H, et al: Cathepsin D expression by cancer and stromal cells in breast cancer: an immunohistochemical study of 1348 cases. *Breast Cancer Res Treat*, 55 (2): 137-147, 1999.
111. Jelenska M, Kopec M, Soppata I, Vigh Z, et al: Fibrinogen does not protect von Willebrand factor against proteolysis by human cathepsin G. *Thromb Res*, 15; 61 (4): 433-440, 1991.
112. Bonnefoy A, Legrand C: Proteolysis of subendothelial adhesive glycoproteins (Fibronectin, trombospondin, and von Willebrand factor) by plasmin, leukocyte cathepsin G and elastase. *Thromb Res*, 15; 98(4):323-332, 2000.
113. Oka H, Shiozaki H, Kobayashi K, et al: Expression of E-cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. *Cancer Res*, 53:1696-1701, 1993.
114. Lipponen P, Saarelainen E, Ji H, et al: Expression of E-cadherin (E-cd) as related to other prognostic factors and survival in breast cancer. *J Pathol*, 174: 101-109, 1994.
115. Gonzales MA, Pinder SE, Wencyk PM, Bell JA, et al: An immunohistochemical examination of the expression of E-cadherin, α - and β -catenins, and α_2 - and β_1 integrins in invasive breast cancers. *J Pathol*, 187: 523-529, 1999.