



T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

**MEME KANSERİNDE TRİPLET NEGATİF ALT GRUBUNUN
İMMUNHİSTOKİMYASAL KORELASYONU VE BU ALT
GRUPTA SURVİVİNİN PROGNOSTİK ÖNEMİ**

TIBBİ ONKOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Gamze Gököz Doğu

Kayseri-2008



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

**MEME KANSERİNDE TRİPLET ALT GRUBUNUN
İMMUNHİSTOKİMYASAL KORELASYONU VE BU ALT
GRUPTA SURVİVİNİN PROGNOSTİK ÖNEMİ**

TIBBİ ONKOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Gamze Gököz Doğu

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Metin Özkan

Kayseri-2008

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Meme Kanseri.....	3
Meme kanserinde etyoloji.....	3
Meme kanserinde prognostik faktörler.....	5
Meme kanserinde EGFR yolu.....	9
Survivin.....	13
Meme kanserinde yeni sınıflama.....	17
Meme Kanserinde Tedavi.....	20
Basal-like meme kanserinin klinik pratikte önemi.....	26
HASTALAR VE YÖNTEM.....	30
BULGULAR.....	34
TARTIŞMA.....	54
SONUÇLAR.....	64
KAYNAKLAR.....	66
TEZ ONAY SAYFASI.....	91

TEŞEKKÜR

Tezimin proje, değerlendirme ve yazım aŐamasında bana her tŸrlŸ yardımını esirgemeyen baŐta tez danıŐmanım Tıbbi Onkoloji BD Őđretim Ÿyesi Doç. Dr. Metin Özkan olmak Ÿzere, Patoloji AD Őđretim Ÿyesi Prof. Dr. Figen ŐztŸrk, Tıbbi Onkoloji BD baŐkanı Őzlem Er, Prof. Dr. Mustafa AltınbaŐ, Uzm. Dr. Mustafa DikilitaŐ, Patoloji AD araştırma gŸrevlisi Arzu TaŐdemir'e istatistik hesaplamalarında yardımı için Ahmet ŐztŸrk'e, Radyasyon onkolojisi BD Őđretim gŸrevlisi hocalarıma, onkoloji hastanesinde bŸyŸk bir Őzveriyle çalıŐan tŸm personele ve intŸrn doktor Ali GŸndođdu'ya teŐekkŸr ederim.

Destegini her zaman hissettiğim eŐim Dr.Yurdaer Doğu'ya ayrıca teŐekkŸr ederim.

KISALTMALAR

ÖR	: Östrojen reseptörü
PR	: Progesteron reseptörü
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
HR	: Hormon reseptörü
GS	: Genel sağkalım
HS	: Hastaliksız sağkalım
FISH	: Florosan in situ hibridizasyon
BMK	: Bazaloid meme kanseri
İHK	: İmmunhistokimya
ET	: Endokrin tedavi
Aİ	: Aromataz inhibitörü
KT	: Kemoterapi
TK	: Tirozin kinaz
İDK	: İnvaziv duktal karsinoma
RT	: Radyoterapi

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Erken evre meme kanserinde risk sınıflaması.....	25
Tablo 2.	Meme kanserinde adjuvan tedavi planı.....	25
Tablo 3.	Survivin için skorlama sistemi.....	32
Tablo 4.	CK 5/6, CK14, CK17, EGFR için skorlama sistemi.....	32
Tablo 5.	Triplet negatif ve BMKhastalarının özellikleri	36
Tablo 6.	CK 5/6, EGFR, CK14, CK17'nin hastaların klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi.....	37
Tablo 7.	Survivin pozitifliğinin klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi.....	38
Tablo 8.	CK5/6 veya EGFR pozitifliğinin klinik ve patolojik özelliklerle ilişkisi.....	39
Tablo 9.	Tüm hastalarda saptanan sitozolik survivin ekspresyonu.....	40
Tablo 10.	Survivin ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu ve tümör çapı ile ilişkisi.....	41
Tablo 11.	CK5/6 veya EGFR ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu ve tümör çapı ile ilişkisi.....	42
Tablo 12.	CK14 ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu, tümör çapı ile ilişkisi.....	43
Tablo 13.	CK17 ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu, tümör çapı ile ilişkisi.....	43
Tablo 14.	CK5/6 veya EGFR pozitif grupta survivin ekspresyonunun klinik özelliklerle ilişkisi.....	45
Tablo 15.	CK5/6 veya EGFR pozitif grupta survivin ekspresyonunun histopatolojik özelliklerle ilişkisi.....	46
Tablo 16.	CK5/6 veya EGFR pozitif grupta survivin ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu, ve tümör çapı ile ilişkisi..	47
Tablo 17.	Saptanan nüks bölgelerinin organlara göre dağılımı.....	50
Tablo 18.	Hastalıksız sağkalım süresinin değişik parametrelerle ilişkisi.....	53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	EGFR sinyal ileti yolu.....	10
Şekil 2.	Survivinin inhibe ettiği apopitozis basamakları.....	14
Şekil 3.	Tüm hastalar için hastalıksız sağkalım eğrisi.....	51
Şekil 4.	CK 5/6 veya EGFR ekspresyonuna göre hastalıksız sağkalım eğrisi.....	51
Şekil 5.	CK 17 ekspresyonuna göre hastalıksız sağkalım eğrisi.....	51
Şekil 6.	CK 14 ekspresyonuna göre hastalıksız sağkalım eğrisi.....	51
Şekil 7.	Survivin ekspresyonuna göre hastalıksız sağkalım eğrisi.....	52

ÖZET

GİRİŞ: Meme kanserinin alt grupları içinde en kısa hastalısız sağkalım HER2 pozitif ve bazaloid gruplarda gözlenmektedir. Survivin apoptozis inhibitörü olup, meme kanserinde prediktif ve prognostik önemi araştırılmaktadır. Çalışmamızda, bazaloid belirteçlerinden CK5/6, CK14, CK17, EGFR pozitifliğini triplet negatif hasta grubunda İHK açıdan değerlendirip, survivinin bu alt gruptaki hastalar için prognoz üzerine etkisini belirlemeye çalıştık.

HASTALAR VE YÖNTEM: Çalışmaya 2001-2005 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Ünitesine meme kanseri tanısıyla başvuran toplam 30 hasta alındı. Hastaların hepsi triplet negatifti (ÖR-, PR-, HER2-). Ortanca takip süresi 45 ay (sınırlar, 5-76 ay) idi. Ortanca yaş değeri 47 yıl (sınırlar, 23-76) olarak bulundu. Hastaların 18'i (%60) premenapozal, 12'si (%40) ise postmenapozal idi. Hastaların 2'si evre 1, 14'ü evre 2, 14'ü evre 3 idi. Sitokeratinler ve survivinin hepsi ayrı ayrı klinik ve histopatolojik özelliklerle ilişkisi açısından değerlendirildiğinde sadece CK5/6 pozitifliğiyle lenf nodu tutulumu arasında istatistiksel anlamlılık saptandı ($p=0.014$). Triplet negatif hastaların %70'inde (21 hasta) CK 5/6 veya EGFR pozitif olarak bulundu. Klinik parametrelerden yaş ve menapoz ile anlamlı ilişki gözlemlendi ($p=0.049$, $p=0.049$). BMK hastalarının %67'sinde (14 hasta) CK 14 pozitif iken, CK17 pozitifliği %57.1 (12 hasta) idi.. Toplam 10 hastada (%33.3), BMK grubunda ise 9 hastada (%42.8) survivin pozitifliği saptandı. Survivin, preparatların hepsinde sitoplazmik olarak boyandı. Survivin ekspresyonunun klinik ve histopatolojik parametrelerle istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi bulunmadı. Pozitif lenf nodu sayısı, lenfovasküler invazyon ve grade ile hastalısız sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilirken (sırasıyla $p=0.036$, $p=0.002$, $p=0.035$), CK 5/6, EGFR, CK14, CK17 ve Survivin ile gösterilememiştir.

TARTIŞMA Çalışmamızda BMK için öngörülen CK5/6 veya EGFR pozitifliği ile CK14 pozitifliği paralellik göstermektedir. Bu durum BMK'nin ortaya konmasında CK14'ün belirteç olarak kullanılabilirliğini desteklemektedir. BMK grubunun diğer histopatolojik belirteçler ile korelasyonu çalışmamızda prognostik ve klinik parametreler açısından anlamlı bir farklılık ortaya çıkarmamıştır. Triplet negatif ve BMK hastalarında survivin prognostik önemi çalışmamızda gösterilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Bazaloid meme kanseri, Prognoz, Survivin

SUMMARY

INTRODUCTION: Among the subgroups of breast cancer basaloid type has the shortest disease free survival. Survivin is an apoptosis inhibitor and its' prognostic and predictive value in breast cancer is under investigation. In this study we examined the basaloid markers CK5/6, CK14, CK17 and EGFR in triplet negative patients and evaluated the impact of survivin on survival.

PATIENTS AND METHODS: Thirty patients with breast cancer in triplet negative form admitted to Erciyes University Medical Oncology Department between 2001 and 2005 were included in the study.

Median follow up and age were 45 months (range 5-76 months) and 47 years (range 23-76), respectively. Eighteen patients (%60) were premenopausal and 12 (%40) were postmenopausal. Two, twelve and 14 patients had stage I, II and III disease, respectively. When cytokeratines and survivin were analysed independently association between CK 5/6 positivity and lymph node involvement was statistically significant ($p=0.014$). In 0% of patients CK 5/6 or EGFR were found positive, positive results were only had stastically significant correlation with age and menapousal status ($p=0.049$ and 0.049 , respectively). While CK14 was positive in 14 patients (%67) inpatients with basaloid form, CK17 was positive in 12 patients (%57.1). Ten patients (%33.3) totally and 9 patients (%42.8) in basaloid subgroup had positive staining for survivin. Survivin was not correlated with any of the clinical or histopathological features. While correlation between number of involved lymph nodes, lymphovascular invasion, histopathological grade and disease free survival was statistically significant, ($p= 0,036$, 0.002 and 0.035 respectively) this is not valid for CK5/6, EGFR; CK14, CK17 and survivin.

DISCUSSION: CK5/6 or EGFR were accepted as determinants of basaloid breast cancer. In this study positive results for these markers were concordant with positive results for CK14 and this supports the hypothesis that CK can be used as a marker for basaloid form. The correlation between basaloid form and other histopathological markers did not reveal any significant difference in respect to prognostic and clinical parameters. We were unable to demonstrate prognostic impact of survivin in patients with basaloid form or triplet negative breast cancer.

Key words: Basaloid breast cancer, Prognosis, Survivin

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri Dünya’da kadınlar arasında en sık görülen kanserdir. Kadınlarda görülen kanserlerin yaklaşık %30’unu, kansere bağlı mortalitenin de %18’ini oluşturmaktadır.

Standart tedavi modaliteleri uygulanan aynı histoloji ve klinik evredeki hastaların klinik seyirleri farklı olabilmektedir. Güncel bilgiler, aynı mikroskopik özelliğe sahip tümörlerin, moleküler düzeyde birbirlerinden farklı özellikler taşıdığını

göstermektedir. Bu sayede artık biliyoruz ki, bireysel tedavi kararı alırken standart çalışmaların dışında moleküler ve klinik belirleyicilere ihtiyacımız bulunmaktadır.

Son dönemde geliştirilen mikroarray teknolojisiyle, moleküler kanser biyolojisine ait bilgilerimiz hızla artmaktadır. Böylece, bu metabolik yolların önemli molekülleri birer tedavi hedefi haline gelmiştir.

Meme kanserinde bilinen en güçlü prognostik faktör aksiller lenf nodu tutulumudur. Reseptör durumu ve HER-2 ekspresyonunun hem prognostik hem de prediktif önemi bulunmaktadır. Bunun dışında tümörün çapı, yaş, menapoz durumu, tümörün grade'i ve yukarıda bahsedildiği gibi tümöre ve kişiye ait faktörler de prognoza katkıda bulunmaktadır.

Mikroarray teknolojisiyle son yıllarda meme kanseri beş alt-tipe ayrılmaktadır. En kötü prognoza sahip olan bazaloid tip meme kanseri (basal-like, BMK), triplet negatif özellik göstermektedir. Diğer bir ifadeyle ÖR(-), PR(-) ve HER-2(-)'tirler. Tüm meme kanserlerinin %15'i bazaloid meme kanseridir. Triplet negatif meme kanserlerinin yaklaşık %70'i bazaloid %15-34 kadarı da non-bazal özellik göstermektedir. Ligand bağlayıcı asseylerle yapılan çalışmalar bu grubun büyük bir kısmının ÖR, PR ve CK18 ekspresyonu ile karakterize olduğunu bildirmektedir. Triplet negatif bazaloid ve non-bazal özellik gösteren bu gruplar arasında sağkalım açısından bir fark gösterilmemiştir.

BMK klinik olarak daha erken dönemde özellikle ilk 5 yılda nüks etme eğilimindedir. Yapılan çalışmalarda özellikle beyin metastazı riskinin diğer grade 3 non-bazal meme kanseri altgruplarından daha fazla olduğu iddia edilmektedir. İlk 5 yılda nüks gelişmeyen hastalarda prognozun daha iyi olduğuna dair veriler mevcuttur. Bu bulgular, BMK grubu içinde de iyi ve kötü prognostik gruplar olabileceğini düşündürmektedir.

Meme kanserinin gelişmesi ve ilerlemesinde rol oynadığı gösterilen epidermal büyüme faktörü reseptör (EGFR) ailesi ve bu reseptör aracılığıyla uyarılan sinyal ileti yolunu bloke etmeye yönelik çalışmalar tedavide yeni ufuklar açmaktadır. BMK'nde immunhistokimyasal tetkikle HER-1 pozitifliği %50-64 olarak bulunmuş olup kötü prognozla ilişkilendirilmiştir

Apoptozis inhibitörü olan ve hücre bölünmesinde düzenleyici rol oynayan survivin, apoptozis inhibitörü gen ailesine ait bir proteindir. Endokrin dirençle ilişkili olduğu ama yüksek seviyelerinin saptanması halinde sitotoksik tedaviye iyi yanıt alınacağına göstergesi olabileceği iddia edilmektedir. Survivin ile HER-2 arasında ilişki olduğu tanımlanmıştır ama HER-1 eksprese eden hücrelerle bu konu halen araştırma konusudur.

Bu çalışmada kötü prognostik özellikler taşıyan BMK'nin triplet negatif adjuvan ve neoadjuvan tedavi almış meme kanseri hastalarında bilinen immunhistokimyasal parametreler (CK5/6, CK14, CK17, EGFR, Survivin) ile korelasyonu ve bu alt grupta survivinin prognostik öneminin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2-GENEL BİLGİLER

2.1.MEME KANSERİ

Meme kanseri Dünya'da kadınlar arasında en sık görülen kanserdir. Avrupada 2006 yılı sonuçlarına göre %28.9 ile kadınlar arasında ilk sırada olup kansere bağlı

ölümlerin %17.6'sından sorumlu olduğu bildirilmiştir (1). ABD'de kadınlarda yeni kanser olgularının %32'sini oluşturmaktadır. Her 100.000 kadın yılında yaşa bağlı mortalitenin %28.3'ünün sebebi meme kanseridir. 2007 yılında Amerika'da meme kanseri için 178.400 yeni vaka ve 40.460 meme kanserine bağlı ölüm olacağı tahmin edilmektedir (2,3). Meme kanseri Japonya hariç tüm gelişmiş ülkelerde ilk sıradadır (4). Her 9 kadından biri ömrü boyunca meme kanseri olmaktadır. Multidisipliner yaklaşımla erken evrede kür elde edilmesine rağmen, ileri evre hastalarda yaklaşım palyatiftir.

2.1.1. Meme kanserinde etyoloji

Meme kanserinde etyoloji tam olarak ortaya konamamıştır. Genetik, çevresel, hormonal ve psikolojik faktörler suçlanmaktadır (4).

A-Genetik etkenler

Ailede meme kanseri varlığı, kişide meme kanseri gelişme riskini artırmaktadır. Annesinde ve kızkardeşinde meme kanseri varsa, risk 1.5-3 kat artmaktadır. Ailede premenapozal dönemde gelişen bir meme kanseri öyküsü varlığı riski 25 kat artırmaktadır (5).

Tüm meme kanserlerinin %5-10 kadarını herediter meme kanserleri oluşturmaktadır. Bu grubun %21-40 kadarından BRCA-1 ve 2 genlerinde oluşan mutasyonlar sorumludur (6-7). BRCA-1 tümör supresör genidir, kromozom 17q21'de lokalizedir, 1863 aminoasitten oluşmuştur ve otozomal dominant geçiş göstermektedir. BRCA-2 geni ise 13. kromozomda yerleşmiştir. Germline mutasyon taşıyıcısı olan kadınlarda yaşam boyu meme kanseri gelişme riski %50-85 iken, over kanseri gelişme olasılığı ise %12-60 olarak bildirilmektedir. BRCA-1 mutasyonuna

sahip kadınlarda gelişen meme kanserleri karakteristik olarak erken yaşta görülme özelliğinde olup genellikle triplet negatif ve kötü diferansiye histopatolojik özellik gösterirler. Prognozları da kötüdür (8).

Ayrıca Li-Fraumeni ve Cowden sendromlarının bir parçası olarak da meme kanseri gelişebilmektedir (8).

B-Endokrin faktörler

Bu başlık altında erken menarş, geç menapoz, az doğum yapma veya doğum yapmama, doğum yaşının ileri olması, laktasyon döneminin kısa olması gibi doğurganlıkla ilişkili özelliklerle meme kanseri arasında ilişki kurulmuştur.

Ayrıca, endojen ve ekzojen hormonal etmenler de önemli bir yer tutmaktadır. Östrojene maruziyetin artışı ile meme kanserinin gelişme oranı artmaktadır. Postmenapozal dönemde ekzojen östrojen yerine koyma amacıyla kullanımıyla bu risk 10 yıl için 1.3 kat olarak bulunmuştur. Genç kadınlarda oral kontraseptif kullanımıyla 10 yılda meme kanseri gelişimi %36 artmaktadır (9).

Postmenapozal dönemde meme kanseri gelişen kadınlarda östrodiol düzeyi, bir meta analizde, normal bireylere göre yüksek bulunmuştur.

C-Çevresel faktörler

Vücut ağırlığı, boy, yağdan zengin beslenme, gıdalardaki vitamin miktarı ve içeriği, selenyum, alkol ve sigara kullanımı, kafein, iyonize radyasyon, elektro manyetik dalgalar, egzersiz gibi faktörler değerlendirilmiş ve bu konuda yapılan çalışmalar kesin bir sonuç vermemiştir (10).

D-Memenin benign lezyonları

Özellikle atipik hiperplazi riski artırmaktadır (10).

2.1.2. Meme kanserinde prognostik faktörler

Prognostik faktör terimi, kanserde tanı anında var olan, tedavi yapılmadığı takdirde hastalısız sağkalım ve genel sağkalımla ilişkili her türlü ölçümü ifade etmektedir. Bu faktörler bir tümörün doğal seyrini önceden belirlemek için kullanılabilirler. Meme kanserinde bu amaçla kullanılan standart prognostik faktörler aksiller lenf nodu tutulumu ve sayısı, histolojik alt tip, tümör büyüklüğü, nükleer ve histolojik grade, ÖR(östrojen reseptör) ve PR(progesteron reseptör) durumunu içermektedir. Yaş, menapoz durumu, ırk, onkogenler, tümör supresor genler, büyüme faktörleri gibi işaretleyiciler muhtemel diğer prognostik faktörlerdir.

Belirli bir tedaviye cevap veya cevapsızlığı önceden gösteren ölçümlere ise prediktif faktörler denir. Sistemik tedaviye gereksinimi olduğuna karar verilmiş hastada hangi sistemik tedavinin (kemoterapi mi endokrin tedavi mi) daha yararlı olabileceğini gösteren prediktif faktörler ise hormon reseptör durumu ve hastanın yaşındır.

a) Histolojik tip

İnvaziv duktal karsinomda (İDK) prognoz daha kötüdür (11).

b) Aksiller lenf nodu tutulumu

Bilinen en güçlü prognostik faktördür. Bir çok araştırmacı prognozu belirlemede aksiller lenf nodu sayısını 1-3, 4-9 ve 10'dan fazla olarak sınıflarlar. Tutulan lenf nodu sayısı ile klinik seyir arasında ilişki vardır (12). Lenf nodu tutulumu tümör büyüklüğü ile ilişkili, ancak steroid reseptörleri ve proliferasyon ölçümleri gibi biyolojik belirteçlerden bağımsız olabilmektedir. Bu nedenle sadece tümörün kronolojik yaşını gösterdiği iddia edilmiştir (13).

c) Tümör çapı

Tümör çapının büyüklüğü kötü prognostik bir faktördür (14). Özellikle nod (-) hastalarda, prognozu belirleyen en önemli faktördür. Bir cm'den küçük ve nod negatif tümörlerde ek prognostik faktörlere ihtiyaç vardır.

d) Tümör grade'i

En sık kullanılan grade'leme sistemi Scarff-Bloom-Richardson ve Fisher'in grade'leme sistemidir. Ayrıca bunların modifiye şekilleri de kullanılmaktadır (15,16). Evrelemeden bağımsız prognostik önemi vardır. Histolojik grade ile prognoz arasında güçlü bir ilişki olduğu saptanmıştır. Grade 1 tümörlerin daha iyi bir sağkalıma sahip olduğu bildirilmektedir (17-19)

National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABBP) ve The International Breast Cancer Study Group (IBCSG) çalışmaları, tümörün sırası ile nükleer ve histolojik grade'inin meme kanserinin tedavisi sonrası elde edilecek sonucun önemli göstergeleri olduğunu ortaya çıkartmıştır (20,21)

e) Hastanın yaşı

Prognoz özellikle 35 yaşın altında daha kötüdür. Gençlerde biyolojik olarak daha farklı bir özellik gösterebileceğini göstermektedir (22-23).

f) Etnik özellikler

Siyah ırkta beyaz ırka göre daha kötü seyretmektedir (24).

g) Proliferasyon ölçümleri

Mitotik indeks(Mİ), Timidin işaretleme indeksi, akım sitometrisi ile S faz fraksiyon ölçümü, Ki-67, proliferen hücre nükleer antijeni gibi ölçümlerin prognostik öneminin olduğunu gösteren çalışmalar vardır (25).

h) Steroid reseptör durumu

İlk kez 1977'de Knight ve arkadaşları erken evre meme kanserinde ÖR'nün erken nüks açısından prognostik önem taşıdığını bildirdiler (26). Bunu takip

eden çalışmalar, ÖR ve/veya PR pozitif meme kanserli hastaların, negatiflerden daha uzun yaşadığını gösterdi (27-31). Bu fark ileri evre hastalıkta daha belirgindi (32). İlk östrojen reseptörünün(ÖR- α) 1986 yılında bulunmasıyla, hormonal etki mekanizması konusunda daha detaylı bilgiler edinilmeye başlanmıştır (33).

Prognostik olarak ÖR(+) hastalarda hastaliksız sağkalım ÖR(-) hastalardan daha uzundur ve bu avantaj 5 yılda %10 olarak bildirilmiştir (34-36). Teorik olarak, PR östrojen uyarılması ile oluşmaktadır. ÖR hastaliksız sağkalım için kuvvetli prediktif bir değer taşımakta, PR ise hastalık nüksü durumunda endokrin tedaviye daha iyi yanıt göstergesi olarak, genel sağkalımla ilişkili olduğu bildirilmektedir. ÖR tümörün metastatik potansiyelinden çok proliferasyon yeteneğini yansıtır. ÖR(+) tümörlerin kemik ve yumuşak dokuda, ÖR(-) patolojik özellik gösterenlerin ise karaciğer ve beyinde daha sık nüks ettiği bildirilmiştir (37).

Meme kanserinde ÖR pozitifliği yaşlı kadınlarda daha yüksek, gençlerde ise daha düşüktür (32). Hastalık evresi veya grade'e göre daha zayıf olmakla beraber, hormon reseptör durumu hem meme hastalığına bağlı mortalitede, hem de tüm nedenlere bağlı mortalitede bağımsız bir prediktif faktör olarak bildirilmektedir (32). Tanıdan sonraki ilk 3 yılda ÖR+ tümörlere oranla ÖR- tümörlerde nüks daha fazladır (38). ÖR(-)/PR(-) meme kanseri daha yüksek proliferasyon hızına sahiptir, daha fazla hücre S fazındadır, anti-östrojen tedaviye daha az yanıtlıdır (39). ÖR(-)/PR(-) meme tümörlü hastalarda endokrin yanıt oranı %10 iken ÖR(+)/PR(+) hastalarda bu değer %78 olarak bildirilmektedir (40).

Sonuç olarak, günümüzde steroid reseptör pozitifliğinin hem prognostik hem de prediktif değer taşıdığı bilinmektedir (41-43).

1) Büyüme faktörleri ve reseptörleri

Hücrede kansere yol açan değişimlerin büyüme faktörü sentezinde artış ya da büyümeyi inhibe eden faktörlerin sayısında azalmaya bağlı olduğu iddia edilmiştir. Başlıca büyüme faktör aileleri EGF (Epidermal Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), IGF-I (Insulin-like Growth Factor-I), IGF-II (Insulin-like Growth Factor-II), PDGF (Platelet Derived Growth Factor) ve FGF (Fibroblast Growth Factor) aileleridir. Bu faktörlerin bağlandığı reseptör ailelerinin en önemlileri HER

veya EGFR ailesi olarak bilinen reseptörlerdir. EGFR ailesi hücre membranında monomer olarak bulunan 4 adet reseptörden oluşur. Bunlar HER-1, HER-2/neu, HER-3, HER-4 olarak isimlendirilir. Reseptörlerin hepsi hücre dışında yer alan bir ligand bağlayıcı bölüm lipofilik bir transmembran bölümü ve tirozin kinaz (TK) içeren bir sitoplazmik bölümden (HER-3 hariç) oluşur (44,45). Bu güne kadar HER-2'ye spesifik ligand bulunamamıştır (46,47). Ligandlar bağlandıklarında reseptörler birbirleriyle homo veya heterodimer oluştururlar ve aktive olan reseptörün hücre içinde bulunan bölümündeki TK fosforillenir. Sonuçta nükleustaki transkripsiyon faktörlerine ulaşan bir ileti yolu çalışmaya başlar. Bu sinyal yolları, hücrede eksprese olan reseptörlerin tipi ve sayısının yanı sıra ligandın türü ve sayısına göre çeşitlilik gösterir. Tüm HER molekülleri birbirleriyle de kompleks yapabildiklerinden toplam on kombinasyon oluşabilir. HER-3 hariç hepsinin TK aktivitesi vardır. Ligandsız olan HER-2, gen amplifikasyonuna bağlı olarak hücre membranında fazlaca eksprese edildiğinde kendiliğinden dimerize olup sinyal ileti yolunu uyarabilir (48).

Kanserlerin çoğunda HER-2'ye eşlik eden ikinci reseptör HER-1'dir. HER-1 ekspresyon artışı veya amplifikasyonu ÖR ile ters orantılıdır. HER-1 ekspresyonu invaziv duktal karsinomda özellikle nod negatiflerde kötü prognozla ilişkilidir (49). HER-2'nin aksine HER-1'in artışı ortamda ligand yoksa hücrede uyarı yapmaz (50). HER-2'nin yer aldığı dimer kompleksleri, diğer HER komplekslerine göre daha aktiftir (51-52).

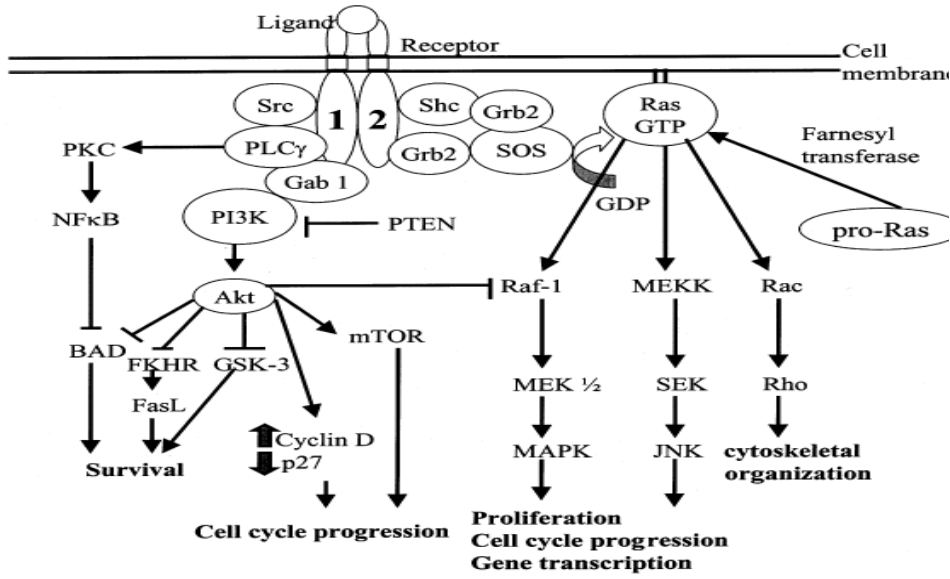
Kendine ait TK aktivitesi bulunmayan HER-3'ün yüksek düzeyde ekspresyonu küçük hücreli dışı akciğer kanserinde kısa sağ kalımla ilişkili bulunmuştur (53). HER-2 pozitif DKİS (duktal karsinoma insutu) hastalarını kapsayan bir pilot çalışmada hastaların üçte ikisinde eş zamanlı HER-3 ekspresyonu saptanmıştır. Asıl etkisini fosfatidil-inozitol-3-kinaz (PIK3) aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir (54,55).

EGFR ailesinin diğer üyesi olan HER-4'ün meme kanseri dışında örneğin tiroid papiller karsinomunda da artışı saptanmıştır (56).

Dimerizasyon sonrası reseptörlerin TK'ları fosforillenir ve böylece pek çok enzimin bağlanabileceği bölgeler açığa çıkar. Bunlara bağlanan enzim ve proteinler bir sinyal ileti zincirini başlatır. İleti en son nükleer transkripsiyon faktörlerine ulaşarak proliferasyon, anjiyogenez ve apoptoz gibi önemli olayları tetikler (54).

2.1.3.Meme kanserinde EGFR yolu

EGFR tarafından başlatılan en önemli iki yol PI3K ve mitojenlerle aktiflenen protein kinaz (MAPK)'dır. Sitozoldeki çeşitli sinyal ileti yolları EGFR yolunu çeşitli basamaklarda uyarabilir veya engelleyebilir. Sonuçta ilerleyen sinyalin net etkisi hücre içindeki sinyal ileti yolu arasındaki etkileşime bağlıdır. Şekil 1'de EGFR sinyal ileti yolunun kısa özeti sunulmuştur.



Şekil 1. EGFR sinyal ileti yolu

Reseptörlerin hücre içi bölümleri hangi alt ileti yollarının uyarılacağını belirler. Örneğin HER-1 hücre içi kısmında PI3K için bağlanma bölgesi olmadığından diğer EGFR'lere göre daha zayıf PI3K aktivasyonuna yol açar (54). Belli başlı saptanan yollar ve özellikleri aşağıda özetlenmiştir:

a) Ras-Raf-MAPK yolağı: Ras proteinleri küçük guanin nükleotid yapısındadırlar. Hücrede büyüme, ayrışma, apoptozis, yapısal organizasyonda rol alırlar (57). Hücre içi ve dışı sinyallerle uyarılabilirler. Bu basamaktaki bir mutasyonda, sinyal kesilse de kontrolsüz proliferatif uyarılar devam eder. Mutasyona uğramış aktive Ras proteinleri insan kanserlerinin %30'unda saptanmıştır. Hedefe yönelik tedavilerde bu basamak da araştırma konusu olmaktadır.

MAPK yolağı mitojenler, büyüme faktörleri, tümör oluşumunu kolaylaştırıcı etkenlerle aktive edilir. Diğer Ras sistem yolakları ise inflamatuvar sitokinler, hormonlar ve çeşitli stres stimulanlarıyla uyarılırlar (58). Meme kanserinde EGFR yolağıyla ÖR arasında kesişme noktası olarak, endokrin direncinin gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır. (59).

b) PI3K–Akt yolağı: PI3K, dimerik özellikte olan düzenleyici bir p85 subünitesiyle, erbB reseptörü için spesifik bağlanma bölgesi içeren katalitik p110 katalitik subunit içeren bir kinazdır (60). Malign transformasyonun birçok basamağında etkilidir. Proliferasyon artışı, büyüme, invazyon, metastaz, anjiyogenez ve hücre sağ kalımının düzenlenmesinde görev alır (60). PI3K hücre yüzeyindeki reseptörler (TK aktivitesi olanlar), tirozinle fosforillenmiş proteinler (IRS-insülin regulated substrate) ve Ras proteini tarafından aktive edilir (61,62). Sitololde yer alan PKB(Akt), PDK1, PDK2 RAS gibi proteinlerin aktive edilmesinde rol oynar (63). Aktifleşen Akt, apoptozis (p21, p27, NF-kB, kaspazlar ve BAD) ve hücre siklusunun progresyonunda görevli proteinlerin (siklin D ve EF2) fonksiyonlarını düzenler (64,65). Akt 2 ve Akt 3 meme kanserinde tesbit edilmiştir (66,67). PI3K, EGFR sinyal ileti yolunun bir alt yolağı olan Ras-Raf-MAPK ile de ilişkilidir. (68). PI3K hücrede Akt aracılığıyla proliferasyon, büyüme, apoptozis gibi birçok fonksiyonu düzenler.

PTEN (Phosphorylation of the Tumor Suppressor Phosphatase and Tensin Homologue), tirozin fosfataz olarak bilinen tümör baskılayıcı bir proteindir. PI3K yolağındaki 3-fosfoinozidleri yıkar (69). Birçok kanser türünde PTEN geninde oluşan mutasyon veya delesyon, PTEN inaktivasyonuna o da hücrede PI3K birikimine neden olur; böylece hücrel aktivasyon artar (70). Cowden Sendromunda, PTEN aktivite kaybı sözkonusudur. Hem benign hem de malign tümörler oluşur. Oluşan meme tümörleri daha genç kadınlarda ve bilateral görülme eğilimindedir (71).

Hücre içinde yüksek siklin D düzeyi hücrelerin G0 fazından G1 fazına geçişini sağlar. EGFR yolağı siklin D artışına neden olur. Ayrıca apoptozisi baskılayarak tümör hücrelerinin yaşamının uzamasına yol açar (72).

c) Fosfolipaz C γ yolağı: Fosfolipaz C γ doğrudan EGFR'ye bağlanıp aktive olmasına neden olur. Ayrıca, fosfatidillositol 4,5-difosfatın hidroliziyle de hücre içi kalsiyum salınımında önemli rol oynayan inositol 1,3,5-trifosfat oluşumunu ve protein

kinaz C için kofaktör olan 1.2-diaçilgliserol oluşumunu sağlar. Protein kinaz C aktivasyonu MAPK ve c-Jun NH2-terminal kinaz aktivasyonunu gerçekleştirir (73-76).

d) STAT proteinleri: Bunlar sinyalin güçlenmesi ve dönüşümünde rol alırlar. Memeli hücrelerinde Stat 1-2-3-4-5a-5b-6 olarak adlandırılan bir aileye sahiptirler. Normal hücresel süreçte embriyonik gelişim, organogenezis, immun fonksiyon, hücre farklılaşması, büyüme ve apoptoziste görevlidirler. Normal koşullarda aktivasyonu geçici ve kısa sürelidir. Stat1, Stat3 ve Stat5 özellikle kanser hücrelerinde aktivasyonu saptanan (Bazı çalışmalarda Stat1'in tümör supresör özellik gösterdiği bildirilmiştir) proteinlerdir (77-81). Meme gelişiminde ve karsinogenezisinde Stat3 ve Stat5'in önemli rol oynadığı savunulmaktadır (81,82).

Aktive olan EGFR anti-apoptotik bir protein olan Bcl-2'nin yapımını artırır. Bcl-2 ise, mitokondri yerleşimli olan ve DNA hasarıyla indüklenen BAX proteinini baskılayarak apoptozisi inhibe eder.

MMP (Matriks metalloproteinaz) ve VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü) gibi büyüme faktörlerinin sentezi de EGFR aracılığıyla artar (83).

Birçok kanser türünde, EGFR sinyal ileti yolağıyla ilişkili faktörlerin (ligand, protein, reseptör gibi) normalden fazla bulunduğu veya fonksiyonunun arttığı veya yıkımının azaldığı gösterilmiştir. Bu da hücrelerin proliferasyon, anjiyogenez, invazyon, metastaz potansiyelini artırmaktadır (84-86).

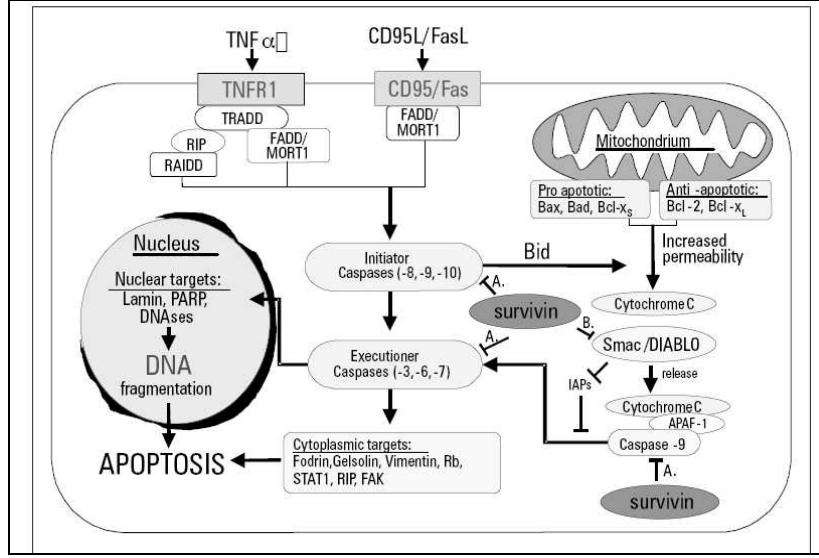
Meme kanserinde HER-1 ekspresyon oranı literatürde %14-91 olarak verilmektedir. Bu geniş aralık kullanılan metod farklılığına bağlanmıştır. EGFR artışı gen amplifikasyonundan çok artmış reseptör sentezine bağlıdır. Yapılan çalışmalar özellikle mutant EGFRvIII'ün meme, beyin, akciğer, prostat ve mide kanserlerinde artmış ekspresyonunun gösterildiği, malign olmayan hücrelerde ise EGFRvIII'ün saptanamadığı yönündedir (87).

ÖR negatif meme kanseri hücrelerinde, östrojenin yapacağı büyüme etkisi olmayacağı için EGFR ayrıca önem kazanmaktadır. EGFR ekspresyonu steroid reseptör ekspresyonuyla ters ilişkilidir (88-91). Klijn ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 5232 hastalık bir seride hormon reseptör pozitiflere oranla negatiflerde 2 kat daha yüksek EGFR pozitifliği saptamışlardır (88). EGFR ileti yolunun fazla

çalışması, kötü prognostik bir faktör olduğu, metastatik ve invaziv potansiyelin yanısıra endokrin tedavi dirençle ilişkili olduğu, daha az diferansiye ve daha yüksek grade'li tümör gelişimine neden olduğu yönünde bildirimler mevcuttur (88-93). Diğer bir ifadeyle, EGFR aktivitesinde artış, hücre siklusunun progresyonu, anjiyogenezin artışı, apoptozisin azalması, tedaviye yanıtın azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (94-98).

2.1.4. Survivin

Apoptozis inhibisyonu tümör gelişimine katkıda bulunmaktadır. Son zamanlarda apoptozisi inhibe eden aileye mensup yeni proteinler tanımlanmıştır. Bunlardan biri olan survivin 16.5-kDa ağırlığında, 142-amino asitten oluşan hücre içi bir proteindir. AP14 veya BIRC5 olarak da bilinir. IAP (Apoptozis İnhibitörleri) ailesine aittir. Tek bir BIR(Baculovirus tekrarlayıcı dizisi) içerir. IAP ailesinde bulunan çinko bağlayıcı domain bulunmaz BIR içeren maya ve C. Elegans ile benzerlik gösterir. BIR domaini uzun bir α -heliks yapısı içerir. (99-102). Geni kromozom 17q25'de bulunmuştur. Üç intron ve 4 exondan oluşur. Hücrenin bölünmesi ve apoptozisin inhibisyonundan sorumludur (103-105). Hücre siklusunun G2/M fazında nükleusta eksprese edilir ve mitotik içciklerin ve mikrotübüllerin oluşumunda kontrol noktasında görev almaktadır (105). Fetal gelişim döneminde ve insan kanserlerinde ekspresyonu artmaktadır (106). Apoptoziste görevli proteaz, caspase 3 ile caspase 7 ve mitokondrial kaynaklı ikinci caspase aktivatörünü (Smac/DIABLO) inhibe eder. Şekil 2'de survivinin inhibe ettiği apoptozis basamakları özetlenmiştir (107).



Şekil 2. Survivin'in inhibe ettiği apoptozis basamakları (107)

Survivin ekspresyonunun meme, mide, kolorektal, özafagus, mesane, pankreas, karaciğer, akciğer, serviks, over, mol hidatiform, endometriyum karsinomlarında, non- Hodgkin lenfoma, lösemiler, nöroblastom, glioblastom, melanom, osteosarkom, prostat, tiroid, oral ve larinks malignitelerinde artışı saptanmıştır (108-130). Ayrıca bazı çalışmalarda, fetal akciğer, kalp, böbrek, GİS (çok katlı yassı epitel, endokrin pankreas), timik medulladan da eksprese olduğu bildirilmiştir (108). Bu çalışmalarda, erişkinde normal dokuda bulunmamıştır. Bu da survivinin hücre bölünmesi ve anti-apoptotik fonksiyonu karsinogenezisin erken döneminde olduğu kadar ileri döneminde de etkili olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, bazı normal erişkin dokularında bir kaç makalede eksprese edildiği bildirilmektedir. Bu dokular kolonik mukoza, plesenta, endometriyum, kemik iliği ve deri keratonositleridir (131-135). Bir çalışmada ise farede karaciğer hücre rejenerasyonunun arttığı durumlarda normal fare karaciğer hücresinde G2/M fazında saptanmıştır (136). Vasküler hasarın survivinle ilişkisi araştırılmaktadır. Farelerde yapılan bir çalışmada, femoral arter hasarında survivinin artışının düz kas hücre canlılığında rol oynadığı, survivinde oluşacak bir patolojide hücre ölüm ve intimal neovaskülarizasyonun oluşmayacağı gösterilmiştir. Düz kasta yapılan bu deneysel çalışmalar, böbrekte oluşan iskemik

hasar ve Alzheimer gibi nöronal apoptozisin regülasyonu ile ilgili patolojilerde survivinin rolü konusunu gündeme getirebilir (137-139). Gelecekte bu alanda yapılacak çalışmalar, normal dokularda da survivinin önemini ortaya koyabilir. Belki de tedavi için yeni ufuklar açabilir.

Survivin hem nükleer hem de sitoplazmik olarak eksprese edilir. Nükleer ekspresyonun iyi, sitoplazmik ekspresyonun ise kötü prognozla ilişkili olduğunu gösteren veriler mevcuttur (123, 140-143).

Meme kanserinde survivin

Meme kanserinde survivin günümüzün ilgi çekici araştırma konusudur. Memenin benign ve malign lezyonlarındaki ekspresyonu, tanısal ve prognostik önemi halen araştırılmaktadır.

İmmunhistokimyasal çalışmalarda, survivinin temel olarak sitoplazmik olarak eksprese edildiği gösterilmiştir. Buna rağmen hepatoselüler karsinom, mide ve osteosarkom gibi bazı kanserlerde nükleer boyama gözlenmiş ve bunun iyi prognostik bir faktör olduğu bildirilmiştir (123,140-143). Meme kanseriyle yapılan çalışmalarda da sitoplazmik boyanmanın kötü prognozla, nükleer boyanmanın da iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmektedir (140-141). Benign lezyonların da değerlendirildiği bir çalışmada, en fazla boyanmanın yüksek gradeli DKİS ve metastatik lenf nodu vakalarında gözlendiği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada malign dokunun etrafındaki neoplastik olmayan hücrelerde aynı lokalizasyonda ama daha zayıf bir survivin boyanması gözlenmiştir (144).

Meme kanserinde yapılan survivinle ilgili genetik çalışmalar, survivin-ΔEx3, survivin 2α, survivin-2B ve survivin-3B olmak üzere 4 farklı varyant olduğunu göstermiştir. Tüm varyantlar HR(-) hastalarda yüksek bulunmakla beraber, survivin-ΔEx3, survivin 2α genç, duktal kaynaklı, yüksek gradeli karsinomlarda yüksek olarak saptanırken, 4'ten az lenf nodu tutulanlarda, daha fazla sayıda lenf nodu metastazı olanlara nazaran daha fazla survivin-2B saptandığı bildirilmiştir. Univariet analizde survivin 2α ve survivin-3B kısa relapsız sağkalım süresi ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (145).

Survivinin en fazla ÖR(-), PR(-) veya HER2 pozitif tümörlerde boyandığı bildirilmektedir (144). İn vitro çalışmalar survivinin östrojen ile up-regüle edildiğini göstermektedir (146). Premenapozal hastalarda survivin postmenapoze hastalardan daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca HR(-) grupta daha yüksek oranda eksprese edildiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Bu da yorumcular tarafından survivinin östrojen aracılı supresyon hipotezinden ziyade bu gruptaki kanser hücrelerinin orjininin farklı olmasıyla ilişkili olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir (147-148).

Survivinin kötü prognoz için öngördürücü özelliğinin caspase inhibisyonu yaparak, hem intrinsik hem de ekstrinsik apoptozis yolağını baskılaması ile ilgili olabileceği öne sürülmüştür (149). Survivinin fazla eksprese edildiği hücrelerde, hücrelerin apoptozis başlatıcılarına karşı yanıtız kaldığı ve böylece sitotoksik tedaviye daha rezistan olduğu iddia edilmiştir (150). Dirençle ilgili yapılan bir çalışmada da VEGF aracılı dirençte önemli rolü olduğu bildirilmektedir (151). VEGF, meme kanserinde hem RT hem de endokrin tedavisi için kötü hastalık prognozu için mükemmel bir prediktif bir faktördür (152,153). Bu da survivinin önemini daha da artırmaktadır.

Boyama paterninin değerlendirildiği İHK çalışmalar, genel olarak nükleer boyanmanın iyi prognozla ilişkili olacağı yönünde olmakla beraber, özafagus epidermoid karsinomu ve mantle hücreli lenfomada kötü prognostik faktör olduğu yönünde çalışmalar da mevcuttur (154,155). Proliferasyonu yüksek olan tümörler kemoterapiye daha duyarlıdır. Survivin ekspresyonu fazla olan tümörlerin kemoterapiye daha duyarlı olduğu düşünülmektedir. Tedaviye dirençte anti-apoptotik etkinin rol oynayabileceği iddia edilmektedir. Endokrin tedavi alan yüksek survivini olan hastaların nükleer veya sitozolik boyama faktörüne bakılmaksızın daha kısa sürede progrese oldukları, bu hastalarda kemoterapiyle anlamlı olarak daha uzun bir progresyonsuz sağkalım elde edildiği bildirilmiştir (156).

Yapılan çalışmalar survivinin prediktif ve prognostik önemini vurgulamaktadır. Bu konuda daha net verilere henüz ulaşılamamıştır. Bazaloid grupta ise survivinin önemini vurgulayan bir çalışma henüz yapılmamıştır.

2.1.5. Meme kanserinde yeni sınıflama

Meme, 15-20 düzensiz segmentten oluşan glandüler yapıyla 10-12 majör duktal toplayıcı kanaldan oluşur. Distalde fonksiyonel birim kabul edilen terminal duktal lobüler ünite sonlanır (TDLU). Bu ünite patolojinin en çok gözleendiği yapıdır. İki temel hücreden oluşan bu yapının iç kısmında sekretuar luminal hücreler varken, dış kısmında kontraktil miyoepitel/bazal hücreler yer alır. Epitel hücreler bazal membrandan stromayla ayrılırlar (157).

Bazal/miyoepitel hücreler heterojen özellik gösterirler. Anatomik lokalizasyon ve hormonal duruma bağlı olarak iğsi veya küboidal yapı gösterebilirler. CK5, CK14, CK17, düz kas aktini (SMA), SM miyozin ağır zinciri, kalponin, kaldesmon, caveolin, laminin, p63, CD10, maspin, 14-3-3sigma ve S-100 pozitifler.

Moll ve arkadaşları ile başlayan süreçte sitokeratinlerin alttipleri belirlenmiştir. CK5/6 ve CK14 gibi yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) sitokeratinler, bazal tabaka hücrelerinde saptandığı için bazal sitokeratinler olarak bilinmektedirler (158-160). Normal meme bazal hücreleri dışında, meme kanserinde %2-18 ve grade 3 benign meme lezyonlarında %25 oranında bu HMW sitokinler saptanmaktadır. Bu nedenle bu meme kanseri grubu bazal/miyoepitelyal fenotip gösteren grup olarak adlandırılır. Ayrıca basal-like, bazaloid grup da sinonim olarak kullanılmaktadır. Bu alt grubun diğer özelliği HR(-) ve HER2(-) olmasıdır. Stratifiye epitelyum hücrelerinden SMA, miyosin ve nötral endopeptidaz aktivite (CD10) pozitifliği göstermeleriyle ayrılırlar (161,162). Luminal epitel hücreler ise karakteristik olarak CK7, CK8, CK18, CK19, MUC1, alfa-6, integrin ve epitelyal hücre adhezyon molekülleri içerirler (163-169).

İntrauterin 28. haftada normal insan memesi, yukarıda bahsedilen 2 hücre tabakasına ayrılaşmıştır. Bu hücre grupları arasındaki ilişkileri O'Hare pür izolasyon yöntemiyle yüzey markırları sayesinde hücre kültüründe ayırarak incelemiştir (170). Sonraki çalışmalar, hücre kültüründe miyoepitel ve luminal hücreler uygun koşullarda desteklendiğinde hücrelerin %4'ünün luminal markır

CK18'i kaybettiği, %2'sinin ise β 4 integrin, CD10 ve SMA ekspresyon özelliği kazandığı saptanmıştır. Miyoepitel hücreler herhangi bir dönüşüm göstermez (171-173).

Bir sonraki aşamada, antikor yardımıyla luminal hücrelerin bir alt grubunda ve duktusun bazal hücrelerinde CK5 ve CK14 pozitifliği saptanmıştır. Boecker, Böcker ve arkadaşlarının çalışmaları CK5+ progenitör adult hücrelerin (CK5+/CK18/8+,CK5+/SMA+) içeren çift etiketli ara hücrelere dönüşüm sonrası sekretuar adult luminal hücrelere (CK5+/CK18/8+) ve miyoepitel hücrelere (CK5+/SMA+) diferansiye olduğunu göstermiştir (174,175).

CK5, CK14 ve CK17 eksprese eden tümör hücrelerinin kötü prognoza sahip olduğu ve/veya erken rekürrensle ilişkili olduğuna dair yapılan ilk çalışma 1987'de Dairkee ve arkadaşlarının çalışmasıdır (176). Sonraki çalışmalar bu veriyi desteklemiştir (147, 177-183). Korsching ve arkadaşları ayrıca CK5/6 pozitif tümörlerin ÖR(-) ve PR(-) özellik gösterdiği ve klinik olarak bunların HER2+ tümörlerden farklı bir grup olduğunu saptamışlardır. Ayrıca bu grubun p53, epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) ve proliferatif indeks eksprese ettiklerini saptadılar (184). Yapılan bazı çalışmalarda CK5/6 ve CK17'nin pozitifliğinin nod negatiflerde tümör boyutu, grad ve ÖR ve HER2'den bağımsız prediktif faktör olduğu iddia edilmektedir (179,185).

İlk kez 1960'larda Wellings ve Roberts Sarkar Kallenbach, Murad Scarpelli yapısal olarak miyoepitelyal fenotip özellik gösteren bazaloid alt grubu tanımlamışlardır (186-188).

Bu tümörler, daha genç hastalarda görülmekte ve daha agresif seyretmektedir. Fulford ve arkadaşlarının çalışmasında yaş ortalaması kontrol grubunda 53.9 iken bazaloid grubunda 49.9 olarak saptanmıştır (189).

Grade'i daha yüksek olan bu tümörler, yüksek mitoz, medullar tümör benzeri yapı, santral nekroz/skar formasyonu, iğsi hücre ve skuamoz diferansiyasyon göstermektedir (179-191).

BMK tanısı için hangi sitokeratinlerin kullanılması gerektiği konusunda tam bir konsensus bulunmamaktadır. CK5/6, CK14, CK17 veya EGFR pozitifliğinin tanısal yaklaşımda önemini savunan veriler bulunmaktadır (178,179,

190-198). Yapılan çalışmalarda EGFR pozitiflik oranı %50-70 oranında bulunmuştur. Temel kriter olarak CK5/6 ve/veya EGFR'nin pozitifliğinin gerekliliği bir çok yazar tarafından önerilmektedir (199-203).

Duktal karsinomlardan farklı bir grup olarak düşünülen metaplastik karsinom, immun fenotipik olarak bazal markır pozitifliği ve epitelyal veya mezenkimal diferansiasyonla karakterize bir antitedir. Bazaloid tümörlerin bu spektrumun bir parçası olduğu düşünülmektedir (204-208).

Meme kanseriyle ilişkili konsorsiyum tarafından bazaloid özelliğin BRCA-1 mutasyonu ile ilişkili olabileceği bildirilmekte olup, seçilmiş vakalarda BRCA-1 testinin yapılması önerilmektedir. Transkriptomik ve immunohistokimyasal analizlerde BRCA-1 germline mutasyonu ile BMK'nun benzer profil gösterdiği saptanmıştır. Genç yaşta görülen bazaloid/medüller morfolojik ve immunfenotipik özellik ailesel yatkınlık olabileceği yönünde uyarıcı olmalıdır (209,210).

BMK klinik olarak daha erken dönemde özellikle ilk 5 yılda nüks etme eğilimindedir. Yapılan çalışmalarda özellikle beyin metastazı riskinin diğer grade 3 non-bazal meme kanseri altgruplarından daha fazla olduğu iddia edilmektedir. İlk 5 yılda nüks gelişmeyen hastalarda prognozun daha iyi olduğuna dair veriler mevcuttur (189, 211). Bu bulgular, BMK grubu içinde de iyi ve kötü prognostik gruplar olabileceğini düşündürmektedir (197).

Moleküler ve immunohistokimyasal sınıflama:

Mikroarrey gelişmeler sayesinde günümüzde meme kanseri moleküler olarak 5 gruba ayrılmaktadır. Bunlar: 1-Luminal A (ÖR+ ve/veya PR+, HER2-); 2-Luminal B (ÖR+ ve/veya PR+, HER2+); 3-HER2+; 4-Normal meme-like; 5-Basal-like/bazal/bazaloid (ÖR-PR-HER2-) olarak sınıflandırılmaktadır.

İmmunohistokimyasal çalışmalarda bu sınıflama 4 katagoride incelenmektedir.

1-Luminal A (ÖR+ ve/veya PR+, HER2-);

2-Luminal B (ÖR+ ve/veya PR+,HER2+);

3-HER2+;

4-Basal-like/bazal/bazaloid (ÖR-PR-HER2-, CK5/6 ve/veya EGFR pozitifliği)

5- Null tip veya sınıflandırılmayanlar(183, 199-203, 212-214).

Yapılan çalışmalarda bu grupların prognozunun farklı olduğu gösterilmiştir. Bazaloid ve HER2+ grubun en kısa hastaliksız ve genel sağkalıma sahip olduğu, luminal özellik taşıyan tümörlerin ise daha iyi prognoza sahip olduğu bildirilmiştir (147, 182, 183, 203, 215). Bazı çalışmalar luminal B alt grubun daha yüksek grade sahip olup, daha agresif gidiş gösterdiğini bildirmektedir (147,182, 203).

2.1.6 Meme Kanserinde Tedavi

Cerrahi

Meme kanserinin erken evrelerde küratif tedavisi cerrahi rezeksiyondur. En sık kullanılan yöntem modifiye radikal mastektomidir. Son yıllarda meme koruyucu cerrahi gittikçe önem kazanmaktadır. yaşam süreleri bakımından mastektomi ile meme koruyucu cerrahi ve radyoterapi uygulanan erken evre meme karsinomlu olgular arasında anlamlı bir fark yoktur (216,217). Metastatik evrede ise yaklaşım palyatiftir. Uzak organ metastazı yapmış meme kanserinde, bugün uygulanan tedavi yaklaşımları ile kür elde etme şansı yoktur. Meme kanserinin soliter organ metastazlarında seçilmiş olgular için ilk tedavi yaklaşımı günümüzde metastazektomi yönünde gittikçe artan taraftar kazanmaktadır (218).

Radyoterapi

Meme kanserinde radyoterapi lokal kontrolü artırmaktadır. Hem meme koruyucu hem de lokal ileri tümörlere multidisipliner yaklaşımda önemli bir disiplini oluşturmaktadır (218). Mastektomili hastalarda kemoterapinin tamamlanmasını takiben radyoterapi uygulanması önerilmektedir. Lokal nüks oranının bu yaklaşımla olumsuz etki oluşturmayacağı bildirilmektedir (219,220).

Kemoterapi

Meme kanserinde farklı evrelerde farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Adjuvan olarak kullanıldığında sağkalımı anlamlı olarak artırdığı bulunmuştur. Nüks riskini %25, ölüm riskini %15 azalttığı bildirilmektedir (221). 1970'lerin ortalarından itibaren kullanılmaya başlanan siklofosfamid, metotreksat ve fluorourasilden oluşan CMF rejimi, günümüzde antrasiklinli rejimlerin CMF'e üstünlüğünün gösterilmesiyle yerini antrasiklin içeren kombinasyonlara bırakmaya başlamıştır (222).

Lokal ileri meme kanserinde neoadjuvan olarak uygulanan KT rejimleriyle iyi yanıt elde etmek ve cerrahi uygulanabilirlik oranını artırmak mümkün olmaktadır. Taksanların kullanıma girmesiyle lokal ileri ve inflamatuvar meme kanserinde daha iyi sonuçlar elde edilmektedir (223).

Metastatik evrede palyatif amaçla KT, çeşitli kombinasyonlarla kullanılmaktadır. HER-2 pozitif hastalarda 2005 yılından beri kullanıma giren trastuzumabın tek başına veya kemoterapiye eklenmesi etkili bulunmuştur. Doksorubisin, epirubisin, pegile lipozomal doksorubisin, paklitaksel, dosetaksel, kapasitabin, vinorelbin, gemitabin, albümin bağlı paklitaksel, sisplatin, karboplatin, etoposid, vinblastin, ixabepilon kullanılan ajanlardır. Kombinasyonlarda CAF/FAC, CEF/FEC, CMF, AT(dosetaksel veya paklitaksel ve adriaymisin), dosetaksel-kapasitabin, GT(paklitaksel-gemitabin) önerilen kombinasyon rejimleridir. Ayrıca yeni çalışmalarda bevacizumab-paklitaksel

kombinasyonunun hastaliksız sağkalım ve genel sağkalımda üstünlük sağladığı bulunmuştur (224).

Randomize çalışmalar değerlendirildiğinde, kemoterapinin kombinasyon olarak kullanımı tek ajan olarak kullanımına göre daha iyi bir cevap elde edilmesi, daha uzun bir hastaliksız sağkalım ve orta düzeyde bir genel sağkalım avantajı sağladığı bildirilmiştir (225). Ancak kombinasyon rejimleri daha toksiktir (226).

Hormonal Tedavi

Hormonal reseptör pozitifliği saptanan hastalarda %60-70 cevap elde edilebilen tedavi yöntemidir. Adjuvan, neoadjuvan ve palyatif tedavide kullanılmaktadır. Tamoksifen (TAM), LHRH analogları, aromataz inhibitörleri en sık kullanılan ajanlardır. Dört çalışmanın metaanalizinde, premenapozal hastalarda TAM+ LHRH analoglarının kombine kullanımının tek başına TAM kullanımına göre tüm parametrelerde avantaj sağladığı bildirilmiştir (227). Postmenapozal kadınlarda AI kullanımı, premenapozal hastalarda ise tamoksifen ve GnRH analogları kullanımı endokrin yanıtlı hastalarda günümüzde önerilen tedavi yaklaşımlarıdır. Premenapozal kadınlarda GnRH analoglarıyla AI kombinasyonları devam eden çalışmalarda halen araştırılmaktadır.

Meme kanserinde adjuvan tedavi seçiminde öneriler

Meme kanserinde son yıllarda yapılan moleküler ve immunohistokimyasal çalışmalarla alt grupların belirlenmesi, farklı prediktif ve prognostik markırların saptanmaya başlanması breysel tedaviyi gündeme getirmektedir. Tedavi kararını vermeden önce hastanın ve tümörün özellikleri detaylı olarak incelenmelidir.

Hormon reseptör pozitifliğinin İHK yöntemiyle saptanması endokrin tedavi için iyi bir prediktif faktördür (228-230). Hormon reseptör pozitifliği ve negatifliği arasında hem genetik profil hem de klinik gidiş açısından farklılık bulunmaktadır (147,215,231-232). Kemoterapi, endokrin duyarlı tümörlerde de etkili olmaktadır ama endokrin dirençlilere göre daha az hücre ölümüne neden olduğu bildirilmektedir (231,233). Epidermal büyüme faktörlerinden biri olan HER2'nin İHK olarak membranöz boyanma paterni gösterdiği saptanan olgularda,

eğer HR pozitifliği de saptandıysa tamoksifene karşı bir direnç sözkonusudur (234,235).

Erken evre meme kanserinin adjuvan kemoterapisinde kullanılan kemoterapi rejimleri arasında siklofosfamid, metotreksat ve 5-fluorourasil (CMF) rejimi modern anlamda uygulanan ilk kombinasyon rejimi olup, halen özellikle kardiyak sorunu olan hastalarda kullanım alanı bulmaktadır. Sonraki yıllarda etkinliği artırmak amacıyla antrasiklinler kullanıma girmiş ve siklofosfamid/doksorubisin (AC), 5-fluorourasil/doksorubisin/siklofosfamid (FAC), 5-fluorourasil /epirubisin /siklofosfamid (FEC) ve doksorubisin/epirubisin (A/E) ----->CMF rejimleri şeklinde kullanılmaya başlanmıştır (236). 194 randomize çalışmanın metaanalizi 15 yıllık sonuçlar olarak 2005 yılında yayınlanmıştır. Bu metaanalize göre 6 aylık antrasiklin temelli polikemoterapi (FAC veya FEC gibi) uygulaması nod durumu, östrojen reseptör (ÖR) durumu, tamoksifen kullanımı ve diğer tümör özelliklerinden bağımsız olarak meme kanserine bağlı ölüm oranında 50 yaş altı grupta yıllık %38, 50-69 yaş grubunda da yıllık %20 oranında azalma sağlamaktadır. Ayrıca antrasiklin içeren bu rejimlerin CMF rejiminden daha etkili olduğu da belirtilmiştir (mutlak fark 5. yılda %3, 10. yılda %4) (237).

Meme kanserinin sistemik tedavisinde önemli bir yere sahip olan bir diğer grup kemoterapötik ajanlar taksanlardır. Metastatik meme kanseri tedavisinde ilk sıra tedavi olarak kullanıldığında %25-69 yanıt oranı sağlamakta, ayrıca antrasiklinlerle çapraz direnç gösterme oranlarının düşük olması avantajlarını oluşturmaktadır (238). Birinci jenerasyon çalışmalarda erken evre meme kanserinin adjuvan tedavisinde taksanların etkinliği gösterildikten sonra optimal taksan doz ve şeklinin belirlenmesine yönelik olarak ikinci jenerasyon çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Gompertzian modeline göre tümör volümü arttıkça doubling time uzamakta, dolayısıyla hücre bölünme hızı yavaşlamaktadır. Bu temel prensip doğrultusunda kemoterapi siklus aralarındaki süreler azaltılarak doz dens uygulamalar yapılmıştır. Bununla ilgili olarak Berry DA ve ark. tarafından 6644 nod (+) hastada gerçekleştirilen çalışmada adjuvan kemoterapi olarak uygulanan üç farklı rejimin ÖR (+) ve ÖR (-) tümörlerdeki etkinliği araştırılmıştır: 3 siklus CAF rejimi, 3 siklus AC takiben (± Paklitaksel) ve ardışık doksorubisin,

siklofosfamid ve paklitaksel ile eş zamanlı doksorubisin ve siklofosfamid ve bunu takiben paklitaksel (3 hf. vs 2 hf. sikluslar). Sonuçta adjuvan kemoterapiden ÖR-tümörlerin ÖR (+) olanlara göre daha fazla yarar gördüğü (5-yıllık hastalısız sağkalımda mutlak kazanç %22.8 vs %7.0 ve toplam mortalitede azalma %55 vs %23), ayrıca iki haftada bir uygulanan doksorubisin, siklofosfamid ve paklitaksel rejiminin düşük doz CAF rejimine göre rekürrens ve ölüm oranlarında %50 daha fazla azalma sağladığı bildirilmiştir (239). Çalışma sonuçlarına göre nod (+) erken evre meme kanserli hastaların adjuvan tedavisinde antrasiklinlere taksanların eklenmesinin yararı aşikardır. Ardışık uygulamalar daha olumlu toksisite profiliyle, kombinasyon uygulamaları ise daha yüksek etkinlik avantajıyla birlikte artmış hematolojik toksisite özellikleriyle dikkati çekmektedir.

Adjuvan uygulamada en çok kullanılan kılavuzlar tedavi seçiminde günümüz koşullarında HR ve HER2 durumuna göre tedavi seçenekleri vermektedir. St. Gallen uzlaşısı raporunda risk sınıflaması ve HER2 pozitif/negatifliği tedavi seçiminde önemli parametreler olarak belirtilmektedir Tablo 1 ve 2’de bu parametreler ve tedavi yaklaşımı özetlenmiştir (240).

Risk kategorisi	
Düşük risk	Nod negatif ve aşağıdaki parametrelerin hepsi pT ≤2 cm ve Grade 1 ve Yaygın peritümoral vasküler invazyonun olmaması ve ÖR ve/veya PR ekspresyonu ve HER2/neu negatifliği (gen amplifikasyonunun olmaması, aşırı ekspresyonunun olmaması) ve Yaş ≥35 olması
Orta dereceli risk	Nod negatif ve aşağıdaki parametrelerin en az birinin pozitifliği pT >2 cm veya Grade 2-3 veya Yaygın peritümoral vasküler invazyonun olması veya ÖR ve PR negatifliği veya HER2/neu pozitifliği (gen amplifikasyonunun olması veya aşırı ekspresyonunun olması) veya Yaş <35 olması 1-3 Nod pozitif ve ÖR ve/veya PR pozitifliği ve HER2/neu negatifliği (gen amplifikasyonunun olmaması, aşırı ekspresyonunun olmaması)
Yüksek risk	1-3 Nod pozitif ve ÖR ve PR negatif veya HER2/neu pozitifliği (gen amplifikasyonunun olması veya aşırı ekspresyonunun olması) veya >4 Nod pozitif

Tablo1. Erken evre meme kanserinde risk sınıflaması (240)

	Yüksek endokrin yanıtı	Kısmi endokrin yanıtı	Endokrin yanıtı
HER2 negatif	ET (riske göre KT eklenebilir)	ET (riske göre KT eklenebilir)	KT
HER2 pozitif	ET + Trastuzumab + KT	ET + Trastuzumab + KT	Trastuzumab + KT

Tablo 2. Meme kanserinde adjuvan tedavi planı (240)

St. Gallen uzlaşı raporunda OncotypeDX ve Mammaprint gibi moleküler bazlı genetik testlerin tedavi seçiminde kullanımı kabul görmemiştir (240,241).

Evre 3 meme kanserinde preoperatif dönemde uygulanacak neoadjuvan kemoterapi tümörde “downstaging”i sağlayarak cerrahi müdahaleyi kolaylaştırmaktadır. Operabl lokal ileri meme kanserinde amaç meme koruyucu cerrahi oranını arttırarak mastektomiye azaltmak, böylece meme korunmasını sağlamaktır. İnooperabl olgularda ise rezeksiyonu mümkün olmayan memeyi rezektabl hale getirmek temel hedeftir. Neoadjuvan kemoterapi ile ilgili çalışmalarda doz yoğunluğunu arttırmakla patolojik tam yanıt oranının arttırılabileceği ve bunun da sağkalıma olumlu yansıtacağı görüşü ileri sürülmektedir. Neoadjuvan kemoterapi sonrası klinik tam yanıt oranları %20-53, kısmi yanıt oranları ise %37-50 arasında değişmektedir. Patolojik tam yanıt elde edilenlerde 5-yıllık sağkalım için iyi bir prognostik faktör olduğu bildirilmektedir (242-244). Bazaloid ve HER2 pozitif tümörlerde neoadjuvan KT ile patolojik tam yanıt oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (244,245). Adriyamisin ve siklofosamid içeren KT rejimi ile bu kombinasyona paklitaksel ve 5-FU eklenmesinin değerlendirildiği çalışmalarda, en fazla patolojik tam cevabın BMK grubunda elde edildiği bildirilmiştir (245,246,247).

2.1.7. Bazaloid meme kanserinin önemi ve klinik pratikte yaklaşım

Meme kanserinde son yıllarda hızlanan gelişmeler sayesinde breye özgü tedaviler geliştirilmeye başlanmıştır. Moleküler çalışmalarla saptanan alt tipler hem prognoz tayini hem de tedavi seçiminde önemli bir rol oynamaktadır.

BMK, diğer alt gruplardan farklı morfolojik ve sitogenetik özellik göstermektedir. Santralde skar formasyonu ve nekroz sahaları içeren patolojik görünüm bazen invaziv komedo patern olarak isimlendirilmektedir Lenfositik infiltrasyon ve sinsityal büyüme paterni gösterebilir. İğsi hücreler ve skuamoz metaplazi içerebilirler. Genel olarak yüksek gradlı olan bu tümörler, yüksek mitotik indeks ve yüksek nükleer/sitoplazma oranına sahiptirler (195, 203,204,211,248).

ÖR, HER1, HER2 ve sitokeratin 5/6 tanıda standart olarak kullanımı önerilen dört parametredir. Mikroarrey gen analizleri sitokeratin 5/6 ve 17 pozitifliğinin kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermektedir (179, 183, 201,202). Van de Rijn ve arkadaşlarının çalışmasında sitokeratin 5/6 ve/veya 17 pozitifliği nod negatiflerde prognostik önem taşırken, Nielsen ve arkadaşlarının çalışmasında nod pozitiflerde prognostik önemi olduğu vurgulanmıştır (179,199). Fulford ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, bazaloid subgrubunda CK14 pozitifliği daha az karaciğer ve kemik metastazı ile ilişkili bulunurken daha fazla beyin metastazı ile ilişkili bulunmuştur. Metastazı olmayan hastalarda hastaliksız sağkalım CK14 pozitiflerde daha iyi bulunurken, metastazı olan hastalarda hastaliksız sağkalım CK14 pozitifliği olanlarda daha anlamlı olarak daha kötü bulunmuştur. Yine bu çalışmada 5-yıllık sağkalım açısından CK 14 pozitif ve negatif gruplar arasında fark bulunmazken, 10 yıllık sağkalımda CK14 pozitifliği daha iyi bir sağkalım avantajı sağlamıştır (189). Jumppanen ve arkadaşları ise CK5/14 pozitifliği olan tümörlerin, non-bazal özellik gösteren ÖR- tümörlerle sağkalım açısından fark göstermediğini bildirmişlerdir (249). Laakso ve arkadaşlarının çalışmasında, CK5/6 ve CK14 pozitifliğinin sporadik İDK vakalarının %9'unda ve BRCA-1 genetik yatkınlığı olanlarında %78'inde saptandığı bildirilmiştir (250). Bu parametrelerin klinikte henüz yaygın kullanımına ilişkin kılavuz önerileri bulunmamaktadır. Çalışmalar bu konuya ışık tuttukça prognostik ve prediktif kullanımı daha da netlik kazanacaktır.

EGFR'nin önemine daha önce değinilmişti. EGFR ileti yolunun fazla çalışması, kötü prognostik bir faktör olduğu, metastatik ve invaziv potansiyelin yanısıra endokrin tedavi direnciyle ilişkili olduğu, daha az diferansiye ve daha yüksek gradlı tümör gelişimine neden olduğu yönünde bildirimler mevcuttur (88-93). Diğer bir ifadeyle, EGFR aktivitesinde artış, hücre siklusunun progresyonu, anjiyogenezin artışı, apoptozisin azalması, tedaviye yanıtın azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (94-98). Bazaloid meme kanserinde bir çok otör tarafından tanı kriteri olarak kullanılması önerilmektedir (178,179, 190-203).

BMK için tedavi konusunda elimizde kesinleşmiş veriler henüz bulunmamaktadır. Yapılan neoadjuvan çalışmalar en fazla patolojik tam yanıtın

HER2 ve bazaloid meme kanserlerinde gözleendiğini bildirmekte olup, antrasiklin ve taksanların etkili ajanlar olduğu düşünölmektedir (224-247). Rouzer ve arkadaşları 82 hastalık bir seride yaptıkları çalışmada, en fazla patolojik tam yanıtın HER2+ grupta %45 (%95 confidence interval (%95 CI), 24-68) ve bazaloid alt grubunda %45 (%95 CI, 23-68) göröldüğünü, luminal tümörlerde bu oranın %6 olarak saptandığını, normal-like tümörlerde ise patolojik tam yanıtın gözlenmediğini bildirmişlerdir (246). WSG-AM-01 çalışmasında, Nitz ve arkadaşları 9'dan fazla lenf nodu tutulumu olan yüksek riskli 403 hastada doz yoğun tedavinin subgruplardaki yararlanımlarının değerlendirdiler. HER2 ve bazaloid tümörlerde, luminal tümörlere göre en kötü sonuçlar elde edilmiş olup, en kötü sonuçlar doz yoğun tedaviyle kıyaslandığında, konvansiyonel KT ile tedavi edilen bazaloid ve tanımlanamayan grupta gözleendiği bildirilmiştir (HR 2.66, %95CI: 0.9-7.9). Doz yoğun tedaviden en fazla genç ve triplet negatif kötü diferansiye ve T>2cm olan tümörlerde fayda gözleendiği belirtilmiştir (251).

Conforti ve arkadaşlarının 823 serilik çalışmasında daha önce yapılan 2 randomize çalışmanın doku örnekleri beraber değerlendirilerek, hastalar ÖR pozitif ve negatifliğine göre ayrıldı. ÖR(-) tümörlerden HER2(-) olan 214'ünden CK 5/6 ve EGFR pozitif olan 98'i bazaloid olarak sınıflandırıldı. ÖR pozitifliği, adjuvan KT yararı değerlendirildiğinde, HS için bağımsız prediktif bir faktör olarak bulundu. Moleküler sınıflama, adjuvan uygulamada KT yararı için prediktif olarak bulundu (p=0.01). HER2 için prediktivite istatistiksel anlam taşımadığı ifade edildi. Çalışmanın gücü yeterli olmadığı için, kemoterapi seçimi ve HER2 ile ilgili sonuçlar biraz şüphe taşımaktadır. Bu çalışma özellikle moleküler sınıflamanın önemini göstermesi açısından önem taşımaktadır (252).

Rodenhius ve arkadaşlarının yüksek doz alkilleyici ajanların HER2(-) hastalardaki etkinliğini değerlendirdikleri 885 hastalık serilerinde, hastalar ya 5 kür FEC veya 4 kür FEC'in ardından tek uygulama yüksek doz siklofosamid (6 g/m²), tiotepa (480 mg/m²) ve karboplatin (1600 mg/m²) şeklinde randomize edildiler. Yüksek doz tedaviden HER2(-) hastalar yarar görürken, HER2+ hastaların fayda görmediği bildirilmiştir. HER2(-) hastalarda yüksek doz KT ile beş yıllık hastaliksız sağkalım avantajı sağlanmıştır (%71.5 vs %59.1, HR 0.68,

p=0.002). Yüksek doz KT ile 5 yılda genel sağkalımda da anlamlı fark gözlenmiştir (%78.2 vs %71.0, HR 0.72, p=0.02) (253).

Yapılan çalışmalar günümüzde antrasiklin dozunun HER2(-) hastalar için tedavi yanıtında fark yaratmadığını, oysa yüksek doz alkilleyicilerle HER2+ tümörlerde daha iyi yanıt elde edildiğini göstermektedir (254-258). Bu durum Topoizomeraz-II α ekspresyonunun HER2(-) tümörlerde %1-10 iken, HER2+ tümörlerde %30-40 gibi daha yüksek oranlarda saptanmasıyla ilişkili olduğu şeklinde açıklanmaktadır (259,260). Antrasiklin duyarlılığıyla ilişkili olduğu kabul edilen Topoizomeraz-II α 'nın düşük ekspresyonunun saptandığı HER2(-) tümörlerde yüksek doz epirubisinin uygulanması günümüzde çalışmalarla sınırlı tutulması önerilmektedir (253). Daha fazla sayıda ve daha ayrıntılı çalışmalar tedavi seçiminde ileride yol gösterici olacaktır.

3- HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışmada adjuvan ve neoadjuvan tedavi almış triplet negatif meme kanseri hastalarında BMK alt grubunun immunhistokimyasal parametrelerle ortaya çıkarılması ve bu parametrelerle survivinin prognostik öneminin gösterilmesi amaçlanmıştır. Çalışma, TT-07-15 proje numarıyla desteklenmiş ve etik kurul kararı alınmıştır. Tümör spesmenlerinde CK5/6, CK14, CK17, EGFR ve survivinin boyanma dereceleri ile tümör çapı, lenf nodu tutulumunun olması ve sayısı, kapsül dışı yayılım, lenfovasküler invazyon, yaş, menapoz durumu, aile öyküsü ve nüks parametreleri değerlendirilmiştir. Ayrıca hastalıksız sağkalım süresiyle ilişkili faktörler de araştırılmıştır.

3.1.Hastalar

Çalışmaya 2001-2005 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi M.K.Dedeman Onkoloji Hastanesi'ne meme kanseri tanısıyla başvuran toplam 30

hasta alındı. Hastaların hepsi triplet negatif [ÖR(-), PR(-), HER2(-)]. Hastaların 2'si evre 1, 14'ü evre 2, 12'si evre 3 tanısıyla adjuvan tedavi alırken, 2 hasta da lokal ileri kabul edilip, evre 3 olarak değerlendirilmiş ve neoadjuvan KT almıştı.

3.2. Tedavi

Toplam 30 hastanın 12'sine CEF₇₅ (Siklofosfamid 600mg/m² 1.gün, Epirubisin 75 mg/m² 1.gün, Fluorourasil 600 mg/m² 1.gün, 3 haftada bir) verilirken, 7 hastaya ET(Paklitaksel 135 mg/m² 1.gün, Epirubisin 75 mg/m² 1.gün 3 haftada bir), 1 hastaya TEC(Dosetaksel 75 mg/ m² 1.gün, Epirubisin 75 mg/ m² 1.gün, Siklofosfamid 500 mg/ m² 1. gün 21 günde bir), 2 hastaya Siklofosfamid 600 mg/m² 1.gün, Adriamisin 60 mg/m² 1. gün 3 haftada bir 4 kür, ardından Dosetaksel 100 mg/m² 1.gün 3 haftada bir 2 kür, 8 hastaya CMF (Siklofosfamid 500 mg/ m² 1 ve 8.gün, Metotreksat 40 mg/ m² 1 ve 8.gün, Fluorourasil 600 mg/ m² 1 ve 8.gün 4 haftada bir) verildi. Yedi hasta dışında hastaların hepsine RT uygulandı.

3.3. İmmunohistokimyasal analiz

Parafin bloklardan elde edilen doku örneklerinden İHK çalışması bir seferde yapıldı. Tüm preparatlar hastaların klinik ve histopatolojik özelliklerini bilmeyen iki patolog tarafından değerlendirildi. Keratin 17 için fare antikoru Ab-1 (Clone E3, , Katolog no: MS-489-S, Neomarkers, USA) 1/50 dilüsyon oranında, Keratin 5/6 için fare monoklonal antikoru Ab-2 (Clone D5/16 B4, Katolog no: MS-1814-S, Neomarkers, USA) 1/20'lik dilüsyon oranında, Keratin 14 için fare antikoru Ab-1 (Clone:LL002, Katolog no: MS-115-P, Neomarkers, USA) 1/100 dilüsyon oranında, Survivin için tavşan antikoru (Clone: Rabbit Pab, Katalog:RB-9245-R7, Neomarkers, USA) 1/100 dilüsyon oranında, EGFR için Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Ab-10(Clone: 111.6 1 ml, Katolog no: MS-378-9, Neomarkers, USA) 1/50 dilüsyon oranında kullanıldı.

İmmunohistokimyasal boyamalar için %10 formalin tesbiti uygulanmış olan parafin bloklardan 5 mikronluk boyasız kesitler hazırlanarak etüv içinde 60°C'de 1 saat bekletildi. Üç defa 10'ar dakikalık ksilol ile deparafinize edildi.

Her biri 3 defa olmak üzere önce 10 dakika absölu alkolde bekletildikten sonra 5 dakika %96'lık alkolde bekletildi. Çeşme suyu ile 5 dakika ve tamponlanmış yıkama solüsyonunda 5 dakika 2 kez yıkandıktan sonra 10 dakika mikrodalga cihazında retriaval solüsyonda (dilüe sitrat buffer 1/10) %50 güç seviyesinde bekletildi. Bir damla poliklonal primer antikor damlatıldı ve 30 dakika bekletildi. Yıkama solüsyonunda 5 dakika bekletildikten sonra 2-3 damla streptavidin enzimi damlatıldı ve 10 dakika bekletildi. Tekrar 10 dakika yıkama solüsyonu ile yıkandı. DAB kromojeni damlatılarak 10 dakika bekletildi. Çeşme suyu ile yıkandıktan sonra Mayer hematoksilen içinde 1 dakika tutularak zıt boyanma sağlandı. Menekşe rengi oluşuncaya kadar çeşme suyu ile daha sonra distile su ile yıkandı. 15 dakika alkol ve ardından 15 dakika ksilolde bekletildi. Bol su ile yıkanan lamalar balsam ile kapatıldı.

Survivin için skorlama nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma yoğunluğuna göre yapıldı ve 4 kategoriye ayrıldı. CK5/6, CK14, CK17, EGFR için skorlama 3'e ayrıldı. Tablo 3 ve 4'te skorlama sistemleri verilmiştir (141,199,249, 261)

Skor	Boyanma özelliği (sitoplazmik/nükleer)	Rapor
0	Boyanma olmaması(<% 10)	Negatif
1+	Hücrelerin %10-20'sinde boyanma olması	Zayıf
2+	Hücrelerin %21-50'sinde boyanma olması	Pozitif
3+	Hücrelerin %51-100'ünde boyanma olması	Pozitif (yoğun)

Tablo 3. Survivin için skorlama sistemi

Skor	Boyanma özelliği	Rapor
0	Boyanma olmaması	Negatif
1+	Hücrelerin \leq 20'sinde boyanma olması	Zayıf pozitif
2+	Hücrelerin $>$ 20'sinde boyanma olması	Pozitif

Tablo 4. CK 5/6, CK14, CK17, EGFR için skorlama sistemi

3.4. İstatistik

İstatistiksel analizler ‘SPSS’ 13 soft ware kullanılarak yapıldı. Yaşın, lenf nodu sayısının, tümör çapının ve nükse kadar geçen zamanın CK 5/6, EGFR, CK 14, CK 17 ve Survivin ile karşılaştırılması nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi ile, menapoz durumu, histopatoloji, aksiller lenf nodu tutulumu, kapsül dışı yayılım, evre, grade, lenfovasküler tutulum ile bazaloid markırlarının ve survivinin karşılaştırılması Ki-kare testi ile yapıldı. Tanıdan ilk nükse kadar geçen süre hastalısız yaşam süresi (hastalısız sağkalım) ve ölüme kadar geçen süre genel yaşam süresi (genel sağkalım) olarak kabul edildi. Hastalısız sağkalım süresinin değişkenlere göre değerlendirilmesi tek değişkenli analiz (Cox regresyon modeli) ile yapıldı. Sağkalım süreleri ve oranları Kaplan-Meier testi ile hesaplandı ve Log-rank testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel sonuçlarda, p değeri 0.05 ve küçük olanlar anlamlı kabul edildi.

4-BULGULAR

4.1. Klinik özellikler

Çalışmaya immunhistokimya (İHK) ile triplet negatif (ÖR-, PR-, HER2-) olduğu gösterilen, 28'i adjuvan ve 2'si neoadjuvan tedavi verilen toplam 30 hasta alındı. Çalışmaya alınan ve CK5/6 veya EGFR pozitifliği (BMK) saptanan hastaların özellikleri tablo 5'de verilmiştir. Ortanca takip süresi 45 ay (sınırlar, 5-76) idi. Ortanca yaş değeri 47 yıl (sınırlar, 23-76) olarak bulundu. Tümör 18 hastada (%60) üst-dış kadran, 4 hastada (%13.3) areola, 3 hastada (%10) üst-iç kadran, 2 hastada (%6.7) alt-iç kadran, 2 hastada (%6.7) alt-dış kadran ve 1 hastada (%3.3) tüm

kadranda lokalize idi. Hastaların tamamında hastalık memeye lokalize olup uzak organ metastazı yoktu. Tümör boyutu median 3.5 cm (sınırlar, 2-15 cm) olarak hesaplandı. Çıkarılan ortanca lenf nodu sayısı 14 adet (sınırlar, 3-28) idi. Hastaların %30'unda (9 hasta) lenf nodu tutulumu saptanmazken, %70'inde (21 hasta) lenf nodu pozitifliği. Tutulan ortanca lenf nodu sayısı 2 adet (sınırlar, 0-21) idi. On ve üzerinde lenf nodu tutulumu 4 hastada (%13) saptandı. Altı hastada(%20) kapsül dışı yayılım saptandı. Yedi hastada (%23.3) vasküler ve lenfatik tutulum bulundu. Hastaların hepsine adjuvan kemoterapi verildi. Sekiz hasta (%27) CMF, 14 hasta (%46) antrasiklinli kombinasyonlar, 8 hasta (%27) ise antrasiklin ve taksan içeren kombinasyon rejimleri aldı.

Toplam 14 hastada (%46.7) nüks saptandı. Tüm hastalar için hastalıksız sağkalım süresi ortanca 39 ay (sınırlar, 5-75) olarak hesaplandı. Takipte 9 hasta (%30) ex oldu.

4.2. Triplet negatif meme kanseri hastalarının klinik parametreleri ile CK5/6, CK14, CK17, EGFR ve survivin pozitifliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

Tablo 6'da hastaların CK5/6, CK14, CK17, EGFR ve survivin pozitifliği ile klinik parametreler arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Klinik özelliklerden CK5/6 pozitifliğiyle lenf nodu tutulumu olması arasında istatistiksel anlamlılık saptandı (p=0.014). Survivin pozitifliğiyle klinik ve patolojik parametreler arasında herhangi anlamlı bir ilişki saptanmadı. Tüm hastalar değerlendirildiğinde postmenapozal triplet negatif meme kanseri hastalarında CK5/6 veya EGFR pozitifliği premenapozal hastalara göre daha yüksek oranda görülürken (%91.7), bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0.049). Tablo 7'de survivinin hastaların klinik ve patolojik özelliklerle ilişkisi ve tablo 8'de de CK5/6 veya EGFR'nin (bazaloid ve non-bazaloid) klinik ve histopatolojik özelliklerle ilişkisi verilmiştir.

Tablo 5. Triplet negatif ve BMK hastalarının özellikleri

Özellikler	Triplet negatif hastalar	BMK alt grubu
	n (%)	n (%)
Hasta sayısı	30 (100)	21 (70)
Yaş (ortanca) (yıl)	47 (sınırlar, 23-76)	51 (sınırlar, 23-76)
≤50	18 (60.0)	10 (47.6)
>50	12 (40.0)	11 (52.4)
Menapoz		
Premenapoz	18 (60.0)	10 (47.6)
Postmenapoz	12 (40.0)	11 (52.4)
Meme yerleşimi		
Sağ	15 (50.0)	11 (52.4)
Sol	15 (50.0)	10 (47.6)
Histopatoloji		
İDK	26 (86.7)	18 (85.7)
Medüller ca	1 (3.3)	0 (0.0)
Tubuler ca	1 (3.3)	1 (4.8)
Miks (İDK+İLK)	2 (6.7)	2 (9.5)
Aile öyküsü		
Var	5 (16.7)	4 (19.0)
Yok	25 (83.3)	17 (81.0)
Grade		
Grade 1	2 (6.7)	2 (9.5)
Grade 2	12 (40.0)	8 (38.0)
Grade 3	14 (46.6)	10 (47.6)
Değerlendirilmeyen	2 (6.7)	1 (4.8)
Evre		
Evre 1	2 (6.7)	2 (9.5)
Evre 2	14 (46.7)	9 (42.8)
Evre 3	14 (46.6)	10 (47.7)
Tümör çapı (cm)		
≤ 2	8 (26.7)	7 (33.3)
>2	22 (73.3)	14 (66.7)
Lenf nodu tutulumu (adet)		
0	9 (30.0)	5 (24.0)
1-3	11 (37.0)	8 (38.0)
4-9	6 (20.0)	6 (28.5)
≥10	4 (13.0)	2 (9.5)
Kapsül dışı yayılım		
Var	6 (20.0)	4 (19.0)
Yok	24 (80.0)	17 (81.0)
Vasküler-lenfatik tutulum		
Var	7 (23.4)	6 (28.5)
Yok	23 (76.6)	15 (71.5)
Nüks		
Var	14 (46.7)	9 (42.8)
Yok	16 (53.3)	12 (57.2)

Tablo 6. CK 5/6, EGFR, CK14, CK17'nin hastaların klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi

Karakteristikler	CK5/6		EGFR		CK 14		CK 17	
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Pozitif n (%)	Negatif n (%)
Yaş (yıl)								
≤50	7 (38.9)	11 (61.1)	8 (44.4)	10 (55.6)	14 (77.8)	4 (22.2)	10 (55.6)	8 (44.4)
>50	8 (66.7)	4 (33.3)	7 (58.3)	5 (41.7)	7 (58.3)	5 (41.7)	5 (41.7)	7 (58.3)
	p=0.264		p=0.709		p=0.464		p=0.709	
Menapoz								
Postmenapoz	8 (66.7)	4 (33.3)	7 (58.3)	5 (41.7)	7 (58.3)	5 (41.7)	5 (41.7)	7 (58.3)
Premenapoz	7 (38.9)	11 (61.1)	8 (44.4)	10 (55.6)	14 (77.8)	4 (22.2)	10 (55.6)	8 (44.4)
	p=0.264		p=0.709		p=0.418		p=0.455	
Evre								
Evre 1	1 (50.0)	1 (50.0)	2 (100)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2 (100)
Evre 2	6 (42.9)	8 (57.1)	6 (42.9)	8 (57.1)	11 (78.6)	3 (21.4)	8 (57.1)	6 (42.9)
Evre 3	8 (57.1)	6 (42.9)	7 (50.0)	7 (50.0)	9 (58.3)	5 (41.7)	7 (50.0)	7 (50.0)
	p=0.848		p=0.616		p=0.860		p=0.616	
Tümör boyutu								
≤2 cm	4 (50.0)	4 (50.0)	5 (62.5)	3 (37.5)	5 (62.5)	3 (37.5)	3 (37.5)	5 (62.5)
>2 cm	11 (50.0)	11 (50.0)	10 (45.5)	12 (54.5)	16 (72.7)	6 (27.3)	12 (54.5)	10 (45.5)
	p=1.0		p=0.682		p=0.666		p=0.682	
Lenf-nodu tutulumu								
Pozitif	14 (66.7)	7 (33.3)	11 (52.4)	10 (47.6)	14 (66.7)	7 (33.3)	10 (47.6)	11 (52.4)
Negatif	1 (11.1)	8 (88.9)	4 (44.4)	5 (55.6)	7 (77.8)	2 (22.2)	5 (55.6)	4 (44.4)
	p=0.014*		p=1		p=0.681		p=1	
Kapsül-dışı yayılım								
Var	4 (66.7)	2 (33.3)	2 (33.3)	4 (66.7)	4 (66.7)	2 (33.3)	3 (50.0)	3 (50.0)
Yok	11 (45.8)	13 (54.2)	13 (54.2)	11 (45.8)	17 (70.8)	7 (29.2)	12 (50.0)	12 (50.0)
	p=0.651		p=0.651		p=1		p=1	
Vasküler-lenfatik tutulum								
Var	5 (71.4)	2 (28.6)	6 (85.7)	1 (14.3)	5 (71.4)	2 (28.6)	5 (71.4)	2 (28.6)
Yok	10 (43.5)	13 (56.5)	9 (39.1)	14 (60.9)	16 (69.6)	7 (30.4)	10 (43.5)	13 (56.5)
	p=0.390		p=0.80		p=1		p=0.390	
Grade								
Grade 1	2 (100)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2 (100)	1 (50.0)	1 (50.0)
Grade 2	5 (41.7)	7 (58.3)	5 (41.7)	7 (58.3)	8 (66.7)	4 (33.3)	6 (50.0)	6 (50.0)
Grade 3	7 (50.0)	7 (50.0)	8 (57.1)	6 (42.9)	11 (78.6)	3 (21.4)	7 (50.0)	7 (50.0)
Değerlendirilmeyen	1 (50.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	2 (100)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)
	p=0.550		p=0.877		p=0.646		p=1	
Nüks								
Var	8 (57.1)	6 (42.9)	7 (50.0)	7 (50.0)	12 (85.7)	2 (14.3)	7 (50.0)	7 (50.0)
Yok	7 (43.8)	9 (56.3)	8 (50.0)	8 (50.0)	9 (56.3)	7 (43.8)	8 (50.0)	8 (50.0)
	p=0.464		p=1		p=0.118		p=1	

* İstatistiksel olarak anlamlı

Tablo 7. Survivin pozitifliğinin klinik ve patolojik özellikler ile ilişkisi.

Karakteristikler	SURVİVİN		p değeri
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
Yaş			
≤50	5 (27.8)	13 (72.2)	0.694
>50	5 (41.7)	7 (58.3)	
Menapoz			
Postmenapoz	5 (41.7)	7 (58.3)	0.694
Premenapoz	5 (27.8)	13 (72.2)	
Evre			
Evre 1	1 (50.0)	1 (50.0)	0.171
Evre 2	7 (50.0)	7 (50.0)	
Evre 3	2 (14.3)	12 (85.7)	
Tümör boyutu			
≤2 cm	4 (50.0)	4 (50.0)	0.384
>2 cm	6 (27.3)	16 (72.7)	
Lenf nodu tutulumu			
Pozitif	5 (23.8)	16 (76.2)	0.204
Negatif	5 (55.6)	4 (44.4)	
Kapsül dışı yayılım			
Var	1 (16.7)	5 (83.3)	0.633
Yok	9 (37.5)	15 (62.5)	
Vasküler-lenfatik tutulum			
Var	2 (28.6)	5 (71.4)	1
Yok	8 (34.8)	15 (65.2)	
Grade			
Grade 1	0 (0.0)	2 (100)	0.868
Grade 2	5 (41.7)	7 (58.3)	
Grade 3	4 (28.6)	10 (71.4)	
Değerlendirilmeyen	1 (50.0)	1 (50.0)	
Nüks			
Var	4 (28.6)	10 (71.4)	0.709
Yok	6 (37.5)	10 (62.5)	
Histopatoloji			
İDK	9 (34.6)	17 (65.4)	1
Diğerleri	1 (25.0)	3 (75.0)	
Aile öyküsü			
Var	2 (40.0)	3 (60.0)	1
Yok	8 (32.0)	17 (68.0)	

* İstatistiksel olarak anlamlı

Tablo 8. CK5/6 veya EGFR pozitifliğinin klinik ve patolojik özelliklerle ilişkisi.

CK5/6 veya EGFR					
Karakteristikler	Pozitif		Negatif		p değeri
	n	(%)	n	(%)	
Yaş					
≤50	10	(55.6)	8	(44.4)	
>50	11	(91.7)	1	(8.3)	0.049*
Menapoz					
Postmenapoz	11	(91.7)	1	(8.3)	
Premenapoz	10	(55.6)	8	(44.4)	0.049*
Evre					
Evre 1	2	(100.0)	0	(0.0)	
Evre 2	9	(64.3)	5	(35.7)	
Evre 3	10	(71.4)	4	(28.6)	0.860
Tümör boyutu (cm)					
≤2	7	(87.5)	1	(12.5)	
>2	14	(63.6)	8	(36.4)	0.374
Lenf nodu tutulumu					
Pozitif	16	(76.2)	5	(23.8)	
Negatif	5	(55.6)	4	(44.4)	0.389
Kapsül dışı yayılım					
Var	4	(66.7)	2	(33.3)	
Yok	17	(70.8)	7	(29.2)	1
Vasküler-lenfatik tutulum					
Var	6	(85.7)	1	(14.3)	
Yok	15	(65.2)	8	(34.8)	0.393
Grade					
Grade 1	2	(100.0)	0	(0.0)	
Grade 2	8	(66.7)	4	(33.3)	
Grade 3	10	(71.4)	4	(28.6)	
Değerlendirilmeyen	1	(50.0)	1	(50.0)	1
Nüks					
Var	9	(64.3)	5	(35.7)	
Yok	12	(75.0)	4	(25.0)	0.694

* İstatistiksel olarak anlamlı

4.3. Survivin ekspresyonunun klinik parametrelerle ve hastalısız sağkalımla ilişkisi

Çalışmaya alınan hastaların 10'unda (%33.3) survivin pozitifliği saptandı. Tüm hastalar değerlendirildiğinde 8 hastada (%27) zayıf pozitif boyanma (1+), 10 hastada (%33.0) ise pozitif boyanma gözlendi (Tablo 9).

Tablo 9. Tüm hastalarda saptanan sitozolik survivin ekspresyonu.

Survivin ekspresyonu	n	%
Negatif	12	40.0
1+	8	27.0
2+	8	27.0
3+	2	6.0

Survivin pozitifliğinin klinik ve histopatolojik özelliklerle ilişkisi tablo 10'da verilmişti. Survivin ekspresyonu ile bu parametrelerde anlamlı ilişki gösterilememiştir.

Tablo 10. Survivin ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu ve tümör çapı ile ilişkisi

Değişkenler	Survivin ekspresyonu		Mann-Whitney U	p değeri
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)		
Yaş (ortanca) (yıl)	45.5	52.0		
(Min-Maks.)	(36-67)	(23-76)		
Mean Rank	282	183	72	0.225
Lenf nodu sayısı(ortanca) (adet)	2	1		
(Min-Maks.)	(0-21)	(0-9)		
Mean Rank	339	125	70	0.194
Tümör çapı (cm)	4	3		
(Min-Maks.)	(2-15)	(2-5)		
Mean Rank	341	124	69	0.172

* İstatistiksel olarak anlamlı

4.4. CK5/6, EGFR, CK14 ve CK 17 ekspresyonunun klinik parametrelerle ilişkisi

Tablo 11, 12 ve 13'de sırasıyla CK5/6 veya EGFR, CK14 ve CK17

Tablo 12. CK14 ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu, tümör çapı ile ilişkisi

ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu, tümör boyutu ile ilişkisi gösterilmiş olup (Mann-Whitney U testi), bu parametrelerle herhangi bir istatistiksel anlam saptanamamıştır.

Tablo 11. CK5/6 veya EGFR ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu ve tümör çapı ile ilişkisi

Değişkenler	CK 5/6 veya EGFR ekspresyonu		Mann-Whitney U	p değeri
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)		
Yaş (ortanca) (yıl)	45	51		
(Min-Maks.)	(36-62)	(23-76)		
Mean Rank	104	360	59.5	0.116
Lenf nodu sayısı(ortanca) (adet)	1	3		
(Min-Maks.)	(0-16)	(0-21)		
Mean Rank	123	341	78.5	0.475
Tümör çapı (cm)	3	4		
(Min-Maks.)	(2-11)	(2-15)		
Mean Rank	134	330	89.5	0.825

* İstatistiksel olarak anlamlı

Değişkenler	CK 14 ekspresyonu		Mann-Whitney U	p değeri
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)		
Yaş (ortanca)(yıl)	57	46		
(Min-Maks.)	(36-76)	(23-67)		
Mean Rank	172	293	62	0.146
Lenf nodu sayısı(ortanca) (adet)	5	1		
(Min-Maks.)	(0-21)	(0-10)		
Mean Rank	170	294	63.5	0.159
Tümör çapı (cm)	3	4		
(Min-Maks.)	(2-11)	(2-15)		
Mean Rank	130	334	85	0.695

*İstatistiksel olarak anlamlı

Tablo 13. CK17 ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu, tümör çapı ile ilişkisi

Değişkenler	CK17 ekspresyonu		Mann-Whitney U	p değeri
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)		
Yaş (ortanca) (yıl)	47	47		
(Min-Maks.)	(36-76)	(23-57)		
Mean Rank	246	218	98	0.573
Lenf nodu sayısı(ortanca)(ade	61	3		
(Min-Maks.)	(0-16)	(0-21)		
Mean Rank	234	231	111	0.958
Tümör çapı (cm)	3	4		
(Min-Maks.)	(2-15)	(2-8)		
Mean Rank	226	239	106	0.796

* İstatistiksel olarak anlamlı

4.5. Bazaloid alt grupta survivinin klinik ve histopatolojik parametrelerle ilişkisi

Tüm hastalar değerlendirildiğinde, CK5/6 veya EGFR pozitif olan 21 hastadan (%70) 9'unda (%42.8) survivin pozitifliği saptandı. Survivin pozitifliği bazaloid kabul edilen grupta triplet negatif hastalara göre daha yüksek oranda idi (sırasıyla %42.8 ve %33.3). Survivin ekspresyonunun klinik parametrelerle ilişkisi bu grupta da triplet negatif hastalarla benzerlik göstermekteydi. Fakat istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, premenapozal hastalarda daha fazla ekspresyon gösterildi. Triplet negatif hastalarda survivin ekspresyonu premenapozal ve postmenapozal hastalarda sırasıyla %27.8 ve %41.7 iken bazaloid grupta %40 ve %45.5 olarak bulundu. Histopatolojik parametrelerden grade, kapsül dışı yayılım, lenfovasküler invazyon, histopatolojik tip arasında ilişki saptanmadı. Tablo 14,15 ve 16'da CK5/6 veya EGFR pozitif hastalarla survivinin klinik ve histopatolojik parametrelerle ilişkisi verilmiştir.

Tablo 14. CK5/6 veya EGFR pozitif grupta survivin ekspresyonunun klinik özelliklerle ilişkisi

Değişkenler	Survivin ekspresyonu		p değeri
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)	
Menapoz Durumu			
Premenapoz	6(60.0)	4 (40.0)	
Postmenapoz	6(54.5)	5(45.5)	Fisher's exact test 1
Tümör çapı (cm)			
≤2	3(42.9)	4(57.1)	
> 2	9(64.3)	5(35.7)	Fisher's exact test 0.397
Lenf nodu			
Negatif	1(20.0)	4(80.0)	
Pozitif	11(68.8)	5(31.3)	Fisher's exact test 0.119
Evre			
1	1(50.0)	1(50.0)	
2	3(33.3)	6(66.7)	
3	8(80.0)	2(20.0)	0.087
Aile öyküsü			
Var	2(50.0)	2(50.0)	
Yok	10(58.8)	7(41.2)	Fisher's exact test 1
Nüks			
Var	6(66.7)	3(33.3)	
Yok	6(50.0)	6(50.0)	Fisher's exact test 0.660

* İstatistiksel olarak anlamlı

Tablo 15. CK5/6 veya EGFR pozitif grupta survivin ekspresyonunun histopatolojik özelliklerle ilişkisi

Değişkenler	Survivin ekspresyonu		p değeri
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)	
Grade			
1	1 (50.0)	1 (50.0)	
2	3 (33.3)	6 (66.7)	
3	8 (88.9)	1 (11.1)	
Değerlendirilmeyen	0 (0.0)	1 (100.0)	0.102
Kapsül dışı yayılım			
Var	3 (75.0)	1 (25.0)	
Yok	9 (52.9)	8 (47.1)	Fisher's exact test 0.603
Lenfovasküler tutulum			
Var	4 (66.7)	2 (33.3)	
Yok	8 (53.3)	7 (46.7)	Fisher's exact test 1
Histopatoloji			
İDK	10 (55.6)	8 (44.4)	
Diğerleri	2 (66.7)	1 (33.3)	Fisher's exact test 1

* İstatistiksel olarak anlamlı

Tablo 16. CK5/6 veya EGFR pozitif grupta survivin ekspresyonunun yaş, pozitif lenf nodu, ve tümör çapı ile ilişkisi

Değişkenler	Survivin ekspresyonu		Mann-Whitney U	p değeri
	Negatif n(%)	Pozitif n(%)		
Yaş (ortanca) (yıl)	49.0	56		
(Min-Maks.)	(36-67)	(23-76)		
Mean Rank	123	107	45.5	0.565
Lenf nodu sayısı(ortanca) (adet)	4	1		
(Min-Maks.)	(0-21)	(0-9)		
Mean Rank	150	81	36	0.205
Tümör çapı(cm)	4.5	3		
(Min-Maks.)	(2-15)	(2-5)		
Mean Rank	152.5	78.5	33.5	0.144

* İstatistiksel olarak anlamlı

4.6. Evre 3 ve grade'i 3 olan hastaların klinik, histopatolojik ve İHK özellikleri

Evre 3 ve grade'i 3 olan 8 hasta (%27) vardı. Bu hastaların ortanca yaş değeri 49 yıl (sınırlar 23-67) olarak bulundu. Dört hasta premenapozal, 4'ü de postmenapozaldi. Hepsinin histopatolojik tanısı İDK olarak belirtilmişti. Ortanca tümör çapı 5.5 cm(sınırlar 2-15) olup, hastaların hepsinde lenf nodu tutulumu saptanmıştı. Tutulan lenf nodu sayısının ortanca değeri 9 adet (sınırlar 1-16) olarak hesaplandı. Dört hastada kapsül dışı tutulum, 5 hastada lenfovasküler invazyon saptandı. İki hasta adjuvan tedavide antrasiklinli kombinasyon alırken, 6 hasta taksan ve antrasiklinli kombinasyonlar almıştı. Takipte 7 hastada (%87.5) nüks saptandı. 6 hasta (%75) bazaloid karakterde olup, 6 hastada (%75) CK14, 3 hastada (%38) CK17, 3 hastada (%38) ise survivin pozitifliği bulundu. Evresi ileri ve grade 3 olan ve nükseden hastalarda bazaloid özellikler ve CK14 pozitiflik oranı genel hasta grubundan daha yüksek bulunmuş olup, survivin ile böyle bir ilişki gözlenmemiştir. İki hastada (%25) aile öyküsü olup, bunlardan biri ex olmuştu.

4.7. Sağkalm

Takip süresince 14 hastada (%46.7) nüks saptandı. En erken nüks hastaların 3'ünde ve 5. ayda gözlendi. Bu 3 hasta da evre 3, grade'i 3, lenfovasküler invazyonu olan hastalardı. Nüks olan hastaların 9'u evre 3 ve grade 2-3'tü. Hastalardan 2'sinde (%14.3) hiç bir markır boyanma paterni gözlenmedi (null grup). Dokuz hasta (%64.3) ise CK5/6 veya EGFR pozitifli (BMK). Üç hastada (%21.4) tüm markırlar pozitif boyanırken, null grup dışında hepsinde CK14 pozitif boyandı. Yedi hastada (%50) CK17 ve 7 hastada (%50) da EGFR pozitifliği saptandı. On dört hastanın 2'sine (%14) CMF, 5'ine (%35.7) antrasiklinli ve 7'sine (%50) de taksan ve antrasiklin içeren kombinasyon rejimleri verilmişti. Nükslerin 9'u (%30.0) tek organda saptanırken, 5'i (%16.7) birden fazla organda gelişmişti. Nükslerin organlara göre dağılımı ve nüks saptanan hastalarda survivin, sitokeratinler ve EGFR ekspresyon özellikleri tablo 17'de verilmiştir.

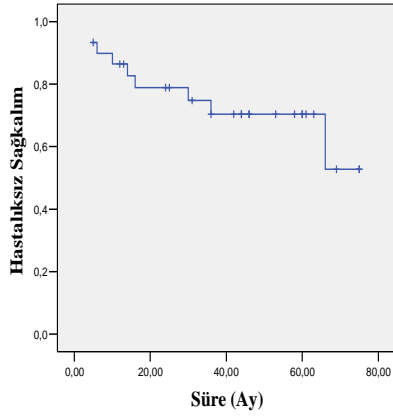
Tablo 17. Saptanan nüks bölgelerinin organlara göre dağılımı

Metastaz bölgeleri	n (%)	CK5/6 ekspresyonu	EGFR ekspresyonu	CK14 ekspresyonu	CK17 ekspresyonu	Survivin ekspresyonu
Tek organ tutulumu	9 (30.0)					
Lokal	2 (6.7)					
1. hasta		0	0	0	0	0
2. hasta		1+	0	1+	0	1+
Diğer meme	2 (6.7)					
1. hasta		1+	1+	2+	2+	2+
2. hasta		0	1+	3+	0	0
Akciğer	2 (6.7)					
1. hasta		0	0	2+	1+	2+
2. hasta		0	0	2+	0	0
Kemik iliği	1 (3.3)	1+	1+	2+	0	1+
Karaciğer	1 (3.3)	1+	2+	1+	1+	2+
Kemik	1 (3.3)	1+	0	1+	0	0
Çoklu organ tutulumu	5 (16.7)					
Kemik ve akciğer	1 (3.3)	2+	3+	3+	2+	3+
Lokal ve karaciğer	1 (3.3)	0	0	0	0	0
Lokal ve beyin	1 (3.3)	1+	1+	1+	1+	0
Lokal ve karşı aksilla	1 (3.3)	1+	2+	1+	1+	1+
Akciğer+kemik+beyin	1 (3.3)	0	0	3+	2+	0
Toplam	14 (46.7)					

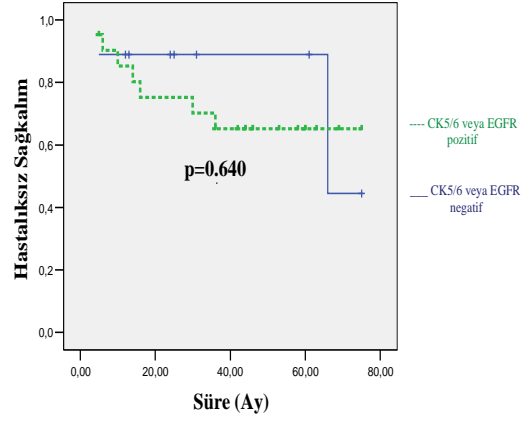
Tüm hastalar için ortalama sağkalım süresi 56 ± 5 ay (%95 GA 46-66) olarak bulundu. Şekil 3'te tüm hastalar için, şekil 4'te CK5/6 veya EGFR pozitif hastalar

için, şekil 5'te CK17 için, şekil 6'da CK14 için ve şekil 7'de survivin için hastaliksız sağkalım eğrisi görülmektedir.

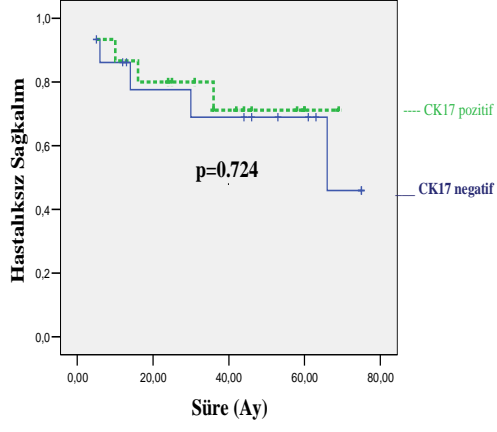
Şekil 3. Tüm hastalar için hastaliksız sağkalım eğrisi



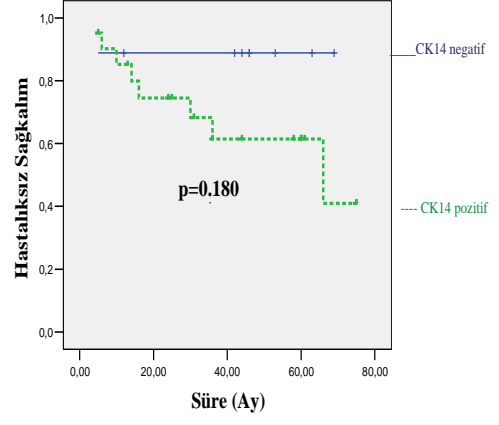
Şekil 4. CK5/6 veya EGFR ekspresyonuna göre hastaliksız sağkalım eğrisi



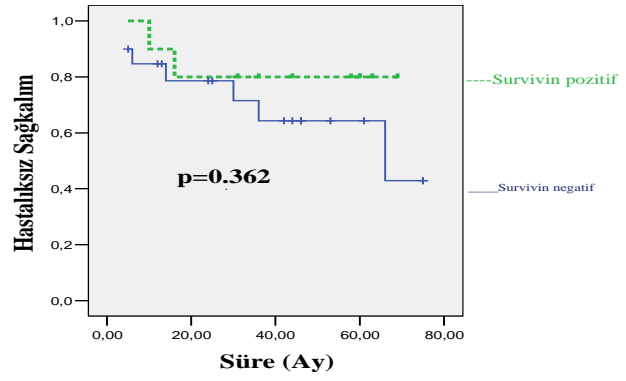
Şekil 5. CK17 ekspresyonuna göre hastahksız sağkalm eğrisi



Şekil 6. CK14 ekspresyonuna göre hastahksız sağkalm eğrisi



Şekil 7. Survivin ekspresyonuna göre hastahksız sağkalm eğrisi



Hastaliksız sağkalım süresi dağılımının tek değişkenli analize göre (Cox regresyon modeli) değerlendirilmesi tablo 18’de gösterilmiştir. Buna göre pozitif lenf nodu sayısı, lenfovasküler invazyon ve grade ile hastaliksız sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilmiştir (sırasıyla, p= 0.036, 0.002, p=0.035).

Tablo 18. Hastaliksız sağkalım süresinin değişik parametrelerle ilişkisi

Cox	p	Hazard ratio	β	Güven aralđı
Menapoz	0.798	1.2	0.182	0.297-4.843
Yaş	0.404	0.972	-0.28	0.910-1.038
Tümör çapı	0.850	0.968	-0.032	0.695-1.349
Tümör çapı (1) **	0.641	0.719	-0.330	0.180-2.878
Evre	0.091	2.622	0.964	0.856-8.028
Histopatoloji (İDK ve diğerleri)	0.939	1.085	0.082	0.133-8.858

Lenf nodu sayısı	0.036*	1.066	0.062	1.005-1.111
Kapsül dışı yayılım	0.061	3.541	1.264	0.945-13.268
Lenfovasküler tutulum	0.002*	9.414	2.242	2.212-40.072
Aile öyküsü	0.817	1.213	0.193	0.236-6.234
Grade	0.035*	8.879	2.184	1.172-67.281
CK5/6 veya EGFR	0.643	1.459	0.378	0.296-7.203
CK14	0.213	3.753	1.323	0.467-30.144
CK17	0.725	0.787	-0.239	0.207-2.994
EGFR	0.718	1.281	0.247	0.335-4.893
Survivin	0.374	0.489	-0.715	0.101-2.368

***İstatistiksel olarak anlamlı**

5-TARTIŞMA

Son zamanlarda meme kanseri insidansında bir artış gözlenirken, meme kanserine bağlı ölüm oranlarında ise bir azalma dikkati çekmektedir. Sağkalımdaki bu artışta cerrahi tedavi sonrası uygulanan adjuvan tedavilerin katkısı büyüktür (262). Adjuvan tedavi kararı vermede son yıllarda önemi gittikçe artan prediktif ve prognostik faktörler yol gösterici olmaktadır. Prediktif faktörler tedaviye yanıt ile

ilişkili faktörler olup, en yaygın olarak kabul gören endokrin tedaviye yanıtı belirleyen hormon reseptör durumu ve HER-2 durumudur. Hormon reseptörü ve HER-2 durumu aynı zamanda prognostik öneme de sahiptir. Tedaviden bağımsız olarak hastalık relapsı hakkında fikir veren faktörler ise prognostik faktörler olup bunlar arasında nod durumu, tümör çapı, histolojik derece ve yaş en temel faktörleri oluşturmaktadır (263). Meme kanserinde ÖR durumunun prognostik önemini gösteren çalışmalardan biri olan NSABP B-06 çalışmasında, ÖR(+) hastalar için 5 yıllık HS ve GS sırasıyla %74 ve %92 olarak bulunurken, ÖR(-) hastalar için %66 ve %82 olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda ÖR(-) ve PR(-) hastalara daha genç yaşta tanı konmaktadır. Kırk yaş altı popülasyonda hormon reseptör negatif hastaların oranı literatürde %6-12 oranında verilmektedir (32,264). Carey ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 496 meme kanseri hastası İHK ve genetik profiline göre değerlendirilmiş tüm popülasyon için bazaloid meme kanseri oranı %20 olarak verilmektedir. Triplet negatiflerde ise bazaloid meme kanseri oranı %70 olarak verilmektedir (264). Çalışmamızda da triplet negatiflerdeki BMK oranı bu çalışmayla uyumlu olarak %70 olarak bulunmuştur. Carey ve arkadaşlarının çalışmasında, bazaloid meme kanseri en sık premenapozal Afrika kökenli hastalarda (%39) saptanırken, postmenapozal Afrika kökenli hastalarda %14 ve Afrika kökeni olmayan Amerikalı kadınlarda %16 olarak bulunmuştur. BMK premenapozal 261 hastanın 64'ünde (%24), postmenapozal 235 hastanın ise 36'sında (%15) saptanmıştır. Meme kanseriyle ilişkili ölüm en çok BMK ve HER-2+ grupta gözlenmiş olup, BMK ve luminal A alt grupların irksal özelliklerden etkilendiği bu çalışmayla gösterilmiştir. Çalışmamızda, BMK kabul edilen hastaların premenapoz ve postmenapoz hasta oranları birbirine yakın bulunmuştur. Hastaların tamamı değerlendirildiğinde, triplet negatif hastaların %70'i (21 hasta) bazaloid İHK özelliklerine sahipken, premenapoz hastaların sadece %55'i, postmenapoz hastaların ise %92'si bu parametrelere sahiptir.

Meme kanserli hastalarda tanı anında yaş ve menapoz durumunun prognoza etkisi konusu tartışmalıdır. Klinik seyrin genç hastalarda daha iyi olduğunu bildiren yayınların yanısıra (265), daha kötü olduğunu (22,266) veya ilişki olmadığını öne süren çalışmalar da mevcuttur(267). Nixon ve arkadaşları,

yaşlanma ile grade 3 histoloji, lenfatik invazyon, yaygın intraduktal komponent, nekroz, mononükleer hücre infiltrasyonu gibi kötü prognostik özelliklerin azaldığını bildirdiler (22). Albain ve arkadaşları da, genç yaş grubunda lenf nodu tutulumu, tümör büyüklüğü, hormon reseptör negatifliği, p-53 anomalileri ve S-faz fraksiyonu gibi parametrelerde artış olduğunu vurguladılar (23). Buna rağmen, Anderson ve arkadaşları, 30 yaş ve altı meme kanserli hastaların genel sağkalımının daha yaşlı kadın hastalarla benzer olduğunu gösterdiler (267). Henderson ve arkadaşları ise meme kanserinde yaş ve klinik seyrin ilişkili olmadığını bildirdiler (268). Bizim çalışmamızda da HS ile yaş arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır.

Bu gün için kabul edilen en önemli prognostik faktör lenf nodu tutulumunun olup olmaması ve tutulan lenf nodu sayısıdır (12). Günümüzde kabul edilen görüş, lenf nodu tutulumu olan hastalarda adjuvan kemoterapinin uygulanması yönündedir. Özellikle tutulan lenf nodu sayısının 4'ten fazla olduğu hastalar yüksek riskli olarak kabul edilmektedir. Lenf nodu tutulumu olmayan hastalar için tedavi uygulama kararını belirlemek amacıyla daha farklı prognostik ve prediktif faktörler araştırılmaktadır. Meme kanserli hastaların %20-30'unda lenf nodu pozitifliği saptanmaktadır. ÖR (-) grupta ise lenf nodu pozitifliği literatürde %46-49 arasında bildirilmektedir (269-270). Çalışmamızda, hastaların %30'unda (9 hasta) lenf nodu tutulumu saptanmazken, %70'inde (21 hasta) lenf nodu pozitifliği. Literatürde bildirilenden daha fazla oranda pozitiflik saptadık. BMK hastalarında ise bu oran %76 gibi daha da yüksekti. Tutulan lenf nodu sayısı ortanca 2 (sınırlar, 0-21) olarak bulunmuştur. Bu sayı BMK grubunda ise 3 (sınırlar, 0-21) olarak saptanmıştır. Lenf nodu tutulumu, tümörün agresif davranışı ile ilişkili olabileceği gibi, hastalığın geç teşhis edilmesi ile de ilişkili olabilir. Çalışmamızda, bazaloid belirteçlerden sadece CK5/6 pozitifliği ile lenf nodu tutulumunun olup olmaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. Görüldüğü gibi triplet negatif ve BMK hastalarında tüm meme kanseri hastalarına göre daha fazla oranda lenf nodu tutulumu saptanmaktadır. Bu bulgu tümörün biyolojik olarak kötü davranışlı olması ile lenf nodu tutulumu arasındaki ilişkiyi göstermektedir.

Tümör çapı ve tutulan lenf nodu sayısı, birçok çalışmada önemli prognostik gösterge olarak bildirilmiştir. Carter ve arkadaşlarının SEER programı dahilinde

yaptıkları 24 740 vakalık çalışmayla, tümör çapının (T)<2 cm ve aksiller lenf nodu tutulumunun olmadığı vakaların 5 yıllık sağkalımının, T>5 cm olup, pozitif aksiller lenf nodu tutulumu olanlara göre daha iyi olduğunu göstermeleri (sırasıyla %96.3 ve %45.5) TNM evrelemesinin temelini atması açısından önemlidir (271). NSABP B-04 çalışmasını yeniden değerlendiren Fisher ve arkadaşları, istatistiksel olarak uzun sağkalımla ilişkili bulunan 10 patolojik özellikten sadece 3'ünün(nodal metastaz sayısı, tümör çapı ve meme başı tutulumu) bağımsız prognostik belirleyici olduğunu gösterdiler (272). Rosen ve arkadaşları da, T1 olarak evrelendirilen 644 hastayı median 18.2 ay takip sonrası değerlendirdiler ve saptadıkları olumsuz klinik-patolojik faktörleri geniş tümör çapı, perimenapozal durum, metastatik aksiller lenf nodu sayısı, yüksek grade, lenfatik tümör embolisi, damar invazyonu ve tümör çevresindeki lenfoplasmositer reaksiyon olarak bildirdiler (273). Fazla hasta sayısı ile yapılan SEER verilerinin değerlendirildiği Grann ve arkadaşlarının çalışmasında, artan evre, grade ve duktal histoloji ile tümörlerde reseptör negatifliğinin de arttığını bildiren literatür bilgisi bulunmaktadır. Yine bu analizde grade 1 olan hastalara göre grade 2 ve 3 olan hastaların mortalite oranı 3 kat fazla olduğu; duktal histolojinin en az %25 daha fazla mortaliteye sahip olduğu bildirilmiştir (32). Putti ve arkadaşları ÖR(-) hastalarda grade 3 oranının %94, Swan ve Sousha ile arkadaşları da grade 2 oranının %18 ve grade 3 oranının ise %81 olduğunu çalışmalarında gösterdiler (270,269). Bizim serimizde 2 hasta (%6.7) grade 1, 12 hasta (%40) grade 2, 14 hasta (46.7) grade 3 idi. Literatüre göre grade 2 olan hasta sayısı yüksek iken, grade 3 hasta sayısı düşük olarak bulundu. Çalışmamızda, Cox regresyon analizini yaptığımızda HS ile pozitif lenf nodu sayısı, lenfovasküler invazyon ve grade'in anlamlı ilişkisi olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda triplet negatif hastalar ile BMK özellikleri gösteren hastalar arasında bu klinik ve histopatolojik parametreler açısından fark bulunmamıştır. Özellikle grade'in belirlenmesinde kullanılan parametrelerin subjektif değerlendirme kriterlerini içermesi nedeniyle ilişkili olarak istatistiksel anlam bulunmamış olabilir.

Meme kanserinin klinik gidişini öngörmek için kullanılan lenf nodu durumu ve grade gibi klasik parametrelerin günümüzde yetersiz kaldığı düşünülmektedir (183,222). Bu nedenle DNA microarrey teknolojileri geliştirilmiştir. Yapılan küçük

hasta gruplarını kapsayan çalışmalarda, gen profili ile belirlenen alt gruplarda sağkalım ilişkisi araştırılmıştır. Norway/Stanford 17, van't Veer 21, West ise 37 vaka tanımladılar (183). Bu analizlerde meme kanseri luminal A, luminal B, HER2 pozitif, normal meme, bazaloid olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Meme kanserini gen ekspresyonuna göre sınıflandıran ve prognozla ilişkisini inceleyen Sotirou ve arkadaşları, gen ekspresyon profilini ÖR ile kuvvetli, grade ile orta dereceli ilişkili bulurken, menapoz durumu, nodal durum ve tümör çapı ile ilişkisiz olduğunu bildirdiler (203). Nielsen ve arkadaşları 21 bazaloid meme kanseri gen profiline sahip meme kanserini İHK ile incelediler ve bu tümörlerin CK5/6 ve/veya EGFR eksprese ettiklerini göstermişlerdir. van de Vijer ve arkadaşları, kötü prognoz sekansları içeren gen profiline sahip olanların iyi prognoz işareti taşıyan gen profili taşıyıcılarına göre metastaz potansiyelinin daha fazla olduğunu gösterdiler (HR 5.1 %95 CI 2.9-9.0 p<0.001) (274). Kötü prognozlu olan meme kanserinin bu alt grubunu saptamaya yönelik yapılan tetkiklerden biri olan İHK yöntemi, gen tarama yöntemiyle karşılaştırıldığında %76 sensitivite ve %100 spesifiteye sahiptir (199). Yine aynı çalışmada, BMK grubunda EGFR ekspresyonu sağkalımda azalma, metastaz ve invazyon potansiyeliyle ilişkili bulunmuştur. Tsutsui ve Klijn'in çalışmalarında EGFR 'nin prognostik önemi olduğu iddia edilmiştir (88,91). Literatürde EGFR pozitiflik oranı %14-91 oranında verilmektedir. İHK yöntemiyle EGFR pozitifliği daha düşük olarak saptanmaktadır. Ferrero ve arkadaşlarının çalışmasında EGFR seviyesi ile tümör çapı, grade, lenf nodu durumu arasında ilişki bulunamamış ama ÖR ile ters ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu sonuca göre de sınırlı prognostik önemi olduğu ifade edilmiştir (275). Rampaul ve arkadaşlarının çalışmasında da, EGFR pozitifliği %32 olarak saptanmış olup, prognostik önemi olmadığı sonucuna varılmıştır (276). ÖR(-) meme kanserli hastalarda EGFR pozitifliği Sainsbury'nin 89 hastalık çalışmasında %46 ve Putti ve arkadaşlarının 291 hastayı kapsayan serisinde %42 olarak verilmektedir. Putti'nin çalışmasında sağkalımla ilişkilendirilememekle birlikte, Sainsbury'nin çalışmasında yüksek düzeylerinin kötü prognoza katkıda bulunabileceği bildirilmektedir (92).

Çalışmamızda tüm hastaların %50'sinde (15 hasta) EGFR immünohistokimyasal olarak pozitif bulunmuştur. Meme kanserinde prognostik önem taşıyan

parametrelerin hiçbirisi ile anlamlı ilişki göstermemiştir. Ayrıca HS ile de ilişkisi bulunamamıştır.

Meme kanserinde CK5,CK14 ve CK17 eksprese eden tümör hücrelerinin kötü prognoza sahip olduğu ve/veya erken rekürrensle ilişkili olduğuna dair olarak literatürde bildirilen ilk çalışma 1987'de Dairkee ve arkadaşlarının çalışmasıdır (176). Sonraki çalışmalar bu veriyi desteklemiştir (147, 177-183). Korsching ve arkadaşları ayrıca CK5/6 pozitif tümörlerin ÖR(-) ve PR(-) özellik gösterdiği ve klinik olarak bunların HER2+ tümörlerden farklı bir grup olduğunu saptamışlardır. Ayrıca bu grubun p53, epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) ve proliferatif indeks eksprese ettiklerini saptadılar (184). Yapılan bazı çalışmalar CK5/6 ve CK17'nin pozitifliğinin nod negatiflerde tümör boyutu, grad ve ÖR ve HER2'den bağımsız prediktif faktör olduğu iddia edilmektedir (179,185). İlk kez 1960'larda Wellings ve Roberts Sarkar Kallenbach, Murad Scarpelli yapısal olarak myoepitelyal fenotip özellik gösteren bazaloid alt grubu tanımlamışlardır (186-188). BMK tanısı için hangi sitokeratinlerin kullanılması gerektiği konusunda tam bir konsensus bulunmamaktadır. CK5/6, CK14, CK17 veya EGFR pozitifliğinin tanısal yaklaşımda önemini savunan veriler bulunmaktadır (178,179, 190-198). Temel kriter olarak CK5/6 ve/veya EGFR'nin pozitifliğinin gerekliliği bir çok yazar tarafından önerilmektedir (199-203). İHK çalışmalarda literatürde farklı skorlama sistemleri bulunmaktadır. BMK tanısı için yaygın olarak kullanılan skorlama hiç boyanmanın görülmemesi negatif (0), \leq 20 pozitif tümör hücresinde boyanma saptanması zayıf pozitif (1+), $>$ 20 hücrede boyanma görülmesi ise pozitif olmak üzere 3'lü skorlama sistemidir (199,249). BMK HER2'de olduğu gibi henüz kesinleşmiş bir İHK boyama paterni ile ilgili öneri bulunmamaktadır. Çalışmamızda CK5/6 veya EGFR pozitifliği %70 (21 hasta) olarak saptandı. CK14 pozitifliği de %70 (21 hasta) olarak bulunmakla beraber, BMK subgrubunda (CK5/6 veya EGFR pozitif) aynı zamanda CK14 pozitiflik oranı %67 (14 hasta) olarak hesaplandı. CK17 için pozitif hasta sayısı 15 (%71.4) iken, bazaloid grupta CK17 pozitifliği %57.1 (12 hasta) idi. CK5/6 veya EGFR'nin pozitifliği ile CK14 veya CK17 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı. Buna göre çalışmamızda triplet negatif hastalarda genel olarak BMK için temel kabul edilen

EGFR veya CK5/6 pozitifliği literatüre yakın oranda bulunurken, CK14 pozitifliği ise bunlara paralel seyir göstermiştir.

BMK, daha genç hastalarda görülmekte ve daha agresif seyretmektedir. Fulford ve arkadaşlarının çalışmasında yaş ortalaması kontrol grubunda 53.9 iken bazaloid grupta 49.9 olarak saptanmıştır (189). Bizim çalışmamızda ise BMK subgrubunda (CK5/6 ve/veya EGFR pozitif) yaş ortanca değeri 51 yıl (sınırlar, 23-76) iken, non-bazal grupta 45 yıl (sınırlar 36-62) olarak bulundu. İki grup için istatistiksel açıdan fark saptanmadı. Hastalarımızdan BMK dışında kalan hasta sayısının oldukça az oluşu böyle bir karşılaştırma için uygun olmayabilir.

Van de Rijn ve arkadaşlarının çalışmasında sitokeratin 5/6 ve/veya 17 pozitifliği nod negatiflerde prognostik önem taşıırken, Nielsen ve arkadaşlarının çalışmasında nod pozitiflerde prognostik önemi olduğu vurgulanmıştır (179,199). Fulford ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, bazaloid subgrubunda CK14 pozitifliği daha az karaciğer ve kemik metastazı ile ilişkili bulunurken daha fazla beyin metastazı ile ilişkili bulunmuştur. Metastazı olmayan hastalarda hastaliksız sağkalım CK14 pozitiflerde daha iyi bulunurken, metastazı olan hastalarda hastaliksız sağkalım CK14 pozitifliği olanlarda daha anlamlı olarak daha kötü bulunmuştur. Çalışmamızda, nüks gelişen 14 hastadan 9'unda (%64) EGFR veya CK5/6 pozitifliği, 12'sinde (%86) CK14, 7'sinde (%50) CK17 ve 7'sinde (%50) survivin pozitifliği saptandı. Dört hastada tüm markırlar pozitif. Hastaliksız sağkalım ile CK5/6 veya EGFR, CK14, CK17 ve survivin arasında Cox regresyon analizinde istatistiksel olarak ilişki saptanmadı. Fakat CK5/6, EGFR veya CK14 pozitifliği meme kanseri hastalarında daha fazla nüks görülmeye meyilli idi.

Hücrenin bölünmesi ve apoptozisin inhibisyonundan sorumlu olan survivin apoptozis inhibitörü ailesine mensup bir hücre içi proteindir(103-105). Survivin en fazla ÖR(-), PR(-) veya HER2 pozitif tümörlerde boyandığı bildirilmektedir. Survivin meme kanserinde %60-72 oranında eksprese edilmektedir (144). Fazla eksprese edildiği hücrelerde, hücrelerin apoptozis başlatıcılarına karşı yanıtız kaldığı ve böylece sitotoksik tedaviye daha dirençli olduğu iddia edilmiştir (150). Survivin hem nükleer hem de sitoplazmik olarak eksprese edilir. Nükleer ekspresyonun iyi, sitoplazmik ekspresyonun ise kötü prognozla ilişkili olduğunu

gösteren veriler mevcuttur (123, 140-143). Survivin için, Tanaka ve arkadaşlarının kullandığı 5'li skorlama sistemini göre; <%5'in altında tümör hücresi negatif(0), %5-25 arası zayıf pozitif (1+), %25-50 arası orta dereceli boyanma (2+), %50-75 arası pozitif-yoğun (3+), >%75 pozitif-yoğun (4+) olarak gruplandırılmıştır (141). Shon ve arkadaşlarının belirttiği 4'lü skalada, < %10'un altında pozitif tümör hücresi negatif (0), %10-20 arası 1+, %21-50 arası 2+ ve %51-100 arası 3+ olarak değerlendirilmiştir (261). Survivinle ilgili İHK çalışmalarında daha yeni bir skorlama sistemi olan Shon ve arkadaşlarının skorlama sistemi kullanılmıştır. Çalışmamızda, her büyük büyütme sahasında hastaların klinik bilgilerinden haberdar olmayan iki patolog tarafından 100 tümör hücresi sayılmış ve pozitif olan hücre sayısı kaydedilmiştir. Buna göre 20 ve daha fazla hücrede pozitif boyanma Survivin için pozitif (2+, 3+), 20 hücreden daha az boyanma ise negatif olarak değerlendirildi (0,1+). Malign hücrelerde daha fazla eksprese edilmekle beraber, benign lezyonlarda da nükleer survivinin salgılandığını gösterilmiştir. (144). Meme kanseriyle yapılan çalışmalarda da sitoplazmik boyanmanın kötü prognozla, nükleer boyanmanın da iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmektedir (140-141). Çalışmamızda survivin, preparatların hepsinde sitoplazmik olarak boyandı. Hastaların 10'unda (%33.3) survivin pozitifliği saptandı. On iki hastada negatif iken, 8 hastada (%27) zayıf pozitif (1+), 8 hastada (%27.0) ve 2 hastada (%6.0) pozitif (sırasıyla 2+ ve 3+) olarak bulundu. BMK grubunda ise pozitiflik oranı %42.8 (9 hasta) olarak bulundu. Buna göre triplet negatif hastalarımızda tüm meme kanseri hastaları için literatürde bildirildiğinden daha düşük bir oranda pozitiflik saptanmıştır. BMK grubunda ise bu oran biraz daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç BMK hastalarının KT duyarlılığının daha yüksek olması ile ilişkili olabilir.

Chu ve arkadaşları, primer meme kanseri tanısı konan 226 parafin örneği survivin ekspresyonu açısından değerlendirdiler. Yüksek histolojik grade, p53 ve HER2 pozitifliği ile ilişkili buldular, fakat tümör çapı, yaş, HR durumu ile ilişki saptamadılar. GS ve HS ile de ilişkisinin olmadığını, prediktif bir markır sayılamayacağını bildirdiler (277). Bir diğer çalışmada ise, Span ve arkadaşları kısa hastalısız sağkalımla survivin ekspresyonu arasında ilişki olduğunu ve prognostik markır olarak kullanılabileceğini savundular (278). Bir kaç çalışmada

HER2 durumuyla survivin ekspresyonu arasındaki ilişki incelenmiştir. HER2 pozitifliğiyle survivin ekspresyonu arasında pozitif ilişki olduğunu bildiren yayınların yanısıra ilişkisiz olduğunu bildiren veriler de mevcuttur (279, 280). EGFR ile survivin ekspresyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalardan biri de Asanuma ve arkadaşlarının çalışmasıdır. Bu çalışmada değerlendirilen 53 vakada, survivinin HER2 ve EGFR ile up-regüle edildiği, bunun da etoposid ile indüklenen apoptozise karşı direnç gelişimine yol açtığı bildirilmiştir (281). Apoptozis direnciyle ilişkilendirilen ama mekanizması netlik kazanmayan EGFR sinyalinde oluşan artış, survivinde de artışa eşlik etmektedir. Bunda sorumlu tutulan bir diğer faktör ise hipoksi aracılı faktör 1 α (HIF 1 α) olup, HIF 1 α geninde aktivasyonun survivin geninde aktivasyona neden olduğu iddia edilmektedir. HIF 1 α , survivin ve EGFR arasındaki mekanizma daha da netlik kazanınca, hedefe yönelik tedavi girişimlerinin daha etkili olacağı öngörülmektedir (282).

Çalışmamızda, survivin için tüm hastalar değerlendirildiğinde 10 hastada (%33) kuvvetli pozitiflik gözlenmiştir. Klinik, histopatolojik ve immunhistokimyasal parametreler arasında ilişki gösterilememiştir. Survivin ekspresyonu bazaloid meme kanseri olduğu gösterilen grupta, tüm hastalardan daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla %42.8 ve %33.3). Ayrıca bazaloid gruptaki premenapozal hastalardaki survivin ekspresyonu triplet negatif premenapozal meme kanseri hastalarına göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Bu bulgular, alt gruplarda prognoz ve tedaviye direnç gibi özelliklerin belirlenmesinde önemli olabilir. Bunların daha net şekilde ortaya konabilmesi için daha fazla hasta sayısı ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Hastalısız sağkalımla da istatistiksel ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda, EGFR pozitifliği literatürle uyumlu olarak %50 oranında bulunmuştur. EGFR pozitifliği olan hastaların %23.3'ünde survivin pozitifliği saptanmıştır. Bu bulgu EGFR pozitifliği ile beraber survivin pozitifliğinin de paralel seyredeceği yönündeki literatür bilgisini desteklemektedir (282).

Günümüzde, bazaloid meme kanserinin İHK yöntemle tam olarak tesbit edilip edilemeyeceği tartışılmaktadır. Triplet negatif özellik gösteren ve bazaloid

markır pozitifliği göstermeyen hastaların ligand bağlama yöntemiyle HR(+) ve CK18 (+) olabildiği ve bu hastaların bir kısmının genetik profilde luminal B özellik gösterdiği bildirilmektedir. Bidard ve arkadaşlarının çalışmasında, triplet negatiflerin %66'sı bazaloid markır pozitifliği gösterirken, %34'ü göstermemiş ve non-bazal grup olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada 143 triplet negatif hasta değerlendirilmiş, hastalısız sağkalım ve genel sağkalım açısından bazal ve non-bazal gruplar arasında fark gösterilememiştir (283). Nielsen ve arkadaşlarının çalışmasında da, triplet negatif olup bazaloid markır pozitifliği göstermeyen grubun, luminal gruba ait ve zayıf HR pozitif olabileceği, başka bazal markır eksprese ettiği veya teknik sorunların buna neden olabileceği vurgulanmaktadır (199). Çalışmamızda da bu literatür bilgisine yakın şekilde hastalardan %30'unda BMK immunhistokimyasal belirteçleri negatif bulunmuştur. Triplet negatif hastaların İHK ile korelasyonu bizim çalışmamıza göre, meme kanserinin bu alt grubunda, biyolojik davranışı ve hastalık prognozunu belirlemede önem taşımamaktadır. Sonuç olarak çalışmamızda büyük çoğunluğu adjuvan tedavi almış meme kanseri hastalarında BMK ile histopatolojik korelasyonun yapılması prognoz açısından anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. Bunun yanında postmenapozal triplet negatif hastalarda BMK belirteçlerin daha yüksek oranda gösterilmesi premenapozal BMK hastalarında survivin ekspresyonunun daha yüksek oranda bulunması prognostik ve prediktif bir önem taşıyabilir. Bu bulguların daha kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi tedavi seçimi ve prognoz açısından önem taşıyabilir. Triplet negatif veya BMK hastalarında survivin ekspresyonunun prognostik önemi çalışmamızda gösterilememiştir.

6-SONUÇLAR

- 1- Mikroarrey teknolojisi ile ortaya çıkarılan ve kötü biyolojik davranış özellikleri sergileyen BMK genellikle triplet negatif histopatolojik özellik göstermektedir. Bu grubun histopatolojik belirteçler ile korelasyonu çalışmamızda prognostik ve klinik parametreler açısından anlamlı bir farklılık ortaya çıkarmamıştır.
- 2- Triplet negatif hastalarda BMK belirteçleri literatürle belirtilen oranlara yakın şekilde pozitif bulunmuştur.
- 3- Triplet negatif hastalarda grade 3 hasta oranı literatürden düşük bulunmuş olup, bu durum değerlendirme kriterlerinin subjektif olmasıyla ilişkili olabilir.
- 4- Premenapozal triplet negatif hastalarda postmenapozal hastalara göre BMK belirteçlerinin daha az oranda pozitiflik göstermesi prognostik ve prediktif önem taşıyabilir. Bu bulgunun daha büyük çalışmalarla desteklenmesi gereklidir.
- 5- CK5/6 pozitifliğiyle klinik ve histopatolojik parametrelerden lenf nodu tutulumuyla anlamlı ilişki saptanmıştır. Nüks gelişen hastalarda BMK belirteci olan CK5/6 ve EGFR ile CK14 oranları daha yüksek oranda pozitif bulunmuştur. Bu bulgular BMK alt grubunun kötü prognostik özellikler taşıdığını ve agresif seyreden bir grup olduğunu desteklemektedir.
- 6- Çalışmamızda triplet negatif meme kanserinde non-bazal özellik gösteren hastaların oranı %30 olarak literatürle uyumlu bulunmuştur. Literatür çalışmaları da bazal ve nonbazal özellik gösteren triplet negatif meme kanseri hastalarında sağkalım açısından fark olmadığını bildirmektedir. Çalışmamızda sadece 9 hasta ex olduğu için genel sağkalım analizi yapılmamıştır. Ancak, hastalısız sağkalım açısından bazaloid markırların bir etkisi olmadığı saptanmıştır.
- 7- Premenapozal BMK kabul edilen hastalarda survivin ekspresyonunun triplet negatif premenapozal hastalara göre daha yüksek oranda bulunması tedaviye direnç açısından prognostik öneme sahip olabilir.
- 8- EGFR pozitifliğinin survivin ekspresyonu ile ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmamızda EGFR oranı %50, EGFR ile survivin pozitifliği ise %23.3 olarak saptanmıştır. Literatürde meme kanserinde EGFR oranı %14-91 iken

BMK hastalarında bu oran %50-64 olarak verilmektedir. Bulgularımız literatürle uyumlu olup, survivin ile EGFR pozitifliğinin birlikte görüldüğüne dair literatür bilgisi çalışmamızda desteklenmemiştir.

- 9- Triplet negatif ve BMK hastalarında survivin prognostik önemi çalışmamızda gösterilememiştir. Çalışmamızda, survivin BMK hastalarında tüm meme kanseri hastalarına göre biraz daha yüksek oranda eksprese edildiği saptanmıştır. Buna rağmen ekspresyon oranı literatüre göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum ilaç duyarlılığıyla ilişkili olabilir. Prediktif önemini gösterebilmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.
- 10- Çalışmamızda meme kanseri aile hikayesinin her ne kadar genetik çalışma yapılmassa da tüm meme kanseri popülasyonuna göre yüksek olması triplet negatif meme kanseri ve BRCA-1 mutasyonu arasındaki ilişkiyi desteklemektedir.
- 11- Çalışmamızda BMK için öngörülen CK5/6 veya EGFR pozitifliği ile CK14 pozitifliği paralellik göstermektedir. Bu durum BMK'nin ortaya konmasında CK14'ün belirteç olarak kullanılabilirliğini desteklemektedir.

7-KAYNAKLAR

- 1- J. Ferlay, P. Autier, M. Boniol, M. Heanue, M. Colombet, P. Boyle. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007;18: 581–592.
- 2- Ahmedin J, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57;43-66.
- 3-Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER) SEER Stat Database: Mortality—All COD, Public-Use With State, Total U.S. for Expanded Races/Hispanics (1990-2001). National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, Cancer Statistics Branch, released April 2004. <http://www.seer.cancer.gov>.
- 4- Ahmedin J, Ram C, Taylor M, et al. Cancer Statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004;54:8-29.
- 5-Tannock IF, Hill RP (eds). *The basic science of Oncology* (2nd ed). Mc Graw-Hill, New York 1992.
- 6- Couch FJ, DeShano ML, Blackwood MA et al. BRCA1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1997;336:1409–1415.
- 7- Berry DA, Parmigiani G, Sanchez J et al. Probability of carrying a mutation of breast-ovarian cancer gene BRCA1 based on family history. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:227–238.
- 8- King MC, Marks JH, Mandell JB. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003;302:643– 646.
- 9- Pike M, Bernstein L, Spicer D. Exogenous hormones and breast cancer risk. In: Neiderhuber J (Ed). *Current therapy in oncology*. St. Louis, Decker 1993.
- 10- Topuz E, Aydiner A, Dinçer M. Meme Kanseri. In: Darendeliler E, Ağaoğlu FY(eds). *Meme kanserinin epidemiyolojisi ve etyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2003, pp. 13-29.
- 11- Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B, et al. The pathology of invasive breast cancer. A syllabus derived from findings of the National Surgical Adjuvant Breast Project. *Cancer*1975;36(1):182-5.

12-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* 1983; 52(9):1551-7.

13-Mittra I, Mac Rae KD. A metaanalysis of reported correlations between prognostic factors in breast cancer: does axillary lymph node metastasis represent biology or chronology? *Eur J Cancer* 1991;27(12):1574-83.

14- Koscielny S, Tubiana M, Lê MG, et al. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumour and the probability of metastatic dissemination. *Br J Cancer* 1984;49(6): 709-15.

15- Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957;11(3): 359-77.

16-Fisher ER, Redmond C, Fisher B. Histologic grading of breast cancer. *Pathol Annu.* 1980;15: 239-51.

17- Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology* 1991;19: 403-410.

18- Volpi A, Bacci F, Paradiso A, et al. Prognostic relevance of histological grade and its components in node-negative breast cancer patients. *Mod Pathol* 2004;17:1038-44.

19-Pereira H, Pinder SE, Sibbering DM, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. IV: Should you be a typer or a grader? A comparative study of two histological prognostic features in operable breast carcinoma. *Histopathology* 1995 Sep;27(3): 219-26.

20- Fisher B, Fisher ER, Redmond C, et al. Tumor nuclear grade, estrogen receptor, and progesterone receptor: their value alone or in combination as indicators of outcome following adjuvant therapy for breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 1986; 7(3): 147-160.

21-Davis BW, Gelber RD, Goldhirsch A, et al. Prognostic significance of tumor grade in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis. *Cancer* 1986; 58(12): 2662-2670.

- 22- Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol* 1994;12(5): 888-94.
- 23- Albain KS, Alfred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr* 1994;16):35-42.
- 24- Elledge RM, Clark GM, Chamness GC, Osborne CK. Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white, Hispanic, and black women in the United States. *J Natl Cancer Inst.* 1994; 86(9):705-12.
- 25- Topuz E, Aydın A, Dinçer M. Meme kanseri. In: Bıvbek S (eds), *Meme Kanserinde prognostik faktörler*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2003, pp.72-89.
- 26- Knight WA, Livingston RB, Gregory EJ, McGuire WL. Estrogen receptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. *Cancer Res.* 1977 ;37(12):4669-71.
- 27- Schnitt SJ, Guidi AJ. Pathology and biological markers of invasive breast cancer. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. *Diseases of the breast (2nd ed)* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia; 2000, pp. 425-70.
- 28- Klintenberg C, Stål O, Nordenskjöld B, et al. Proliferative index, cytosol estrogen receptor and axillary node status as prognostic predictors in human mammary carcinoma. *Breast Cancer Res Treat.* 1986;7 Suppl:S99-106.
- 29- Mansour EG, Ravdin PM, Dressler L. Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer.* 1994;74(1 Suppl): 381-400.
- 30- Robertson JF, Bates K, Pearson D, Blamey RW, Nicholson RI. Comparison of two oestrogen receptor assays in the prediction of the clinical course of patients with advanced breast cancer. *Br J Cancer.* 1992; 65(5):727-30.
- 31- Ravdin PM, Green S, Dorr TM, et al. Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1992;10(8): 1284-91
- 32- Grann VR, Troxel AB, Zojwalla NJ, Jacobson JS, Hershman D, Neugut AI. Hormone receptor status and survival in a population-based cohort of patients with breast carcinoma. *Cancer* 2005, 103: 2241-2251.

- 33- Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA
GL Greene, P Gilna, M Waterfield, A Baker, Y Hort, and J Shine. *Science* 1986;231(4742): 1150-1154.
- 34- Mauri FA, Maisonneuve P, Caffo O, et al. Prognostic value of estrogen receptor status can be improved by combined evaluation of p53, Bcl2 and PgR expression: an immunohistochemical study on breast carcinoma with long-term follow-up. *Int J Oncol.* 1999;15(6): 1137-47.
- 35- McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 1992;326(26):1756-61.
- 36- Clahsen PC, van de Velde CJ, Duval C, et al. The utility of mitotic index, oestrogen receptor and Ki-67 measurements in the creation of novel prognostic indices for node-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol.* 1999;25(4): 356-63.
- 37- Clark GM, Osborne CK, McGuire WL. Correlations between estrogen receptor, progesterone receptor, and patient characteristics in human breast cancer. *J Clin Oncol* 1984;1:1102-1109.
- 38- Hilsenbeck SG, Ravdin PM, de Moor CA, Chamness GC, Osborne CK, Clark GM. Breast Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer. *Cancer Res Treat.* 1998;52(1-3):227-37.
- 39- Osborne CK. Steroid hormone receptors in breast cancer management. *Breast Cancer Res Treat* 1998;51(3):227-38.
- 40- JR Harris, M Morrow, L Norton. Malignant tumours of the breast cancer. In: De vita, Hellman S, Rosenberg SA(eds). *Cancer. Principles & Practice of Oncology* (5th ed), Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997, pp.1557-1616.
- 41- Ravdin PM, Green S, Dorr TM, et al. Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 1992;10(8):1284-91.
- 42- Elledge RM, Green S, Pugh R, et al. Estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PgR), by ligand-binding assay compared with ER, PgR and pS2, by immuno-histochemistry in predicting response to tamoxifen in metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group Study. *Int J Cancer.* 2000;89(2):111-7.

- 43- Dhodapkar MV, Ingle JN, Cha SS, Mailliard JA, Wieand HS. Prognostic factors in elderly women with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: an analysis of patients entered on four prospective clinical trials. *Cancer*. 1996;77(4):683-90.
- 44- de Bono JS, Rowinsky EK. The ErbB receptor family: a therapeutic target for cancer. *Trends Mol Med* 2002;8(4):19-26.
- 45- Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2(2):127-37.
- 46- Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 2001;37(4):3-8.
- 47- Carolyn I Sartor. Mechanisms of Disease: radiosensitization by epidermal growth factor receptor inhibitors. *Nat Clin Pract Oncol* 2004; 1: 80-87.
- 48-Brennan PJ, Kumagi T, Berezov A, et al. HER2/Neu: mechanisms of dimerization/oligomerization. *Oncogene* 2000; 19: 6093-6101.
- 49-Torregrosa D, Bolufer P, Luch A, et al. Prognostic significance of cerbB2/neu amplification and epidermal growth factor receptor (EGFR) in primary breast cancer and their relation to estradiol receptor (ER) status. *Clin Chim Acta* 1997; 262: 99-119.
- 50- Hung MC, Lau YK. Basic science of HER-2/neu: a review. *Sem Oncol* 1999;4:51-59.
- 51- Klapper LN, Glathe S, Vaisman L, et al. The erbB2/HER-2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared coreceptor for multiple stroma derived growth factors. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96:4995-5000.
- 52- Wang LM, Kuo A, Alimandi M, et al. ErbB2 expression increases the spectrum and potency of ligand-mediated signal transduction through ErbB4. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:6809-6814.
- 53- Yi ES, Harclerode D, Gono M, et al. High c-erbB3 protein expression is associated with shorter survival in advanced non-small cell lung carcinomas. *Mol Pathol* 1997;10:142-148.
- 54- Prenzel N, Fisher OM, Streit S, et al. The epidermal growth factor family as a central element for cellular signal transduction and diversification. *Endocr Relat Cancer* 2001;8:11-31.

- 55- Niadu R, Yadav M, Nair S, et al. Expression of cerbb2 protein in primary breast carcinomas. *Br J Cancer* 1998;78:1386-1390.
- 56- Velu TJ, Beguinot L, Vass WC, et al. Epidermal growth factor dependent transformation by human EGF-receptor-*proto-oncogene*. *Science* 1987;238:1408-1410.
- 57- Rowinsky EK, Windle JJ, Von Hoff DD. Ras protein farnesyltransferase: a strategic target for anticancer therapeutic development. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3631–3652.
- 58- Nicholson RI, Mc Clelland RA, Robertson JF et al. Involvement of steroid hormone and growth factor cross-talk in endocrine response in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 1999; 3: 373–387.
- 59- Stephen RDJ, Lu B, Scott GK, et al. Increased activator protein-1 DNA binding and c-Jun NH2-terminal kinase activity in human breast tumors with acquired tamoxifen resistance. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 251–256.
- 60-Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(7):489-501.
- 61- Ciocca DR, Fujimura FK, Tandon AK, et al. Correlation of HER-2/*neu* amplification with expression and with other prognostic factors in 1103 breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1992 ;84(16):1279-82.
- 62- Downward J. Mechanisms and consequences of activation of protein kinase B/Akt. *Curr Opin Cell Biol* 1998 ;10(2):262-7.
- 63- Cantley LC. The Phosphoinositide 3-Kinase Pathway . *Science* 2002; 296: 1655-1657.
- 64- Michael John Fry Phosphoinositide 3-kinase signalling in breast cancer: how big a role might it play? *Breast Cancer Res* 2001; 3:304-312.
- 65- Mills GB, Lu Y, Fang X, Wang H, et al. The role of genetic abnormalities of PTEN and the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in breast and ovarian tumorigenesis, prognosis, and therapy. *Semin Oncol*. 2001;28(5 Suppl 16):125-41.
- 66-Nakatani K, Thompson DA, Barthel A, et al. Up-regulation of Akt3 in estrogen receptor-deficient breast cancers and androgen-independent prostate cancer lines. *J Biol Chem* 1999 ;274(31):21528-32.

- 67- Bellacosa A, de Feo D, Godwin AK, et al. Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas. *Int J Cancer* 1995 ;64(4):280-5.
- 68- Rommel C, Clarke BA, Zimmermann S, et al. Differentiation stage-specific inhibition of the Raf-MEK-ERK pathway by Akt. *Science* 1999;286:1738-41.
- 69-Vazquez F, Sellers WR. The PTEN tumor suppressor protein: an antagonist of phosphoinositide 3-kinase signaling. *Biochim Biophys Acta* 2000 ;1470(1):21-35.
- 70- Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(8):4240-5.
- 71- Starink TM, van der Veen JP, Arwert F, et al. The Cowden syndrome: a clinical and genetic study in 21 patients. *Clin Genet.* 1986;29(3):222-33.
- 72- Lui VW, Grandis JR. EGFR-mediated cell cycle regulation. *Anticancer Res* 2002 ;22:1-11.
- 73-Patterson RL, van Rossum DB, Nikolaidis N, Gill DL, Snyder SH. Phospholipase C-: diverse roles in receptor-mediated calcium signaling. *Trends Biochem Sci* 2005;30:688–97.
- 74-Chattoopadhyay A, Vecchi M, Ji Q, Mernaugh R, Carpenter G. The role of individual SH2 domains in mediating association of phospholipase C-1 with the activated EGF receptor. *J Biol Chem* 1999;274:26091–7
- 75-Schonwasser DC, Marais RM, Marshall CJ, Parker PJ. Activation of the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase pathway by conventional, novel, and atypical protein kinase C isotypes. *Mol Cell Biol* 1998;18:790–8.
- 76-McClellan M, Kievit P, Auersperg N, Rodland K. Regulation of proliferation and apoptosis by epidermal growth factor and protein kinase C in human ovarian surface epithelial cells. *Exp Cell Res* 1999;246:471–9.
- 77- Ihle, J. N. Cytokine receptor signaling. *Nature (Lond.)* 1995; 377: 591– 594.
- 78- Ramana, C. V., Chatterjee-Kishore, M., Nguyen, H., and Stark, G. R. Complex roles of Stat1 in regulating gene expression. *Oncogene* 2000;19: 2619–2627.
- 79-Garcia, R., and Jove, R. Activation of STAT transcription factors in oncogenic tyrosine kinase signaling. *J Biomed Sci* 1998;5: 79–85.

- 80- Catlett-Falcone, R., Dalton, W. S., and Jove, R. STAT proteins as novel targets for cancer therapy. *Signal transducer and activator of transcription. Curr Opin Oncol* 1999;11: 490–496.
- 81- Bowman, T., Garcia, R., Turkson, J., and Jove, R. STATs in oncogenesis. *Oncogene* 2000;19: 2474–2488.
- 82- Bromberg J. Signal transducers and activators of transcription as regulators of growth, apoptosis and breast development. *Breast Cancer Res* 2000;2(2):86-90.
- 83-Hirata A, Ogawa S, Kometani T, et al. ZD1839 (Iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 2002 ;62(9):2554-60.
- 84-Baselga J. New technologies in epidermal growth factor receptor-targeted cancer therapy. *Signal* 2000;1:12-21.
- 85-Wells A. The epidermal growth factor receptor (EGFR)—a new target in cancer therapy. *Signal* 2000;1:4-11.
- 86- Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999;82:241-250.
- 87-Raymond E, Faivre S, Armand JP. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase as a target for anticancer therapy. *Drugs* 2000;60(1):15-23.
- 88- Klijn JG, Berns PM, Schmitz PI, Foekens JA. The clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 patients. *Endocr Rev* 1992;13, 3-17.
- 89- Klijn JG, Look MP, Portengen H, Alexieva-Figusch J, van Putten WL, Foekens JA. The prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in primary breast cancer: results of a 10 year follow-up study. *Breast Cancer Res Treat* 1994 ;29(1):73-83.
- 90- Walker RA, Dearing SJ. Expression of epidermal growth factor receptor mRNA and protein in primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 1999;53(2):167-76.
- 91- Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, Hachitanda Y, Oda S. Prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGFR) and its relationship to the estrogen receptor status in 1029 patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2002 ;71(1):67-75.

- 92- Sainsbury J R, Malcolm A J, Appleton D R, Farndon J R, Harris A L. Presence of epidermal growth factor receptor as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. *J Clin Pathol* 1985;38(11):1225-8.
- 93-Bevilacqua P, Gasparini G, Dal Fior S, Corradi G. Immunocytochemical determination of epidermal growth factor receptor with monoclonal EGFR1 antibody in primary breast cancer patients. *Oncology*. 1990;47(4):313-7.
- 94-Nicholson RI, McClelland RA, Gee JM et al. Epidermal growth factor receptor expression in breast cancer: association with response to endocrine therapy. *Breast Cancer Res Treat* 1994; 29: 117–125
- 95-Harris AL, Nicholson S, Sainsbury R et al. Epidermal growth factor receptor and other oncogenes as prognostic markers. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1992; 11: 181–187.
- 96-Pietras RJ, Arboleda J, Reese DM et al. HER-2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promotes hormone-independent growth in human breast cancer cells. *Oncogene* 1995; 10: 2435–2446.
- 97- Yarden RI, Wilson MA, Chrysogelos SA. Estrogen suppression of EGFR expression in breast cancer cells: a possible mechanism to modulate growth. *J Cell Biochem* 2001; 81 (S36): 232–246.
- 98- Yarden RI, Lauber AH, El-Ashry D et al. Bimodal regulation of epidermal growth factor receptor by estrogen in breast cancer cells. *Endocrinology* 1996; 137: 2739–2747.
- 99- Duckett CS, Nava VE, Gedrich RW, et al. A conserved family of cellular genes related to the baculovirus iap gene and encoding apoptosis inhibitors. *EMBO J* 1996;14:2685–2694
- 100- Clem RJ, Miller LK. Control of programmed cell death by the baculovirus genes p35 and iap. *Mol Biol Cell* 1994;14:5212–5222
- 101- Hay BA, Wassarman DA, Rubin GM .Drosophila homologs of baculovirus inhibitor of apoptosis proteins function to block cell death. *Cell* 1995;83:1253–1262
- 102- Takahashi R, Deveraux QL, Tamm I, et al.A single BIR domain of XIAP sufficient for inhibiting caspases. *J Biol Chem* 1998;273:7787–7790

- 103- Ambrosini G, Adida C, Altieri D. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997;3: 917–921.
- 104- Altieri DC. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 2001; 7:542-7.
- 105- Verdecia MA, Huang H, Dutil E, Kaiser DA, Hunter T, Noel JP. Structure of the human anti-apoptotic protein survivin reveals a dimeric arrangement. *Nat Struct Biol* 2002;7: 620–3.
- 106- Li F, Ambrosini G, Chu EY, et al. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 1998; 396:580–584.
- 107- Tarnawski AS, Szabo I: Apoptosis-programmed cell death and its relevance to gastrointestinal epithelium: survival signal from the matrix. *Gastroenterology*, 2001;120:294-298
- 108- Adida C, Crotty PL, McGrath J, et al. Developmentally regulated expression of the novel cancer anti-apoptosis gene survivin in human and mouse differentiation. *Am J Pathol* 1998; 152: 43–49.
- 109-Lu C, Altieri D, Tanigawa N. Expression of a novel anti-apoptosis gene, survivin, correlated with tumor cell apoptosis and p53 accumulation in gastric carcinomas. *Cancer Res.* 1998; 58:1808–1812.
- 110-Gianani R, Jarboe EA, Orlicky D, et al. Expression of survivin in normal, hyperplastic and neoplastic colonic mucosa. *Hum Pathol.* 2001;32:119– 125.
- 111-Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD, et al. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58: 5071–5074.
- 112- Kato J, Kuwabara Y, Mitani M, et al. Expression of survivin in esophageal cancer: correlation with the prognosis and response to chemotherapy. *Int J Cancer.* 2001;95:92–95.
- 114-Lehner R, Lucia MS, Jarboe EA, et al. Immunohistochemical localization of the IAP protein survivin in bladder mucosa and transitional cell carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2002; 10:134–138.
- 115-Monzo M, Rosell R, Felip E, et al. A novel anti-apoptosis gene: reexpression of survivin messenger RNA as a prognosis marker in nonsmall cell lung cancers. *J Clin Oncol.* 1999;17:2100–2104.

- 116- Frost M, Jarboe EA, Orlicky D, et al. Immunohistochemical localization of survivin in benign cervical mucosa, cervical dysplasia and invasive squamous cell carcinoma. *Anat Pathol*. 2002;117:738–744.
- 117- Lehner R, Bobak J, Kim NW, et al. Localization of telomerase HTERT protein and survivin in placenta: correlation with placental development and hydatidiform molar pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2001;97:965–970.
- 118- Lehner R, Enomoto T, McGregor JA, et al. Correlation of survivin mRNA detection with histologic diagnosis in normal endometrium and endometrial carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2002;81:162–167.
- 119- Adida C, Haioun C, Gaulard P, et al. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*. 2000;96:1921–1925.
- 120- Kamihara S, Yamada Y, Hirakata Y, et al. Aberrant expression of caspase cascade regulatory genes in adult T-cell leukemia: survivin is an important determinant for prognosis. *Br J Haematol* 2001;114:63–69.
- 121- Adida C, Berrebi D, Peuchmaur M, et al. Anti-apoptosis gene, survivin, and prognosis of neuroblastoma. *Lancet* 1998;351:882–883.
- 122- Kleinshmidt–DeMasters BK, Heinz D, McCarthy PJ, et al. Survivin in glioblastomas: protein and messenger RNA expression and comparison with telomerase levels. *Arch Pathol Lab Med*. 2003;127:826–833.
- 123- Treib K, Lehner R, Stulnig T, et al. Survivin expression in human osteosarcoma is a marker for survival. *Eur J Surg Oncol* 2003;29:379–382.
- 124- Zhang SQ, Qiang SY, Yang WB, Jiang JT, Ji ZZ. Expression of survivin in different stages of carcinogenesis and progression of breast cancer. *Ai Zheng* 2004; 23:697-700.
- 125- Tao J, Shulan Z, Bei L, Changqing Z. The role of survivin gene in the chemoresistance of ovarian cancer cell. *Singapore J Obst Gynaecol* 2004; 35:40-7.
- 126- Lo Muzio L, Pannone G, Staibano S, et al. Survivin expression in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2003; 89:2244-8.
- 127- Sugawara M, Matsuzuka F, Fukata S, et al. Excessive survivin expression in thyroid lymphomas. *Hum Pathol* 2002; 33:524-7.

- 128-. Dong Y, Sui L, Watanabe Y, Sugimoto K, Tokuda M. Survivin expression in laryngeal squamous cell carcinomas and its prognostic implications. *Anticancer Res* 2002; 22:2377-83.
- 129- Xia XY, Li LH, Li XC, Jang T. Expression and significance of survivin protein, PTEN in prostatic cancer. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2006;12:346-8, 351.
- 130- Grossman D, Kim PJ, Schechner JS, Altieri DC. Inhibition of melanoma tumor growth in vivo by survivin targeting *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Jan 16;98(2):635-40.
- 131- Altieri DC, Marchisio PC: Survivin apoptosis: an interloper between cell death and cell proliferation in cancer. *Lab Invest* 1999; 79: 1327-1333.
- 132- Gianani R, Jarboe E, Orlicky D et al: Expression of survivin in normal, hyperplastic, and neoplastic colonic mucosa. *Human Path* 2001; 32: 119-125
- 133- Shiozaki A, Kataoka K, Fujimura M et al: Survivin inhibits apoptosis in cytotrophoblasts. *Placenta* 2003; 24: 65-76.
- 134- Konno R, Yamakawa H, Utsunomiya H, Ito K, Sato S, Yajima A. Expression of survivin and Bcl-2 in the normal human endometrium. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 529–534.
- 135- Grossman D, MaNiff JM, Li F, Altieri DC: Expression of the apoptosis inhibitor, survivin, in nonmelanoma skin cancer and gene targeting in a keratinocyte cell line. *Lab Invest*, 1998; 79: 1121-1126.
- 136- Deguchi M, Shiraki K, Inoue H et al: Expression of survivin during liver regeneration. *Biochem Biophys Res Comm*, 2002; 297: 59-64.
- 137- Walsh K, Smith RC, Kim HS: Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res* 2000; 87: 184-188.
- 138- Toronyi E, Hemar J, Magyar K et al. Antiapoptotic effects of (–)-deprenyl in rat kidney after ischemia-perfusion. *Med Sci Monit* 2002; 8(2): BR65-68.
- 139- Peng Q, Buz'Zard A, Lau B. Neuroprotective effect of garlic compounds in amyloid- β peptide induced apoptosis in vitro. *Med Sci Monit*, 2002; 8(8): BR328-337.
- 140- Kennedy SM, O'Driscoll L, Purcell R, et al. Prognostic importance of survivin in breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88:1077-83.

- 141- Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, et al. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6:127-34.
- 142- Okada E, Murai Y, Matsui K, et al. Survivin expression in tumor cell nuclei is predictive of a favorable prognosis in gastric cancer patients. *Cancer Lett* 2001;163: 109–116
- 143- Ito T, Shiraki K, Sugimoto K, et al. Survivin promotes cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000; 31: 1080–1085.
- 144- Singh M, Bleile MJ, Shroyer AL, Heinz D, Jarboe EA, Shroyer KR. Analysis of survivin expression in a spectrum of benign to malignant lesions of the breast. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2004;12(4):296-304.
- 145- Span PN, Tjan-Heijnen VC, Heuvel JJ, de Kok JB, Foekens JA, Sweep FC. Do the survivin (BIRC5) splice variants modulate or add to the prognostic value of total survivin in breast cancer? *Clin Chem*. 2006 ;52(9):1693-700.
- 146- Frasor J, Danes JM, Komm B, Chang KC, Lyttle CR, Katzenellenbogen BS. Profiling of estrogen up- and down-regulated gene expression in human breast cancer cells: insights into gene networks and pathways underlying estrogenic control of proliferation and cell phenotype. *Endocrinology* 2003;144:4562–74.
- 147- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747–52.
- 148-Grubberger S, Ringner M, Chen Y, et al. Estrogen receptor status in breast cancer is associated with remarkably distinct gene expression patterns. *Cancer Res* 2001;61:5979–84.
- 149-Altieri DC. Validating survivin as a cancer therapeutic target. *Nat Rev Cancer* 2003;3:46–54.
- 150- Zaffaroni N, Daidone MG. Survivin expression and resistance to anticancer treatments: perspectives for new therapeutic interventions. *Drug Resist Updat* 2002;5:65–72.
- 151-Tran J, Master Z, Yu JL, Rak J, Dumont DJ, Kerbel RS. A role for survivin in chemoresistance of endothelial cells mediated by VEGF. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:4349–54.

- 152- Manders P, Sweep CGJ, Tjan-Heijnen VCG, et al. Vascular endothelial growth factor independently predicts the efficacy of postoperative radiotherapy in node-negative breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2003; 9:6363–70.
- 153-Manders P, Beex LVAM, Tjan-Heijnen VCG, Span PN, Sweep CGJ. Vascular endothelial growth factor is associated with the efficacy of endocrine therapy in patients with advanced breast carcinoma. *Cancer* 2003;98:2125–32.
154. Grabowski P, Kuhnel T, Muhr-Wilkenshoff F, Heine B, Stein H, Hopfner M, et al. Prognostic value of nuclear survivin expression in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2003;88: 115–9.
- 155-Martinez A, Bellosillo B, Bosch F, et al. Nuclear survivin expression in Mantle cell lymphoma is associated with cell proliferation and survival. *Am J Pathol* 2004;164: 501–10.
- 156- Span PN, Vivianne C.G. Tjan-Heijnen, et al. High survivin predicts a poor response to endocrine therapy, but a good response to chemotherapy in advanced breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* (2006) 98: 223–230
- 157- Pawlina MHRW. Female reproductive system. *Histology. A text and atlas.* (5th ed) LWW, Philadelphia 2006: 804-6.
- 158- Moll R, Franke WW, Schiller DL, et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31(1):11-24.
- 159-Dairkee SH, Blayney C, Smith HS, Hackett AJ. Monoclonal antibody that defines human myoepithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82(21):7409-13.
- 160-Moll R, Krepler R, Franke WW. Complex cytokeratin polypeptide patterns observed in certain human carcinomas. *Differentiation* 1983;23(3):256-69.
- 161-Gusterson BA, Warburton MJ, Mitchell D, Ellison M, Neville AM, Rudland PS: Distribution of myoepithelial cells and basement membrane proteins in the normal breast and in benign and malignant breast disease. *Cancer Res* 1982;42:4763-4770.
- 162- Gusterson BA, Monaghan P, Mahendran R, Ellis J, O'Hare MJ: Identification of myoepithelial cells in human and rat breasts by anti-common acute lymphoblastic leukaemia antigen antibody A12. *J Natl Cancer Inst* 1986;77:343-349

- 163- Popnikolov NK, Ayala AG, Graves K, Gatalica Z. Benign myoepithelial tumors of the breast have immunophenotypic characteristics similar to metaplastic matrix-producing and spindle cell carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2003;120:161–167.
- 164-Wetzels RH, Kuijpers HJ, Lane EB, Leigh IM, Troyanovsky SM, Holland R, et al. Basal cell-specific and hyperproliferation-related keratins in human breast cancer. *Am J Pathol* 1991;138:751–763.
- 165- Purkis PE, Steel JB, Mackenzie IC, Nathrath WB, Leigh IM, Lane EB. Antibody markers of basal cells in complex epithelia. *J Cell Sci* 1990;97:39–50.
- 166- Heatley M, Maxwell P, Whiteside C, Toner P. Cytokeratin intermediate filament expression in benign and malignant breast disease. *J Clin Pathol* 1995;48:26–32.
- 167- Stingl J, Eaves CJ, Zandieh I, Emerman JT. Characterization of bipotent mammary epithelial progenitor cells in normal adult human breast tissue. *Breast Cancer Res Treat* 2001;67:93–109.
- 168-Tavassoli F, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours. Tumours of the Breast and Female Genital Organs, Kleihues P, Sobin L (eds) IARC Press: Lyon, 2003; pp. 30–40.
- 169-Tamiolakis D, Papadopoulos N, Cheva A, Lambropoulou M, Kotini A, Jivannakis T, et al. Immunohistochemical expression of alpha-smooth muscle actin in infiltrating ductal carcinoma of the breast with productive fibrosis. *Eur J Gynaecol Oncol* 2002;23:469–471.
- 170-O’Hare MJ, Ormerod MG, Monaghan P, Lane EB, Gusterson BA: Characterization in vitro of luminal and myoepithelial cells isolated from the human mammary gland by cell sorting. *Differentiation* 1991; 46:209-221.
- 171- Jarasch ED, Nagle RB, Kaufmann M, Maurer C, Bocker WJ: Differential diagnosis of benign epithelial proliferations and carcinomas of the breast using antibodies to cytokeratins. *Hum Pathol* 1988; 19:276-289.
- 172- Nagle RB, Bocker W, Davis JR, et al. Characterization of breast carcinomas by two monoclonal antibodies distinguishing myoepithelial from luminal epithelial cells. *J Histochem Cytochem* 1986;34:869-881.

- 173- Wetzels RHW, Kuijpers HJH, Lane EB, et al. Basal cell specific and hyperproliferation-related keratins in human breast cancer. *Am J Pathol* 1991; 138:751-763.
- 174- Boecker W, Buerger H: Evidence of progenitor cells of glandular and myoepithelial cell lineages in the human adult female breast epithelium: a new progenitor (adult stem) cell concept. *Cell Prolif* 2003; 36:73-84.
- 175- Böcker W, Moll R, Poremba C, et al. Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. *Lab Invest* 2002; 82:737-745.
- 176- Dairkee SH, Mayall BH, Smith HS, Hackett AJ: Monoclonal marker that predicts early recurrence of breast cancer. *Lancet* 1987;1:514.
- 177- Ross DT, Perou CM: A comparison of gene expression signatures from breast tumors and breast tissue derived cell lines. *Dis Markers* 2001; 17:99-109.
- 178- Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004;203:661-671.
- 179- Van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R, et al. Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol* 2002;161:1991-1996.
- 180- Malzahn K, Mitze M, Thoenes M, Moll R. Biological and prognostic significance of stratified epithelial cytokeratins in infiltrating ductal breast carcinomas. *Virchows Arch* 1998; 433:119-129.
- 181- Nagle RB, Bocker W, Davis JR, et al. Characterization of breast carcinomas by two monoclonal antibodies distinguishing myoepithelial from luminal epithelial cells. *J Histochem Cytochem* 1986;34:869-881.
- 182- Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10869–74.
- 183- Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8418–23.

- 184- Korsching E, Packeisen J, Agelopoulos K, et al. Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis. *Lab Invest* 2002; 82:1525-1533.
- 185-Torsten ON, Forrest DH, Kristin J, et al. Immunohistochemical and Clinical Characterization of the Basal-Like Subtype of Invasive Breast Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10: 5367–5374.
- 186- Wellings SR, Roberts P. Electron microscopy of sclerosing adenosis and infiltrating duct carcinoma of the human mammary gland. *J Natl Cancer Inst* 1963;30:269-87.
- 187- Sarkar K, Kallenbach E. Myoepithelial cells in carcinoma of human breast. *Am J Pathol* 1966;49(2):301-7.
- 188- Murad TM, Scharpelli DG. The ultrastructure of medullary and scirrhous mammary duct carcinoma. *Am J Pathol* 1967;50(2):335-60.
- 189- Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K, et al. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res* 2007;9(1):R4.
- 190- Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM, et al. Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol* 2006;208(4):495-506.
- 191- Jones C, Nonni AV, Fulford L, et al. CGH analysis of ductal carcinoma of the breast with basaloid/myoepithelial cell differentiation. *Br J Cancer* 2001;85(3):422-7.
- 192- Bryan BB, Schnitt SJ, Collins LC. Ductal carcinoma in situ with basal-like phenotype: a possible precursor to invasive basal-like breast cancer. *Mod Pathol* 2006;19(5):617-21.
- 193- Paredes J, Lopes N, Milanezi F, et al P-cadherin and cytokeratin 5: useful adjunct markers to distinguish basal-like ductal carcinomas in situ. *Virchows Arch* 2006.
- 194- Hannemann J, Velds A, Halfwerk JB, et al. Classification of ductal carcinoma in situ by gene expression profiling. *Breast Cancer Res* 2006;8(5):R61.

- 195- Livasy CA, Perou CM, Karaca G, et al. Identification of a basal-like subtype of breast ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol* 2007;38(2):197-204.
- 196-Bergamaschi A, Kim YH, Wang P, et al. Distinct patterns of DNA copy number alteration are associated with different clinicopathological features and geneexpression subtypes of breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2006;45(11):1033-40.
- 197-Jones C, Ford E, Gillett C, et al. Molecular cytogenetic identification of subgroups of grade III invasive ductal breast carcinomas with different clinical outcomes. *Clin Cancer Res* 2004;10: 5988–97.
- 198- Fulford LG, Easton DF, Sofronis A, et al. Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinomas of the breast. *Pathol Int* 2004;54:A2–3.
- 199- Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5367–5374.
- 200- Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005; 23: 7350–7360.
- 201- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406(6797):747-52.
- 202- Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(19):10869-74.
- 203- Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(18):10393-8.
- 204- Fulford LG, Easton DF, Reis-Filho JS, et al. Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast. *Histopathology* 2006;49(1):22-34.
- 205- Reis-Filho JS, Milanezi F, Carvalho S, et al. Metaplastic breast carcinomas exhibit EGFR, but not HER2, gene amplification and overexpression:

immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization analysis. *Breast Cancer Res* 2005;7(6):R1028-35.

206- Reis-Filho JS, Milanezi F, Paredes J, et al. Novel and classic myoepithelial/stem cell markers in metaplastic carcinomas of the breast. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003;11(1):1-8.

207- Reis-Filho JS, Milanezi F, Steele D, et al. Metaplastic breast carcinomas are basal-like tumours. *Histopathology* 2006;49(1):10-21.

208- Reis-Filho JS, Pinheiro C, Lambros MB, et al. EGFR amplification and lack of activating mutations in metaplastic breast carcinomas. *J Pathol* 2006; 209(4):445-53.

209- Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 2005;11(14):5175-80.

210- Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1482–5.

211- Tsuda H, Takarabe T, Hasegawa F, et al. Large, central acellular zones indicating myoepithelial tumor differentiation in high-grade invasive ductal carcinomas as markers of predisposition to lung and brain metastases. *Am J Surg Pathol* 2000;24(2):197-202.

212- Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M, et al. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(16):9212-7.

213- Sorlie T, Wang Y, Xiao C, et al. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analyses across three different platforms. *BMC Genomics* 2006;7:127.

214- Reis-Filho JS, Simpson PT, Martins A, Preto A, Gartner F, Schmitt FC. Distribution of p63, cytokeratins 5/6 and cytokeratin14 in 51 normal and 400 neoplastic human tissue samples using TARP-4 multi-tumor tissue microarray. *Virchows Arch* 2003;443:122–132.

215- van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature (Lond.)* 2002;415:530–6.

- 216- Fisher B, Anderson S, Redmond CK, Wolmark N, Wickerham DL, Cronin WM. Reanalysis and results after 12 years of follow-up in a randomized clinical trial comparing total mastectomy with lumpectomy with or without irradiation in the treatment of breast cancer. *N. Engl. J Med* 1995;333: 1456-1461.
- 217- Veronesi U. Conservation surgery and irradiation in stages 1 and 2 disease. European experience. In: Bland KI, Copeland EM, eds. *The Breast: Comprehensive management of benign and malignant diseases* (2nd ed). W:B Saunders, Philadelphia 1998 pp. 1191-1196
- 218- Hortobagyi GN. Treatment of breast cancer. *N Eng J Med* 1998;339(14):974-84.
- 219- Recth A. The return of postmastectomy radiotherapy. *J Clin Oncol* 1995;13:2861-84.
- 220- Fisher B, Brown AM, Dimitrov NV, et al. Two months of doxorubicin-cyclophosphamide with and without interval reinduction therapy compared with 6 months of cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil in positive-node breast cancer patients with tamoxifen-nonresponsive tumors: results from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-15. *J Clin Oncol* 1990;8(9):1483-96.
- 221- Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet* 1998;352(9132):930-42.
- 222- Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Senn HJ. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2001;19(18):3817-27.
- 223- Smith IE, Walsh G, Jones A, et al. High complete remission rates with primary neoadjuvant infusional chemotherapy for large early breast cancer. *J Clin Oncol* 1995;13(2):424-9.
- 224- Miller KD. E2100: a phase III trial of paclitaxel versus paclitaxel/bevacizumab for metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2003;3(6):421-2
- 225- Carrick S, Parker S, Wilcken N et al. Single agent versus combination chemotherapy for metastatic breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; CD003372.

- 226- Sledge GW, Neuberg D, Bernardo P et al. Phase III trial of doxorubicin, paclitaxel, and the combination of doxorubicin and paclitaxel as front-line chemotherapy for metastatic breast cancer: an intergroup trial (E1193). *J Clin Oncol* 2003;21: 588–592.
- 227- Klijn JG, Blamey RW, Boccardo F et al. Combined tamoxifen and luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonist versus LHRH agonist alone in premenopausal advanced breast cancer: a meta-analysis of four randomized trials. *J Clin Oncol* 2001; 19: 343–353.
- 228- Chang J, Powles TJ, Allred DC, et al. Prediction of clinical outcome from primary tamoxifen by expression of biologic markers in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 616–21.
- 229- HarveyJM,Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1474–81.
- 230- Bardou VJ, Arpino G, Elledge RM, Osborne CK, Clark GM. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1973–79
- 231-Colleoni M, Bonetti M, Coates AS, et al. Early start of adjuvant chemotherapy may improve treatment outcome for premenopausal breast cancer patients with tumours not expressing estrogen receptors. *J Clin Oncol* 2000; 18: 584–90.
- 232- Bartelink H, Begg AC, Martin JC, et al. Translational research offers individually tailored treatments for cancer patients. *Cancer J Sci Am* 2000; 6: 2–10.
- 233-Colleoni M, Minchella I, Mazzarol G, et al. Response to primary chemotherapy in breast cancer patients with tumours not expressing estrogen and progesterone receptors. *Ann Oncol* 2000;11: 1057–59.
- 234- Osborne CK, Bardou V, Hopp TA, et al. Role of the estrogen receptor coactivator AIB1 (SRC-3) and HER-2/neu in tamoxifen resistance in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 353–61.
- 235- Ellis M. Overcoming endocrine therapy resistance by signal transduction inhibition. *Oncologist* 2004; 9 (suppl 3): 20–26.

- 236- Hudis C. The best use of adjuvant chemotherapy: New drugs and new use of old drugs. *The Breast* 14: 570-575, 2005.
- 237- Early Breast Cancer Trials Group (EBCTG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 365: 1687-1717, 2005.
- 238- Ring AE, Ellis A. Taxanes in the treatment of early breast cancer. *Cancer Treat Rev* 31: 618-627, 2005.
- 239- Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA* 299: 1658-1667, 2006.
- 240- Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ; 10th St. Gallen conference. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann Oncol*. 2007;18(7):1133-44.
- 241- James CR, Quinn JE, Mullan PB, et al. BRCA1, a potential predictive biomarker in the treatment of breast cancer. *Oncologist* 2007; 12:142-150.
- 242-Ferriere JP, Assier I, Cure H, et al: Primary chemotherapy in breast cancer: Correlation between tumor response and patient outcome. *Am J Clin Oncol* 1998;21:117-120.
- 243- Kuerer HM, Newman LA, Smith TL, et al: Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999;17:460-469.
- 244- Machiavelli MR, Romero AO, Perez JE, et al: Prognostic significance of pathological response of primary tumor and metastatic axillary lymph nodes after neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast carcinoma. *Cancer J Sci Am* 1998;4:125-131.
- 245- Carey LA, Dees EC, Sawyer LR, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of the basal-like breast cancer phenotype. *Breast Cancer Res Treat* 2004;80:1023.
- 246- Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:5678–85.

- 247- Banerjee S, Reis-Filho J S, Ashley S, Steele D, Ashworth A, Lakhani S R, Smith I E. Basal-like breast carcinomas: clinical outcome and response to chemotherapy. *J Clin Pathol* 2006;59 :729-735.
- 248- Tsuda H, Takarabe T, Hasegawa T, et al. Myoepithelial differentiation in high grade invasive ductal carcinomas with large central acellular zones. *Hum Pathol* 1999;30(10):1134-9.
- 249- Jumppanen M, Gruvberger-Saal S, Kauraniemi P, et al. Basal-like phenotype is not associated with patient survival in estrogen-receptor-negative breast cancers. *Breast Cancer Res*; 2007;9:1-10.
- 250- Laakso M, Loman N, Borg A, Isola J. Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors. *Mod Pathol* 2005; 18: 1321–1328
- 251- Nitz UA, Gluz O, Herr A et al. Retrospective analysis of WSG AM01 tandem high dose chemotherapy trial in high risk primary breast cancer: A hypothesis generating study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2006; 24: 665 (Abstr).
- 252- R. Conforti, T. Boulet, G. Tomasic, et al. Breast cancer molecular subclassification and estrogen receptor expression to predict efficacy of adjuvant anthracyclines-based chemotherapy: a biomarker study from two randomized trials. *Ann Oncol*. 2007 ; 18(9):1477-83.
- 253-Rodenhuis S, Bontenbal M, van Hoesel QGCM, et al. Efficacy of high-dose alkylating chemotherapy in HER2/neu-negative breast cancer. *Ann Oncol* 2006; 17: 588–596.
- 254-Paik S, Bryant J, Park C et al. ErbB-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1361–1370.
- 255-Paik S, Bryant J, Tan-Chiu E et al. HER2 and choice of adjuvant chemotherapy for invasive breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-15. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1991–1998.
- 256- Di Leo A, Larsimont D, Gancberg D et al. HER2 and topo-isomerase II alpha as predictive markers in a population of node-positive breast cancer patients randomly treated with adjuvant CMF or epirubicin plus cyclophosphamide. *Ann Oncol* 2001; 12: 1081–1089.

- 257- Muss HB, Thor AD, Berry DA et al. C-ErbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med* 1994; 331: 1260–1266.
- 258- Petit T, Borel C, Ghnassia J-P et al. Chemotherapy response of breast cancer depends on HER2 status and anthracycline dose intensity in the neoadjuvant setting. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1577–1581.
- 259- Tanner M, Isola J, Wiklund T et al. Topoisomerase II alpha gene amplification predicts favorable treatment response to tailored and dose-escalated anthracycline-based adjuvant chemotherapy in HER-2/neu-amplified breast cancer: Scandinavian Breast Group Trial 9401. *J Clin Oncol* 2006; 24:2428–2436.
- 260- Knoop AS, Knudsen H, Balslev E et al. Retrospective analysis of topoisomerase IIa amplifications and deletions as predictive markers in primary breast cancer patients randomly assigned to cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil or cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil: Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7483–7490.
- 261-Sohn DM, Kim SY, Baek MJ, et al. Expression of survivin and clinical correlation in patients with breast cancer. *Biomed Pharmacother* 2006; 60(6): 289-92.
- 262- Peto R, Boreham J, Clarke M, et al. UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20–69 years. *Lancet* 2000;355: 1822.
- 263- Smith I. Adjuvant treatment for early breast cancer. *Ann Oncol* 2005;16: 82-87.
- 264- Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492-2502
- 265- Rutqvist LE, Wallgren A. The influence of age on outcome in breast cancer. *Acta Radiol Oncol* 1983; 22:289.
- 266- Langlands AO, Pocock SJ, Kerr SM, et al. Long term survival of patients with breast cancer: a study of curability of the disease. *Br Med J* 1979; 2:1247.
- 267- Anderson BO, Senie RT, Vetto JT, et al. Improved survival in young women with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 1995;2:407-415.
- 268- Henderson IC, Patek AJ. Are breast cancers in young women qualitatively distinct? *Lancet* 1997; 349: 1488-1489.

- 269- Scawn R, Shousha S. Morphologic spectrum of estrogen receptor negative breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:325-330.
- 270- Putti TC, El-Heim DMA, Rakha EA, et al. Estrogen receptor negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis. *Mod Pathol* 2005; 18: 26-35.
- 271- Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24 740 breast cancer cases. *Cancer* 1989; 63: 181-187.
- 272- Fisher ER, Costantino J, Fisher B, Redmond C. Pathologic findings from the National Surgical Breast Project (Protocol 4). Discriminants for 15-year survival. *Cancer* 1993; 71: 2141-2150.
- 273- Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Helman S. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow-up of 18 years. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1239-1251.
- 274- van de Vijer MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gen-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347(25): 1999-2000.
- 275- Ferrero JM, Ramaioli A, Largillier R, et al. Epidermal growth factor receptor expression in 780 breast cancer patients: a reappraisal of the prognostic value based on an eight- year median follow-up. *Ann Oncol* 2001; 12:841-846.
- 276- Rampaul RS, Pinder SE, Wency PM, et al. EGFR expression in operable breast cancer: is it prognostic significance? *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2578.
- 277- Chu JS, Shew JY, Huang CS. Immunohistochemical analysis of survivin expression in primary breast cancers. *J Formos Med Assoc.* 2004 Dec;103(12):925-31.
- 278-Span PN, Sweep FC, Wiegerinck ET, et al. Survivin is an independent prognostic marker for risk stratification of breast cancer patients. *Clin Chem* 2004 Nov;50(11):1986-93.
- 279- Ryan BM, Konecny GE, Kahlert S, et L. Survivin expression in breast cancer predicts clinical outcome and is associated with HER2, VEGF, urokinase plasminogen activator and PAI-1. *Ann Oncol.* 2006 ;17(4):597-604.

280- Goksel G, Taneli F, Uslu R, et al. Serum her-2/neu and survivin levels and their relationship to histological parameters in early-stage breast cancer J Int Med Res 2007 Mar-Apr;35(2):165-72.

281- Asanuma H, Torigoe T, Kamiguchi K, et al. Survivin expression is regulated by coexpression of human epidermal growth factor receptor 2 and epidermal growth factor receptor via phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling pathway in breast cancer cells. Cancer Res. 2005 ;65(23):11018-25.

282- Peng XH, Karna P, Cao Z, Jiang BH, Zhou M, Yang L.J Cross-talk between epidermal growth factor receptor and hypoxia-inducible factor-1alpha signal pathways increases resistance to apoptosis by up-regulating survivin gene expression. .Biol Chem. 2006 Sep 8;281(36):25903-14.

283- Bidard FC, Conforti R, Boulet T, Michiels S, Delaloge S, Andre´ F. Does triple-negative phenotype accurately identify basal-like tumour? An immunohistochemical analysis based on 143 ‘triple-negative’breast cancers. Ann Oncol 2007 ; 18 :1285-1286.