



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI A.B.D.

TIBBİ ONKOLOJİ B.D.

MEME KANSERİNDE TOPOİZOMERAZ II-ALFA' NIN

PROGNOSTİK ÖNEMİ

TIBBİ ONKOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Metin ÖZKAN

KAYSERİ-2005

171987

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI A.B.D.
TIBBİ ONKOLOJİ B.D.

MEME KANSERİNDE TOPOİZOMERAZ II-ALFA' NIN

PROGNOSTİK ÖNEMİ

TIBBİ ONKOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Metin ÖZKAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa ALTINBAŞ

KAYSERİ-2005

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR	ii
TABLO LİSTESİ	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
Meme Kanseri.....	3
Etyoloji.....	3
Prognostik Faktörler.....	5
Tedavi.....	7
HER-2' nin Rolü.....	9
TOPO II alfa' nın Rolü.....	10
TOPO II alfa' nın Prognostik ve Prediktif değeri.....	10
TOPO II alfa' nın HER-2 ile ilişkisi.....	11
TOPO II alfa' nın diğer immünolojik belirleyicilerle ilişkisi.....	11
HASTALAR VE YÖNTEM	12
BULGULAR	16
TARTIŞMA	32
SONUÇLAR	39
KAYNAKLAR	41
TEZ ONAY SAYFASI	46

TEŞEKKÜR

Tezimin proje, değerlendirme ve yazım aŐamasında bana her tŒrlŒ yardımını esirgemeyen başta tez danıŐmanım İç Hastalıkları A.B.D. baŐkanı ve Onkoloji B.D. baŐkanı Prof. Dr. Mustafa Altınbaş olmak Œzere, Patoloji A.B.D. Œęretim Œyesi Prof. Dr. Figen ŒztŒrk, Onkoloji B.D. Œęretim Œyesi Yard. Doç. Dr. Œzlem Er ve Patoloji A.B.D. araştırma gŒrevlisi Dr. Vedat Arsav' a, istatistik hesaplamalarında yardımı için Ahmet ŒztŒrk'e teŐekkŒr ederim.

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
CA	: Siklofosfamid ve Adriamisin
CAF	: Siklofosfamid, Adriamisin ve Fluorourasil
CEF	: Siklofosfamid, Epirubisin ve Fluorourasil
CMF	: Siklofosfamid, Metotreksat ve Fluorourasil
FISH	: Florasan İnsitu Hibridizasyon
HER-2	: cerbB-2, HER2/ neu
İDK	: İnvaziv Duktal Karsinom
İHK	: İmmünohistokimya
İMK	: İnvaziv Medüller Karsinom
İLK	: İnvaziv Lobuler Karsinom
İPK	: İnvaziv Papiller Karsinom
KT	: Kemoterapi
Mİ	: Mitotik İndeks
ÖR	: Östrojen Reseptörü
PR	: Progesteron Reseptörü
RT	: Radyoterapi
TOPO II alfa	: Topoizomeraz II alfa

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Hormon reseptörleri ve hormonal tedaviye cevap oranları.....	9
Tablo 2: İHK boyamasında TOPO II alfa skorlaması.....	14
Tablo 3: İHK boyamasında HER-2 skorlaması.....	15
Tablo 4: Hasta özellikleri.....	17
Tablo 5: Tüm hastalarda saptanan TOPO II alfa ekspresyonu.....	18
Tablo 6: TOPO II alfa ekspresyonunun hasta özelliklerine göre değerlendirilmesi.....	20
Tablo 7: TOPO II alfa ekspresyonunun klinik özelliklerle ilişkisi.....	21
Tablo 8: TOPO II alfa ekspresyonunun histopatolojik özellikler ile ilişkisi.....	22
Tablo 9: TOPO II alfa ekspresyonunun pozitif lenf nodu sayısı ve yaş ile ilişkisi..	23
Tablo 10: Saptanan nüks bölgelerinin organlara göre dağılımı.....	27
Tablo 11: Hastaların hesaplanan yaşam oranları.....	30
Tablo 12: Hastalısız sağkalım süresinin değişik parametrelerle ilişkisi.....	31

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. İmmünohistokimya boyamasında TOPO II alfa ekspresyonu pozitif (A) ve negatif (B) olarak değerlendirilen boyamalar.....	19
Şekil 2. Yaş ile TOPO II alfa ekspresyonu arasındaki ilişkisi.....	24
Şekil 3. Pozitif lenf nodu sayısını ile TOPO II alfa ekspresyonu arasındaki ilişki....	25
Şekil 4. Risk gruplarına göre hastalısız sağkalım eğrileri.....	28
Şekil 5. TOPO II alfa ekspresyonuna göre hastalısız sağkalım eğrileri.....	29

ÖZET

GİRİŞ: TOPO II aşırı ekspresyonu olan tümörlerin antrasiklinlere daha iyi cevap verdiğini gösteren pek çok çalışma vardır. Çalışmamızda bu enzim ekspresyonunu yüksek riskli ve düşük riskli meme kanseri hastalarında immünohistokimyasal olarak göstererek, bu aktivitenin hastalığın prognozu üzerine olan etkisini belirlemeye çalıştık.

HASTALAR VE YÖNTEM: Mart 1999-Haziran 2003 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji ünitesine, meme kanseri tanısıyla cerrahi yapılmış ve 21'i yüksek riskli, 16' sı ise düşük riskli toplam 37 hasta alındı. Yüksek riskli meme kanseri hastaları taksan ve antrasiklin içeren adjuvan KT ve RT alırken düşük riskli hastalardan 3' üne herhangi bir tedavi verilmedi, 4'üne sadece adjuvan hormonal tedavi, 9'una ise adjuvan KT verildi. Bu grupta sadece 1 hasta adjuvan RT aldı. TOPO II alfa ekspresyonu, nükleer boyanma gösteren hücre sayısına göre 4 kategoriye ayrılarak %35 ve üzerinde (3+ ve 4+) nükleer boyanma gösterenlerde pozitif, diğerlerinde negatif olarak kabul edildi.

BULGULAR: Tüm hastalar için ortanca yaş 42 yıl (sınırlar 23-78) idi. Histopatolojik olarak 32 (%86.5) hasta IDK tanısı almıştı. İki hasta evre I, 15 hasta

evre II, 20 hasta ise evre III idi. Tüm hastalar için ortalama takip süresi 32.5 ay (sınırlar, 18-64) idi. Hastaların %45.9' unda TOPO II alfa ekspresyonu pozitif idi. TOPO II alfa boyaması pozitif olan 17 hastadan 10'unda (%58.8) aynı zamanda HER-2 ekspresyonu da vardı. Çalışmamızda tümörün grade' i ($p=0.015$), çapı ($p=0.019$), lenf nodu pozitifliği ($p=0.001$), lenf nodu sayısının artması ($p=0.033$) ve yaş ($p=0.039$) ile TOPO II alfa ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterildi. Lenf nodu pozitifliği ve lenf nodu sayısının artması ile hastalısız sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilirken (sırasıyla, $p=0.04$ ve $p=0.03$) TOPO II alfa ve hastalısız sağkalım arasında anlamlı ilişki gösterilemedi ($p=0.14$).

TARTIŞMA: Çalışmamıza göre TOPO II alfa ekspresyonu tümörün agresiv davranışı ile ilişkili görünmekle birlikte bunu doğrulayıcı daha fazla hasta sayısı ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızda TOPO II alfa ve HER-2 ekspresyon oranının yüksek çıkması pek çok faktöre bağlanabileceği gibi, bu durum bizim hasta grubumuzun yüksek riskli hastaları içermesine bağlı olabilir. Ayrıca bizim hastalarımızda tümör davranışının ve antrasiklin cevabının diğer toplumlardan farklı olabileceğini de göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, Prognoz, TOPO II alfa

ABSTRACT

INTRODUCTION: There are many studies that show tumors overexpressing TOPO II have better response to anthracyclines. In our study we aimed to show the expression of this enzyme at high and low risk breast cancer patients and the effect of this activity on prognosis of this disease.

MATERIAL AND METHODS: Thirty-seven operable breast cancer patients including 21 high risk and 16 low risk who were followed at Erciyes University Medical Oncology clinic between March 1999 and June 2003 were enrolled into this study. High risk patients received adjuvant chemotherapy consisting taxane and anthracycline and radiotherapy, 3 of the low risk patients received no adjuvant therapy, 4 adjuvant hormonal therapy, 9 adjuvant CT. Only one patient received RT in this group. TOPO II alpha expression was categorized in 4 groups according to cell numbers showing nuclear staining, 35% and higher expression (3+ and 4+ nuclear staining) was accepted as positive and others negative.

RESULTS: Median age of all patients was 42 years (range 23-78). Histopathologically 32 patients (86.5%) were diagnosed as IDC. Two patients were stage I, 15 stage II, 20 stage III. Median follow-up time was 32.5 months (range 18-64). TOPO II alpha expression was positive in 45.9% of the patients. Ten patients (58.8%) among 17 patients showing TOPO II expression had also HER-2 expression. There was statistically significant relationship between TOPO II alpha expression and tumor grade ($p=0.015$), diameter ($p=0.019$), lymph node positivity ($p=0.001$), increased number of lymph nodes ($p=0.033$) and age ($p=0.039$). There was statistically significant relationship between disease free survival (DFS) and lymph node positivity and increased number of lymph nodes ($p=0.04$ and 0.03 , respectively), however no significant relation was detected between TOPO II alpha expression and DFS ($P=0.14$).

DISCUSSION: TOPO II alpha expression seemed to be related to the aggressive behavior of the tumor in this study, however there is a need to confirm these findings in larger studies. High expression of TOPO II alpha and HER-2 in this group may be due to many factors, and this may also show that tumor behavior and anthracycline response may be different in our patients compared to other group of patients.

Key words: Breast cancer, prognosis and Topoisomerase II alpha

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen kanserdir. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %18'i meme kanseri nedeniyle oluşmakta ve meme kanserine bağlı ölümler, akciğer kanseri ve kolorektal kanserlerden sonra üçüncü sırayı almaktadır. Erken evrede tanı konduğunda etkili adjuvan tedavilerle uzun sağkalım süreleri elde edilebilirken ileri evrelerde başvuran hastalarda tedavi palyatif amaçlı olmaktadır. Özellikle mamografinin tarama tetkiki olarak batı ülkelerinde yaygın olarak kullanıma girmesi ile hastalık daha erken evrelerde yakalanabilmektedir.

Meme kanseri için bilinen en güçlü prognostik faktör aksiller lenf nodu tutulumudur. Reseptör durumu ve HER-2 ekspresyonunun prognostik önemlerinin yanında prediktif rolleri de vardır. Bunların dışında tümör çapı, yaş, menopoz durumu, tümör grade' i ve diğer çeşitli tümöre ve kişiye ait özellikler de hastalığın prognozunda önem taşımaktadır.

Topoizomeraz enzimi hücre bölünmesi boyunca DNA metabolizmasının değişik safhalarında ortaya çıkan, topolojik problemleri gidermekle görevli bir enzimdir. Topoizomeraz II alfa (TOPO II alfa) ve HER-2 genleri yakın lokalizasyonlu olduklarından birlikte amplifikasyon gösterme oranları yüksektir. HER-2 ekspresyonunun meme kanserinde başta HER-2'yi hedefleyen ilaç olan trastuzumab için prediktif öneminin yanında çeşitli kemoterapi (KT) ve hormonoterapi ilaçlarının

hassasiyeti ve direnci ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Aynı zamanda bazı çalışmalarda HER-2 ile sağkalım ve hastalığın prognozu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde topoizomerez enzimi meme kanserinde temel ilaç olarak kullanılan antrasiklinler için hedef durumunda olduğundan bu enzimin ekspresyonu antrasiklin cevabı için güçlü bir prediktör olabilir. TOPO II alfa enzim ekspresyonu hücrel kötü diferansiyasyon, tümörün biyolojik olarak saldırganlığı ve kötü prognostik faktörlerle ilişkili olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. HER-2 ve TOPO II alfa ekspresyonlarının birbirleri ile olan yakın ilişkileri, prognostik ve prediktif değerlerinin olması, çalışmaları bu iki gen aktivitesi üzerine yoğunlaştırmıştır.

Bu çalışmada yüksek riskli ve düşük riskli, adjuvan tedavi için aday meme kanseri hastalarında TOPO II alfa ekspresyonu immünohistokimyasal olarak tespit edilerek bu enzim ekspresyonunun kendi hasta grubumuzdaki sıklığının belirlenmesi, hastalığın agresiv davranış şeklini belirleyen diğer histopatolojik ve klinik özelliklerle ilişkisinin gösterilmesi ve hastalısız sağkalım üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2-GENEL BİLGİLER

2.1. MEME KANSERİ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen kanser olup Avrupa'da yılda 180 bin, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'inde yılda 184 bin yeni olgu saptanmaktadır. Meme kanserinin görülme sıklığı 1973'ten itibaren ABD'de yılda %1.8, dünyanın çeşitli ülkelerinde de %1-2 oranında artış göstermekte olup dünyada her yıl yaklaşık bir milyon yeni olguya tanı konmaktadır. Her 9 kadından biri ömrü boyunca meme kanseri olmaktadır. Multidisipliner tedavi yaklaşımları ile erken evre hastalarda kür elde edilebilmesine rağmen ileri evre hastalarda tedavinin temelini palyatif yaklaşımlar oluşturmaktadır. Meme kanserinin insidansındaki artışa paralel olarak mortalite de artmaktadır. Dünyada meme kanserine bağlı mortalite ülkeden ülkeye değişmekte olup İngiltere ve Galler'de en yüksek Japonya ve Tayland'da ise en düşüktür (1,2).

2.1.1. Meme kanserinde etyoloji

Meme kanserinin etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Genetik, çevresel, hormonal, biyolojik ve psikolojik etmenler etyolojide suçlanmaktadır (3).

A- Genetik etkenler

Ailede meme kanseri hikayesi olması bu kanserin gelişme riskini artırmaktadır. Annesinde veya kız kardeşinde meme kanseri olanlarda bu kanserin gelişme riski 1.5-3 kat artmaktadır. Aile bireylerinde meme kanserinin ileri yaşlarda ortaya çıkmış olması riski az düzeyde artırırken premenopozal dönemde çıkmış olması meme kanseri gelişme riskini 25 kata kadar çıkarmaktadır (4).

İki tümör supresör genden biri ve otozomal dominant bir gen olan BRCA1, 17. kromozomun uzun bacağı (q) üzerinde yerleşmiş olup mutasyonlar sonucu ailevi meme ve over kanserinin etyolojisinde rol oynadığı kabul edilmektedir. BRCA2 geni, 13. kromozom üzerinde bulunur ve ailevi olgularda hastalığın erken ortaya çıkışı ve bilateral olmasında rol oynar. Genel popülasyonda BRCA1 geni mutasyonu 1/500-1/800 oranında görülürken, BRCA2 gen mutasyonu daha az sıklıkta görülmektedir. Ayrıca meme kanseri Li-Fraumeni sendromu ve Cowden sendromu gibi herediter sendromların bir komponenti olarak ta gelişebilir (5,6).

B- Endokrin etkenler

1) Reprodüktif etkenler

Erken menarş, geç menopoz, az doğum yapma veya hiç doğum yapmama, geç doğum yaşı ve laktasyon döneminin kısalığı gibi reprodüktif dönem üzerine ve hormon düzeylerine etkili olabilecek faktörlerle meme kanseri gelişimi arasında ilişki kurulmuştur (7).

2) Hormonlar

Postmenopozal meme kanseri hastalarında yapılan çeşitli çalışmaların meta analizinde estrodiol düzeyleri normal bireylere göre %15 daha yüksek bulunmuştur (8). Ayrıca gebe kadınlarda seks hormon bağlayıcı globulin düzeyinin artması ve serbest östrojen düzeylerinin azalması ile meme kanseri riskindeki azalma bunu desteklemektedir. Ekzojen hormon alımı ile ilgili çalışmalarda oral kontraseptif kullanımı ile meme kanseri gelişiminin arttığını gösteren pek çok çalışma vardır. On yıl boyunca oral kontraseptif kullanan genç bir kadında kullanmayan kadına göre meme kanseri riski %36 artmaktadır. Postmenopozal hastalarda ise yerine koyma tedavisi ile östrojen kullanımının, kullanım süresi ile bağlantılı olarak, meme kanseri oluşma riskini

artırdığı gösterilmiştir. On yıl yerine koyma tedavisi alan postmenopoze bir kadında meme kanseri gelişme riski 1.3 kat artmaktadır (9).

C- Çevresel etkenler

Yağdan zengin beslenme, gıdalardaki lif oranı, boy ve vücut ağırlığı, gıdalardaki vitamin miktarı ve içeriği, selenyum, alkol ve sigara kullanımı, kafein, iyonize radyasyon, elektro manyetik alanlar ve fiziksel aktivite gibi faktörler ile meme kanseri gelişimi arasındaki ilişki araştırılmış fakat bütün sayılan faktörlerin etkisi net olarak ortaya konamamıştır (7).

D- Memenin benign lezyonları

Bunlar içerisinde atipik hiperplazinin meme kanseri gelişim riskini artırabileceğini gösteren çalışmalar vardır (7).

2.1.2. Meme kanserinde prognostik faktörler

a) Histolojik tip

İnvaziv duktal karsinom (IDK)' da aksiller lenf nodu tutulumu daha sık ve buna bağlı olarak prognoz daha kötüdür (10).

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 sınıflandırır. Tutulan nod sayısı ile klinik seyir arasında doğrudan ilişki vardır (11). Lenf nodu tutulumu tümör büyüklüğü ile ilişkili, ancak steroid reseptörleri ve proliferasyon ölçümleri gibi biyolojik işaretleyicilerden bağımsız olabilmektedir. Bu nedenle sadece tümörün kronolojik yaşını gösterdiği iddia edilmiştir (12).

c) Tümör çapı

Tümör çapının büyüklüğü kötü prognostik bir faktördür (13). Nod (-) hastalarda prognozu belirleyen en önemli faktör tümör çapıdır. Tarama çalışmalarında 1 cm' den küçük tümörlere tam konmakta ve tedavi yapılmaktadır. Bu nedenle aksilla negatif hastalarda etkili bir tedavi için tümör çapı dışında bazı prognostik faktörlere ihtiyaç vardır.

d) Tümör grade'i

En sık kullanılan grade' leme sistemi Scarff-Bloom-Richardson ve Fisher' in grade' leme sistemi olup bunların modifiye şekilleri de kullanılmaktadır (14-15). Her tümör evresinde grade bağımsız prognostik öneme sahiptir. Ayrıca intraduktal komponent, lenfatik invazyon, tümör nekrozu, mononükleer hücre infiltrasyonunun prognostik öneminin olabileceği iddia edilmiştir. Tümör grade' lemesi ile ilgili en önemli sorun kişiler arası yorum farkıdır (16).

e) Hastanın yaşı

Bu konuda çelişkili çalışmalar varken 35 yaş altında prognoz daha kötü olduğunu gösteren iki büyük çalışma vardır. Bulgular gençlerde meme kanserinin biyolojik olarak farklı bir hastalık olduğunu düşündürmektedir (17-18).

f) Etnik özellikler

Siyah ırkta beyaz ırka göre prognoz daha kötüdür (19).

g) Proliferasyon ölçümleri

Mitotik indeks (MI), Timidin işaretleme indeksi, akım sitometrisi ile S faz fraksiyonu, Ki-67, proliferasyon hücre nükleer antijeni gibi yöntemlerle belirlenen proliferasyon ölçümlerinin prognostik öneminin olduğunu gösteren çalışmalar vardır (16).

h) Steroid reseptör durumu

Hormon reseptörü negatifliği kötü prognoz ile ilişkilidir. Östrojen reseptörü (ÖR) ve progesteron reseptörü (PR) pozitifliği ayrı ayrı iyi prognoz göstergeleri olup hormon tedavisi için prediktif değere sahiptirler (20).

i) Büyüme faktörleri ve reseptörleri

Meme kanserinin gidişi ile en fazla ilişkisi olan HER2/neu (HER-2) düzeyidir. HER-2 geninde amplifikasyon olması hastalığın seyri (Prognostik) ve tedavi seçimi ile (Prediktif) ilişkilidir (21).

Prognostik faktör araştırmaları hangi hastaların adjuvan tedaviden ne kadar yararlanacağını ve en uygun tedavi şeklinin ne olacağını ortaya koyacaktır.

2.1.3. Meme kanserinde tedavi

Cerrahi

Meme kanserinin erken evrelerde küratif tedavisi cerrahi rezeksiyondur. En sık kullanılan cerrahi yöntem modifiye radikal mastektomidir. Son yıllarda meme koruyucu cerrahi yapma eğilimi giderek artmaktadır. Metastatik hastalıkta palyatif amaçlı olarak meme ve metastatik odağa yönelik rezeksiyonlar yapılır (22).

Radyoterapi

Lokal hastalığın kontrolünü sağlamakta oldukça etkilidir. Meme koruyucu cerrahi uygulanan ve lokal ileri evre hastalarda Radyoterapi (RT), kemoterapi (KT) ve cerrahi ile kombine olarak kullanılmaktadır. Radyoterapi meme kanserinde lokal kontrol oranlarını artırmakla beraber özellikle aksiller lenf nodu tutulumu olan hastalarda sağkalımı da uzatmaktadır (22). Mastektomili hastalarda RT' nin KT tamamlandıktan sonra uygulanması önerilmektedir. Radyoterapinin KT' den sonra uygulanmasının lokal nüks oranını artırmadığı gösterilmiştir (23-24).

Kemoterapi

Meme kanserinde, erken evre hastaların adjuvan tedavisinde, lokal ileri evre hastalarda neoadjuvan ve adjuvan tedavide ve metastatik hastalarda palyatif tedavide sıklıkla kullanılmaktadır. Hormonal tedavi tek başına veya KT ile beraber kombine olarak sıklıkla reseptör pozitif hastalarda kullanılır.

Adjuvan tedavi erken evre opere meme kanserinde standart tedavinin bir parçasıdır ve sağkalımı anlamlı olarak artırır. Genel olarak adjuvan KT' nin meme kanserinde nüks riskini %25, ölüm riskini de %15 oranında azalttığı gösterilmiştir. Bu yararlanım oranları hastanın yaşı ve tümörün özelliklerine göre değişmektedir (25).

Yapılan çalışmalarla standart bir KT rejimi ortaya konamamıştır. Adjuvan tedavide uzun yıllardan beri siklofosamid, metotreksat ve fluorourasil (CMF)' den oluşan kombinasyon kullanılmaktadır. Son yıllardaki çalışmalarda antrasiklin içeren kombine tedavilerin [siklofosamid, adriamisin ve fluorourasil (CAF), siklofosamid, epirubisin ve fluorourasil (CEF) ve siklofosamid ve adriamisin (CA)] CMF' e üstün olduğu gösterilmiştir. Adjuvan tedavide taksanların kullanımı ve yüksek doz tedavi araştırma konusudur (26).

Lokal ileri evre meme kanserinde neoadjuvan KT ile iyi objektif yanıt elde etmek ve cerrahi uygulanabilen hasta sayısını arttırmak mümkündür. Evre IIIB' de elde edilen sağkalım tarihsel kontrollere göre daha uzun olmasına rağmen, uzun süreli lokal kontrol ve sağkalım üzerine etkisi henüz gösterilememiştir (27). Taksanların antrasiklinlerle beraber kullanılması lokal ileri ve inflamatuvar meme kanseri tedavisinde daha iyi sonuçlar vermektedir (28).

Metastatik meme kanserinde KT temel palyatif tedavidir. Bu hastalarda uzun seyir içerisinde değişik kombinasyonların kullanılması mümkündür. CMF, CAF, CEF, CA sık olarak kullanılırken taksanların ve diğer kemoterapotik ajanların kullanıma girmesi ile gerek hastaya gerekse hekime daha fazla seçenek doğmuştur. Bunların antrasiklinlerle kombinasyonu metastatik meme kanserinde en etkili tedavi seçeneklerinden biridir (29-30). Kullanılabilecek diğer ilaçlar Mitomisin, Sisplatin, Etoposid, Vinorelbin, Gemsitabin, Urasil-Tegafur (UFT®) ve Kapesitabin' (Xeloda®) dir. HER-2 pozitif hastalarda trastuzumab (Herceptin®) tek başına veya kombinasyon tedavisi şeklinde etkilidir.

Hormonal tedavi

Hormonoterapi reseptör pozitif hastalarda %60-70 cevap oluşturabilen etkili bir tedavi metodudur (Tablo 1). Adjuvan tedavide ve palyatif tedavide, tek tedavi modalitesi veya KT ile beraber kullanılabilir. Tamoksifen en sık kullanılan ilaç iken aramatoaz inhibitörleri ve gonodotropin relasing hormon analogları son yıllarda sık olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda neoadjuvan hormonoterapi, hormon reseptörü pozitif hastalarda başarı ile kullanılmaktadır (22, 31).

Tablo 1. Hormon reseptörleri ve hormonal tedaviye cevap oranları

Östrojen reseptörü	Progesteron reseptörü	Yanıt oranı (%)
Negatif	Negatif	10
Pozitif	Negatif	34
Negatif	Pozitif	45
Pozitif	Pozitif	78

2.2. Meme kanserinde HER2' nin rolü

HER-2 onkogeni insan Epidermal Büyüme Faktörü reseptörüne benzeyen fakat ondan ayrı olan bir yüzey reseptörü kodlamaktadır. Aynı isimle anılan reseptör birbirine benzeyen 4 molekülden oluşan bir ailenin içinde yer alır. Bu moleküller HER-1, HER-2, HER-3, ve HER-4 olarak isimlendirilirler. Moleküler yapı olarak büyük benzerlikler göstermektedir. HER-2 için literatürde *c-erbB-2*, HER-2/neu kullanılan diğer isimlerdir. Bu aile normal hücre büyümesi ve olgunlaşmasından sorumludurlar. HER-2 aşırı ekspresyonu başta meme kanseri olmak üzere bir çok kanserde gösterilmiştir. Meme kanseri yanında over, gastrointestinal ve diğer tümörlerde de görülmektedir. HER-2 aşırı ekspresyonu HER-2 geninin gösterilmesi, HER-2 proteinin hücre yüzeyinde gösterilmesi veya HER-2 ilişkili antikorların serumda varlığının belirlenmesi ile yapılabilir. Bugün altın standart yöntem FISH (Florasana İnsitu Hibridizasyon) ile HER-2 geninin varlığının gösterilmesidir. İmmünohistokimya (İHK) sık olarak kullanılmakta ve pek çok yazarca yaygın kabul gören bir metoddur. FISH' in uygulamasının zorluğuna karşın İHK çok daha kolay ve çabuk uygulanabilmekte, bir çok rutin patoloji laboratuvarında çalışılabilmektedir.

HER-2 aşırı ekspresyonunun incelendiği çalışmaların çoğunda parafin bloklarda İHK çalışmaları ile HER-2 durumu ortaya konulmuştur. FISH ve İHK' nin karşılaştırıldığı çalışmalarda özellikle HER-2 (3+) olarak rapor edilen hastalar, FISH ile büyük benzerlik göstermektedir. Bu hastalarda ek bir yöntem önerilmemektedir. Buna karşılık İHK 2+ bulunan olgularda FISH ile tekrar değerlendirme yapılmasının uygun olduğu kararına varılmıştır.

Meme kanserinde onkogen aktivasyonunda baskın genetik mekanizma gen amplifikasyonudur. HER-2, meme kanserinde en sık amplifikasyonu gösterilen onkogendir. Bu gen amplifikasyonunun kötü klinik gidiş ile birlikte olduğu

düşünülmekle birlikte, bir çok İHK çalışmasında HER-2 aktivitesinin klinik davranışa etkisi tek değişkenli analizlerle gösterilirken, çok değişkenli analizlerle bağımsız prediktif etkisi gösterilememiştir. HER-2, monoklonal antikor olan (Reseptör bloke eden antikor) trastuzumab için bir hedefdir. Ayrıca meme kanserinde kullanılan bazı kemoterapotik ilaçların etkilerini belirlemede yardımcı olabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Bunlardan HER-2 pozitif tümörlerde, CMF rejimine direnç, antrasiklin içeren rejimlere duyarlılık, tamoksifene direnç ve aromataz inhibitörlerine duyarlılık olduğunu gösteren çalışmalar vardır (32, 33).

2.3. Meme kanserinde TOPO II alfa' nın rolü

Topoizomeraz enzimi, pek çok hücre için hayati önem taşıyan, hücre bölünmesi boyunca DNA replikasyon, rekombinasyon, transkripsiyon ve kromozom ayrılma işlemleri gibi değişik safhaları sırasında ortaya çıkan bir enzimdir. Bu enzim yeni replike olan kromozom parçalarının ayrımı, kromozom yoğunlaşması, kromozom yapısının kurulması ve DNA'nın süperhelikal değişimi için önemlidir. Daha da önemlisi geniş bir kullanım alanı olan topoizomeraz II inhibitörü antrasiklinler (Doksorubisin, epirubisin, dounorubisin, idarubisin), epipodofillotoksinler (Etoposid, Teniposid), aktinomisin ve mitoksantron gibi antikanser ilaçlar için moleküler bir hedef durumundadır. Ökaryotik topoizomeraz II homodimerik bir enzimdir ve insan hücrelerinde iki izoformdan oluşur. Bunlar 170 kilo dalton olan TOPO II alfa ve 180 kilo dalton olan TOPO II beta' dır.

Bu iki enzim büyük oranda homolog olup bunların genomları sırasıyla kromozom 17q21 ve 3p üzerindeki farklı lokuslarda yerleşmiştir. Bu iki genin fonksiyonları gibi ekspresyonları da farklıdır. TOPO II alfa ekspresyonu hücre-siklus bağımlı iken (Hücre siklusunun G2/M fazında pik yaparken, mitoz sonunda en düşük seviyeye iner), beta izoformunun ekspresyonu hücre siklusuna bağımlı değildir. TOPO II alfa replike olmuş kromozomların ayırım ve yoğunlaşmasında hayati bir yere sahipken, kesin fonksiyonu hala bilinmemektedir (34).

2.4. Meme kanserinde TOPO II alfa' nın prognostik ve prediktif değeri

Değişik şekillerde düzenlenen in vitro çalışmalarda kanser hücrelerinin topoizomeraz II inhibitörlerine olan duyarlılıklarının, bu hücrelerdeki TOPO II alfa ekspresyon düzeyine bağlı olduğu bulunmuştur. TOPO II alfa gen amplifikasyonu ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan TOPO II alfa proteininin aşırı ekspresyonu,

tümörlerin antrasiklinlere daha iyi cevap vermesini sağlar. TOPO II alfa gen delesyonu ve buna bağlı TOPO II alfa proteini ekspresyonunda azalma olan tümörlerin ise antrasiklinlere rezistan olduğu gösterilmiştir (34). Yapılan bir çalışmada meme kanserinde TOPO II alfa aşırı ekspresyonunun hücrel kötü diferansiyasyon, tümörün saldırganlığı ve diğer kötü prognostik faktörlerle ilişkili olduğu gösterilmiş, fakat bu çalışmada sağkalım üzerine etkisi saptanamamıştır (35).

2.5. TOPO II alfa' nın HER 2 ile ilişkisi

HER-2 amplifikasyonu gösterilen meme kanseri hastalarının yaklaşık olarak %90'unda simültane olarak TOPO II alfa geninde de sapmalar olduğu gösterilmiştir. HER-2 amplifikasyonu ve TOPO II alfa sapmaları (amplifikasyon ve delesyon)' nın prediktif değerini değerlendiren iki büyük çok merkezli ve bir küçük çalışma yapılmıştır. Bu üç çalışmada da primer ve ileri evre meme kanserlerinde KT olarak antrasiklinler (Topoizomeraz II inhibitörü) kullanılmıştır. İleri evre meme kanseri hastalarında yapılan çalışmada HER-2 durumu ile kemosenitivite arasında korelasyon gösterilememiştir. HER-2 amplifikasyonu olan hastaların büyük bir kısmında antrasiklin tedavisi ile hem tam cevap ve hem de progresif hastalık olguları görülmüştür. Bunun yanında HER-2 amplifikasyonu olan ve tam cevap alınan olguların tamamında TOPO II alfa amplifikasyonu görülürken, HER-2 amplifikasyonu olan ve progresyon gösteren hastalarda TOPO II alfa delesyonu gösterilmiştir. Adjuvan çalışmada ise HER-2 amplifikasyonu görülen hastalardan sadece Topoizomeraz II alfa amplifikasyonu olan hastalar antrasiklin tedavisinden fayda görmüşlerdir (35-37).

2.6. Meme kanserinde TOPO 2 alfa'nın diğer immünolojik belirleyiciler ile ilişkisi

TOPO II alfa ekspresyonunun sadece proliferen olan hücrelerde gözleendiği ve yüksek ekspresyon hızı ile meme kanserinin hızlı proliferasyonu arasında korelasyon olduğu konusunda fikir birliği vardır. Ayrıca hormon reseptörü negatifliği, HER-2 aşırı ekspresyonu, P-53 mutasyonu, DNA anoploidisi, az diferansiye tümör histolojisi gibi kötü prognostik faktörlerin TOPO II alfa aşırı ekspresyonu ile birlikteliği gösterilmiştir (34).

3-HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından TT-04-11 proje numarası ile desteklenmiş ve Erciyes Üniversitesi Tıp fakültesi etik kurul onayı (karar no: 04/24) almıştır. Çalışmamızda yüksek riskli ve düşük riskli meme kanseri tanısıyla adjuvan tedavi almış hastalarda TOPO II alfa aktivitesinin prognostik öneminin gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu hastalarda TOPO II alfa aktivitesi İHK boyaması ile değerlendirildi. Tümör spesmenlerinin TOPO II alfa boyanma derecesi ile tümör davranışının göstergesi olabilecek faktörlerden tümörün grade'i, reseptör durumu, histopatolojik tip, HER-2 boyanma derecesi, tümör çapı, lenf nodu tutulumunun olması ve sayısı, yaş, menopoz durumu arasında ilişki olup olmadığı değerlendirildi. Ayrıca hastalısız sağkalım süresi üzerine etkisine de bakıldı.

3.1. Hastalar

Çalışmaya Mart 1999-Haziran 2003 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Ünitesi' ne meme kanseri tanısıyla başvuran, primer tümöre yönelik cerrahi yapılmış ve 21'i yüksek riskli, 16' sı ise düşük riskli kabul edilerek adjuvan tedavi alan ve takip edilen toplam 37 hasta alındı. Yüksek riskli meme kanseri grubunda dört veya daha fazla lenf nodu tutulumu olan, lenf nodu kapsülü dışına yayılım tespit edilmiş veya T4 kabul edilen ileri evre, orta veya yüksek grade' li tümörü

olan hastalar bulunuyordu. Düşük riskli meme kanseri grubunda ise aksiller lenf nodu tutulumu olmayan, histolojik olarak orta veya düşük grade' li tümörü olan, çoğu reseptör pozitif hastalardı.

3.2. Tedavi

Toplam 37 meme kanseri hastasından 21' i yüksek riskli meme kanseri tanısıyla adjuvan KT olarak CA (Siklofosamid 600 mg/m² 1. gün ve Adriamisin 60 mg/m² 1. gün) 21 gün ara ile 4 kür, ardında Docetaxel 100 mg/m² 21 gün ara ile 2-4 kür şeklinde KT aldılar. Düşük riskli kabul edilen 3 hastaya herhangi bir tedavi verilmezken, 4'üne sadece hormonal tedavi, 9'una ise KT verilmişti. Düşük riskli grupta KT alan hastalardan 1' ine CEF (Siklofosamid 600 mg/m² 1. gün, Epirubisin 75 mg/m² 1. gün, Fluorourasil 600 mg/m² 1. gün 3 haftada bir), diğerlerine ise CMF (Siklofosamid 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) verilirken, her iki gruptaki hastalardan reseptör pozitifliği gösterilenlere KT sonrası hormonal tedavi verilmişti. Hormonoterapi olarak Tamoksifen 2x10 mg uygulandı. Yüksek riskli hastaların tamamı KT sonrası adjuvan RT alırken, düşük riskli hastalardan sadece 1'i adjuvan RT almıştı.

3.3. İmmünohistokimyasal analiz

Parafin bloklardan elde edilen doku örneklerinden İHK çalışması bir seferde yapıldı. Tüm preparatlar hastaların klinik ve histopatolojik özelliklerini bilmeyen iki patolog tarafından değerlendirildi. TOPO II alfa için, Topoisomerase II alpha Ab-3 (Clone 3F6) (NeoMarkers, USA) fare monoklonal antikoru kullanıldı. HER-2 için, cerb B2/Her-2/neu Ab-17 (Clone C2-4001+3b5) fare monoklonal antikoru (NeoMarkers, USA) kullanıldı.

İmmünohistokimyasal boyamalar için %10 formalin tespiti 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 sonrada 5 dakika %96'lık alkolde bekletildi. Çeşme suyu ile 5 dakika ve tamponlanmış yıkama solusyonunda 5 dakika 2 kez yıkandıktan sonra 10 dakika mikrodalga cihazında retrieval solusyon içinde (dilüe sitrat buffer 1/10) %50 güç seviyesinde bekletildi. Bir damla poliklonal primer antikor damlatıldı ve 30 dakika bekletildi. Yıkama solusyonunda 5 dakika bekletildikten sonra 2-3 damla streptoavidin 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 bir dakika tutularak zıt boyanma sağlandı. Menekşe rengi oluşana 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.

Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda hücrenin nükleer boyanma yoğunluğuna göre değerlendirildi. Büyük büyütmede TOPO II alfa boyanmasının görüldüğü tümör alanından sayılan 100 tümör hücresinden pozitif boyananların sayısına göre oranlama yapıldı. Tüm preparatlar **tablo 2'** de belirtilen özelliklere göre negatif, 1+, 2+, 3+ ve 4+ olarak skorlandı. Bu skorlara göre sonuçlar; 0, 1+ ve 2+ skorlar negatif, 3+ ve 4+ skorlar pozitif olarak değerlendirildi (38).

Tablo 2. İHK boyamasında Topoizomeraz II alfa skorlaması

Skor	Boyanma özelliği	Rapor
0	Boyanma olmaması (<%1)	Negatif
1+	Hücrelerin %1-10' nunda nükleer boyanma olması	Negatif
2+	Hücrelerin %10-%35'inde nükleer boyanma olması	Negatif
3+	Hücrelerin %35-%70'inde nükleer boyanma olması	Pozitif
4+	Hücrelerin >%71 nükleer boyanma olması	Pozitif

HER-2 boyasının değerlendirmesinde ise, tüm preparatlar **tablo 3'** de belirtilen özelliklere göre negatif, 1+, 2+ ve 3+ olarak skorlandı. Bu skorlara göre sonuçlar; negatif ve 1+ skorlar negatif, diğerleri 2+ ve 3+ olarak raporlandı.

Tablo 3. İHK boyamasında HER-2 skorlaması

Skor	Boyanma özelliği	Rapor
0	Boyanma olmaması veya görülen hücrelerin %10'undan daha azında membran boyanması görülmesi.	Negatif
1+	Hücrelerin %10'undan daha fazlasında membran boyanması görülmesi. Boyanma hücre membranlarının bir kısmı ile sınırlı	Negatif
2+	Hücrelerin %10'undan fazlasında hafif veya orta derecede membran boyanmasının olması	Zayıf pozitif
3+	Hücrelerin %10'undan fazlasında kuvvetli membran boyanmasının olması	Kuvvetli pozitif

3.4. İstatistik

İstatistiksel analizler "SPSS" soft ware kullanılarak yapıldı. Yaşın ve lenf nodu sayısının TOPO II alfa pozitifliği ile karşılaştırılması nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi ile, menopoz durumu, histopatoloji, aksiller lenf nodu tutulumu, evre, HER-2 pozitifliği, reseptör durumu ile TOPO II alfa boyanmasının 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 ile (Cox regresyon modeli) 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

Yirmi biri yüksek riskli, 16' sı düşük riskli, 1' i erkek diğerleri kadın toplam 37 hasta çalışmaya alındı. Tüm hastalar için ortalama yaş 42 yıl (sınırlar 23-78) iken yüksek riskli hastalarda 39 yıl (sınırlar 23-68), düşük riskli hastalarda 51 yıl (sınırlar 28-78) idi. On altı hasta (%43.3) postmenopozal idi. Bunlardan 6 hasta (%37.5) yüksek riskli, 10 (%62.5) hasta ise düşük riskli idi. Premenopozal 21 hastanın (%56.7) 15'i (%71.4) yüksek riskli, 6'sı (%28.6) düşük riskli idi. Meme kanseri, 14 (%38) hastada sol meme, 23 (%62) hastada ise sağ meme yerleşimli idi. Histopatolojik olarak 32 (%86.5) hasta IDK tanısı alırken, 1 hasta invaziv papiller karsinom (İPK), 1 hasta invaziv lobuler karsinom (İLK), 2 hasta ise invaziv medüller karsinom (İMK) tanısı almıştı. Bir hastada ise duktal, lobüler ve papiller komponentleri içeren mikst tipte invaziv kanser tespit edilmişti. Düşük riskli kabul edilen 16 hastada lenf nodu tutulumu yoktu. Yüksek riskli kabul edilen hastalarda ise ortalama tutulan lenf nodu sayısı 11 nod (sınırlar 2-29) idi. Yirmi hastada (%54) hormon reseptörü negatif iken, 17 hastada (%46) pozitif idi. İki hasta evre I, 15 hasta evre II, 20 hasta ise evre III idi. Tüm hastalar için ortalama takip süresi 32.5 ay (sınırlar 18-64) idi. Yüksek riskli hastalar için ortalama takip süresi 40 ay (sınırlar 20-64), düşük riskli hastalar için ise 31.5 ay (sınırlar 18-63) idi. Hastaların klinik özellikleri **tablo 4**'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Hasta özellikleri

Özellikler	n	%
Hasta sayısı	37	100
Yaş (ortanca)	42 yıl (sınırlar 23-78)	
Grade		
Grade 1	2	5.4
Grade 2	23	62.2
Grade 3	7	18.9
Bilinmeyen	5	13.5
Menopoz		
Premenopoz	21	56.8
Postmenopoz	16	43.2
Meme yerleşimi		
Sağ	23	62.0
Sol	14	38.0
Histopatoloji		
İDK	32	86.5
İLK	1	2.7
İPK	1	2.7
İMK	2	5.4
Mikst (Duktal-lobuler-papiller)	1	2.7
Lenf nodu tutulumu		
0	16	43.3
1-3	3	8.1
4-9	6	16.2
≥10	12	32.4
Evre		
Evre I	2	5.4
Evre II A	13	35.1
Evre II B	2	5.4
Evre III A	6	16.3
Evre III B	1	2.7
Evre III C	13	35.1
Östrojen ve/veya progesteron reseptörü		
Pozitif	17	45.9
Negatif	20	54.1
Yaş		
≤35 yıl	6	16.2
>35 yıl	31	83.8

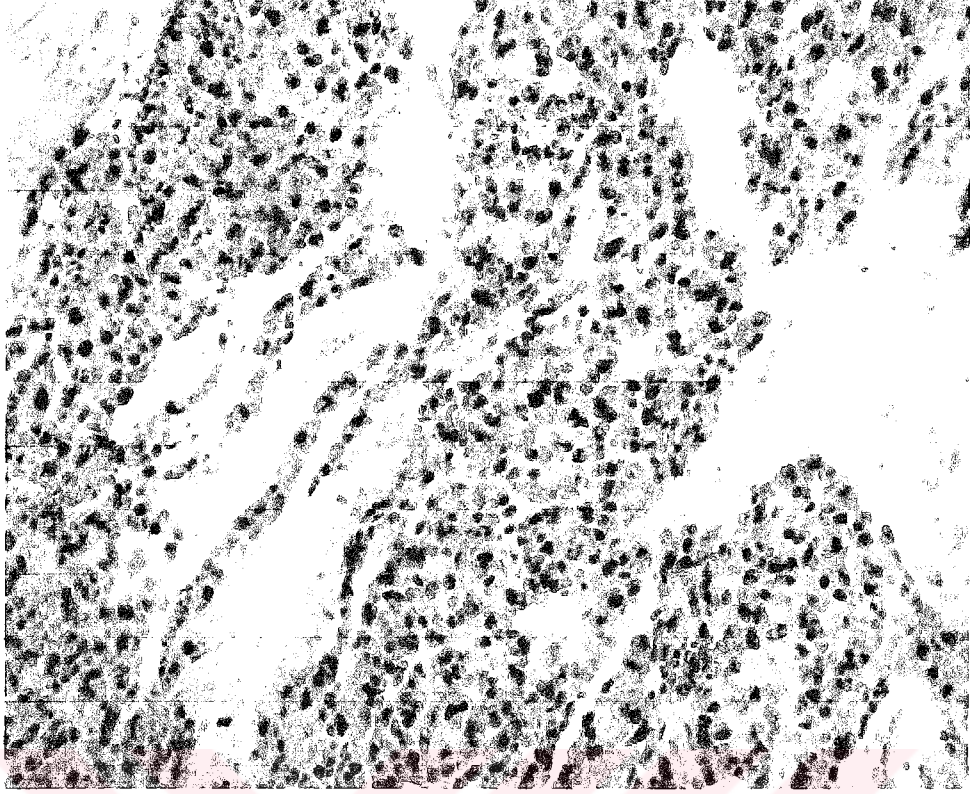
4.2. TOPO II alfa boyanma sıklığı

Hastaların %45.9' u (17 hasta) TOPO II alfa ekspresyonu açısından pozitif olarak değerlendirildi. Hastaların %35.1'i zayıf pozitif (2+) olarak TOPO II alfa ekspresyonu gösterirken geri kalanlar negatif boyanma olarak değerlendirildi (Tablo 5).

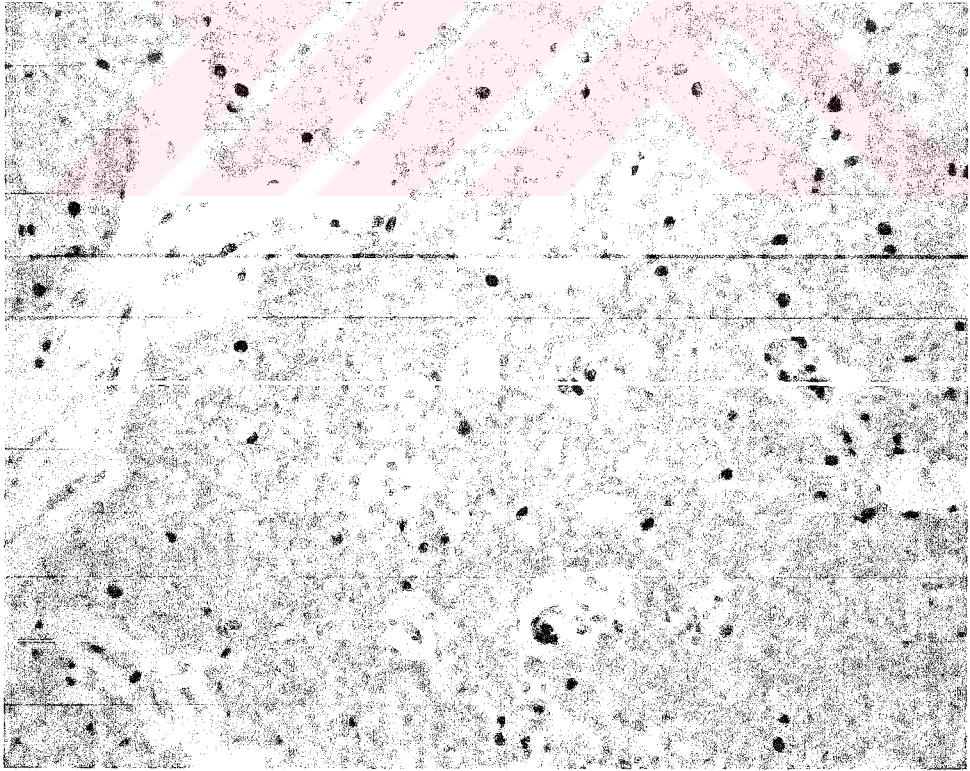
Tablo 5. Tüm hastalarda saptanan TOPO II alfa ekspresyonu

TOPO II alfa ekspresyonu	n	%
Negatif	1	2.7
1+	6	16.2
2+	13	35.1
3+	6	16.2
4+	11	29.7

TOPO II alfa ekspresyonunun kuvvetli olarak saptandığı hastalarda klinik özelliklere göre belirlenen ekspresyon yüzdeleri **tablo 6'**da gösterilmiştir. TOPO II alfa ekspresyonunun pozitif ve negatif olarak değerlendirildiği örnekler **şekil 1'** de gösterilmiştir. TOPO II alfa ekspresyonunun klinik ve histopatolojik özelliklerle ilişkisi **tablo 7-9'** de gösterilmiştir. Buna göre çalışmamızda tümörün grade' i, çapı, lenf nodu pozitifliği, lenf nodu sayısının artması, evre ve yaş ile TOPO II alfa aşırı ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilmiştir. Yaş ve lenf nodu sayısı ile TOPO II alfa ekspresyonunun ilişkisi **şekil 2 ve 3'** de gösterilmiştir.



(A)



(B)

Şekil 1. İmmünohistokimya boyamasında TOPO II alfa ekspresyonu pozitif (A) ve negatif (B) olarak değerlendirilen boyamalar.

Tablo 6. TOPO II alfa ekspresyonunun hasta özelliklerine göre değerlendirilmesi

Özellikler	n	%
Toplam	17/37	45.9
Düşük riskli	2/16	12.5
Yüksek riskli	15/21	71.4
Yaş		
≤35	3/6	50
>35	14/31	45.2
Menopoz durumu		
Premenopoz	13/21	61.9
Postmenopoz	4/16	25.0
Histopatoloji		
İDK	16/33	48.5
Diğerleri	1/4	25.0
Lenf nodu tutulumu		
0	2/16	12.5
1-3	3/3	100.0
4-9	5/6	83.3
≥10	8/12	66.7
Evre		
Evre I	0/2	0.0
Evre II	3/15	20.0
Evre III	14/20	70.0
Grade		
Orta ve düşük grade	9/25	36.0
Yüksek grade	5/7	71.4
Bilinmeyen	2/5	40.0
Östrojen ve/veya progesteron reseptörü		
Pozitif	5/17	29.4
Negatif	12/20	60.0
HER-2 boyanması		
Negatif	7/18	38.9
Pozitif	10/19	52.6

Tablo 7. TOPO II alfa ekspresyonunun klinik özelliklerle ilişkisi

Değişkenler	TOPO II alfa ekspresyonu		X ²	p
	Negatif n (%)	Pozitif n (%)		
Menopoz Durumu				
Premenopoz	8 (40.0)	13 (76.5)	3.60	0.058
Postmenopoz	12 (60.0)	4 (23.5)		
Tümör Çapı				
T1	5 (25.0)	0 (0.0)	7.98	0.019*
T2	13 (65.0)	10 (58.8)		
T3	2 (10.0)	7 (41.2)		
Lenf Nodu				
Negatif	14 (70.0)	2 (11.8)	10.44	0.001*
Pozitif	6 (30.0)	15 (88.2)		
Evre				
I	2 (10.0)	0 (0.0)	10.43	0.005*
II	12 (60.0)	3 (17.6)		
III	6 (30.0)	14 (82.4)		

*İstatistiksel olarak anlamlı

Tablo 8. TOPO II alfa ekspresyonunun histopatolojik özelliklerle ilişkisi

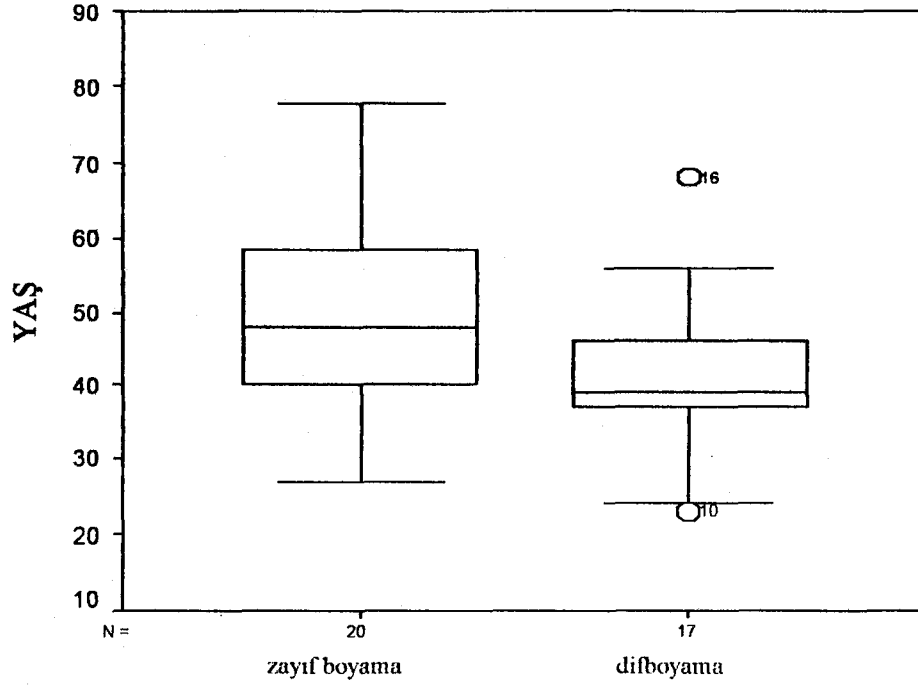
Değişkenler	TOPO II alfa ekspresyonu		X ²	p
	Negatif n (%)	Pozitif n (%)		
Grade				
Orta ve düşük grade (1+2)	16 (80.0)	6 (33.3)	5.87	0.015*
Yüksek grade (3)	4 (20.0)	11 (64.7)		
Hormon reseptörü				
Pozitif	12 (60.0)	5 (29.4)	2.34	0.126
Negatif	8 (40.0)	12 (70.6)		
Östrojen reseptörü				
Pozitif	9 (45.0)	3 (17.6)	2.01	0.725
Negatif	11 (55.0)	14 (82.4)		
Progesteron Reseptörü			Fisher's	
Pozitif	6 (30.0)	4 (23.5)	exact test	0.234
Negatif	14 (70.0)	13 (76.5)		
Histopatoloji			Fisher's	
IDK	17 (85.0)	16 (94.1)	exact test	0.234
Diğerleri	3 (15.0)	1 (5.9)		
HER-2 boyaması				
Negatif	11 (55.0)	7 (41.2)	0.258	0.61
Pozitif	9 (45.0)	10 (58.8)		

*İstatistiksel olarak anlamlı

Tablo 9. TOPO II alfa ekspresyonunun pozitif lenf nodu sayısı ve yaş ile ilişkisi

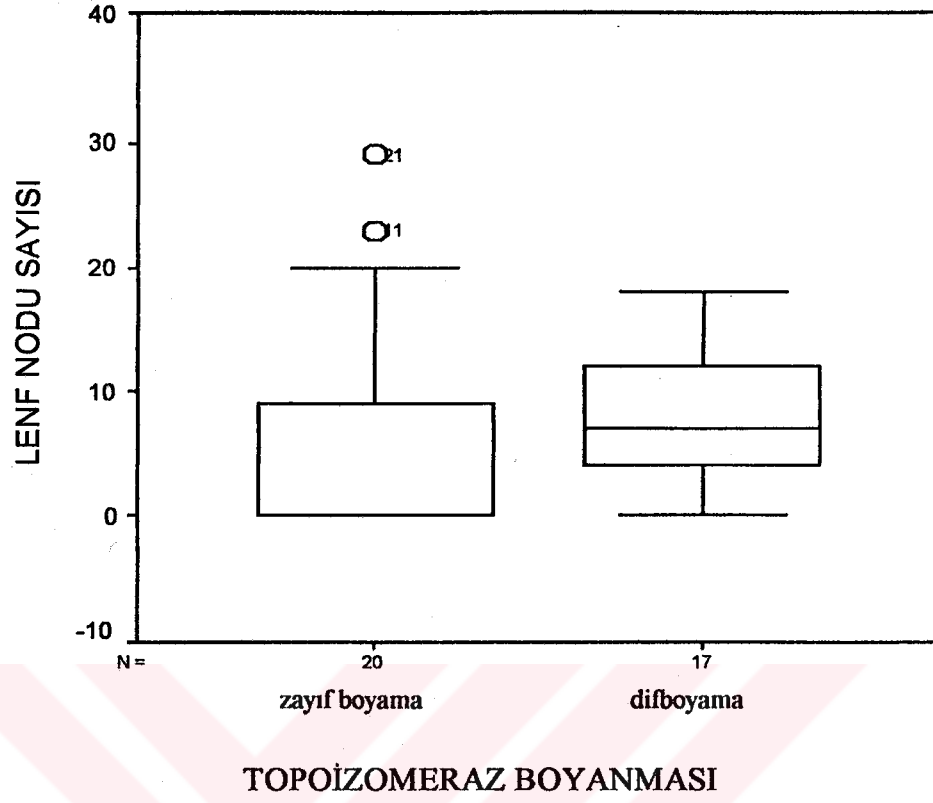
Değişkenler	TOPO II alfa ekspresyonu		Mann-Whitney U	p
	Negatif n (%)	Pozitif n (%)		
Lenf nodu sayısı (ortanca)	4 adet	7 adet		
(Min.-Maks.)	(0-29)	(0-18)	100	0.033*
Mean Rank	310	393		
Yaş (ortanca)	48 yıl	39 yıl		
(Min.-Maks.)	(27-78)	(23-68)	102	0.039*
Mean Rank	448	255		

*İstatistiksel olarak anlamlı



TOPOİZOMERAZ BOYANMASI

Şekil 2. Yaş ile TOPO II alfa ekspresyonu arasındaki ilişki.



Şekil 3. Pozitif lenf nodu sayısını ile TOPO II alfa ekspresyonu arasındaki ilişki.

4.3. Sağkalım

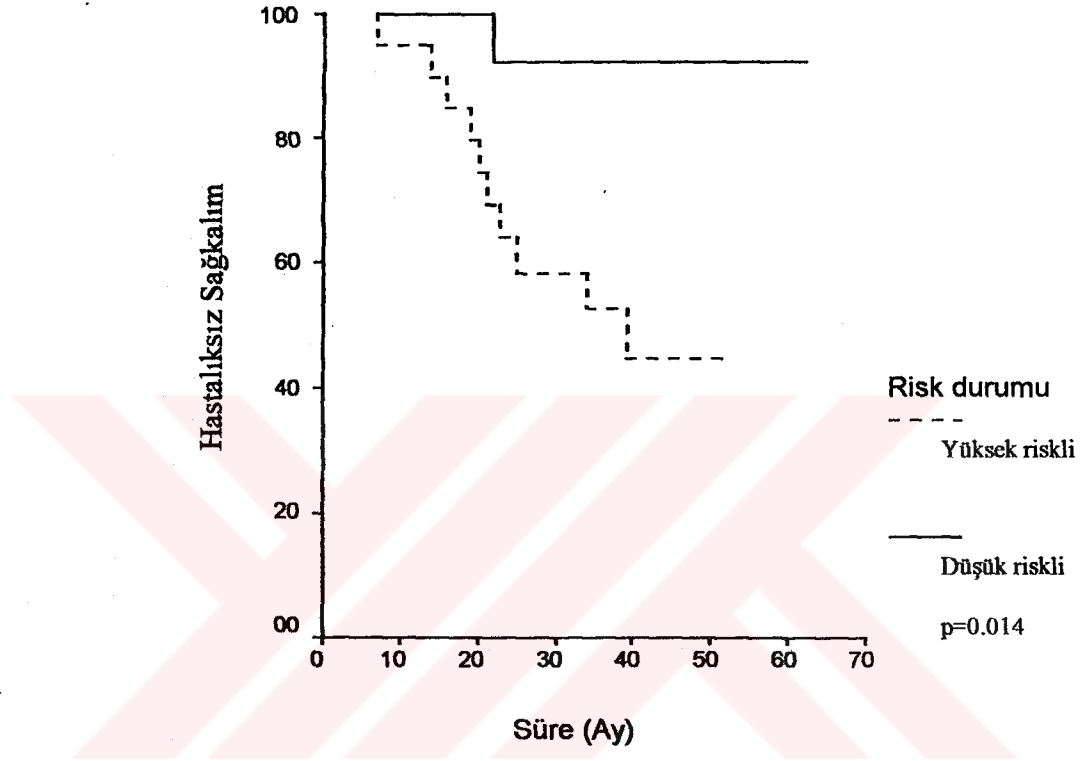
Hastaların takiplerinde 12 hastada (%32.4) nüks saptandı. Bunlardan sadece 1' i (%2.7) düşük riskli hastalık grubunda idi ve hastalık 22. ayda nüks etti. Bu hasta; 60 yaşında, tümör grade'i 2, reseptörleri negatif, evre IIA, TOPO II alfa ve HER-2 ekspresyonu negatif ve 6 kür CMF kürü almıştı. Yüksek riskli olup nüks saptanan hastalardan 6' sı (%16.2) öldü. Nükslerden 7'si (%18.9) tek organda görülürken, 5'i (%13.5) birden çok organda gelişmişti. Nüks gözlenen 12 hastanın 9'unda (%75) TOPO II alfa ekspresyonu görülürken, 6 hastada (%50) HER-2 ekspresyonu gözlendi. Ölen 6 hastanın 4'ünde (%66.7) topoizomeraz ekspresyonu gözlenirken, 3' ünde (%50) HER-2 ekspresyonu gözlendi. Nükslerin organlara göre dağılımı ve nüks saptanan hastalarda TOPO II alfa ve HER-2 ekspresyonu Tablo 10' da gösterilmiştir.

Tablo 10. Saptanan nüks bölgelerinin organlara göre dağılımı

Metastaz bölgeleri	n	%	TOPO II alfa ekspresyonu	HER-2 ekspresyonu
Tek organ tutulumu	7	18.9		
Kemik	5	13.5		
1. hasta			4+	1+
2. hasta			2+	3+
3. hasta			3+	2+
4. hasta			0	0
5. hasta			4+	3+
Karaciğer	1	2.7	3+	3+
Akciğer	1	2.7	3+	3+
Çoklu organ tutulumu	5	13.5		
Kemik ve lokal nüks	1	2.7	3+	2+
Akciğer ve beyin	1	2.7	4+	2+
Kemik ve beyin	1	2.7	2+	3+
Kemik+akciğer+beyin	2	5.4		
1. hasta			4+	3+
2. hasta			2+	1+
Toplam	12	32.4		

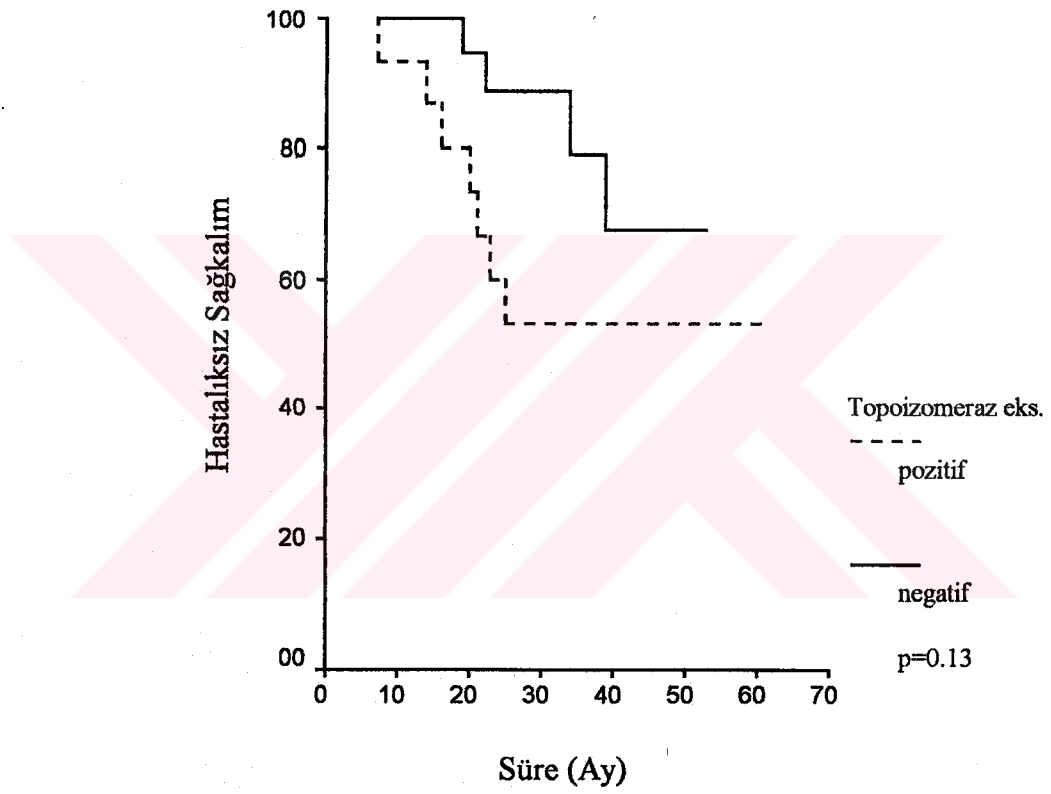
Tüm hastalar için 5 yıllık sağkalım %73.1 iken, yüksek riskli hastalar için %61.6 idi. Beş yıllık süre içerisinde düşük riskli hastalardan ölen olmamıştı. Beş yıllık hastaliksız sağkalım tüm hastalar için %62.8 iken yüksek riskli meme kanseri hastalarında % 45.1, düşük riskli meme kanseri hastalarında %92.3 idi. Ortalama hastaliksız sağkalım süresi tüm hastalar için 47.7 ± 3.5 ay (%95 GA 40.8-54.6) iken, yüksek riskli hastalar için 39.8 ± 3.8 ay (%95 GA 28.9-48.9), düşük riskli hastalar için 58.0 ± 3.0 ay (%95 GA 53.1-64.7) olarak hesaplandı. Her iki grup arasında hastaliksız

sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0.014$). Her iki grup için hastaliksız sağkalım eğrileri şekil 4’ de gösterilmiştir.



Şekil 4. Risk gruplarına göre hastaliksız sağkalım eğrileri.

TOPO II alfa aşırı ekspresyonu gösteren hastalarda ortalama hastaliksız sağkalım süresi 41.5 ± 5.8 ay (%95 GA 30.2-52.8) iken, TOPO II alfa ekspresyonu göstermeyenlerde ise 45.9 ± 3.0 ay (%95 GA 4.0-51.9) idi. Her iki grup arasında hastaliksız sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.14$). Her iki grup için sağkalım eğrileri **şekil 5'** de gösterilmiştir. TOPO II alfa ve HER-2 ekspresyonuna göre 3 ve 5 yıllık sağkalım oranları **tablo 11'** de gösterilmiştir.



Şekil 5. TOPO II alfa ekspresyonuna göre hastaliksız sağkalım eğrileri.

Tablo 11. Hastaların hesaplanan yaşam oranları

	3 yıl (%)	5 yıl (%)
Hastaliksız sağkalım		
Tüm hastalar	68.0	62.8
TOPO II alfa ekspresyonu		
Var	53.3	53.3
Yok	78.9	
HER-2 ekspresyonu		
Var	76.5	68.9
Yok	54.5	54.5
Genel sağkalım		
Tüm hastalar	79.2	73.1
TOPO II alfa ekspresyonu		
Var	70.1	70.1
Yok	87.5	
HER-2 ekspresyonu		
Var	80.0	70.0
Yok	92.9	77.4

Hastaliksız sağkalım süresi dağılımının tek değişkenli analize göre (Cox regresyon modeli) değerlendirilmesi **tablo 12'** de gösterilmiştir. Buna göre sadece lenf nodu pozitifliği ve lenf nodu sayısının artması ile hastaliksız sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilmiştir (sırasıyla, p=0.04 ve p=0.03).

Tablo 12. Hastaliksız sağkalım süresinin değişik parametrelerle ilişkisi

Cox	p	Hazard ratio	β	Güven aralığı
Menopoz	0.94	1.047	0.046	0.318 - 3.445
Tümör çapı	0.11			
Tümör çapı (1) [†]	0.79	1.348	0.298	0.157 - 11.596
Tümör çapı (2) ^{††}	0.17	4.578	1.52	0.532 - 39.396
Yaş	0.28	0.481	-0.731	0.127 - 1.824
Lenf nodu pozitifliği	0.04*	8.854	2.18	1.132 - 69.249
Evre	0.10			
Evre (1)*	0.95	-	7.73	-
Evre (2)**	0.94	-	9.96	-
Reseptör durumu	0.98	0.982	-0.18	0.299 - 3.223
ÖR durumu	0.61	0.711	-0.341	0.188 - 2.686
PR durumu	0.44	0.548	-0.601	0.118 - 2.553
Histopatoloji (IDK ve diğerleri)	0.53	22.771	3.125	-
TOPO II alfa ekspresyonu	0.14	2.512	0.921	0.735 - 8.591
HER-2 ekspresyonu	0.57	0.707	-0.347	0.211 - 2.372
Lenf nodu sayısı	0.03*	1.069	0.067	1.005 - 1.138

*İstatistiksel olarak anlamlı

**Evre (1); Evre I' e göre evre II' nin ilişkisi, **Evre (2); evre I' e göre evre III' ün ilişkisi.*

†Tümör çapı (1); T2' nin T1' e göre ilişkisi, ††Tümör çapı (2); T3'ün T1' e göre ilişkisi.

5-TARTIŞMA

Meme kanseri son yıllarda tarama tetkiklerinin yaygınlaşması ile daha erken evrelerde yakalanabilmektedir. ABD' de 1985 yılında hastaların %42.5'i 0-I gibi erken evrelerde yakalanabilirken 1995 yılında bu oran %56.2' ye çıkmıştır (39). Adjuvan hormonal tedavi ve çoklu KT rejimleri ile meme kanserinde nüks ve ölüm oranlarında azalma olmuştur (25,40). Adjuvan tedavi ile mikro metastazları ortadan kaldırarak hastalığın nüks ihtimalini azaltmak hedeflenmekte, fakat çoğu zaman beraberinde bazı riskleri getirmektedir. Bunun için meme kanserinde adjuvan tedavi alacak hastaları ve hangi tedaviden daha iyi sonuç alınacağını belirlemede bazı prognostik ve prediktif faktörlere ihtiyaç vardır.

Meme kanserinde en önemli prognostik faktör aksiller lenf nodu tutulumunun olup olmaması ve tutulan lenf nodu sayısıdır (11). Bugün için kabul gören görüş, lenf nodu tutulumu olan bütün hastalarda eğer kontrendikasyon yok ise adjuvan sistemik tedavi gerekliliğidir. Tutulan lenf nodu sayısı 4 veya daha fazla olanlar daha agresiv tedavi yaklaşımları için adaydır. Lenf nodu tutulumu olmayan hastalarda ise sistemik tedavi uygulanıp uygulanmaması veya hangi tedavinin seçilmesi gerektiğini belirlemek için daha farklı prognostik ve prediktif faktörlerin bilinmesi gerekmektedir. Çalışmamızda 37 hastanın 21'i, dörtten fazla lenf nodu tutulumu veya lenf nodu kapsülünü aşan tümör nedeniyle yüksek riskli hasta grubu olarak kabul edilmiştir.

Yüksek riskli hastalarımızda tutulan lenf nodu sayısı ortanca 11 olarak hesaplanmıştır. Bu hastalara antrasiklin içeren bir rejim olan CA KT' si 4 kür uygulanmış ve ardışık olarak 2-4 kür daha dozetaksel verilmiştir. Kalan 16 hasta ise lenf nodu tutulumu olmayan adjuvan KT ve/veya hormonal tedavi uygulanan hastalardan seçilmiştir.

Meme kanserinde diğer bağımsız prognostik faktörler ise tümör çapı, ÖR ve PR durumudur. Bunların dışında tümörün grade' i ve hastanın yaşı da prognostik önem taşımaktadır. Bilinen biyolojik faktörlerden ise reseptör durumu ve HER-2 durumu hem prognostik hem de prediktif önem taşımaktadır. Proliferasyon göstergelerinden S-faz fraksiyonu, Mİ ve Ki-67 prognostik olarak kullanılabilir (41).

HER-2 ve TOPO II alfa' nın hem prognostik hem de prediktif değeri olabileceğinden bu iki biyolojik faktör üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır. Meme kanserinde onkogen aktivasyonu için baskın olan genetik mekanizma gen amplifikasyonudur. HER-2 ve TOPO II alfa genleri 17q21-22 kromozomu üzerinde birbirlerine yakın lokalizasyonda yerleştiklerinden bu iki genin koamplifikasyonu gösterilmiştir (42). Çalışmamızda TOPO II alfa boyaması pozitif olan 17 hastadan 10' unda (%58.8) aynı zamanda HER-2 pozitifliği de vardı. HER-2 pozitifliği gösterilen 19 hastanın 10' nunda (%52.6) TOPO II alfa pozitifliği tespit edildi. Literatürde HER-2 amplifikasyonu gösterilen hastalarda TOPO II alfa amplifikasyonu veya ekspresyonunun görülme sıklığı yaklaşık %30-40 olarak bildirilmiştir (35,38,43). Çalışmamızda TOPO II alfa ekspresyonunun diğer çalışmalara göre daha yüksek çıkmasının nedeni seçilen meme kanseri hastalarının özellikleri, çalışmalarda boyama tekniklerinde ortaya çıkabilecek sorunlar, ırksal farklılıklar veya değerlendirmede kullanılan kriterlerde standardizasyon olmayışına bağlı olabilir.

HER-2 aşırı ekspresyonu; HER-2 geninin gösterilmesi, HER-2 proteinin hücre yüzeyinde gösterilmesi veya HER-2 ilişkili antikorların serumda varlığının belirlenmesi ile yapılabilir. Bugün altın standart yöntem FISH (florasan insitu hibridizasyon) ile HER-2 geninin varlığının gösterilmesidir. FISH' in uygulamasının zorluğuna karşın İHK çok daha kolay ve çabuk uygulanabilmekte, birçok rutin patoloji laboratuvarında çalışılabilir (44, 45). Slamon ve arkadaşları ilk kez 1986 yılında HER-2 aşırı ekspresyonu ile sağkalım ilişkisini yayınladılar. Bu çalışmada hem hastaliksız hem de genel sağkalım HER-2 aşırı ekspresyonu gösteren hastalarda daha düşüktü (46). Geçen 7 yıllık süre içerisinde çeşitli geniş çalışmalarla HER-2 durumu ile sağkalım arasında önemli ilişki olduğu gösterilmiştir. Birçok İHK çalışmasında bu ilişki tek değişkenli analizlerle gösterilirken çok değişkenli analizle bağımsız bir prognostik faktör olarak

gösterilememiştir. Meme kanserinde HER2 3+ saptanma oranı literatürde %10-34 arasında bildirilmiştir (32). Çalışmamızda HER-2 durumu İHK boyaması ile değerlendirildi. Toplam 37 hastanın 19' unda (%51.4), 21 yüksek riskli hastadan 13' ünde (%61.9), 16 düşük riskli hastanın 6'sında (%37.5) HER-2 3+ olarak bulundu. Ayrıca 10 hastada (%27) HER-2 2+ olarak değerlendirildi. Çalışmamızdaki HER-2 pozitiflik oranı genel literatürden yüksek bulunmuştur. Türkiye' den HER-2 ile ilgili yapılan çalışmalarda genel literatürden daha yüksek pozitiflik oranları bildirilmiştir. Coşkun HS' nin çalışmasında İHK boyaması ile değerlendirmede HER2 3+ hasta oranı %31.8, negatif hasta oranı %29.9 ve zayıf pozitif (2+) hasta oranı %38.3 olarak bulunurken, zayıf ve kuvvetli pozitifliğin birlikte oranı %60.1 olarak yüksek bulunmuştur (47).

Güler N ve arkadaşlarının çalışmasında HER-2, 36 olgunun 6' sında %16 oranında pozitif saptanmıştır (48). Baltalarlı B ve arkadaşlarının 19 olgusundan 17'sinde HER-2 pozitif boyanmıştır. HER-2 pozitifliği 15 olguda %25'den fazla 2 olguda %25'den az pozitifdir. Bu skorlamaya göre HER-2 2+ ve 3+ hasta oranı 15/19 (%78.9) olmaktadır (49). Baltalarlı ve arkadaşlarının çalışmasındaki HER-2 pozitiflik oranı Güler ve arkadaşlarının çalışmasından çok yüksektir. Bu iki çalışmada HER-2 İHK olarak parafin bloklarda incelenmiştir. Yazıcı ve arkadaşları, PCR yöntemi ile HER-2 gen amplifikasyonu değerlendirmiş ve 14 hastanın 7' sinde (%50) HER-2 pozitifliği saptamışlardır (50). Göre ve arkadaşlarının 83 meme kanserli vakayı değerlendirdikleri çalışmada takibi olan 57 olgunun 35' inde HER-2 pozitif ve 22 hastada negatiftir. Elde edilen oran 35/57' dir (%61.4) (51).

TOPO II alfa ve HER-2 genlerindeki değişikliklerin birlikte olabileceği görüşü bizim çalışmamız tarafından da desteklenmiştir. Çalışmamızda her iki biyolojik değişiklik, literatürde belirtilen oranların üzerinde saptanmıştır. Buna göre, çalışmamızdaki metodoloji ile ilgili olabilecek hatanın, sonucu etkileyebilecek düzeyden uzak olduğu görüşündeyiz. HER-2 pozitif ve negatif hastalarda 3 yıllık ve 5 yıllık hastalısız ve genel sağkalım oranları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat çalışmamızda genel sağkalım süresini değerlendirmek için yeterli takip süresine henüz ulaşılmamıştır. Ayrıca tek değişkenli analizde HER-2 durumu ile hastalısız sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

HER-2 ekspresyonu aynı zamanda tedavinin belirlenmesinde prediktif önem de taşımaktadır. Bunlardan en önemlisi hedefe yönelik tedaviler içerisinde yer alan Trastuzumab kullanımı olup ileri evre meme kanserinde tek başına veya KT ile kombine

olarak kullanılmaktadır. Ayrıca CMF direnci, taksan direnci, tamoksifen direnci ile HER-2 ekspresyonu arasında ilişki vardır (32). HER-2 durumu ile antrasiklin içeren rejimlere duyarlılık arasında ilişkinin araştırıldığı pek çok çalışma vardır. Yapılan invitro çalışmalarda kemosenitivite ile HER-2 durumu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Fakat HER-2 ekspresyonu gösteren hastaların %90'ında beraberinde TOPO II alfa geninde sapmalar tespit edilmiştir. Fakat bu ilişki sanıldığından daha karmaşık olup Topoizomeraz geninde amplifikasyon olduğunda TOPO II alfa ekspresyonu artmakta, gendeki delesyon sonucu ise ekspresyon azalmaktadır (34). İleri evre meme kanseri hastalarında yapılan bir çalışmada HER-2 ekspresyonu gösterilen ve antrasiklin içeren tedavi rejimlerine cevap alınamayan hastalarda topoizomeraz geninde delesyon, tam cevap alınan hastaların tamamında ise amplifikasyon gösterilmiştir (36). Bu durum adjuvan çalışmalarla da desteklenmiştir (37). Buna göre HER-2 pozitif meme kanseri hastalarında antrasiklin cevabını TOPO II alfa genindeki sapmalar belirleyecektir. Fakat bununla birlikte HER-2 ile TOPO II alfa arasındaki etkileşim sadece DNA düzeyinde kalmamakta hücre kültürü çalışmalarında HER-2 ekspresyonunun direkt olarak TOPO II alfa enzim düzeyini de artırdığı gösterilmiştir (34). Çalışmamızda yüksek riskli ve nüks gösteren hastaların tamamı antrasiklin ve taksan içeren tedavi rejimi aldıklarından bu iki değişken ile KT cevabı arasındaki ilişki değerlendirilememiştir. Aynı zamanda her iki değişken için yüksek aktivite tespit edilen hastalar antrasiklin içeren KT rejimleri ile tedavi edildiğinden hastalısız sağkalım ile bu değişkenler arasındaki ilişkinin tam olarak belirlenmesi mümkün olmayabilir. Bunun için daha fazla hasta sayısı ve farklı KT'lerle tedavi edilen hasta gruplarında çok değişkenli bağımsız prognostik faktörleri belirlemek gerekmektedir.

TOPO II alfa' nın özellikle meme kanserinin temel kemoterapötik ilacı olan antrasiklinlere alınacak cevap için prediktif bir gösterge olduğunu gösteren pek çok çalışma olmasına rağmen prognostik önemini gösteren daha az çalışma vardır. Nakopoulou ve arkadaşlarının çalışmasında 88 invaziv meme kanseri tanısı almış hastanın parafin bloklarından immünohistokimyasal olarak TOPO II alfa boyası yapılmıştır. TOPO II alfa boyanmasının niceliksel değerlendirmesinde yüksek nükleer grade, negatif ÖR ve PR, yüksek derecede Ki-67 boyanma, P53 protein birikimi ve yüksek derecede HER-2 aktivasyonu ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkili olduğu gösterilmiştir. Düşük oranda Bcl-2 protein ekspresyonu ile yüksek TOPO II alfa aktivitesi arasında da anlamlı ilişki olduğu gösterilirken, menopoz durumu, tümör çapı, histolojik tip, grade, lenf nodu durumu ve sayısı ile TOPO II alfa aktivitesi arasında

anlamli bir iliski olmadigi gosterilmistir. Aynı calismada TOPO II alfa aktivitesi niteliksel olarak degerlendirilmis ve aynı faktörlerle arasında anlamli bir iliski saptanmistir. Bu calisma cox modelinde TOPO II alfa aktivitesi hastaliksiz sagkalim için anlamli bagimsiz bir etki gostermezken, tek degiskenli analizde tümör çapı, histolojik grade, lenf nodu durumu, evre ve ER durumu anlamli bir şekilde hastaliksiz sagkalim üzerine etkili bulunmuştur (35).

Depowski PL ve arkadaşlarının calismasında ise 184 hastanın hazır parafin bloklarından TOPO II alfa boyası yapılmis ve tek degiskenli analizde topoizomeraz ekspresyonu ile sagkalim süresi, tümör çapı, lenf nodu metastazi olması, evre ve HER-2 ekspresyonu arasında anlamli bir iliski saptanmistir (52).

Koren R ve arkadaşlarının yakın zamanda yayınladıkları 50 hastalık İHK calisması sonuçlarına göre TOPO II alfa ekspresyonu ile sagkalim süresi, tümör grade' i ve reseptör durumu arasında anlamli iliski olduğu ve bu sonuca göre tümörün davranış şekli ve sagkalim açısından TOPO II alfa' nın prognostik öneminin olduğu vurgulanmıştır (53).

Calismamızda ise 21'i yüksek riskli, 16' sı düşük riskli olmak üzere adjuvan tedavi alan toplam 37 hastanın hazır parafin bloklarından immünohistokimyasal olarak TOPO II alfa degerlendirildi. Niteliksel olarak degerlendirmemizde tümör çapı, lenf nodu pozitifligi ve sayısının artması, yüksek tümör grade' i ve 35 yaşın altında olma ile TOPO II alfa aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamli iliski gösterildi. Tek degiskenli analizde hastaliksiz sagkalim üzerine bizim hastalarımızda lenf nodu pozitifligi ve sayısının artması istatistiksel olarak anlamli bir etki gösterirken, TOPO II alfa aktivitesinin anlamli bir etkisi olmamıştır. Calismamızdaki bulgulara göre meme kanserinde kuvvetli olarak prognoz üzerine etkili olduğu gösterilen aksiller lenf nodu durumu, sayısı, tümör grade' i ve hastanın yaşı gibi parametrelerle yüksek derecede TOPO II alfa aktivitesinin iliskisi gösterilmiştir. Reseptör negatifligi ve HER-2 aktivitesinin direkt olarak tümör davranışını yansıttığı konusunda bilgiler çeliskilidir. Buna göre calismamızdaki veriler tümörün agresiv davranışı ile TOPO II alfa ekspresyonu arasındaki iliskiyi diğer calışmalara göre daha fazla doğrulayıcı niteliktedir. Bunun dışında genellikle düşük grade' li tümörü olan, iyi klinik seyir gösterdikleri kabul edilen ve 3 hastamızda gösterilen İDK dışındaki kanserlerde (2 hastada İMK, 1 hastada İPK) TOPO II alfa ve HER-2 ekspresyonu tespit edilmemiştir. Bu durum tümör davranışı ile TOPO II alfa ve HER-2 aktivitesi arasındaki iliskiyi desteklemektedir.

TOPO II alfa' nın immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesinde standart bir metod yoktur. Coon JS ve arkadaşlarının lokal ileri evre meme kanserinde yaptıkları çalışmada antrasiklin cevabı ile TOPO II alfa aktivitesi arasındaki ilişkiye bakmışlardır. Bu çalışmada subjektif olarak, gerçek hücre oranına bakılmadan, başka immünohistokimyasal çalışmalarda kullanılan 4' lü skora sistemi kullanılmıştır. Buna göre %1' in altında pozitif tümör hücresi 0, %1-10 arası 1+, %10-35 arası 2+, %36-70 arası 3+, %70 ve üzeri ise 4+ olarak değerlendirilmiştir ve 3+ ve 4+ boyananlar TOPO II alfa ekspresyonu pozitif olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmadaki değerlendirmeye göre 35 lokal ileri evre meme kanseri hastasının 8' inde (%22.8) TOPO II alfa ekspresyonu gösterilmiştir (38). Çalışmamızda ise her büyük büyütme sahasında hastaların klinik bilgilerinden haberdar olmayan iki patolog tarafından 100 tümör hücresi sayılmış ve pozitif olan hücre sayısı kaydedilmiştir. Bunların ortalaması 35 hücre olarak hesaplanmış ve subjektif olarak Coon JS ve arkadaşlarının çalışmasındaki oranların bizim çalışmamızdaki oranlarla uyumlu olduğu kararına varılarak bu skora sistemi kullanılmıştır. Buna göre 35 ve daha fazla hücrede (3+ ve 4+) pozitif boyanma TOPO II alfa ekspresyonu için pozitif, 35 hücreden daha az boyanma ise (0, 1+, 2+) negatif kabul edilmiştir. Bu skora sistemine göre bizim çalışmamızda TOPO II alfa için 1 hastada (%2.7) negatif, 6 hastada (%16.2) 1+, 13 hastada (%35.1) 2+, 6 hastada (%16.2) 3+ ve 11 hastada (29.7) 4+ boyanmıştır. Buna göre tüm hastalar için TOPO II alfa ekspresyonu %45.9, yüksek riskli hastalar için %71.4, düşük riskli hastalar için ise %12.5 bulunmuştur.

Nakopoulou ve arkadaşlarının yaptığı 3'lü skora sisteminde hastalarının %28.4 birinci grup (<%0.5), %46.5'i ikinci grup (%0.5-10), %25'i (>%10) ise üçüncü grup olarak değerlendirilmiştir. Fakat bu çalışmada niteliksel olarak yaptıkları değerlendirmede kullandıkları pozitiflik kriteri net açıklanmamıştır (35). Lynch ve arkadaşları primer ve metastatik 20 hastalık çalışmada iki tecrübeli patolog tarafından nükleer boyanmanın yüzdeleri ile diğer parametrelerin derecelerini karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada niteliksel bir değerlendirme yapılmamış, TOPO II alfa aktivitesi ile tümör grade' i ve MIB1 indeksi arasında anlamlı ilişki gösterilirken; S faz fraksiyonu, Mİ ve reseptör durumu arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir (54). Depowski PL ve arkadaşlarının çalışmasında ise 184 hastanın doku örnekleri değerlendirilmiş ve büyük büyütme sahasındaki pozitif boyanan hücreler sayılmış; bunların yüzdelerinin ortalaması hesaplanarak elde edilen değerin üzerinde olanlar pozitif, altında olanlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir (52). Bu değerlendirmeye göre 58 hastada (%32) TOPO II alfa

ekspresyonu tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki pozitif boyanma oranlarını bizim çalışmamıza uyarladığımızda hastaların %35' inde TOPO II alfa ekspresyonu olduğunu söyleyebiliriz. Bu çalışmalara göre Topoizomeraz II alfa 'nın immünohistokimyasal olarak değerlendirilme kriterlerinde belirsizlik olup bu durum çıkan sonuçları önemli oranda etkileyebilecektir.

Sonuç olarak literatürde TOPO II alfa ekspresyonu meme kanserinde prognostik öneme sahip klinik ve biyolojik faktörlerle birlikteliği gösterilmiştir. Bu durum meme kanserinde TOPO II alfa' nın prognostik bir önemini olabileceğini göstermektedir. Fakat mevcut çalışmalarla TOPO II alfa' nın hastalısız sağkalım ve genel sağkalım üzerine etkisi net değildir. Bu durum literatürdeki çalışmaların genellikle küçük ve az hasta ile yapılmış olmasına, değerlendirme kriterlerindeki farklılıklara, değerlendirilen hasta gruplarının farklı oluşuna ve bu hastalarda uygulanan tedavi farklılıklarına dayanabilir. Çalışmamızda biyolojik olarak tümörün agresiv davranışını yansıtan en önemli faktör olan tümörün grade' i ve klinik olarak en önemli prognostik faktörler kabul edilen lenf nodu tutulumu ve sayısı, tümör çapı, hastalık evresi ve yaş ile TOPO II alfa ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilirken, bu ilişki hastalısız sağkalıma yansımamıştır. Çalışmamızda saptanan TOPO II alfa ve HER-2 pozitiflik oranı literatürdeki diğer çalışmalardan yüksek bulunmuştur. Türkiye' de yapılan çalışmalarda HER-2 pozitifliğinin yüksek bulunması ve birlikte saptamalar gösteren bu iki gen ürününün bizim toplumumuzda yüksek oranda görülmesi belki de bizim hastalarımızda tümörün davranışındaki farklılıklara işaret edebilir. Bu durum TOPO II alfa enzimini hedef alan ilaçlardan antrasiklinlerin meme kanseri hastalarında kullanımının önemini daha da artıracaktır. Kemoterapotik ajan seçiminde iyi bir prediktif faktör olan TOPO II alfa ekspresyonunun prognostik önemini gösteren daha fazla hasta sayısı ile ve hasta gruplarının homojen olduğu çalışmalara ihtiyaç vardır.

6-SONUÇLAR

1- Hastalarımızda TOPO II alfa ekspresyonu (%45.9) bulunmuş olup, bu oran literatürde belirtilen oranlardan daha yüksektir. Bu yükseklik boyamadaki sorunlar, hasta seçimindeki farklıklar ve değerlendirme farklılıklarına bağlı olabileceği gibi bizim meme kanseri hastalarımızın özelliklerini yansıtabilir.

2- HER-2 pozitifliği de bizim hasta grubumuzda ve Türkiye'den bildirilen diğer yayınlarda literatürden yüksek oranda görülmektedir. Birbirleri ile yakın ilişkili ve koamplifikasyon gösteren bu iki gen ürünün de bizim ülkemizde yüksek oranda pozitif çıkması sonuçlarımızı doğrulayıcı niteliktedir. Çalışmamızda yüksek riskli hasta sayısının fazla olması, sonucu bu yönde etkilemiş olabilir.

3- Çalışmamızda tümörün grade' i, çapı, lenf nodu pozitifliği, lenf nodu sayısının artması ve genç yaş ile TOPO II alfa ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilmiştir. TOPO II alfa ve hastalısız sağkalım arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir. Bu bulgular tümörün agresiv davranışı ile TOPO II alfa arasında ilişki olduğunu ve her ne kadar bizim hasta grubumuzda sağkalım ile ilişkisi anlamlı düzeylerde gösterilememiş olsa da prognostik öneminin olabileceğini düşündürmektedir.

4- Histopatolojik olarak İMK ve İPK tanısı alan hastalarımızda TOPO II alfa ekspresyonu gösterilememiştir. Daha iyi klinik davranışlı ve genellikle düşük grade' li olduğu bilinen bu tümörlerde TOPO II alfa ekspresyonunun gösterilememesi, bu enzimin agresiv davranışlı tümörlerle olan ilişkisini desteklemektedir.

5- HER-2 ve TOP II alfa oranlarının bizim hastalarımızda literatürde bildirilenden daha yüksek olması meme kanserinin seyrinin, kemoterapi ve hormonoterapide kullanılan ilaçlara olan cevabın toplumsal farklılıklar gösterebileceğini düşündürmektedir. Büyük ve homojen hasta grubu ile yapılacak ulusal bir çalışma ile bu konu aydınlatılabilir.



7-KAYNAKLAR

- 1- Greenle RT, Murray T, Bolden S, et al. Cancer statistics 2000. CA Cancer J Clin 2000;50:7-33.
- 2- Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics 1993. C.A. Cancer J Clin 1993;43:4-26.
- 3- Tannock IF, Hill RP (eds): The basic science of Oncology. 2nd ed. New York, Mc Graw-Hill, 1992.
- 4- Mocklin MT: Comparison of the number of breast cancer death observed in relatives of patients and the number expected on the basis of mortality rates. JNCI 1959:927-40.
- 5- Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D, et al: BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. Science 1994;266:120-2.
- 6- Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BCRA2, to chromosome 13 q. Science 1994;265:2088-90.
- 7- 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.
- 8- Thomas HV, Reeves GK, Key TJ, et al. E, et al. Endogenous estrogen and postmenopausal breast cancer: a quantitative review. Cancer Causes Control. 1997;8(6):922-8.

- 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- 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.
- 11- 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.
- 12- Mittra I, Mac Rae KD. A meta-analysis 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.
- 13- Koscielny S, Tubiana M, Le 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.
- 14- 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.
- 15- Fisher ER, Redmond C, Fisher B. Histologic grading of breast cancer. *Pathol Annu*. 1980;15(1):239-51.
- 16- Topuz E, Aydın A, Dinçer M. Meme Kanseri. In: Bavbek S (eds), Meme Kanserinde Prognostik Faktörler. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2003, pp.72-89.
- 17- 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.
- 18- Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1994;16:35-42.
- 19- 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.
- 20- Clark GM, McGuire WL. Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. *Semin Oncol*. 1988;15(2 Suppl 1):20-25.

- 21- Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer Principles and Practice of Oncology. In: Malignant Tumors of Breast. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2001, pp. 1651-1717.
- 22- Hortobagyi GN. Treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 1998; 339 (14): 974-84.
- 23- Recht A: The return of postmastectomy radiotherapy. *J Clin Oncol* 1995;13:2861-84.
- 24- 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.
- 25- Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet* 1998;352(9132):930-42.
- 26- 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.
- 27- Hortobagyi GN, Singletary SE, Stom EA: Treatment of locally advanced and inflammatory breast cancer. In: Disease of the Breast. Eds. Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 2000, pp645.
- 28- 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.
- 29- 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(4):588-92.
- 30- Sparano JA. Compilation of phase I and II trial data of docetaxel and doxorubicin in the treatment of advanced breast cancer and other malignancies. *Semin Oncol.* 1998;25(Suppl 13):10-5.
- 31- Altınbaş M. Meme kanserinin hormonal tedavisi. *Erciyes Tıp Dergisi* 2001;23(1):34-49.

- 32- Ross JS, Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene: prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Semin Cancer Biol.* 1999;9(2):125-38.
- 33- Ellis MJ, Coop A, Singh B, et al. Letrozole Is More Effective Neoadjuvant Endocrine Therapy Than Tamoxifen for ErbB-1- and/or ErbB-2-Positive, Estrogen Receptor-Positive Primary Breast Cancer: Evidence From a Phase III Randomized Trial. *J Clin Oncol* 2001;18(19):3808-16.
- 34- Jarvinen TA, Liu ET. HER-2/neu and topoisomerase IIalpha in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2003;78(3):299-311.
- 35- Nakopoulou L, Lazaris AC, Kavantzas N, et al. DNA topoisomerase II-alpha immunoreactivity as a marker of tumor aggressiveness in invasive breast cancer. *Pathobiology.* 2000;68(3):137-43.
- 36- Tanner M, Jarvinen TAH, Kauraniemi P, et al. Topoisomerase II α amplification and deletion predict response to chemotherapy in breast cancer. *P Am Assoc Canc Res* 2000(Abst);41:803.
- 37- Di Leo A, Gancberg D, Larsimont D, et al. HER-2 amplification and topoisomerase IIalpha gene aberrations as predictive markers in node-positive breast cancer patients randomly treated either with an anthracycline-based therapy or with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res.* 2002;8(5):1107-16.
- 38- Coon JS, Marcus E, Gupta-Burt S, et al. Amplification and Overexpression of Topoisomerase II α Predict Response to Anthracycline-based Therapy in Locally Advanced Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1061-106.
- 39- Bland KI, Menck HR, Scott-Connor CE, et al. The National Cancer Data Base 10-year survey of breast cancer at hospitals in the United States. *Cancer* 1998;83:1262-1273.
- 40- Tamoxifen for early breast cancer: an overview of randomized trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet* 1998;351:1451-67.
- 41- Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and Predictive Factors in Early-Stage Breast Cancer. *The Oncologist* 2004;9:606-16.
- 42- Smith K, Houlbrook S, Greenall M, Carmichael J, Harris AL. Topoisomerase II alpha co-amplification with erbB2 in human primary breast cancer and breast cancer cell lines: relationship to m-AMSA and mitoxantrone sensitivity. *Oncogene.* 1993;8(4):933-8.

- 43- Durbecq V, Di Leo A, Cardoso F, et al. Comparison of topoisomerase-II alpha gene status between primary breast cancer and corresponding distant metastatic sites. *Breast Cancer Res Treat.* 2003;77(3):199-204.
- 44- Schaller G, Evers K, Papadopoulos S, Ebert A, Buhler H. Current use of HER2 tests. *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl (1):97-100.
- 45- Thor A. HER2--a discussion of testing approaches in the USA. *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl (1):101-7.
- 46- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987 Jan 9;235(4785):177-82.
- 47- Coskun HS. Meme kanserinde HER-2 onkoprotein ekspresyonu. Tıbbi Onkoloji Uzmanlık Tezi 2002. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji BD, Kayseri.
- 48- Güler N, Baltalı E, Canpınar H, ve ark. Meme kanserlerinin DNA analizi, hormon reseptörleri ve C-erbB-2 onkogen ekspresyonu yönünden değerlendirilmesi. X. Ulusal Kanser Kongresi, İstanbul, 3-7 Mayıs 1993.
- 49- Baltalarlı B, Demirkan NÇ, Özer A, ve ark. Meme tümörlü olgularda sağkalım sonuçları ve etkileyen faktörler (26 olgu). 6. Ulusal Meme Hastalıkları Kongresi, İstanbul, 22-26 Eylül 2001.
- 50- Yazıcı H, Müslümanoğlu M, Güzey D, Dalay N. Meme kanserli hastaların tümör ve sağlam dokularında C-ERB B2 geninin analizi. XII. Ulusal Kanser Kongresi, Antalya, 23-26 Nisan 1997.
- 51- Göre O, Canda T, Görken İB, Alanyalı H. Meme kanserinde c-erbB-2 onkoproteini varlığı ve prognostik faktörlerle ilişkisi. IV. Ulusal Meme Hastalıkları Kongresi, İzmir, 5-9 Mart 1997.
- 52- Depowski PL, Rosenthal SI, Brien TP, et al. Topoisomerase II alpha expression in breast cancer: correlation with outcome variables. *Mod Pathol.* 2000;13(5):542-7.
- 53- Koren R, Rath-Wolfson L, Ram E, et al. Prognostic value of Topoisomerase II in female breast cancer. *Oncol Rep.* 2004;12(4):915-9.
- 54- Lynch BJ, Guinee DG Jr, Holden JA. Human DNA topoisomerase II-alpha: a new marker of cell proliferation in invasive breast cancer. *Hum Pathol.* 1997;28(10):1180-8.