

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Patoloji Anabilim Dalı

MEMENİN DUKTAL KARSİNOMLARINDA BRCA-1, BRCA-2 VE
COX-2 İMMUN BELİRLEYİCİLERİNİN TÜMÖR
DİFERANSİYASYONU VE DİĞER PROGNOSTİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Gülin ŞİMŞEK

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ali Rıza KANDİLOĞLU

Manisa, 2007

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Patoloji Anabilim Dalı

MEMENİN DUKTAL KARSİNOMLARINDA BRCA-1, BRCA-2 VE
COX-2 İMMUN BELİRLEYİCİLERİNİN TÜMÖR
DİFERANSİYASYONU VE DİĞER PROGNOSTİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Gülin ŞİMŞEK

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ali Rıza KANDİLOĞLU

Manisa, 2007

Patoloji eğitimim ve tez hazırlığım boyunca bilgi ve deneyimini tüm içtenliğiyle benimle paylaşan, anlayış ve desteğini hep yanımda hissettiğim, bilgisine hayran olduğum ve her zaman kendime örnek alacağım tez hocam Prof. Dr. Ali Rıza Kandiloğlu'na, eğitimime katkıları yanı sıra ihtiyacım olduğu her durumda yardım ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Aydın İşisağ'a, enerjisine ve bilgisine hayran olduğum Doç.Dr. Semin Ayhan'a, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, dostluğunu hep hissettiğim Yrd. Doç.Dr. Peyker Temiz'e, çalışkanlığı ve azmi ile bana örnek olan arkadaşım Yrd. Doç Dr. Nalan Neşe'ye, ilişkilerimizde arkadaşlık ve dostluğun ön planda olduğu ve uyum içinde çalıştığımız asistan arkadaşlarıma, tezimin klinikle korelasyonunda yardımlarını azımsayamayacağım Prof. Dr. Teoman Coşkun'a, eğitimim sürecindeki yardımlarını unutmayacağım, teknik destekleri olmasa bu tezi tamamlayamayacağım teknisyen ve arşiv görevlisi arkadaşlarıma, tezimin immunohistokimyasal boyama aşamasında titizlikle çalışan Arzu Çatalkaya'ya ve tezimin istatistiksel değerlendirmesinde yardımcı olan Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Pınar Erbay Dünder'a teşekkür ederim.

Hayatı benimle paylaşan ve beni daima destekleyen sevgili eşim Murat Şimşek'e, gereksinim duyduğumda hep yanımda olan anneme babama ve ablama, hiçbir zaman unutmayıp hep hatırlayacağım kardeşime ve dostlarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Gülin Şimşek

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	2
Duktal hiperplazi.....	5
Atipik duktal hiperplazi.....	7
Duktal karsinoma in situ.....	7
İnvaziv duktal karsinom.....	10
Ailesel meme kanserleri.....	11
Prognostik faktörler.....	14
İmmunohistokimyasal belirleyiciler.....	20
BRCA-1.....	20
BRCA-2.....	21
Cox-2.....	22
p53.....	23
Ki-67.....	25
<i>c-erbB-2</i>	25
Östrojen ve progesteron reseptörleri.....	26
III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
IV. BULGULAR.....	31
V. TARTIŞMA.....	54
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
VII. ÖZET.....	66
VIII. İNGİLİZCE ÖZET.....	68
IX. KAYNAKLAR.....	70

KISALTMALAR

DH	: Duktal hiperplazi
ADK	: Atipik duktal hiperplazi
DKIS	: Duktal karsinoma in situ
hCG	: Human chorionic gonadotropin
GCDFP-15	: Gross cystic disease fluid protein-15
Cox	: Siklooksigenaz
PG	: Prostaglandin
PGE2	: Prostaglandin E2
VEGF	: Vascular endothelial growth factor
bFGF	: Fibroblatic growth factor beta
TGF	: Transforming endothelial growth factor
PDGF	: Platelet-derived endothelial growth factor
NSAI	: Non-steroid antiinflamatuvar ilaç

GİRİŞ

Meme karsinomları kadınlarda en sık görülen karsinomlardır ve kansere bağlı ölümlerde akciğer karsinomlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Son yıllarda mamografinin daha yaygın kullanımı ile meme karsinomlarının görülme sıklığında da artış saptanmaktadır. Bu nedenle meme kanserleri ile ilgili etyolojik ve prognostik çalışmalar önem kazanmaktadır. Prognozu etkileyen birçok etken bulunmakla birlikte en önemlisi tanı anında kanserin evresidir. Meme kanserlerinin erken evrede yakalanabilmeleri için kanser risklerinin ve bu riskleri taşıyan kişilerin saptanabilmesi oldukça önemlidir.

Meme kanserleri olguların büyük bir kısmı sporadik olmakla birlikte kalıtsal ya da ailesel meme kanserleri tüm meme kanserlerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Meme kanserleriyle ilişkili en sık görülen BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonları tüm ailesel meme kanserlerinin %20-50'sinde görülür. Bu mutasyona sahip olgularda (70 yaşına kadar) meme kanseri gelişme riski %7-84'tir. Bu mutasyonların saptanması profilaktik mastektomi ile kansere bağlı ölüm riskinin azaltılabilmesi nedeniyle önem kazanmaktadır.

Cox-2, hücre proliferasyonu, mitoz, hücre adezyonu, apoptozis, immünsüpresyon ve anjigenezis üzerinde etkileri ile malign transformasyon ve tümör progresyonunda yer almaktadır. Cox-2'nin prognozu belirlemede yararlı bir faktör olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada tüm meme kanserlerinin %10'unu oluşturan ailesel meme kanserlerinde etkili olduğu bilinen BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonlarının immunohistokimyasal olarak saptanması ve meme kanserlerinin prognozunu öngörmeye yardımcı olabileceği belirtilen Cox-2'nin belirlenmesi, tümör diferansiyasyonu ve diğer prognostik parametrelerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

MEME KARSİNOMLARI

Meme modifiye ter bezidir. Erişkinde göğüs duvarında 2-3. kot ve 6. kotlar arasında lokalizedir. Pektoralis majorun yüzeysel ve derin fasyaları arasında yer alır. Normal matür meme 30-500 gram arasında değişir. Boyutu ve dansitesi vücut yapısına göre değişkenlik gösterir. Her bir meme birbiriyle anastomozu olmayan ve makroskopik olarak sınırları seçilemeyen 15-20 segment ya da lobdan oluşur. Her lob meme başına toplayıcı bir duktus ile açılır. Toplayıcı duktus meme parankimine doğru laktiferöz sinüs, segmental, subsegmental ve terminal duktus olarak dallanır ve binlerce lobülle sonlanır. Terminal duktus ve ilgili lobül terminal duktal lobüler birimi (TDLU) oluşturur. TDLU meme patolojilerinin büyük oranda geliştiği bölgedir (1-3).

Meme karsinomları kadınlarda en sık görülen karsinomlardır ve kansere bağlı ölümlerde akciğer karsinomlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Meme karsinomlarının görülme sıklığı coğrafik bölgelere göre farklılık göstermektedir (3-6).

Son yıllarda mamografinin daha yaygın kullanımı ile meme karsinomlarının görülme sıklığında artış saptanmıştır. Ancak olguların çoğunda meme karsinomu sınırlı, 2 cm'den daha küçük çapta ya da in situ karsinomdur. Son zamanlara kadar tümör çapındaki küçülme sağkalım oranlarına yansımamış olmakla birlikte günümüzde meme karsinomu mortalitesinde hafif bir düşme dikkati çekmektedir. Mortalitedeki bu düşüşün

erken tanı ve tedavi etkinliğindeki artış ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (4,7).

Bir kadında meme kanseri gelişme olasılığını etkileyen birçok etken ortaya konmuş olup bunlar Tablo 1’de özetlenmektedir. Bu tablodan da görülebileceği gibi risk faktörleri etkili olanlar ve etkili olduğu düşünülen faktörler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (3-6).

Tablo 1. Meme karsinomu gelişime olasılığını etkileyen faktörler

Faktör	Bağıl risk
Etkili faktörler	
Coğrafi faktörler	
Yaş	25 yaşında sonra artar
Aile öyküsü	
Meme kanserli 1. derece akraba	1.2–3.0
Premenopozal	3.1
Premenopozal ve bilateral	8.5–9.0
Postmenopozal	1.5
Postmenopozal ve bilateral	4.0–5.4
<i>Menstrüel öykü</i>	
Menarş yaşı <12	1.3
Menopoz yaşı >55	1.5–2.0
<i>Gebelik</i>	
İlk canlı doğumu 25–29 yaşlarında	1.5
İlk canlı doğumu 30 yaşından sonra	1.9
İlk canlı doğumu 35 yaşından sonra	2.0–3.0
Nullipar	3.0
Benign meme hastalığı	
Proliferatif hastalık	1.9
Atipik hiperplazili proliferatif hastalık	4.4
Karsinoma in situ	6.9–12.0
<i>Etkili olduğu düşünülen faktörler</i>	
Dışarıdan östrojen alımı	
Oral kontraseptivler	
Obesite	
Yağdan zengin diet	
Alkol tüketimi	
Sigara	

Uzun süre endojen östrojen etkisinde kalma

Özellikle yaşamın ilk on yıllarında söz konusu olduğunda önemli bir risk faktörü olmaktadır. Menstrüel siklusun erken başlaması, geç menopoz, nulliparite, geç çocuk sahibi olma, laktasyon dönemlerinin kısa sürmesi gibi durumlar östrojenik etki süresini artırdığı için riski de artırmaktadır.

Yaş

Meme kanseri bazı familyal olgular dışında 25 yaşın altında alışılmış değildir. Bu yaştan sonra başlayan artma eğilimi tüm yaşam boyu kendini gösterir. Menopoza dek yukarıya doğru çizilen grafik menapozdan sonra plato çizer (8).

Coğrafi faktörler

Meme karsinomlarının görülme sıklığı coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 100000 yeni olgu saptanmakta ve yaklaşık 30000 olgu da meme karsinomu nedeniyle ölmektedir. Kuzey Avrupa ülkelerinde bu oran daha yüksek olmakla birlikte güney Avrupa ve Latin Amerika ülkelerinde daha düşüktür. En düşük görülme sıklığı ise Asya ve Afrika ülkelerinde gözlenmektedir (4).

Önceden var olan proliferatif meme hastalığı

Meme kanserlerinin önemli bir kısmı daha önce tanımlanmış benign lezyonlardan gelişir. Memenin intraduktal proliferatif lezyonları sitolojik ve yapısal olarak heterojen lezyonlardır. Klasik olarak memenin intraduktal proliferatif lezyonları duktal hiperplazi (DH), atipik duktal hiperplazi (ADH) ve duktal karsinoma in situ (DKIS) olarak sınıflandırılmaktadır. Özellikle ADH ve duktal ve lobüler karsinoma in situ önemli bir risk faktörleridir.

Yapılan bir çok çalışma meme karsinomunun sol memede sağa göre biraz daha sık geliştiğini göstermiştir. Meme içindeki yerleşimi açısından ise olguların %50'si üst dış kadranda yerleşimlidir. Üst iç kadranda %15, alt dış kadranda %10, alt iç kadranda %5 oranında görülür. Santral ya da subareolar bölgede %17 gibi bir orana sahip iken %3'ü diffüzdür (massif ya da multifokal) (4).

Fisher ve arkadaşları invaziv duktal karsinomların %13'nün multisentrik olduğunu, bunların üçte birinin küçük invaziv odaklar gerisinin ise in situ karsinom morfolojisinde olduğunu belirtmişlerdir (9). Multisentrisite lobüler karsinomlarda duktal karsinoma göre daha siktir.

İnvaziv meme karsinomu bulunan olguda karşı memede karsinom gelişme riski beş kat daha fazladır. Eğer aile öyküsü varsa bu oran daha da yüksektir (10).

Meme kanserlerinin çoğu duktus epitelinden diğerleri ise lobül epitelinden köken almaktadır. Meme karsinomlarının sınıflaması Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Meme karsinomlarının sınıflaması ve görülme sıklıkları

Tümörler	Oranlar
İn situ karsinomlar	%15-30
Duktal karsinoma in situ	%80
Lobüler karsinoma in situ	%20
İnvaziv karsinomlar	%70-85
Klasik tip invaziv duktal karsinom	%79
Lobüler karsinom	%10
Tubuler/kribriform karsinom	%6
Müsinöz (kolloid) karsinom	%2
Medüller karsinom	%2
Papiller karsinom	%1
Metaplastik karsinom	%1'den az

İntraduktal Hiperplazi

Hiperplazi, bazal membran üzerinde yer alan hücre sayısının artışı olarak tanımlanabilir. Normalde bu hücre sayısı ikidir ancak hiperplazide üç ya da daha fazla sayıdadır. Bu değişiklikler premenopozal dönemde sıklıkla görülür. Kanser gelişme riski toplumdan 1-2 kat fazladır. DH makroskopik olarak bulgu vermez. Histolojik kesitlerde duktal hiperplaziler epitelin proliferasyon derecesine göre hafif, orta ve şiddetli olarak gruplandırılır. Hafif

DH'de lobül ya da duktuslardaki proliferasyon üç ya da dört sırayı geçmez. Hafif hiperplazinin meme kanseri gelişimi ile ilişkisi yoktur. Orta derecede hiperplazide ise beş ya da daha fazla hücre sırası görülür. Prolifere hücrelerin lümen içine doğru kümelenme ve duktusun karşı tarafına geçme eğilimi vardır. Şiddetli hiperplazilerde ise epitelyal proliferasyon oldukça belirgindir. Duktus lümenini geçen epitelyal köprüler oluşur ve proliferere hücreler lümeni tamamen doldurup genişletebilir (3-6,11,12).

DH'ler heterojen hücre topluluğunun çoğalmasıyla karakterlidir. Yalnızca epitelyal hücrelerden oluşabileceği gibi myoepitelyal hücreler ve metaplastik apokrin hücreler de içerebilir. Duktal hiperplazilerin sitomorfolojik özellikleri Tablo 3'te özetlenmiştir.

Tablo 3. Duktal hiperplazilerin sitomorfolojik özellikleri

Duktal hiperplazilerin morfolojik görünümü
Düzensiz ve yarık şeklinde boşluklar
Epitelyal köprüler
Periferel deliklenmeler
Hücrelerde akarsu görünümü
Nükleuslarda düzensiz dağılım ve üst üste binme
Duktal hiperplazilerin sitolojik görünümü
Hücrel polimorfizm (epitelyal hücreler, myoepitelyal hücreler ya da metaplastik apokrin hücreler)
Epitelyal hücrelerin görünümünde çeşitlilik
Hücre sınırlarında belirsizlik
Nükleuslarda değişkenlik (oval, yuvarlak, iğsi ya da anguler)

Orta ve şiddetli duktal hiperplaziler invaziv meme karsinomu gelişim riskini 5-15 yıllık sürede 1,5-2 kat artırır. Karsinom memenin herhangi bir yerinde ya da her iki memeden birinde gelişebilir (11,12).

Atipik Duktal Hiperplazi (ADH)

Atipik duktal hiperplazi terimi meme kanseri gelişimi riskinde artışa neden olan histolojik bir paterni belirtir . Yapısal bazı özellikleri DH'ye, bazı özellikleri ise DKIS ile benzerlik gösteren proliferatif lezyonlardır. Ortalama görülme yaşı DH'lere benzer biçimde 40 yaş üstüdür. Spesifik bir klinik ve mamografik bulgusu yoktur (11,12).

ADH ve düşük dereceli DKIS ayrımında boyut farkı dışında düşünce birliği bulunmamaktadır. Tavassoli ve Norris 2 mm'den küçük in situ karsinom morfolojisindeki lezyonların ADH olarak değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. ADH, DH ve düşük dereceli DKIS ayrımında önemli olan bazı histomorfolojik özellikler Tablo 4'te yer almaktadır.

ADH ve düşük dereceli DKIS genotipik olarak da benzerlik gösterir. Her ikisinde de 16q ve 17q kaybı ve 1q kazanımları bulunmaktadır (11,12) .

İmmunofenotipik olarak ADH ve düşük dereceli karsinoma in situ'lar benzer proliferasyon indeksi ve hormon reseptör ekspresyonu gösterirken, p53 ve *c-erbB-2* ekspresyonu bulunmaz. Klinik olarak düşük dereceli karsinoma in situdan kanser gelişme riski normal memeye göre 8-10 kat olup aynı memede düşük dereceli invaziv kanser gelişimi söz konusudur. ADH'lerde ise kanser gelişme riski 3 kattır ve her iki meme eşit riske sahiptir. Gelişen kanserler de herhangi bir histolojik tipte ve derecede olabilir (11,12).

Duktal Karsinoma in Situ (DKIS)

DKIS malign epitelyal hücrelerin bazal membranı aşmaksızın memenin parankimal yapıları içerisinde yer aldıkları ve invaziv meme kanserine ilerleme riski bulunan lezyonlardır. Hücre tipi, büyüme paterni ve yaygınlığı açısından heterojen bir gruptur. Bu lezyonlar invaziv kansere ilerleme riski ve prognoz açısından da değişik özelliklere sahiptir (3-6,11-13).

Tablo 4. DH, ADH ve DKIS 'nin histomorfolojik farkları

	DH	ADH	DKIS
Boyut	Değişken, nadiren yaygın	2 mm ya da daha küçük Genellikle tek bir lobüler ünit tutulumu	Yaygın olabilir
Hücresel yapı	Değişken	En az bir odakta üniform hücre topluluğu	Uniform
Yapısal özellik	Düzensiz hücre düzenlenimi	Fokal DKIS görünümü	Mikropapiller, kribriiform ya da solid
Lümen yapısı	Düzensiz, yarık şeklinde	Fokal düzenli boşluklar	İyi düzenlenmiş boşluklar
Nükleer özellik	Sekil ve boyut farklılıkları	Hiperkromatik, uniform nükleus	Birbirine eşit aralıklı hücreler

DKIS lezyonlarda geleneksel sınıflama epiteliyal proliferasyonun yapısal özelliklerine göredir; komedo, kribriiform, mikropapiller, solid ve mikst tip gibi. Ancak bu tip sınıflamaların klinik anlamı ve tekrarlanabilirliği sınırlıdır. Yeni sınıflama sistemleri ise sitonükleer dereceyi yalnız başına ya da nekroz ve yapısal özellikler ile birlikte değerlendirmeyi öngörmektedir. Sadece nükleer derece temel alınarak düşük orta ve yüksek dereceli olmak üzere üçlü değerlendirme önerisi bulunmaktadır. Buna göre;

Düşük dereceli DKIS: Monoton, düzenli olarak yerleşmiş, yuvarlak, genellikle küçük (1-2 eritrosit boyutunda) nükleuslu, belirsiz nükleuslu hücrelerden oluşur. Mitoz çok azdır. Nadiren tek hücre nekrozu olabilir. Bu hücreler genellikle mikropapiller ya da kribriiform yapılar daha az olarak da solid patern oluştururlar. Hücrelerin lümenlere ya da mikropapillerin yüzeyine doğru polarizasyonu söz konusudur.

Yüksek dereceli DKIS: Hücreler pleomorfik, düzensiz yerleşimli, nükleuslar düzensiz kenarlı, kaba kromatinli ve belirgin nükleollüdür. Nükleuslar üç eritrosit boyutundan büyüktür. Mitoz sıktır ve atipik mitozlar görülür. Değişik büyüme paternleri sergileyebilir. Genellikle solid gelişim paterni ile birlikte

santral nekroz (komedo tip) ve mikrokalsifikasyon içerir. Daha az olarak nekrozsuz solid gelişim gösterir. Santral nekrozla birlikte mikropapiller ve kribriiform patern de gösterebilir.

Orta dereceli DKIS: Yüksek ya da düşük dereceli sınıfına sokulamayan arada kalan lezyonlardır. Nükleuslar yüksek dereceliye göre daha az olmakla birlikte pleomorfiktir. Nükleus sitoplazma oranı genellikle yüksektir ve bir-iki nükleolus izlenir. Solid, mikropapiller ve kribriiform paternde olabilir.

DKIS bazen değişik alanlarında farklı nükleer derece gösterebilir. Bu durumda en yüksek nükleer derece belirtilmelidir.

Geleneksel sınıflamada yer alan alt tipler:

Komedokarsinom: Duktuslar içerisinde arada bağ doku hücreleri olmaksızın, genellikle büyük ve pleomorfik hücrelerden oluşan, duktus santralinde geniş ve bazen kalsifikasyon içeren nekrozla karakterli lezyondur. Mitoz sıktır. Duktus çevresinde yoğunlaşan fibrozis ve mononükleer yangısal hücre infiltrasyonu bulunabilir.

Solid tip: Lümeni dolduran solid bir hücresel proliferasyon mevcuttur.

Hücreler orta büyüklükte, hücresel sınırları belirgin ve sitoplazma genellikle soluktur.

Kribriiform tip: Hücresel özellikler solid tipe benzer ancak lümen içinde boşlukların oluşması ile karakterlidir. Bu boşluklar düzenli yuvarlak boşluklar olabileceği gibi trabeküller ve "Roma köprüleri" şeklinde de olabilir.

Mikropapiller tip: Lümen içine doğru papiller uzantılar yapan bağ doku desteği bulunmayan küçük papillalardan oluşur.

Diğer daha az görülen tipler ise kistik hipersekretuar, taşlı yüzük hücreli tip, apokrin, berrak hücreli ve nöroendokrin tiptir.

DKIS'nun ayırıcı tanısında bir uçta DH diğer uçta mikroinvaziv karsinom yer almaktadır. Ayrıca solid tipin ayırıcı tanısında lobüler neoplazi de dikkate alınmalıdır. İmmunohistokimyasal olarak E-kaderin ve sitokeratin 34betaE12 ile bu ayırım yapılabilir. Düşük dereceli DKIS E-kaderin (+), CK 34betaE12 (-) , lobüler neoplazi E-kaderin (-), CK 34betaE12 (+) boyanma gösterir (11,12).

Mikroinvaziv karsinomla ayrımı bazı durumlarda oldukça güçtür. Mikroinvaziv karsinom tanısı koymak için ise her biri 1 mm'den küçük 1-2 odak ya da 2 mm'den küçük bir invaziv odak gösterilmelidir. İnvazyon kuşkusunun olduğu durumlarda çok sayıda örnek alınmalı ve p35, düz kas aktini ve CD10 ile myoepitelyal tabakanın varlığı ya da yokluğu belirlenmelidir.

İnvaziv Duktal Karsinom

İnvaziv duktal karsinom tüm meme karsinomlarının %47-75'ini oluşturur. 50 yaşın üstünde daha sık görülür. Tümör palpasyonla ele gelen kitle ya da mamografi ile saptanır. Kitle genellikle 2-3 cm ölçülerdedir ancak çok büyük boyutlara da ulaşabilir. Meme derisinde sertleşme, ödem, portakal kabuğu görünümü, meme başı akıntısı ya da meme başında çekilme görülebilir. Meme tümörlerinin erken tanısındaki artış sayesinde bu gibi klinik bulguların görüle sıklığı da azalmaktadır (3-6,14).

İnvaziv duktal karsinom makroskopik incelemede iyi sınırlı ya da yıldızlı uzantılar gösteren kitle olarak görülür. Yıldızlı uzanımları olan formu yoğun fibrozis içermesi nedeniyle skirö karsinom olarak da tanımlanmıştır. İyi sınırlı ve nodüler lezyonlar ise yuvarlak ve lobüle konturludur. İnvaziv duktal karsinomların yaklaşık üçte ikisinin sınırları düzensiz ve çevre dokuya doğru yıldızlı uzanımlar gösterir. Kesit yüzü sert, sarımsı ya da gri-beyaz renktedir. Nekroz görülebilir. Tümör boyutu birkaç milimetre olabildiği gibi çok büyük boyutlara da ulaşabilir (3,4,14).

Histopatolojik incelemede tümör diffüz tabakalar, yuvalar, kordonlar ya da tek tek saçılmış hücreler halinde gelişim gösterir. Tubul yapıları bulunabilir. Tümör hücreleri değişik şekil ve boyutlardadır. Genellikle eozinofilik sitoplazmalı, iri nükleuslu ve nükleolusları belirgindir. Mitoz sıktır. Nekroz %60 oranında görülebilir. Skuamöz metaplazi, apokrin metaplazi ve berrak hücre değişikliği gösteren odaklar bulunabilir. Stroma az ya da bol olabileceği gibi yoğun fibrotik ya da sellülerdir. Olguların %90'ında bol elastik doku saptanır. Kimi zaman da (yaklaşık %60 olguda) kaba ya da ince

granüler, bazen de psammom cisimciği şeklinde kalsifikasyonlar izlenir. Tümör çevresinde değişen derecelerde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenir. Granülomatöz yangı nadirdir.

Tümörde perinöral, lenf ve kan damarı invazyonları gözlenebilir. Fisher ve arkadaşları %28 oranında perinöral, %33 oranında lenfatik ve %5 oranında da kan damarı invazyonu saptamışlardır (15).

İmmunhistokimyasal incelemelerde tümör hücreleri düşük molekül ağırlıklı sitokeratin (8,18,19) ve EMA ile boyanma gösterir. Özellikle skuamöz metaplazi odakları içeren bazı tümörlerde yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin ile de boyanma gözlenebilir ve %70 oranında laktoalbumin pozitifdir. Meme tümörlerinde S-100 ile %10-45 oranında boyanma saptanır. Bazı tümörlerde hCG, SP-1, GCDFP-15, kromogranin ve laktoferrin ile fokal boyanma izlenebilir (4).

Ailesel Meme Kanseri

Meme kanseri kalıtsal ya da sporadik olabilir. Olguların büyük bir kısmı sporadik olmakla birlikte kalıtsal ya da ailesel meme kanseri tüm meme kanserlerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (16-28). Ailesel meme kanseri bazı özellikleri ile sporadik formlardan farklılık gösterir. Bunlar şöyle sıralanabilir

- Erken başlangıç (olguların %30 kadarı 35 yaş altında iken %1'den azı 75 yaş üstü)
- Bilateral görülme sıklığında artış
- Over, kolon ve prostat kanseri gibi diğer malignitelerle ilişki
- Otozomal dominant geçiş (17).

Meme kanseriyle ilişkili en sık görülen BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonları tüm ailesel meme kanserlerinin %20-50'sinde görülür. p53, ATM, PTEN ve STK11 gibi diğer genlerden kaynaklanan genetik sendromlarla ilişkili meme kanseri ise küçük bir bölümünü oluşturur. BRCA1/2 mutasyonları ile ilişkili meme kanserlerinin tersine diğer nadir

genetik sendromlarla ilişkili meme kanserlerinde ayırıcı bir özellik tanımlanmamıştır (16).

BRCA-1 ve BRCA-2 genleri meme kanseri ile ilişkili en iyi tanımlanmış genlerdir. Meme ve over kanserli çoğu aile ya da erken başlangıçlı meme kanserli bazı olgular bu genlerden birinin mutasyonuna dayandırılır. Bu mutasyona sahip olgularda (70 yaşına kadar) meme kanseri gelişme riski %7-84'tir. Over kanseri gibi diğer malignitelerin de gelişme riskinde anlamlı bir artış vardır. BRCA-1 ve BRCA-2 mutasyonu olan olgularda over kanseri gelişme riski sırasıyla %44 ve %27'dir (16).

BRCA-1 İle İlişkili Meme Kanseri

BRCA-1 bir tümör süpresör genidir ve 17. kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir. BRCA-1 geni 24 eksondan oluşur ve 1853 amino asitten oluşan bir protein kodlar. Bu protein DNA çift zincir kırılmalarının onarımı, transkripsiyon regülasyonu, hücre siklus kontrolü, kromatin remodelasyonu gibi çok sayıda işleve sahiptir (6,16,17, 20, 23). Bu gendeki mutasyonlar yalnızca meme ve over kanserine neden olmamakta ayrıca serviks, endometrium, tuba, periton, mide, karaciğer ve prostat kanseri gelişimine de yatkınlık oluşturmaktadır (16). Toplumdaki BRCA-1 gen mutasyonunun yaygınlığı (prevalans) %0,01-%0,02'dir (16). Bazı etnik ve coğrafi gruplarda, özellikle Aşkenazi yahudilerinde daha sıktır. Bu mutasyonların saptanması profilaktik mastektomi ve/veya ooforektomi ile kansere bağlı ölüm riskinin azaltılabilmesi nedeniyle önemlidir.

Ailesel meme karsinomlarında bir mutant BRCA alleli kalıtımla aktarılır, diğer allel ise somatik mutasyonla inaktive olur. Nadiren BRCA-1 ve BRCA-2 mutasyonları sporadik tümörlerde de görülebilir. Bir çok olguda heterozigosite kaybı ve promoter metilasyonu her iki allelin inaktivasyonu ile sonuçlanır. Hipermetilasyon karsinomların %13'ünde saptanır. Hipermetilasyon medüller karsinom (%67) ve müsinöz karsinomda (%55) yüksek orandadır ki bu tümörler BRCA-1 taşıyıcılarında daha sık görülür (6).

BRCA-1 ilişkili meme kanserlerindeki mamografik bulgular sporadik kanserlerdeki bulgularla benzerdir. Ancak belirgin bir orandaki olgu

mamografide iyi sınırlı kitle görünümü oluşturur. Bu bulgu hem mamografik hem de ultrasonografik incelemelerde benign lezyonları taklit eder. Bu tümörler iyi sınırlı olma eğilimlerine karşın sporadik meme kanserlerinden makroskopik olarak ayrılamaz (16).

Histopatolojik olarak bu tümörler sıklıkla yüksek dereceli invaziv duktal karsinom morfolojisindedir. %5-19'u itici tümör sınırları, belirgin lenfositik yanıt, sinsityal büyüme paterni ve belirgin nükleer pleomorfizm gibi medüller ve atipik medüller tümör özelliklerine sahiptir (16, 20, 21, 22, 23, 27). Diğer bir bulgu ise sık mitozdur. 10 büyük büyütme alanında 50-100 mitoz görülür. DKIS, tümörde ya da tümör komşuluğunda bulunabilir. İlk çalışmalar bu tümörlerde DKIS'nin nadir görüldüğünü belirtse de son çalışmalar kontrol grubu ile aralarında bir fark olmadığını bildirmektedir (16).

İmmunohistokimyasal incelemelerde bu tümörler genellikle östrojen ve progesteron reseptörleri ile negatiftir. Yüksek histolojik derecelerine rağmen *c-erbB-2* ile boyanma göstermez (16, 20, 21). DNA microarray çalışmaları bu tümörlerin östrojen reseptörü negatifliği ve bazal sitokeratin (CK5/6, CK 14) pozitifliği ile karakterli "bazal tip" moleküler fenotipte olduğunu göstermiştir (16,21). p53 gen mutasyonları da daha yüksek orandadır (16,21, 23, 27).

BRCA-2 İle İlişkili Meme Kanseri

BRCA-2 geni 13. kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir ve 3418 amino asitten oluşan protein kodlar (6, 16, 17, 23, 29). BRCA-1 geni ile benzer işlevlere sahiptir. BRCA-2 gen mutasyonlarının yaygınlığı %0,01'dir. BRCA-1'e benzer şekilde bazı etnik gruplarda görülme sıklığı daha yüksektir.

BRCA-2 ilişkili meme kanserlerinin patolojik özellikleri ile ilgili farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bazı çalışmalar bu tümörlerin düşük histolojik dereceli ve invaziv lobüler ya da tubulolobüler morfolojide olma olasılığının yüksek olduğunu belirtmişlerdir (16, 27, 30). Ancak genel görüş bu tümörlerin çoğunlukla klasik tip invaziv duktal karsinom morfolojisinde ve sporadik tümörlere göre daha yüksek dereceli tümörler oldukları yönündedir (16).

BRCA-2 ilişkili meme kansinimleri östrojen ve progesteron reseptörleri ile pozitif olma eğilimindedir. c-erbB-2 boyanma paterni sporadik tümörlere benzerdir (16, 27). Buna karşılık p53 mutasyonları daha siktir (16, 23, 27).

Meme kansinimleri ile ilişkili diğer genetik sendromların başlıcaları şunlardır:

Li Fraumeni sendromu

Ataksi telenjektazi

Cowden sendromu

Peutz-Jegher sendromu

Prognostik Faktörler

Meme kansinimlerinin prognozunu belirlemede birçok klinik ve patolojik ölçüt bulunmaktadır. Prognozun kötü olacağını düşündüren bazı bulgular şu şekilde sıralanabilir:

1. Meme derisinde yaygın ödem ve deri üzerinde multipl nodüllerin bulunması
2. Göğüs duvarına fiksasyon
3. Arteria mammaria interna çevresi ve supraklaviküler lenf düğümlerinin tutulması
4. İnflamatuvar kansinom
5. Uzak metastazların bulunması

Bu bulguların izlenmediği durumlarda prognozu belirlemede birçok değişken değerlendirilir. Başlıcaları şunlardır:

Yaş: Meme kansinomu tanısı aldığında 50 yaşın altında olan kadınlarda iyi prognoz gözlenirken 50 yaş üstü ve ileri yaş olgularda sağkalım oranları daha düşüktür. Benzer şekilde 35 yaş altı olgularda da sağkalım oranları düşüktür (3,4,6). Nüks ve uzak metastaz riski daha yüksektir. Bu durum olguların daha yüksek dereceli tümörlere sahip olmalarıyla ilişkilidir.

İnvazyon: Meme kansinimlerinde tek başına en önemli prognostik etkidir. İnvaziv komponentin bulunmadığı in situ kansinimlerde mastektomi ile %100 sağaltım sağlanmaktadır. Hem in situ hem de invaziv komponenti bulunan oldularda invaziv komponentin oranı ile lenf düğümü metastaz olasılığı

arasında ilişki bulunmaktadır. in situ komponentin miktarı multisentrisite oranı ile ilişkilidir.

Tümör boyutu: Tümör boyutu en önemli prognostik faktörlerden biridir ve lenf düğümü metastazlarından bağımsızdır. Ancak aksiller lenf düğümü metastazı riski tümör boyutu ile birlikte artar. in situ ve invaziv komponenti bulunan tümörlerde total tümör ölçüsünden çok invaziv komponentin boyutu daha iyi bir göstergedir. Mikroskopik tümör ölçüsü makroskopik ölçüden daha önemli olduğu bilinmektedir.

Yerleşim yeri: Yapılan bir çok çalışmada prognoz ile tümörün kadranlara göre yerleşimi arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ancak son zamanlarda yayımlanan bir çalışmada medial yerleşimli tümörler, lateral yerleşimlilerle karşılaştırıldığında %50 nüks ve ölüm riski bulunmuştur (4).

Histolojik tip: Klasik duktal ve lobüler tip invaziv meme karsinomları arasında istatistiksel belirgin bir prognostik fark bulunmadığı bildirilmektedir. Bazı invaziv duktal karsinomun morfolojik varyantları ise iyi prognoz göstermektedir. Bunlar tubuler karsinom, kribriform karsinom, medüller karsinom, müsinöz karsinom, papiller karsinom, adenoid kistik karsinom ve sekretuar karsinomdur. Taşlı yüzük hücreli karsinom ve inflamatuvar karsinom da ise prognoz kötüdür.

Derece: Tümörün histolojik derecesi ile sağkalım oranları arasında bağlantı bulunmaktadır. İyi diferansiye derece I tümörlerde 10 yıllık sağkalım oranları %85 iken orta derece diferansiye derece II tümörlerde %60 ve az diferansiye derece III tümörlerde ise %15'tir (4). İnvaziv meme karsinomlarında en yaygın olarak kullanılan derecelendirme sistemi Patley ve Scarf tarafından tanımlanan, önce Bloom ve Richardson sonra da Elston ve Ellis tarafında modifiye edilen sistemdir. Bu sistem tubuler diferansiyasyon, nükleer atipi ve mitozdan oluşan üç parametrenin ayrı ayrı değerlendirilmesi ve elde edilen puanların toplanması temeline dayanır (3-6, 12).

Tubuler diferansiyasyon: Tümörün tümü değerlendirilerek tubuler yapıların tüm tümör alanındaki oranı belirlenir. Puanlama ölçütleri aşağıdaki belirtilmiştir.

1: Tubul yapıları tümörün %75'inden fazla

2: Tubul yapıları tümörün %75-10'u

3: Tubul yapıları tümörün %10'undan az

Nükleer atipi: Tümör hücreleri normal meme epiteli ile karşılaştırılır, atipi ve pleomorfizm değerlendirilir.

1: Nükleuslar küçük ve normale göre hafif büyüktür. Nükleus konturları hafif düzensizdir.

2: Nükleuslar normale göre büyük ve vezikülerdir. Nükleolus belirginliği bulunur. Orta derecede biçim ve boyut farklılığı gözlenir.

3: Veziküler nükleuslu, genellikle nükleoluslu, belirgin biçim ve boyut farkı bulunan hücrelerdir. Bazen çok büyük ve bizar hücreler de bulunur.

Mitoz: 10 büyük büyütme alanında mikroskop alanının çapı dikkate alınarak sayım yapılır. Mitoz sayısı 1, 2 ve 3 olarak puanlanır.

Derece I: Toplam puan 3-5, iyi diferansiye

Derece II: Toplam puan 6-7, orta derece diferansiye

Derece III: Toplam puan 8-9, az diferansiye olarak değerlendirilir.

Lenf düğümü metastazı: Uzun dönem sağkalım oranlarının en önemli belirleyicilerinden biridir. Lenf düğümü metastazı olan olgularda olmayanlara göre mortalite riskinin 4-8 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Tutulan lenf düğümü sayısı da önemli olup yüksek metastatik lenf düğümü sayısı kötü prognozla ilişkilidir. 10 ya da daha fazla lenf düğümü metastazı olan olgularda 1-3 lenf düğümü metastazı olanlara göre 10 yıllık sağkalım oranlarının %70 daha kötü olduğunu belirten yayınlar bulunmaktadır (4).

Lenfovasküler invazyon: Tümör çevresinde lenfatik ve kapiller damarlar içinde tümör hücreleri görülebilir. Bu bulgu lenf düğümü metastazı ve kötü prognozla ilişkilidir. Lenfatikler içinde tümör embolüsünün varlığı rekürrens riskini, tümör içinde ve çevresinde yeni damar yapımının fazla olması ise tümörün metastaz yapma olasılığını arttırmaktadır (3-6).

Hormon reseptörleri: Hücrel diferansiyasyona bağlı olarak östrojen ve progesteron reseptörlerinin miktarı değişkenlik göstermektedir. Bir tümör ne denli diferansiye ise hücrelerdeki östrojen ve progesteron reseptörü o denli fazla miktarda saptanmaktadır. Meme karsinomlarının %85'inde östrojen

reseptörü pozitifliği saptandığı bildirilmiş ve bu tümörlerin çoğunu postmenopozal dönemdeki kadınların oluşturduğunu gösterilmiştir. Hormon reseptör pozitifliği antiöstrojen olarak kullanılan tamoksifene yanıtı belirlediği için sağaltımı etkilemektedir. Bu tür sağaltıma en fazla yanıt veren tümörler hem östrojen hem de progesteron reseptörleri pozitif olan tümörlerdir.

Proliferasyon hızı ve anöploidi: İmmünohistokimyasal olarak saptanabilen bazı belirleyiciler (Ki-67) yanı sıra akım sitometrisi (flow cytometry) yöntemiyle DNA değerlerine bakılarak bir tümörün proliferasyon hızına ilişkin bilgiler elde edilebilmektedir. Tümör hücrelerinde DNA miktarının artması ya da yüksek Ki-67 indeksi kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir (3-6).

c-erbB-2 : c-erbB-2'nin amplifikasyonu sonucunda aşırı ekspresyonu kötü bir prognoz göstergesi olduğunu belirten çok sayıda yayım bulunmaktadır. Bu durum özellikle lenf düğümü metastazı ve tümör derecesi ile ilişkilidir (3, 4,5).

Evre : En önemli prognostik faktörler olan tümör boyutu, lenf düğümü metastazı ve uzak metastazı temel alan evrelendirme sistemleri bulunmaktadır. Sık kullanılanlarından biri olan TNM evreleme sistemi Tablo 5'te gösterilmiştir. Bu sisteme göre evre T_{is}'de 5 yıllık sağkalım %92, evre I'de %87, evre II'de %75, evre III'te %46 ve evre IV'te %13'tür (4, 6).

T: Primer tümör boyutu

Tx: Primer tümör boyutu değerlendirilemiyor

T0: Primer tümöre ait bulgu yok

Tis: Duktal ya da lobüler karsinoma in situ, tümörsüz meme başının Paget hastalığı

T1: Tümör 2 cm ya da daha küçük

T imic: Mikroinvazyon, tümör 0,1 cm'den küçük

T1a: Tümör 0,1-0,5 cm arasında

T1b: Tümör 0,5-1 cm arasında

T1c: Tümör 1-2 cm arasında

T2: Tümör 2-5 cm arasında

T3: Tümör 5 cm'den büyük

T4: Herhangi boyuttaki tümörde

T4a: Göğüs duvarına yayılım

T4b: Meme derisinde ödem ya da ülserasyon ya da satellite deri nodülleri

T4c: 4a+4b

T4d: İnflamatuvar meme kanseri

N: Bölgesel lenf düğümü

Nx: Bögesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor

N0: Lenf düğümü metastazı yok

N1: Mobil ipsilateral aksiller lenf düğümlerine metastaz

N2: Birbirine ya da diğer yapılara fikse ipsilateral aksiller lenf düğümlerine metastaz ya da klinik olarak belirgin internal mammaia lenf düğümlerine metastaz

N2a: Birbirine ya da diğer dokulara fikse aksiller lenf düğümlerine metastaz

N2b: Yalnızca internal mammaia lenf düğümlerine metastaz ve aksiller lenf düğümü metastazı yok

N3: İpsilateral infraklavikuler, internal mammaia ve supraklavikuler lenf düğümlerine metastaz

N3a: İpsilateral lenf düğümlerine metastaz, aksiller lenf düğümlerine metastaz var ya da yok

N3b: İpsilateral lenf düğümlerine ve aksiller lenf düğümlerine metastaz

N3c: İpsilateral supraklavikuler lenf düğümlerine metastaz

pN: Patolojik lenf düğümü değerlendirmesi

pNx: Bögesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor

pN0: Bölgesel lenf düğümlerinde histolojik olarak metastaz yok, izole tümör hücreleri yok

pN0(i-): Histolojik ve immunohistokimyasal (İHK) lenf düğümü metastazı yok

pN0(i+): Histolojik olarak metastaz yok, İHK pozitif ancak 0,2 mm'den küçük

pN0(mol-): Histolojik ve RT-PCR (reserve transcriptase/polymerase chain reaction) metastaz yok

pN0(mol+): Histolojik incelemede metastaz yok, RT-PCR pozitif

pN1: 1-3 aksiller lenf düğümü metastazı ve/veya internal mammaia lenf düğümlerine metastaz

pN1mi: Mikrometastaz (0,2- 2 mm)

pN1a: 1-3 aksiller lenf düğümü metastazı

pN1b: İnternal mammaia lenf düğümlerine metastaz (sentinel lenf düğümü diseksiyonu)

pN1c: 1-3 aksiller lenf düğümü ve İnternal mammaia lenf düğümlerine metastaz (sentinel lenf düğümü diseksiyonu)

pN2: 4-9 aksiller lenf düğümü metastazı ya da aksiller lenf düğümü metastazı bulunmadan klinik olarak saptanabilen internal mammaia lenf düğümlerine metastaz

pN2a: 4-9 aksiller lenf düğümü metastazı (en az birinde tümör 2 mm'den büyük)

pN2b: Aksiller lenf düğümü metastazı bulunmadan klinik olarak saptanabilen internal mammaia lenf düğümlerine metastaz

pN3: 10 ya da daha fazla aksiller lenf düğümüne metastaz, bir ya da daha fazla aksiller lenf düğümü metastazı ile birlikte infraklavikuler lenf düğümlerine metastaz, üçten fazla aksiller lenf düğümüne metastazla birlikte internal mammaia lenf düğümlerine mikrometastaz, ipsilateral supraklavikuler lenf düğümlerine metastaz

pN3a: 10 ya da daha fazla aksiller lenf düğümüne metastaz, ya da infraklavikuler lenf düğümlerine metastaz

pN3b: Bir ya da daha fazla aksiller lenf düğümü metastazı ile birlikte klinik olarak saptanabilen internal mammaia lenf düğümlerine metastaz ya da üçten fazla aksiller lenf düğümüne metastazla birlikte internal mammaia lenf düğümlerine mikrometastaz

pN3c: İpsilateral supraklavikuler lenf düğümlerine metastaz

M: Uzak metastaz

Mx: Uzak metastaz değerlendirilemiyor

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz

Tablo 5. Meme karsinomlarında TNM evreleme sistemi

Evre 0	T is	N0	M0
Evre I	T1	N0	M0
Evre IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Evre IIB	T2	N0	M0
	T3	N0	Mo
Evre IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
Evre IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
Evre IIIC	Herhangi T	N3	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

İmmunohistokimyasal Belirleyiciler

BRCA-1

BRCA-1 17. kromozomun uzun kolunda yerleşmiş bir tümör süpresör genidir.

Bu protein DNA çift zincir kırılmalarının onarımı, transkripsiyon regülasyonu, hücre siklus kontrolü, kromatin remodelasyonu gibi çok sayıda işleve sahiptir.

BRCA-1 geni 24 exondan oluşur ve 1853 amino asitten oluşan bir protein kodlar (16-28,31). Bu proteinin NH₂ (amino uç; N-terminal) ve COOH (karboksi uç; C-terminal) uçları bulunmaktadır (31).

BRCA-1 proteinin yerleşimi konusunda farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda BRCA-1 proteininin amino ve karboksi uç antikollarının nükleusta bulunduğu belirtilmiştir. Ancak bazı çalışmalar da ekson 11'de bulunan nükleer lokalizasyon sinyalinin (NLSs) ve ekson11'siz BRCA splice varyantın (BRCA1-Δ ekson 11) sitoplazmada yer aldığını göstermişlerdir (31). Çok sayıda BRCA-1 germ-line mutasyonlar tanımlanmış olmakla birlikte intrasellüler lokalizasyonu hakkında az bilgi bulunmaktadır.

Yapılan bir çalışmada BRCA-1 proteinin amino ve karboksi uçlarına etkili antikollar ile BRCA-1 mutasyonları ile boyanma lokalizasyonları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Karboksi uca etkili antikor (GLK-2) ile ekson 11 mutasyonlarında sitoplazmik boyanma elde edilirken diğer mutasyonlarda boyanma saptanmamıştır. BRCA-1 mutasyonu olmayan olgularda ise nükleer boyanma gözlenmiştir. Amino ucuna etkili antikorla (Ab-2) NLSs'nin bulunduğu ekson 11'in aşağısındaki mutasyonlarda nükleer boyanma izlenirken üstündeki mutasyonlarda ise boyanmanın saptanmadığı bildirilmiştir (31).

BRCA-2

İlk kez 1994 yılında tanımlanmış olan BRCA-2 geni 13. kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir. BRCA-2 geni geniş bir gen olup 27 eksondan oluşur ve 3418 amino asitten oluşan protein kodlar. DNA zincir kırılmalarının onarımı, transkripsiyon regülasyonu, hücre siklus kontrolü gibi işlevlere sahiptir (6, 16, 17, 23, 29). BRCA-2 gen mutasyonları BRCA-1'e benzer şekilde meme ve over kanseri riskini artırır. Ancak BRCA-2 BRCA-1'e göre over kanseri gelişiminde daha düşük riske sahiptir. BRCA-2 ilişkili meme kanserleri erkeklerde de görülebilir (16).

Bir çalışmada BRCA-2 geninin immunohistokimyasal yöntemlerle meme epitel hücreleri, endometrium, timus, lenfoid dokuda folliküllerin germinal merkezlerinde bulunan tingible body makrofajlarda ve dalak retikuloendotelial hücrelerde boyanma gözlenmiştir (32).

Cox-2

Cox bir enzim olup araşidonik asitten prostaglandin (PG) sentezini katalizleyen prostaglandin sentetaz kompleksinin bir parçasıdır. Cox-1 ve Cox-2 olmak üzere iki alt tipi bulunmaktadır. Cox-1 normal dokuda hücre membranında yer alır, sürekli olarak salınır ve mide mukaza bütünlüğünün korunması, trombosit agregasyonun düzenlenmesi gibi fizyolojik olaylarda etkilidir. Cox-2 ise birçok normal dokuda saptanamamakla birlikte yangı ve neoplastik süreçte sitoplazmada ortaya çıkar. Büyüme hormonları, tümör ilerleticileri, bakteriyel endotoksinler ve sitokinler tarafından Cox-2 salınımı indüklenir. Kolon, akciğer, mide ve özofagus adenokarsinomları gibi bir çok malignitede Cox-2 ekspresyonu artmıştır. Cox-2'nin kanser gelişiminde rolü olduğuna ilişkin çok sayıda bulgu bulunmaktadır (33-38). Ayrıca genetik ve farmakolojik çalışmalar Cox-2'nin erken dönem tümör gelişiminde etkili olduğunu belirtmektedir. Half ve arkadaşları invaziv tümöre komşu DKIS alanlarında invaziv tümöre göre daha yüksek ekspresyon gözlemişlerdir (35).

Cox enzimleri, Cox-1 9. kromozomda, Cox-2 1. kromozomda olmak üzere farklı genlerde yer almaktadır. Cox-1 576, Cox-2 ise 587 amino asitten oluşmaktadırlar.

Cox-2 salınımı PG sentezini uyarır. Bu moleküller hücre sel fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde yardımcı olan lokal hormonlardır. Yarılanma ömürleri kısadır (sıklıkla sadece dakikalar), etkilerini sentezlendikleri hücrede ve komşu hücrelerde gösterirler. Bu moleküller hücre proliferasyonunu stimüle ederler, özellikle meme epitel hücrelerinin mitotik aktivitesini artırırlar (33, 38). Bununla birlikte PGE2 immunregülatör lenfokinlerin üretimini, T ve B hücre hücre proliferasyonunu ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin sitotoksik aktivitelerini inhibe eder. PDE2 aynı zamanda tümör nekroz faktörünü de inhibe eder. Ek olarak immünsüpresif etkisi olan interlökin 10'u aktive eder (33).

PG düzeylerinin yükselmesi sellüler siklik AMP (cAMP) artışına neden olur. Bu da apoptozisin azalması ve hücre yaşam süresinin artmasına yol açar. Aynı zamanda Cox-2 artışı doğal substratı olan araşidonik asit

düzeyinin de azalmasına yol açar ki bu da apoptozisin azalmasıyla sonuçlanmaktadır (33).

Bir çok çalışmada Cox-2 aşırı salınımının VEGF, bFGF, TGF, PDGF ve endotelin gibi yeni damar oluşumunu uyaran faktörlerin salınımına neden olduğunu göstermiştir. VEGF neovaskülarizasyon ve kanser progresyonunda kritik role sahip bir anjiogenik faktördür. VEGF regülasyonunda en önemli etken hipoksi olup hipoksi araşidonik asitten PGE2 dönüşümünü sağlayan Cox-2'yi de artırmaktadır. PGE2, (HIF)-1 alfa'nın (hipoksi inducible factor) sitozolden nükleusa taşınmasına, VEGF'nin transkripsiyonunun indüklenmesine neden olmaktadır (33).

Cox'un araşidonik asidi metabolize etmesiyle bazı mutajenler oluşmaktadır. Araşidonik asidin oksidasyon ürünleri örneğin melandialdehit oldukça reaktif olup bu madde DNA'da hasara yol açabilmektedir (33).

Tümör hücrelerinde Cox-2 aşırı salınımı olduğunda, PG düzeyi artar ve hücreler daha invaziv hale gelirler. Yapılan bazı çalışmalarda Cox-2 ekspresyonu ile matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) arasında ilişki bulunmuştur. MMP-2 bazal membranın kollajen matriksini sindirmekte ve tümör hücrelerinin dokudaki invazivliğini arttırmaktadır (33, 37).

Cox-2, hücre proliferasyonu, mitoz, hücre adezyonu, apoptozis, immünsüpresyon ve anjigenezis üzerinde etkileri ile malign transformasyon ve tümör progresyonunda yer almaktadır. Cox-2 düzeylerinin artması bazı meme kansinomlarında kötü prognozla ilişkilidir. Bilindiği gibi NSAİ ilaçların hedefi siklooksigenaz (Cox) enzimidir. Düzenli olarak bu ilaçların kullanımının meme kanserine karşı koruyucu etki oluşturabileceğini öne süren epidemiyolojik çalışmalar bulunmaktadır. Benzer biçimde bu ilaçların kolon, akciğer gibi diğer tümörlerde potansiyel koruyucu ajan olarak etki edebileceği belirtilmiştir (33).

p53

1979 yılında Lane ve Crawford tarafından, daha sonra Liozer ve Levine tarafından Simian virus 49'in büyük transformasyon antijeniyle (SV40T

antijeni) sıkı bir kompleks oluşturmuş bir fosfoprotein olarak tanımlanan p53 geni hala kanser patogenezinde en çok çalışılan genlerden biridir (39).

17. kromozomun kısa kolunda lokalize p53 tümör süpresör geni 393 amino asitten oluşan p53 proteinini kodlar. Bu protein aracılığıyla DNA replikasyonu, hücre proliferasyonu ve hücre ölümünü düzenler. Vahşi tip p53 immunoreaktivitesi genellikle normal hücrelerde görülmemektedir. Çünkü ubiquitin aracılı proteolizis nedeniyle proteinin yarılanma ömrü (20 dakika) kısaltmakta ve saptanabilir birikim olmamaktadır. DNA radyasyon, UV ışınları ve mutajenik kiyasallarla hasarlandığında p53 proteini stabil hale gelir ve nükleusta birikir. Biriken vahşi p53 DNA'yı bağlar, hücre siklusu duraklaması ve apoptozise aracılık eden birkaç genin transkripsiyonunu uyarır. P53'ün uyardığı hücre siklusu duraklaması G1 fazının geç döneminde ortaya çıkar. Bu duraklama hasarlı DNA'nın onarımı için hücreye zaman kazandırır. Eğer onarım olmazsa p53 apoptozis yoluyla hücreyi ölüme götürür. Bu nedenle p53'e "genomun gardiyanı" denmektedir (40-43).

Tümör gelişiminde p53 tümör süpresör geninde mutasyonlar ve allelik kayıplarla fonksiyonunun inaktive olması önemli rol oynar. Bir çok olguda p53 genindeki mutasyonlar, bir bazın diğeri ile yer değiştirmesiyle gelişen "missense" mutasyonlardır. Bu mutant proteinler hücre siklusunda birikir ve immunohistokimyasal olarak saptanabilir. Mutasyona uğramış ya da inaktive olmuş p53 genini içeren hücrelerde, bölünme sırasında duraklama ve apoptozis gerçekleşemeyeceği için hasarlı DNA replikasyona uğrar ve mutasyon kalıcı hale gelir. P53'ün fonksiyon kaybı diğer mutasyonlara da zemin hazırlar ve malign klonlar üretilir. Son yıllardaki moleküler çalışmalar meme, akciğer ve kolon kanserlerinde p53 geninde nokta mutasyonların da bulunduğunu göstermektedir(41-43).

P53'ün tümörlerdeki yaygınlığı malignite belirleyicisi olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu da immuohistokimyasal yöntemle tümör hücrelerindeki mutant p53 proteininin aşırı miktarlarının saptanması temeline dayanır. Normal p53'ün tümör süpresyon fonksiyonunun kaybı ile tümörün radyoterapiye ve kemoterapiye direnç kazanması ya da kötü prognozlu olması arasında ilişki saptanmıştır (41-43).

Ki-67

1984 yılında Gerdes ve arkadaşları tarafından saptanan Ki-67 hücre siklusuna özgü antijenlerin önemli bir örneğidir (44, 45). 10. kromozomun uzun kolunda lokalize bir gen tarafından kodlanan, 345 ve 395 Kd ağırlığında ki ayrı bölümden oluşan bu protein siklusa girmeyen hücrelerde bulunmazken, siklustaki hücrelerin G1 fazında artarak geç G1, S, G2 ve M fazlarında eksprese edilir (44, 45).

İmmunohistokimyasal yöntemlerle dondurulmuş kesitlere ve/veya parafin bloklara uygulanabilen Ki-67 antijenine karşı geliştirilmiş MIB-1, MIB-2 ve MIB-3 monoklonal ve poliklonal antikolar tümörlerin proliferasyon aktivitesini belirlemek için kullanılır. Ki-67 ile nükleer boyanma gösteren tümör hücrelerinin tüm tümör hücrelerine oranı yüzde olarak belirlenip Ki-67 proliferasyon indeksi saptanır. Genel olarak Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek olan tümörlerin daha agresif seyrettiği gözlenmektedir(44, 46).

Meme kanserlerinde yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek histolojik derece, hormon reseptörlerini yokluğu, büyük tümör boyutu ve lenf düğümü metastazı gibi kötü prognostik faktörlerle de ilişkilidir (3, 4, 5, 6, 43).

c-erbB-2 (HER2/neu)

c-erbB-2 epidermal büyüme faktörü (EGF) ailesinden bir onkogendir. Tirozin kinaz aktivitesine sahip 185 kd ağırlığında bir transmembran glikoproteini kodlar. 17q21 kromozomda yer alır (4). Bu genin amplifikasyonu ve /veya aşırı ekspresyonu meme karsinomu patogenezinde önemli rol oynamaktadır. c-erbB-2 ekspresyonu immunohistokimyasal ya da FISH (flourescent in situ hibridization) ile tespit edilebilmektedir.

Büyüme faktör reseptörleri transmembran proteinlerdir. Dışta ligand bağlayan grubu içte ise tirozin kinaz grubu bulunur. Normal koşullarda büyüme faktörlerinin bağlanması ile bu reseptörlerin tirozin kinaz grubu geçici olarak aktive olur ve mitozda etkili bazı faktörlerin fosforilasyonu gerçekleşir. c-erbB-2 geninin amplifikasyonu sonucu hücre ortamda az miktarda bulunan büyüme faktörünün etkisine son derece duyarlı hale gelmektedir (3,4).

c-*erbB-2* gen amplifikasyonu tüm meme kansinolarının %20-40'ında bulunduğu bildirilmiştir (4). c-*erbB-2* ekspresyonu yüksek histolojik derece, aksiller lenf düğümü metastazı ve metastatik lenf düğümü sayısı ile ilişkilidir. Östrojen ve progesteron reseptörleri ile de ters orantılıdır (3-5, 43).

Son yıllarda c-*erbB-2* ekspresyonu bulunan olgularda c-*erbB-2*'nin ekstrasellüler kısmını bağlayan, insan monoklonal antikoru olan *trastuzumab* ile tedavide yararlı etkiler elde edilmiştir (4).

Östrojen ve progesteron reseptörleri

Pubertede meme büyümesi östrojenin doğrudan etkisine bağlıdır. Östrojenler memenin hem yağ oranını artırarak hem de bezlerin proliferasyonuna yol açarak memede büyüme sağlamaktadır. Östrojen özellikle duktusların ve stromanın gelişimini artırırken, progesteron daha çok asinusların gelişimine neden olmaktadır (3).

Östrojen reseptörü meme gelişimi, büyümesi ve diferansiyasyonunda rol alan bir nükleer transkripsiyon faktörüdür. Östrojen ve progesteron reseptörleri intrasellüler proteinler olup, konsantrasyon değişimine bağlı olarak dolaşımdan hücre içine alınan hormon molekülüne seçici olarak bağlanır ve hormon-reseptör kompleksini oluştururlar. Aktive olan hormon-reseptör kompleksi nükleus içinde hormon yanıt elementleri olarak adlandırılan DNA dizilerine bağlanır ve hormon aktivitesini sağlayan transkripsiyonu gerçekleştirir.

Meme kanserlerinde östrojen ve progesteron hormonları mutajenik ve ilerletici etki yapmaktadır. Bu etkiler reseptörler tarafından düzenlenmektedir.

Meme kanserlerinde hormon reseptörlerini göstermenin iki önemli yolu bulunmaktadır. Bunlar frozen kesitlerde ligand bağlama yolu (LBA) ve immunohistokimyasal boyamadır. Son yıllarda immunohistokimya daha tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. İmmunohistokimyasal yöntemle östrojen ve progesteron reseptörü ile nükleer boyanma gözlenmektedir (3, 43).

Östrojen ve progesteron reseptör pozitifliği meme kanserli olgularda tamoksifen ile tedavi olanağı sağlamaktadır ve 5 yıllık tamoksifen kullanımından sonra rekürrens ve ölüm oranlarında azalma gözlenmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Olgular

Çalışmamızda Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan 63 olgu yer almaktadır. Olguların 48'i invaziv duktal karsinom, 2'si yüksek dereceli duktal karsinoma in situ, 13'ü ise hem invaziv duktal karsinom hemde duktal karsinoma in situ tanıları almıştır. Materyallerin 49'i modifiye radikal mastektomi, 13'ü eksizyonel biopsi, 1'i ise kadranektomi materyalidir. Olguların yaş, cinsiyet, uzak organ metastazı varlığı, ailede kanser öyküsü, çocuk sayısı, ilk doğum yaşı, emzirme ve yaşam süreleri gibi bilgileri klinik istem formlarından ya da dosyalarından elde edilerek kaydedildi. Toplam emzirme süresi ay cinsinden hesaplandı. Ailede kanser öyküsü, öykü yok: 0, ailede meme kanseri dışında başka kanser öyküsü var: 1, meme kanseri öyküsü var: 2 olacak şekilde skorlandı. Tümör boyutu TNM evreleme sistemi temel alınarak ≥ 2 cm: 1, 2-5 cm: 2, > 5 cm: 3 olarak puanlandı.

Hematoksilen eozin boyalı preparatlar tümör tipi, tübül yapısı, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısını temel alındığı Modifiye Bloom Richarson'a göre histolojik derecesi ve lenf düğümü açısından tekrar değerlendirilerek histopatolojik tanı doğrulandı. Lenf düğümü metastazı; metastaz yok: 0, 1-3 lenf düğümünde metastaz var: 1, 4-9 lenf düğümünde metastaz var: 2, 10 veya 10'dan fazla lenf düğümünde metastaz var: 3 olacak şekilde puanlandı.

İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi

Seçilen tüm bloklara BRCA-1, BRCA-2, Cox-2, östrojen ve progesteron reseptörü, c-*erbB*-2, p53, Ki-67 immunohistokimyasal boyaları uygulandı. İmmunohistokimyasal boyamaların her birinde, pozitif ve negatif kontrol kullanıldı.

%10'luk tamponlanmış formalinde tespit edilip, rutin yöntemlerle takip edilmiş ve parafine gömülmüş dokulardan 4 μ kalınlığında hazırlanan kesitler

poly-L-Lizinle kaplı lamalar üzerine alındı. Lamlar 55°C'de etüvde 16 saat kurutuldu. Ksilol ile deparafinizasyon ve alkol ile rehidratasyon işleminden sonra çeşme suyu ve distile su ile yıkanıp endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak amacıyla 10 dakika %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda bekletildi. Çeşme suyu ve distile suda yıkanan kesitler sitrat buffer solusyonunda (pH=6.0) BRCA-1, BRCA-2 ve Cox-2 için basınçlı kapta 15 dakika, *c-erbB-2*, p53, ve progesteron reseptörü için basınçlı kapta 3 dakika kaynatıldı. Ki-67 ve östrojen reseptörü 5'er dakika üç kez mikrodalga fırında ısıtıldı. Bu işlemden sonra kesitler oda sıcaklığında soğutuldu. Çeşme suyu ve distile suda yıkandıktan sonra 4 farklı kap içindeki Tris tampon solüsyonu (TBS) (pH=7.6) solusyonunda 3'er dakika bekletildi. BRCA-1, BRCA-2 ve Cox-2 immunohistokimyasal belirleyiciler için non-spesifik zemin boyasını önlemek amacıyla oda sıcaklığında 10'ar dakika protein blokajı yapıldı ve primer antikor uygulamasına geçildi.

Kesitlere, BRCA-1 proteinine yönelik konsantre monoklonal fare antikoruna GLK-2 (Dako, Code: M3606, LOT: 00000724) 1/50 oranında dilüe edilerek, BRCA-2 proteinine yönelik poliklonal tavşan antikoruna ab16825 (Abcam; Ab 16825-100, LOT: 199095) 1/25 oranında dilüe edilerek 45'er dakika inkübasyon yapıldı. İnsan Cox-2 proteinine yönelik predilüe monoklonal tavşan antikoruna SP21 (Neomarkers, RM-9121-R7, LOT: 9121R604F), Ki-67 proteinine yönelik predilüe monoklonal tavşan antikoruna SP6 (Neomarkers, RM- 9106-R7, LOT: 9106R610A), *c-erbB-2* proteinine yönelik predilüe monoklonal tavşan antikoruna SP3 (Neomarkers, RM-9103-R7, LOT: 9103R601A), östrojen reseptörüne yönelik predilüe monoklonal tavşan antikoruna SP1 (Neomarkers, RM-9101-R7, LOT: 9101R612A) ile 45'er dakika inkübe edildi. p53 proteinine yönelik predilüe monoklonal tavşan antikoruna SP5 (Neomarkers, RM-9105-R7, LOT: 9105R610A) ve progesteron reseptörüne yönelik predilüe fare antikoruna Ab-8 (hPRa² + hPRa³) (Neomarkers, MS-298-R7, LOT: 298R701A) ile 30'ar dakika inkübasyon uygulandı.

Kesitler, TBS (pH=7.6) ile 4 kez yıkandıktan sonra sekonder antikor işlemi için sırasıyla biotinylated goat antimouse (Lab Vision) ve streptavidin-

peroksidaz (Lab Vision) solüsyonlarında 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyonlar arasında yine TBS (pH=7.6) ile 4 kez yıkandı.

Kromojen olarak diaminobenzidin (DAB, Lab Vision) solüsyonunda 15 dakika bekletilip distile suda 3 dakika yıkandı. Asitsiz ve alkolsüz Mayer hematoksileni ile zıt boyama yapıldıktan sonra çeşme suyu ve distile suda 3'er dakika yıkandı. Alkollerden geçirilen lamlar kurutulduktan sonra şeffaflandırma işlemi için ksilolden geçirildi ve Entellan® (Merck and Co., Berlin) ile kapatıldı.

Uygulama sırasındaki tüm inkübasyonlar oda sıcaklığında, nemli ve kapalı bir ortamda yapıldı.

İmmunohistokimyasal sonuçların değerlendirilmesi

Tüm değerlendirmeler standart ışık mikroskopunda x400 büyütmede yapıldı.

Cox-2 immunreaktivitesinde pozitif kontrol için kolon adenokarsinomu kullanıldı. Cox-2 ile sitoplazmik boyanma esas alındı. Boyanma yoğunluğu; boyanma yok 0, zayıf 1, orta 2, güçlü 3 olacak şekilde 0-3 arasında skorlandı. Boyanma dağılımı ise boyanma yok : 0, %1-10 hücrede boyanma : 1, %11-50 hücrede boyanma: 2, %51-80 hücrede boyanma: 3, %81-100 hücrede boyanma: 4 olacak şekilde skorlandı.

BRCA-1 ile sitoplazmik boyanma esas alınırken BRCA-2 ile nükleer boyanma pozitif kabul edildi.

c-erbB-2 ile membranöz boyanma esas alındı ve boyanma yoğunluğu aşağıdaki şekilde skorlandı;

%10'nun altında hücrede hafif boyanma: 0

%10'dan fazla hücrede parsiyel membranöz boyanma: 1+

%10'dan fazla hücrede zayıf-orta membranöz boyanma: 2+

Güçlü membranöz boyanma: 3+

Östrojen ve progesteron reseptörü, p53 ve Ki-67 ile nükleer boyanma temel alınarak yüzde cinsinden indeks verildi.

İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçların istatistiksel değerlendirmesinde kişisel bilgisayarda alışan SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programının 13.0 versiyonu kullanıldı. Korelasyonun araştırılmasında Pearson ve Spearman korelasyon analizi, farklı serilerin anlamlılığının sınanmasında Chi-kare testi ve varyans analizi, sağkalımın değerlendirilmesinde ise Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanıldı. Sonuçlar $p < 0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda 63 olguya ait, invaziv duktal karsinom ve duktal karsinoma in situ tanıları almış 49 modifiye radikal mastektomi, 13 eksizyonel biopsi, 1 kadranektomi materyalinde izlenen tümörün Modifiye Bloom Richardson'a göre histopatolojik derecesi, varsa lenf düğümü metastazı, tümör boyutu ile östrojen ve progesteron reseptörleri, c-*erbB*-2, p53, Ki-67, Cox-2, BRCA-1 ve BRCA-2 ekspresyonu arasındaki ilişki değerlendirildi. Ayrıca olguların yaş, ilk doğum yaşları, toplam emzirme süreleri ve ailede kanser öyküsünün tümör ile ilişkisi ve sağkalım süreleri üzerine etkileri araştırıldı.

Olguların hepsi kadındı ve yaşları 23-84 (ortalama 53,29 ±14,15) arasında değişmekteydi. Olguların sadece 6'sı (%9,5) 35 yaş altındadır. Bilgileri edinilebilen olgularda ilk doğum yaşları 15-39 (ortalama 23,43 ±4,87) idi. Olgular arasında çocuk sayısı en fazla 9 olan hasta yanı sıra hiç doğum yapmamış olgular da bulunmaktaydı. Toplam emzirme süreleri 2-72 ay (ortalama 25,18 ±19,30) arasındaydı.

Tablo 6. Olguların yaş, ilk doğum yaşı çocuk sayısı ve toplam emzirme sürelerine göre dağılımı

	Olgu sayısı (n)	En düşük	En yüksek	Ortalama / Std
Yaş	63	23	84	53,29 ±14,15
İlk doğum yaşı	23	15	39	23,43 ±4,87
Çocuk sayısı	32	0	9	2,76 ±1,87
Emzirme süresi (ay)	28	2	72	25,18 ±19,30

Histopatolojik incelemede tubul yapısı, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısını temel alan Modifiye Bloom Richardson'a göre olguların 23'ü (%37,7)

iyi diferansiye, 30'u (%49,2) orta derece diferansiye ve 8'i (%13,1) az diferansiye olarak değerlendirildi.

Lenf düğümü disseksiyonu yapılan 52 olgu içinde; 16 olguda (%30,8) lenf düğümü metastazı saptanmazken 16'sında (%30,8) 1-3 adet lenf düğümünde, 12'sinde (%23,1) 4-9 adet lenf düğümünde, 8'inde (%15,4) ise 10 veya 10'dan fazla lenf düğümünde metastaz gözlemlendi. Lenf düğümü sayıları ile tümörün diferansiyasyonları arasındaki ilişki Tablo 7 gösterildi ve az diferansiye tümörlerde daha fazla sayıda lenf düğümü metastazı gözlenmekle olduğu dikkati çekti.

Tablo 7. Lenf düğümü metastazının histolojik derece ile ilişkisi

Lenf düğümü	Histolojik derece			Toplam n (%)
	İyi diferansiye n (%)	Orta diferansiye n (%)	Az diferansiye n (%)	
Metastaz yok	6 (40,0)	8 (53,3)	1 (6,7)	15 (100)
1-3	6 (37,5)	10 (62,5)	-	16 (100)
4-9	5 (41,7)	4 (33,3)	3 (25,0)	12 (100)
≥10	3 (37,5)	3 (37,5)	2 (25,0)	8 (100)
Toplam	20 (39,2)	25 (49,0)	6 (11,8)	51 (100)

Olguların yalnızca üçünde ailede meme kanseri öyküsü saptandı. Brinci olgu 47 yaşındaydı, ilk doğum yaşı 23 ve iki çocuğunu toplam 8 ay emzirmişti. Olguda izlenen tümör 2 cm boyutunda ve iyi diferansiyeydi. 2. olgu 58 yaşındaydı. Tümör 6 cm boyutunda ve az diferansiyeydi. Disseke edilen 25 adet lenf düğümünden 4'ünde metastaz saptandı. 3. olgu ise 68 yaşındaydı, ilk doğum yaşı 15 ve 3 çocuğu bulunmaktaydı. Toplam emzirme süresi ise 42 aydı. Olguda izlenen tümörün en büyük çapı 3 cm ve iyi diferansiyeydi. Yalnızca 1 adet lenf düğümünde metastaz saptandı. Olguların uygulanan immun belirleyicilerle boyanma özellikleri Tablo 8-9 belirtildi.

Tablo 8. BRCA-1, BRCA-2 ve Cox-2 ile boyanma özellikleri

	BRCA-1	BRCA-2	Cox-2 dağılımı	Cox-2 yoğunluğu
1. olgu	Negatif	Orta (sitoplazmik)	3 (%51-80)	Orta
2. olgu	Negatif	Hafif (sitoplazmik)	3 (%51-80)	Hafif
3. olgu	Negatif	Tek tük nükleer	4 (%81-100)	Şiddetli

Tablo 9. Aile öyküsü bulunan olgularda prognostik immun belirleyiciler ile boyanma profili

	ER	PR	c-erbB-2	p53	Ki-67
1. olgu	95	100	Negatif	Negatif	1
2. olgu	Negatif	Negatif	Negatif	80	50
3. olgu	80	90	Negatif	2	2

Tümör boyutu değerlendirildiğinde en küçüğü 1 cm en büyüğü 18 cm boyutundaydı. Tümör boyutları evreye göre sınıflandırıldığında 18'i (%29) 2 cm ya da 2 cm'den küçük, 31'i (%50) 2-5 cm, 13'ü (%21) 5 cm ve daha büyük boyutlardaydı. Tümör boyutu ve lenf düğümü metastazı karşılaştırıldığında tümör boyutu arttıkça lenf düğümü metastaz oranının ve metastatik lenf düğümü sayısının da arttığı saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

Tablo 10. Tümör boyutunun lenf düğümü metastazı ile ilişkisi

Tümör boyutu	Lenf düğümü metastazı				Toplam n (%)
	Yok n (%)	1-3 n (%)	4-9 n (%)	≥ 10 n (%)	
≤ 2 cm	7(50,0)	5 (35,7)	2 (14,3)	-	14 (100)
2-5 cm	7 (26,9)	10 (38,5)	7 (29,9)	2 (7,7)	26 (100)
≥ 5 cm	2 (16,7)	1 (8,3)	3 (25,0)	6 (50)	12 (100)
Toplam	16(30,8)	16 (30,8)	12 (23,1)	8 (15,4)	52 (100)

Tümör boyutu ve Modifiye Bloom Richardson'a göre histolojik dereceleri karşılaştırıldığında tümör boyutu arttıkça tümörün orta ve az diferansiye olma eğiliminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Tablo 11. Tümör boyutunun histolojik derece ile ilişkisi

Tümör boyutu	Histolojik derece			Toplam n (%)
	İyi diferansiye n (%)	Orta diferansiye n (%)	Az diferansiye n (%)	
≤ 2 cm	9 (52,9)	8 (47,1)	-	17 (100)
2-5 cm	12 (38,7)	17 (54,8)	2 (6,5)	31 (100)
≥ 5 cm	2 (15,4)	5 (38,5)	6 (46,2)	13 (100)
Toplam	23 (37,7)	30 (49,2)	8 (13,1)	61 (100)

Cox-2

Cox-2 immün belirleyicisi ile 3 (%4,8) olguda boyanma saptanmadı. Olguların 4'ünde (%6,3) tümörün %1-10'unda 9'unda (%14,3) %10-50'unda, 19'unda (%30,2) %51-80'inde, 28'inde (44,4) %81-100'ünde boyanma saptandı (Resim 1, 2, 3, 4). Boyanma yoğunluğu ise 23 (%36,5) olguda hafif, 26 (%41,4) olguda orta ve 11 (%17,5) olguda ise şiddetli olarak değerlendirildi.

Olgularda Cox-2 boyanma dağılımı tümörün histolojik derecesi ile karşılaştırıldığında az diferansiye tümörlerin hepsinde %51'in üzerinde boyanma izlenirken 30 adet orta derece diferansiye tümörün 23'ünde %51'in üzerinde boyanma gözlemlendi. Sonuçlar Tablo 12'de gösterildi.

Tablo 12. Cox-2 boyanma dağılımının histolojik derece ile ilişkisi

Cox-2 boyanma dağılımı	Histolojik derece			Toplam n (%)
	İyi diferansiye n (%)	Orta diferansiye n (%)	Az diferansiye n (%)	
Boyanma yok	3 (100)	-	-	3 (100)
%1-10	1 (25,0)	3 (75,0)	-	4 (100)
%10-50	4(50,0)	4 (50,0)	-	8 (100)
%51-80	6 (33,3)	8 (44,4)	4 (22,2)	18 (100)
%81-100	9 (32,1)	15 (53,6)	4 (14,3)	28 (100)
Toplam	23 (37,7)	30 (49,2)	8 (13,1)	61 (100)

Lenf düğümü metastazları incelendiğinde ise 4 ve üzeri lenf düğümü metastazı bulunan olgularda Cox-2 boyanma dağılımının %51 ve üzerinde olma eğilimi bulunduğu dikkati çektii. Tablo 13'te Cox-2 boyanma dağılımı ile lenf düğümü metastazları karşılaştırılmalı olarak sunuldu.

Tablo 13. Cox-2 boyanma dağılımının lenf düğümü metastazı ile ilişkisi

Cox-2 dağılımı	Lenf düğümü metastazı				Toplam n (%)
	Yok n (%)	1-3 n (%)	4-9 n (%)	≥10 n (%)	
Yok	1 (33,3)	-	1 (33,3)	1 (33,3)	3 (100)
%1-10	1 (25,0)	3 (75,0)	-	-	4 (100)
%10-50	3 (50,0)	1 (16,7)	2 (33,3)	-	6 (100)
%51-80	7 (43,8)	4 (25,0)	3 (18,8)	2 (12,5)	16 (100)
%81-100	4 (17,4)	8 (34,8)	6 (26,1)	5 (21,7)	23 (100)
Toplam	16 (30,8)	16 (30,8)	12 (23,1)	8 (15,4)	52 (100)

Cox-2 boyanma dağılımı tümör boyutları ile karşılaştırıldığında %51 ve üzerinde boyanma gözlenen olguların büyük çoğunluğunun 2 cm üzerinde tümör boyutlarına sahip oldukları dikkati çektii ve karşılaştırılmalı değerler Tablo 14'te gösterildi (p>0,05).

Tablo 14. Cox-2 boyanma dağılımının tümör boyutu ile ilişkisi

Cox-2 boyanma dağılımı	Tümör boyutu			Toplam n (%)
	≤ 2 cm n (%)	2-5 cm n (%)	≥ 5 cm n (%)	
Boyanma yok	-	3 (100)	-	3 (100)
%1-10	-	3 (75)	1 (25)	4 (100)
%10-50	5 (55,6)	3 (33,3)	1 (11,1)	9 (100)
%51-80	7 (38,9)	6 (33,3)	5 (27,8)	18 (100)
%81-100	6 (21,4)	16 (57,1)	6 (21,6)	28 (100)
Toplam	18 (29,0)	31 (50)	13 (21)	62 (100)

Ki-67 proliferasyon indeksi, p53, östrojen ve progesteron reseptörleri ile Cox-2 boyanma dağılımı arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı.

BRCA-1

BRCA-1 immün boyası ile sitoplazmik boyanma değerlendirildi. Olguların 46'sında (%73) boyanma saptanmadı, 9'unda (%14,3) fokal hafif, 6'sında (%9,5) hafif ve 2'sinde (%3,2) ise orta derece sitoplazmik boyanma izlendi (Resim 5,6,7,8). BRCA-1 boyanma paterni ile tümörün histolojik derecesi ve lenf düğümü metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. BRCA-1 boyanma paterni ile tümörün histolojik derecesi ve lenf düğümü metastazı arasındaki ilişki Tablo 15 ve 16'da gösterildi.

Tablo 15. BRCA-1 boyanma paterninin histolojik derece ile ilişkisi

BRCA-1	Histolojik derece			Toplam n (%)
	İyi n (%)	Orta n (%)	Az n (%)	
Boyanma yok	16 (36,4)	23 (52,3)	5 (11,4)	49 (100)
Fokal hafif	5 (55,6)	3 (33,3)	1 (11,1)	9 (100)
Hafif	2 (33,3)	3 (50)	1 (16,7)	6 (100)
Orta	-	1 (50)	1 (50)	2 (100)
Toplam	23 (37,7)	30 (49,2)	8 (13,1)	61 (100)

Tablo 16. BRCA-1 boyanma paterninin lenf düğümü metastazı ile ilişkisi

BRCA-1	Lenf düğümü metastazı				Toplam n (%)
	Yok n (%)	1-3 n (%)	4-9 n (%)	≥10 n (%)	
Boyanma yok	10 (26,3)	13 (34,2)	9 (23,7)	6 (15,8)	38 (100)
Fokal hafif	3 (50)	1 (16,7)	1 (16,7)	1 (16,7)	6 (100)
Hafif	2 (33,3)	2 (33,3)	1 (16,7)	1 (16,7)	6 (100)
Orta	1 (50)	-	1 (50)	-	2 (100)
Toplam	16 (30,8)	16 (30,8)	12 (23,1)	8 (15,4)	52 (100)

BRCA-1 ile *c-erbB-2*, p53, Ki-67 proliferasyon indeksi, östrojen ve progesteron reseptörü arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki gözlenmedi.

BRCA-2

BRCA-2 immün boyası ile nükleer boyanma temel alındı. Olguların 3'ünde (%4,8) boyanma saptanmazken 60'ında (%95,2) nükleer boyanma gözlemlendi. Boyanma gözlenmeyen 3 olgunun özellikleri şu şekildeydi:

Olgu 1: 37 yaşındaydı. Tümörün en büyük çapı 2 cm olup Modifiye Bloom Richardson'a göre orta derece diferansiyeydi. Olgunun immünprofili Tablo 17'de gösterildi (Resim 9).

Tablo 17. BRCA-2 ile boyanma saptanmayan 1. olgunun immun profili

BRCA-1	BRCA-2	Cox-2	ER	PR	c-erbB-2	p53	Ki-67
Orta	Negatif	3	0	0	3+	0	5

Olgu 2: 36 yaşındaydı ve 2 çocuğunu toplam 18 ay emzirmişti. Ailede kanser öyküsü bulunmamaktaydı. Olguda izlenen tümörün en büyük çapı 3 cm olup Modifiye Bloom Richardson' göre orta derecede diferansiyeydi. Aksiller bölgeden disseke edilen 8 adet lenf düğümünden 1'inde metastaz izlendi. Olgunun immun belirleyicilerle boyanma özellikleri Tablo 18'de gösterildi (Resim 10).

Tablo 18. BRCA-2 ile boyanma saptanmayan 2. olgunun immun profili

BRCA-1	BRCA-2	Cox-2	ER	PR	c-erbB-2	p53	Ki-67
Negatif	Negatif	1	20	10	Negatif	0	10

Olgu 3: Olgu 51 yaşındaydı. Bir çocuğu bulunan olgunun toplam emzirme süresi 2 aydı. Ailede kanser öyküsü yoktu. Olguda izlenen tümörün en büyük çapı 2,6 cm ve iyi diferansiyeydi. Disseke edilen 22 adet lenf düğümünde metastaz izlenmedi. Uygulanan immun belirleyicilerle aldığı değerler Tablo 19'da belirtildi (Resim 11).

Tablo 19. BRCA-2 ile boyanma saptanmayan 3. olgunun immun profili

BRCA-1	BRCA-2	Cox-2	ER	PR	c-erbB-2	P53	Ki-67
Orta	Negatif	Negatif	0	0	1+	0	1

c-erbB-2

c-erbB-2 ile membranöz boyanma temel alındı ve olguların 26'sında (%41,3) %10'nun altında hücrede hafif boyanma ,16'sında (%25,4) %10'dan fazla hücrede parsiyel membranöz boyanma, 6'sında (%9,5) %10'dan fazla hücrede zayıf-orta membranöz boyanma, 15'inde (%23,8) güçlü membranöz boyanma saptandı.

c-erbB-2 boyanma paterni ile tümörün histolojik derecesi karşılaştırıldığında güçlü membranöz boyanma izlenen 15 olgunun 8'inin orta-az diferansiye grupta olduğu gözlemlendi (Tablo 20). Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

c-erbB-2 boyanma paterni ve lenf düğümü metastazı karşılaştırıldığında da benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlemlenmedi. Elde edilen değerler Tablo 21 ve 22'de sunuldu.

Tablo 21. c-erbB-2'nin histolojik derece ile ilişkisi

c-erbB-2	Histolojik derece			Toplam n (%)
	İyi n (%)	Orta n (%)	Az n (%)	
< %10 hücrede hafif	10 (41,7)	11 (45,8)	3 (12,5)	24 (100)
>%10 parsiyel membranöz	7 (43,8)	7 (43,8)	2 (12,5)	16 (100)
>%10 zayıf-orta membranöz	1 (16,7)	4 (66,7)	1 (16,7)	6 (100)
Güçlü membranöz	5 (33,3)	8 (53,3)	2 (13,3)	15 (100)
Toplam	23 (37,7)	30 (49,2)	8 (13,1)	61 (100)

Tablo 22. c-erbB-2'nin lenf düğümü metastazı ile ilişkisi

c-erbB-2	Lenf düğümü metastazı				Toplam n (%)
	Yok n (%)	1-3 n (%)	4-9 n (%)	≥10 n (%)	
< %10 hücrede hafif	7 (33,3)	7 (33,3)	5 (23,8)	2 (9,5)	21 (100)
>%10 parsiyel membranöz	2 (14,3)	5 (35,7)	4 (28,6)	3 (21,4)	14 (100)
>%10 zayıf-orta membranöz	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	2 (40,0)	5 (100)
Güçlü membranöz	6 (50)	3 (25,3)	2 (16,7)	1 (8,5)	12 (100)
Toplam	16 (30,8)	16 (30,8)	12 (23,1)	8 (15,4)	52 (100)

c-erbB-2 boyanma paterni ile Cox-2 boyanma dağılımı değerlendirilğinde c-erbB-2 ile güçlü membranöz boyanma gösteren 15 olgunun 12'sinde Cox-2 ile %51 ve üzeri boyanma gözlemlendi ve istatistiksel olarak zayıf anlamlı olarak değerlendirildi. Bulgular Tablo 23'te sunuldu.

Tablo 23. c-erbB-2 ve Cox-2 boyanma paternlerinin karşılaştırılması

c-erbB-2	Cox-2 boyanma dağılımı					Toplam n (%)
	Yok n (%)	%1-10 n (%)	%11-50 n (%)	%51-80 n (%)	%81-100 n (%)	
< %10 hücrede hafif	-	3 (11,5)	3 (11,5)	11 (42,3)	9 (34,6)	26 (100)
>%10 parsiyel membranöz	3 (18,8)	1 (6,3)	2 (12,5)	1 (6,3)	9 (56,3)	16 (100)
>%10 zayıf-orta membranöz	-	-	1 (16,7)	1 (16,7)	4 (66,7)	6 (100)
Güçlü membranöz	-	-	3 (20)	6 (40)	6 (40)	15 (100)
Toplam	3 (4,8)	4 (6,3)	9 (14,9)	19 (30,2)	28 (44,4)	63 (100)

Östrojen reseptörü ile bazı olgularda boyanma izlenmezken bazı olgularda %100 (ortalama 60,98, \pm 39,90) nükleer boyanma gözlemlendi. Progesteron reseptörü ile de %0-100 (ortalama 48,10, \pm 40,87) nükleer boyanma saptandı. P53 ile nükleer boyanma yüzdesi 0 ile 90 (ortalama 11,81, \pm 23,20) arasında değişmekteydi. Ki-67 proliferasyon indeksi ise %1-70 (ortalama 16,71, \pm 16,03) idi. Olguların Modifiye Bloom Richardson'a göre histolojik derecelerinde saptanan ortalama östrojen ve progesteron reseptörü, p53, Ki-67 değerleri Tablo 24'te belirtildi (Resim 12,13,14).

Tablo 24. Histolojik derecelerde saptanan ortalama östrojen ve progesteron reseptörleri, p53 ve Ki-67 değerleri

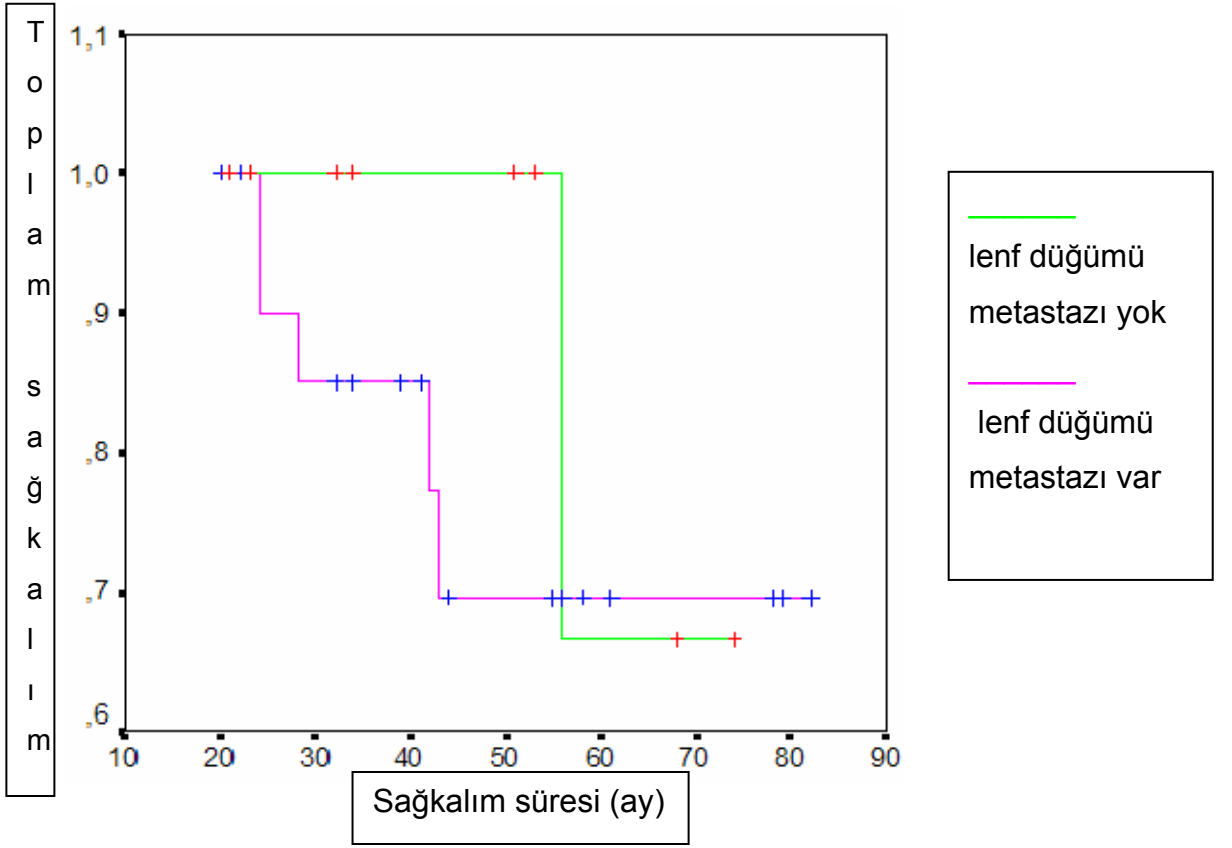
	ER (%)	PR (%)	p53 (%)	Ki-67 (%)
İyi diferansiye	72,82	57,60	11,30	8,13
Orta diferansiye	61,06	43,33	8,06	18,3
Az diferansiye	18,15	12,5	30,25	34,37

Aynı olguda izlenen invaziv duktal karsinom ve in situ karsinomlarda BRCA-1, BRCA-2 ve Cox-2 ile benzer boyanma özellikleri izlendi (Resim 15). Östrojen reseptörü ile %0-100 arasında (ortalama 65,91 ±33,6), progesteron reseptörü ile %0-100 arasında (ortalama 57,25 ±38,03) nükleer boyanma saptandı. p53 ile %0-50 (ortalama 6,0 ±15,26) nükleer boyanma gözlemlendi. Ki-67 proliferasyon indeksi %1-30 (ortalama 8,91±8,32) arasında değişmekteydi.

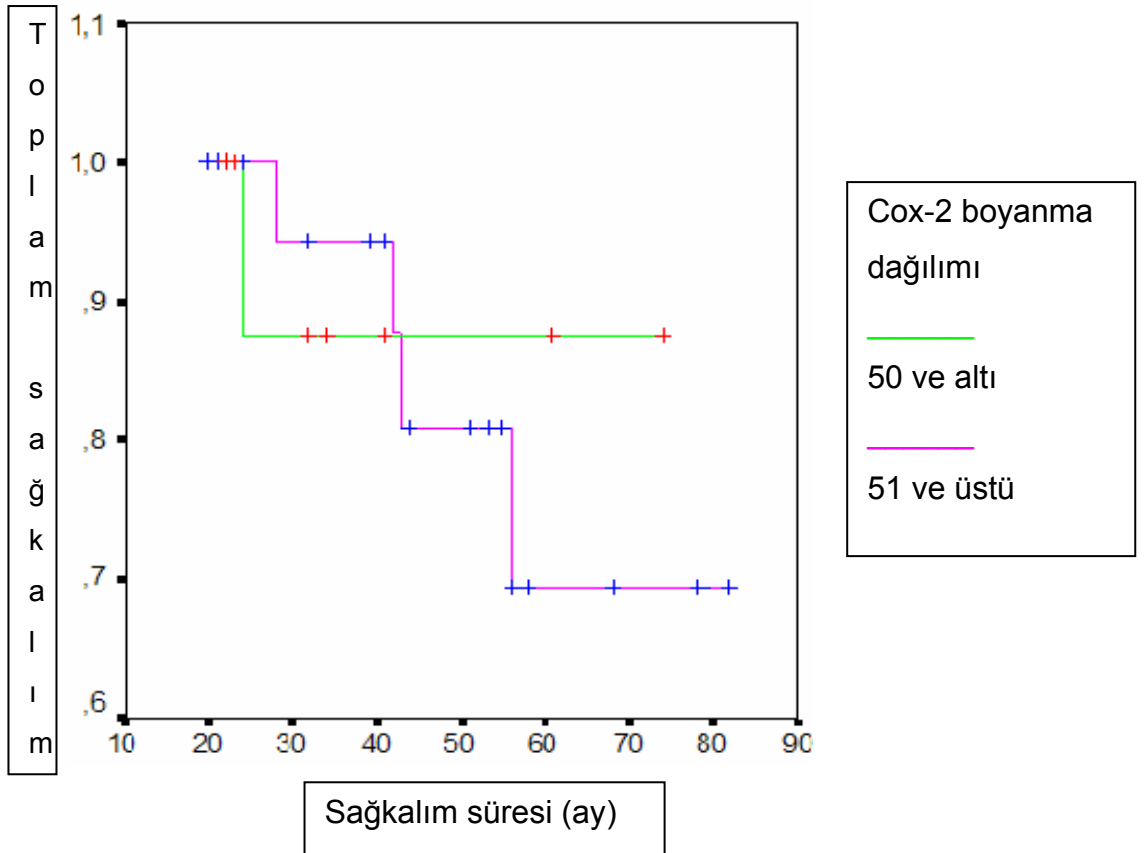
Bilgilerine ulaşılabilen 34 olguda sağkalım süreleri değerlendirildiğinde en kısa izlem süresi 20 ay en uzun izlem süresi 82 ay (ortalama 42,85, ±18,67) olan olguların 23'ü halen sağ iken 5'inde metastaz ya da metastaz kuşkusu bulunmaktaydı ve 6'sının ise tümör nedeniyle öldüğü belirlendi.

Lenf düğümü metastazının sağkalım üzerine etkileri araştırıldı ve lenf düğümü metastazı bulunan olgularda sağkalım oranları %84 iken lenf düğümü metastazı bulunmayan olgularda %89 olduğu görüldü (Şekil 1).

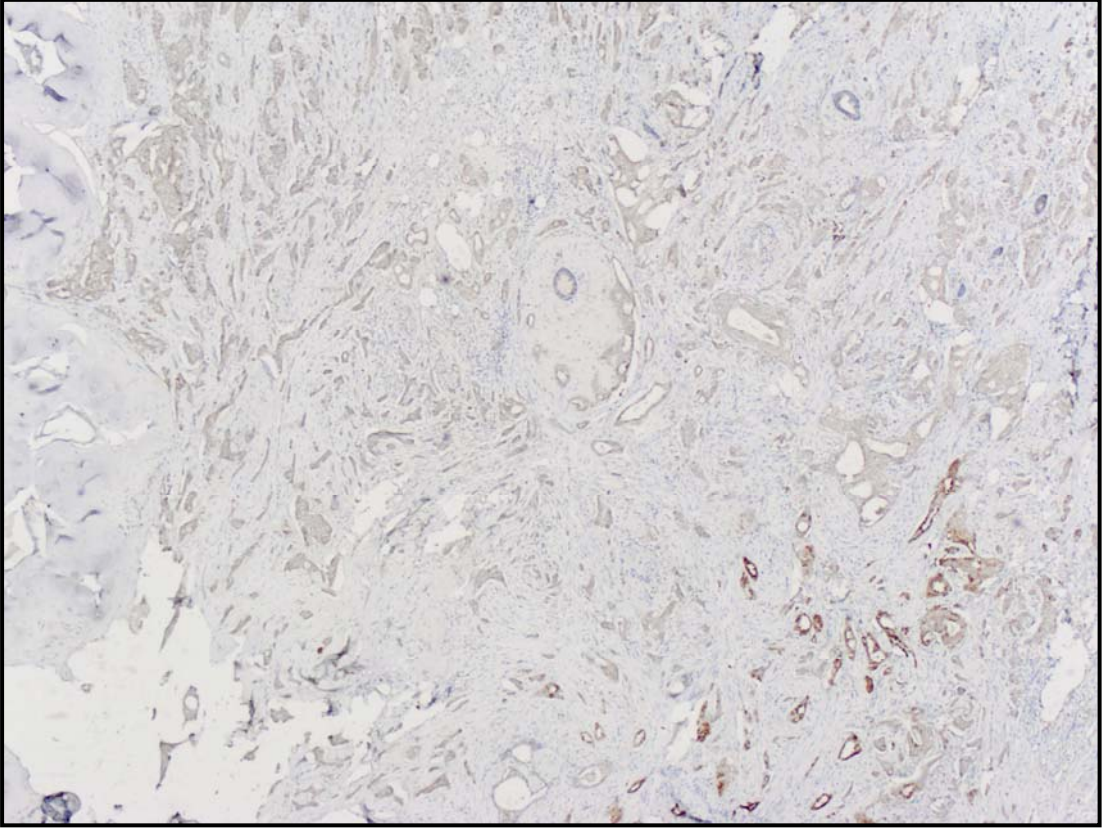
Cox-2 boyanma dağılımının sağkalım süreleri üzerine etkileri değerlendirildi ve %50'nin altında boyanma gösteren olgularda sağkalım oranı %90 bulundu. %51 ve üzerinde boyanan olgularda ise sağkalım oranı %83,3 saptandı (Şekil 2).



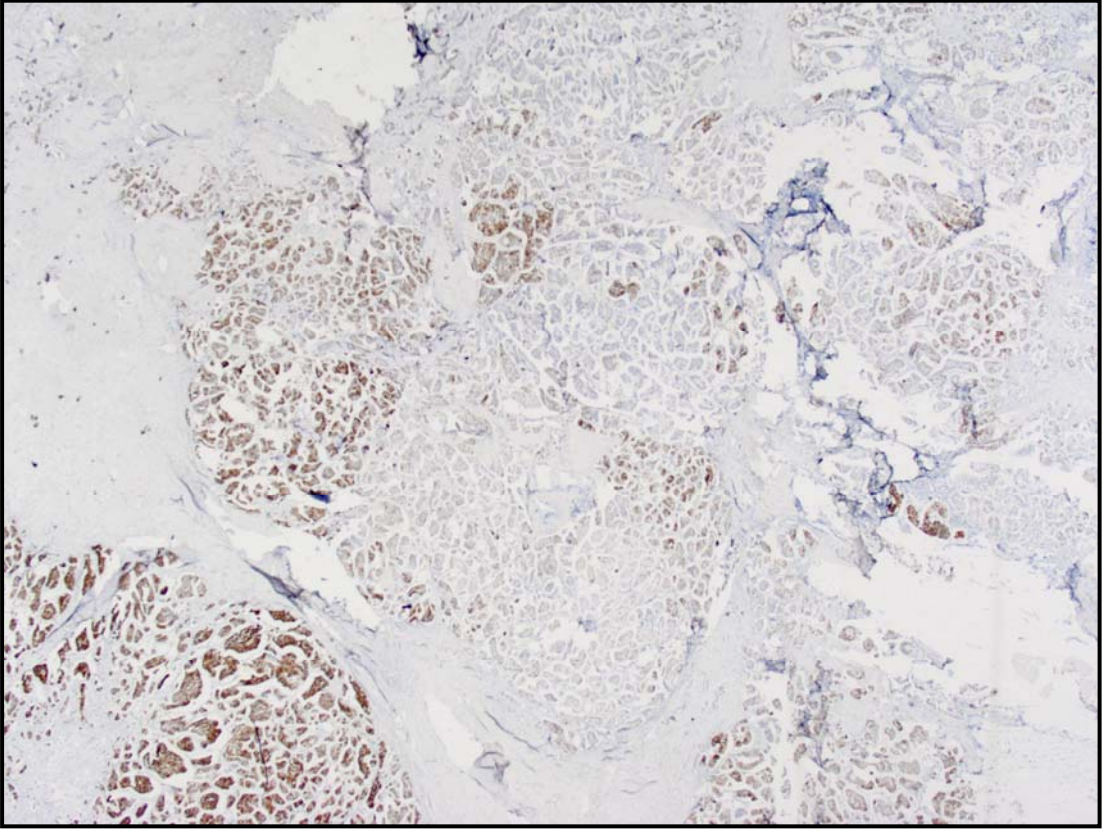
Şekil 1. Lenf düğümü metastazının sağkalım oranları ile ilişkisi



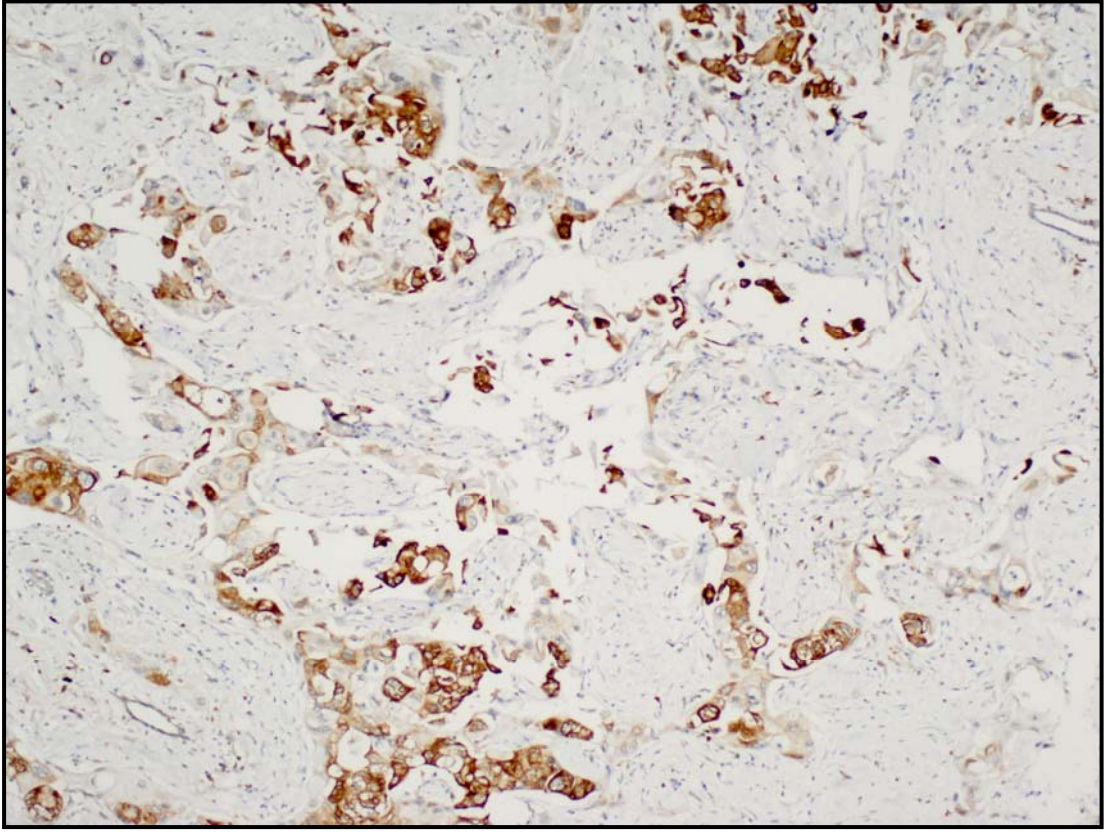
Şekil 2. Cox-2 boyanma dağılımının sağkalım oranları ile ilişkisi



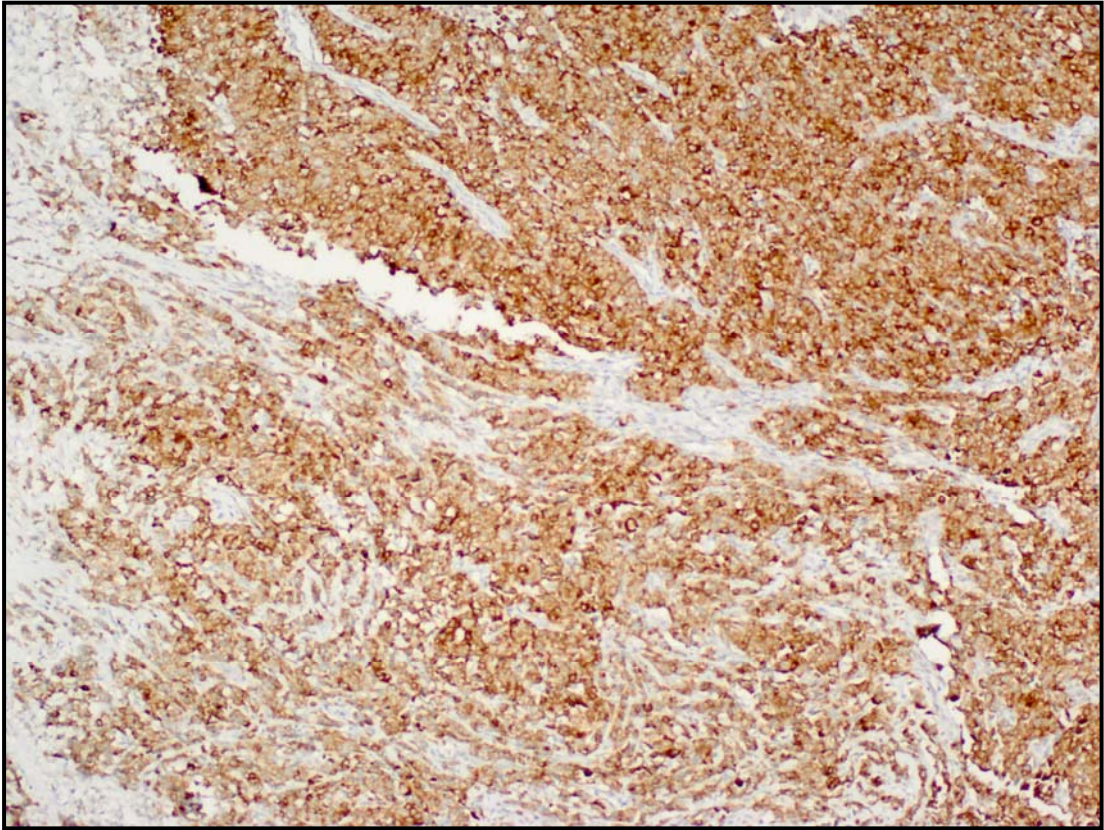
Resim 1. Cox-2 ile <10 boyanma dağılımı



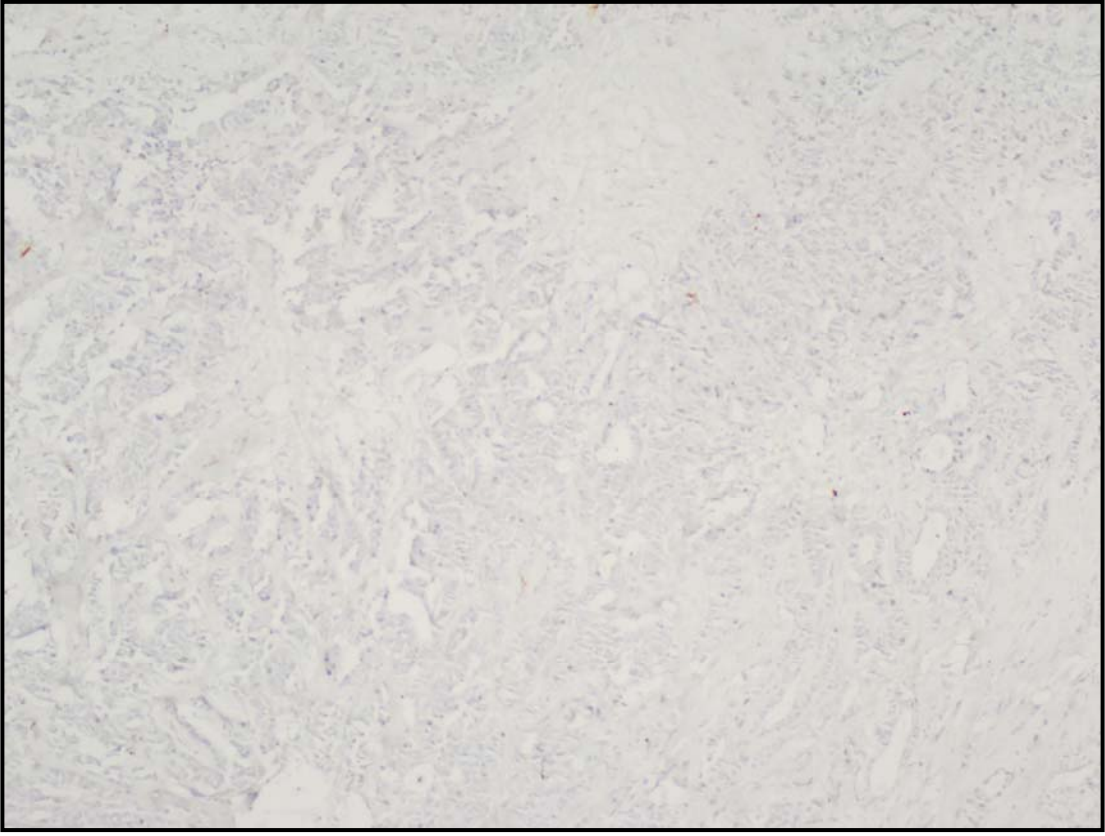
Resim 2. Cox-2 ile %11-50 boyanma dağılımı



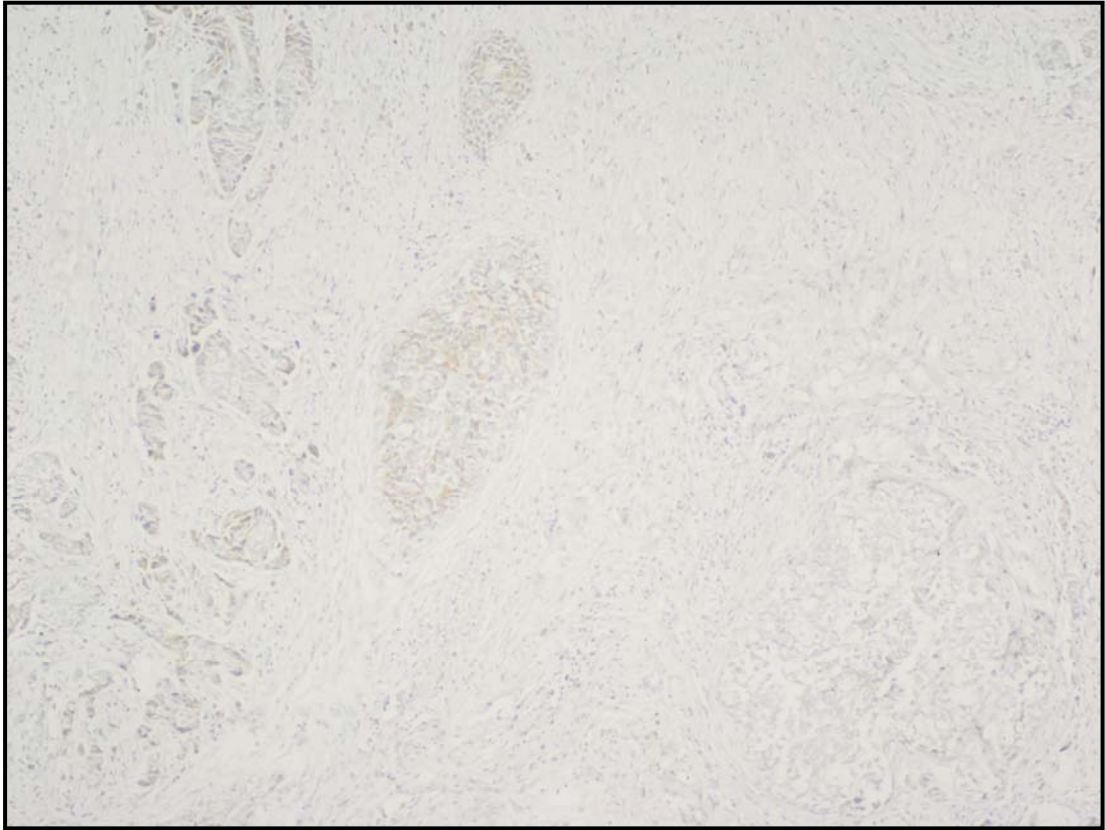
Resim 3. Cox-2 ile %51-80 boyanma dağılımı



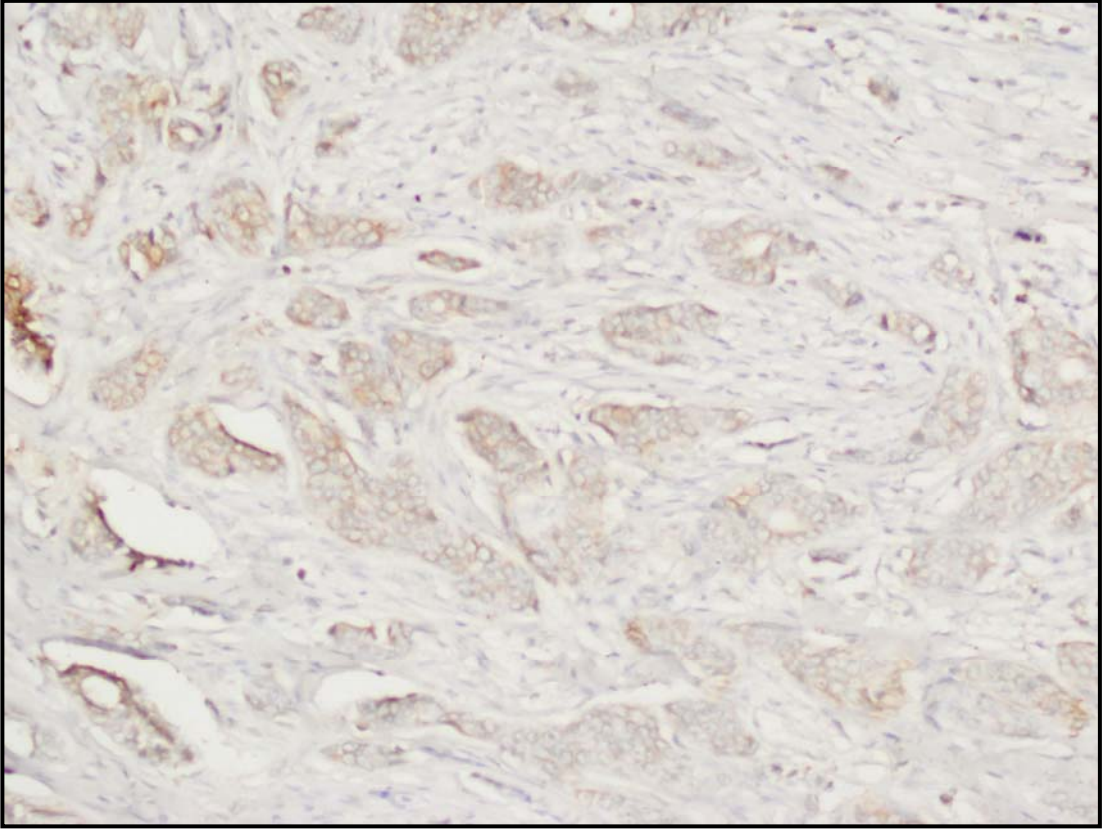
Resim 4. Cox-2 ile %81-100 boyanma dağılımı



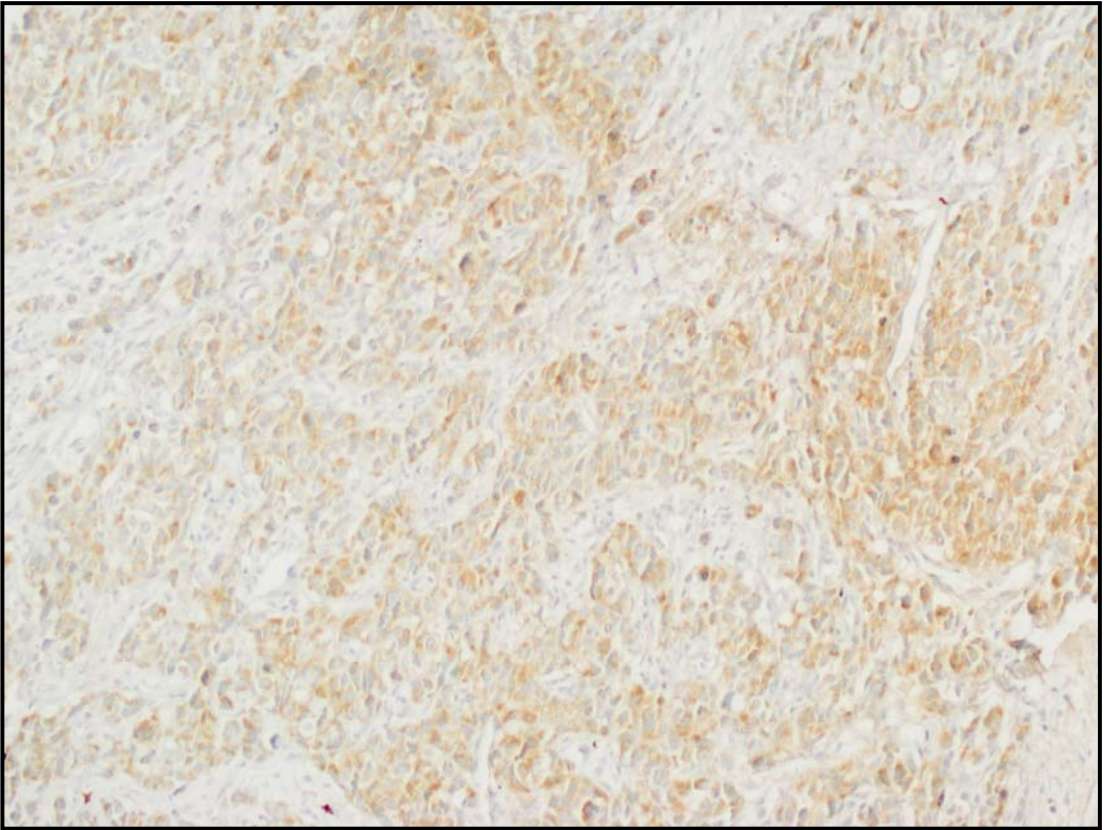
Resim 5. BRCA-1 ile negatif boyanma



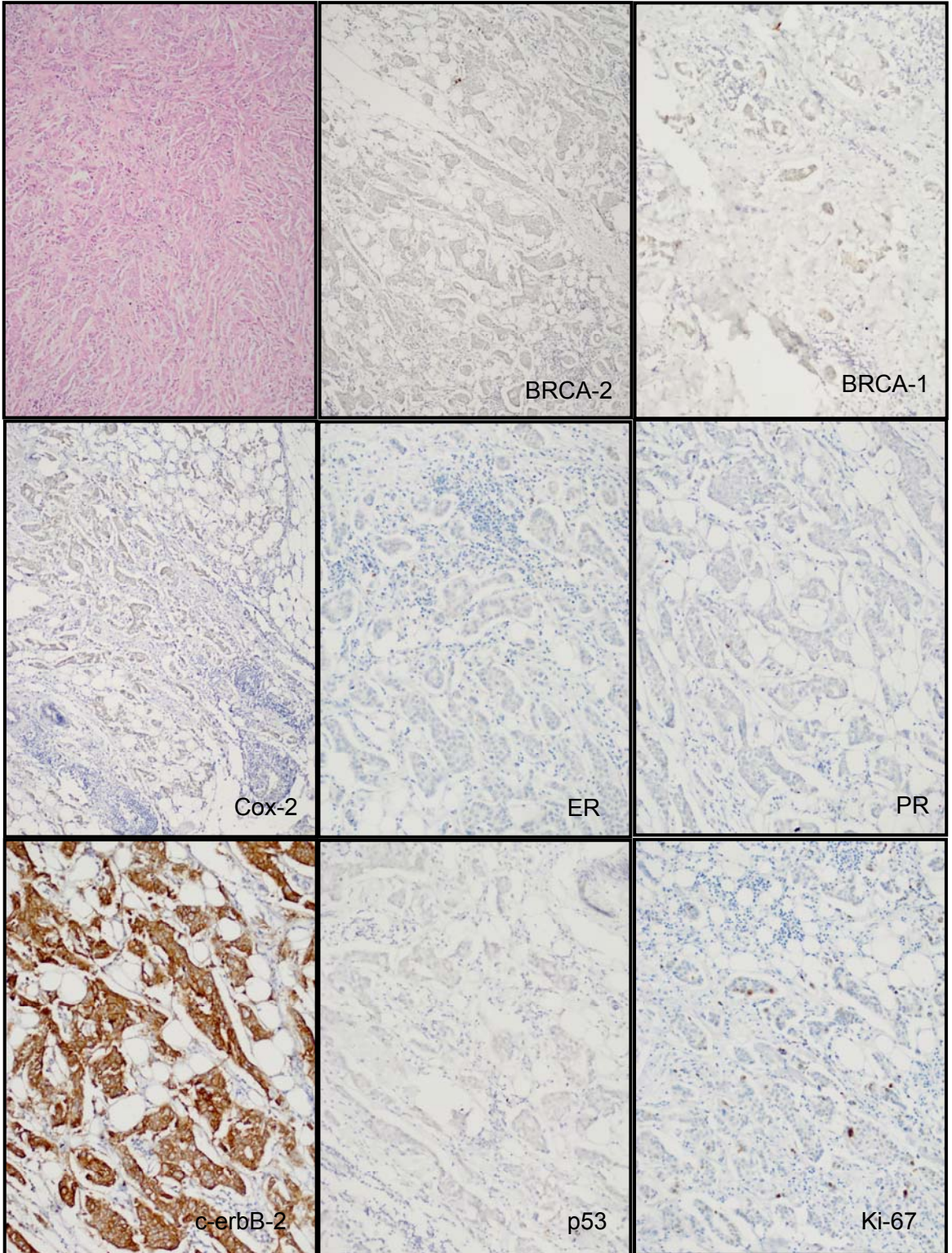
Resim 6. BRCA-1 ile fokal hafif boyanma



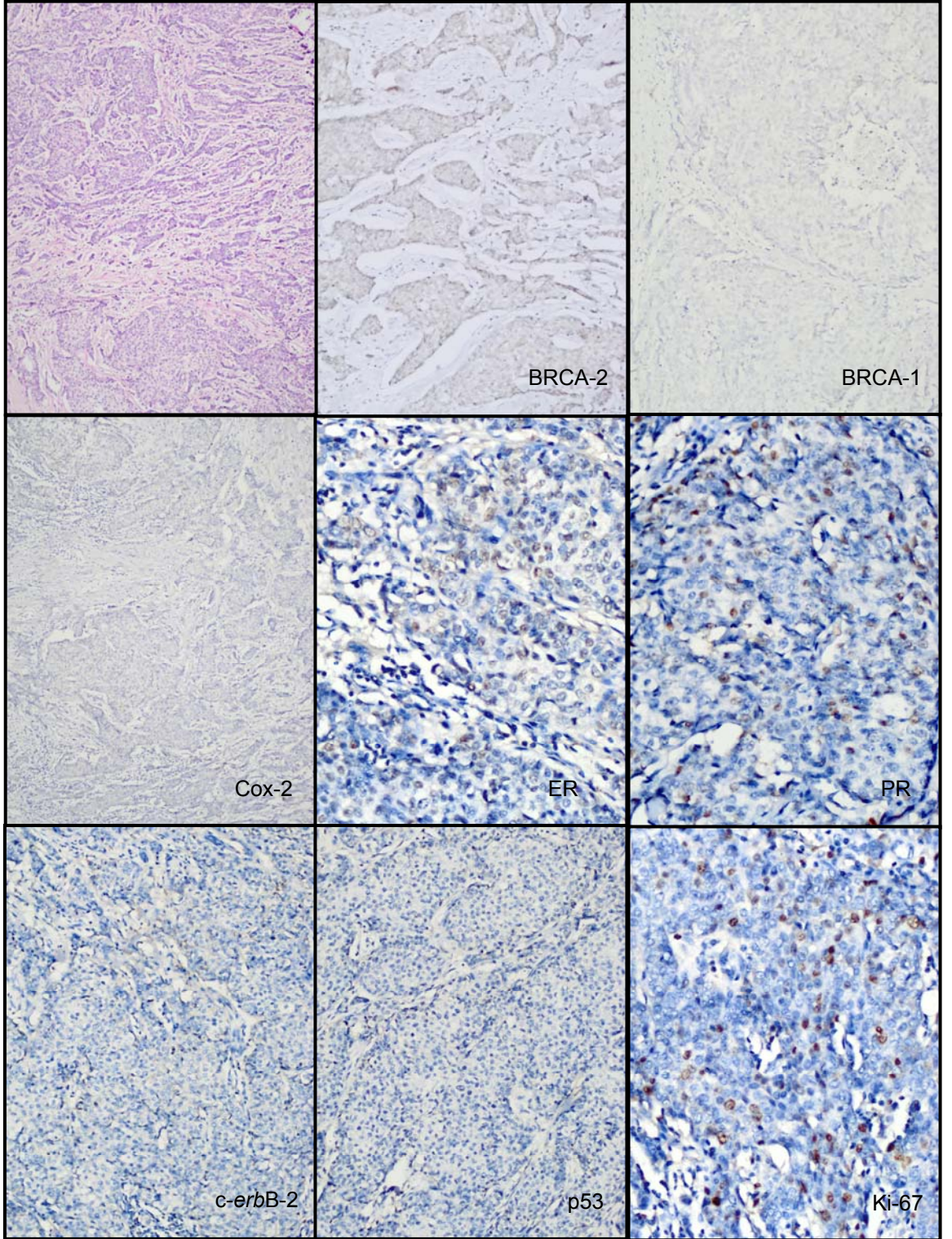
Resim 7. BRCA-1 ile hafif boyanma



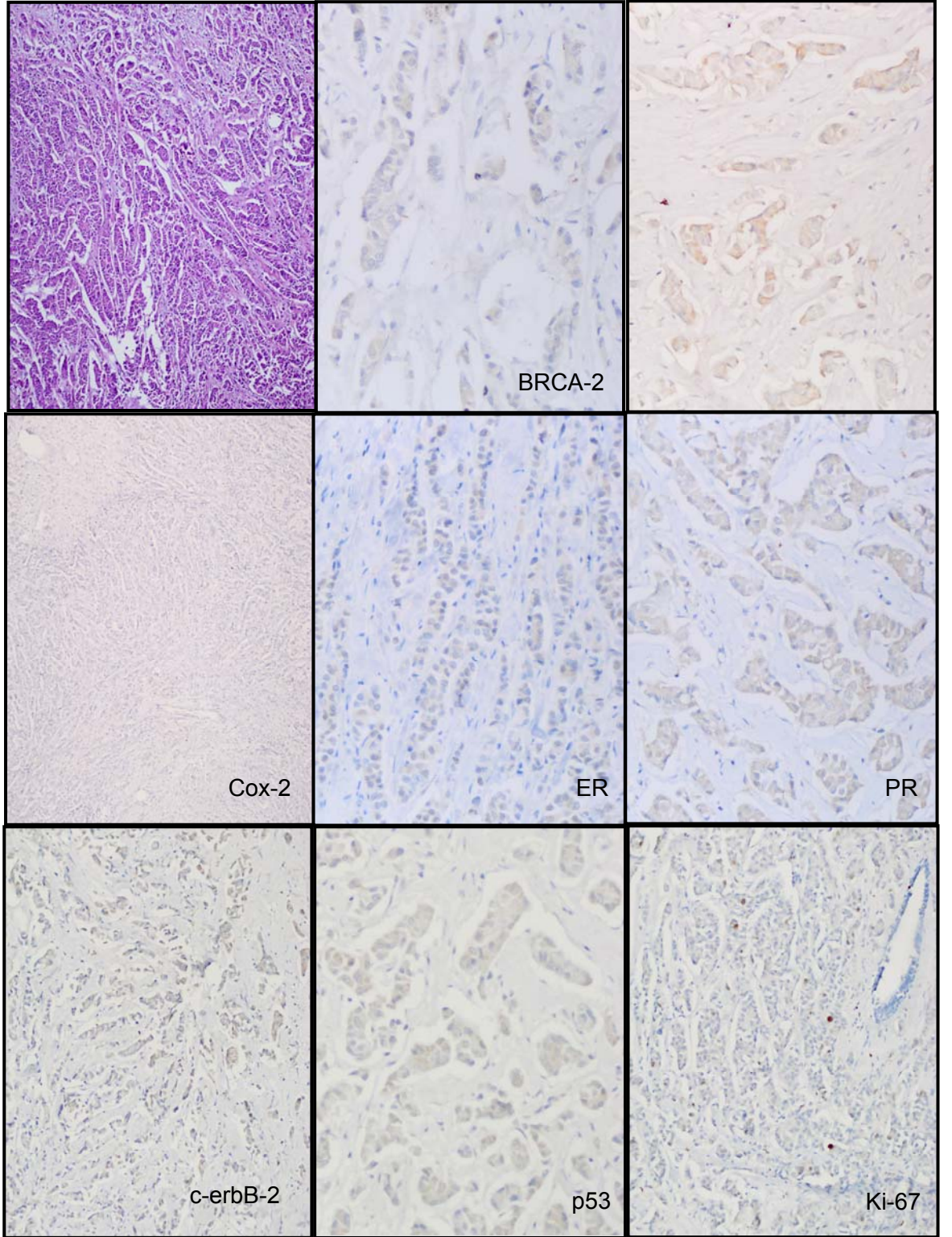
Resim 8. BRCA-1 ile orta derece boyanma



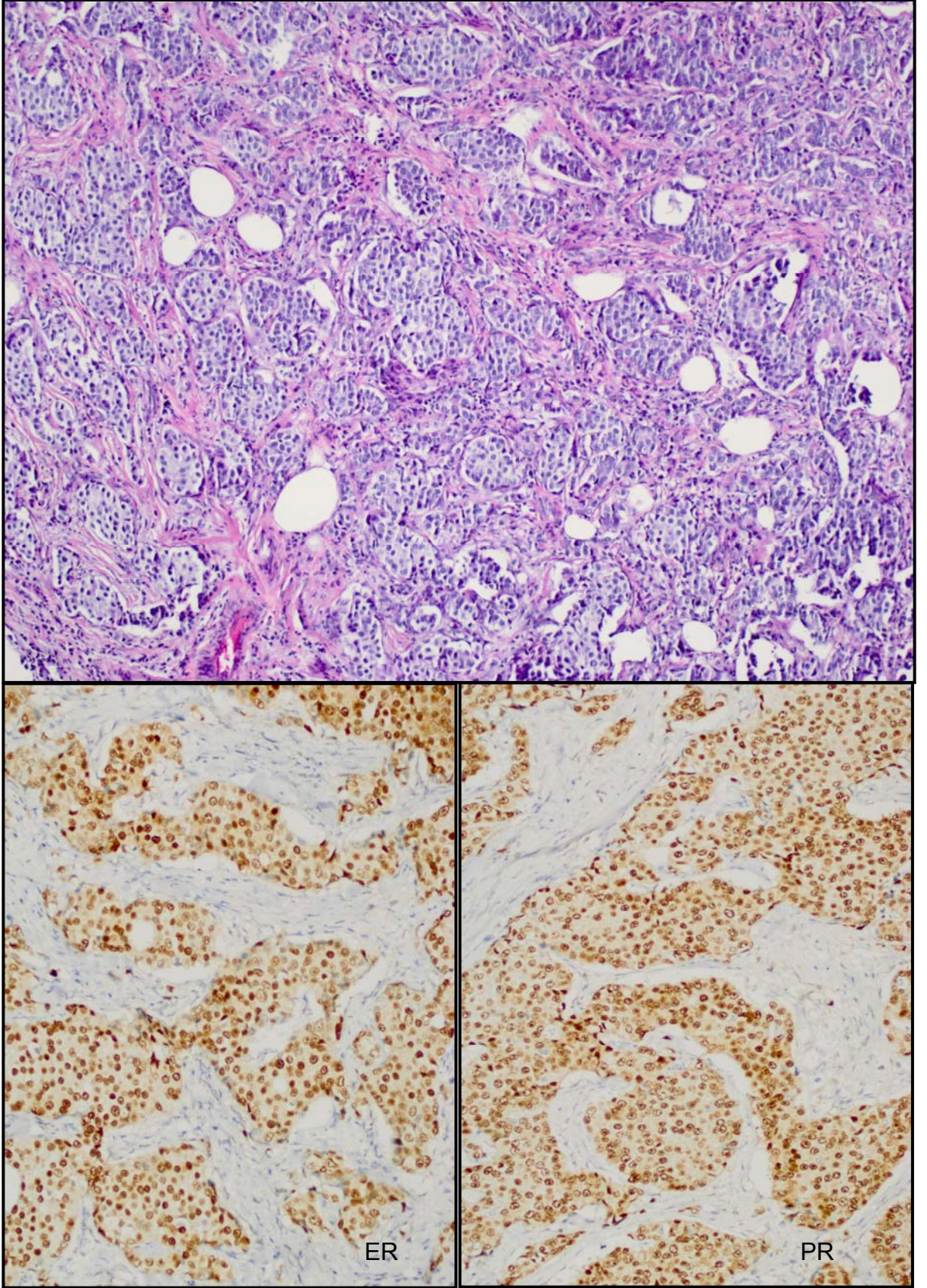
Resim 9. BRCA-2 ile boyanma saptanmayan 1. olgunun immun profili ve histolojik özellikleri



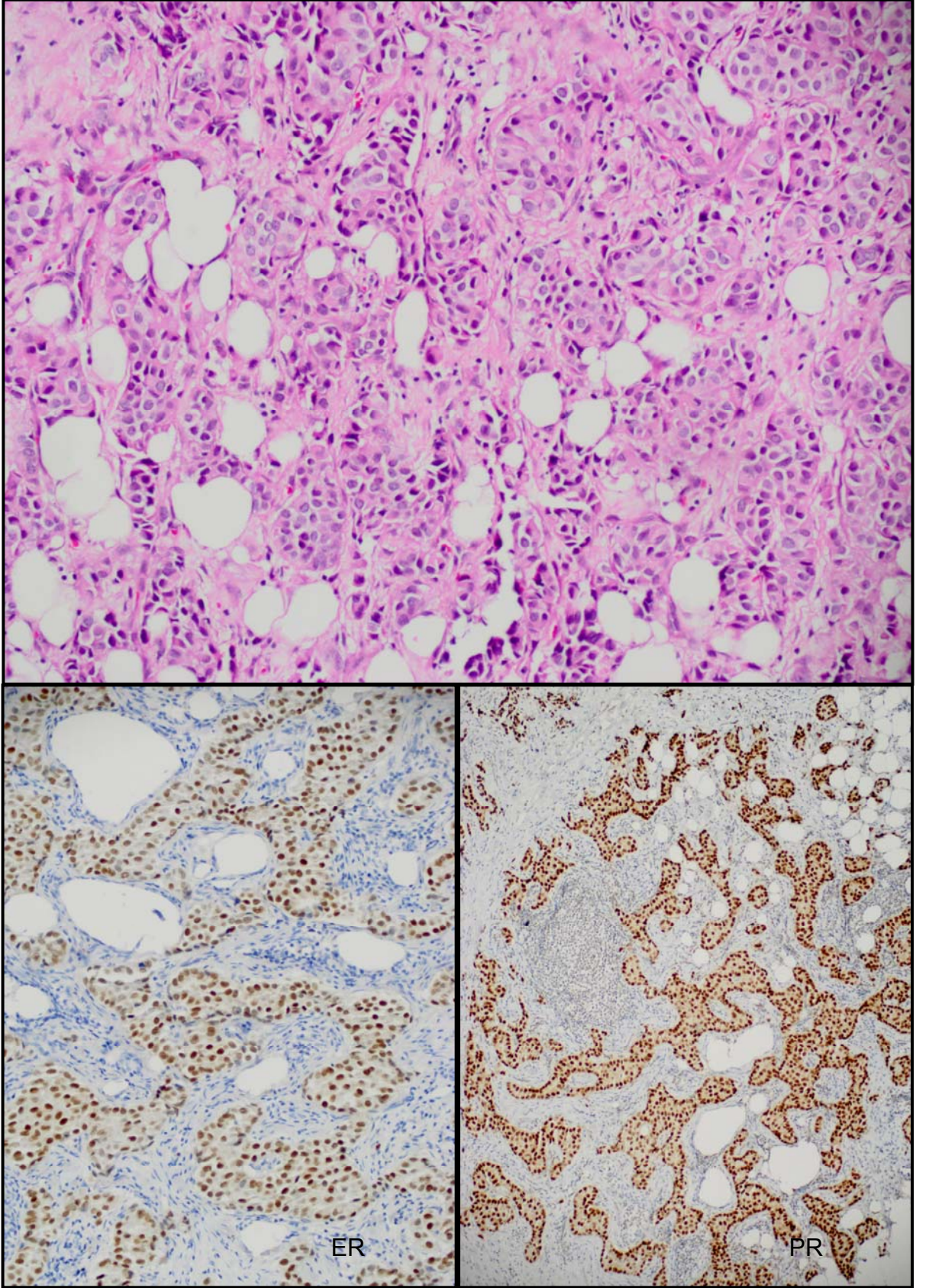
Resim 10. BRCA-2 ile boyanma saptanmayan 2. olgunun immun profili ve histolojik özellikleri



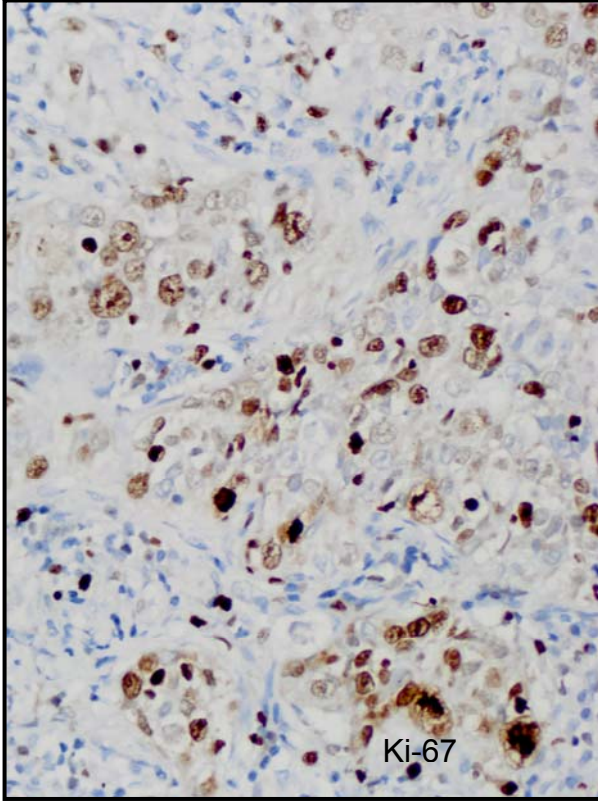
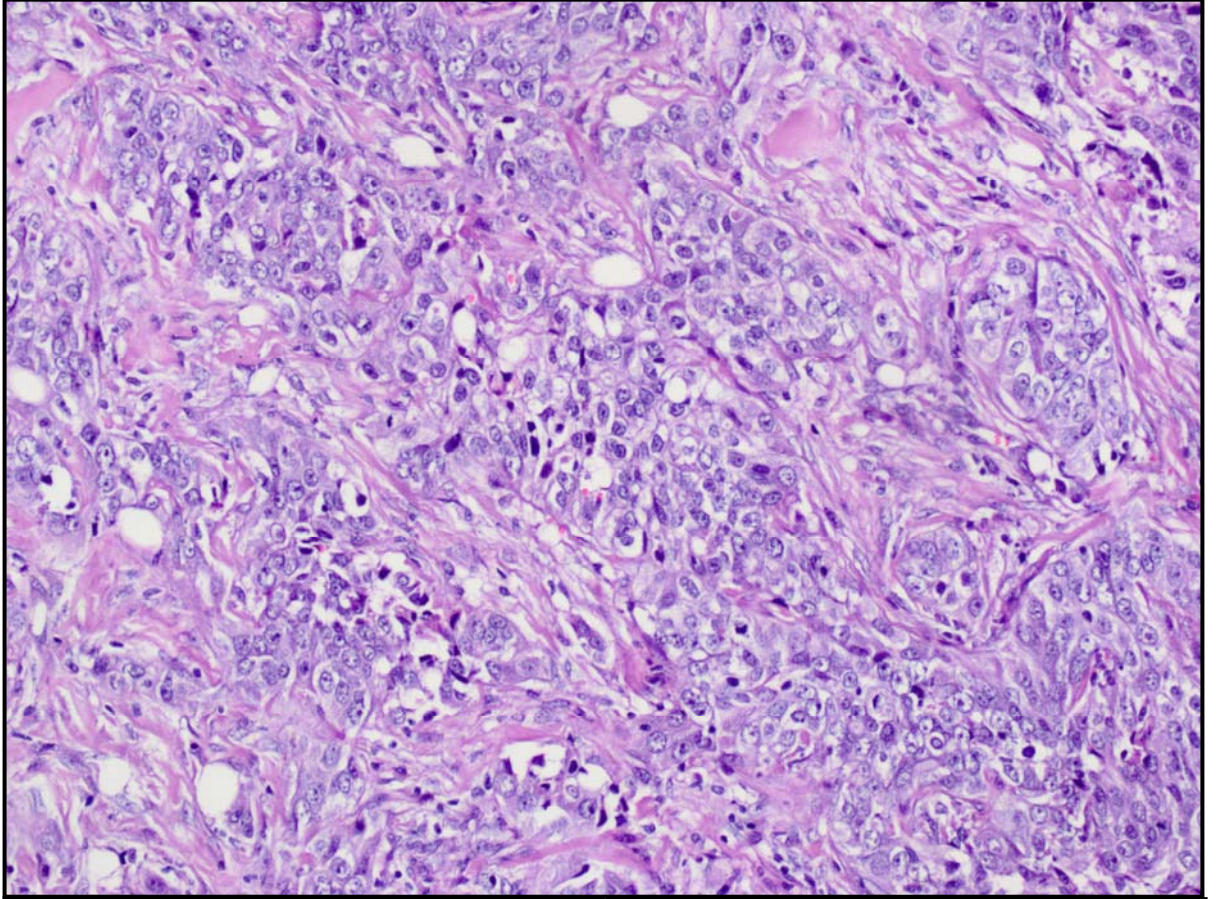
Resim 11. BRCA-2 ile boyanma saptanmayan 3. olgunun immun profili ve histolojik özellikleri



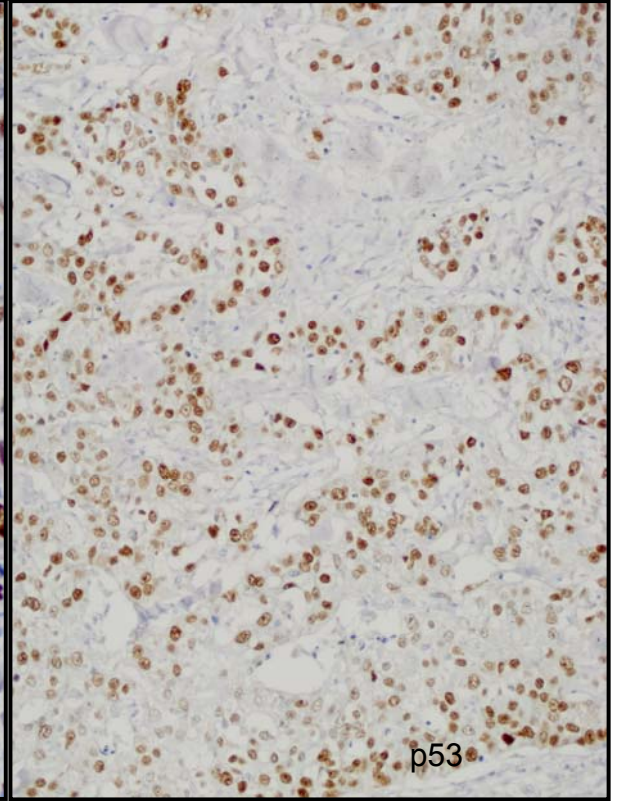
Resim 12. İyİ diferansiye tümörde östrojen ve progesteron reseptörü pozitifliği



Resim 13. Orta derece diferansiye tümörde östrojen ve progesteron reseptörü pozifliği

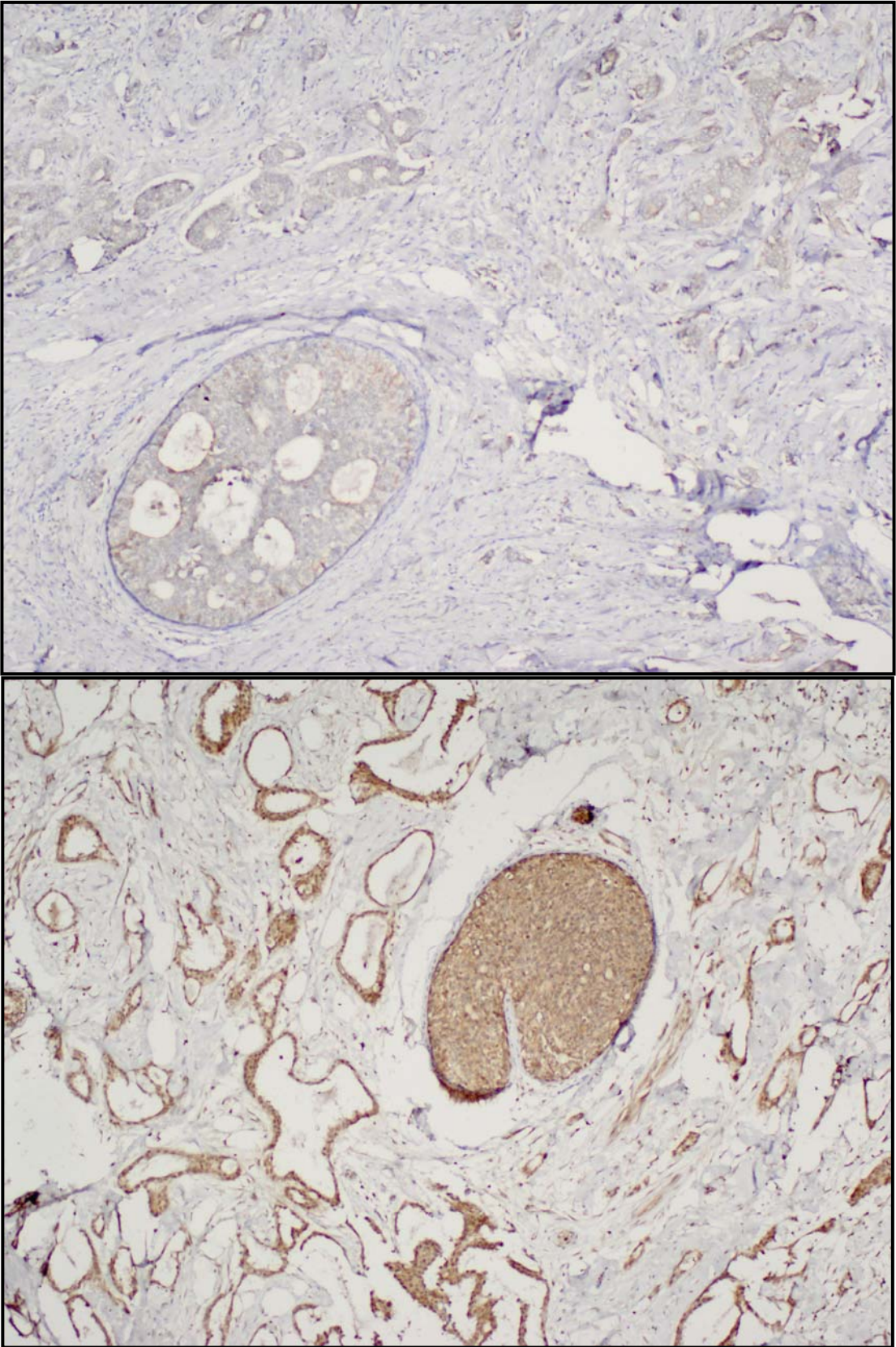


Ki-67



p53

Resim 14. Az diferansiye tümörde p53 ve Ki-67 ile yüksek pozitiflik



Resim 15. Cox-2 ile invaziv ve in situ komponentte benzer boyanma paterni

TARTIŞMA

Meme karsinomları kadınlarda en sık görülen karsinomlardır ve kansere bağlı ölümlerde akciğer karsinomlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Bu nedenle meme kanserleri ile ilgili etyolojik ve prognostik çalışmalar önem kazanmaktadır. Prognoz, tedavi sonrası nükse kadar geçen hastalısız süre ve hastalısız+hastalıklı toplam sağkalım süresi ile değerlendirilir. Prognozu etkileyen birçok etken bulunmakla birlikte en önemlisi tanı anında kanserin evresidir. Diğer prognostik faktörlerin çoğu ise tümörün kendi özellikleridir. Meme kanserlerinin erken evrede yakalanabilmeleri için kanser risklerinin ve bu riskleri taşıyan kişilerin saptanabilmesi oldukça önemlidir.

Meme karsinomu gelişme olasılığını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunların başlıcaları yaş, uzun süre endojen östrojen etkisine maruz kalma, önceden var olan proliferatif meme hastalığı ve aile öyküsüdür.

Meme kanserleri 25 yaş altında bazı ailesel olgular dışında nadirdir. Bu yaştan sonra başlayan artma eğilimi tüm yaşam boyu kendini göstermektedir. Meme karsinomlarının %77'si 50 yaşın üzerindedir, tanı anındaki ortalama yaş ise 64'tür. Bizim çalışmamızda da invaziv duktal karsinom ve duktal karsinoma in situ tanılarını almış 63 olgunun yaşları değerlendirildiğinde olguların yaşları 23-84 (ortalama 53,29 ±14,15) arasında yer almaktadır.

Menstrüel siklusun erken başlaması, geç menopoza, nulliparite, geç çocuk sahibi olma, laktasyon dönemlerinin kısa sürmesi gibi durumlar östrojenik etki süresini artırdığı için meme kanseri gelişim riskini de artırmaktadır. Çalışmamızda bilgileri edinilebilen olgularda ilk doğum yaşları 15-39 (ortalama 23,43 ±4,87) idi. Olgular arasında çocuk sayısı en fazla 9 olan hasta yanı sıra hiç doğum yapmamış olgular da bulunmaktaydı. Toplam emzirme süreleri 2-72 ay (ortalama 25,18 ±19,30) arasında değişmekteydi.

Çalışmamızda yer alan tümörlerin histopatolojik incelemesinde tubul yapısı, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısını temel alan Modifiye Bloom Richardson'a göre olguların 23'ü (%37,7) iyi diferansiye, 30'u (%49,2) orta derece diferansiye ve 8'i (%13,1) az diferansiye olarak değerlendirildi. Yapılan bir çalışmada 1800 olgu değerlendirilmiş ve olguların %19'unun iyi diferansiye, %34'ü orta diferansiye ve %46'sı az diferansiye olduğu saptanmıştır. Bu olguların 8-20 yıllık takipleri sonucunda iyi diferansiye tümörlerin orta ve az diferansiye olanlara göre daha iyi prognozlu oldukları saptanmıştır (46). Bizim çalışmamızda az diferansiye tümörlerin oranı literatürde belirtilenlere oranla daha düşük bulunmuş ve bunun olgu seçiminden ve olgu sayısının az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Prognozu ve tedaviyi belirlemede önemi olan östrojen ve progesteron reseptörlerinin iyi diferansiye tümörlerde orta ve az diferansiye tümörlere göre daha yüksek oranlarda pozitiflik gösterdiği bilinmektedir. Çalışmamızda iyi diferansiye tümörlerde %72,82 oranında östrojen reseptörü pozitifliği izlenirken orta ve az diferansiye tümörlerde sırasıyla %61,06 ve %18,15 olarak saptanmıştır. Progesteron reseptörüyle de iyi diferansiye tümörlerde %57,60, orta diferansiye tümörlerde %43,33, ve az diferansiye tümörlerde %12,5 pozitiflik gözlenmiştir.

Prognozunu belirlemede en önemli faktörün evre olduğu bilinmektedir. Evreyi belirleyen temel parametreler ise tümör boyutu, lenf düğümü metastazı ve uzak metastazların varlığıdır. Evre arttıkça sağkalım sürelerinin azaldığı bilinmektedir (3, 4,5).

Lenf düğümü disseksiyonu yapılan 52 olgu içinde; 16 olguda (%30,8) lenf düğümü metastazı saptanmazken 16'sında (%30,8) 1-3 adet lenf düğümünde, 12'sinde (%23,1) 4-9 adet lenf düğümünde, 8'inde (%15,4) ise 10 veya 10'dan fazla lenf düğümünde metastaz gözlemlendi. Lenf düğümü sayıları ile tümörlerin diferansiyasyonu karşılaştırıldığında az diferansiye tümörlerde daha fazla sayıda lenf düğümü metastazı gözlenmekte olduğu dikkati çekti. Az diferansiye tümörlerin daha fazla lenf düğümü metastazı yapma eğilimi bulunduğu bilinmektedir. Ancak bizim çalışmamızda az

diferansiye tümör sayısının az olması nedeniyle istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Çalışmamızda tümör boyutu değerlendirildiğinde en küçüğü 1 cm en büyüğü ise 18 cm ölçülerdeydi. Tümör boyutları evreye göre sınıflandırıldığında 18'i (%29) 2 cm ya da 2 cm'den küçük, 31'i (%50) 2-5 cm, 13'ü (%21) 5 cm ve daha büyük boyutlardaydı. Tümör boyutu ve lenf düğümü metastazı karşılaştırıldığında tümör boyutu arttıkça lenf düğümü metastaz oranının ve metastatik lenf düğümü sayısının da arttığı saptandı, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

Tümör boyutu en önemli prognostik faktörlerden biridir ve lenf düğümü metastazlarından bağımsızdır. Ancak aksiller lenf düğümü metastazı riski tümör ölçüsü ile birlikte artmaktadır. Literatürde tümör çapı 15 mm'den küçük olan tümörlerde aksiller lenf düğümü metastazı %15-20 iken 15 mm'den büyük tümörlerde bu oranın %40'ın üzerinde olduğunu belirten yayınlar bulunmaktadır (47).

Tümör boyutu ve Modifiye Bloom-Richardson'a göre histolojik dereceleri değerlendirildiğinde tümör boyutu arttıkça tümörün orta ve az diferansiye olma eğiliminde olduğu saptandı ve bu bulgunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0,05$).

Birinci derece akrabalarında meme kanseri bulunan olgularda meme kanseri gelişme riski artmaktadır. Ancak olguların çoğunda ailede meme kanseri öyküsü bulunmamakta ve yalnızca olguların yaklaşık %13'ünde birinci derece akrabalarında meme kanseri öyküsü belirtilmektedir. Ayrıca ailede meme kanseri öyküsü bulunan olguların %87'sinde meme kanseri gelişmediği bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda da yalnızca 3 (%4,7) olguda birinci derece akrabalarında meme kanseri öyküsü bulunmaktadır.

Meme kanserli olguların büyük bir kısmı sporadik olmakla birlikte kalıtsal ya da ailesel meme kanserleri tüm meme kanserlerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Ailesel meme kanserleri bazı özellikleri ile sporadik formlarında farklılık göstermektedir. Otozomal dominant geçiş gösteren bu olguların %30 kadarı 35 yaş altında iken %1'den azı 75 yaş üstündedir ve bilateral meme kanseri görülme riskinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir.

Son yıllarda ailesel meme kanserleriyle ilişkili en iyi tanımlanmış olan genler BRCA-1 ve BRCA-2 genleridir.

BRCA-1 geni bir tümör süpresör genidir ve ilk olarak 1990 yılında King ve ark. tarafından 17.kromozomun uzun kolunda haritalandırılmıştır. BRCA-1 geni 24 eksondan oluşmakta ve 1853 amino asitten oluşan bir protein kodlamaktadır. Bu protein DNA çift zincir kırılmalarının onarımı, transkripsiyon regülasyonu, hücre siklus kontrolü, kromatin remodelasyonu gibi çok sayıda işleve sahip olduğu belirtilmektedir. Bu gendeki mutasyonların over kanserine de neden olduğu bilinmekte ayrıca serviks, endometrium, tuba, periton, mide, karaciğer ve prostat kanseri gelişimine de yatkınlık oluşturmaktadır (16-28).

Toplumdaki BRCA-1 gen mutasyonunun yaygınlığı (prevalans) %0,01-%0,02'dir. Bazı etnik ve coğrafi gruplarda yaygınlığı artmaktadır (16,17).

H. Yazıcı ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Türk toplumunda görülen, ailesel meme ve/veya over kanserleri ve erken başlangıç gösteren meme kanseri olgularında BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada aile öyküsü bulunan over ve/veya meme kanserli 53 olgunun 8'inde (%15,1) BRCA mutasyonları saptanmıştır. Bu mutasyonların 7'si BRCA-1 geninde 1'i BRCA-2 geninde bulunmuştur. Ayrıca aile öyküsü bulunmayan erken başlangıç gösteren (50 yaş altı) 52 olgudan 3'ünde (%5,8) de BRCA mutasyonları saptanmıştır. Bu 3 mutasyondan 2'si BRCA-1, 1'i BRCA-2 genlerinde olduğu gözlenmiştir. Mutasyon saptanan toplam 11 olgunun 3'ünde izlenen mutasyonların daha önce tanımlanmadığı ve bu mutasyonların türk toplumuna özgü olabileceğini belirtmişlerdir (48).

BRCA-1 ve BRCA-2 mutasyonu taşıyıcılarında meme kanseri gelişme riski %7-84 arasında değişmektedir. 35 yaş altında tanı alan meme karsinomu olgularının %5,9-9,4 'ünde BRCA mutasyonlarının saptandığı bildirilmekte ve ayrıca birinci derece akrabasında meme kanseri öyküsü bulunana 45 yaş altındaki olgularda BRCA-1 mutasyonlarının %12-13,1 olduğunu bildiren yayınlar da bulunmaktadır (23, 49).

BRCA mutasyonu bulunan olgularda karşı memede kanser gelişme riski de artmaktadır. Yapılan bir çok çalışmada karşı memede kanser gelişme

riski %4,7 ile %53 arasında değişmektedir. Menapoz sonrası BRCA-1 taşıyıcılarında bu oranın azaldığı ancak BRCA-2 taşıyıcılarında artmaya devam ettiği belirtilmektedir (23).

BRCA-1 mutasyonu bulunan olgularda meme kanserlerinin histopatolojik özellikleri değerlendirildiğinde bu tümörlerin sıklıkla yüksek dereceli tümörler olduğu ve bir çok çalışmada da medüller ve atipik medüller tiplerin daha sık görüldüğü rapor edilmiştir. Bu tümörlerin genellikle östrojen reseptörü, progesteron reseptörü ve c-erbB-2 ile negatif oldukları saptanmıştır. p53 mutasyonu ise BRCA mutasyonu bulunmayanlara göre daha yüksek oranlarda saptanmıştır (23, 49, 27).

BRCA-2 mutasyonu bulunan olgulardaki kanserlerin histopatolojik özellikleri ise bir çok çalışmada farklılık göstermektedir. Markus ve ark. BRCA-2 mutasyonu bulunanlarda daha düşük dereceli tümörlerin saptandığı belirtirken diğer çalışmaların çoğunda bu tümörlerin yüksek dereceli olma eğiliminde oldukları söylenmektedir. BRCA-2 mutasyonu bulunan olgularda daha çok tubulolobüler ya da lobüler tip tümörlerin görüldüğünün belirten yayınlar bulunmaktadır. Bir çok yayında bu olgularda östrojen reseptörü, progesteron reseptörü ve c-erbB-2 immun belirleyicilerinin sporadik formları ile farklılık göstermediği bulunmuştur (27, 30).

Albano ve ark. ilk olarak ailesel olgularda meme kanserlerinin daha iyi prognozlu olduklarını göstermiş olmakla birlikte daha sonraki çalışmalar bunun aksi yönünde bulgular ortaya koymaktadır (23, 50). Gaffney ve ark. ile Robson ve ark. ise çalışmalarında BRCA mutasyonlu olgular ile sporadik formlar arasında sağkalım oranlarında belirgin bir fark olmadığını belirtmektedirler (51, 52, 23).

Bizim çalışmamızda BRCA-2 ile nükleer ya da sitoplazmik boyanma saptanmayan 3 (%4,8) olgu bulunmaktadır. Bu olguların yaşları sırasıyla 37, 36 ve 51'dir. Olgularda izlenen tümörlerden ikisi orta derece diferansiyeyken diğeri iyi diferansiyedir. Bu 3 olgunun 2'sinde östrojen ve progesteron reseptörleri ile boyanma saptanmazken diğesinde düşük oranlarda pozitiflik gözlenmiştir. p53 ile üçünde de boyanma saptanmamıştır. Ki-67proliferasyon indeksi sadece birinde %10 bulunmuş diğeri ise %5 ve %1 olarak

değerlendirilmiştir. Bu olgularda, ikisinin 45 yaş altı olması dışında histopatolojik ya da immunohistokimyasal olarak ortak bir özellik bulunamamıştır.

Yapılan çalışmalarda çok sayıda BRCA-1 germ-line mutasyonlar tanımlanmış olmakla birlikte intrasellüler lokalizasyonu hakkında az bilgi bulunmaktadır. Bir çalışmada BRCA-1 proteinin amino ve karboksi uçlarına etkili antikolar ile BRCA-1 mutasyonları ile boyanma lokalizasyonları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Karboksi uca etkili antikor (GLK-2) ile ekson 11 mutasyonlarında sitoplazmik boyanma elde edilirken diğer mutasyonlarda boyanma saptanmamıştır. BRCA-1 mutasyonu olmayan olgularda ise nükleer boyanma gözlenmiştir. Amino ucuna etkili antikorla (Ab-2) NLSs'nin bulunduğu ekson 11'in aşağısındaki mutasyonlarda nükleer boyanma izlenirken üstündeki mutasyonlarda ise boyanmanın saptanmadığı bildirilmiştir (31).

Çalışmamızda BRCA-1 immun belirleyicisi ile olguların %73 ile boyanma saptanmamış %26'sında ise hafif ya da orta derecede sitoplazmik boyanma gözlenmiştir. Olguların boyanma değerleri ile tümörün histolojik derecesi, lenf düğümü metastazı, östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, p53, c-*erbB*-2 ve Ki-67 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

Cox bir enzim olup arasıdonik asitten PG sentezini katalizleyen prostaglandin sentetaz kompleksinin bir parçasıdır. Cox-1 ve Cox-2 olmak üzere iki alt tipi bulunmaktadır. Cox-1 normal dokuda hücre membranında yer almaktadır. Cox-2 ise birçok normal dokuda saptanamamakla birlikte yangı ve neoplastik süreçte sitoplazmada ortaya çıkar. Büyüme hormonları, tümör ilerleticileri, bakteriyel endotoksinler ve sitokinler tarafından Cox-2 salınımı indüklenir (33-38).

Cox-2 salınımı PG sentezini uyarmaktadır ve PG'ler hücre sel fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde yardımcı olan lokal hormonlar olup hücre proliferasyonunu stimüle ederler, özellikle meme epitel hücrelerinin mitotik aktivitesini artırırlar (33).

Cox-2'nin kanser gelişiminde rolü olduğuna ilişkin çok sayıda bulgu bulunmaktadır. Kolon, akciğer, mide ve özofagus adenokarsinomları gibi bir çok malignitede Cox-2 ekspresyonu artmıştır. Ayrıca genetik ve farmakolojik çalışmalar Cox-2'nin erken dönem tümör gelişiminde etkili olduğunu belirtmektedir. Half ve arkadaşları invaziv tümöre komşu DKIS alanlarında invaziv tümöre göre daha yüksek ekspresyon gözlemiştir (35). Bununla birlikte Boland ve arkadaşları Cox-2 ekspresyonunun duktal karsinoma in situ ve invaziv karsinomda normal epitelden daha güçlü bir boyanma gözlendiğini belirtmektedir (53). Yapılan başka bir çalışmada da normal meme dokusu, duktal hiperplazi, DKIS ve invaziv duktal karsinomda Cox-2 ekspresyonu değerlendirilmiş ve Cox-2 ekspresyonunun normal epitelden invaziv tümöre doğru arttığı gözlenmiştir (34).

Oliveria ve arkadaşlarının bir çalışmasında ise DKIS ve invaziv duktal karsinomun birlikte görüldüğü olgularda yalnızca invaziv komponent bulunanlara göre daha yüksek Cox-2 ekspresyonunun gözlendiği belirtilmektedir (54).

Bizim çalışmamızda Cox-2 immun belirleyicisi ile 3 (%4,8) olguda boyanma saptanmamıştır. Olguların 4'ünde (%6,3) tümörün %1-10'unda, 9'unda (%14,3) %10-50'unda, 19'unda (%30,2) %51-80'inde, 28'inde (%44,4) %81-100'ünde boyanma gözlenmiştir. Değerlendirilen 63 olgunun 13'ünde invaziv duktal karsinoma komşu in situ odakları bulunmaktadır ve Cox-2 immun belirleyicisi ile yapılan boyamada invaziv duktal karsinom ve buna komşu in situ karsinom alanlarında boyanma yoğunluğu ya da dağılımında farklılık gözlenmemiştir.

Ristimaki ve ark. yaptığı çalışmada 1576 invaziv meme karsinomu değerlendirilmiş ve %37,4'ünde Cox-2 ekspresyonunun bulunduğu gösterilmiştir. Cox-2 ekspresyonunun yüksek histolojik derece ile korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Aynı zamanda büyük tümör boyutu, negatif hormon reseptörleri, yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi, yüksek p53 ekspresyonu ve *c-erbB-2* amplifikasyonu gösteren tümörlerde Cox-2 ekspresyonunun daha fazla olduğunu saptamışlardır (55).

Park ve arkadaşları çalışmalarında 178 invaziv meme karsinomunu değerlendirmişler ve %39,3'ünde Cox-2 ekspresyonu saptamışlardır. Bu olguların %47,6'sının yüksek histolojik derecede olduğunu ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğunu belirtmişlerdir. Ancak yaş ve tümör boyutu ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise Cox-2 ile tümör boyutu ve evre ile bir ilişki saptanırken tümörün histolojik derecesi ve lenf düğümü metastazı ile korelasyon bulunamamıştır (56).

Bizim çalışmamızda Cox-2 boyanma dağılımı tümörün histolojik derecesi ile karşılaştırıldığında az diferansiye tümörlerin hepsinde %51'in üzerinde boyanma izlenirken 30 adet orta derece diferansiye tümörün 23'ünde %51'in üzerinde boyanma gözlenmiştir ($p>0,05$). Lenf düğümü metastazları incelendiğinde ise 4 ve üzeri lenf düğümü metastazı bulunan olgularda Cox-2 boyanma dağılımının %51 ve üzerinde olma eğilimi bulunduğu dikkati çekmiştir ($p>0,05$). Ayrıca %51 ve üzerinde boyanma gözlenen olguların büyük çoğunluğunun 2 cm üzerinde tümör boyutlarına sahip oldukları gözlenmiştir ($p>0,05$). Bunun nedeninin olgu sayısının azlığı, iyi ve orta derecede diferansiye tümörlerin çoğunluğu oluşturması olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızca Cox-2 ile tümörün histolojik derecesi, lenf düğümü metastazı ve tümör boyutu ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bunun sebebinin toplam olgu sayısının az olması ve histolojik derece, lenf düğümü metastazı, tümör boyutu kategorilerinde yer olgu sayılarında belirgin fark bulunması olabileceği düşünülmüştür. Ancak literatürde farklı yayınların da bulunması bu konuda fikir birliğinin oluşmadığını düşündürmektedir.

Ristimaki ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada negatif hormon reseptörleri ile Cox-2 ekspresyonu arasında bir ilişki saptanırken Park ve arkadaşlarının çalışmasında östrojen reseptörü ile bir ilişki saptanmamıştır (55, 56). Bizim çalışmamızda Cox-2 ile östrojen ve progesteron reseptörleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir. Literatürde de bu konuda farklı yayınların bulunduğu bilinmektedir.

Cho ve arkadaşlarının bir çalışmasında Cox-2 ile *c-erbB-2* ve p53 arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (34).

Bizim alışmamızda p53 ile anlamlı bir korelasyon gözlenmemekle birlikte c-*erbB-2* ile güçlü membranöz boyanma gösteren 15 olgunun 12'sinde Cox-2 ile %51 ve üzeri boyanma gözlenmiş ve istatiksel olarak zayıf anlamlı olarak değerlendirilmiştir (P=0,09).

Yapılan bir çok çalışmada Cox-2'nin sağkalım üzerine etkileri araştırılmış ve yüksek Cox-2 ekspresyonunun düşük sağkalım oranları ile ilişkili olduğunu saptanmıştır. Cox-2 ekspresyonunun meme kanseri olgularında sağkalımı değerlendirmede yararlı bir prognostik faktör olabileceği belirtilmiştir (34, 55, 56, 57). Bizim alışmamızda da Cox-2'nin sağkalım oranları üzerine etkisi değerlendirildiğinde %50'nin altında boyanma gösteren olgularda sağkalım oranı %90 iken %51 ve üzerinde boyanan olgularda ise sağkalım oranının %83,3 olduğu gözlenmiştir. Ancak istatiksel olarak anlamlı bulunmamış ve bunun olgu sayısını az olması nedeniyle olabileceği düşünölmüştür.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada tüm meme kanserlerinin %10'unu oluşturan ailesel meme kanserlerinde etkili olduğu bilinen BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonlarının immunohistokimyasal olarak saptanması ve meme kanserlerinin prognozunu öngörmede yardımcı olabileceği belirtilen Cox-2'nin belirlenmesi ve tümör diferansiyasyonu ve diğer prognostik parametrelerle karşılaştırılması amaçlandı. Seçilen olgulara rutin immünohistokimyasal belirleyiciler olan östrojen ve progesteron reseptörü, *c-erbB-2*, p53, Ki-67 yanı sıra BRCA-1, BRCA-2 ve Cox-2 immun belirleyicileri uygulandı. Altmışbiri invaziv duktal karsinom, 2'si yüksek dereceli duktal karsinoma in situ tanıları alan 63 olgu değerlendirildi. Olguların 13'ünde invaziv alanlara komşu in situ komponent de bulunmaktaydı.

Seçilen olguların hepsi kadındı ve yaşları 23-84 (ortalama 53,29 ±14,15) arasında değişmekteydi. Bilgileri edinilebilen olgularda ilk doğum yaşları 15-39 (ortalama 23,43 ±4,87) idi. Olgular arasında çocuk sayısı en fazla 9 olan hasta yanı sıra hiç doğum yapmamış olgular da bulunmaktaydı. Toplam emzirme süreleri 2-72 ay (ortalama 25,18 ±19,30) arasındaydı. Histopatolojik incelemede olguların 23'ü (%37,7) iyi diferansiye, 30'u (%49,2) orta derece diferansiye ve 8'i (%13,1) az diferansiye olarak değerlendirildi. Olguların 23'ü (%37,7) iyi diferansiye, 30'u (%49,2) orta derece diferansiye ve 8'i (%13,1) az diferansiye olarak değerlendirildi. Lenf düğümü metastaz sayıları ile tümörlerin diferansiyasyonu karşılaştırıldığında az diferansiye tümörlerde daha fazla sayıda lenf düğümü metastazı gözlenmekte olduğu dikkati çekti. Az diferansiye tümörlerin daha fazla lenf düğümü metastazı yapma eğilimi bulunduğu bilinmekle birlikte bizim çalışmamızda az

diferansiye tümör sayısının az olması nedeniyle istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı.

Tümör boyutları evreye göre sınıflandırıldığında 18'i (%29) 2 cm ya da 2 cm'den küçük, 31'i (%50) 2-5 cm, 13'ü (%21) 5 cm ve daha büyük boyutlardaydı. Tümör boyutu ile lenf düğümü metastazı ve tümörün histolojik derecesi karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ($p < 0,0$).

Uygulanan BRCA-1 immün belirleyicisi ile sitoplazmik boyanma değerlendirildi. Olguların 46'sında (%73) boyanma saptanmazken, 9'unda (%14,3) fokal hafif, 6'sında (%9,5) hafif ve 2'sinde (%3,2) ise orta derece sitoplazmik boyanma izlendi. Boyanma paternleri tümörün histolojik derecesi, lenf düğümü metastazı, tümör boyutu ve prognozu belirlemede önemi olduğu bilinen östrojen ve progesteron reseptörü, *c-erbB-2*, p53 ve Ki-67 proliferasyon indeksi ile karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı. Literatürde bu konuda çok az araştırma bulunmakta ve BRCA gen mutasyonlarının immunohistokimyasal olarak saptanabildiği belirtilmektedir. BRCA-1 ekspresyonunun kaybının mutasyon göstergesi olduğunu belirten yayınlar temel alındığında çalışmamızda BRCA-1 mutasyonunun olguların %76'sını oluşturduğu görülmüştür. Ancak ailesel meme kanserlerinin tüm meme kanserlerinin en fazla %10'unu oluşturduğu bilindiğinden bu oran oldukça yüksek bulunmuştur. Bu durum öncelikle BRCA-1 belirleyicisinin sensitivitesinin düşük olmasıyla açıklanabilir. BRCA-1 geninin büyüklüğü ve mutasyonun çeşitliliği de göz önüne alındığında, bu genle ilgili olarak daha ileri araştırmalar yapılarak immunohistokimyasal yöntemle güvenilir ve tutarlı sonuçlar verecek belirleyicilerin geliştirilmesi gerekmektedir.

BRCA-2 ile nükleer ya da sitoplazmik boyanma değerlendirildi ve 63 olgudan yalnızca 3'ünde (%4,8) boyanma saptanmadı. Bu olguların yaşları sırasıyla 37, 36 ve 51'dir. Olgularda izlenen tümörlerden ikisi orta derece diferansiyeyken diğeri iyi diferansiyeydi. Bu 3 olgunun 2'sinde östrojen ve progesteron reseptörleri ile boyanma saptanmazken diğesinde düşük oranlarda pozitiflik gözlemlendi. p53 ile üçünde de boyanma saptanmadı. Ki-67 proliferasyon indeksi sadece birinde %10 bulunmuş diğerleri ise %5 ve %1

olarak değerlendirilmiştir. Bu olgularda, ikisinin 45 yaş altı olması dışında histopatolojik ya da immunohistokimyasal olarak ortak bir özellik bulunamadı. Tanımlanan bu olguların BRCA-2 gen mutasyonlarına sahip olabileceği düşünülmüştür. Ancak genetik analiz ile doğrulanamamış olmakla birlikte literatürdeki oranla uyumluluk görülmektedir.

BRCA gen mutasyonlarının immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenebildiğini belirten çok az yayın bulunmaktadır. Çalışmamızda BRCA mutasyonlarının bulunduğu düşünülen olgularda izlenen histopatolojik ve immunohistokimyasal özellikler literatürde belirtilenlerle örtüşmemesi serimizdeki olgu sayısının düşüklüğü ile açıklanabilir.

Meme kanserlerinde prognozu öngörmeye rolü olabileceği belirtilen Cox-2 immun belirleyicisi ile sitoplazmik boyanma temel alınarak boyanmanın yoğunluğu ve dağılımı değerlendirildi. Cox-2 immun belirleyicisi ile tümör boyutu, lenf düğümü metastazı, tümörün histolojik derecesi arasındaki ilişki araştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Cox-2 prognozda önemi olduğu bilinen östrojen ve progesteron reseptörü, p53 ve Ki-67 ile karşılaştırıldı, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmedi. Ayrıca literatürde invaziv komponent ve in situ komponentin Cox-2 boyanma paternleri arasında farklılık gözlemlendiği belirtilmekle birlikte çalışmamızda her iki komponentte de benzer boyanma paternleri saptadı. Cox-2 ile *c-erbB-2* arasında zayıf anlamlılık gözlemlendi. Sağkalım oranları değerlendirildiğinde Cox-2 ile %50'nin altında boyanma gösteren olgularda sağkalım oranı %90 iken %51 ve üzerinde boyanan olgularda ise sağkalım oranı %83,3 saptandı. Cox-2'nin tedavi ve prognozu belirlemede önemi olduğu bilinen *c-erbB-2* ile zayıf anlamlılık göstermesi ve sağkalım üzerine etkileri ele alındığında prognozu belirlemede yararlı bir faktör olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak; bu çalışmanın amacı yönünde yeni bilgilere ulaşmak için daha geniş olgu serilerinde çalışılması gerektiği, ek olarak genetik analize göre daha ucuz ve pratik bir yöntem olan immunohistokimyanın kullanılabilmesi için daha duyarlı ve tutarlı boyanma paterni gösterecek yeni belirleyicilerin geliştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Meme karsinomları kadınlarda en sık görülen karsinomlardır ve kansere bağlı ölümlerde akciğer karsinomlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Son yıllarda mamografinin daha yaygın kullanımı ile meme karsinomlarının görülme sıklığında da artış saptanmıştır. Meme kanserlerinin erken evrede yakalanabilmeleri için kanser risklerinin ve bu riskleri taşıyan kişilerin saptanabilmesi oldukça önemlidir.

Bu çalışmada tüm meme kanserlerinin %10'unu oluşturan ailesel meme kanserlerinde etkili olduğu bilinen BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonlarının immunohistokimyasal olarak saptanması ve meme kanserlerinin prognozunu öngörmede yardımcı olabileceği belirtilen Cox-2'nin belirlenmesi ve tümör diferansiyasyonu ve diğer prognostik parametrelerle karşılaştırılması amaçlandı. Seçilen olgulara rutin immünohistokimyasal belirleyiciler yanı sıra BRCA-1, BRCA-2 ve Cox-2 immün belirleyicileri uygulandı. Altmışbiri invaziv duktal karsinom, 2'si yüksek dereceli duktal karsinoma in situ tanıları alan 63 olgu değerlendirildi. Olguların 13'ünde invaziv alanlara komşu in situ komponent de bulunmaktaydı.

Uygulanan BRCA-1 immün belirleyicisi ile sitoplazmik boyanma değerlendirildi. Olguların 46'sında (%73) boyanma saptanmazken, 9'unda (%14,3) fokal hafif, 6'sında (%9,5) hafif ve 2'sinde (%3,2) ise orta derece sitoplazmik boyanma izlendi. Boyanma paternleri tümörün histolojik derecesi, lenf düğümü metastazı, tümör boyutu ve prognozu belirlemede önemi olduğu bilinen östrojen ve progesteron reseptörü, *c-erbB-2*, p53 ve Ki-67 proliferasyon indeksi ile karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı. BRCA-1 ekspresyonunun kaybının mutasyon göstergesi olduğunu belirten yayınlar temel alındığında çalışmamızda BRCA-1 mutasyonunun olguların %76'sını oluşturduğu görülmüştür. Ancak ailesel meme kanserlerinin tüm meme kanserlerinin en fazla %10'unu oluşturduğu

bilindiğinden oldukça yüksek bulunmuştur. Bu durum öncelikle BRCA-1 belirleyicisinin sensitivitesinin düşük olmasıyla açıklanabilir. BRCA-1 geninin büyüklüğü ve mutasyonun çeşitliliği de göz önüne alındığında, bu genle ilgili olarak daha ileri araştırmalar yapılarak immunohistokimyasal yöntemle güvenilir ve tutarlı sonuçlar verecek belirleyicilerin geliştirilmesi gerekmektedir.

BRCA-2 immun belirleyicisi ile 63 olgudan yalnızca 3'ünde (%4,8) boyanma saptanmamış ve bu olguların BRCA-2 gen mutasyonlarına sahip olabileceği düşünülmüştür. Ancak genetik analiz ile doğrulanmamış olmakla birlikte literatürdeki oranla uyumluluk görülmektedir.

BRCA gen mutasyonlarının immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenebildiğini belirten çok az yayın bulunmaktadır. Çalışmamızda BRCA mutasyonlarının bulunduğu düşünülen olgularda izlenen histopatolojik ve immunohistokimyasal özellikler literatürde belirtilenlerle örtüşmemesi serimizdeki olgu sayısının düşüklüğü ile açıklanabilir.

Meme kanserlerinde prognozu öngörmede rolü olabileceği belirtilen Cox-2 immun belirleyicisi ile tümör boyutu, lenf düğümü metastazı, tümörün histolojik derecesi arasındaki ilişki araştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Cox-2 prognozda önemi olduğu bilinen östrojen ve progesteron reseptörü, p53 ve Ki-67 ile karşılaştırmış, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Cox-2 ile *c-erbB-2* arasında zayıf anlamlılık gözlenmiştir. Sağkalım oranları değerlendirildiğinde Cox-2 ile %50'nin altında boyanma gösteren olgularda sağkalım oranı %90 iken %51 ve üzerinde boyanan olgularda ise sağkalım oranı %83,3 saptanmıştır. Cox-2'nin prognozu belirlemede yararlı bir faktör olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak; bu çalışmanın amacı yönünde yeni bilgilere ulaşmak için daha geniş olgu serilerinde çalışılması gerektiği, ek olarak genetik analize göre daha ucuz ve pratik bir yöntem olan immunohistokimyanın kullanılabilmesi için daha duyarlı ve tutarlı boyanma paterni gösterecek yeni belirleyicilerin geliştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

Breast carcinomas are the most common neoplasms among the females and ranks the second after the lung carcinomas in causing death. In recent years, more and more breast carcinomas have been detected in parallel with the increasing use of mammography. In order to be able to detect them earlier we should have more information on risk factors and it is also important to identify people carrying these factors beforehand.

In this study, we aimed to detect immunohistochemically BRCA-1 and BRCA-2 gene mutations which are known to be involved in familial breast carcinomas accounting approximately 10 percent of all mammary carcinomas and we also aimed to define Cox-2 staining which is reported to be helpful to predict prognosis of breast carcinoma cases and to compare it with other known prognostic parameters such as tumor differentiation and others. On slides of 63 selected cases BRCA-1, BRCA-2 and Cox-2 reagents have been applied along with other conventional immunohistochemical markers. Sixty-one cases were invasive ductal carcinoma and two were high grade ductal carcinoma in situ. Thirteen cases with invasive tumor also had in situ component within or periphery of the main tumoral mass.

Cytoplasmic staining was sought when using BRCA-1 immunohistochemical marker. Forty-six cases (73%) showed no staining whereas nine cases stained focally, 6 cases (9.5%) had light and two cases (3.2%) had moderate cytoplasmic staining. Features of staining patterns have been compared with tumor grade, status of lymph node metastasis, tumor diameter and a number of immunohistochemical markers which are known to be of prognostic value, including steroid receptors, *c-erbB-2*, p53 and Ki-67 proliferation index. No statistically significant relationship have been found with any of these parameters. Considering that mutation means loss of expression in BRCA-1, seventy-six percent of cases appeared to have mutation hence no staining. However, it is known that among all mammary cancers familial ones constitute only ten percent. This can be attributed to the low sensitivity of BRCA-1 marker. In addition, it is known that BRCA-1 is

relatively a large gene and a number of mutations appear to remain undetected. Therefore, on this gene more advanced studies should be done in an effort to manufacture new, more reliable and sensitive reagents aiming to detect mutations immunohistochemically.

Only three cases (4.8%) in sixty-three cases showed no staining with BRCA-2 and these cases were considered to have the mutant gene. Although not verified with genetic analysis this rate appears to conform to the ones reported in the literature.

Few reports have been published focusing on the detection BRCA mutations immunohistochemically. Staining features of our cases appearing to have mutations were not concordant to cases that are reported in the literature and we have attributed this to lower number of cases studied.

Diameter of tumor, status of lymph node metastasis and histologic grade were not found to be statistically correlated with staining features with Cox-2, a marker which is suggested to be of value in providing prognostic information about a tumor. Similarly, Cox-2 staining showed no statistically significant relationship with estrogen and progesterone receptors, p53 and Ki-67 proliferation index. However, a weak correlation was determined between Cox-2 and c-*erbB*-2 staining. As to survival rates; cases having tumors stained less than 50 percent with Cox-2 had an average survival rate of 90 percent whereas in cases having tumors stained more than 50 percent this rate decreased to 83.3 percent. Therefore, Cox-2 may be said to be of helpful in providing prognostic information.

In conclusion, we think that in order to attain to the aims of this study larger series should be studied and new, more reliable and more sensitive reagents must be developed in an attempt to demonstrate mutations by staining tumors immunohisto-chemically.

KAYNAKLAR

1. McCarty KS, Nath M. Breast. In Sternberg S editor. Histology for pathologist, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p 71-84
2. Going JJ. Normal Breast. In O'Malley FP, Pinder SE ed. Breast Pathology. A Volume in the Series Foundations in Diagnostic Pathology. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006, p 55-65
3. Tavassoli FA. Pathology of the breast. 2nd edition Stanford: Appleton&Lange, 1999
4. ROSAI J. Breast. In ROSAI editor. Rosai and Ackerman's surgical pathology, 9th ed. Edinburgh: Mosby, 2004. p 1763-1827
5. Millis RR, Hanby Am, Oberman HA, The Breast In Sternberg SS editor. Diagnostic Surgical Pathology, Third edition. Philadelphia:Lippincott Williams&Wilkins 1999, p 319-379
6. Lester SC. The Breast In Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Editor. Pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. p 1120-1149
7. Garfinkel L, Boring CC, Heath CW Jr. Changing trends. An overview of breast cancer incidence and mortality. Cancer 1994;74:222-227
8. Walker RA, Martin CV. The aged breast. Journal of pathology 2007; 211:232-240
9. Fisher ER, Gregorio R, Redmond C, Vellios F, Sommers SC, Fisher B, Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project. Observations concerning the multicentricity of mammary cancer. Cancer 1975; 35:247-254
10. Heron DE, Komarnicky LT, Hyslop T, Schwartz GF, Mansfield CM. Bilateral breast carcinoma: risk factors and outcomes for patients

with synchronous and metachronous disease. *Cancer* 2000; 88:2739-2750

11. Carter BA, Page DL, O'Malley FP. Usual epithelial Hyperplasia and atypical ductal hyperplasia. In O'Malley FP, Pinder SE ed. *Breast Pathology. A Volume in the Series Foundations in Diagnostic Pathology*. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006; 159-168
12. Meme Hastalıkları Temel Patoloji Kursu Kitapçığı, 2006
13. Pinder SE, O'Malley FP. Morphology of ductal carcinoma in situ. In O'Malley FP, Pinder SE ed. *Breast Pathology. A Volume in the Series Foundations in Diagnostic Pathology*. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006; 191-200
14. Harris G, Pinder SE, O'Malley FP. Invasive carcinoma-special types. In O'Malley FP, Pinder SE ed. *Breast Pathology. A Volume in the Series Foundations in Diagnostic Pathology*. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006; 201-203
15. Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B. The pathology of invasive breast cancer. A syllabus derived from findings of the National Surgical Adjuvant Breast Project. *Cancer* 1975; 36:1-85
16. Bane A, O'Malley FP. Familial Breast Cancer. In O'Malley FP, Pinder SE ed. *Breast Pathology. A Volume in the Series Foundations in Diagnostic Pathology*. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006; 241-247
17. Yang X, Lippman ME: BRCA 1 and BRCA 2 in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 1999; 54:1-10
18. Stoller AJ, Fuhrman GM, Mauterer L, Bolton JS, Superneau DW. Initial experience with surgical treatment planning in the newly diagnosed breast cancer patient at high risk for BRCA-1 or BRCA-2 mutation. *The Breast Journal* 2004; 10, 475-480
19. Bramley M, Clarke RB, Howell A, Evans DGR. Effects of oestrogens and anti-oestrogens on normal breast tissue from women bearing BRCA-1 and BRCA-2 mutations. *British Journal of Cancer* 2006; 94, 1021-1028

20. Armes JE, Venter DJ. The pathology of inherited breast cancer. *Pathology* 2002; 34:309-324
21. Musolino A et al. BRCA mutations, molecular markers, and clinical variables in early-onset breast cancer: A population-based study. *The Breast* 2007; 16(3):280-292
22. Lakhani SR et al. Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations. *Journal of the National Cancer Institute* 1998; 90(15):1138-1145
23. Nicoletto MO, Donach M, De Nicole A, Artioli G, Banna G, Monfardini S. BRCA-1 and BRCA-2 mutations as prognostic factors in clinical practice and genetic counselling. *Cancer Treatment Reviews* 2001; 27:295-304
24. Bramley M, Clarke RB, Howell A, Evans DGR. Effects of oestrogens and anti-oestrogens on normal breast tissue from women bearing BRCA-1 and BRCA-2 mutations. *British Journal of Cancer* 2006; 94, 1021-1028
25. Liebens FP, Carly B, Pastjin A, Rozenberg S. Management of BRCA1/2 associated breast cancer: A systematic qualitative review of state of knowledge in 2006. *European Journal of Cancer* 2007 43:238-257
26. Çandır Ö, Karahan N, Bülbül M, Kılınc F, Başpınar Ş. Ispartada meme kanserli hastalarda BRCA1 ve BRCA2 ekspresyonu. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 2005;12 (2): 50-54
27. Philips KE. Immunophenotypic and pathologic differences between BRCA1 and BRCA2 hereditary breast cancers. *Journal of Clinical Oncology* 18(21):107-112, 2000
28. Honrado E, Benitez J, Palacios J. The molecular pathology of hereditary breast cancer: genetic testing and therapeutic implications. *Modern Pathology* 2005; 18:1305-1320
29. Fruscaizo A, Damante G, Calcagno A, Di Loreta C, Marchesoni D. Four primary malignancies successively occurred in a BRCA2

- mutation carrier: A case report. *Cancer Investigation* 2006; 24:611-614
30. Marcus JN, Watson P, Page DL, Norad SA, Tonin P, Lenoir GM, Serova O, Lynch HT. BRCA2 hereditary breast cancer phenotype. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 44:275-277
 31. Kashima k et al. Screening of BRCA1 mutation using immunohistochemical staining with C-terminal and N-terminal antibodies in familial ovarian cancers. *Jpn. J. Cancer* 2000; 91:399-409
 32. Moll U, Lau R, Sypes MA, Gupta MM, Anderson CW. DNA-PK, the DNA-activated protein kinase, is differentially expressed in normal and malignant human tissues. *Oncogene* 1999; 18:3114-3126
 33. Ranger GS, Salhab M, Mokbel K. The role of cyclooxygenase-2 in breast cancer: review. *Breast Cancer Res Treat* 2007.
 34. Cho MH, Yoon JH, Jaegal YJ, Choi YD, Lee JS, Lee JH, Nam JH, Choi C, Lee MC, Park CS, Woo Juhng S, Min KW. Expression of cyclooxygenase-2 in breast carcinogenesis and its relation to HER-2/neu and p53 protein expression in invasive ductal carcinoma. *The Breast* 2006; 15(3):390-398
 35. Half E, Tang XM, Gwyn K, Sahin A, Wathrn K, Sinicrope FA. Cyclooxygenase-2 expression in human breast cancers and adjacent ductal carcinoma in situ. *Cancer Res.* 2002;62:1676-1681
 36. Perrone G, Santini D, Vincenzi B, Zagani M. COX-2 expression in DCIS: correlation with VEGF, HER-2/neu, prognostic molecular markers and clinicopathological features. *Histopathology* 2005; 46; 561-568
 37. Sivula A, Talvensaaari-Mattila A, Lundin J, Joensuu H, Haglung C, Ristimaki A, Turpeenniemi-Hujanen T. Association of cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase in human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2005; 89:215-220
 38. Larkins TL, Nowell M, Singh S, Sanford GL. Inhibition of cyclooxygenase-2 decreases breast cancer cell motility, invasion

- and matrix metalloproteinase expression. BMC Cancer 2006; 6:181-193
39. Levine A, Momend J, Finlay C. The p53 supressor gene. Nature 1991; 351:453-456
40. Lane DP. p53, guardian of the genome. Nature. 1979; 358:15-16
41. Adıgüzel GL. Kolon adenokarsinomlarında CD44, E-Cadherin, nm23 ve p53 ekspresyonunun tümörün metastazı ve prognozu ile ilişkisi (Tez). Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, 2003; 19-20
42. Neoplasia In Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Editor. Pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005 p 269-339
43. Moshin SK. Molecular markers in invasive breast cancer. In O'Malley FP, Pinder SE ed. Breast Pathology. A Volume in the Series Foundations in Diagnostic Pathology. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006; 265-273
44. Baştürk O. Mesanenin değişici epitel karsinomlarında p53, Ki-67, bcl-2 ve p27Kip1 ekspresyonunun dercelendirme sistemleriyle v prognozla ilişkisi (Tez). Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, 2003
45. Gerdes J, Leemke H, Baisch H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nüclear antien defined by monoclonal antibody Ki-67. Immunol 1984; 133:1710-1715
46. Ellis IO, Elston CW. Histologic grade. In O'Malley FP, Pinder SE ed. Breast Pathology. A Volume in the Series Foundations in Diagnostic Pathology. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006; 225-233
47. Gonzalez MA, Pinder SE. Invasive carcinoma: other histological prognostic factors-size, vascular invasion and prognostic index. In O'Malley FP, Pinder SE ed. Breast Pathology. A Volume in the Series Foundations in Diagnostic Pathology. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2006; 235-239
48. Yazici H, Bitişik O, Akişik E, Cabioğlu N, Muslumanoglu M, Glendon G, Bengisu E, Ozbilen S, Dincer M, Turkmen S, Andrulis

- IL, Dalay N, Ozcelik H: BRCA1 and BRCA2 mutations in Turkish breast/ovarian families and young breast cancer patients. *British Journal of Cancer* 2000; 83(6):737-742
49. Malone KE, Daling JR, Neal C : Frequency of BRCA1-BRCA2 mutations in population-based sample of young breast carcinoma cases. *Cancer* 2000; 88:1393-1402
50. Albano WA, Recabaren JA, Lynch HT: Natural history of hereditary cancer of the breast and colon. *Cancer* 1982; 50: 360-363
51. Gaffney DK, Brohet RM, Lewis CM: Response to radiation therapy and prognosis in breast cancer patients with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Radiother Oncol* 1998; 47:129-136
52. Rabson M, Gilewski T, Haas B: BRCA-associated breast cancer in young women. *J Clin Oncol* 1999; 11:3396-3402,
53. Boland GP, Butt IS, Prasad R, Knox WF, Bundred NJ. Cox-2 expression is associated with aggressive phenotype in ductal carcinoma in situ. *Br J Cancer* 2004; 90:423-9,
54. Oliveira VM, Piato S, Silva MA. Correlation of cyclooxygenase-2 and aromatase immunohistochemical expression in invasive ductal carcinoma, ductal carcinoma in situ and adjacent normal epithelium. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 95:235-241
55. Ristimaki A, Sivula A, Lundin J, Lundin M, Salminen T, Haglund c, Joensuu H, Isola J. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Research* 2002; 62:632-635
56. Park K, Han S, Shin E, Kim HJ, Kim JY. Cox-2 expression on tissue microarray of breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32(10):1093-1096
57. Denkert C et al. Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for disease free survival and overall survival in patients with breast carcinoma. *American Cancer Society*. 2003; 2978-2987