



T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MEME KANSERİ METASTAZLARI İLE ADAMTS9 PROTEAZ GENİNİN
PROMOTOR BÖLGESİNDEKİ CA TEKRAR DİZİLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. FATMA AŞIK

ANKARA
2011



T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MEME KANSERİ METASTAZLARI İLE ADAMTS9 PROTEAZ GENİNİN
PROMOTOR BÖLGESİNDEKİ CA TEKRAR DİZİLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. FATMA AŞIK

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. MİKDAT BOZER

ANKARA
2011

ÖNSÖZ

Genel Cerrahi ihtisasım süresince yetişmemde emekleri olan, bana bilgi ve tecrübelerini aktaran başta tez danışmanın Prof. Dr. Mikdat BOZER olmak üzere, Prof. Dr. Cenap DENER, Doç. Dr. Aydın İNAN, Doç. Dr. Meral ŞEN ve Yrd. Doç. Dr. Önder SÜRGİT'e, beş yıllık cerrahi eğitimimde birlikte çalışmaktan daima mutluluk duyduğum, bir çok zorlukla beraber mücadele ettiğimiz, birbirimize saygı ve sevgimizi hiçbir zaman esirgemediğimiz, Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde görev yapan bütün hoca, uzman ve asistan arkadaşlarıma, eğitimim sırasında bana daima destek olan, yardımlarını esirgemeyen, geriye dönüp baktığımda yüzümde tebessüm oluşturacak birçok anıyı paylaştığım hemşire, sekreter ve yardımcı sağlık personeline en derin içtenliklerimle teşekkür ederim.

Tezimin yapımında ve yazılmasında her aşamasındaki yardımlarından dolayı başta Yrd. Doç. Dr. Kadir DEMİRCAN olmak üzere, Yrd. Doç. Dr. Esra GÜNDÜZ, Uzm. Biyolog Muradiye ACAR, Gülhan KAYA'ya ve ayrıca tezimle ilgili hasta seçimindeki önerilerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Sibel YENİDÜNYA'ya teşekkürlerimi sunuyorum.

Benim bugünlere gelmemde en büyük emek sahibi olan, beni daima destekleyip arkamda durarak bana güven veren babama, hastalara yaklaşımında sözlerini aklımdan asla çıkarmadığım, dualarını benden hiçbir zaman esirgemeyen anneme, en zor günlerimde bile beni yalnız bırakmayan, en sinirli ve üzgün anlarımda bile beni güldürmeyi başaran kardeşlerime, varlıkları ile güç bulduğum tüm aileme sonsuz teşekkürler...

Dr. Fatma AŞIK

ÖZET

Meme kanseri Türkiye’de ve dünyada kadınlar arasında en yüksek insidansa sahip olan kanserlerden biridir. Toplumda bu kadar sık rastlanılan bir hastalığın etyolojisinin aydınlatılması bilim çevrelerini uzun süredir meşgul etmektedir. Meme kanserinin pek çok nedeni olmasına rağmen vakaların çoğunda kesin etyoloji ortaya konamamıştır. Patogeneizde birçok faktörün rol oynadığı bilinmekle birlikte, son çalışmalarla genetik faktörlerin önemi gösterilmeye başlanmıştır.

Bu çalışmada retrospektif olarak 2003 ve 2005 yılları arasında Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı’nda meme kanseri nedeni ile opere edilen 31 Meme karsinomu olgusu incelendi. 31 olgunun parafin bloklarından tümör dokusuna ait doku örnekleri alındı. Aksiller LN metastazı saptananlar ve aksiller LN metastazı saptanmayanlar olarak olgular 2 gruba ayrıldı. Herhangi bir kronik hastalık öyküsü olmayan gönüllü 30 kişiden oluşan ayrı bir kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubundan alınan kanlar ve kanserli olguların parafin dokularından alınan örneklerden DNA izolasyonu yapıldı. Sonrasında ADAMTS9 (A Distintegrin And Metalloprotease) geninin promotor bölgesindeki Sitozin-Adenin baz çifti tekrar sayısı hesaplandı.

Kontrol grubunda “Sitozin-Adenin baz çifti tekrar sayısı: (CA)n”; (CA)n 19 ile 21 arasında değişirken, ortancasının 20 olduğu, LN metastazı saptanan grupta (CA)n değerlerinin 19 ile 21 aralığında değiştiği, ve ortancasının 20 olduğu, LN metastazı saptanmayan grubun (CA)n değerlerinin ise 17 ile 18 arasında değiştiği ve ortancasının 17 olduğu belirlendi.

Kontrol grubunun ve LN metastazı saptanan grubun (CA)n ortancaları istatistiksel olarak farksız bulunurken, bu iki grubun (CA)n ortancaları LN metastazı saptanmayan gruptan istatistiksel olarak anlamlı miktarda daha yüksek bulundu. (CA)n ortancasına göre sıralama yaptığımızda; (CA)n ortancası en küçük LN metastazı saptanmayan grupta gözlenirken, en yüksek (CA)n ortancası ise LN metastazı saptanan grupta saptandı.

Bu bilgiler sonucunda ADAMTS9 geni promotor bölgesinde bulunan CA tekrar sayısı ile meme kanserinde izlenen lenfatik metastaz arasında potansiyel bir ilişki olabileceği düşünöldü. CA tekrar bölgesinin uzunluğu azaldıkça RNA polimerazın promotor bölgeye efektif bağlanamadığı, dolayısıyla ADAMTS9'un matrix metalloproteinaz görevini yapamadığı, bu nedenle de damar invazyonu ve metastaz riskinde düşöklüğe neden olduğu şeklinde yorum yapıldı.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, ADAMTS9, metastaz

ABSTRACT

Breast cancer is the one of the cancer that has the highest incidence among women in Turkey and worldwide. Elucidate the etiology of a disease so common in society for a long time been engaged in the scientific community. Despite breast cancers having many reasons, exact etiology has not been found at most of the cases. Besides many factors are known to play a role in the pathogenesis, recent studies began to show the importance of genetic factors.

In this study, we retrospectively evaluated 31 cases of breast carcinoma which are operated in Fatih University Department of General Surgery between 2003-2005 years. Tumor tissue samples were obtained from paraffin blocks of thirty one patients. These patients were divided into two groups as axillary lymph node metastases were detected and were not detected. A separate control group has been constituted which have no history of any chronic disease of thirty volunteers. DNA was isolated from blood samples which were taken from control group and paraffin tissues which were taken from patients with cancer. After that, cytosine-adenine base pair number in the promoter of ADAMTS9 (A Distintegrin And Metalloprotease) was calculated.

The repetition of “cytosine-adenine base pair: (CA) n ” has detected as; (CA) n varies between 19 and 21, median is 20 in control group; (CA) n varies between 19 and 21, median is 20 in axillary lymph node metastases were detected group; (CA) n varies between 17 and 18, median is 17 in axillary lymph node metastases were not detected group.

There was no statistically difference between the median of (CA) n , control group and axillary lymph node metastases were detected group. However these two group's (CA) n median was statistically higher than axillary lymph node metastases

were not detected group. When we sort according to the (CA)n median; the smallest (CA)n median was observed in axillary lymph node metastases were not detected group, and the biggest (CA)n median was observed in axillary lymph node metastases were detected group.

According to these data, potential association between the CA repetition in promoter region of the gene ADAMTS9 and lymphatic metastases in breast cancer was thought. We have made those expositions; While CA repetition was decreasing, RNA polymerase was not bound to promoter region effectively and consequently ADAMTS9 was not properly work on behalf of matrix metalloproteinase, so that it was observed to be a reason of a decrease at the risk in both vessel invasion and metastases.

Keywords: Breast cancer, ADAMTS9, metastases

KISALTMALAR

ADAM: A Distintegrin and Metalloproteinase

AJCC: Amerikan birleşik kanser komitesi

BRCA: Breast Carcinogenic Antigen

(CA)_n: Sitozin-adenin baz çifti tekrar sayısı

DCIS: Duktal karsinoma insitu

DNA: Deoksiribonükleik asit

EGF: Epidermal büyüme faktörü

ER: Östrojen reseptörü

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

GF: Büyüme faktörü

HR: Hormon reseptörü

Hsp: Isı şok proteini

LN: Lenf nodu

MKC: Meme koruyucu cerrahi

MMP: Matriks metalloproteinaz

PR: Progesteron reseptörü

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RNA: Ribonükleik asit

RT: Radyoterapi

TLI: Toplam lenfoid ışınım

TN: Triple negatif

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

WHO: Dünya sağlık örgütü

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	IV
KISALTMALAR.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	VII
TABLO LİSTELERİ.....	IX
ŞEKİL LİSTELERİ	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1.Tarihçe	3
2.2.Meme Kanseri	5
2.3.Meme Kanserinin Çok Aşamalı Gelişim Modeli	6
2.4.Meme Kanserinin Yayılımı	7
2.5. Meme Kanseri İle İlişkili Risk Faktörleri	15
2.5.1. Yaş	16
2.5.2. Cinsiyet	16
2.5.3. Hormonal faktörler	17
2.5.4. Irk	18
2.5.5. Meme hastalığı öyküsü	18
2.5.6. Diyet ve hayat tarzı	19
2.5.7. Radyasyona maruziyet	19
2.5.8. Meme dansitesi ve mammografik özellikler	20
2.5.9. Ailesel yatkınlık ve genetik faktörler	20
2.6.Tümörün Histopatolojik Özellikleri	22
2.7.Meme Kanserinde Prognozu ve Tedavi Yaklaşımını Belirleyen Faktörler...26	
2.7.1. Tanı yaşı	26
2.7.2. Tümör boyutu	27
2.7.3. Lenfovasküler invazyon	27
2.7.4. Aksiller lenf nodu metastazı	27

2.7.5. Tümör diferansiyasyon derecesi (Grade)	29
2.7.6. Tümöre ait histolojik özellikler	30
2.7.7. Östrojen ve progesteron reseptörleri	30
2.7.8. pS2	31
2.7.9. Isı şok proteinleri	31
2.7.10. Tümörün proliferasyon hızı ile ilgili faktörler	32
2.7.11. Epidermal büyüme faktörü reseptörü	32
2.7.12. c-erb B2 onkoproteini	32
2.7.13. Vasküler endotelyal büyüme faktörü	33
2.7.14. P53	34
2.7.15. nm23	34
2.7.16. bax ve bcl-2	34
2.7.17. MYC onkogeni	35
2.7.18. Plazminojen aktivatörleri ve inhibitörleri	35
2.7.19. Mikrometastazlar	35
2.8.Evrelleme.....	36
2.8.1. Meme kanserinde evrelleme	36
2.9.ADAMTS	41
2.9.1. ADAMTS domain yapısı	42
2.9.2. ADAMTS proteinlerinin subgrupları	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	48
4. BULGULAR	54
5. TARTIŞMA.....	64
6. SONUÇ.....	79
7. KAYNAKLAR.....	80

TABLO LİSTELERİ

Tablo-1: Meme kanserinin en sık metastaz yaptığı uzak organlar	14
Tablo-2: Meme kanserinin histopatolojik olarak sınıflandırılması	22
Tablo-3: Meme kanserinin Foote ve Stewart'a göre histopatolojik sınıflandırılması	23
Tablo-4: Meme kanserinde TNM sınıflaması açıklamaları.....	37
Tablo-5 : AJCC 2002 Meme Kanseri Evrelemesi	40
Tablo-6 : Reaksiyon Karışımı.....	50
Tablo-7 : Amplifikasyon koşulları	50
Tablo-8 : Gruplara göre (CA)n ortancaları	54
Tablo-9: LN metastazı varlığına göre patolojik gradeler	57
Tablo-10: LN metastazı varlığına göre histolojik tipler	58
Tablo-11: LN metastazı varlığına göre evreler.....	58
Tablo-12: LN metastazı varlığına göre Östrojen Reseptörleri	59
Tablo-13: LN metastazı varlığına göre Progesteron Reseptörleri	59
Tablo-14: LN metastazı varlığına göre Östrojen + Progesteron Reseptörleri	60
Tablo-15: LN metastazı varlığına göre C-erb B2 Reseptörleri	60
Tablo-16: Birleştirme işlemi sonucunda grade ve evreler.....	61
Tablo-17: Birleştirme sonrası grade ve evrelere göre (CA)n ortancaları	61
Tablo-18: ER, PR, c-Erb B2 ve ER+PR'a göre (CA)n ortancaları	62

ŞEKİL LİSTELERİ

Şekil-1: ADAMTS9 geni promotor bölgesindeki CA tekrarlarının yerleşiminin şematik gösterilişi	2
Şekil-2: İnvaziv meme kanseri gelişme aşamaları	7
Şekil-3: Meme kanseri metastaz şeması	9
Şekil-4: ADAMTS9 domain yapısının şematik olarak gösterilişi	42
Şekil-5: Çalışma gruplarının sembolik gösterilişi	48
Şekil-6: A. hasta ve B. kontrol gruplarının PCR amplifikasyon ürünlerinin Agaroz jel görüntüleri	51
Şekil-7: A. aksiller lenf nodu metastazı olan, B. aksiller lenf nodu metastazı olmayan meme kanseri hastalarının ADAMTS9 geni için (CA)n sekans sonuçları kromatogram görüntüleri	52
Şekil-8: LN metastazı saptanan ve saptanmayan olguların dağılımı	54
Şekil -9: Gruplardaki bireylerin (CA)n'a göre tablo üzerinde gösterilişi: (CA)n saçılım grafiği.	55
Şekil-10: Gruplara göre Sitozin-Adenin baz çifti tekrar sayısı ortancaları	56
Şekil-11: Gruplara göre MKC ve mastektomi oranları.....	57
Şekil-12: Evrelere göre (CA)n ortancaları	62

1. GİRİŞ VE AMAÇ

20-34 yaş arası genç kadınlarda %12 oranında görülen meme kanseri gelişmiş ülkelerde kadınlarda en sık görülen kanser türlerinden biridir [1]. Meme kanseri insidansının sürekli olarak artmasına rağmen, teknolojinin ilerlemesi ve toplumsal bilincin gelişmesi sayesinde, erken tanı oranında yükselme elde edilmiş ve tedavi seçeneklerinin çoğalması ile birlikte de meme kanserinde görülen bu sıklığın aynı oranda mortaliteye yansımaları önlenmiştir [2].

Meme kanseri; ortaya çıkışı, patolojik sınıflaması ve klinik seyri ile heterojen davranışa sahip bir hastalıktır [3]. Meme kanseri oluşumuna yol açan ya da ilerlemesini hızlandıran birçok faktör ileri sürülmüştür [2, 4]. Bu nedenle her bir meme kanseri hastasında prognozu iyi belirleyebilmek için daha iyi metodlar geliştirilmesi gerekmektedir.

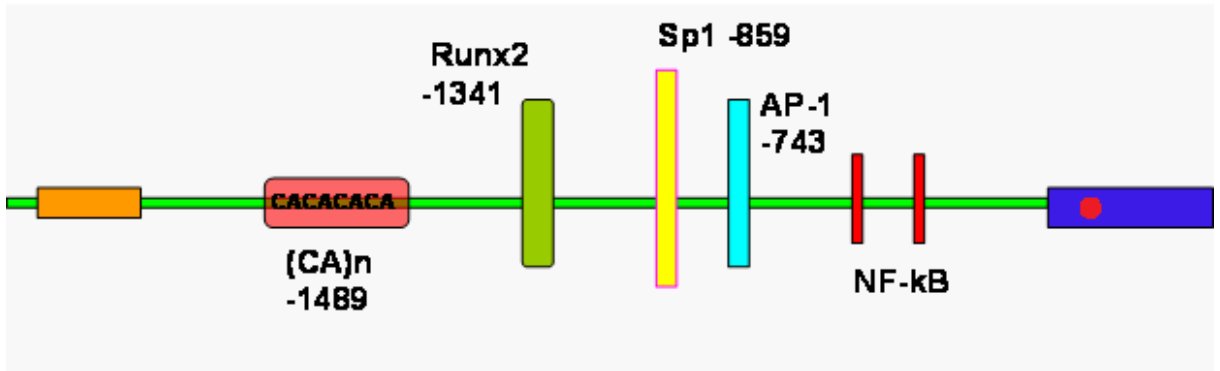
Son yıllarda bu konudaki genetik çalışmalar hız kazanmıştır. Geniş genetik veri tabanlarının oluşturulmasıyla ve araştırmaların maliyetinin azaltılmasıyla, araştırmacılar çeşitli meme kanseri gen ekspresyon profil çalışmaları için çok sayıda potansiyel prognostik faktörden oluşan geniş bir havuzla karşı karşıya kalacaklardır [5].

ADAMTS (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motif) genleri insan vücudunda birçok dokuda yer alarak çeşitli fizyolojik ve patolojik fonksiyonlara katılmaktadırlar [6]. ADAMTS9'un hücre yüzeyinde, hücre içi proteolitik aktivitelerde etkileri bulunurken, içerdikleri trombospondin tekrar bölgeleri sayesinde de ekstraselüler bölgeye lokalize fonksiyonlarda görev alırlar [7].

Bu nedenle de birçok kanser, metastaz ve anjiyogenez çalışmalarında tümör oluşum ve yayılımında etkili oldukları ispatlanmıştır [6, 8-9]. Klinik tanıda ve tedavide

meme kanserinde biyomarker olarak kullanılması yönünde ADAMTS genleri ile meme kanseri metastazları arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılması son derece önemlidir.

Çalışmamızda, son yıllarda kanser patogenezi ve metastaz oluşumunda ki etkisi ortaya konulan ADAMTS gen ailesinin sıradışı bir üyesi olan ADAMTS9 geni esas alınmış ve memenin lenfatik metastazları üzerine etkisi araştırılmıştır. ADAMTS9 geni diğer ADAMTS gen ailesi üyelerinden farklı olarak promotor bölgelerinde sitozin ve adenin (CA) tekrarlarından oluşan bir mikrosatellit bölgesi içermektedir (Demircan et al, unpublished data). Bu CA tekrar bölgesi uzunluğunun, özellikle yapılan preoperatif tetkikler esnasında metastatik lenf nodu izlenmeyen, fakat operasyon sırasında ki lenfatik örneklemelerde metastaz tespit edilen vakalarda cerraha öngörü sağlayabilecek bir marker olabileceği düşünülmüştür.



Şekil-1: ADAMTS9 geni promotor bölgesindeki CA tekrarlarının yerleşiminin şematik gösterilişi.

NF-kB, Sp1, RunX2 ve Ap1: Transkripsiyon faktörleri.

Kırmızıyla işaretli nokta :Transkripsiyon başlama noktası, ATG.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

Meme kanseri ile ilgili ilk bilgiler Mısır' da M.Ö. 2500-3000 yıllarında yazılmış olan ve bugün "Edwin Smith Cerrahi Papirüsü" olarak bilinen yazılı tıbbi olgu sunumlarıdır. Bu papirüslerde tümörlerin cerrahi olarak çıkarıldığı fakat cerrahinin tedavide yeterli olmadığı belirtilmiştir. Hamurabinin "Hastasının ölümüne sebep olan doktorun da öldürülmesi" kanunu kabul edildikten ve Hipokrat'ın ise meme kanserinin sistemik bir hastalık olduğunu ve primer tümörün çıkarılmasının olumsuz etki yaptığını öne sürmesinden sonra uzun süre bu hastalığın tedavisinin sorumluluğundan kaçınılmıştır [10].

İskenderiyeli Leonides M.S.100. yıllarda kesi ve kesi sonrası koterizasyon yaparak sağlam meme dokusu ile tümörü çıkarmıştır. Ebu Kasım (10.yy), Mondeville (13.yy) ve Lanfranc, Leonides'in tekniğini geliştirerek uygulamışlardır [11]. 16. ve 17. yüzyılda önce Fabry sıkıştırarak meme amputasyonu yapan bir alet geliştirmiştir, daha sonra Arceo ise memenin cerrahi yolla çıkarıldığı mastektomi ameliyatını ilk kez uygulamıştır. Cabrol aynı ameliyatı pektoralis major kasını çıkararak uygulamıştır. Severinus ise mastektomi yanında koltuk altı disseksiyonunu gerçekleştirmiştir [11-12]. Meme kanseri cerrahisinde lenfatik metastazlar ve temiz cerrahi sınır konusuna ilk kez Fransa Cerrahi Akademisi Direktörü Jean Louis Petit (1674-1750) değinmiştir. Petit'in ölümünden sonra yayınlanan yazılarında "Kanserin kökleri büyümüş lenf bezleridir, bu bezler bulunmalı ve çıkarılmalıdır. Pektoral faysa ve kasın bazı lifleri geride kuşkulu doku kalmayacak biçimde çıkarılmalıdır. Ameliyat sırasında meme dokusu kesilmemelidir." gibi bilgiler paylaşılmıştır [13].

Meme kanserinin modern cerrahi tedavisinin temelleri 19. yüzyılın ortalarında atılmıştır. Alman patalog Rudolph Virchow postmortem diseksiyonlar sonucunda meme kanserinin epitel hücrelerinden köken aldığını ve daha sonra fasiyal planlar ve lenfatikler boyunca yayıldığını ortaya çıkarmıştır [13]. Bu bilgiler ışığında Amerikalı cerrah William Halsted ve Alman cerrah Meyer birbirlerinden habersiz olarak tümör içeren memeyi altındaki pektoral kaslar ve o taraftaki aksillanın içeriği ile birlikte blok halinde çıkararak radikal mastektomiye tanımlamıştır [14]. 1948 yılında Londra Middlesex Hastanesi'nden Patey ve Dyson pektoralis major kasının korunmasını içeren radikal mastektomiye tanımlamışlardır. II. Dünya Savaşı sonrasında Edinburgh'dan McWhirter primer meme kanseri tedavisinde basit mastektomi ve radyoterapi tedavisini tanımlamıştır [13].

Meme kanseri evrelemesi üzerine ilk çalışmalar ise 1920-1930 yılları arasında yapılmıştır. 1970'li yıllarda metastazların yaptığı sistemik hastalıklar daha iyi anlaşılmiş ve bunlar için daha uygun ve efektif tedaviler uygulanmıştır. Fakat asıl modern kemoterapinin gelişmesi 2. Dünya savaşı sonrası olmuştur [15].

Cleveland'dan G. Crile, geniş cerrahi girişimlerin ölüm oranlarını azaltmadığını ileri sürerek sadece tümör ve aksiller lenf bezlerinin çıkarılması esasına dayanan konservatif cerrahiye savunmuş ve uygulamıştır [16].

Yetmişli yıllara yaklaşırken meme kanserinde "Sistemik Hastalık Hipotezi" genel olarak kabul görmeye başlamıştır. Kozmetik görünümüleri daha iyi olan, kısıtlı cerrahi rezeksiyonlar benimsenmeye, radyoterapi, meme kanserine etkili hormonlar ve sitostatik ilaçların kullanımı düşünülmeye ve denenmeye başlanmıştır. Fisher ve arkadaşları 1973 yılında meme kanserinin sistemik bir hastalık olduğu hipotezi yanında

yardımcı tedavi yöntemlerinin de gelişmesinin cerrahi tedaviyi daha da sınırlı hale getirdiğini vurgulamışlardır. Bu döneme “Fisherian Dönemi” de denmektedir [17].

Günümüzde ise meme kanseri cerrahisi ile ilgili yapılan çok sayıda randomize çalışmada, şartların uygunluğu halinde yapılan meme koruyucu cerrahi ile mastektomi arasında eşit sonuçlar sağladığının gösterilmesinden sonra, araştırmalar aksillanın tedavisine kaydırılmıştır [15, 18].

2.2. Meme Kanseri

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümörlerden biri olup kadınlarda görülen tüm kanserlerin % 30'undan fazlasını oluşturmaktadır [19]. 1970'lerde Amerika Birleşik Devletleri'nde bir kadında meme kanseri gelişme olasılığının 1/31, 1980'de 1/11, 2002'de 1/8 olduğu hesaplanmıştır. Bu artışta daha erken aşamalarda küçük primer kanserlerin daha sık saptanması etkili olmuştur [2].

Gelişmiş toplumlarda tarama ve MMG'nin yaygın kullanımı ile olguların %80'ine erken evrede tanı konulmaktadır. Az gelişmiş ülkelerde ise sağlık hizmetlerinin yetersizliğinden dolayı ileri evre veya metastatik hastalıkla gelen birey sayısı azımsanamayacak orandadır. Düzenli yapıldığı takdirde MMG'nin 50 yaşın üzerindeki kadınlarda mortaliteyi %30 azalttığı gösterilmiştir [19-20].

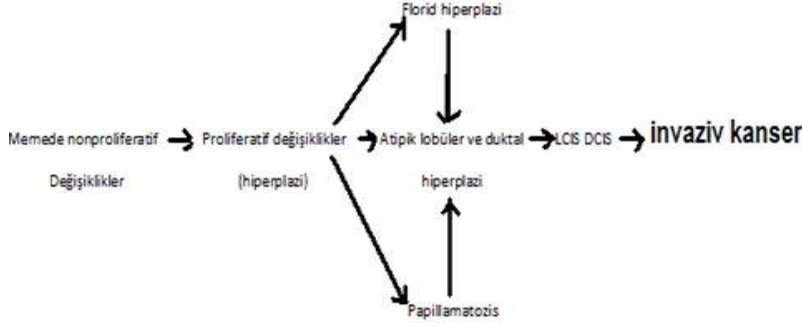
Günümüzde MMG, meme kanseri tarama yöntemi olarak önerilmekte ve 40 yaşından itibaren her kadın için hastalığı saptamakta en önemli silah olarak yerini korumaktadır. Risk faktörüne bağlı olarak değişmekle birlikte 40-50 yaş arası hastalarda 1-2 yılda bir, 50 yaşından sonra ise yılda bir yapılmasının üzerinde durulmaktadır. Hastaların hemen tamamını erken evrede yakalayabilmek için tarama MMG'sinin yanı sıra çok daha kolay, uygulanabilir ve ucuz olan yöntem; tüm kadınların puberteden

sonra ayda bir kendini muayene etmesidir. Ayrıca, 30 yaşından itibaren yılda bir doktor veya eğitimli kişiler tarafından klinik muayene de önerilmektedir [21-22].

2.3. Meme Kanserinin Çok Aşamalı Gelişim Modeli

Kanser hücrenin normal döngüsünü kaybederek, kontrol sistemlerinden kaçıp uygunsuz şekilde bölünmesidir. Hücre bölünmesinin her aşamasında genetik kontrol mekanizmaları görev alır. Hücreler davranışlarını düzenlemek için kontrol olarak görev yapan ve nasıl davranmaları gerektiğini anlatan karmaşık sinyaller alır, gönderir ve yorumlarlar. Bunun sonucunda her hücre aldığı sinyaller doğrultusunda gerekli zamanda bölünür, farklılaşır, değişimini durdurur veya ölür. Bir mutasyon sonrasında kontrol mekanizmalarındaki bir aksaklık da söz konusu ise daha hızlı bölünebilen kontrolsüz bir hücre meydana gelebilir. Fakat böyle bir hücrenin oluşması kanserli hücreye dönüşmesi için yeterli değildir. Normal bir hücrenin invaziv bir kanser hücresine dönüşmesi için en az 6 -7 mutasyon gereklidir [23-24].

Meme kanseri başlangıcının ilk işareti duktal hiperplazidir. Bu aşamada değişik şekil ve kromatin yapıdaki çekirdekler içeren, düzgün dağılım göstermeyen epitel hücrelerinin çoğalması görülür. Bu hücreler beningdir fakat hiperplaziden atipik hiperplaziye dönüşümün olması kişide kanser riskinin artmasıyla bağlantılıdır. Sonraki aşama duktal veya lobular olarak karsinoma in situ gelişimidir. Bu aşamada atipikleşme sonrası malign özellikteki hücrelerin artışı görülür, henüz bazal membrandan stromaya invazyon gerçekleşmemiştir. Son aşamada hücreler bazal membrandan ayrılır invaziv hale gelir. Bu çok aşamalı modelin her aşamasında hücreye büyüme yönünde belli bir avantaj sağlayan bir genetik değişimin gerçekleştiği düşünülmektedir [25].



Şekil-2: İnvaziv meme kanseri gelişme aşamaları.

2.4.Meme Kanserinin Yayılımı

Meme kanserinin palpe edilebilir bir büyüklüğe ulaşması için (yaklaşık 10 mm) ya da mamografik olarak saptanabilmesi için (yaklaşık 3-5 mm) geçen sürede tümör 28-29 bölünmeye uğramaktadır. Tümörün ikileme zamanı (doubling time) 50 günden az 500 günden fazla olabilmekle birlikte ortalama 100 gündür. Çoğu tümörün 1mm³'lük hacime ulaştığında mikroskobik olarak yayılmaya başladığı bildirilmiştir [26].

Metastaz olayını iki temel prensip yönlendirir: Birincisi tümörlerin genotip ve fenotiplerinin zamanla değişiklik gösteren heterojen hücre populasyonları olması, ikincisi ise metastaz sürecinin tümör hücre özelliklerine ve metastaz alanındaki mikro ortamlardaki etkileşimlere dayanan olaylar zincirine dayanıyor olmasıdır. Büyüme faktörü reseptörlerinin aşırı sentezi, anjiyojenik faktörler, **matriks metalloproteazlar** ve integrin reseptörleri metastazın anahtar konumundaki pek çok düzenleyicilerindedir. Hücre adezyonu, hücre döngüsü kontrolü ve diğer negatif büyüme düzenleyicilerinin de metastaz sürecinde rol oynadıkları düşünülmektedir.

Kanser metastazının patogenezinin henüz çok azı anlaşılmıştır. Bu sürecin oluşması hem tümör hemde konakçı hücrelerinin intrinsek özelliklerine bağlıdır. Temel olarak kan akımı ve diğer mekanik faktörler kanser hücrelerinin spesifik organlara

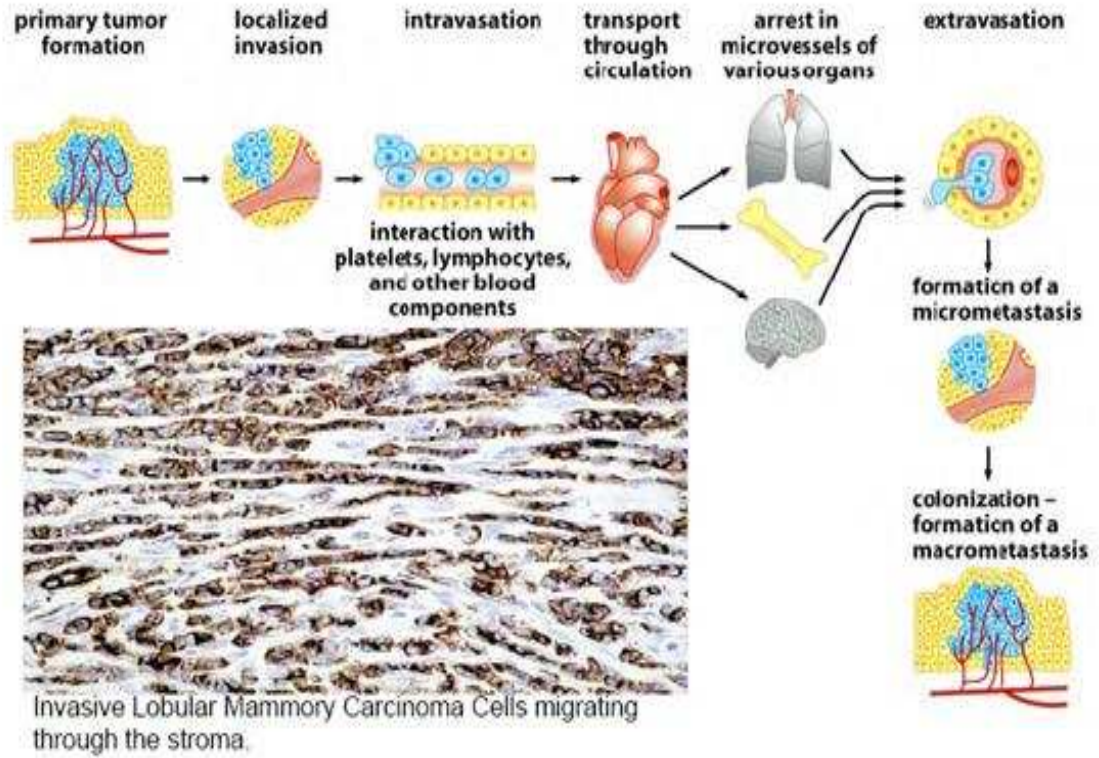
gidişini etkilerken kanser hücreleri ile konakçı organ arasındaki moleküler etkileşimler hücrelerin orada büyüme şansını belirtmektedir.

Neoplastik dönüşümü takiben kanser hücreleri çoğalmaya başlar. Büyüyen tümör kitlesi için beslenme önce basit difüzyonla olur. Tümör 1-2mm büyüklüğe ulaştıkça daha fazla büyüme için yeni kan damarına gereksinim duyar. Bu anjiogenezis ile gerçekleşir. Anjiogenik faktörlerin sentezi ve sekresyonu tümörün etrafındaki konakçı dokuda bir kapiller ağı yaratır. Konakçı stromanın tümör hücreleri ile lokal invazyonu çok sayıda paralel mekanizma ile oluşur. Metastatik süreç kanser hücrelerinin primer tümörden ayrılması ile başlar. Tümör hücreleri daha sonra lenfatikler ya da venöz kapillerler yolu ile dolaşıma girerler. Dolaşıma tümör hücrelerinin girişinin en sık yolu lenfatiklerdir. Çünkü bu sistemde tümör hücre penetrasyonuna direnç çok azdır. Ancak bu hücreler çok çabuk parçalandıkları için ya da spontan hücre ölümü gerçekleştiği için çok kısa ömürlüdürler. Dolaşımda yaşayan hücreler yeni organın küçük kapillerlerinde sıkışıp kalırlar ya da kapiller endotelial hücrelere, açığa çıkmış olabilen subendotelial bazal membrana yapışırlar. Dolaşımın kesilmesini ekstravazasyon izler ve yeni organda kanser hücreleri çoğalarak metastatik süreci tamamlarlar. Mikrometastazlar konakçı tarafından parçalanmayı önlemeli ve büyümek için vasküler ağı oluşturmalıdır. Bunu gerçekleştiremeyenler ya parçalanır ya da uyku pozisyonunda kalır. Yalnızca metastaz alanında anjiogenezisi tamamlayan hücreler kan damarlarına invazyon göstererek dolaşıma girerler ve ek metastazlar ortaya çıkarabilirler [2, 4].

Tarama yöntemleriyle yakalanan tümörlerin yavaş büyüyen tümörler olduğu, prognozlarının ise tanısal gecikmelerden çok da fazla etkilenmediği düşünülmektedir.

Buna karşın çok hızlı büyüyen agresif tümörler iki tarama zamanı arasındaki sürede dahi oldukça ileri evrelere ulaşabilirler [27].

Kanser hücresinin metastaz fonksiyonu üzerine genetik araştırmalar da yapılmıştır. İnsanda tümör oluşum aşamaları sırasında tümör hücresinin 6 biyolojik özelliğe sahip olması gerektiği saptanmıştır. Proliferatif sinyalin devamı, büyüme supresör ajanlarının etkilerinden kaçınma, replikatif immortalityi sağlamak, anjiyogenezi indüklemek, invazyonu aktive etmek ve metastazı sağlamaktan oluşan bu özellikler sayesinde genomik instabilite meydana gelir. Son on yılda bu özelliklere enerji metabolizmasını yeniden yapılandırmak ve immün sistemin yıkıcı etkisinden kaçmak ta eklenmiştir.



Şekil-3: Meme kanseri metastaz şeması
(The Biology of Cancer-Garland Science 2007).

İnvazyon ve metastaz sürecindeki aşamalar “invazyon-metastaz kaskadı” olarak isimlendirilir. Bu olaylar birbirini izleyen hücrenin biyolojik değişikliklerinden oluşan bir süreçtir. Lokal invazyonla başlar, en yakın kan ve lenfatik damarına kanser hücrelerinin girmesi ve buradan lenfatik ve kan dolaşım sistemine doğrudan girerek damarlar yolu ile uzak doku parankimine ektravaze olmasıyla devam eder. Buralarda hücreler kolonize olarak önce mikrometastaz, daha sonra ise büyüyerek makroskopik tümör oluşturur. Bu invazyon ve metastaz sürecinde “epitelyal mezenşimal transizyon” tümör hücreleri tarafından farklı derecelerde aktive edilir. Hücrenin biyolojik özellikleri değişir. Transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, kontrol bağlantı bölgelerinin kaybına neden olur ve poligonal epitelyal hücrelerin sağlıklı dayanıksız bir yapıya dönüşmesine yol açar, matrix enzimlerinin aktive olması ile kanser hücrelerinin motilitesini artırır, hücrelerin apopitozise karşı ise rezistansı yükselir.

Tümör hücreleri bu mekanizmayı başlatmak için normal hücrenin sahip olduğu sistemi ele geçirir ve hücrenin kendi enzimlerini lenf ve kan damarı invazyonu için kullanır. Ayrıca bu tümör hücreleri MMP9, sistein ve katepsin proteaz, heparinaz ve diğer matrix metalloproteinazlar gibi anjiyogenez ve invazyon öncülü matrix enzimlerin yapımını da artırır. Böylelikle kanser kendi hücre proliferasyonunu artırır, yayılmayı, doku invazyonunu kolaylaştırır. Bununla birlikte tümör hücrelerinin ortama ve kendi biyolojik özelliklerine uyumlu olarak davranış değişikliği gösterebileceği unutulmamalıdır [28].

Kanserin erken evrelerinde bile birçok kanser hücresi kana karışır. Fakat bunların çoğu kanda tahrip olur. Hematojen bir yayılım yapmaz. Zamanla kana karışan hücrelerin sayısı artınca metastaz yapma olasılığı da artar. Kanser hücreleri kan dolaşımı ile bütün organizmaya yayıldığı halde yerleşip metastaz yapabilmeleri için

uygun ortam, her kanser türü için spesifik olan belirli oksijen saturasyonu gerekmektedir [29-31].

Kanser hücrelerinin meme içinde yayılması meme parankimine doğrudan infiltrasyon yoluyla, meme duktusları boyunca, meme lenfatikleri aracılığıyla gerçekleşir.

Kanserin çevre dokuya direkt infiltrasyonu sıklıkla sivri uzantılar şeklindedir. Bu durum mamografik görüntülerde veya makroskopik kesitlerde karakteristik yıldızvari (spiküler) görünümünü kazanmasına neden olur. Farklı duktuslardaki yayılımın tek bir kanser odağından mı geliştiği yoksa yaygın olarak bulunan in-situ duktal karsinom odaklarının invaziv kanserler şekline mi dönüştüğü ise henüz aydınlık kazanmamıştır. Kanserin meme dokusundaki yerleşimi kadranlara göre tanımlanmaktadır. 696 olguluk bir seride tümörlerin %48'inin üst dış kadranda , %15'inin üst iç kadranda, %11'inin alt dış kadranda, %6'sının alt iç kadranda ve %17'sinin de santral bölgede yerleştiği gözlenmiştir. Geriye kalan %3'lük grup ise multisentrik olmaları veya tümörün tüm memeyi kaplaması nedeniyle diffüz olarak tanımlanmıştır [32].

Tümörün sıklıkla üst dış kadranda bulunma nedeni bu kadrandaki meme dokusu hacminin diğer kadranlara oranla daha büyük ve yoğun olması nedeniyledir [33-34].

Meme kanserinin bölgesel olarak en sık yayıldığı alanlar aksiller lenf bezleri, mamaria interna lenf bezleri ve supraklavikular lenf bezi gruplarıdır. Bu bölgelerdeki tutulumların iyi bilinmesi ve belirlenmesi hem evreleme hem de tedavi yöntemlerinin planlanması açısından büyük önem taşımaktadır.

Memenin lenfatik drenajının büyük bölümü aksiller lenf bezleri aracılığıyla olur. Fizik muayenede palpe edilebilecek boyutlara ulaşmış meme tümörü bulunan olguların

yaklaşık %50'sinde aksiller lenf bezi tutulumunun da bulunduğu histolojik olarak belirlenmiştir. Primer tümör ne kadar büyükse, aksilla metastazı riski de o derece fazladır. Fisher ve arkadaşları dış kadranlardaki tümörlerde aksilla metastazı oranını % 52, iç kadranlardakini ise % 39 olarak bildirmişlerdir. Bu durum iç taraftaki tümörlerin bir kısmının mamaria interna lenf bezlerine metastaz yaptığı şeklinde de yorumlanmıştır [34]. Öyleki mamaria interna lenf bezleri meme kanserinin metastaz yaptığı ikinci lenf bezi grubudur. Bu lenfatik zincir interkostal aralıkların ön uçlarında ve internal torasik arterin yanlarında yer almaktadır. Toraks içinde bulunmaları ve klinik belirti vermemeleri nedeniyle bu gruba olan metastazlar aksilladakiler kadar kolay saptanamazlar. Supraklavikuler lenf bezi metastazları, yaygın aksilla tutulumu ile birlikte seyretmektedir. Rutin supraklavikuler disseksiyon uygulanan bir hasta grubunda aksillası pozitif 125 olgunun 23'ünde (%18) supraklavikuler metastaz saptanmış, aksillası negatif 149 olgudan hiçbirinde supraklavikuler metastaz görülmemiştir [34-35]. Supraklavikuler metastazların yaygın aksilla tutulumunu takiben ortaya çıktığı ve prognozu kötüleştirdiği bilinmektedir [36].

Mammaria interna lenf nodülleri göğüs kafesi arkasında olduğu için palpasyonla saptanmalarına olanak yoktur. Bu metastazlar başlangıçta klinik olarak saptanamazsa da zamanla büyüyen lenf nodları önlerindeki kıkırdak kaburgalarını öne doğru iterek ve kaburgalar arasından dışarıya doğru çıkararak sternum kıyısında bir kabarıklıkla kendisini gösterir, sternumun hemen kıyısında görülen bu kabarıklığa "parasternal kitle" adı verilir.

Bu bulgu meme kanserinin mammaria interna lenf nodüllerini çok ileri derecede tuttuğunu gösterir. Aksilla lenfatığı gibi mammaria interna lenfatığının son boşalma yeri de supraklaviküler fossadaki lenf nodülleridir. Supraklaviküler fossada metastatik lenf

nodülleri genellikle klavikulanın iç yarısının hemen yukarısında bulunur. Metastatik lenf nodülleri klavikulanın arkasına gizlenmiş de olabilir. Memenin özellikle iç yarısında tümörün yerleşmiş olduğu hastalarda aksillada palpabl lenf nodülü olmadan da supraklaviküler fossada lenf nodülü metastazı görülebileceği bilinmektedir [4].

Bölgesel lenf nodüllerinin metastazla tutulması ya da bu nodüllere giden lenfatik damarların kanser hücreleri ile bloke olması memenin lenfatik akımını zorlaştırır, drene olamayan lenf memede ödem oluşturarak “portakal kabuğu görünümü” ortaya çıkarır.

Aynı mekanizma ile yoğun aksiller lenfatik tutulumunda lenfatik akımın zorlaşması ile kolda ödem meydana gelebilir. Tümör lokal olarak büyürken önde meme derisine, arkada da pektoral kasa yaklaşır. Öne doğru ilerleyen tümör, meme derisine infiltrate olarak derinin tümör ile tüm işgali sonunda ülser ortaya çıkarabilir. Arkaya doğru ilerleyerek pektoral kasa infiltrate olup, pektoral kası geçip göğüs duvarına infiltrate olabilir [4, 31].

Karsinomun meme içinde lokal gelişmesi ile lenfatik yayılımı her zaman birbirine paralel olmaz. Küçük tümörler yaygın aksilla lenf nodülü metastazları hatta uzak metastazlar yapabildiği halde kimi tümörler de aksilla lenfatığı tutulumundan önce hızlı yerel ilerleme ile ülserasyon ya da göğüs duvarına yapışıklık yapabilir.

Meme kanserinin özel bir lenfatik yayılma türü de “permeasyon yayılması”dır. Bu tür lenfatik yayılma ile de kanser hücreleri lenf akımı ters yönünde lenfatik damarın duvarında tutunarak ilerlerler. Bu yoldan deriye kadar gelen kanser hücreleri burada yerleşerek metastatik nodüller meydana getirir. Bunlara “satellit deri nodülleri” ismi verilir. Permeasyon yolu ile lenfatik yayılma kanserin geç evrelerinde görüldüğü için satellit deri nodülleri hastalığın çok ilerlemiş olduğunu gösteren bulgulardır [4, 31, 37].

Vertebral venöz dallar (Batson pleksusu) meme kanserlerinin metastazı için ikincil bir yol oluşturabilir. Bu pleksus vertebraları geçerek, kafa tabanından sakruma kadar uzanır. Venöz kanallar bu pleksus ile toraks, abdomen ve pelvis organlarının venleri arasında uzanır. Bu durum pulmoner metastaz olmadan vertebra, kafatası, pelvis ve santral sinir sistemine olan metastazları açıklar [2, 4, 29].

Meme kanseri hematojen yayılım ile kemiklerde ve yumuşak dokularda metastaz yapar. İskelet sisteminde en çok yerleştiği yer vertebralar, özellikle lomber vertebralar, pelvis kemikleri, femur proksimal uçları, kaburgalar ve kafatası kemikleridir. Yumuşak dokular içinde de en sık metastaz yaptığı yerler akciğer, karaciğer ve plevradır. Bunun dışında beyin ve hipofiz metastazları da görülür. Çok nadir olarak mesane ve mideye de metastaz yapabilir. Overler de meme kanserinin sık metastaz yaptığı organlardır. Meme kanserinin en sık uzak organ metastazı yaptığı organlar kemik, akciğer ve karaciğerdir. Klinik belirti veren metastazlar çok uzun bir zaman sonra dahi ortaya çıkabilmektedir. İlk tanıdan 10-15 yıl sonra görülmeleri nadir değildir. Tüm metastazlı olgular bakıldığında tedaviden metastaza kadar geçen süre ortalama olarak 42 ay civarındadır [2, 30, 38].

Tablo-1: Meme kanserinin en sık metastaz yaptığı uzak organlar.

Organ	%
Kemik	68
Akciğer	67
Karaciğer	53
Deri	23

2.5. Meme Kanseri İle İlişkili Risk Faktörleri

İnsanlarda meme kanserinin kesin nedeni bilinmemektedir. Genetik, çevresel, hormonal, sosyobiyojik ve psikolojik etkenlerin oluşumunda rol aldığı kabul edilmekle birlikte, meme kanserli kadınların % 70-80'i bu risk faktörlerine sahip değildir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kanser oluşumuna neden olan bazı kimyasal maddeler, iyonizan radyasyon ve virüslerin insanlarda da kanser ortaya çıkış ve gelişimi ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir [39].

Meme kanseri için risk faktörleri birbirlerini etkilediğinden, risk faktörlerinin bir araya gelmesinin yarattığı riskin değerlendirilmesi güçtür. Meme kanseri riskini öngörmeye halen kullanılan iki risk değerlendirme modeli vardır:

Gail ve arkadaşları, 1970'lerde yürütülen bir mamografi tarama programı olan "Meme Kanserini Saptama Demonstrasyon Projesi"nden günümüzde çok sık kullanılan bir model geliştirilmiştir. Bu modelde ilk adet görme yaşı, meme biyopsisi sayısı, ilk canlı doğum yapılan yaş ve meme kanseri bulunan birinci derece akrabaların sayısı bir araya gelmektedir.

Claus ve arkadaşları, meme kanserine yönelik bir olgu kontrol çalışması olan "Kanser ve Steroid Hormon Çalışması"ndan elde edilen verileri kullanarak, sık kullanılan bir diğer risk değerlendirme modelini geliştirmişlerdir. Bu model meme kanseri duyarlılık geninin yüksek penetransının prevalansı konusundaki tahminlere dayanır. Meme kanseri bulunan birinci ve ikinci dereceden akrabalar ve onların tanı aldığı yaşla ilgili bilgiler temelinde, yaşamın kaçınıcı on yılında bulunulduğuna göre, kişisel meme kanseri riskini tahmin etmeyi sağlar.

Meme kanseriyle daha az tutarlı ilişkisi olan diyet, oral kontraseptif kullanımı, laktasyon gibi risk faktörleri, ya da genel popülasyonda ender olarak görülen

radasyona maruziyet gibi durumlar ne Gail ne de Claus risk değerlendirme modellerine dahil edilmemişlerdir [2].

2.5.1. Yaş

Meme kanserinin insidansı 30-35 yaşından sonra artar [31, 37]. Bununla birlikte bir kadının kansersiz yaşadığı süre ne kadar uzun olursa, meme kanseri gelişme riski de o kadar düşük olur. Dolayısı ile 50 yaşındaki bir kadında yaşam boyu meme kanseri gelişme riski %11, 70 yaşındaki bir kadında yaşam boyu meme kanseri gelişme riski ise %7'dir [2].

Genç hastalarda meme kanserinin daha kötü seyrettiği yönünde bulgular vardır. Nixon ve arkadaşlarının çalışması başta olmak üzere pek çok kaynakta, 35 yaşın altındaki hastalarda prognozun kötü olduğu ve bu hastalarda meme kanserinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu bilinen faktörlerle (diferansiasyon derecesinin yüksek olması, yaygın intraduktal komponent, lenfovasküler invazyon, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonu) birlikteliğinin daha sık izlendiği belirtilmiştir [40-42]. Benzer şekilde Albain ve arkadaşlarının çalışmasında da 30-35 yaşın altındaki meme kanserli kadınlarda, lenf nodu tutulumu, büyük tümör boyutu, steroid reseptör negatifliği, S-faz fraksiyonu ve p53 anomalilerinin daha sık görüldüğünü belirtilmiştir [43].

2.5.2. Cinsiyet

Meme kanseri gerek meme dokusunun gelişimi gerekse hormonal etkiler nedeniyle kadınlarda çok daha sık görülür. Erkeklerde meme kanseri görülmesi sıklığı kadınlara oranla 100 kat daha azdır [42, 44-45]. Erkek hastalarda her evre ve yaşta meme kanseri

kadın hastalara göre daha mortal seyreder. Evre-1 hastalarda bile erkekler için çok zayıf sağkalım bildirilmiştir [45].

2.5.3. Hormonal faktörler

Meme kanseri gelişiminde risk faktörlerinden birisi de uzun süre östrojen hormonuna maruz kalınmasıdır. Hatta intrauterin hayatta maruz kalınan östrojenin bile etkili olduğu savunulmuştur [46]. Meme kanserinin östrojen hormonuna bağımlı olarak gelişen bir kanser türü olduğu düşünüldüğü için geçmişte oofektomi ile yüksek riski ortadan kaldırmak için uygulanmıştır. Günümüzde özellikle BRCA 1 ve 2 ile ilişkili olarak oofektominin jinekolojik ve meme kanserlerinde önemli oranda riski azalttığı bilinmektedir [47-48].

Meme kanseri gelişiminin hastanın östrojene maruz kalma süresiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yapılan birçok çalışma östrojen ve progesteronun meme hücreleri üzerinde büyümeyi ve proliferasyonu artırıcı etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Tek başına östrojen alımının meme kanseri gelişme riski üzerine etkisi, kombine östrojen ve progesteron alımından daha yüksek bulunmuştur [42].

Menarşın ileri yaşta başlaması, doğurganlık sayısının yüksekliği ve menopoz meme kanseri riskini azaltmaktadır. İlk doğum yaşı ile meme kanseri gelişme riski arasında da ilişki gözlenmiştir. Örneğin ilk canlı doğumunu 30 yaşından sonra yapmış bir kadında meme kanseri gelişme riski, ilk doğumunu 18 yaş ve öncesinde yapmış bir kadına göre 2-5 kat daha fazla saptanmıştır [49].

Postmenopozal dönemde hormon tedavisi kullananlarda meme kanseri riskinin kullanmayanlara göre artış gösterdiğini savunan çalışmalar mevcuttur. Bunun sebebi

olarak postmenopozal dönemde hormona maruz kalma ile proliferasyonun artması gösterilmiştir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalar riskin arttığını göstermemiştir [50].

Yapılan bazı çalışmalarda ise ailede meme kanseri öyküsü olan kadınlarda oral kontraseptif kullanımının, meme kanseri riskini arttırdığı, hatta oral kontraseptiflerin benign meme lezyonlarını da arttırdığı gözlenmiştir [2, 44, 51].

2.5.4. Irk

Tüm dünyada çeşitli ülkeler arasında meme kanseri insidansı açısından 10 kat bir farklılık bulunmaktadır. Meme kanseri mortalitesi İngiltere ve Galler'de en yüksekken, Güney Kore'de en düşüktür. Amerika Birleşik Devletleri'nde Mormonlar, 7. Gün Adventistleri, Kızılderililer, Eskimolar, Meksikalı Amerikalılar ile Japonlar ve Hawai'de yaşayan Filipin halkından kadınlarda meme kanseri insidansı ortalamanın altındayken, rahibeler ve Yahudi kadınlarda ortalama insidansın üzerindedir [2].

2.5.5. Meme hastalığı öyküsü

Meme kanseri olan kadınlarda diğer memede kanser gelişme riski 3-4 kat artmaktadır. Riskteki bu artış aile öyküsü varlığından kaynaklanan riske göre daha yüksektir [52]. Benign meme lezyonları ise proliferatif ve non-proliferatif lezyonlar olarak ikiye ayrılır. Non-proliferatif lezyonlar genellikle meme kanseri riskinde artışa sebep olmazken, orta ve florid hiperplazide kanser riskinde 1.5-2 kat, atipik hiperplazide ise 4-5 kat artış mevcuttur. İntraduktal papillomların maligniteye dönüşümü gözlenirken, multipl intraduktal papillomların maligniteye dönüşüme daha da yatkın olduğu saptanmıştır. Sklerozan adenozisde ise kanseri taklit etmesinden dolayı sıklıkla biyopsi tavsiye edilir ama aslında çok düşük malignite riski mevcuttur [2].

2.5.6. Diyet ve hayat tarzı

Yüksek yağ içerikli diyetle meme kanseri riskinin arttığı düşünülmektedir. Sebze tüketiminin meme kanserine karşı hafif bir koruyucu etkisi olabilir. Bununla birlikte özellikle tüketilen miktara bağlı olarak alkol kullanımı ile meme kanseri riski arasında anlamlı pozitif ilişki vardır [53]. Alkol tüketiminin östradiol serum düzeylerini yükselterek meme kanseri riskinde artışa katkıda bulunduğunu düşündüren bazı kanıtlar vardır [2].

Tüm dünyada meme kanseri vakalarının %25'inin aşırı kilo, obezite ve sedanter hayat tarzına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca postmenopozal obez kadınlarda seks hormonu bağlayıcı globulin oranı daha düşüktür ve bunun sonucunda dokularda östron oranı daha yüksektir. Hiperinsülinemi ve yüksek düzeyde insulin-like growth factor-1 salınımı olan kişilerde overlerde androjen üretimi artar ve bunun sonucunda yağ dokularında aromatzasyon ile östrojen düzeyi artabilir [54].

A, C vitaminleri ve selenyumdan zengin beslenmenin meme kanserinden koruyucu olabileceğine ait çalışmalar mevcuttur. Bazı çalışmalarda ise egzersiz ile meme kanseri riskinde azalma gözlenmiştir [55].

2.5.7. Radyasyona maruziyet

Özellikle 40 yaşından önce, nükleer patlama, medikal tanı veya tedavi amaçlı iyonize radyasyon maruziyeti ile meme kanseri riski artmaktadır [56].

2. Dünya Savaşı sırasında Japonya'ya atılan atom bombasından sağ kurtulanlarda meme kanseri insidansı son derece yüksektir ve olası neden radyasyona maruz kalmanın yol açtığı somatik mutasyonlardır. Hodgkin lenfoması nedeni ile

radoterapi yapılan genç kadınlarda meme kanseri riski yaş açısından eşleştirilmiş kontrollere göre 75 kat daha fazladır. Her iki durumda da ergenlik çağında memenin aktif olarak geliştiği dönemde radyasyona maruz kalma tahrip edici etkileri arttırmaktadır [2].

2.5.8.Meme dansitesi ve mammografik özellikler

Mammografik parankimal özellik ile meme kanseri riski arasında ilişki vardır. Mammografide radyodens meme dokusu oranı yüksek olan kadınlarda, radyolüsent meme dokusu olan kadınlara göre meme kanseri riski daha fazladır, bu meme parankiminde yağ dokusundan çok meme dokusunun ağırlıkta olmasından dolayıdır [57].

2.5.9. Ailesel yatkınlık ve genetik faktörler

Meme kanserinin ailesel bir geçiş gösterebildiği bilinmektedir. Aslında bu hastalık genetik geçişi en iyi tanımlanmış sorunlardandır. Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler aile öyküsü ve meme kanseri riski arasında şu ilişkileri ortaya koymuştur:

1. Birinci derece akrabalarda (anne, kız kardeş ve kız çocuğu) meme kanseri olması, riski 2-3 kat artırmaktadır.
2. Uzak akrabalarda (kuzen, hala, babaanne) meme kanseri tanısı alan kişiler olması, meme kanseri riskini fazla arttırmamaktadır.
3. Birinci derece akrabada ortaya çıkan meme kanseri premenopozal dönemde veya bilateral olduğunda, meme kanseri gelişme riski daha fazla artmaktadır.

Birden fazla bireyin etkilendiği ailelerde, özellikle bilateral ve erken yaş kanserlerde, meme kanseri gelişme riski %50'ye kadar yükselmektedir. Bu ailelerde meme kanseri genellikle genetik kökenli olarak ortaya çıkmaktadır [31, 48]

1. Sporadik meme kanseri (%65-75): İki kuşak boyunca birinci derece akrabalarında meme kanseri öyküsü olmaksızın meme kanseri gelişen hastalar bu gruptadır.

2. Ailesel meme kanseri (%20-30): Birinci veya ikinci derece akrabalarında birden fazla kişide meme kanseri olan, ancak herediter meme kanseri tanımına uyacak şekilde diğer kanserlerle birlikte görülmeyen meme kanserleri bu gruptadır.

3. Herediter meme kanseri (%5-10): Ailede meme kanseri ve bazen ilgili başka kanser (over ve kolon kanseri) öyküsü olan, aile ağacında penetransı yüksek, otozomal dominant geçiş düşündürecek dağılımlı meme kanseri hastaları bu gruba dahil edilmektedir. Bu tanıyı destekleyecek diğer faktörler, meme kanserin premenapozal erken yaşta ortaya çıkması ve bilateral olmasıdır [2, 58].

Memenin herediter kanserlerine, değişen penetransta otozomal dominant kalımsal geçiş gösteren BRCA (Breast Carcinogenic Antigen) 1 ve BRCA 2 gen mutasyonları neden olur. BRCA 1 geni 17. kromozom uzun kolunda, BRCA 2 geni ise 13. kromozomda yer almaktadır BRCA 1 geni transkripsiyonda, hücre siklusu kontrolünde ve DNA hasar onarımında görev alır. Bu gendeki germline mutasyonların kalıtsal meme kanserlerinin %45'inde ve kalıtsal over kanserlerinin ise en az %80'inde predispozan bir genetik faktörü temsil ettiği bilinmektedir. BRCA 2'nin de BRCA 1 gibi DNA hasar yanıt yollarında görev aldığı bilinmektedir. BRCA 1 den farklı olarak BRCA 2 de germline mutasyonları olan erkeklerde meme kanseri riski %6 olarak hesaplanmıştır [58].

Bu iki gene ilave olarak P53 geninin de ailevi meme kanseri olgularının küçük bir kısmından sorumlu olduğu gözlenmiştir. Sporadik meme kanserlerin ise yaklaşık olarak yarısında P53 gen mutasyonu bulunmuştur [59].

2.6. Tümörün Histopatolojik Özellikleri

Histolojik olarak meme karsinomları iki ana gruba ayrılır:

-in situ karsinom

-invaziv karsinom

İn situ karsinomda epitelyal hücreler bazal membranla çevrilidir, invaziv(infiltratif) karsinomda ise neoplastik hücreler bazal membranı aşarak stromaya geçerler [60].

2003 yılında Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization) tarafından meme tümörleri histopatolojik özelliklerine göre şu şekilde sınıflandırılmıştır:

Tablo-2: Meme kanserinin histopatolojik olarak sınıflandırılması:

1.İn-situ karsinom

İn-situ duktal karsinom

İn-situ lobuler karsinom

2.İnvaziv karsinom

İnvaziv duktal karsinom

İnvaziv lobuler karsinom

Tubuler karsinom

İnvaziv kribriform karsinom

Medüller karsinom
Müsinöz karsinom
İnvaziv papiller karsinom
İnvaziv mikropapiller karsinom
Apokrin karsinom
Sekretuar (juvenil) karsinom
Adenoid kistik karsinom
Metaplastik karsinom
Nöroendokrin karsinom

Foote ve Stewart ise malign meme tümörleri için aşağıdaki sınıflamayı önermişlerir [61]:

Tablo-3: Meme kanserinin Foote ve Stewart'a göre histopatolojik sınıflandırılması:

1-Meme duktusları karsinomu:

A. Noninfiltratif tümörler

a-Papiller karsinom

b-Komedokarsinom veya duktal karsinom

B. İnfiltratif tümörler (adenokarsinom)

a-Paget hastalığı

b-Papiller karsinom

c-Komedokarsinom

d-Prodüktif fibrosizle birlikte olan adenokarsinom (skirö,simpleks)

e-Medüller karsinom

f-Müsinöz karsinom

2-Meme lobülleri karsinomu:

- A. Noninfiltratif 'insitu' karsinom
- B. İnfiltratif karsinom

3-Nadir karsinomlar:

- A. Adenoid kistik karsinom
- B. Apokrin, jüvenil, tübüler karsinom
- C. Mezensimal metaplazili karsinom
- D. Karsinosarkom

4-. Meme destek dokusu, deri ve deri eklerinin epitelyal veya mezodermal tümörleri:

- A. Liposarkom
- B. Skuamöz veya bazal hücreli karsinom
- C. Ter bezi tümörleri

Memenin kötü huylu tümörlerinin %95'ten fazlası epitelden kaynaklanır. İnvaziv meme kanserli hastalarda en sık rastlanan histolojik tip %80-90 oranı ile infiltratif duktal karsinomdur. Bu aynı zamanda özellikle ileri evrede kötü prognoza sahip olan bir meme kanseri tipidir. Genellikle ağrısız ele gelen sertlik ya da kitle ile bulgu verir. İnvaziv formda nüks edebilmelerine karşın, memenin noninvaziv kanserlerinde prognoz çok iyidir. İnvaziv duktal karsinomalar arasında hormon reseptörleri, büyüme faktörleri, onkogenler, tümör baskılayıcı gen ürünleri oldukça farklılık gösterir [62].

İnvaziv lobuler karsinomların sıklığı %5-10 arasında değişmektedir. Palpe edilebilen kile ve invaziv duktal karsinomalarda olduğu gibi mammografik görüntülerde saptanabilir. Fakat bazen kitle oluşturmadan yaygın endurasyon şeklinde kendini gösterirler. Bu da klinik ve mammografik olarak tanı almalarını güçleştirir [63-64]. Diğer tiplerden daha sıklıkla bilateral olma eğilimindedir. %20 oranında karşı memede de kanser gelişme riskinin olması önemli bir özelliğidir [4].

Tübüler karsinom, müsinoz (kolloid, jelatinöz) karsinom, invaziv kribriform karsinom, sekretuar (juvenil) karsinom saf formlarında nadiren metastaz yaparlar, bu nedenle prognozları diğerlerine göre çok daha iyi seyreder.

Özellikle sekretuar karsinom daha çok çocuklarda iyi sınırlı, zengin intraluminal sekresyonlara sahip kitleler şeklindedir, ve prognozu çok iyidir [62, 65-66].

Metaplastik karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom, inflamatuvar meme karsinomu, lipid-rich karsinom ise kötü prognozlu olarak bilinen meme karsinomlarıdır.

İnflamatuvar karsinom sıklıkla postmenopazal dönemdeki kadınlarda %1-5 oranında görülür. Ciltte eritem, endurasyon, lokal ısı artışı, ağrı, hassasiyet ile klinik bulgu verir. Bu nedenle sıklıkla enfeksiyöz hastalıklarla karıştırılarak ısrarlı antibiyoterapi uygulanır. Oysaki bu görünüm yaygın deri ve lenfatik tutulumu nedeniyledir [4, 67-69].

Paget hastalığı ise tüm invaziv meme kanserlerinin %0,5-2 sinde izlenir. Olguların çoğunda memede altta yatan bir invaziv duktal karsinom vardır [4]. Meme başında egzamatöz erupsiyon ile kendini gösteren hafif seyirli olabileceği gibi ülsere, kaşıntılı, akıntılı lezyona da ilerleyebilen bir hastalıktır. Tedavi ve prognoz tümörün boyutu ve metastaz durumu ile ilişkilidir [2]. Palpabl kitle varlığında %90 olguda invaziv tümör söz konusudur. Nonpalpabl lezyon saptanan olguların ise büyük

çoğunluğunda DCIS görülmektedir [70]. Günümüzde Paget hastalığının tedavisi, birlikte palpabl veya nonpalpabl lezyon varlığına göre değişmekte, multisentrik hastalık veya sebat eden cerrahi sınır pozitifliği varlığında mastektomi önerilmekte, diğer koşullarda MKC+RT uygun bir alternatif oluşturmaktadır [71].

2.7.Meme Kanserinde Prognozu ve Tedavi Yaklaşımını Belirleyen Faktörler

2.7.1.Tanı yaşı

Genç hastalarda klinik gidişi değerlendiren çalışmalarda, 35 yaşın altındaki hastalarda geniş intraduktal komponent, lenfatik damar invazyonu, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonunun daha fazla izlendiğini ve yaş ilerledikçe bu özelliklerin azaldığını saptamışlar [41]. Benzer şekilde yapılan diğer bir çalışmada da 30-35 yaş altındaki meme kanserli hastalarda tümörün boyutu daha büyükken tespit edildiği, lenf nodu metastazı, steroid reseptör negatifliği ve P-53 anomalilerinin daha sık görüldüğü belirtilmiştir [4, 43]. Vrieling ve arkadaşları 5569 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada 40 yaşın altındaki genç hastalarda MKC sonrası lokal rekürrens oranlarının anlamlı ölçüde arttığını göstermişlerdir [72]. Kroman'ın tanı yaşının meme kanseri üzerine olan etkisini araştıran çalışmasında 45-49 yaş arası ölüm riski %1, 40-44 yaş arası %1.12, 35-39 yaş arası %1.40, 35 yaş altında ise %2.18 olarak bulunmuştur [73]. Bu ve benzeri çalışmalarda lokal rekürrens oranlarının daha fazla olması, bu hastalarda sıklıkla lenfovasküler yatak tutulumu olması, daha yüksek histolojik ve nükleer grade sahip tümörler olması ile açıklanmaktadır [74-75].

2.7.2. Tümör boyutu

Memedeki primer tümör boyutu büyüdükçe aksiller lenf nodu metastaz riski artmakta, yaşam süresi ise azalmaktadır [35, 76]. Silverstein ve arkadaşlarının meme kanseri olan 1220 hastada yaptıkları araştırmada, tümör çapı ve aksiller lenf nodu metastazı varlığı ilişkisi değerlendirilmiş ve aksiller lenf nodu metastazı sıklığının 5mm'nin altındaki tümörlerde %3,5 iken, 5-10 mm çapındaki tümörlerde %17'ye çıktığı bulunmuştur. Çalışmada tümör çapının hastaliksız ve toplam sağkalım açısından da önemli bir prognostik etken olduğu bulunmuştur [77-78]. Narod'un 2011 yılında yaptığı çalışmada mamografi taramalarında saptanan 1cm'den küçük tümörü olan genç kadınlarda bile survive %94 olarak bulunurken aynı oran ele gelen kitle ile gelen kadınlarda %86 olarak bulunmuştur [79].

2.7.3. Lenfovasküler invazyon

Tümör içinde veya çevresindeki normal dokudaki lenfatik ve venöz damarlar içinde tümör hücrelerinin görülmesi, lokal nüksü ve uzak metastaz riskini arttıran kötü bir prognostik faktör olarak kabul edilmekle birlikte meme koruyucu cerrahi için kontrendikasyon oluşturmaz [80-81]. Wasuthit ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 302'sinde lenfatik damar metastazı saptanan 590 hasta araştırılmış ve lenfovasküler invazyonun prognozu olumsuz etkilediği görülmüştür [82].

2.7.4. Aksiller lenf nodu metastazı

Aksiller lenf nodülleri memeden gelen lenf akımının en önemli çıkış bölgesini oluşturur. Meme içine radyoaktif altın (Au198) injeksiyonundan sonra lenf nodüllerinde

radioaktivite oranını tayin edilmiş, memedeki lenfin yaklaşık % 97'sinin aksiller nodüllere ve % 3'nün internal meme zincirine aktığı görülmüştür. Bu nedenle erken meme karsinomlu hastalarda en iyi prognostik göstergenin aksiller lenf nodlarında metastatik tümörün varlığı olduğu düşünülmüştür. İnvaziv tümörlerin aksine in-situ tümörlerde aksiler tutulumun % 1'in altında olması bu görüşü destekler [83-84].

Aksilla negatif olan hastalarda 10 yılda nüks oranı %20 iken, 4 ve üzeri pozitiflikte nüks %71, 13 ve üzerinde ise nüks %87 oranlarına çıkmaktadır. Bu bilgiler ışığında metastatik tutulum olan aksiller lenf nodu sayısı arttıkça tedavide başarısızlık oranı da artmaktadır denilebilir [33]. Fisher ve Veronesi'nin serilerinde ise aksiller lenf nodu tutulumu pozitif olan hastalarda meme koruyucu cerrahi sonrası lokal nüks ve sağkalım oranları MRM den farklı çıkmamıştır. Çalışma sonunda klinik olarak ele gelen metastatik lenf nodları olsa bile uygunsa meme koruyucu cerrahi yapılabileceği söylenmiştir [85-86].

Mirza ve arkadaşlarının çalışmasında ise aksiller lenf nodu tutulumu lokal nüksü arttıran bağımsız bir belirleyici faktör olarak bulunmuştur. Aksillada Level 1 düzeyindeki lenf ganglionlarında metastaz yok ise; Level 2 ve Level 3 metastaz olması riski (skip metastaz) çok düşüktür (%1.3-5). Aksillanın tam disseksiyonu (Level 1, 2, 3 ile birlikte) hastanın sağ kalımını çok fazla etkilememektedir. Bununla birlikte tam disseksiyon yapılan hastalarda birlikte radyoterapi de almış ise kol ödemi riski %36'a ulaşmaktadır [87]. Kesin bir evreleme için her ne kadar aksiller disseksiyon gerekli ise de, gerekmeyen hallerde yapılması morbiditeyi arttırmaktadır [88].

Evreleme için gerekli disseksiyon genişliği nodal tutulumun olup olmadığını saptamak veya tutulan nod sayısını belirlemeye yöneliktir. Bunun için gerekli hallerde

Level 1 ve Level 2 seviyelerinde yapılacak disseksiyonun, skip metastaz oranının %2-3 düşürdüğü ve yeterli prognostik bilgi verebileceği görüşü yaygındır [89].

Ancak “sentinel nod” biyopsi tekniğinin cerrahi pratikte yerini bulmasıyla birlikte aksiller diseksiyon hakkındaki klasik görüşler de değişim eğilimine girmeye başlamıştır. Bu görüşe göre meme kanser hücreleri anatomik bir sırayla aksiller nodları tutmakta yani genelde önceleri tümör yatağını drene eden 1-3 nod tutulmakta sonra diğerlerine geçmektedir. Bu nedenle sentinel nod pozitif olan olgularda diğerlerinin de pozitif olma olasılığı doğar. Sentinel nodların negatif olması halinde rutin aksiller disseksiyondan vazgeçilebilir [90].

2.7.5. Tümör diferansiyasyon derecesi (Grade)

Patolojik değerlendirmenin standart bir parçası olan grade prognozu belirleyen güçlü bir faktör olarak düşünülmüştür[91-92]. 2005’de yapılan bir çalışmada 269 hastanın patolojik örnekleri çalışılmış ve %43 oranında tubül formasyonunda yetersizlik ya da yokluk, %59 oranında ise mitotik figürlerin izlendiği belirtilmiş, %49 hastada az diferansiye yada anaplastik hücrelere rastlanmıştır. Bu hastalarda tümör hücrelerinde hızlı proliferasyon oranı ve konak hücrede immün yetersizlikler dikkati çekmiş ve buna bağlı olarak prognozun da kötü seyrettiği belirtilmiştir [93-94].

Grade belirlemede öncelikle 2 sistem kullanılır:

Scarf-Bloom-Richardson sisteminde diferansiyasyon derecesi, pleomorfizm ve mitotik indeks değerlendirilmektedir.

Fisher sisteminde ise nükleer derecelendirme, tübül ve gland formasyonu değerlendirilmektedir [4].

2.7.6. Tümöre ait histolojik özellikler

Tümörün memede multisentrik olarak yerleşmesi, memede yaygın intraduktal komponent bulunması ve tümör içerisinde nekrotik alanlar izlenmesi prognozu kötüleştirir. Eğer lenfatik invazyon olmamasına karşın nekroz izleniyorsa bu tümörün hızlı ilerlediği ve yüksek gradeli bir tümör olduğu ile ilişkilendirilir [95-96]. Meme başının tümör tutulumunda da prognozun kötüleştiği ve lenf nodu metastazında artışla ilişkili olduğu bulunmuştur [97].

2.7.7. Östrojen ve progesteron reseptörleri

Meme kanserlerinde östrojene maruz kalınan sürede artışın kanser riskini arttırdığı, maruz kalınan sürenin azalmasının ise koruyuculuğunun olduğu düşünülmüştür. Östrojen ve progesteron hormonları mutajenik ve promotor etki yapmaktadır. Başta meme ve endometrium karsinomu olmak üzere, bir grup neoplastik hastalıkta östrojen ve progesteron reseptörlerinin prognostik önemi belirlenmiştir. ER ve PR pozitif tümörler hormonal tedaviye yanıt verir ve daha iyi prognoz gösterirler. Patoloji raporlarında, ER ve PR durumları (+) veya (-) şeklinde değil de yüzde oran olarak ifade edilmelidir. Sonuç olarak ER ve PR pozitifliği hormonal tedaviye yanıtın en önemli belirleyici faktörüdür [98]. Primer meme kanserlerinin ortalama %55-65'i; meme kanseri metastazlarının yaklaşık %45-55'i ER pozitifdir [99]. ER ve PR pozitifliği postmenopozal dönemde, premenopozal dönemden daha fazladır. İnsitu duktal karsinomalarda da nükleer grade arttıkça ER ve PR pozitifliğinin azaldığı saptanmıştır [100].

Bazı çalışmalarda çok yüksek ER düzeyi saptanan hastalarda ER(-) hastalara göre daha kötü bir prognoz olduğu ortaya çıkmış ve bu durumun tümörün hormona yanıtınlık geliştirdiği özel bir geçiş döneminden kaynaklandığı öne sürölmüştür [4].

Postmenopozal dönemde 952 meme kanseri hastasının incelendiği 1993 yılında yapılan bir çalışmada ER durumu ile klinik seyir arasında beklenmeyen ters bir ilişki saptanmıştır. Çok yüksek ER düzeylerine sahip hastaların prognozunun ER (-) hastalar gibi kötü seyrettiği, fakat orta derecede ER düzeyi saptanan hastaların prognozunun çok iyi olduğu bulunmuştur. 2000 yılında Slamon ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada bu sonucu destekleyen bir sonuca ulaşmışlardır [101-102].

2.7.8. pS2

21q kromozomunda klonlanmış olan PS2 pozitifliği durumunda sağkalım sürelerinin arttığı izlenmiştir, fakat metastaz ve lokal nüksler üzerine etkisi bulunamamıştır. Bu genin ER ve PR düzeyi ile de yakın ilişkili olduğu görölmüştür [4]. 2004 yılında yapılan bir çalışmada DCIS patolojik tanısı almış hastalarda %61 ER +, %35 PR + olarak bulunmuş ve bu hastaların %72'sinde pS2 ekspresyonu gösterilmiştir, aynı çalışmada pS2 – olan %72 hastanın ise %92'sinde ER ve PR – olarak bulunmuştur [103].

2.7.9. Isı şok proteinleri

Isı, ağır metaller, oksidanlar, enfeksiyonlar, inflamasyon, iskemi ve antineoplastik ajanlar gibi uyarılara yanıt olarak oluşurlar. Hsp27, Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp100 gibi moleköl ağırlıkları ile tanımlanırlar [4]. Hsp72 en az 2 sinyal yolu üzerinden hücrelerin onkojenik transformasyonunun regölasyonu ve baskılanması ile ilgili görev alır. Hsp72 ekspresyonu meme kanserlerinde kötü prognoz ile birliktelik gösterir [104].

2.7.10. Tümörün proliferasyon hızı ile ilgili faktörler

Mitotik indeks, Timidin işaretleme indeksi, S-faz fraksiyonu, Ki67, Prolifere hücre nükleer antijeni ve anöploidi (tümör hücresindeki DNA miktarı) tümör hücre proliferasyon hızını göstermede yardımcı olur. Özellikle TLI ve PCNA seviyelerindeki düşüklük lenf nodu tutulumu olmayan hastalarda hastalısız uzun bir sağkalım için iyi bir öngörü sağlar [4].

2.7.11. Epidermal büyüme faktörü reseptörü

EGRF 7q21 geni tarafından klonlanan bir transmembran glikoproteinidir. Normalde meme miyoepitel hücrelerinde düşük seviyede bulunurken meme kanserlerinin %35-60'ında EGRF aşırı ekspresyonu izlenmiştir. ER ve PR negatif tümörlerde EGRF pozitifliği 2 kat fazla bulunmuştur. Ayrıca EGRF pozitifliğinde aşırı P53 ekspresyonu izlenmiştir. EGRF nin hormon tedavisine yanıt veya direnç açısından önemli prediktif değeri olmasına rağmen sağkalım üzerine tek başına bağısız etkisi tartışmalıdır [2, 4].

2.7.12. c-erb B2 onkoproteini

c-erbB2 17q21 kromozomunda yer alır. Normal meme ve miyoepitel hücrelerinde düşük düzeyde eksprese olur. Papiller ve kribriform tipi hariç diğer tüm duktal karsinoma in-situ olgularında ise aşırı ekspresyonu mevcuttur [4].

Yapısal olarak Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) reseptörüne benzerlik gösteren protein ürünü, tirozin kinaz aktivitesi gösterir. Yapılmış olan çalışmalar meme kanserinde hastalarda hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunu gösteren önemli bir medyatör olduğunu göstermiştir [101]. C-erbB2 pozitifliği, daha çok yüksek histolojik

grade, ER ve PR negatif, lenf nodu pozitif ve yüksek proliferasyon oranı gösteren meme kanserlerinde karşımıza çıkmaktadır, yani genellikle kötü prognozu işaret eder. ER, PR ve c-erbB2 reseptörlerinin her üçünde negatif olduğu olgular triple negatif meme kanserleri olarak adlandırılır. Bu tümörler hormon tedavi ya da herceptin tedavisinden yarar görmezler [101, 105].

Genel olarak sağkalımda bir azalma ile c-erbB2 pozitifliği arasında bir ilişki mevcuttur. Bu ilişki daha spesifik hasta gruplarında yapılan bazı çalışmalarda saptanamamış olmasına rağmen genel olarak c-erbB2'nin aşırı ekspresyonunun agresif meme kanserlerinde daha sık görüldüğü söylenebilmiştir [106].

Labaratuar ve klinik çalışmaların verileri, c-erbB2 nin tedaviye direnci gösteren prediktif bir faktör olduğunu göstermiştir. Bu arada konservatif tedaviden sonra gelişen lokal nüks ile c-erbB2 ilişkisi araştırılmıştır, meme kanserlerinde lokal nüks oranının c-erbB2 pozitif tümörlerde negatiflere oranla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur [107].

Tüm meme kanserlerinin yaklaşık %20'sinde HER2 gen amplifikasyonu vardır [108-109]. HER2 pozitifliği ile kemoterapiye yanıt arasında da ilişki saptanmıştır. Örneğin HER2(+) meme kanserleri antrasiklin içeren protokollere, antrasiklin içermeyen protokollere göre daha iyi yanıt verirler [110].

2.7.13. Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VEGF aşırı ekspresyonu özellikle invaziv meme kanserlerinde mikrodamar yoğunluğunda artış ve nod negatif meme kanserlerinde yineleme ile ilişkili bulunmuştur. Prognostik ve prediktif bir faktör olarak kullanılması için mikrodamar

yoğunluğunu (CD 31 ekspresyonu), trombospondin ekspresyonu (negatif anjiogenez modölatörü) ile birleştiren anjiogenez indeksi geliştirilmiştir [2].

ADAMTS9'un da endojen anjiyogenez inhibitörü olarak VEGF üzerine baskılayıcı etkisi mevcuttur [111-112].

2.7.14. p 53

“Wild type” (normal) p53 hücre döngüsünün durmasında, DNA onarımında ve apoptozda görev alır. Malignitelere p53 gen mutasyonu, aşırı ekspresyon, yüksek grade, yüksek proliferatif fraksiyon, anöploidi, c-erbB2 aşırı ekspresyonu ve hormon reseptörlerinin negatifliği ile ilişkili bulunmuştur [2].

Çoğu çalışmalarla p53 gen mutasyonunun da prognostik faktör olarak kullanılabilirliği belirtilmektedir [113].

2.7.15. nm23

Bu gen değişik metastatik yeteneği olan melanom hücrelerinin taranması ile bulunmuştur. Supressör gen olarak görev yapar. Küçük gruplarla yapılan klinik çalışmalarda nm23 mRNA ekspresyonu ile hastalısız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki olduğu kaydedilmiştir [4].

2.7.16. bax ve bcl-2

Bu iki gen apoptoz sürecinde görevlidir. bax/bcl-2 oranı hücre içi düzenleyici mekanizmaları temsil eder. Bu orandaki azalma yüksek grade, aksiler LN metastazı ve sağkalım süresinde azalmayla ilişkilidir [4].

2.7.17. MYC onkogeni

Meme kanserlerinin %4-40'ında pozitif bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda pozitifliği kötü prognoz ve metastaz ile ilişkili olarak düşünülmüştür. Fakat güvenilir olarak kullanımı için çalışmalar devam etmektedir [11].

2.7.18. Plazminojen aktivatörleri ve inhibitörleri

Urokinaz plazminojen aktivatör (u-PA) plazminojenin aktif enzim olan plazmine dönüşümünü katalize eden serin proteazdır. Plazmin tip 4 kollojenazı uyararak bazal membran proteinleri ve kollojenin yıkılmasını sağlar. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ve PAI-2 adı verilen 2 doğal inhibitörü mevcuttur. PAI-1 reseptöre bağlı u-PA'yı inhibe eder ve bu işlemi mevcut bağlı PAI-1 düzeyi belli seviye üzerine çıktığında yapar [4]. Bu nedenle u-PA ve PAI-1 konsantrasyonlarının güçlü birer prognostik faktör oldukları gösterilmiştir [114]. Kanser hücreleri yüksek oranda u-PA ve PAI-1 eksprese eden meme kanserli hastalarda, adjuvan kemoterapi sonrası nüks oranı, düşük oranda u-PA ve PAI-1 eksprese eden hastalara göre daha düşük saptanmıştır. Ürokinaz plazminojen aktivatör ve PAI-1 analizleri taze dokudan yapılması gerektiği için rutin uygulamada yaygın olarak yapılamamaktadır [115].

2.7.19. Mikrometastazlar

Mikrometastazlar ile meme kanseri metastazı ve meme kanserine bağlı ölüm arasında anlamlı ilişki vardır. Önerilen diğer bir yöntem de polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile dolaşımdaki kanser hücresi sayısının saptanmasıdır. Dolaşımdaki tümör hücresi sayısı ne kadar fazla ise nüks riski de o kadar fazla olmaktadır [4].

2.8. Evreleme

Meme kanserinin klinik evresi derinin, meme dokusunun, ve lenf nodlarının (aksiler, supraklavikuler, ve servikal) değerlendirilmesi ile olur. Aksilla muayenesi sonrası metastatik lenf nodlarının palpasyonunun zorluğu nedeni ile klinik olarak yapılan evrelemenin doğruluk oranı %33'dür. Mammografi, akciğer grafisi ve operasyon sonrası elde edilen bulgular patolojik evrelemeye yardımcı olur. Meme kanserinde evreleme önemi hastaların tedavi seçeneklerinin gözden geçirilmesi ve prognozu belirleme açısından önemlidir [2].

Günümüzde meme kanserinde prognozu belirleyen en önemli kriterlerden biri koltukaltı lenf bezlerinin durumudur. Tümörle tutulan lenf bezlerinin sayısı, tümörün lenf bezi içindeki boyutu, tümör hücrelerinin lenf bezlerinin kapsülünü aşp aşmaması gibi ayrıntılar da hem prognoz yönünden, hem de cerrahi girişim sonrası seçilecek adjuvan tedavi yöntemini belirleme açısından önem taşır. 10-20 yıllık sağkalım oranlarına ilişkin tek başına en önemli gösterge metastatik hastalığın tuttuğu aksiler lenf nodu sayısıdır. Santral ve iç kadrındaki tümörlerin boyutuyla orantılı olarak internal mammaryan lenf nodunu tutmakla birlikte bu nodların çıkarılması tavsiye edilmemektedir. Supraklavikuler lenf nodları tutulumu sistemik hastalığı göstermiş ve evre 4 olduğunu gösterecek olsa da bunların da eksizyonu endike değildir [2].

2.8.1. Meme kanserinde evreleme

Meme kanseri evrelemesinde AJCC 2002 (American Joint Committee on Cancer) evreleme sistemi kullanılmaktadır ve TNM (Tümör-Nod-Metastaz) sınıflamasına göre yapılmaktadır [116].

Tablo-4: Meme kanserinde TNM sınıflaması açıklamaları

Primer tümör

Tx Değerlendirilemeyen primer tümör

To Primer tümöre ait bulgu yok

Tis In situ karsinom

Tis(DKIS) Duktal karsinom in situ

Tis(LKIS) Lobuler karsinom in situ

Tis(Paget) Meme başının paget hastalığı(primer başka tümör yok)

T1 En büyük çapı < 2,0 cm tümör

T1mic En büyük çapı < 0,1 cm mikroinvazif tümör

T1a Tümör çapı > 0,1 cm, ancak < 0,5 cm

T1b Tümör çapı > 0,5 cm, ancak < 1,0 cm

T1c Tümör çapı > 1,0 cm, ancak < 2,0 cm

T2 Tümör çapı > 2,0 cm, ancak < 5,0 cm

T3 Tümör çapı > 5,0 cm

T4: Göğüs duvarı (GD) (a) veya deri (b) tutulumu

T4a: Göğüs duvarına invazyon

T4b: Memede ödem (portakal kabuğu görüntüsü ile, peau d'orange) veya cilt ülseri

veya aynı memede uydu (satellit) cilt nodüllerinin olması

T4c: T4a ve T4b birlikte

T4d: İnflamatuar meme karsinomu

Bölgesel lenf nodları (N)

Klinik sınıflama

- NX: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor

- N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok
- N1: Hareket edebilen ipsilateral aksiller lenf nodlarına metastaz
- N2: Birbirine veya çevreye yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı veya klinik olarak aksilla (-) ancak ipsilateral internal mammaryan lenf nodu metastazı
- N2a: Birbirine veya çevreye yapışık aksiler ipsilateral lenf nodu metastazı
- N2b: Klinik olarak aksilla (-) iken, klinik ipsilateral internal mammaryan lenf nodu metastazı
- N3: İpsilateral aksiller lenf nodu tutulumu ile birlikte internal mammaryan lenf nodu metastazı veya infraklaviküler lenf nodu metastazı veya supraklaviküler lenf nodu metastazı.
- N3a: İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı
- N3b: İnternal mammaryan lenf nodu ve birlikte aksiller lenf nodu metastazı
- N3c: İpsilateral supraklaviküler lenf nodu metastazı

Patolojik sınıflama

pNX: Değerlendirilemiyor, daha önceden lenf nodları çıkarılmış, ya da hiç çıkartılmamış.

NOb: Histolojik olarak reyonel lenf nodu metastazı yok, izole tümör hücreleri için ek inceleme yapılmamış.

pNO (i-): lenf nodu metastazı yok İHK (-)

pNO (i+): histopatolojik olarak lenf nodu metastazı, İHK boyamada izole tümör hücre kümeleri 0.2 mm'den küçük

pNO (mol-): Histolojik olarak lenf nodu metastazı yok, moleküler bulgular negatif (RT-PCR)

pNO (mol+): Histolojik olarak lenf nodu metastazı yok, moleküler bulgular +(RT-PCR)

pN1: 1-3 aksiller lenf nodlarında metastaz ve/veya internal mammaryan lenf nodlarında mikrometastaz (klinik olarak (-))

pN1mi: Mikrometastaz (>0.2 mm, <2 mm)

pN1a: 1-3 aksiller lenf nodlarında metastaz

pN1b: İnternal mammaryan lenf nodlarında mikrometastaz (klinik olarak (-))

pN1c: 1-3 aksiller lenf nodlarında metastaz ve/veya sentinel lenf nodu diseksiyonu ile saptanan internal mammaryan lenf nodlarında mikrometastaz (klinik olarak (-)). Eğer 3'den fazla + aksiler lenf nodu ile birlikte ise pN3b olarak tanımlanır

pN2: 4 - 9 aksiller lenf nodlarında metastaz veya aksiler lenf nodu metastazı olmadan klinik olarak internal mammaryan lenf nodlarında metastaz

pN2a: 4 - 9 aksiller lenf nodlarında metastaz (en az biri >2mm)

pN2b: Aksiller lenf nodu metastazı olmadan klinik olarak internal mammaryan lenf nodlarında metastaz

pN3: 10 veya daha çok aksiller lenf nodlarında metastaz, veya infraklavikular lenf nodlarında metastaz, veya 1-3 aksiller lenf nodu metastazı varlığında internal mammaryan lenf nodlarında metastaz (klinik olarak (+)), veya >3 aksiller lenf nodu metastazı varlığında internal mammaryan lenf nodlarında mikrometastaz (klinik olarak (-)), veya ipsilateral supraklavikuler lenf nodu metastazı

pN3a: 10 veya daha çok aksiller lenf nodlarında metastaz, infraklavikular LN'da metastaz,

pN3b: 1'den fazla aksiller lenf nodu metastazı varlığında ipsilateral internal mammaryan lenf nodlarında klinik olarak (+), veya >3 aksiller lenf nodu metastazı varlığında internal mammaryan lenf nodlarında mikrometastaz (klinik olarak(-))

pN3c: ipsilateral supraklavikuler lenf nodu metastazı

Uzak metastaz (M)

- MX: Uzak metastaz belirlenemiyor
- M0: Uzak metastaz yok
- M1: Uzak metastaz

Tablo-5: AJCC 2002 Meme Kanseri Evrelemesi

Evre 0 • Tis, N0, M0

Evre I • T1, N0, M0

Evre IIA • T0, N1, M0

• T1, N1, M0

• T2, N0, M0

Evre IIB • T2, N1, M0

• T3, N0, M0

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 bir T, N3, M0

Evre IV • Herhangi bir T, herhangi bir N, M1

2.9. ADAMTS

(A Disintegrin and Metalloproteinaz with Trombospondin motif)

ADAMTS proteinazlar ilk olarak 1997 yılında Kuno ve arkadaşları tarafından kolon kanserinde inflamasyonla ilişki olarak kaşektik farelerde tanımlanmıştır, daha sonra tüm memelilerde de var olduğu gösterilmiştir [117].

ADAMTS genleri ilk tanımlandığında 1'den 20'ye kadar numaralandırılmıştır. Fakat ilk yayınlarda ADAMTS11 olarak tanımlanan tipin sonradan ADAMTS5 olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle ADAMTS11 mevcut değildir. Böylelikle 19 farklı insan ADAMTS gen ürünü ortaya çıkmıştır. Daha sonra tüm ADAMTS proteinleri yapısal, karakteristik ve aktivite özelliklerine dayanarak gruplandırılmışlardır [118].

Bu gen ailesinin üyelerinin son zamanlarda yapılan araştırmalarda kan ve doku hastalıkları, kanser, osteoartrit, Alzheimer, Weill-Marchesani Sendromu (ADAMTS10), trombotik trombositopenik purpura (ADAMTS13), Ehler-Danlos Sendromu tip 7C (ADAMTS2) gibi birçok hastalıktaki rolleri keşfedilmiştir. Normal gelişimde, anjiyogenezde, koagülasyonda, artrit progresyonunda ve daha birçok mekanizmada etkin rollerinin olduğu bilinmektedir. ADAMTS gen ürünlerinin, gen ekspresyon kontrolünün birçok basamağında, mRNA'nın bağlanması, protein yapımında ve TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases) aracılığı ile inhibisyonda direk olarak rol aldığı bulunmuştur [119].

Son çalışmalarda ADAMTS proteinazların, hücre proliferasyonunda, apoptoziste, ve buna bağlı olarak kanser hücrelerinin direk ekstraselüler matriksle etkileşimi,

dağılması ve GF reseptörünün bağları ile aktivasyonunda önemli rolü olduğu ortaya konmuştur [120].

2.9.1.ADAMTS domain yapısı

ADAMTS proteinazları MEROPS veri tabanında adamalizin alt grubunun üyesi olarak tanımlanmıştır. Proteinlerin amino asit sırası, yapısı ve gelişimi açısından ADAM proteinazlarına (a disintegrin and metalloproteinase) benzerler. Ama bunlardan farklı olarak en az bir trombospondin tip 1 dizisi tekrarını (Thrombospondin type 1 Sequence Repeat: TSR) içeren ekstraselüler matrikste yaygın olarak bulunan metalloproteinaz proteinleridir.



Şekil-4: ADAMTS9 domain yapısının şematik olarak gösterilişi

ADAMTS proteinazların, sinyal sekans, pro-domain, metalloproteinaz domain, disintegrin-like domain, sistinden zengin bölge, spacer domain ve Thrombospondin type 1 Sequence Repeat (TSR) bölgelerinden oluşan kompleks bir yapısı vardır. Bazı üyelere özel C terminal bölgesinde değişken sayıda TSR ile birlikte birbirlerinden ayrımı sağlayan farklı C terminal bölgeleri içerirler (PNP, GON, COMP...) [118].

Proteinler sinyal sekansı ağırlıklarına göre farklılık gösterir. ADAMTS13 de özel olarak bir kısalık söz konusu iken ADAMTS9 en uzun sinyal sekansına sahip üyelere biridir [121].

Tüm ADAMTS proteinazların pro-domain adı verilen öncül yapıları en az bir tane furin kesim motifi içerir. Bundan dolayı ADAMTS proteinazların zimojen formlarının intraselüler olarak parçalandığı ve sonrasında ise matür halde sekrete edildiklerine inanılır. Son zamanlarda özellikle ADAMTS4 üzerinde yapılan çalışmalarda da furinin ADAMTS4 ile etkileşimi ve golgide salınım aşamasındaki yerleşimleri gösteren çalışmalar yapılmıştır [122]. Pro-domain yapısının, furin inhibitörleri ve RNA interferans teknikleri kullanılarak, sekresyon yollarını etkilemeden oluşumunun engellenmesi, intraselüler yapım aşamasında furinin mutlak gerekliliğini göstermektedir [119].

ADAMTS proteinazların katalitik bölgeleri ADAM proteinazları ile yüksek derecede benzerlik gösterir ve her ikisi de çinkoya bağlanan HEXXHXXGXXH (H histidin, E glutamat, G glisin, X herhangi bir amino asit) sekansını içerir, bu çinko bağları 3 adet histidin ile bağ yapar. Glisin U şeklinde sıkı bağ yapısı oluşmasına ve üçüncü histidin yapısının doğru şekilde bağlanmasına izin verir. Tüm matriks metalloproteinazları ve adamalizin grup üyeleri bu benzer çinko bağlı aktif bölge yapısını içerir.

ADAMTS proteinazların disintegrin bölgeleri matriks metalloproteinaz bölgesini içerirler. İntegrinler üzerinden ekstraselüler matriks bağlantısını bozarlar, ekstraselüler matriksi ve bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahiptirler [123].

ADAMTS metalloproteinazları ayrıca sistinden zengin bir domain (cysteine-rich domain:CRD) ve spacer adı verilen bağlantı bölgesini içerir [119].

ADAMTS genlerinin değişik miktarda içerdiği trombospondin-1 tekrarları ekstraselüler matriksle etkileşimden ve anti-anjiyogenezisten sorumludur [124].

2.9.2. ADAMTS proteinlerinin subgrupları

Hyalektanlar: ADAMTS1,-4,-5,-8,-9,-15,-16 ve -18

Hyalektanlar hyaluronan bağlı proteoglikanlardır. Önceleri ADAMTS1,-4,-5,-8,-9 ve -15 agrekanazlar olarak tanımlanmıştır, daha sonra ADAMTS16 ve -18 de bu gruba dahil olmuştur. Bu grup üyeleri brevican, agrekan, versican gibi birçok ekstraselüler matriks bariyer komponentini parçalayabilir [120]. Fareler üzerinde yapılan araştırmalarda gösterilmiştir ki ADAMTS5 kıkırdak dokusundaki en önemli agrekanazdır. Agrekan kor proteinini bağlantı yerinden parçalayarak kıkırdağın en önemli proteoglikanı olan agrekan yapısını bozarlar.

Ayrıca bu subgrup üyeleri anjiogenezide düzenler. Vaskülarizasyon birçok hastalığın özelliğidir ve spesifik ADAMTS proteinleri bunda rol oynar. ADAMTS1 ve -8 endotelde FGF-2, VEGF inhibe ederek anjiogenezisi engellerler. ADAMTS1'in VEGF ile etkileşimi gösterilmiştir fakat bu etki GF'ü parçalayarak olmaz, bu da gösterirki inhibitor etki VEGF'ü hücredeki reseptöründen ayırarak gerçekleşir [119]. Benzer şekilde ADAMTS gen alesinin diğer üyelerinde de anjiyogenez inhibisyonu üzerine potansiyel bir etki mevcuttur [120].

ADAMTS1'in NH2 ve COOH terminal parçalarının karaciğer metastazı üzerine supresyon etkisi ve anjiyogenez inhibitör etkisi bulunmuştur. İnsan dokusunda yapılan

çalışmalarda ADAMTS1, -5, -8, -9'un down-regülasyonunda meme kanserinde artış tespit edilmiştir [120].

ADAMTS1'deki null mutasyonlar ürogenital sistem, normal büyüme, organ morfoloji ve fonksiyonu, kadın fertilitesi gibi çeşitli sistemlerde gelişimsel anormalliklere neden olur. ADAMTS4 uzun kemiklerin yapısında ve turn-overında görevlidir. Fare deneylerinde ADAMTS4 mutasyonlarında iskelet anormallikleri izlenmiştir [119].

Proinflamatuvar sitokinler olan IL17, IL1 β ve TGF β özellikle agrekanazların ekspresyonunda artışa neden olarak fibrozis ve yara iyileşmesindeki inflamasyon sürecinde etkili bulunmuşlardır.

Aynı zamanda TGF β 'nın ADAMTS2 ekspresyonu ve oküler hücrelerde ADAMTS1,-6 ve -9 ekspresyonunda artışa neden olduğu bulunmuştur. ADAMTS9'un birbirine uç uca bağı bilinen 3 varyantı mevcuttur, analizler için kullanılan variant NM_182920(ADAMTS proteinazın gen bankasındaki kod numarası)'dir [118, 125].

Prokollojen N-propeptidazlar: ADAMTS2, -3 ve -14

ADAMTS2 prokollojen kesim enzimidir. N bölgesini kestığı için bu adı alır. Genetik analizlerde ADAMTS2 gen mutasyonunun Ehlers-Danlos sendromu tip7C ile ve büyük baş hayvanlarda dermatosparaxis ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. ADAMTS2 derinin yapısında, formasyonunda, sperm maturasyonunda önem taşır. ADAMTS3 ise deride ADAMTS2'den çok daha az, kıkırdak dokuda ise ADAMTS2'nin 5 katı kadar fazla bulunmuştur. ADAMTS14 ise ADAMTS2'nin homoloğu olarak tanımlanmıştır ve tendonlarda major tip 1 prokollojen N-propeptidaz olarak fonksiyon gösterir [119, 125].

Von Willebrand factor-cleaving protease: ADAMTS13

ADAMTS13 geniş multimerik vWF prekürsörlerinde izole edilmiştir ve koagülasyonu oluşturabilmesi için vWF'ün optimal büyüklükte olmasını sağlar. ADAMTS13 geniş ve çok geniş vWF boyutlarını küçültür ve küçük multimerlere çevirir. ADAMTS13 ile ilgili olan mutasyonlar herediter yada ADAMTS13'e karşı otoantikörlerin olduğu sporadik trombotik trombositopenik purpura hastalığına yol açar [119].

Diğer ADAMTS Proteinleri: ADAMTS6, -10, -17 ve -19

Bu gruba ait üyelerin fonksiyonu tam olarak tanımlanmamıştır. ADAMTS10 geni tam mutasyonları Weill-Marchesani Sendromunun resesif formunda tespit edilmiştir. Bu sendromda kısa boy, brakiodaktili, eklem sertliği ve gözde lens anormallileri izlenir [119, 125].

COMP-ADAMTS proteazlar: ADAMTS7 ve -12

ADAMTS7 ve -12 ise COMP (kıkırdak oligometrik matriks protein)'u parçalar. Trombospondin-5 olarak da bilinen, 524 kDa ağırlığında kalsiyum bağlama özelliği olan COMP-ADAMTS proteazlar, kartilajın yapısal bütünlüğünden ve diğer matriks proteinleri ile etkileşimden sorumlu bir matriks proteindir. Agresif artrit hastalarında COMP düzeyleri yüksek bulunmuştur [119, 125].

GON-ADAMTS proteazlar: ADAMTS9 ve -20

Her iki ADAMTS proteinlerinde de GON domain yapısı bulunmasına rağmen fonksiyon olarak çok benzerlik bulunmamıştır. GON embriyonik gelişimde gonad

hücrelerinde eksprese olan bir proteazdır. ADAMTS9 ve -20 gonadların gelişmesinde hücre migrasyonundan sorumludurlar.

Fare deneylerinde ADAMTS20'deki mutasyonların beyaz noktalı farelerin oluşumuna yol açtığı izlenmiş ve ADAMTS20'nin embriyogenezde melanoblastların migrasyonuna yardımcı olduğu gösterilmiştir. ADAMTS20 sınırlı olarak eksprese edilir, bununla birlikte meme ve akciğer epitel hücrelerinde tespit edilmiştir.

ADAMTS9 gen haritasında 3. kromozomun kısa kolunda (3p) bulunur [126]. Tüm embriyojenik dokularda ve bazı erişkin dokularda eksprese olduğu gözlenmiştir [127]. ADAMTS9'un hücre yüzeyinde ve hücrelerin proteolitik aktivitelerinde katalitik etkileri bulunurken, içerdikleri trombospondin tekrar bölgeleri sayesinde de versikanaz, agrekanaz aktiviteleri gibi ekstraselüler bölgeye lokalize fonksiyonlarda da etkilidirler [7]. ADAMTS9 metalloproteinaz melanoblast gelişiminde, özefagus ve nazofarengeal kanserlerin baskılanmasında rol oynar [126]. ADAMTS1'in kullandığı yoldan farklı olarak ADAMTS9 hücre mekanizması üzerinden endojen anjiyogenez inhibisyonu yapar [112].

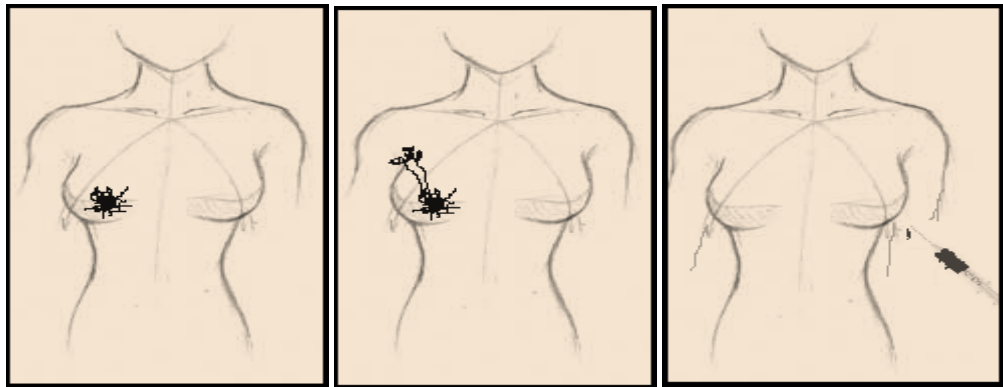
En uzun trombospondin terar bölgesine sahip olan ADAMTS9'un ilgi çekici diğer bir özelliği diğerlerinden farklı olarak promoter bölgesinde uzun bir CA mikrosatellit tekrar dizisi içermesidir (Demircan et al, unpublished data). Zaten tezimizin ana amacı bu farklılığın kanser ve metastaz oluşumuna etkisinin olup olmadığının araştırılmasıdır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

2003 ve 2005 yılları arasında Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda meme kanseri nedeniyle ameliyat edilen hastalardan palyatif cerrahi rezeksiyon yapılan, evre 4 olan ve cinsiyeti erkek olan olgular çalışma dışında bırakıldıktan sonra 31 olgu çalışma grubuna alındı. Olguların kayıtları retrospektif olarak incelendi. Yaş, klinik evre, lenf nodu metastaz durumu, histolojik tip, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu ve uygulanan ameliyat tipleri ortaya konuldu.

Hastane kayıtlarının retrospektif incelenmesinin yanında telefon yoluyla hasta veya yakınlarından sağkalım, tedavi, nüks ve metastaz bilgileri alınarak kaydedildi. Olguların hepsi yönlendirildikleri onkologların uygun gördüğü tedaviyi almış ve düzenli kontrollerine giden hastalardı. Son takip zamanı hayatta olanlar için Mart 2011; ölmüş olanlar için ise ölüm tarihleri idi.

Çalışma grubu lenf nodu metastazı olan ve olmayan olarak iki gruba ayrıldı. Her iki çalışma grubundaki hastaların primer tümörüne ait parafin bloklarına ulaşıp tümör içeren doku örnekleri alındı. Kontrol grubu olarak herhangi kronik bir hastalık tanısı almamış, sağlıklı gönüllülerden 30 kişiden kan örnekleri alındı.



LN Metastazı (-)

LN Metastazı (+)

Kontrol

Şekil-5: Çalışma gruplarının sembolik gösterilişi.

LN metastazı saptanan ve saptanmayan gruba ait parafin bloklardan DNA izole edebilmek için öncelikle klasik yöntemle (ksilol ve azalan alkol serileri) dokular parafinden arındırıldı. DNA izolasyonu için İnvitrogen PureLink™ Genomic DNA Kit For purification of genomic DNA (Kat no: K1820-02) kiti kullanıldı.

Parafinden arındırılan dokular üzerine 40 µl proteinaz K ve 380 µl digestion solüsyonu eklenerek 55 °C'de gece boyunca yaklaşık 14-15 saat inkübasyona bırakıldı. 13.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilerek yeni tüpe aktarılan supernatant üzerine 40 µl RNase A ilave edildi ve 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. 400 µl liziz bağlama solüsyonu eklendi ardından 400 µl %96 etanol eklendi vortekslenerek iki ayrı spin kolona aktarıldı. 10.000 g'de 1 dk 25 °C'de santrifüj edildi. Kolona bağlanan DNA yıkama solüsyonu 1 ve 2 ile yıkandı. DNA'yı çözmek için 100 µl elüsyon solüsyonu eklendi ve DNA'lar -20 °C'de saklandı.

Kontrol grubundan alınan periferik kandan DNA izolasyonu için ısıtıcı blok 55 °C'ye ayarlandı. Steril mikrosantrifüj tüpüne 200 µl kan örneği kondu. 20 µl Proteinaz K eklendi. 20 µl RNase A eklendi ve kısaca vortekslenerek iyice karışması sağlandı. 2 dk oda ısısında inkübe edildi. 200 µl Genomic Lysis/Binding Buffer eklenerek homojen solüsyon elde edilinceye kadar vortekslendi. 55 °C'de 10 dk inkübe edildi. %96-100'lük etanolden lizata 200 µl eklendi. Homojen solüsyon elde edilinceye kadar yaklaşık 5 saniye vortekslendi. Lizat spin kolona aktarıldı. 10.000 g de 1 dk 25 °C santrifüj edildi. Toplama tüpü değiştirildi. Spin kolona 500 µl Wash Buffer 1 konuldu. 10.000 g de 1 dk 25 °C santrifüj edilerek toplama tüpü değiştirildi.

Spin kolona 500 µl Wash Buffer 2 eklendi. 13.000 rpm de 3 dk 25 °C santrifüj edildi. Spin kolon 1.5 ml'lik steril ependorf tüpüne aktarıldı. 25-200 µl arasında

Genomik Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dk inkübe edildi. 13.000 rpm de 1 dk 25 °C santrifüj edildi. Spin kolon aktarıldı. Kolona bağlanan DNA yıkama solüsyonu 1 ve 2 ile yıkandı. DNA'yı çözmek için 100 µl elüsyon solüsyonu eklendi ve kontrol grubu DNA'ları da -20 °C'de saklandı. ADAMTS9 geninin promotor bölgesinde bulunan sitozin ve adenin (CA) mikrosatellit bölgesini analiz etmek için Forward: 5' CTCCTGAGGGCTGGTTAAA 3', Reverse 5' CTCCCATCTCTAAACCCCCTG 3' primerleri kullanıldı. Yaklaşık 180 baz çifti büyüklüğünde ürün elde edildi.

Reaksiyon karışımı için Taq PCR Master Mix (Qiagen Kat no: 201443) kullanıldı. Reaksiyon karışımı örnek başına toplam 25 µl olacak şekilde hazırlandı (Tablo-6).

Tablo-6: Reaksiyon Karışımı.

Reaksiyon Karışımı	
PZR Master mix	12,5 µl
ddH ₂ O	9,5 µl
DNA	2 µl
Primer Forward	0,5 µl
Primer Reverse	0,5 µl

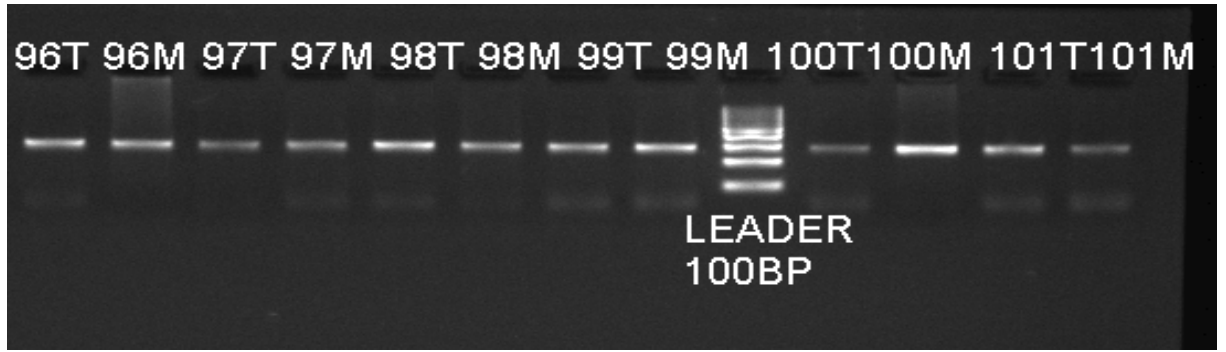
Techne TC-5000 model PZR cihazında amplifikasyon gerçekleştirildi (Tablo-7).

Tablo-7: Amplifikasyon koşulları.

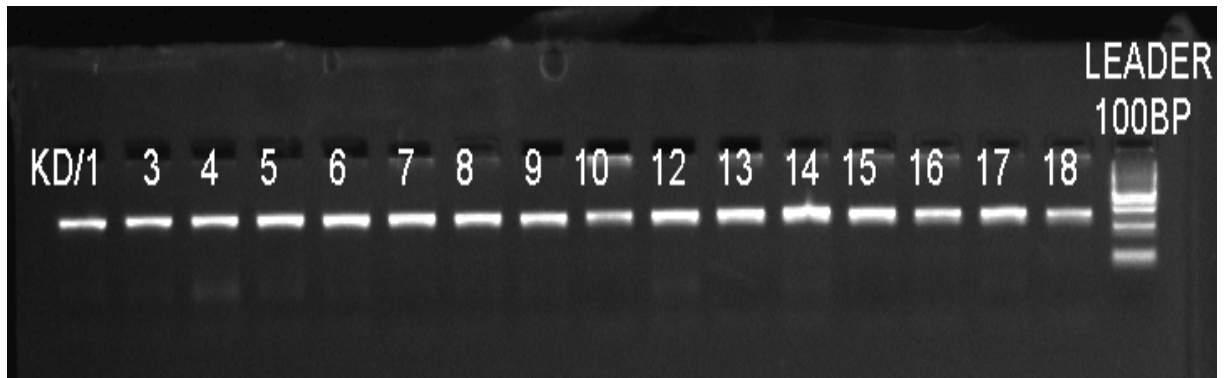
	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	95 °C	5 dakika	1 döngü
Denatürasyon	95 °C	30 saniye	35 döngü
Primer bağlanma	62 °C	30 saniye	35 döngü
Uzama	72 °C	1 dakika	35 döngü
Son uzama	72 °C	5 dakika	1 döngü

Araştırdığımız bölgenin PZR ürününü değerlendirmek için, %4'lük agaroz jelde PZR ürünleri yürütüldü (Şekil). 100 ml 1X TAE (Tris/ Asetik Asit / EDTA) tamponunun içine 4 gr agaroz (İnvitrogen kat no: 16500-100g) konuldu. Mikrodalgada agaroz iyice eriyinceye kadar tutuldu. 2,5 µl etidyum bromid ilave edildikten sonra jel kalıba dökülerek 30 dakika donmaya bırakıldı. PZR ürünlerinden 5 µl alınarak 1 µl 6xLoading dye ile karıştırılıp kuyucuklara yüklendi. Jel, 100 V'de 15 dk yürütüldükten sonra U.V. transliminatörde görüntülendi.

A.



B.



Şekil-6: A. hasta ve B. kontrol gruplarının PCR amplifikasyon ürünlerinin Agaroz jel görüntüleri.

Çalışmadaki ölçüm değerlerinin (yaş, sağkalım süresi, çıkarılan lenf nodu sayısı, Sitozin Adenin tekrarı) normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ile ve grafiksel olarak incelendi. Sağkalım süresi dışındaki değişkenlerin normal dağılıma uymadıkları görüldü. Tanımlayıcı istatistiklerin gösteriminde kategorik değişkenler (patolojik grade, histolojik tip, evre, östrojen reseptörü vb) için sayı ve yüzde, ölçüm değişkenleri için ise normal dağılıma bağlı olarak ortanca (Çeyreklikler Arası Genişlik –ÇAG, Interquartile Rance –IQR) ya da ortalama±standart sapma kullanıldı.

Kontrol, LN metastazı olan ve LN metastazı olmayan gruplarda Sitozin Adenin ortancasının farklı olup olmadığı Kruskal-Wallis non-parametrik varyans analizi ile incelendi. Fark bulunduğunda farklı grubu bulabilmek amacı ile post-hoc ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney testine başvuruldu.

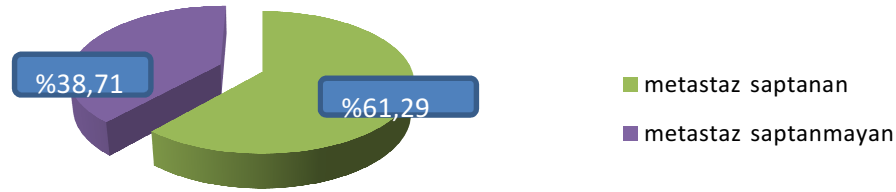
Metastaz varlığına göre kategorik değişkenlerdeki (patolojik grade, histolojik grup, reseptörler vb) farklılıkları araştırmak amacı ile ki-kare (χ^2) testi uygulandı.

Sağkalım süresi üzerinde LN metastaz varlığının oluşturduğu farklılığı inceleyebilmek için students' t testi kullanıldı.

Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar için MS-Excel 2003 ve SPSS for windows. Ver. 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL., USA) paket programları kullanıldı. İstatistiksel kararlarda $p<0.05$ anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma; yaşları 25 ile 78 arasında değişen (ortanca=38.0, ÇAĞ=27.0) kontrol grubunda 30 ve hasta grubunda 31 (LN metastazı saptanan 19 ve saptanmayan 12) olmak üzere toplam 61 kadın üzerinde yürütülmüştür. Kontrol grubunun yaş ortancası 32.5 (ÇAĞ=7.0) yıl iken LN metastazı saptanan ve saptanmayan hastaların yaş ortancaları sırasıyla 54.0 (ÇAĞ=17.0) ve 61.0 (ÇAĞ=24.8) yıl olarak bulundu.



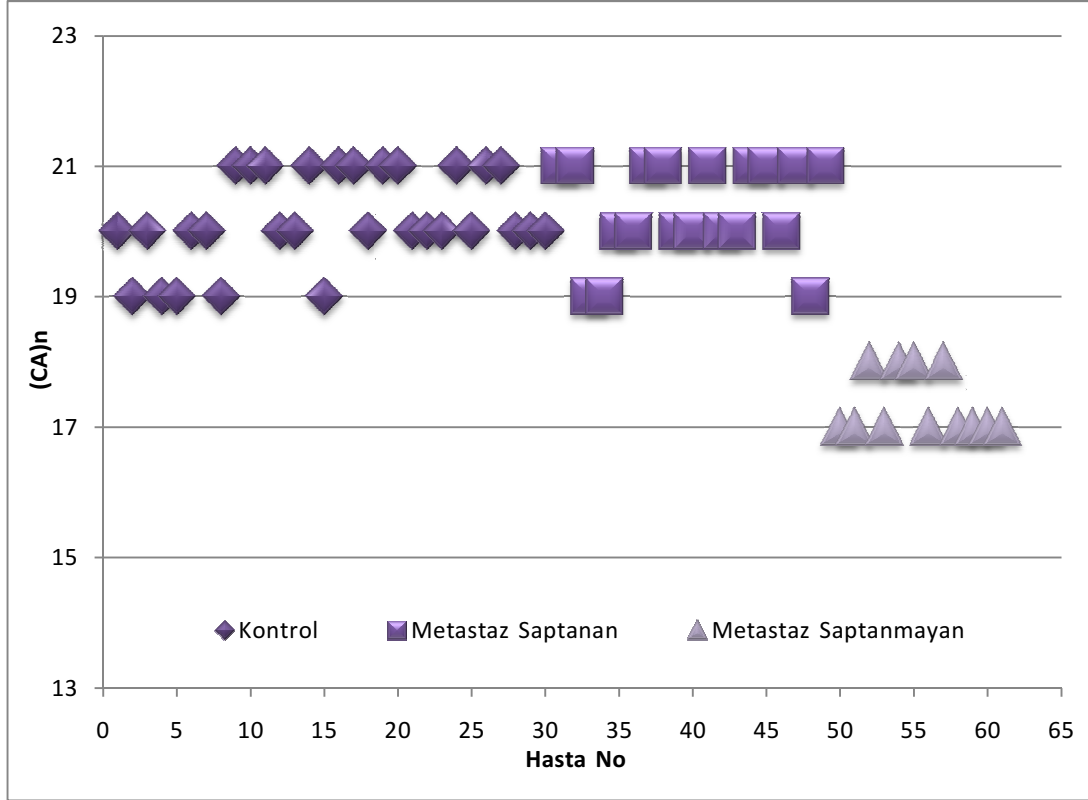
Şekil-8: LN metastazı saptanan ve saptanmayan olguların dağılımı.

Kontrol grubunda Sitozin-Adenin baz çifti tekrar sayısı (CA)n 19 ile 21 arasında değişirken ortancası 20 (ÇAĞ=1) olarak bulundu. LN metastazı saptanan grupta ise (CA)n değerlerinin 19 – 21 aralığında değiştiği ve ortancasının 20 (ÇAĞ=1) olduğu belirlendi. LN metastazı saptanmayan grubun (CA)n değerleri 17 ile 18 arasında değişirken, ortancası 17 (ÇAĞ=1) olarak belirlendi.

Tablo-8: Gruplara göre (CA)n ortancaları

Grup	En Az	En Çok	Ortanca	ÇAĞ
Kontrol	19	21	20	1
LN Metastazı Saptanan	19	21	20	1
LN Metastazı Saptanmayan	17	18	17	1

Araştırma gruplarından en az birini (CA)n ortancası diğerlerinden istatistiksel olarak farklıdır ($\chi^2=31.162$; $p<0.001$). Farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığı Bonferroni düzeltilmeli post-hoc ikili karşılaştırmalar ile araştırıldı.

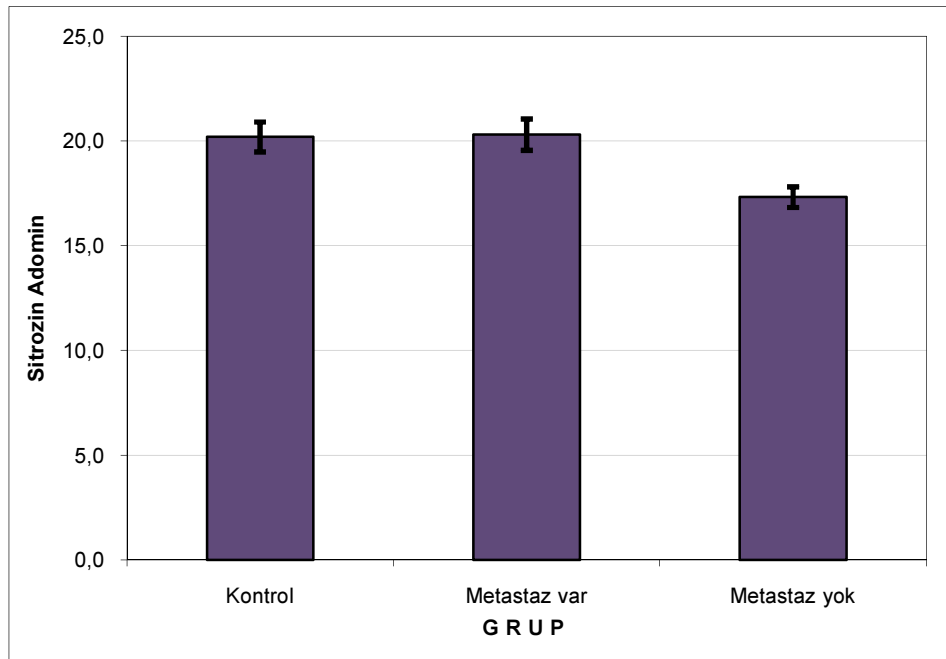


Şekil-9: Gruplardaki bireylerin (CA)n'a göre tablo üzerinde gösterilişi: (CA)n saçılım grafiği.

Not: (CA)n eksenini, görsellik açısından 0'dan değil, 13'ten başlatılmıştır

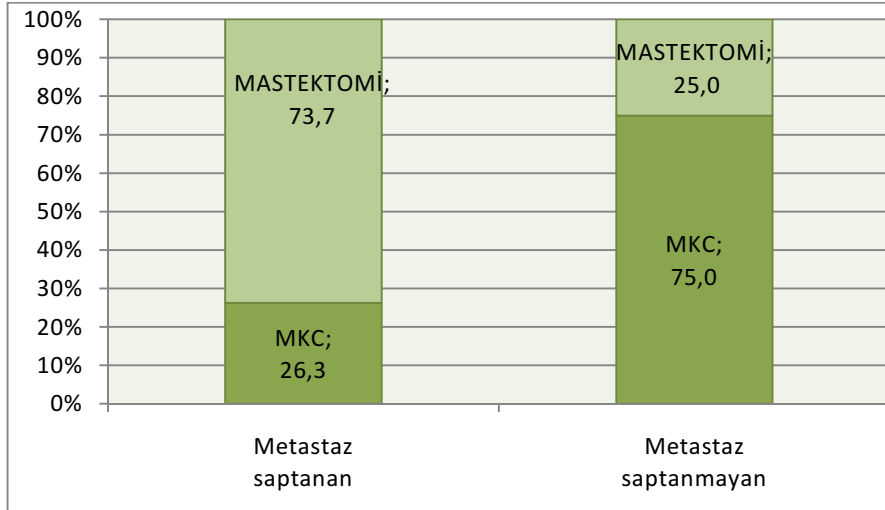
Kontrol grubunun (CA)n ortancası LN metastazı saptanmayan gruptan istatistiksel olarak da anlamlı miktarda daha yüksektir ($Z=4.757$; $p<0.001$). Kontrol grubu ile LN metastazı saptanan grubun (CA)n ortancaları istatistiksel olarak farksızdır ($Z=0.601$; $p=0.548$). LN metastazı saptanan hastaların (CA)n ortancası metastaz saptanmayan hastalardan istatistiksel olarak da anlamlı miktarda daha yüksektir ($Z=5.180$; $p<0.001$).

(CA)n ortancasına göre sıralama yapılacak olursa; en küçük (CA)n ortancası LN metastazı saptanmayan grupta gözlenirken, en yüksek (CA)n ortancası ise LN metastazı saptanan grupta görülmüştür (Şekil-9). Kontrol ve LN metastazı saptanan grubun (CA)n ortancası benzerdir. İstatistiksel olarak (CA)n düşüklüğü LN metastazına karşı koruyucu bir etken olarak görülmüştür.



Şekil-10: Gruplara göre Sitozin-Adenin baz çifti tekrar sayısı ortancaları (standart sapmalar ile birlikte)

Diğer değişkenlere baktığımızda metastatik lenf nodu saptanan hastaların %73.7'sine (14/19) mastektomi uygulandığı, saptanmayan grupta ise bu oranın %25 (3/12) olduğu belirlendi (Şekil-11).



Şekil-11: Gruplara göre MKC ve mastektomi oranları.

LN metastazı saptanmayan hastaların 7'si (%58.3) patolojik grade I olarak sınıflandırılırken LN metastazı saptanan hastalarda patolojik grade I olarak sınıflandırılan hasta sayısı da 7 (%36.8) olarak bulunmuştur (Tablo-9). LN metastazı gözlenen ve gözlenmeyen hastalarda patolojik grade'lerin genel dağılımı istatistiksel olarak benzerdir ($\chi^2=1.853$; $p=0.396$).

Tablo-9: LN metastazı varlığına göre patolojik gradeler

		LN Metastazı		χ^2	p
		Yok	Var		
		n (%)	n (%)		
Patolojik Grade	1	7 (58.3)	7 (36.8)	1.853	0.396
	2	3 (25.0)	5 (26.4)		
	3	2 (16.7)	7 /36.8)		

Hastalarımızın %74.20'si duktal karsinom, %16.12'si lobüler karsinom, %9.68'i ise diğer histolojik tiplerde (müsinöz, apokrin, mikropapiller) adenokarsinom olarak saptanmıştır. LN metastazı saptanan hastalarda histolojik tiplerin dağılımı sırası ile 9 (%75.0), 1 (%8.3) ve 2 (%16.7) olarak belirlenmiştir (Tablo-10). Histolojik tipler metastaz varlığına göre anlamlı farklılık göstermemektedir ($\chi^2=1.769$; $p=0.413$).

Tablo-10: LN metastazı varlığına göre histolojik tipler

		LN Metastazı		χ^2	p
		Yok	Var		
		n (%)	n (%)		
Histolojik Tip	Duktal Karsinom	14 (73.7)	9 (75.0)	1.769	0.413
	Lobüler Karsinom	4 (21.1)	1 (8.3)		
	Diğer	1 (5.3)	2 (16.7)		

LN metastazı saptanan grupta Evre 2 (2A+2B)'de 6 (%31.6), Evre 3 (3A+3C)'de ise 13 (%68.4) kişi bulunuyordu. LN metastazı varlığına göre hastalık evrelerinin dağılımı Tablo-11'dedir. Evre 3B' de hastamız bulunmamaktadır.

Tablo-11: LN metastazı varlığına göre evreler

		LN Metastazı	
		Yok	Var
		n	n
Evre	1	7	-
	2A	4	3
	2B	1	3
	3A	-	8
	3B	-	-
	3C	-	5

LN metastazı saptanmayan hastaların tümünde östrojen reseptörü varken, saptanan hastalarda östrojen reseptörü var olanların oranı %63.2 olarak belirlenmiştir. LN metastazına göre östrojen reseptörü varlığı istatistiksel olarak da anlamlı farklılık göstermektedir ($\chi^2=8.110$; $p=0.004$) (Tablo-12).

Tablo-12: LN metastazı varlığına göre Östrojen Reseptörleri

		LN Metastazı		χ^2	p
		Yok	Var		
		n (%)	n (%)		
Östrojen Reseptörü	(-)	0 (0.0)	7 (36.8)	8.110	0.004
	(+)	12 (100.0)	12 (63.2)		

LN metastazı saptanmayan hastaların tümünde PR pozitif iken, saptanan hastalarda PR pozitif olanların oranı istatistiksel olarak da anlamlı miktarda daha düşüktür ($\chi^2=4.285$; $p=0.038$) (Tablo-13).

Tablo-13: LN metastazı varlığına göre Progesteron Reseptörleri

		LN Metastazı		χ^2	p
		Yok	Var		
		n (%)	n (%)		
Progesteron Reseptörü	(-)	0 (0.0)	4 (21.1)	4.285	0.038
	(+)	12 (100.0)	15 (78.9)		

LN metastazı saptanmayan hastaların tümünde östrojen ve progesteron reseptörü birlikte pozitif olarak belirlenmişken, LN metastazı saptanan hastalarda her iki reseptörün pozitif olma oranı %63.2 olarak belirlenmiştir. LN metastazına göre östrojen ve progesteron reseptörü birlikte pozitifliği istatistiksel olarak da anlamlı farklılık göstermektedir ($\chi^2=8.110$; $p=0.004$) (Tablo-14).

Tablo-14: LN metastazı varlığına göre Östrojen + Progesteron Reseptörleri

		LN Metastazı		χ^2	p
		Yok	Var		
		n (%)	n (%)		
E + P Reseptörü	(-)	0 (0.0)	7 (36.8)	8.110	0.004
	(+)	12 (100.0)	12 (63.2)		

LN metastazı saptanmayan hastalarda C-erb B2 reseptörü 7 (%58.3) olguda pozitif sonuç verirken LN metastazı saptanan grupta 9 (n=47.4) olarak bulunmuştur.

LN metastazı saptanan hastalarda C-erb B2 reseptörü pozitif olanların oranı ile saptanmayan hastalarda C-erb B2 reseptörü pozitif olanların oranı istatistiksel olarak farksızdır ($\chi^2=0.354$; $p=0.552$) (Tablo-15).

Tablo-15: LN metastazı varlığına göre C-erb B2 Reseptörleri

		LN Metastazı		χ^2	p
		Yok	Var		
		n (%)	n (%)		
C-erb B2 Reseptörü	(-)	5 (41.7)	10 (52.6)	0.354	0.552
	(+)	7 (58.3)	9 (47.4)		

Hasta grubumuzda (CA)n dağılımını inceleyebilmek ve grade ile evrelere göre karşılaştırabilmek amacı ile grade ve evrelerde birleştirmeye gidilmiştir. Birleştirme işlemi sonucunda oluşan grade ve evreler Tablo-16'da gösterilmiştir.

Tablo-16: Birleştirme işlemi sonucunda grade ve evreler

Grade / Evre	n	%
Grade 1	14	45.2
Grade 2 + 3	17	54.8
Evre 1	7	22.6
Evre 2 (2A+2B)	11	35.5
Evre 3 (3A+3C)	13	41.9

Birleştirme sonucunda oluşan grade ve evrelere göre (CA)n ortancaları ve karşılaştırma sonuçları Tablo-17'de gösterilmiştir.

Tablo-17: Birleştirme sonrası grade ve evrelere göre (CA)n ortancaları

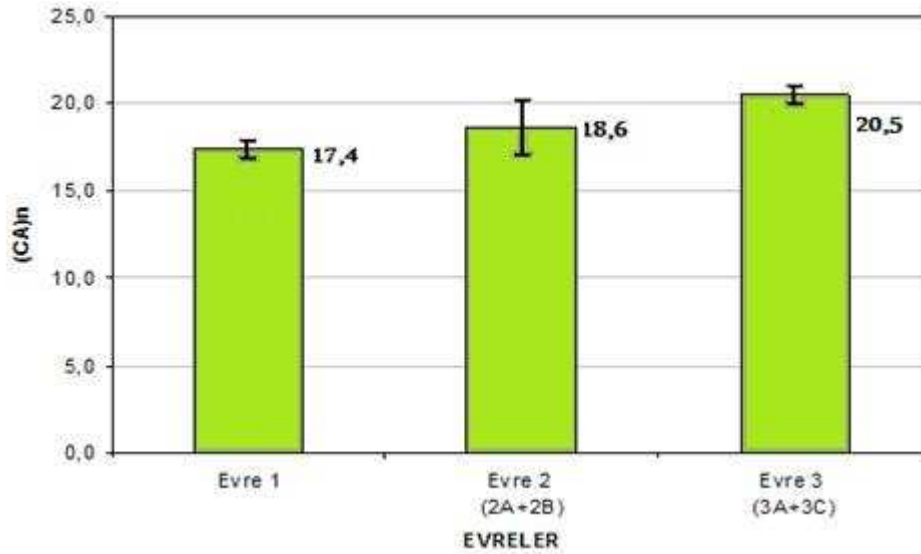
Grade / Evre	Ortanca	ÇAG	Z / χ^2	p
Grade 1	18.5	2.3	Z=1.205	0.246
Grade 2 + 3	20.0	4.0		
Evre 1	17.0	1.0	$\chi^2=17.264$	<0.001
Evre 2 (2A+2B)	19.0	3.0		
Evre 3 (3A+3C)	21.0	1.0		

Tablo-17 incelendiğinde; grade göre (CA)n ortancası istatistiksel olarak benzerdir (Z=1.205; p=0.246).

Ancak en az bir evre (CA)n ortancası diğerlerinden farklıdır ($\chi^2=17.264$; p<0.001). Farklılığın hangi evreden kaynaklandığını belirleyebilmek amacı ile

Bonferroni düzeltilmeli ikili Mann-Whitney karşılaştırmalarına post-hoc test olarak başvuruldu.

Buna göre; Evre 1 ile Evre 2 (2A+2B) ortancaları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli değilken ($Z=1.625$; $p=0.126$), Evre 1 ile Evre 3 (3A+3C) ortancaları arasında istatistiksel olarak da anlamlı farklılık vardır ($Z=3.757$; $p<0.001$). Evre 2 (2A+2B) ile Evre 3 (3A+3C) arasındaki farklılıklar da istatistiksel olarak önemlidir ($Z=2.994$; $p=0.003$). Hastalar (CA)n ortancasına göre küçükten büyüğe doğru sıralandığında en küçük ortanca Evre 1 hastalarda iken en yüksek ortanca Evre 3 (3A+3C) hastalardadır. Evre 3 (3A+3C) hastalar Evre 1 ve Evre 2 (2A+2B) hastalara göre daha yüksek (CA)n ortancasına sahiptir (Şekil-12).



Şekil-12: Evrelere göre (CA)n ortancaları (standart sapmalar ile birlikte)

Östrojen reseptörü (ER), Progesteron reseptörü (PR), c-erb B2 reseptörü ve ER+PR reseptörü beraber değerlendirilmek üzere tüm reseptörler için pozitiflik, negatiflik sonuçlarına göre (CA)n değerleri incelenmiştir (Tablo-18).

Tüm reseptörlerde ve ER(+) PR(+)'te pozitif sonuca sahip hastaların (CA)n ortancası negatif sonuca sahip hastaların (CA)n ortancasından daha yüksek olmasına karşın aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir.

Tablo-18: ER, PR, c-Erb B2 ve ER+PR'a göre (CA)n ortancaları

Reseptör		Ortanca	ÇAG	Z / χ^2	p
ER	Negatif	20.0	1.0	Z=1.944	0.061
	Pozitif	19.5	3.8		
PR	Negatif	20.5	1.8	Z=1.394	0.193
	Pozitif	19	4.0		
c-Erb B2	Negatif	20.0	4.0	Z=0.549	0.599
	Pozitif	19.0	3.5		
ER+PR	Negatif	20.0	1.0	Z=1.944	0.061
	Pozitif	18.5	3.8		

Metastaz gözlenen hastalardan en az 1 metastatik lenf nodu, en çok ise 53 metastatik lenf nodu çıkarılmıştır. Çıkarılan lenf nodu ortancası 14 (ÇAG=19) olarak hesaplanmıştır. Takip süresi içinde lenf nodu metastazı olan gruptan 2 hasta kaybedilirken diğer gruptaki hastaların hepsinin yaşadığı öğrenilmiştir.

Sağkalım süresi metastaz grubunda en az 62, en çok 83 ay ve ortalama sağkalım süresi ise 75.4 ± 6.1 ay olarak bulunmuştur. Metastaz gözlenmeyen grupta en düşük sağkalım süresi 63 ay iken en yüksek sağkalım süresi 82 aydır. Ortalama sağkalım süresi 72.5 ± 5.2 aydır. Çalışmamızda metastaz varlığının sağkalım süresi üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($t=1.345$; $p=0.189$). Çalışma kapsamında incelenen gruplarda sadece 2 exitus vakası mevcut olduğundan dolayı sağkalım analizi (survival analysis) yapılamamıştır.

5.TARTIŞMA

Meme kanseri günümüzde kadınlar arasında en sık saptanan malignitelerden biridir ve ne yazık ki kadınlar arasında kanser nedeni ile ölüm oranlarına bakıldığında akciğer kanseri ile birlikte ilk sırayı paylaşmaktadır. Kadınlarda 40-45 yaş arasında en sık kansere bağlı ölüm nedeni meme kanseridir [2]. Hastalığın karakteri ile ilişkili olarak tedavi süreci ve klinik davranışı değişiklik gösterir. Fakat ortak görüş olarak klinik gidişi primer olarak etkileyen faktörün metastaz durumu olduğudur. Meme kanseri tanısı konan hastalar tanı anında metastaz saptanmamış olsa da, tanı ve tedavi sonrası uzun süre metastaz riski taşımaya devam ederler [128].

Meme kanserinin kadınlar için geniş bir popülasyonda ve giderek artan oranda tehlike oluşturması nedeni ile hastalığın önlem, tanı, izlem ve tedavisini içeren bir çok araştırma yapılmıştır. Hastalığın seyrini öngören prognostik markerların bulunması tüm bu süreçleri pozitif yönde etkileyeceğinden bu konu hakkında yapılan çalışmalar oldukça önem kazanmıştır.

Yaygın olarak kullanılan bu prognostik faktörler yanında karsinogenezde ve hastalığın metastatik sürecinde genetik faktörlerin de rol aldığı ve prognozu etkilediği bilinmektedir. Bu amaçla özellikle MMP, ADAM ve ADAMTS gen aileleri gözde araştırma konularındandır.

Bu gen ailelerinin değişik kanser, metastaz ve anjiyogenez çalışmalarında tümör oluşum ve yayılımında etkili oldukları yapılan birçok çalışmada ortaya çıkarılmıştır [129-130]. Bu nedenle biz de ADAMTS gen ailesinin bir üyesi olan ve daha önce meme kanseri ile ilişkisi hiç saptanmamış olan ADAMTS9 geninin promotor bölgesindeki sitozin-adenin baz çifti tekrar uzunluğunu araştırdık. Bu uzunlukla meme kanseri lenfatik metastazları arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmayı, bu sayede meme kanseri

operasyonları öncesinde, görüntüleme yöntemlerine ek olarak hastanın lenfatik metastaz durumu hakkında bilgi verecek güvenilir bir marker elde etmeyi amaçladık.

Çalışmamız hem kurgusu hem sonuçları açısından dünyada yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Literatürde çalışma konumuzla bire bir ilgili araştırmalar bulunmadığından benzer çalışmalarla karşılaştırmalar yapılacaktır.

ADAMTS gen ailesi ile çeşitli tümöral hastalıklar arasındaki ilişkilere bakıldığında; Apte ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ADAMTS15 kolorektal kanserlerde tümör supresyonu üzerinde etkili bulunmuştur, tümör hücre kültürlerinden yapılan gen analizlerinde mRNA ekspresyonlarında azalma izlenmiştir [6].

Rocks ve arkadaşları ise küçük hücreli olmayan akciğer kanseri dokularında normal akciğer dokusu ile karşılaştırıldığında ADAMTS1'in mRNA ekspresyon seviyelerinin çok daha düşük çıktığını görmüş ve ADAMTS1'in tümör progresyonundaki mekanizmalar üzerinde etkisi olduğunu savunmuştur [9].

Lo ve ark. ADAMTS15 ile prostat kanseri [131], Zhang ve ark. ise ADAMTS9 ile gastrik, kolorektal, pankreatik kanserler [132] arasında ilişki olduğunu araştırmalarında göstermişlerdir.

Lung ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise ADAMTS9 gen ekspresyonunun yokluğu veya azalması halinde nazofarengial kanserlerin yapmış olduğu lenf nodu metastaz riskinin arttığı sonucuna varılmıştır [126].

Apte'nin çalışmasında ADAMTS9'un özefagial ve nazofaringeal kanserler için tümör supressör özelliği izlenmiş, ayrıca mikrovasküler endotelial sistem üzerinden otonom hücreleri harekete geçirerek anjiyogenez supresyonu yaptığı savunulmuştur [133].

Ayrıca Clark ve arkadaşlarının hereditör renal tümörlerde de ADAMTS9 gen ekspresyonunda azalma izlendiğini gösteren bir çalışma da mevcuttur [127].

Demircan ve arkadaşları ise baş boyun kanserlerinde ADAMTS1, -4, -5, -8, -9, -15 genlerinin mRNA ekspresyonlarını çalışmış ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında primer baş ve boyun kanserlerinde daha düşük seviyelerde mRNA ekspresyonu ile karşılaşmışlardır. Diğer taraftan ADAMTS4 dışında tüm bu genlerin mRNA ekspresyon seviyeleri metastatik dokularda primer dokulardan daha yüksek bulunmuştur [134].

Demircan ve arkadaşlarının yapmış olduğu diğer bir çalışmada ise kondrosarkomlu kanser hücrelerinde interlekin-1 β 'nin ADAMTS4, -5 ve -9'un mRNA seviyelerinde artışa neden olduğu, ADAMTS1 ve -8'de ise artış gözlenmediği belirtilmiştir. Aynı çalışmada bu artışın en fazla ADAMTS9'da izlendiği ve fibroblastlardan çok kondrositlerde artış görüldüğü, TNF alfanın da interlekin-1 β ile sinerjistik etki göstererek hareket ettiği ortaya çıkmıştır [120].

Lo ve arkadaşları ise deney fareleri üzerinde kromozom transferi yaparak özefagus squamoz hücreli kanser için, aynı zamanda ADAMTS9'un lokalizasyon bölgesi olan 3p14.2 kromozomunun, tümör baskılayıcı özelliği olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada 16 özefagus kanseri hücre kültüründen 15'inde ADAMTS9'un tamamen kaybı yada metilasyonu sonucu down-regülasyonu izlenmiştir [131].

Porter ve arkadaşları meme kanseri ile ADAMTS gen ailesinin 19 üyesi arasında bağlantı olup olmadığını anlamak için bir çalışma yapmışlar ve çalışmalarını sonucunda ADAMTS1, -3, -8, -9, -10, -18 genlerinin normal sağlıklı doku ile karşılaştırıldığında meme kanser dokusundaki hücrelerde down-regülasyona uğradığını fakat bunun tümör

histolojik tipi, grade ya da evresi ile ilişkili olmadığını belirtmişlerdir. Buna karşı ADAMTS4, -6, -14 ve -20 genlerinde ise up-regülasyon izlenmiştir. Çalışmada ADAMTS genleri ile lenf nodu metastazları arasındaki ilişki ise araştırılmamıştır [135].

Yine Porter ve arkadaşlarının yapmış olduğu diğer bir çalışmada ADAMTS8 gen ekspresyonunda artış ve ADAMTS15 gen ekspresyonunda azalmanın diğer tüm klinikopatolojik faktörlerden bağımsız olarak meme kanserlerinde kötü prognozu işaret ettiği, sağkalım için iyi bir belirleyici olduğu söylenmiştir [136].

ADAMTS9 ile ilgili araştırmalarımız sırasında genin promotor bölgesinde sitozin ve adenin (CA) tekrarlarından oluşan bir mikrosatellit bölgesi bulunduğu fark edilmiştir (Demircan ve ark., yayınlanmamış bilgi). (CA)_n'nin meme kanserlerinde lenfatik metastaz riskini göstermede biyomarker olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

ADAMTS9 ile aynı gen ailesinde bulunan ya da aynı fonksiyonları paylaşan MMP-9 [137], IGF-1 (İnsülin-like Growth Faktör 1) [138] ve PARP-1 [139] genleri ile ilgili, genlerin promotor bölgelerindeki mikrosatellit tekrarı, kanseri oluşumu ve metastatik süreci araştıran bizim çalışmamızla benzerlikleri bulunan çalışmalar yapıldığı görülmüştür.

PARP (Poly ADP-ribose polymerase) 17 üyeden oluşan bir gen ailesidir. PARP-1 geninin sorumlu olduğu Poli ADP-riboz polimeraz enzimi değişik faktörlerin neden olduğu oksidatif stresin DNA kırıkları oluşturması üzerine aktive olarak fonksiyon gösterir. Aktivasyonundaki yetersizlik DNA tamirinin yapılamamasına ve buna bağlı patolojik sürecin başlamasına yol açmaktadır [140]. Kanserle ilişkisinin gösterilmiş olması ve inflamatuvar olaylardaki görevi nedeni ile ADAMTS9'a benzerlik göstermektedir.

Zaremba ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada bireyler arasında geniş varyasyon gösteren PARP-1 aktivitesinin kanser üzerinde etkilerini araştırmak için 56 sağlıklı bireyden oluşan kontrol ve 118 kanser hastasından oluşan hasta grubu üzerinde çalışmıştır. PARP-1 geninde izlenen varyasyonlar incelenmiş bunların kanser ve kanser tedavisine yanıtta etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalar sonunda gruplar arasında farklılık izlenmemiş, fakat PARP-1 geni promotor bölgesinde bulunan CA tekrar sayısının hasta grubunda kontrol grubuna oranla çok daha kısa olduğu görülmüştür [139].

IGF-1 meme kanserinde yüksek olarak tespit edilmiş, matriks metalloproteinaz aktivitesi ve meme kanseri hücrelerinin invaziv potansiyeli üzerine düzenleyici etkisi olan bir hormondur [141]. Javadi ve arkadaşlarının İran'da meme kanseri tanısı almış 215 kadın hasta ve 224 kişilik kontrol grubundan oluşan çalışmasında IGF-1 geninin promotor bölgesindeki CA dinükleotid tekrar sayısı ile meme kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir. Her iki grupta da benzer alleller ve genotipler tanımlanmış olmakla beraber CA tekrar sayısı 19 civarında bulunmuştur. 2 tekrar daha fazla içerenlerde meme kanseri riski artmış, 2 tekrar daha az içerenlerde ise meme kanseri riski azalmış olarak tespit edilmiştir [138].

Shimajiri ve arkadaşları ise matrix metalloproteinaz-9 (MMP-9) geninde CA tekrar sayısını çalışmışlardır. CA tekrarlarının MMP-9 geninin transkripsiyonunu ve enzimatik fonksiyonunu regüle ettiği düşünülmüştür. Bu sekanslar özefagus kanseri hücre dizilerinin promotor bölgelerinden elde edilmiştir. Çalışmada CA tekrar sayıları MMP-9 promotor bölge transkripsiyonal aktivitesiyle ilişkili bulunmuştur ve CA tekrar sayısının Japon halkı için çok heterojen olduğu gözlenmiştir. MMP-9'un tümörün büyüme, invazyon, metastazında önemli rol oynadığı, makrofaj, lenfosit, trofoblast gibi

birçok hücre tipinin fonksiyonunda önemli olduğu, gelişim, embriyogenez, doku farklılaşması, patolojik durumlarda ekspresyonunun arttığı belirtilmiştir ve MMP-9'un promotor bölgesindeki mikrosatellitlerin mutasyonlarının genetik olarak bu durumlara yol açtığı bildirilmiştir. Japon halkının CA tekrar sayılarındaki farklılıkta bu mutasyonlara bağlanmıştır. CA tekrar sayısındaki azlığın MMP-9 geni promotor bölgesinde down-regülasyona neden olduğu bunun da bir takım onkogenetik mekanizmaları harekete geçirdiği ve özefagus kanseri görülme riskinde artış meydana getirdiği düşünülmüştür [137].

Vilar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mikrosatellit instabilitesinin kolorektal kanserler üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Mikrosatellitlerin insan genomunda 1, 2 yada daha fazla nükleotidden oluşan tekrar sekanslarından oluştuğu ve mismatch repair system yani yanlış eşleşme tamir sisteminde defekt olduğunu gösteren belirteçler olarak görev yaptığı söylenmiştir, (A)_n, (CA)_n, (CAG)_n... Bu sekansların özellikle yan yana gelerek biriktiğinde mutasyonlara neden olduğu ve DNA polimerazın DNA'ya etkili bir şekilde bağlanmasını önlediği ve sentez fonksiyonunu bozduğu düşünülmüştür. Çalışmada kolorektal kanserlere ait hücre kültürleri araştırılmış ve bu hücre kültüründen elde edilen DNA'larda mikrosatellitlerin yanlış baz eşleşmelerine de neden olduğu ve bu eşleşmelerin DNA polimerazın intrinsek düzeltme fonksiyonundan korunduğu ve insersiyon, delesyon döngüsü ile ekstrahelikal keskin bir DNA yapısı oluşturduğu belirtilmiştir [8].

Baoshuang Wang ve arkadaşlarının hepatoselüler kanser üzerine Cyr61 aktivitesini araştırdıkları bir çalışma da mevcuttur. Cyr61 sisteinden zengin yapıda, ekstraselüler matrikste bulunan, diferansiyasyon, hücre proliferasyonu, adezyon, migrasyon, anjiyogenez yapabilen ve tümör oluşumunda görevli heparin bağlayıcı

sekretuar yapısında bir proteindir. Promotor bölgesinde sitozin ve adeninden oluşan tekrar bölgeleri içerdiği saptanmıştır. Yapı olarak ADAMTS grubu ile birçok ortak özellik ve görev paylaşmaktadır. Bu tekrar bölgelerinin uzunluğu arttığında Cyr61 gen aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Cyr61, yapı olarak IGF-1, von Willebrand faktör gen, trombospondin-1 tekrar bölgesine de benzerlik gösterir. Meme kanseri gelişimi, invazyonu ve metastazında da etkili olduğu saptanmıştır [142].

Tüm bu (CA)n ile ilişkili çalışmalarda kanserle ve metastazlarla ilişkisi araştırılan genler, sisteinden zengin yapıda ve matriks metalloproteinaz özelliklerine sahip olmaları, trombospondin tekrar bölgeleri içermeleri, ekstraselüler bölgede yerleşmeleri, agrekanaz özelliklerinin olması, anti-anjiogenezis özelliklerinin olması yönü ile de ADAMTS9'a benzerler.

Bu açıdan bakıldığında çalışmamızda ADAMTS9 promotor bölgesindeki (CA)n ortancasının metastaz saptanmayan grupta diğer gruplara oranla düşük bulunması lenfatik metastaz riski ile bağlantılı olabileceğini düşündürmüştür.

Meme kanserinde prognostik faktörlerin sağkalıma etkilerinin anlaşılması için Bloom ve arkadaşları 1805-1933 yılları arasında Middlesex hastanesinde 250 olgu üzerinde bir araştırma yapmışlar ve herhangi bir cerrahi yada medikal tedavi almamış bu hastaların %18'nin 5 yıl, %4'nün ise 10 yıl kadar yaşadığını görmüşlerdir. Bu çalışma meme kanserinde klinik gidişin çeşitli değişkenlere bağlı olduğunu ve tedavi edilmese bile bazı olgularda sağkalımın uzayabileceğini göstermiştir [128].

Böylelikle patolojik sürecin daha iyi değerlendirilmesi için hızla çalışmalar yapılmaya başlanmış ve değişik prognostik markerlar elde edilmiştir.

Bu amaçla bize yardımcı olacak en iyi yöntemlerden biri “American Joint Committee on Cancer” (AJCC) ve “Union International Contre Cancere” (UICC)’ nin şekillendirdiği TNM sistemi evrelemedir [143-144].

Hastaların yaşam süreleri en fazla TNM evreleme sistemi ile uyum göstermektedir. Bu konu ile ilgili olarak Holleccek [145] ve Mook’un [146] yapmış olduğu çalışmalarda da gösterilmiştir ki evre arttıkça sağkalım değerleri düşmektedir.

Araştırmamızda takip süresi içinde lenf nodu metastazı saptanan gruptan 2 hastanın kaybedildiği lenf nodu metastazı saptanmayan gruptaki hastaların ise hepsinin yaşadıkları öğrenilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen hastalardan sadece 2’sinde exitus izlendiği için sağkalımla ilişkili istatistiksel analizler yapılamamıştır. Buna rağmen kaybedilen hastaların Evre 3A ve 3C’de bulunması dikkat çekicidir.

Çalışmamızdaki hastaların evreleri ile (CA)n arasındaki ilişkiye bakıldığında; Evre 1 ile Evre 2 (2A+2B) ortancaları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli değilken ($Z=1.625$; $p=0.126$), Evre 1 ile Evre 3 (3A+3C) ortancaları arasında istatistiksel olarak da anlamlı farklılık vardır ($Z=3.757$; $p<0.001$). Evre 2 (2A+2B) ile Evre 3 (3A+3C) arasındaki farklılıklar da istatistiksel olarak önemlidir ($Z=2.994$; $p=0.003$).

Hastalar (CA)n ortancasına göre küçükten büyüğe doğru sıralandığında en küçük ortanca Evre 1, daha sonra Evre 2 (2A+2B) hastalarda iken en yüksek ortanca Evre 3 (3A+3C) hastalardadır (Şekil 11).

Evreleme sistemine göre Evre 3 grubundaki tüm hastaların lenf nodu metastazının pozitif olduğu, ve Evre 2 deki 11 hastanın 5’inde lenf nodu metastazı izlenmediği düşünüldüğünde bu sonuç (CA)n ile meme kanseri lenfatik metastazları

arasındaki ilişkiyi destekler niteliktedir. CA mikrosatellit tekrar sayısındaki artışın hastanın evresindeki artışla uyumlu olduğu söylenebilir.

Kravchenko ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada meme kanseri etyogenezi ve heterojenitesi üzerine etkili olan faktörler araştırılmıştır. Bu çalışmada özellikle tümörlerde grade sistemi kullanılmaya başlandıktan sonra erken yaşlarda grade 1 ve 3 tümörlerin daha çok ortaya çıktığı gözlenmiştir. Tümör hücrelerinin grade'inin meme kanseri insidansında önemli bir göreve sahip olduğu ve karsinogenezde farklı mekanizmalarda etkili olduğu söylenmiştir. Az diferansiye tümörlerin latent dönemdeki kısıtlı dikkat çekilmiştir. Bu çalışmada meme kanserinde meme kanserini önleme , riskleri değerlendirme ve tedavi etme stratejilerinin bir bütün olarak değerlendirilmesi üzerinde durulmuştur [147]

Bizim çalışmamızda meme kanser hastalarımızın lenf nodu metastazı ile grade dereceleri arasında istatistiksel olarak analizler yapılmış fakat elde ettiğimiz veriler sonucunda grade derecesi ile lenfatik metastaz varlığı arasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir($\chi^2=1.853$; $p=0.396$). Fakat kaybedilen 2 hastamızın da grade 3 tümöre sahip olması dikkat çekicidir.

Hastaların (CA)n sayıları ile grade arasındaki ilişkiye bakıldığında ise grade 2 ve grade 3 olguların (CA)n ortancaları 20, grade 1 olguların ise 18.5 olarak bulunmuştur. Klinik olarak anlamlı gözükse de istatistiksel olarak fark izlenmemiştir ($Z=1.205$; $p=0.246$).

Aksiller nodlar meme için majör drenaj bölgesidir. Aksilla metastazı ile prognoz arasındaki negatif ilişki Nemoto [33], Haagensen [107] ve Fisher'in [85] çalışmaları başta olmak üzere birçok çalışmada gözler önüne serilmiştir.

Bizim çalışmamızdaki hastalarımızı göz önünde bulunduracak olursak hastalarımızın %61.29'unda (n:19) aksiller metastatik lenf nodu mevcutken, %38.71'inde (n:12) aksillada lenf nodu metastazı bulunmamıştır. LN metastazı saptanan hastalardan en az 1, en çok 53 lenf nodu olmak üzere ortancası 6 (ÇAĞ=19) olacak şekilde metastatik lenf nodu çıkarıldığı hesaplanmıştır. Kaybettiğimiz 2 hasta da aksiller lenf nodlarında metastaz mevcuttur. Hastaların birinde 52 diğesinde ise 6 adet aksiller metastatik lenf nodu tespit edilmiştir. Aksilla tutulumu olmayan olguların sağkalımı %100 iken, aksillası pozitif olanlarda %89,48 bulunmuştur.

Çalışmamızda kontrol grubunun ve lenf nodu metastazı saptanan grubların (CA)n ortancası lenf nodu metastazı saptanmayan gruptan istatistiksel olarak da anlamlı miktarda daha yüksek bulunmuştur ($Z=4.757$; $p<0.001$; $Z=5.180$; $p<0.001$). Bu sonuç bize (CA)n ile lenfatik metastaz potansiyeli arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmüştür.

ER ve PR de, meme kanserlerinde oldukça yaygın kullanılan ve tedavi seçimini primer olarak etkileyen prognostik faktörlerdir. ER ve PR pozitifliği genel olarak hormon replasman tedavisine iyi yanıtı ve uzun sağkalımı göstermekle birlikte, diğer birçok faktörle etkileşim içindedir. Örneğin T1 tümörlerde ER durumu ile aksiller lenf bezi metastazı arasında ilişkiyi gösteren çalışmalar bulunmaktadır [148]. PR ise hastalık nüksü durumunda endokrin tedaviye daha iyi yanıt göstergesi olduğundan, sağkalımla ilişkisi bulunmaktadır [4, 98].

Çalışmamızda lenf nodu metastazı saptanmayan hastaların tümünde ER pozitif bulunmuş, saptanan hastalarda ise ER pozitifliği oranı %63.2 olarak belirlenmiştir. LN metastazına göre östrojen reseptörü varlığı istatistiksel olarak da anlamlı farklılık göstermektedir ($\chi^2=8.110$; $p=0.004$). Benzer şekilde LN metastazı saptanmayan

hastaların tümünde PR pozitif iken, saptanan hastalarda PR var olanların oranı istatistiksel olarak ta anlamlı miktarda daha düşüktür ($\chi^2=4.285$; $p=0.038$).

Prognostik değeri son yıllarda araştırılmaya başlanan protoonkogen cerb-B2 ile ilgili yapılmış olan çalışmalarda bu genin hücre proliferasyon ve diferansiasyonunda görev aldığı, aksillası pozitif hastalarda cerb-B2 amplifikasyonu gözlenmişse sağkalımın daha kötü olduğu açıklanmıştır [101, 149-150]. Tam tersini gösteren çalışmalar da mevcuttur, bu nedenle sağkalımla cerb-B2 arasında olan ilişki tartışmalıdır.

Bizim çalışmamızda c-erb B2 pozitiflik oranı %51,61 bulunmuştur. Yapılan analizler sonrasında LN metastazı saptanan hastalarda c-erbB2 reseptörü pozitif olanların oranı ile saptanmayan hastalarda c-erbB2 reseptörü pozitif olanların oranı arasında istatistiksel olarak fark izlenmemiştir ($\chi^2=0.354$; $p=0.552$).

(CA)n ile bütün bu reseptörler arasındaki ilişkiye bakıldığında ise ER, PR, c-erb B2 ve ER+PR birlikteliği şeklinde olgular gruplandırılarak ayrı ayrı analizler yapılmış fakat hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir (sırasıyla $\chi^2=1.944$; $p=0.061$, $\chi^2=1.394$; $p=0.193$, $\chi^2=0.549$; $p=0.549$, $\chi^2=1.944$; $p=0.061$).

Tüm bu bilgiler ışığında Hanahan ve arkadaşlarının 2011 yılında kanser hücresinin genetik davranışı üzerine yapmış oldukları çalışma hipotezimizi destekler niteliktedir. Bu araştırmada insanda tümör oluşum aşamaları sırasında invazyon ve metastaz sürecinde “İnvazyon-Metastaz Kaskadı” olarak isimlendirilen mekanizma açıklanmaya çalışılmıştır. Bu mekanizma birbirini izleyen ve hücrenin biyolojik değişikliklerinden oluşan bir süreci içerir. Lokal invazyonla başlar, en yakın kan ve lenfatik damarına kanser hücrelerinin girmesi ve buradan lenfatik ve kan dolaşım sistemine doğrudan girerek damarlar yolu ile uzak doku parankimine ektravaze olması

ile devam eder. Hücreler kolonize olarak önce mikrometastaz oluşturur, daha sonra ise büyüyerek makroskopik tümör meydana getirirler. Bu invazyon ve metastaz sürecinde epitelyal mezenşimal transizyon, tümör hücreleri tarafından farklı derecelerde geçici yada kalıcı şekilde aktive edilir. Hücrenin biyolojik özellikleri, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu sonrasında, kontrol bağlantı bölgelerinin kaybına neden olur ve poligonal epitelyal hücrelerin sağlıklı dayanıksız bir yapıya dönüşmesine yol açar, matrix enzimleri indirgenerek motilitesini artırır, apoptozise karşı rezistans yükselir. Tümör hücreleri bu mekanizmayı başlatmak için normal hücrenin sahip olduğu sistemi ele geçirir, ve hücrenin matrix metalloproteinazlarını lenf ve kan damarı invazyonu için kullanır [28].

Ayrıca bu tümör hücreleri katepsin proteaz, heparinaz ve benzeri matrix metalloproteinazlar gibi anjiyogenez ve invazyon öncülü matrix indirgeyici enzimlerin yapımında da görev alır. Birçok değişik etkisi ile uyumlu olarak tümör hücreleri kendi proliferasyonunu da artırır, kanserin yayılmasını, doku işgalini kolaylaştırır [28].

Çalışmamızdaki olgularda da Hanahan ve arkadaşlarının görüşlerine uygun olarak LN metastazı saptanan bireylerde, tümör hücresinin kendini zamanla yenilediği, metastaz yeteneğini tekrar kazandığı ve bu nedenle CA tekrar bölgesinin uzamasının normal bir sürecin getirisi olduğu düşünülmüştür.

Bölgesel yada uzak metastazların gerçekleşebilmesi için en kritik basamak tümör dokusunu kuşatan ekstraselüler matrixin geçilmesidir. Çeşitli matriks metalloproteinaz enzimlerinin, kanserin progresyonu ve yayılımı için invazyon ve ekstraselüler matriksi aşma yönünde yardımcı oldukları bilinmektedir. ADAMTS proteinazlarının da kanserin gelişim ve progresyonunda ADAMS'larla birlikte etkilerinin olduğu gösterilmiştir [134].

ADAMTS1, -4, -5, -8, -9,-15 agrekanaz aktivitesine sahiptirler. Ekstraselüler matriks bariyeri olarak görev yapan agrekan, versikan, brevikan gibi proteoglikanlar üzerine proteolitik etki gösterirler. Agrekanazların ayrıca FGF ve VEGF inhibisyonu ile anti-anjiyogenez üzerine de etkileri olduğu bilinmektedir [134].

Turner ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ADAMs ve ADAMTSs proteinazların düzensiz ekspresyonlarının birçok kanserle ilişkili olduğunu belirtmişler ve agrekanaz etkileri sayesinde ekstraselüler matriks proteoglikanlarını parçaladıklarını bu sayede kanserin hücre proliferasyonu, migrasyonu , anjiyogenezisi ve progresyonu için ortamı daha elverişli hale getirdiklerini, ama aynı zamanda da ADAMs'ların spesifik integrinlerle etkileşime geçerek, ADAMTSs'ların ise tümör beslenmesi ve boyutunun büyümesi için gerekli olan anjiyogenezi baskılayarak tümör oluşumunu engellediklerini söylemişlerdir [151].

Wagstaff ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada da ADAMTS metalloproteinazlarının aşırı ekspresyonlarının artrit ve kanser oluşumuna neden olduğunu fakat bazı ADAMTS metalloproteinazların kanserin ilerlemesi sırasında fonksiyonlarını mutasyonel ya da epigenetik baskılanma sonrası kaybetmesiyle tümör oluşturma yada metastazı engelleme yönünde hareket edebileceklerini vurgulamıştır [129].

Liu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise ADAMTS1'in meme kanserine ait akciğer metastazlarında ve metastazları ile tanınan Lewis akciğer kanserlerinde aşırı ekspresyonu gösterilmiş, proteinaz yeteneğini kaybetmiş mutant ADAMTS1'lerin ise metastazı engellediği belirtilmiştir. ADAMTS1'in prometastatik aktivite gösterebilmesi için metalloproteinaz aktivitesine sahip olmaları gerektiği, ADAMTS1 aşırı ekspresyonunun tümör anjiyogenezisi ve invazyonuna neden olduğu,

EGF ve amfiregulin (GF) gibi hormonların transmembran prekürsörlerini dağıtırken EGF ve erb B2 reseptörlerini ise aktive ettikleri, oysa ki proteinaz yeteneğini kaybetmiş mutant ADAMTS1'lerin ise bu reseptörleri inhibe ettiği gösterilmiştir [152].

ADAMTS genlerinin içerdiği trombospondin-1 tekrarları anti-anjiyogenetik etkilerinden sorumludur. Trombospondin-1 ve ADAMTS1'in akciğer ve karaciğer metastazları üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Lee ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada kolon kanseri hücrelerinden trombospondin-1 sekresyonunun karaciğer metastazını engellediği izlenmiştir. Trombospondin bulunmayan farelerde ise hızla karaciğer metastazı oluşmuştur, akciğerler üzerine etkisi ise bulunmamıştır [124]. Bu bilgiler ışığında ADAMTS9 geninin yapısında çok miktarda TSR içerdiği unutulmamalıdır [6].

Llamazares ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise ADAMTS12'nin köpek böbrek hücrelerinde ekspresyonu gösterilmiş, Ras-MAPK(Mitogen Activated Protein Kinase) sinyal patolojik yolunun aktivasyonunu engelleyerek ve metalloproteinazın trombospondin bölgesinin regülasyonunu sağlayarak hepatosit büyüme faktörünün tümörojenik etkisini engellediği belirtilmiştir. Ayrıca ADAMTS12'nin sığırlarda endotel hücrelerinin VEGF'ün stimülasyonu ile tübül forma dönüşmesini engellediği söylenmiştir. Bilgiler ADAMTS12'nin tümörden koruyucu etkisi olduğunu desteklemektedir [153].

ADAMTS9 geninin yukarıda da bahsettiğimiz gibi matriks metalloproteinaz olması, yapısında trombospondin tekrar bölgeleri içermesi, ekstraselüler bölgede yerleşmesi, agrekanaz özelliğinin olması, FGF ve VEGF üzerinden anti-anjiyogenezis özelliği göstermesi tümör progresyonu ve yayılımını doğrudan etkileyen özelliklerdir.

Çalışmamızda ADAMTS9 geni promotor bölgesindeki (CA)n için LN metastazı saptanan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark çıkmamıştır ($Z=0.601$; $p=0.548$). Oysa ki kontrol grubunun (CA)n ortancası LN metastazı gözlenmeyen gruptan istatistiksel olarak anlamlı miktarda daha yüksek bulunmuştur ($Z=4.757$; $p<0.001$).

Bu durum (CA)n azlığının tümör oluşumunu etkilemediği ama metastaz oluşma riskini azalttığını, tümörün mikro ortamında invazyon-metastaz kaskadını etkileyen hücre içi sinyal ağında bir blok olabileceğini, CA tekrar bölgesinin uzunluğu azaldığında genin proteinaz sekresyonu yapamadığını ve bu nedenle metastazın engellendiğini düşündürmüştür.

CA tekrar sayısının, dolayısı ile promotor bölgedeki CA tekrarlarını içeren mikrosatellit bölgesinin kısalığının DNA polimerazın bu bölgeye bağlanmasında sorun oluşturduğu ve bunun sonucu olarakta ADAMTS9'un matrix metalloproteinaz görevini yapamadığı ve lenfatik damar invazyonunu gerçekleştirmediği, bu mekanizmayla da metastazı engellediği şeklinde hipotez öne sürülebilir.

LN metastazı izlenen vakalarda CA tekrar sayısının kontrol grubu ile benzer bulunmasının nedeni ise, tümör hücrelerinin konak hücreyi hakimiyeti altına alması sonrasında, ortama adaptasyonu, zamanla kendini yenilemesi, CA tekrar sayısını böylelikle arttırması ve metastaz yeteneğini tekrar kazanmasına bağlı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

(CA)n sayısı ile ER, PR, c-erb B2, grade gibi tümörün diğer özellikleri arasında ise belirgin bir ilişki ortaya çıkmamıştır.

6. SONUÇ

Kontrol grubunun ve LN metastazı saptanan grubun (CA)n ortancalarının istatistiksel olarak benzer, LN metastazı saptanmayan gruptan ise anlamlı miktarda daha yüksek bulunması sonucunda;

ADAMTS9 geni promotor bölgesinde bulunan CA tekrar sayısı ile meme kanserinde izlenen lenfatik metastaz arasında potansiyel bir ilişki olabileceği düşünüldü.

CA tekrar bölgesinin uzunluğunun azalmasının tümörün invazyon-metastaz kaskadını etkilediği, RNA polimerazın promotor domaindeki hedef bölgesine efektif bağlanamadığı, dolayısıyla ADAMTS9'un matrix metalloproteinaz görevini yapamadığı, bu nedenle de damar invazyonu ve metastaz riskinde düşüklüğe neden olduğu şeklinde yorum yapıldı.

LN metastazı saptanan grupta (CA)n ortancalarının istatistiksel olarak kontrol grubu ile benzer, LN metastazı saptanmayan gruptan yüksek bulunması ise; genin zaman içinde konak hücreye uyum sağlayarak kendini yenilediği ve CA tekrar sayısını arttırarak metastaz yetisini tekrar kazandığı şeklinde yorumlandı.

Araştırmaların ileriki dönemlerde daha da olgunlaştırılmasıyla CA tekrar bölgesi uzunluğunun, özellikle yapılan preoperatif tetkikler esnasında metastatik lenf nodu izlenmeyen, fakat operasyon sırasında ki lenfatik örneklemelerde metastaz tespit edilen vakalarda cerraha öngörü sağlayabilecek bir marker olabileceği düşünüldü.

7. KAYNAKLAR

1. Hickey, M., et al., *Breast cancer in young women and its impact on reproductive function. Hum Reprod Update*, 2009. **15**(3): p. 323-39.
2. Kirby I.B., S.W.B., Edward M. Copeland, . , ed. *Schwartz's Principles of Surgery Cerrahinin İlkeleri. Meme*, ed. A.D. İ. Ethem Geçim. Vol. chapter 16. 2009, Baskı evi: İstanbul.
3. Yerushalmi, R., M.M. Hayes, and K.A. Gelmon, *Breast carcinoma--rare types: review of the literature. Ann Oncol*, 2009. **20**(11): p. 1763-70.
4. Sayek, İ., ed. *Temel Cerrahi. Meme*, ed. i. sayek. Vol. Kısım 7 2004, Güneş Kitapevi: İstanbul.
5. Miecznikowski, J.C., et al., *Comparative survival analysis of breast cancer microarray studies identifies important prognostic genetic pathways. BMC Cancer*, 2010. **10**: p. 573.
6. Apte, S.S., *A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin-type) with thrombospondin type 1 motif (ADAMTS) superfamily: functions and mechanisms. J Biol Chem*, 2009. **284**(46): p. 31493-7.
7. Somerville, R.P., et al., *Characterization of ADAMTS-9 and ADAMTS-20 as a distinct ADAMTS subfamily related to Caenorhabditis elegans GON-1. J Biol Chem*, 2003. **278**(11): p. 9503-13.
8. Vilar, E. and S.B. Gruber, *Microsatellite instability in colorectal cancer-the stable evidence. Nat Rev Clin Oncol*, 2010. **7**(3): p. 153-62.
9. Rocks, N., et al., *Expression of a disintegrin and metalloprotease (ADAM and ADAMTS) enzymes in human non-small-cell lung carcinomas (NSCLC). Br J Cancer*, 2006. **94**(5): p. 724-30.
10. Eren, N., ed. *Çağlar Boyunca Toplum, Sağlık ve İnsan. Somgür Eğitim Hizmetleri Yayıncılık Ticaret Limited Şirketi*, ed. N. Eren. 1996: Ankara.
11. Kalaycı, G., Acarlı, K., Demirkol, K., Ertekin, C., , ed. *Meme hastalıkları ve tarihçe. Genel Cerrahi (İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları)*, ed. G. Kalaycı. Vol. 1. 2002, Nobel Tıp Kitapevleri: İstanbul. 534-535.
12. Sikora, K., *Genes, dreams, and cancer. BMJ*, 1994. **308**(6938): p. 1217-21.
13. Jatoi, I., Kaufmann, M., Petit, J.Y., ed. *Meme Cerrahisi Atlası. ed. S. Koçak, Özbaş, S. 2010, Probiz Ltd.: İstanbul.*
14. Kalaycı, G., Acarlı, K., Demirkol, K., Ertekin, C., , ed. *Genel Cerrahi Meme hastalıkları ve tarihçe, ed. K. G. Vol. Cilt 1. 2002, Nobel: İstanbul. 534-535.*
15. Lacroix, M., ed. *A Concise History of Breast Cancer. Nineteenth Century, Twentieth Century and Beyond ed. M. Lacroix. Vol. Chapter 3. 2011, Nova Science Publishers: USA.*
16. Vlastos, G., et al., *Breast-conservation therapy in early-stage breast cancer patients with a positive family history. Ann Surg Oncol*, 2002. **9**(9): p. 912-9.
17. Keçer, M., ed. *Meme Kanserinin Tedavisinde Mastektomiler, Endikasyon ve Teknikleri. Meme Kanseri*, ed. E. Topuz. 1997, İstanbul, İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü Yayınları.
18. Blichert-Toft, M., et al., *Long-term results of breast conserving surgery vs. mastectomy for early stage invasive breast cancer: 20-year follow-up of the Danish randomized DBCG-82TM protocol. Acta Oncol*, 2008. **47**(4): p. 672-81.
19. Boring, C.C., T.S. Squires, and T. Tong, *Cancer statistics, 1993. CA Cancer J Clin*, 1993. **43**(1): p. 7-26.
20. Bruce G.Haffty, T.A.B., Carlos A. Perez ed. *Principles and Practice of Radiation Oncology. Early Stage Breast Cancer*, ed. C.A.P. Edward C. Halperin, Luther W. Brady. Vol. Chapter 53. 2008, Lippincott Williams and Wilkins 5. baskı: USA.

21. Greenlee, R.T., et al., *Cancer statistics, 2001*. *CA Cancer J Clin*, 2001. **51**(1): p. 15-36.
22. Chantler, M.L., Jahanzeb, M., , ed. *The Washington manual of Oncology. Breast cancer*, ed. R. Govindon. 2002, Lippincott Williams & Wilkins: USA.
23. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., , , Fourth Edition, ed. *Molecular Biology Of The Cell*. ed. B. Alberts, Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., , , Fourth Edition. 2002, Oxford: USA.
24. Strachan, T., Read, A. P., 2, 2nd Edition, Garland Science, , , ed. *Human Molecular Genetics 2* ed. T. Strachan, Read. 1999, , BIOS Scientific Publishers: USA.
25. Kenemans, P., R.A. Verstraeten, and R.H. Verheijen, *Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer*. *Maturitas*, 2004. **49**(1): p. 34-43.
26. Spratt, J.S. and S.W. Spratt, *Medical and legal implications of screening and follow-up procedures for breast cancer*. *Cancer*, 1990. **66**(6 Suppl): p. 1351-62.
27. Skrabanek, P., *False premises and false promises of breast cancer screening*. *Lancet*, 1985. **2**(8450): p. 316-20.
28. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, *Hallmarks of cancer: the next generation*. *Cell*, 2011. **144**(5): p. 646-74.
29. Saphir, O., Parker, Morris L., *Metastasis of Primary Carcinoma of the Breast with Special Reference to Spleen, Adrenal Glands and Ovaries*. *Archives of Surgery*, 1941. **42**: p. 6.
30. Warren, S., *The Angle of the Mitotic Spindles in Malignant Cells*. *Am J Pathol*, 1933. **9**(Suppl): p. 781-788 3.
31. Iglehart, J., Kaelin, CM., *Diseases of the Breast*. , ed. *Sabiston Textbook of Surgery*. ed. C. Townsend, Beauchamp, RD., Evers, BM., Mattox, W.B. 2001, W.B. Saunders Company: Philadelphia, USA.
32. Spratt, J.S. and W.L. Donegan, *Cancer of the breast. Surgical management*. *Major Probl Clin Surg*, 1979. **5**: p. 302-49.
33. Nemoto, T., et al., *Breast cancer in the medial half. Results of 1978 National Survey of the American College of Surgeons*. *Cancer*, 1983. **51**(8): p. 1333-8.
34. Fisher, B., et al., *Location of breast carcinoma and prognosis*. *Surg Gynecol Obstet*, 1969. **129**(4): p. 705-16.
35. Crowe, J.P., Jr., et al., *Primary tumor size. Relevance to breast cancer survival*. *Arch Surg*, 1992. **127**(8): p. 910-5; discussion 915-6.
36. Singletary, S.E., et al., *Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer*. *J Clin Oncol*, 2002. **20**(17): p. 3628-36.
37. Gajdos, C., Tartter, Pl., Bleiweiss, IJ., *Lymphatic Invasion, Tumor Size, and Age Are Independent Predictors of Axillary Lymph Node Metastases in Women With T1 Breast Cancers*. *Annals of Surgery*, 1999. **230**: p. 5.
38. Haagensen C., ed. *Breast Cancer Research and Treatment*. ed. M.E. Lippman. 1986, Springer Science + Business Media: USA.
39. Tannock, I.F. and D. Belanger, *Use of a physician-directed questionnaire to define a consensus about management of breast cancer: implications for assessing costs and benefits of treatment*. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 1992(11): p. 137-42.
40. Basro, S. and J.P. Apffelstaedt, *Breast cancer in young women in a limited-resource environment*. *World J Surg*, 2010. **34**(7): p. 1427-33.
41. Nixon, A.J., et al., *Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer*. *J Clin Oncol*, 1994. **12**(5): p. 888-94.
42. Bland, K., Copeland, EM., . Second edition. 1998, ed. *The breast comprehensive management of benign and malignant diseases*. ed. W. Sanford H.B., J., Gradishar, AR., Marshall MU.,. Vol. 2. 1992, W B Saunders: USA.

43. Albain, K.S., D.C. Allred, and G.M. Clark, *Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials?* *J Natl Cancer Inst Monogr*, 1994(16): p. 35-42.
44. Kalache, A., et al., *Oral contraceptives and breast cancer.* *Br J Hosp Med*, 1983. **30**(4): p. 278-83.
45. Gnerlich, J.L., et al., *Poorer Survival Outcomes for Male Breast Cancer Compared with Female Breast Cancer May Be Attributable to In-Stage Migration.* *Ann Surg Oncol*, 2010.
46. Ekbom, A., et al., *Intrauterine environment and breast cancer risk in women: a population-based study.* *J Natl Cancer Inst*, 1997. **89**(1): p. 71-6.
47. Rebbeck, T.R. and S.M. Domchek, *Variation in breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers.* *Breast Cancer Res*, 2008. **10**(4): p. 108.
48. Kauff, N.D., et al., *Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1- and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study.* *J Clin Oncol*, 2008. **26**(8): p. 1331-7.
49. Melbye, M., et al., *Induced abortion and the risk of breast cancer.* *N Engl J Med*, 1997. **336**(2): p. 81-5.
50. Shapiro, S., et al., *Does hormone replacement therapy cause breast cancer? An application of causal principles to three studies: Part 1. The Collaborative Reanalysis.* *J Fam Plann Reprod Health Care*, 2011. **37**(2): p. 103-9.
51. Lee, S.H., et al., *Androgen imbalance in premenopausal women with benign breast disease and breast cancer.* *Clin Biochem*, 1999. **32**(5): p. 375-80.
52. Bartow, S.A., et al., *Prevalence of benign, atypical, and malignant breast lesions in populations at different risk for breast cancer. A forensic autopsy study.* *Cancer*, 1987. **60**(11): p. 2751-60.
53. Singletary, K.W. and S.M. Gapstur, *Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms.* *JAMA*, 2001. **286**(17): p. 2143-51.
54. Hankinson, S.E., et al., *Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer.* *Lancet*, 1998. **351**(9113): p. 1393-6.
55. Thune, I. and A.S. Furberg, *Physical activity and cancer risk: dose-response and cancer, all sites and site-specific.* *Med Sci Sports Exerc*, 2001. **33**(6 Suppl): p. S530-50; discussion S609-10.
56. Evans, J.S., J.E. Wennberg, and B.J. McNeil, *The influence of diagnostic radiography on the incidence of breast cancer and leukemia.* *N Engl J Med*, 1986. **315**(13): p. 810-5.
57. Boyd, N.F., et al., *Heritability of mammographic density, a risk factor for breast cancer.* *N Engl J Med*, 2002. **347**(12): p. 886-94.
58. Miki, Y., et al., *A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1.* *Science*, 1994. **266**(5182): p. 66-71.
59. Davidoff, A.M., et al., *Maintenance of p53 alterations throughout breast cancer progression.* *Cancer Res*, 1991. **51**(10): p. 2605-10.
60. İlvan, Ş., , , , p, ed. *Meme karsinomu patolojisi.* ed. F. Gürdol, Ademoğlu, E.,. 2006, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri: İstanbul. 65-71.
61. McDivitt, R., ed. *Atlas of Tumor Pathology. Tumors of the breast*, ed. R. McDivitt. Vol. Series 2, . 1968, Armed Forces Institute of Patology: Washington, USA.
62. Davis, B.W., et al., *Prognostic significance of peritumoral vessel invasion in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer with axillary lymph node metastasis.* *Hum Pathol*, 1985. **16**(12): p. 1212-8.
63. Maiolino, P., et al., *Correlation of nuclear morphometric features with animal and human World Health Organization International Histological Classifications of canine spontaneous seminomas.* *Vet Pathol*, 2004. **41**(6): p. 608-11.

64. Rosen, P., ed. *Breast Pathology. Invasive lobular carcinoma*, ed. K. Donnellan. 2001, Williams & Wilkins: Philadelphia, USA.
65. Tavassoli, F.A. and H.J. Norris, *Secretary carcinoma of the breast*. *Cancer*, 1980. **45**(9): p. 2404-13.
66. Anderson, T.J., et al., *Comparative pathology of breast cancer in a randomised trial of screening*. *Br J Cancer*, 1991. **64**(1): p. 108-13.
67. Rapin, V., et al., *Medullary breast carcinoma. A reevaluation of 95 cases of breast cancer with inflammatory stroma*. *Cancer*, 1988. **61**(12): p. 2503-10.
68. Rigaud, C., et al., *Medullary carcinoma of the breast. A multicenter study of its diagnostic consistency*. *Arch Pathol Lab Med*, 1993. **117**(10): p. 1005-8.
69. Fisher, E.R., et al., *Medullary cancer of the breast revisited*. *Breast Cancer Res Treat*, 1990. **16**(3): p. 215-29.
70. Sakorafas, G.H., et al., *Paget's disease of the breast*. *Cancer Treat Rev*, 2001. **27**(1): p. 9-18.
71. Bijker, N., et al., *Breast-conserving therapy for Paget disease of the nipple: a prospective European Organization for Research and Treatment of Cancer study of 61 patients*. *Cancer*, 2001. **91**(3): p. 472-7.
72. Vrieling C, C.L., Fourquet A, Hoogenraad WJ, Horiot JC, Jager JJ, Bing Oei S, Peterse HL, Pierart M, Poortmans PM, Struikmans H, Van den Bogaert W, Bartelink H; , Breast Cancer Groups., *Can patient-, treatment- and pathology-related characteristics explain the high local recurrence rate following breast-conserving therapy in young patients?* *European Journal of Cancer*, 2003. **39**(7): p. 932-944.
73. Kroman, N., et al., *Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study*. *BMJ*, 2000. **320**(7233): p. 474-8.
74. de la Rochefordiere, A., et al., *Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma*. *Lancet*, 1993. **341**(8852): p. 1039-43.
75. Bollet, M.A., et al., *Age remains the first prognostic factor for loco-regional breast cancer recurrence in young (<40 years) women treated with breast conserving surgery first*. *Radiother Oncol*, 2007. **82**(3): p. 272-80.
76. Joensuu, H., S. Toikkanen, and P.J. Klemi, *DNA index and S-phase fraction and their combination as prognostic factors in operable ductal breast carcinoma*. *Cancer*, 1990. **66**(2): p. 331-40.
77. Silverstein, M.J., et al., *Predicting axillary node positivity in patients with invasive carcinoma of the breast by using a combination of T category and palpability*. *J Am Coll Surg*, 1995. **180**(6): p. 700-4.
78. Silverstein, M.J., et al., *Axillary lymph node dissection for T1a breast carcinoma. Is it indicated?* *Cancer*, 1994. **73**(3): p. 664-7.
79. Narod, S.A., *Age of diagnosis, tumor size, and survival after breast cancer: implications for mammographic screening*. *Breast Cancer Res Treat*, 2011.
80. Matthiew, M., Friedman, S., *Topographic criteria in the diagnosis of tumor emboli in intramammary lymphatics*. *Cancer*, 1990. **66**: p. 972-977.
81. Nime, F., Rosen, PP., Thaler, H., Ashikari, R., Urban, J., *Prognostic significance of tumor emboli in intramammary lymphatics in patients with mammary carcinoma*. *American Journal of Surgical Pathology*, 1997. **1**(1): p. 25-30.
82. Wasuthit, Y., et al., *Predictive factors of axillary lymph node metastasis in breast cancer*. *J Med Assoc Thai*, 2011. **94**(1): p. 65-70.
83. Kiricuta, C.I. and J. Tausch, *A mathematical model of axillary lymph node involvement based on 1446 complete axillary dissections in patients with breast carcinoma*. *Cancer*, 1992. **69**(10): p. 2496-501.

84. Mathiesen, O., et al., Axillary sampling and the risk of erroneous staging of breast cancer. An analysis of 960 consecutive patients. *Acta Oncol*, 1990. **29**(6): p. 721-5.
85. Fisher, B., N.H. Slack, and I.D. Bross, Cancer of the breast: size of neoplasm and prognosis. *Cancer*, 1969. **24**(5): p. 1071-80.
86. Veronesi, U., et al., Prognosis of breast cancer patients after mastectomy and dissection of internal mammary nodes. *Ann Surg*, 1985. **202**(6): p. 702-7.
87. Mirza, N.Q., et al., Predictors of locoregional recurrence among patients with early-stage breast cancer treated with breast-conserving therapy. *Ann Surg Oncol*, 2002. **9**(3): p. 256-65.
88. Fisher, B. and N.H. Slack, Number of lymph nodes examined and the prognosis of breast carcinoma. *Surg Gynecol Obstet*, 1970. **131**(1): p. 79-88.
89. Fisher, B., et al., The accuracy of clinical nodal staging and of limited axillary dissection as a determinant of histologic nodal status in carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet*, 1981. **152**(6): p. 765-72.
90. Albertini, J.J., et al., Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *JAMA*, 1996. **276**(22): p. 1818-22.
91. Carter, C.L., C. Allen, and D.E. Henson, Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*, 1989. **63**(1): p. 181-7.
92. Clemente, C.G., et al., Peritumoral lymphatic invasion in patients with node-negative mammary duct carcinoma. *Cancer*, 1992. **69**(6): p. 1396-403.
93. Gogo-Abite, M. and S.O. Nwosu, Histopathological characteristics of female breast carcinomas seen at the University of Port Harcourt Teaching Hospital, Port Harcourt Nigeria. *Niger J Med*, 2005. **14**(1): p. 72-6.
94. Elston, C.W. and I.O. Ellis, Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 1991. **19**(5): p. 403-10.
95. Gilchrist, K.W., et al., Tumor necrosis is a prognostic predictor for early recurrence and death in lymph node-positive breast cancer: a 10-year follow-up study of 728 Eastern Cooperative Oncology Group patients. *J Clin Oncol*, 1993. **11**(10): p. 1929-35.
96. Jimenez, R.E., T. Wallis, and D.W. Visscher, Centrally necrotizing carcinomas of the breast: a distinct histologic subtype with aggressive clinical behavior. *Am J Surg Pathol*, 2001. **25**(3): p. 331-7.
97. Wertheim, U. and L. Ozzello, Neoplastic involvement of nipple and skin flap in carcinoma of the breast. *Am J Surg Pathol*, 1980. **4**(6): p. 543-9.
98. Giri, D.D., et al., Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraduct carcinomas of the breast: an immunohistological study. *Histopathology*, 1989. **15**(6): p. 575-84.
99. Tavassoli, F., ed. *Pathology of the Breast*. 2, ed. F. Tavassoli. 1999, Copyrighted Material: Washington, USA.
100. Jakesz, R., et al., [Tumor histology and steroid receptors in breast carcinoma]. *Onkologie*, 1981. **4**(2): p. 73-8.
101. Slamon, D.J., et al., Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*, 1989. **244**(4905): p. 707-12.
102. Thorpe, S.M., et al., Short recurrence-free survival associated with high oestrogen receptor levels in the natural history of postmenopausal, primary breast cancer. *Eur J Cancer*, 1993. **29A**(7): p. 971-7.
103. Rody, A., et al., Estrogen receptor alpha and beta, progesterone receptor, pS2 and HER-2/neu expression delineate different subgroups in ductal carcinoma in situ of the breast. *Oncol Rep*, 2004. **12**(4): p. 695-9.

104. Gabai, V.L., et al., Heat shock protein Hsp72 controls oncogene-induced senescence pathways in cancer cells. *Mol Cell Biol*, 2009. **29**(2): p. 559-69.
105. Paik, S., et al., *erbB-2* and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 1998. **90**(18): p. 1361-70.
106. Reed, W., et al., The prognostic value of p53 and c-erb B-2 immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 613 patients with a follow-up of 14-30 years. *Cancer*, 2000. **88**(4): p. 804-13.
107. Haffty, B.G., et al., Evaluation of HER-2 neu oncoprotein expression as a prognostic indicator of local recurrence in conservatively treated breast cancer: a case-control study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996. **35**(4): p. 751-7.
108. Slamon, D.J., et al., Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, 1987. **235**(4785): p. 177-82.
109. Yamauchi, H., V. Stearns, and D.F. Hayes, When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol*, 2001. **19**(8): p. 2334-56.
110. Ravdin, P.M., Is Her2 of value in identifying patients who particularly benefit from anthracyclines during adjuvant therapy? A qualified yes. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2001(30): p. 80-4.
111. Lo, P.H., et al., Extracellular protease ADAMTS9 suppresses esophageal and nasopharyngeal carcinoma tumor formation by inhibiting angiogenesis. *Cancer Res*, 2010. **70**(13): p. 5567-76.
112. Koo, B.H., et al., ADAMTS9 is a cell-autonomously acting, anti-angiogenic metalloprotease expressed by microvascular endothelial cells. *Am J Pathol*, 2010. **176**(3): p. 1494-504.
113. Keyomarsi, K., et al., Cyclin E and survival in patients with breast cancer. *N Engl J Med*, 2002. **347**(20): p. 1566-75.
114. Look, M.P., et al., Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst*, 2002. **94**(2): p. 116-28.
115. Harbeck, N., et al., Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (n = 3424). *Cancer Res*, 2002. **62**(16): p. 4617-22.
116. Bijker, N., et al., Breast-conserving treatment with or without radiotherapy in ductal carcinoma-in-situ: ten-year results of European Organisation for Research and Treatment of Cancer randomized phase III trial 10853--a study by the EORTC Breast Cancer Cooperative Group and EORTC Radiotherapy Group. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(21): p. 3381-7.
117. Kuno, K., et al., Molecular cloning of a gene encoding a new type of metalloproteinase-disintegrin family protein with thrombospondin motifs as an inflammation associated gene. *J Biol Chem*, 1997. **272**(1): p. 556-62.
118. Nicholson, A.C., et al., Functional evolution of ADAMTS genes: evidence from analyses of phylogeny and gene organization. *BMC Evol Biol*, 2005. **5**: p. 11.
119. Jones, G.C. and G.P. Riley, ADAMTS proteinases: a multi-domain, multi-functional family with roles in extracellular matrix turnover and arthritis. *Arthritis Res Ther*, 2005. **7**(4): p. 160-9.

120. Demircan, K., et al., ADAMTS-9 is synergistically induced by interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha in OUMS-27 chondrosarcoma cells and in human chondrocytes. *Arthritis Rheum*, 2005. **52**(5): p. 1451-60.
121. Turner, N.A., et al., Endothelial cell ADAMTS-13 and VWF: production, release, and VWF string cleavage. *Blood*, 2009. **114**(24): p. 5102-11.
122. Wang, P., et al., Proprotein convertase furin interacts with and cleaves pro-ADAMTS4 (Aggrecanase-1) in the trans-Golgi network. *J Biol Chem*, 2004. **279**(15): p. 15434-40.
123. van der Jagt, M.F., et al., Metalloproteinases and their regulators in colorectal cancer. *J Surg Oncol*, 2010. **101**(3): p. 259-69.
124. Lee, Y.J., et al., Variable inhibition of thrombospondin 1 against liver and lung metastases through differential activation of metalloproteinase ADAMTS1. *Cancer Res*, 2010. **70**(3): p. 948-56.
125. Liu, C.J., The role of ADAMTS-7 and ADAMTS-12 in the pathogenesis of arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2009. **5**(1): p. 38-45.
126. Lung, H.L., et al., Characterization of a novel epigenetically-silenced, growth-suppressive gene, ADAMTS9, and its association with lymph node metastases in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*, 2008. **123**(2): p. 401-8.
127. Clark, M.E., et al., ADAMTS9, a novel member of the ADAM-TS/ metallospodin gene family. *Genomics*, 2000. **67**(3): p. 343-50.
128. Bloom, H.J., *The Natural History of Untreated Breast Cancer*. *Ann N Y Acad Sci*, 1964. **114**: p. 747-54.
129. Wagstaff, L., et al., The roles of ADAMTS metalloproteinases in tumorigenesis and metastasis. *Front Biosci*, 2011. **16**: p. 1861-72.
130. Vilorio, C.G., et al., Genetic inactivation of ADAMTS15 metalloprotease in human colorectal cancer. *Cancer Res*, 2009. **69**(11): p. 4926-34.
131. Lo, P.H., et al., Identification of a tumor suppressive critical region mapping to 3p14.2 in esophageal squamous cell carcinoma and studies of a candidate tumor suppressor gene, ADAMTS9. *Oncogene*, 2007. **26**(1): p. 148-57.
132. Zhang, C., et al., High-resolution melting analysis of ADAMTS9 methylation levels in gastric, colorectal, and pancreatic cancers. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010. **196**(1): p. 38-44.
133. Apte, S.S., A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motifs: the ADAMTS family. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004. **36**(6): p. 981-5.
134. Demircan, K., et al., Increased mRNA expression of ADAMTS metalloproteinases in metastatic foci of head and neck cancer. *Head Neck*, 2009. **31**(6): p. 793-801.
135. Porter, S., et al., Dysregulated expression of adamalysin-thrombospondin genes in human breast carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2004. **10**(7): p. 2429-40.
136. Porter, S., et al., ADAMTS8 and ADAMTS15 expression predicts survival in human breast carcinoma. *Int J Cancer*, 2006. **118**(5): p. 1241-7.
137. Shimajiri, S., et al., Shortened microsatellite d(CA)21 sequence down-regulates promoter activity of matrix metalloproteinase 9 gene. *FEBS Lett*, 1999. **455**(1-2): p. 70-4.
138. Javadi, M., S. Hematti, and M. Tavassoli, Polymorphic CA repeat length in insulin-like growth factor 1 and risk of breast cancer in Iranian women. *Med Oncol*, 2011.
139. Zaremba, T., et al., Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) pharmacogenetics, activity and expression analysis in cancer patients and healthy volunteers. *Biochem J*, 2011.
140. Masutani, M., H. Nakagama, and T. Sugimura, Poly(ADP-ribosyl)ation in relation to cancer and autoimmune disease. *Cell Mol Life Sci*, 2005. **62**(7-8): p. 769-83.

141. Walsh, L.A. and S. Damjanovski, IGF-1 increases invasive potential of MCF 7 breast cancer cells and induces activation of latent TGF-beta1 resulting in epithelial to mesenchymal transition. *Cell Commun Signal*, 2011. **9**(1): p. 10.
142. Wang, B., et al., Dinucleotide repeats negatively modulate the promoter activity of Cyr61 and is unstable in hepatocellular carcinoma patients. *Oncogene*, 2005. **24**(24): p. 3999-4008.
143. Fleming, I.D., J.L. Phillips, and H.R. Menck, The National Cancer Data Base report on completeness of American Joint Committee on Cancer staging in United States cancer facilities. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. *Cancer*, 1996. **78**(7): p. 1498-504.
144. Jorissen, R.N., et al., Metastasis-Associated Gene Expression Changes Predict Poor Outcomes in Patients with Dukes Stage B and C Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res*, 2009. **15**(24): p. 7642-7651.
145. Holleccek, B., et al., Trends in breast cancer survival in Germany from 1976 to 2008-A period analysis by age and stage. *Cancer Epidemiol*, 2011.
146. Mook, S., et al., Independent prognostic value of screen detection in invasive breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2011. **103**(7): p. 585-97.
147. Kravchenko, J., et al., Breast cancer as heterogeneous disease: contributing factors and carcinogenesis mechanisms. *Breast Cancer Res Treat*, 2011.
148. Brenin, D.R., et al., Factors correlating with lymph node metastases in patients with T1 breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 2001. **8**(5): p. 432-7.
149. Clark, G.M. and W.L. McGuire, Follow-up study of HER-2/neu amplification in primary breast cancer. *Cancer Res*, 1991. **51**(3): p. 944-8.
150. Seshadri, R., et al., Clinical significance of HER-2/neu oncogene amplification in primary breast cancer. The South Australian Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol*, 1993. **11**(10): p. 1936-42.
151. Turner, S.L., M.E. Blair-Zajdel, and R.A. Bunning, ADAMs and ADAMTSs in cancer. *Br J Biomed Sci*, 2009. **66**(2): p. 117-28.
152. Liu, Y.J., Y. Xu, and Q. Yu, Full-length ADAMTS-1 and the ADAMTS-1 fragments display pro- and antimetastatic activity, respectively. *Oncogene*, 2006. **25**(17): p. 2452-67.
153. Llamazares, M., et al., The ADAMTS12 metalloproteinase exhibits anti-tumorigenic properties through modulation of the Ras-dependent ERK signalling pathway. *J Cell Sci*, 2007. **120**(Pt 20): p. 3544-52.