



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

İNVAZİV MEME KARSİNOMA TANILI OLGULARDA BRCA 1 EKSPRESYONU VE
KLİNİKOPATOLOJİK PROGNOSTİK BELİRTEÇLERLE OLAN İLİŞKİSİ

Dr. Fatma YILMAZ ERTÜRK

UZMANLIK TEZİ

Bursa - 2014



T.C
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNVAZİV MEME KARSİNOMA TANILI OLGULARDA BRCA 1 EKSPRESYONU VE
KLİNİKOPATOLOJİK PROGNOZİK BELİRTEÇLERLE OLAN İLİŞKİSİ**

Dr. Fatma YILMAZ ERTÜRK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Şahsine TOLUNAY

Bursa - 2014

İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Embriyoloji, Histoloji ve Anatomi	1
Meme Kanserinde Etyoloji ve Patogenez.....	8
Meme Kanserinde Klinikopatolojik Özellikler.....	18
Gereç ve Yöntem.....	28
Bulgular.....	36
Tartışma ve Sonuç.....	56
Kaynaklar.....	64
Teşekkür	72
Özgeçmiş	73

ÖZET

Çalışmamızın amacı meme kanseri olgularında immünohistokimyasal olarak BRCA 1'in ekspresyon özelliklerini değerlendirip, bu özelliklerin genetik olarak saptanan BRCA1 mutasyonları ve prognostik parametrelerle olan ilişkilerini incelemektir.

2008-2010 yılları arasında invaziv meme karsinomu tanısı almış 99 olgu belirlenerek, olguların klinikopatolojik verileri elektronik ortamdaki hasta dosyalarından kaydedildi. Olgularda bulunan BRCA1 gen mutasyonları ve bunlara ait bilgiler Tıbbi Biyoloji bölümünden alındı. İmmünohistokimyasal olarak Östrojen Reseptörü (ER), Progesteron Reseptörü (PR) BRCA1, HER2/*neu*, Ki67 boyası yapılan olguların ekspresyon özellikleri değerlendirildi.

Hastaların yaş ortalaması 53.03 ± 13.42 (29-82)'dir. Tümör çapının 2 cm'nin altında olması ile total sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0.03$). Uzak organ metastazı ile total sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p<0.001$). Ki67 proliferatif aktivite indeksinin yüksekliği ile sağkalım süresinin kısalması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. İmmünohistokimyasal olarak BRCA1 bazı oldulara sitoplazmada bazı olgularda nükleusta eksprese edilmekteydi. İmmünohistokimyasal olarak BRCA1 sitoplazmik veya nükleer boyanması ile derece, tümör çapı, lenf nodülü metastazı, uzak organ metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Ayrıca BRCA1 gen mutasyonu ile immünohistokimyasal olarak BRCA1 sitoplazmik veya nükleer boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Sonuç olarak immünohistokimyasal olarak BRCA1 ekspresyonu ile prognostik parametreler ve total sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Daha geniş, daha homojen olgu serilerinde yapılan çalışmalar ile farklı sonuçlar elde edilebileceği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: BRCA1, immünohistokimya, gen mutasyonu, meme.

SUMMARY

BRCA1 Expression in Patients Diagnosed with Invasive Breast Carcinoma and Its Relation Between Clinicopathological Prognostic Markers

The aim of this study is to evaluate expression profile of BRCA1 with immunohistochemistry methods and to determine its relation between BRCA1 gene mutation and prognostic parameters.

Between the years 2008-2010 99 patients with a diagnosis of invasive breast carcinoma are studied and their clinicoopathological datas are recorded from the electronic patient files. BRCA1 gene mutations found in patients and their information was learned from the Department of Medical Biology. Immunohistochemical expression characteristics of estrogen reseptor (ER), progesterone reseptor (PR), BRCA1, HER2/*neu*, Ki67 were evaluated.

The mean age of the patients was 53.03 ± 13.42 . There is statistically significant relationship between tumor diameter below 2 cm and the overall survival ($p = 0.03$). There is statistically significant relationship between distant metastases and overall survival ($p < 0.001$). There is statistically significant relationship between high Ki67 proliferative activity index and decreased overall survival. Immunohistochemistrically BRCA1 expression was detected in nucleus or in the cytoplasm. But there is no statistically significant relationship between tumour size, grade, lymph node metastasis, distant metastases. Also there is no statistically significant relationship between BRCA1 gene mutation and immunohistochemical cytoplasmic or nuclear BRCA1 expression.

In conclusion there is no statistically significant relationship between immunohistochemistrically nuclear or cytoplasmic BRCA1 expression and prognostic parameters, overall survival. Studies with larger, more homogeneous case series are considered to obtain different results.

Key words: BRCA1, immunohistochemistry, gene mutations, breast.

GİRİŞ

Meme kanseri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde oldukça sık görülür. İnsanlarda, akciğer kanserinden sonra en sık görülen kanser meme kanseridir. Kadınlarda ise, meme kanseri en sık görülen kanser tipi iken, yine kadınlarda kansere bağlı ölümlerin en sık nedenidir. Her yıl 1.200.000 kadın meme kanserine yakalanmakta ve bu kadınların 300.000'e yakını bu hastalıktan hayatını kaybetmektedir. Türkiye'de Sağlık Bakanlığı'nın kanser ile ilgili verilerine bakıldığında; 2004 yılında meme kanseri insidansı 100000'de 34.7 iken, 2011 yılında bu oranın 100000'de 45.1'e çıktığı bildirilmiştir (1-3).

Birçok etmen meme kanseri gelişiminde rol oynamaktadır. Meme kanseri gelişiminde rol oynayan başlıca etmenler yaşam tarzı (beslenme, fiziksel aktivite, alkol kullanımı, sigara alışkanlığı, vücut ağırlığı), hormonal durum, coğrafi konum, genetik ve ailesel öykü ile bazı ajanlara (egzojen hormonlar, radyasyon) maruziyettir (4).

I. Embriyoloji, Histoloji, Anatomi

I.A. Embriyoloji

Embriyonal hayatın 6. haftasında, embriyonun üzerinde, aksilladan inguinal bölgeye, bir hat şeklinde olan ektodermal kalınlaşma süt çizgisini oluşturur. Süt çizgisinin pektoral bölgedeki 1/3'lük parçasının orta kısmı daha belirgin bir şekil alarak memenin ilk taslağını oluşturur; süt çizgisinin 2/3' lük kısmı embriyonal hayatın 9. haftasında atrofiye olarak kaybolur (5, 6).

Bu pektoral ektodermal kalınlaşma gelişmesine devam ederken, diğer taraftan da meme taslağı derine doğru, göğüs duvarı ve mezenkimine invajine olur ve epitelial tomurcuklar gelişir. Sayıları yaklaşık 15-25 kadar olan bu sekonder solid yapılar, fetal hayatın 4. ayında oluşan ve yüzeyden derine doğru radial bir şekilde dağılan uzantılardır. Gebeliğin son üç ayında plasentaya ait seks hormonları fetal dolaşıma girerler ve bu dallanmış

epitelial dokuların kanalize olmasını sağlarlar. Kanalize olan bu dallanmış epitelyal dokular memenin ana duktal sistemini oluştururlar. Zamanla bunların da sekonder olarak dallanması sonucu küçük duktus ve asiniler ortaya çıkar. Doğuma yakın ana kanallar ile bunların büyük dallarının geliştiği gözlenir. Parenkimal differensiasyon gebeliğin 32 ile 40. haftalarında lobülo-alveoler yapıların gelişmesiyle oluşur. Ayrıca meme glandı kitlesi dört katına çıkar ve meme başı areola kompleksi gelişir. Yeni doğanda uyarılan meme dokusu kolostrum salgılar ve bu salgı plasental hormonların ortadan kalkmasından sonra, memenin involusyonu sonucu 3-4 hafta içinde kesilir. İntrauterin erken dönemlerde memenin büyümesi seks steroid hormonlarından bağımsızdır; 15. haftada meme dokusu testesterona duyarlıdır. Testesteronun mezenkimal komponentin gelişmesinde etkili olduğu düşünülmektedir (6- 8).

I.B. Histoloji

Meme ileri derecede özelleşmiş birleşik tubuloalveoler yapıda bir ter bezidir. Meme başından 6-10 ana duktus sistemi köken alır. Deriyi örten çok katlı yassı epitel ana duktusların dışarıya açılma yerinde devam eder. Genellikle duktus açıklığında küçük bir keratin tıkaç bulunur. Ana duktusların dışarıya açılma yerinin proksimalinde (ekstralobuler) laktiferöz kanal ve laktiferöz sinus çok katlı kübik epitel ile döşelidir. Ana duktusların intralobuler kısmı çift sıralı küboidal epitel ile döşelidir. Ana duktusların birbirini izleyen dallanmaları ile sonunda terminal duktal lobüler üniteye ulaşılır. Erişkin kadınlarda terminal duktus bir lobülü oluşturmak için küçük asinüslerden üzüm salkımı şeklinde bir kümeye tomurcuklanır. Terminal duktulobuler üniteye içte sekresyon ve absorpsiyon özelliği olan kübik veya kolumnar epitel ve bunun çevresinde duktusun uzun eksenine paralel uzanan myoepitelyal hücreler bulunur. Myoepitelyal hücreler, miyofilamentler içeren kasılabilen hücrelerdir ve alçak, yassı, aralıklı bir tabakası bazal membran üzerinde bulunur. Bu hücreler laktasyon sırasında süt ejeksiyonuna yardım ederler ve bazal membran ile lobülün normal yapısının ve fonksiyonunun korunmasında önemli role sahiptirler (9). Her duktal sistem tipik olarak memenin 1/4'ünden fazlasını işgal eder ve sistemler geniş ölçüde bir diğeri

ile örtüşürler. Bazı kadınlarda duktuslar göğüs duvarının subkutan dokusuna ve aksillaya yayılırlar (10). Lüminal ve miyoepitelyal hücreler terminal duktustaki kök hücreden köken alırlar (11). Meme stromasının büyük bir bölümü yağ dokusu ile karışık yoğun fibröz bir bağ dokusundan oluşur (interlobüler stroma). Lobüller ise memeye spesifik hormona duyarlı, ince, miksomatöz, seyrek lenfosit içeren bir stroma ile çevrilidirler (intralobüler stroma) (10).

I.B.a. Adolesan Memesi

Kadında ve erkekte prepubertal meme büyük duktus sisteminin minimal lobül oluşumu gösteren terminal duktuslardaki sonlanmalarından meydana gelir. Kadında menarşın başlamasıyla terminal duktuslar lobülleri meydana getirir ve interlobuler stromanın hacmi artar (10). Yağ dokusu azdır ve bu nedenle meme radyodens görünür. Her menstruel siklusta endometriyumun kalınlaşması ve dökülmesi gibi meme de büyür ve küçülür (12).

I.B.b. Menstruel Siklusta Meme

Östrojen reseptörleri (ER) ve progesterone reseptörleri (PR) memede hem duktal hem de lobuler epitelde dağılmışlardır Menstrüel siklusun ilk yarısında yani foliküler fazda lobüller dinlenmededir. Ovulasyondan sonra östrojen ve yükselen progesteron düzeyleri ile hücre proliferasyonu artar ve böylece her lobüldeki asinüslerin sayısı da artar. Epitel hücrelerinde vakuolizasyon ve intralobüler stromada belirgin ödem oluşur. Östrojen ve progesteronun birlikte uyarıcı etkisi siklusun premenstrüel fazında kadınlarda memelerde dolgunluk hissine yol açar. Menstruasyon olduğunda östrojen ve progesteron düzeylerininin düşüşünü epitelyal hücrelerin apoptozu, stromal ödemin kaybı ve lobülün boyutunda azalma izler (10).

I.B.c. Erişkin Memesi

Üçüncü dekattan sonra ve menapozdan önce lobüller ve özelleşmiş stroma involusyona başlar. İlerlemiş yaşta erkek memesine benzer olarak sadece duktuslar kalacak şekilde lobüller tamamen kaybolabilir. Ancak birçok kadında surrenal kökenli veya yağ dokusu depolarından kaynaklanan yeterli östrojenik uyarı ile kadın memesini erkek memesinden ayıran lobüller

kalıntılar korunur. Genç kadın memesindeki radyodens fibröz interlobüler stroma yerini radyolusen yağ dokusuna bırakır (10).

I.B.d.Meme Başı ve Areola Kompleksi

Meme başı ve areola kompleksi çok katlı keratinize stratifiye epitelle çevrilidir ve çok katlı yassı epitel laktiferöz duktusun terminal porsiyonuna kadar uzanır. Meme başı ve areoladaki epidermis, arada sitolojik olarak benign berrak hücreler içerir. Bu hücrelerin Paget hastalığı ile karıştırılmaması gerekir. Meme başı ve areola kompleksi sirküler bir organdır. Meme başı ve areola kompleksinde pigmentasyonda artış ve çok sayıda sinir sonlanması izlenir. Meme başı bu alanın sentralinde yerleşmiştir. Areola yüzeyinde Montgomery Tüberkülü denilen yuvarlak-küçük, elevasyon gösteren alanlar mevcuttur. Meme başı ve areola kompleksi pilosebace ünit ve kıl içermez ancak dermiste apokrin ter bezleri bulunabilir (6, 13- 15).

I.C. Anatomi

I.C.a. Memenin Arterleri

Meme kanlanması iyi olan ve bir çok kaynaktan beslenen bir organdır. Memenin kanlanmasını sağlayan arterler ve bunların dalları şunlardır (16-18).

- 1.İnternal mamarien arterin ön perforan dalları
- 2.Lateral torasik arter (Eksternal meme arteri)
- 3.Torako akromial arterin pektoral dalı
- 4.En üst torasik arter (Supreme torasik arter)
- 5.Posterior interkostal arterlerin lateral dalları
- 6.Subskapuler arter
- 7.Torakodorsal arter.

I.C.b. Memenin Venleri

Memenin venleri, meme arterlerinin dağılımına uymakta ve onlara eşlik etmektedir. Meme venlerinin dağılımı ve özellikle yaptıkları anastomozlar metastatik karsinom embolilerinin de yolculuğunu dolayısıyla da meme kanserinin en sık metastaz yaptığı uzak organları belirler (17, 19).

Buna göre:

- 1.İnternal mamarian ven → İnnominate ven→ V.C.S (Vena Cava Sup.) → Akciğer Kapiller Ağı
- 2.Aksiller ven → İnnominate ven → V.C.S. → Akciğer kapiller ağı
- 3.İnterkostal venler → Azygos venleri→ V.C.S. → Akciğer Kapiller Ağı
- 4.İnterkostal venler → Vertebral venöz pleksuslar → Vertebra metastazları

Batson teorisine göre kaydedilen bu son ilişki sonucunda; içinde kapakçık olmayan venöz sistemde basıncın da düşük olması nedeniyle kolayca retrograd kan akımı oluşur. Böylece venöz dolaşıma geçen metastaz yapabilme kabiliyetindeki tumor hücreleri vertebralarda retrograd olarak metastaza neden olabilirler (20).

I.C.c. Memenin Sinirleri

Memenin duyusal inervasyonu başlıca 2.,3.,4.,5.,ve 6. interkostal sinirler ile sağlanır (19,21).

I.C.d. Memenin Lenfatik Sistemi

Memenin lenfatik drenajı yüzeysel ve derin lenfatik damarları ile sağlanır. Memenin yüzeysel lenfatikleri; meme glandının üzerindeki derinin lenfatikleridir. Meme embriyolojik olarak ektodermden köken alır. Bundan dolayı lenfatik yapısı diğer bölgelerdeki deri eklerinininkine uymaktadır. Bu bölgede biri subepitelyal (papiller) peksus ve diğeri subdermal lenfatik pleksus olmak üzere iki adet lenf ağı bulunmaktadır:

Subepitelyal pleksusta kapak yoktur ve lenf akımı herhangi bir yönde olabilir. Subdermal pleksusta kapak mevcuttur ve akım tek yönlüdür. Areolanın altında subareolar pleksus (Sappey pleksusu) bulunur. Memenin yüzeysel lenfatikleri esas olarak derin lenfatikler vasıtası ile aksiller lenf nodüllerine drene olurlar. Laktifer duktusların lenf damarları (periduktal lenfatikler) meme lobüllerinin civarında ince bir şebeke oluştururlar. Bu

şebekeden çıkan bir çok toplayıcı lenfatik trunkus mevcuttur. Bunlar memenin derin lenfatiklerini oluştururlar. Bu trunkusların yani memedeki lenfatik akımın esas yönü hakkında değişik görüşler ileri sürülmüştür. En son Halsell lenfanjiografi ile meme içindeki lenfatiklerin sentrifugal olarak areolar bölgeden aksilaya doğru seyrettiğini göstermiştir (22). Sonuçta bugün kabul edilen görüş meme içindeki lenf akımının derin subkutanöz ve intramammar lenfatik damarlardan sentrifugal olarak aksiller ve internal meme lenf nodüllerine doğru olduğudur.

Aksiller lenf nodülleri memeden gelen lenf akımının en önemli çıkış bölgesini oluşturur. Hultbarn ve arkadaşları meme içine radyoaktif altın (Au 198) injeksiyonundan sonra lenf nodüllerinde radyoaktivite oranını tayin etmişler. Bu çalışmada memedeki lenfin yaklaşık % 97'sinin aksiller nodüllere ve % 3'nün internal meme zincirine drene olduğunu saptamışlardır (23).

Aksiller lenfatik sistem bir bütün oluşmasına karşın, tarifi kolaylaştırmak ve meme kanserinin yayılma derecesini belirlemek amacıyla sayıları 20 ila 40 arasında değişir aksiller lenf nodülleri altı gruba ayrılarak incelenebilir (24, 25):

1.Eksternal meme nodülleri: Lateral torasik damarlar ile birlikte pektoralis major kasının dış kenarının altında bulunur. Bu lenf nodüllerinden çıkan efferent lenfatikler büyük ölçüde santral lenf nodüllerine ve kısmen de subklavikuler lenf nodüllerine giderler.

2.Skapuler nodüller: Bu nodüller subskapular venin aksiller trunkustan çıktığı noktadan bu damarların latissimus dorsi kası ile birleştiği yere kadar ulaşır ve lateral göğüs duvarında bulunurlar. İnterkostobrakial sinir (2. interkostal sinir) ve latissimus dorsiye inerve eden torakodorsal sinir skapuler nodüllerin içinden geçerek seyrederler.

3.Santral nodüller: Aksillanın merkezindeki oldukça büyük lenf nodülleridir. Bundan dolayı en kolay palpe edilebilen nodüllerdir. Çok defa diğer grupların lenf drenajı santral nodüllere olduğu için metastazlar da en sık bu nodüllerde oluşur.

4.İnterpektoral (Rotter) nodülleri: Bu nodül grubu 1-4 lenf nodülü içerir ve pektoralis major ve minör kasları arasında bulunur.

5.*Aksiller ven nodülleri:* Bu nodüller aksiller venin lateral kısmı boyunca ve bu venin iç tarafında veya arkasında bulunurlar.

6.*Subklavikuler nodüller:* Bu lenf nodülü grubu aksillanın en tepesinde torakoakromial venin çıkış noktasının hemen iç tarafında bulunur. Haagensen'e göre subklavikuler lenf nodüllerinde metastaz varsa olgu "inoperabl" ve radikal bir ameliyat yapmak mümkün değildir (26). Subklavikuler lenf nodüllerinden çıkan lenfatik damarlar arasında bağlantılar mevcuttur ve bunlar pleksus oluştururlar. Bu lenfatik pleksuslardan da bir veya daha fazla sayıda büyük lenfatik trunkus (Subklavikuler lenfatik trunkuslar) doğar.

Mamaria interna lenf yolu diafragmanın üst yüzünün ön kısmında bulunan ön preperikardial lenf nodüllerinden kaynağını alır (26). Preperikardial lenf nodüllerine toplayıcı lenfatikler yoluyla aşağıdaki yerlerden lenf sıvısı gelir:

- a) Ligamentum falciparum yoluyla karaciğerin ön-üst kısmından
- b) Diafragmanın ön kısmından
- c) Rektus abdominis kasının üst kısmından
- d) Rektus kılıfından
- e) Meme glandının alt-iç kadranından

Preperikardial lenf nodüllerinden çıkan mamaria interna lenfatik trunkusları sternumun her iki yanında seyrederek yukarı doğru giderler. Memeden mamaria interna lenf yollarına giden esas lenfatikler memenin derin yüzünden ve meme glandının iç kısmından doğarlar. Bunlar pektoral fasya üzerinde bulunurlar veya bu fasyayı delerek pektoralis major kasına girerler. Perforan damarların dalları ile birlikte iç tarafa doğru seyrederek interkostal aralıkların iç uçlarındaki mamaria interna lenf nodüllerinde sonlanırlar.

II. Meme Kanserinde Etyoloji ve Patogenez

II.A. Etyoloji

Meme kanserinin etyolojisi multifaktöryeldir. Diyet ile birlikte reproduktif faktörler ile ilişkili hormonal dengesizlikler de etyolojik faktörler içindedir. Epidemiyolojik bilgiler meme kanserinin fizik aktivitenin yokluğu ile birlikte hayvansal yağ ve proteinlerden zengin yüksek kalorili bir beslenme ile karakterize batı tipi yaşam tarzına sahip zengin toplumun bir hastalığı olduğunu açıkça göstermektedir. Uzun süredir bu yaşam tarzına sahip bölgeler (Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve Avustralya) yılda her 100000 kişide 70-90 yeni vaka sıklığında bir platoya ulaşmışlardır. Günümüzde daha yeni yeni endüstrileşen ve zenginleşen ülkelerde de sıklık ve mortalitede belirgin bir artış görülmüştür. Meme kanserine ilaveten batı tipi yaşam tarzı prostat, kolon/rektum ve endometriyum kanserleri için de yüksek risk taşımaktadır. Bütün bunların dışında meme kanserinin gelişiminde spesifik çevresel maruziyetler (radyasyon, alkol ve ekzojen hormonlar gibi) de tespit edilmiştir ama bu çevresel faktörler düşük oranda risk taşımaktadır. Meme kanseri diğer neoplazmlardan daha fazla genetik yatkınlık göstermektedir. BRCA1 ve 2 artmış meme kanseri riskine sahip iki penetran gendir (27). Meme kanseri gelişimi ile östrojen arasında bir ilişkinin ilk kanıtı İngiliz fizikçi Beatson tarafından 1986 yılında bulundu. Beatson ilerlemiş meme kanseri olan premenopozal kadınlarda overlerin çıkarılmasının meme kanserinde gerilemeye neden olduğunu gösterdi. Kısa bir süre sonra 1900'da Stanley Boyd yaptığı çalışmasında oofektomi yapılan meme kanserli hastaların 1/3'ünde meme kanserinin gerilediğini rapor etti (28). Çok erken yaşta menarş olan kadınlarda, nullipar kadınlarda, ilk term doğumunu geç yaşta yapan kadınlarda ve geç yaşta menapoz olan kadınlarda meme kanserinin daha sık görülmesi de meme kanserinin oluşumunda endojen östrojen etkisini göstermektedir (29). Ekzojen hormonlar da (oral kontraseptifler ve menapozal replasman tedavisi) meme kanseri ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir (27). Kombine oral kontraseptiflerin kullanımı ile meme kanseri riskinde hafif bir artış meydana gelirken sadece progesteron içeren

parenteral kontraseptifler istatistiksel olarak anlamlı bir risk oluşturmazlar (30, 31). Uzun süreli postmenapozal östrojen replasman tedavisinin de meme kanseri riskinde hafif bir artışa neden olduğu bildirilmektedir (32). Bazı çalışmalarda ise tek başına uzun süreli östrojen replasman tedavisi ile östrojen progesteronun kombine kullanımı arasında meme kanseri riski açısından anlamlı bir fark görülmemiştir (33). Bu etyolojik faktörlerin içindeki endojen hormonlar bölümünü biraz daha ayrıntılı incelemek gerekir. Buna göre; seks steroidlerinin (androjenler, östrojenler ve progesteronlar) meme tümörlerinin gelişiminde önemli bir rolü olduğu görülmektedir. Östrojen fazlalığı hipotezi meme kanserinde en önemli hipotezdir. Bu hipoteze göre östrojen fazlalığı in vitro çalışmalarda artmış meme hücresi proliferasyonuna ve apoptozun inhibisyonuna neden olmaktadır. Aynı zamanda hayvan deneylerinde hayvanlara östrojen verildiğinde tümör gelişiminin arttığı gösterilmiştir. Artmış testosteronun ve androstenedion seviyeleri, azalmış seks hormonu bağlayan globuline (SHBG) bağlı artmış östrodiol seviyesi, olan postmenapozal kadınlarda meme kanseri riski daha yüksek bulunmuştur (27). İkinci önemli teori östrojen artı progesteron hipotezidir (34, 35). Yalnız endojen östrojenlere maruz kalan kadınlarla kıyaslandığında artmış progesteronlarla birlikte plazma ve doku seviyeleri artmış östrojenleri olan kadınların meme kanseri riskinin daha fazla arttığı gösterilmiştir. Bu teori foliküler fazla karşılaştırıldığında menstrüel siklusun luteal fazında artmış olan meme epitel hücrelerinin proliferasyonu ile paralellik göstermektedir (27). Buna karşın, birkaç çalışmada ise premenapozal kadınlarda androjenler, östrojenler ve progesteron seviyeleri ile meme kanseri riski arasında herhangi bir açık ilişki gösterilememiştir (34,36-39). Aşırı kilo ve fizik aktivite yokluğunun metabolik bir sonucu insülin direncidir (27). Yükselen insülin seviyeleri overlerde ve/veya adrenallerde seks steroidlerinin (özellikle androjenlerin) sentezini artırır ve SHBG'in hepatik sentezinin azalmasına neden olur (40). Özellikle postmenapozal kadınlarda yükselmiş plazma androjenleri yağ dokusunda artmış östrojen oluşumuna ve sonuçta artmış östron ve östrodiol seviyelerine neden olur (27). Kronik hiperinsülinemi hipotezi postmenapozal kadınlarda düşük plazma SHBG ve yüksek androjen

ve yüksek östrojen seviyeleri ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi açıklayabilir (40). İnsulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve IGF-bağlayan proteinler (IGFBP) meme kanseri için anlamlı risk göstergesi olarak görülmektedirler (41, 42).

II.A.a. Herediter Meme Kanseri

Meme kanserli kadınların % 13'ünde birinci derecede akrabalarda meme kanseri öyküsü bildirilmektedir. Ancak meme kanseri olan kadınların % 1'inde yüksek penetran germline mutasyonu düşündüren akraba öyküsü vardır. Familial kanserlerin % 25 kadarı (veya tüm meme kanserlerinin %3'ü) iki adet yüksek penetran otozomal dominant gen ile ilişkilidir; bu genler BRCA1 ve BRCA2'dir. Birden fazla etkilenen birinci derecede akraba varsa, kişiler menapozdan önce etkilenmişse ve/veya çok sayıda kanserleri varsa, erkek meme kanseri olgusu varsa veya aile bireylerinde over kanseri de varsa bu genlerdeki mutasyon nedeniyle oluşan meme kanseri olasılığı artar. BRCA1 ve BRCA2 genlerinde mutasyon olan kadınlarda meme kanseri riski % 60-85'ti. Tanı konulduğunda BRCA1/BRCA2 gen mutasyonlu kadınların ortalama yaşı bu mutasyonları olmayan kadınlara göre 20 yaş daha gençtir. Mutant BRCA 1 over karsinomu gelişme riskini de % 20- 40 gibi yüksek oranda artırır. Mutant BRCA 2 over karsinomu için daha az risk taşır (%10-20), fakat erkek meme kanseri ile daha sık ilişki gösterir. BRCA 1 ve BRCA 2 gen mutasyonu taşıyıcıları az oranda kolon, prostat ve pankreas gibi diğer kanserlere de eğilimlidirler. BRCA 1 ve BRCA 2 genleri sekans homolojisi göstermeseler de benzer yollar ile çalışırlar, aynı multiprotein kompleksi ile etkileşirler. Her ikisi de tümör supresör genidir. Mutasyon sonucu bu genlerin normal fonksiyonlarının kaybı malignite gelişimine neden olur. BRCA 1 ve BRCA 2 genlerinin anahtar fonksiyonu hücre siklusunu durdurarak genomu hasardan korumak ve tam olarak anlaşılmamış kompleks bir yolla DNA hasarı onarımını başlatmaktır. Bu fonksiyonların kaybının neden spesifik olarak memeyi etkilediği belirsizdir. Meme epitelinin aralıklı proliferasyonu (kolon ve deri gibi sürekli proliferen olan epitellerin tersine) genetik hasarın meme epitelinde kümelenmesine neden olur. Bu durum memeyi tümör gelişimine meyilli kılmaktadır. BRCA 2 değil ama BRCA 1

östrojen reseptörü ile etkileşir ve X kromozomu inaktivasyonunu etkiler; bu iki özellik cinsle spesifik riskle bağlantılı olabilir (10).

II.A.b. Sporadik Meme Kanseri

Sporadik meme kanserinde temel risk faktörleri cinsiyet, menarş ve menapoz yaşı, reproduktif öykü, emzirme ve ekzojen östrojenler gibi hormon maruziyeti ile ilişkili durumlardır. Sporadik meme kanserlerin çoğu postmenapozal kadınlarda gelişir ve östrojen reseptörlerini daha fazla eksprese ederler. Sporadik meme kanseri gelişiminde; östrojen metabolitleri mutasyonlara neden olabilir veya DNA hasarı yaratan serbest radikaller oluşabilir. Hormonal etkileri ile östrojenler, kanserler gibi premalign lezyonların da proliferasyonuna yol açarlar. Ancak sporadik meme kanseri gelişiminde hormone maruziyeti dışında başka mekanizmalar da rol oynamaktadır. Çünkü belli sayıda meme karsinomunda östrojen reseptörü negatiftir. Ayrıca yüksek östrojen maruziyeti olmayan kadınlarda da sporadik meme karsinomu gelişebilir (10).

II.B. Patogenez

II.B.a. Karsinogenez Mekanizmaları

Meme karsinomlarında histolojik görünümün geniş bir yelpazede olması karsinogenezde farklı yolların bulunduğu göstergesidir. Tüm meme kanserlerinde aynı genetik bozukluk veya aynı fonksiyonel değişiklik bulunmaz (10). Genel bir karsinogenez modelinde normal bir hücre malign olmak için genetik instabiliteyi de içeren yedi adet yeni yeti kazanmalıdır (43, 44). Herediter karsinomda bu değişikliklerin biri veya daha fazlası germ-line mutasyonların kalıtımı ile zaten başlangıçta o bireyde yer almaktadır. Yeni yetilerin her biri genlerin birinde bir değişiklik ile kazanılabilir. Örneğin ER, Epidermal Growth Factor Reseptör (EGF-R), Rat Sarcoma (RAS) ve Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2/neu veya ERBB2)'daki değişiklikler büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlik ile sonuçlanabilir. Diğer taraftan hücre siklus kontrolünde, DNA onarımında ve apoptozda önemli rolü olan p53 gibi bir gendeki değişiklik bu yetilerden birden fazlasını

oluşturabilir (10). Bu 7 yeni yeti hemen tüm malignitelerin gelişimindeki temel basamaklar olup, meme karsinomunda řu şekilde özetlenebilir:

1-Çoğalma sinyallerinde kendi kendine yeterlilik: Tümörler genellikle onkogen aktivasyonu sonucu dış uyarı olmadan çoğalma kapasitesine sahiptirler.

2-Çoğalmayı inhibe eden sinyallere duyarsızlık: Tümörler siklin bağımlı kinazların direkt inhibitörleri ve Transforming Growth Factor (TGF) gibi normal hücrelerin proliferasyonunu inhibe eden moleküllere cevap vermeyebilirler.

3-Apoptozdan kurtulma: Tümörler p53'ün inaktivasyonu ve diğeri değişikliklerin bir sonucu olarak programlanmış hücre ölümüne karşı koyabilirler.

4-DNA tamirinde defektler: Tümörler düzensiz hücresel proliferasyon ve karsinojenler tarafından hasara uğramış DNA'yı tamir etmekte yetersiz olabilirler.

5-Sınırsız kopyalama gücü: Tümör hücreleri telomer uzunluğu ve fonksiyonunun devamlılığı ile ilişkili olarak sınırsız çoğalma kapasitesine sahiptirler.

6-Sürekli devam eden angiyojeniz: Tümör hücreleri vasculer endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) gibi endotelden salınan büyüme faktörleri aracılığı ile anjiyojenizi indüklerler.

7-İnvazyon ve metastaz yapma kabiliyeti: Tümör metastazları kanser ölümlerinin çoğunun sebebidir. Tümör hücrelerinin kohezyonunu sağlayan kaderinlerdeki azalma nedeniyle tumor hücreleri diskoheziv hale gelirler. Diskoheziv tumor hücreleri ekstrasellüler matriks komponenti olan laminin ve fibronektine bağlanırlar. Matriks içine salgıladıkları litik enzimler aracılığı ile ekstrasellüler matriksi yıkarlar. Ekstrasellüler matriks yıkım ürünleri ve otokrin matilite faktörleri tumor hücrelerinin kemotaksisine neden olur. Migrasyonla dolaşıma geçen tumor hücreleri plateletler ve lökositlerle trombüsler oluşturarak uzak organlara metastaz yaparlar.

Memede kanser riski en düşük lezyonlar artmış hücre sayısı olan proliferatif değişikliklerdir. Bu erken değişikliklerin büyümeyi inhibe eden sinyallerden ve apoptozdan kurtulma ile büyüme sinyallerinde kendi kendine

yeterliliğin oluşması ile ilişkili olduğunu düşünülmektedir (10). Proliferatif değişikliklerde bile hormon reseptörlerinin anormal ekspresyonu ve hormon reseptör pozitivitesi ile birlikte anormal proliferasyon vardır (45). Heterozigosenin kaybı şeklindeki genetik kararsızlık proliferatif değişikliklerde nadiren saptanırken, atipik hiperplazide daha sık görülür ve karsinoma insitu'da ise daima mevcuttur. Belirgin anöploidi sadece yüksek dereceli duktal karsinoma insitu (DCIS) ve bazı invaziv karsinomlarda görülür. Tümörün sınırsız kopyalanma gücü DCIS'nun klonal hücre topluluklarının memede bir duktal sistemi tamamen doldurması ile kendini gösterir. Bazı DCIS'larda bazı duktuslarda bazal membranı kuşatan artmış anjiyogenez belirgindir. Artmış anjiyogenez malign hücrelerden direkt uyarıyla veya stromal hücrelerde sekonder uyarısıyla, veya miyoepitel hücreleri tarafından anjiyogenez inhibisyonunun ortadan kaldırılmasıyla meydana gelebilir (10). Karsinomların biyolojik ve morfolojik özellikleri genellikle in situ evrede oluşur. Çoğu olguda in situ lezyon hemen tamamıyla eşlik eden invaziv karsinoma benzemektedir. Örneğin invaziv lobüler karsinomlar lobüler karsinoma insitu (LCIS), iyi diferansiye invaziv duktal karsinomlar düşük dereceli DCIS ve az diferansiye invaziv duktal karsinomlar yüksek dereceli DCIS ile birlikte. Rekürren karsinomlar genellikle orijinal karsinoma benzer görünümündedir. Meme karsinomları genellikle dediferansiye veya zamanla daha az diferansiye olmazlar (10). Puberte ve gebelikte yeni duktal dallanma noktaları ve lobüllerin normal oluşumuna izin veren fizyolojik olaylara benzer şekilde karsinogenez sırasında da anormal epitel hücreleri ve/veya stromal hücrelerde bazal membranın ortadan kaldırılması, artmış proliferasyon, büyüme inhibisyonundan kurtulma, anjiyogenez, ve stromanın invazyonu yetenekleri gelişir (46). Epitelyal hücrelerde başlayan tumor oluşumu stromal hücreler tarafından desteklenir. Stomal hücreler doğrudan kanser hücrelerini etkileyerek; viral partiküller sentezleyerek veya mast hücreleri aracılığı ile karsinogenezin devamlılığını sağlarlar (47). Karsinogenezin en son basamağı duktuslarda ve lobüllerde bazal membran ile sınırlı karsinomun (karsinoma in situ) invaziv karsinoma geçişidir. İnvazyon için gerekli spesifik gen fonksiyonlarını tanımlamak zordur (48). İnvazyonun miyoepitel ve stromal

hücrelerin anormal fonksiyonları nedeniyle bazal membran ve doku bütünlüğünün bozulması nedeniyle oluşması; malign hücrelerin bazal membranı aşarak stromaya invaze olma yeteneği kazanmalarından daha olasıdır (10).

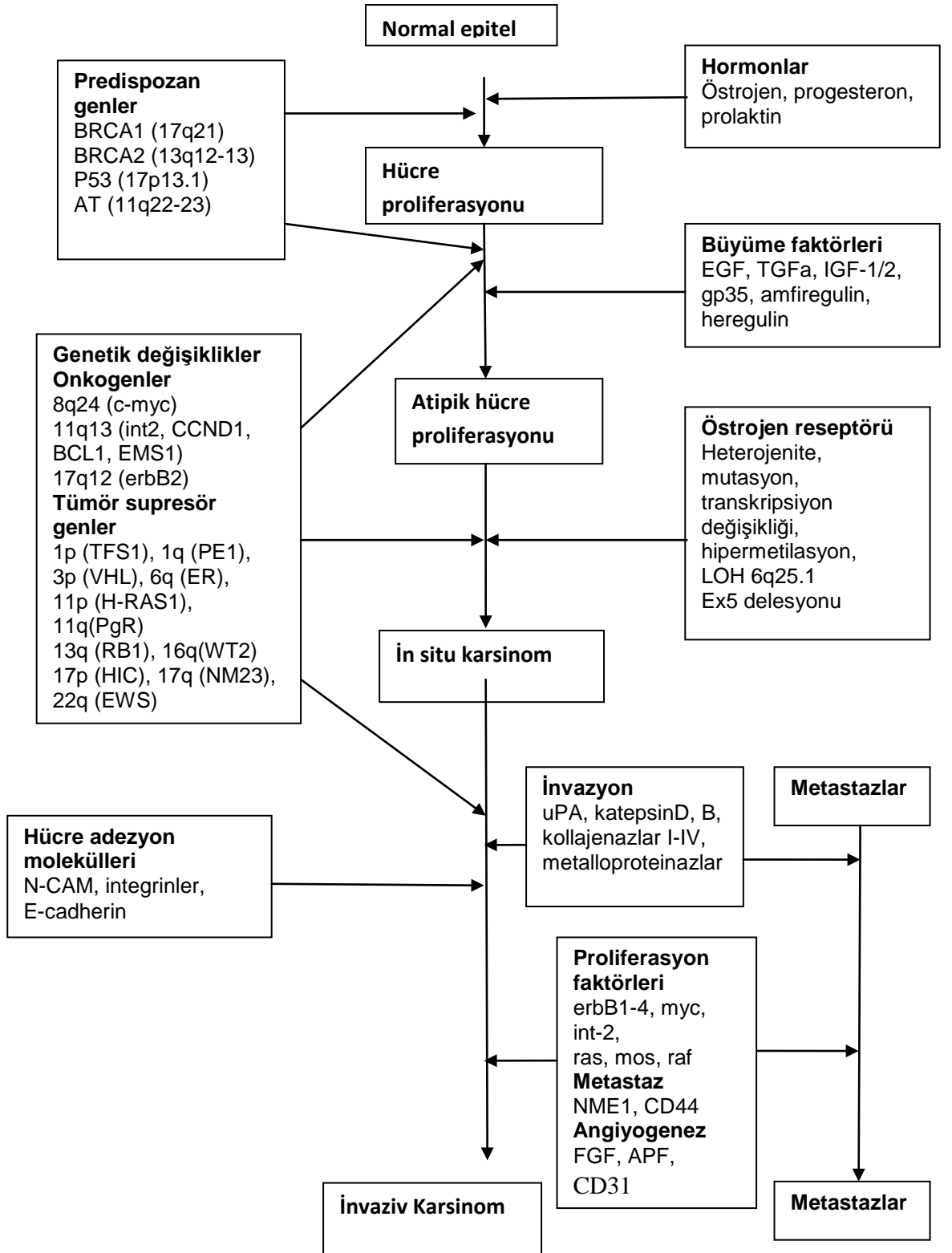
Meme kanserinin erkeklerde ve nonöstrojenize kadınlarda nadir olması, hormona bağımlı bir hastalık olduğunu gösterir. Hastalığın gelişiminde ve ilerlemesinde ana faktörler östrojenlerin primer etkileridir (49-53). Yaklaşık olarak bütün meme kanserlerinin % 60-75'i ER ve % 55-70'i PR eksprese eder (54, 55). Bu iki reseptörün varlığı ve konsantrasyonu yalnız tedavi kararının güçlü bir klinik indeksi olmayıp aynı zamanda prognoz ve sağ kalım göstergesidir (56, 57). Meme kanseri hormon bağımlıdan hormon bağımsıza doğru bir ilerleme gösterir (58). ER pozitif tümörlerin % 20-30'unda endokrin tedaviye direnç gelişir (59) ve primer meme kanserinin % 25-40'ında başlangıçtan itibaren hormonoterapiye direnç mevcuttur. Hormon bağımsız veya antihormon tedavi direnci ile ilişkili birçok olası mekanizma öne sürülmüştür (59). Bunlardan biri primer hücre heterojenitesi nedeniyle ER negatif hücre topluluğunun aşırı çoğalması veya ER ekspresyonun kaybıdır. Bir diğer olası mekanizma hormon bağlanan alanda nokta mutasyonu olması nedeniyle (ER ekson 5 delesyonu veya ucunun kesilmesi, ekson duplikasyonu veya yeni insersiyon, veya ER lokusunun kaybı [kromozom bölgesi 6q25.1'in heterojenitesinin kaybı]) ER'ünün fonksiyon kaybı veya ER varyantlarının oluşumudur. Başka bir mekanizma ise farklı bağlanma kapasiteleri olan değişik tiplerde ER ve PR'lerinin oluşumudur. Ayrıca değişmiş postreseptör yolların (diğer transkripsiyon faktörü ve koaktivatör/adaptör değişiklikleri [örneğin kromatin faktörleri, nukleer matriks alıcı proteinleri, sitozin/guaninden zengin alanın 5' bölgesinin metilasyonu (CpG adaları)] içeren) veya östrojen hedef genlerinin ve ligand bağımsız ER aktivasyonu araştırmaları dikkat çekicidir. Son zamanlarda steroid hormon reseptör yolları ve büyüme faktörleri arasında sinyal seviyesinde olası kooperatif etkilerde odaklanan büyük bir ilgi oluşmuştur. Polipeptid büyüme faktörleri ve/veya reseptörlerinin artmış ekspresyonu (TGF α , EGF, Her-2/neu) ve büyümeyi inhibe eden peptidlerin azalmış ekspresyonlarının

hormon bağımsız büyümede etkili olan olası mekanizmalar olduğu bilinmektedir ama şimdi EGF, IGF-1 ve heregulin tarafından mitojen aktive eden protein kinaz yoluyla ER'nün fosforilasyon durumunda östrojen bağımsız aktivasyonun kanıtı vardır (60, 61). Ayrıca hormon bağımsız mekanizmalarla (örneğin onkogen aktivasyonu [myc, int-2, erbB2] veya tümör genleri ve hormonlar arasındaki etkileşim ile tümör supresör gen inaktivasyonu [p53, BRCA1, MST1]) veya 17 beta steroid dehidrojenaz (örneğin progesteron bağlanan veya kromozomal kayıp bölgesi 17q21'in yokluğu nedeniyle enzimin aktivite/ekspresyonunda azalma/kayıp gibi) tarafından tümör büyümesi uyarılabilir. Moleküler genetik değişikliklerin büyük bir kısmı hem onkogen hem de tümör supresör genlerin her ikisinin de tutulduğu tümörlerde görülür. Gerçekten tümörlerin yaklaşık % 50'sinin hormon manipülasyonuna cevap vermesi dikkat çekicidir. Bu da meme kanserini etkileyen en önemli faktörün hormon olduğunu gösteriyor ve diğer moleküler faktörlerin çoğu birbirine bağımlıdır. Farklı onkogenler veya tümör supresör genleri arasındakiler gibi steroid hormonlar/hormon reseptörleri ve onkogenler/tümör supresör genleri arasında birbirine bağımlılıklar meme kanserinin çok basamaklı karsinogenezine ipucu olacak gibi görünmektedir. Örneğin EGF reseptörü ve Her-2/neu'nun aşırı ekspresyonu steroid hormon durumu ile zıt olarak ilişkilidir (54, 62-73).

EGF meme kanser hücrelerinde HER-2/neu protein ekspresyonunu azaltır ama bir posttranslasyonel protein modifikasyonunu düşündüren mRNA seviyesinde etki etmez (73). EGF HER-2/neu reseptörüne bağlanmaz ama HER-2/neu reseptörünün transaktivasyonu HER-2/neu'nun reseptörüne EGF'nin bağlanması yoluyla meydana geliyor gibi görünmektedir. EGF HER-2/neu'nun takip eden internalizasyonu ve degradasyonu ile EGF reseptörü ve HER-2/neu'nun heterodimerizasyonunu başlatır. Östrojen antiöstrojenler tarafından önlenemeyen bir etki olan ER+ hücrelerde HER-2/neu proteinini azaltır. Benzer bulgular tümör supresör genler, BRCA 1 ve TP53 için de gösterilmiştir (73- 79).

Endojen (pre/postmenopozal) veya ekzojen (oral kontraseptifler, hormon replasman tedavisi) steroid hormonların varyasyonları

onkogenler/tümör supresör genlerin ekspresyonunu her ikisi de çok kompleks mekanizmalar olan promotor aktivitenin değişiklikleri yoluyla yalnız direkt olarak değil meme kanser hücrelerinin değişik proliferatif durumu ile de indirekt olarak etkileyebilir. Bu meme karsinogenezinin daha ayrıntılı tüm etkenleri ve genetik değişiklikleri içeren modeli şekil- 1’de görülmektedir. Burada östrojen normal epitelde hücre proliferasyonuna neden olurken, östrojen reseptörünün ise atipik hücre proliferasyonuna ve in situ karsinoma farklı yollardan neden olması dikkat çekicidir. Karsinomların DNA, RNA ve proteinlerindeki değişikliklerin binlercesini gösteren yeni teknikler invaziv meme karsinomlarının biyolojik temellerini göstermektedir (80- 83). Son çalışmalara göre immünohistokimyasal ve in situ hibridizasyon tekniklerin kullanımıyla birlikte meme kanserleri moleküler olarak Luminal A, Luminal B (HER2-), Luminal B (HER2+), HER2 tip, Bazal fenotip ve 5 negatif fenotip olmak üzere altı alt gruba ayrıldılar (107).



Şekil- 1. Meme kanserinde çok adımlı karsinogenez modeli.

III. Meme Kanserinde Klinikopatolojik Özellikler

III.A. Lokalizasyon

Meme karsinomu genellikle terminal duktulobuler üniteden kaynaklanır. Meme tümörleri sol tarafta sağa göre daha sık yerleşirler. Meme karsinomlarında üst dış kadran yerleşimi diğer kadrana göre daha siktir (84).

III.B. Semptomlar

Meme karsinomunda en sık bulgu ağrılı veya ağrısız ele gelen kitledir. Meme başı değişiklikleri, memede deformite, kızarıklık daha nadir bulgulardır (85).

III.C.Tedavi

Meme karsinomunun tedavisinde cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, hormonoterapi ve hedefe yönelik tedavi seçenekleri kullanılır.

III.D.Evrelleme

Meme kanserlerinde evrelleme American Joint Comitee on Cancer (AJCC) 2002 sistemine göre yapılmaktadır. Tümör boyutu, lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı evrelleme için kullanılan parametrelerdir (106). AJCC 2002 evrelleme sistemi Tablo-1 ve Tablo-2'de görülmektedir.

Tablo- 1: AJCC 2002 evreleme sistemi.

<p>Tümör boyutu: TX Primer tümör saptanamamaktadır T0 Primer tümör yok Tis Karsinoma in situ T1: Tümörün en büyük boyutu 2 cm veya daha az T1mic: En büyük boyutu 0.1 cm veya daha az olan mikroinvazyon T1a: En büyük boyutu 0.1 cm'den büyük olan ancak 0.5 cm'yi geçmeyen tümör T1b: En büyük boyutu 0.5 cm'den büyük olan ancak 1 cm'yi geçmeyen tümör T1c: En büyük boyutu 1 cm'den büyük olan ancak 2 cm'yi geçmeyen tümör T2: En büyük boyutu 2 cm'den büyük olan ancak 5 cm'yi geçmeyen tümör T3: En büyük boyutu 5 cm'den büyük olan tümör T4: Herhangi bir boyutta ancak (a) göğüs duvarına veya (b) cilde direkt yayılımı mevcut T4a: Pektoral kasa ulaşmamış göğüs duvarı yayılımı T4b: Meme cildinde ödem (peau d'orange da dahil) veya ülerasyon, veya aynı memede satelit deri nodülleri T4c: T4a ve T4b birlikte T4d: İnflamatuvar karsinom</p> <p>Bölgesel Lenf Nodülleri (N) Klinik Sınıflama NX: Bölgesel lenf nodları saptanamamaktadır (örn. daha önce çıkartılmış) N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok N1: Ipsilateral lenf nodlarında metastaz (fikse değil) N2: Fikse veya gruplaşmış ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz veya klinik olarak belirgin* aksiller lenf nodu metastazı olmadığı durumlarda klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal lenf nodlarında metastaz N2a: Birbirlerine veya çevre dokulara fikse ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz N2b: Sadece klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmadığında klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal nodlarda metastaz olduğunda N3: Aksiller lenf nodu tutulumu olsun ya da olmasın ipsilateral infraklavikular lenf nod(lar) metastazı veya klinik olarak belirgin* ipsilateral internal mammaryal lenf nod(lar) metastazı ile birlikte klinik olarak belirgin aksiller lenf nodu metastazı; veya aksiller ya da internal mammaryal lenf nodu metastazı olsun ya da olmasın ipsilateral supraklavikular lenf nod(lar) metastazı. N3a: ipsilateral infraklavikular lenf nod(lar) metastaz N3b: ipsilateral internal mammaryal lenf nod(lar) metastaz veya aksiller lenf nod(lar) metastaz N3c: ipsilateral supraklavikular lenf nod(lar) metastaz</p>	<p>Patolojik Sınıflama (pN) pNX: Bölgesel lenf nodları saptanamamakta (örn. patolojik inceleme için daha önce çıkartılmış) veya çıkartılmış. pN0 Histolojik olarak bölgesel lenf nodu metastazı olmayan, izole tümör hücreleri(ITH) için ek inceleme yok Not : H&E boyası ile verifiye edilebilen ancak sıklıkla sadece immünohistokimyasal(IHK) veya moleküler metodlarla saptanan, 0.2 mm'den daha geniş olmayan tek tümör hücreleri veya küçük hücre kümeleri 'izole tümör hücreleri(ITH)' olarak tanımlanır. pN0(i-): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif IHK pN0(i+): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif IHK, 0.2 mm.den geniş IHK kümesi yok pN0(mol-): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif moleküler bulgular (RT-PCR) pN0(mol+): Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif moleküler bulgular (RT-PCR) pN1mi Mikrometastaz (0.2 mm.den geniş, 2.0 mm.den geniş değil) pN1a 1-3 adet aksiller lenf nodunda metastaz pN1b Sentinel lenf nodu diseksiyonu ile internal mammaryal nodlarda mikroskopik hastalık olarak saptanan metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil** pN1c 1-3 adet aksiller lenf nodunda ve internal mammaryal nodlarda sentinel lenf nodu diseksiyonu ile mikroskopik olarak saptanan metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil**. (3 aksiller lenf nodundan fazla pozitif nod varsa, artmış tümör yükünü göstermek için internal mammaryal lenf nodları pN3b olarak sınıflandırılır). (pN1a + pN1b) pN2 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz, veya aksiller lenf nodu metastazı olmadığında internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin* metastaz pN2a 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm.den büyük en az bir tümör odağı) pN2b Aksiller lenf nodu metastazı yokken, internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin* metastaz pN3 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda, veya infraklavikular lenf nodlarında, veya 1 ya da daha fazla aksiller lenf nodu pozitif olduğunda klinik olarak belirgin* ipsilateral internalmammaryal lenf nodlarında metastaz; veya internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak negatif mikroskopik metastazla birlikte 3'ten daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz; veya ipsilateral supraklavikular lenf nodlarında metastaz pN3a 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm.den büyük en az bir tümör odağı), veya infraklavikular lenf nodlarında metastaz pN3b 1 veya daha fazla pozitif aksiller lenf nodu varlığında klinik olarak belirgin* ipsilateral internal mammaryal lenf nodu metastazı; veya sentinel lenf nodu diseksiyonuyla saptanan fakat klinik olarak belirgin olmayan** mikroskopik hastalıkla birlikte 3 veya daha fazla aksiller lenf nodunda veya internal mammaryal lenf nodlarında metastaz.</p>	<p>pN3c ipsilateral supraklavikular lenf nodlarında metastaz *Görüntüleme metodları (lenfosintigrafi hariç) veya klinik muayene ile saptanan metastazlarda 'klinik olarak belirgin' terimi kullanılır. ** Görüntüleme metodları (lenfosintigrafi hariç) veya klinik muayene ile saptanamayan metastazlarda 'klinik olarak belirgin olmayan' terimi kullanılır.</p> <p>Uzak Metastaz (M) MX Uzak metastaz bulunamıyor M0 Uzak metastaz yok</p>
--	---	---

Tablo- 2: Meme karsinomunda TNM evrelemesi.

Stage 1	T1 N1 M0
Stage IIA	T0 N1 M0 T1 N1 M0 T2 N1 M0
Stage IIB	T2 N1 M0 T3 N0 M0
Stage IIIA	T0 N2 M0 T1 N2 M0 T2 N2 M0 T3 N1, N2 M0
Stage IIIB	T4 N0, N1, N2 M0
Stage IIIC	Tx N3 M0
Stage IV	Tx Nx M1

III.E.Meme Kanserinde Prognostik ve Prediktif Faktörler

Prognostik ve prediktif faktörler hastaların sağ kalımını ve tedavi protokollerini belirlemek açısından önemli belirteçlerdir. Prognostik faktörler hastalığın doğal gidişini belirleyen etmenler olarak tanımlanırken; prediktif faktörler verilen tedaviye yanıtı etkileyen parametrelerdir (86).

III.E.a. Aksiller Lenf Nodülü Durumu

Meme karsinomunda en önemli prognostik faktör aksiller lenf nodülü metastazıdır. Operasyon sırasında sentinal lenf nodülü örnekleme yapılarak metastaz varlığı araştırılır (87).

III.E.b. Tümör Boyutu

Meme karsinomunda tümör boyutu arttıkça aksiller metastaz ihtimali artar. Tümör boyutu aksiller metastaz için prediktif faktörken tek başına da prognostik bir parametredir. 1cm'den küçük çaptaki tümörlerde 5 yıllık sağ kalım %99 iken 1-3 cm arasındaki tümörlerde 5 yıllık sağ kalım %89, 3-5 cm çaptaki tümörlerde 5 yıllık sağ kalım %86'dır (88).

III.E.c. Lenfatik / Vasküler İnvazyon

Meme karsinomunda peritümöral lenfatik ve vasküler invazyon lokal ve uzak rekkürrens açısından prognostik olarak anlamlıdır. 20 yıllık takiplerde lenfovasküler invazyon ile rekürrens ve ölüm arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (89). Lenfovasküler invazyon olan hastalarda neoadjuvan kemoterapiden bağımsız 5 yıllık rekürrens riski %15 artış göstermektedir (90).

III.E.d. Hasta Yaşı ve Etnik Kökeni

Afroamerikan ve Hispaniklerde beyazlara oranla meme kanserinde sağ kalım daha azdır. 35 yaşından önce meme kanserine yakalanan hastaların prognozu daha kötüdür (91- 93).

III.E.e. Derecelendirme

Meme kanserlerinde patologlar arasındaki uyumu arttırmak için farklı derecelendirme (gradeleme) sistemleri geliştirilmiştir. Amerika'da en yaygın kullanılanı Scarff-Bloom-Richardson (SBR) sınıflamasıdır. Avrupa'da Elston ve Ellis tarafından modifiye edilmiş SBR derecelendirme sistemi (Nottingham derecelendirme sistemi) tercih edilmektedir ve Nottingham derecelendirme sisteminin kullanımı Amerika'da da artmaktadır (94). Bu sınıflama sisteminde tubul formasyonu, mitotik aktivite ve tümör diferansiasyonu 1-3 puan arasında skorlanır. Total skora göre derece belirlenir. Tubul formasyonu %10' un altındaysa 3 puan, %10-%75 arasındaysa 2, %75'in üzerindeyse 1 puanla skorlanır. Mitotik aktiviteyi değerlendirmek için mitozun en yoğun olduğu alanlar seçilir ve bu alanlarda mitoz sayılır. Mitoz sayılan alan mikroskoptan mikroskoba farklılık gösterebilir. Değişik mikroskop sahalarına göre mitoz sayıları Tablo 3'te gösterilmiştir (27). Pleomorfizm değerlendirmesi çevredeki sağlam glandlar baz alınarak yapılır. Normalden biraz büyük, düzgünce sınırlı, üniform kromatine sahip çekirdekli hücreler varsa 1 puanla, orta derecede boyut ve şekil farkı olan, veziküler çekirdekli, belirgin çekirdekçikli hücreler varsa 2 puanla , belirgin bir pleomorfizm varsa 3 puanla skorlanır. Her üç parametreden gelen puanlar toplandığında 3-5 puan Derece (grade) 1; 6-7 puan Derece (grade) 2; 8-9 puan Derece (grade) 3 olarak değerlendirilir (95).

SBR ye göre derecelendirme yapılan hastalarda hastaliksız sağ kalım ile derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur. Derece 3 olan hastaların rekürrens riski Derece 1 olanlara göre 4.4 kat artmıştır (96).

Tablo-3: Üç değişik mikroskop sahasına göre mitoz sayıları.

Sahanın çapı(mm)	0.44	0.59	0.63
Sahanın alanı (mm ²)	0.152	0.274	0.312
Mitoz sayısı			
1 puan	0-5	0-9	0-11
2 puan	6-10	10-19	12-22
3 puan	›11	›20	›23

III.E.f. Histolojik Tip

Meme tümörlerinin histolojik sınıflaması en son olarak 2012 yılında Dünya Sağlık Örgütüncü (DSÖ) yapılmıştır (84). Tablo-4'te yeni DSÖ sınıflaması görülmektedir. İnvaziv duktal karsinom memenin en sık görülen malign tümörüdür. E-kaderin ekspresyonu göstermeleriyle invaziv lobüler karsinomalardan ayrılırlar. Tubuler, adenoid kistik karsinom, müsinöz karsinomaların prognozu diğer alt tiplere göre daha iyidir (97- 99).

TABLO-4: 2012 DSÖ meme tümörleri sınıflaması.

<p>Epitelyal tümörler</p> <p>invaziv karsinom NST(spesifik tip olmayan) (eski sınıflamada İnvaziv duktal karsinom, NOS)</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Mikst karsinom✓ Pleomorfik karsinom✓ Osteoklastik dev hücreli karsinom✓ Koryokarsinomatöz özellikleri olan karsinom✓ Melanotik özellikleri olan karsinom <p>İnvaziv lobüler karsinom</p> <p>Tübüler karsinom</p> <p>İnvaziv kribriform karsinom</p> <p>Medüller karsinom</p> <p>Müsinöz karsinom ve bol müsin içeren diğer tümörler</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Müsinöz karsinom✓ Kistadenokarsinom ve prizmatik hücreli müsinöz karsinom✓ Taşlı yüzük hücreli karsinom <p>Nöroendokrin tümörler</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Solid nöroendokrin hücreli karsinom✓ Apikal karsinoid tümör✓ Küçük hücreli / yulaf hücreli karsinom✓ Büyük hücreli nöroendokrin karsinom <p>İnvaziv papiller karsinom</p> <p>İnvaziv mikropapiller karsinom</p> <p>Apokrin karsinom</p> <p>Metaplastik karsinomlar</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Saf epitelyal metaplastik karsinomlar<ul style="list-style-type: none">○ Skuamoz hücreli karsinom○ İğsi hücre metaplazili adenokarsinom○ Adenoskuamoz karsinom○ Mukoepidemoid karsinom✓ Mikst epitelyal/mezenkimal metaplastik karsinomlar <p>Lipidden zengin karsinom</p> <p>Sekretuar karsinom</p> <p>Onkositik karsinom</p> <p>Adenoid kistik karsinom</p> <p>Asinik hücreli karsinom</p> <p>Glikojenden zengin berrak hücreli karsinom</p> <p>Sebaseöz karsinom</p> <p>İnflamatuar karsinom</p> <p>Lobüler neoplazi</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Lobüler karsinoma in situ <p>İntraduktal proliferatif lezyonlar</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Olağan duktal hiperplazi (Usual ductal hyperplasia)✓ Düz epitelyal atipi (Flat epithelial atypia)✓ Atipik duktal hiperplazi✓ Duktal karsinoma in situ <p>Mikroinvaziv karsinom</p> <p>İntraduktal papiller neoplaziler</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Santral papillom✓ Periferik papillom✓ Atipik papillom✓ İntraduktal papiller karsinom✓ İntrakistik papiller karsinom <p>Benign epitelyal proliferasyonlar</p> <ul style="list-style-type: none">✓ Adenozis (varyantlar dahil)<ul style="list-style-type: none">○ Sklerozan adenozis○ Apokrin adenozis○ Blunt duktus adenozis○ Mikroglandüler adenozis○ Adenomyoepitelyal adenozis✓ Radyal skar/kompleks sklerozan lezyon✓ Adenomlar<ul style="list-style-type: none">○ Tübüler adenom○ Laktasyon adenomu○ Apokrin adenom○ Pleomorfik adenom○ Duktal adenom <ul style="list-style-type: none">• Myoepitelyal lezyonlar	<p>Myoepitelyozis</p> <p>Adenomyoepitelyal adenozis</p> <p>Adenomyoepitelyoma</p> <p>Malign myoepitelyoma</p> <ul style="list-style-type: none">• Mezenkimal tümörler<ul style="list-style-type: none">HemanjiomaAngiomatozisHemangioperisitomPsödoangiomatöz stromal hiperplaziMyofibroblastomaFibromatozis (agresif)İnflamatuar myofibroblastik tümörLipom<ul style="list-style-type: none">✓ AnjiolipomGranüler hücreli tümörNörofibromSchwannomaAnjiosarkomLiposarkomRabdomyosarkomOsteosarkomLeiomyomLeiomyosarkom• Fibroepitelyal tümörler<ul style="list-style-type: none">FibroadenomFilloides tümörü<ul style="list-style-type: none">✓ Benign✓ Borderline✓ MalignPeriduktal stromal sarkom , düşük dereceliMeme hamartomu• Meme başı tümörleri<ul style="list-style-type: none">Meme başı adenomuSiringomatöz adenomMeme başının Paget hastalığı• Malign lenfoma<ul style="list-style-type: none">Diffüz büyük B-hücreli lenfomaBurkitt lenfomaMALT tipi ektranodal marjinal-zon-B-hücreli lenfomaFoliküler lenfoma• Metastatik tümörler
---	--

III.E.g. Neoadjuvan Tedavi Yanıtı

Neoadjuvan kemoterapi alan olgularda hem primer tümör hem de aksiller metastazlar neoadjuvan kemoterapiden fayda görmektedir. Neoadjuvan kemoterapiye yanıt olması iyi prognoz göstergesidir (100).

III.E.h. Östrojen Reseptörü/Progesteron Reseptörü Durumu

Östrojen ve progesteron reseptör durumu invaziv meme karsinomlarında hem prognostik hem de prediktif değere sahiptir. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B06 projesinin adjuvan ve neoadjuvan kemoterapi yapılmadan sadece lumpektomi, mastektomi veya lumpektomi ve radyoterapi uygulanan hastalarla yapılan randomize çalışmada östrojen reseptörü pozitif olan hastaların hastalıksız 5 yıllık sağ kalımları %75, östrojen reseptörü negatif olan hastalarda hastalıksız 5 yıllık sağ kalımları %66 bulunmuştur (101). ER pozitifliği meme karsinomunda güçlü bir prediktif faktördür. 5 yıllık adjuvan tamoksifen (selektif östrojen reseptör blokörü) kullanımı sonrasında meme karsinomu rekürrens riski %47, mortalite riski %26 azalmıştır (102).

III.E.i. Her2/*neu* Gen Ampifikasyonu ve/veya Aşırı Ekspresyonu

Her2/*neu* 17q21'de lokalize bir proto-onkogendir. İntrinsik tirozin kinaz aktivitesine sahip epidermal growth faktör benzeri bir transmembran glikoproteini kodlar. Genin aşırı ekspresyonu durumunda tümör daha agresif bir yapı kazanır; rekürrens riski ve mortalite riski artar (103). Transtuzumab (Herceptin) aşırı eksprese olan Her2/*neu*'ü hedef alan monoklonal bir antikordur.

III.E.j. Nekroz

Tümör hücre nekrozu tümör boyutu ve tümör derecesi ile ilişkili bir özelliktir. Yaygın intratümöral hipoksi durumunda tümör hücreleri nekroza gider. Nekroz çevresi tümör hücrelerinde yüksek oranda hipoksi- inducible faktör 1 (HİF1) salgılanır. HİF1 metastaz yolağını indükleyen bir faktördür (104).

III.E.k. Tümör Hücre Proliferasyonu

Amerikan Klinik Onkoloji Cemiyeti son guide line'a almamış olsa da tümör hücre proliferasyonu meme kanserinde hem prognostik hem prediktif bir faktördür. Tümör hücre proliferasyonu nükleer Ki 67 immunohistokimyasal belirteci ile saptanabilir. Ki 67 nükleer ekspresyonu yüksek ise prognoz kötüdür; ancak bu olguların kemoterapiye yanıtları yüz güldürücüdür (105).

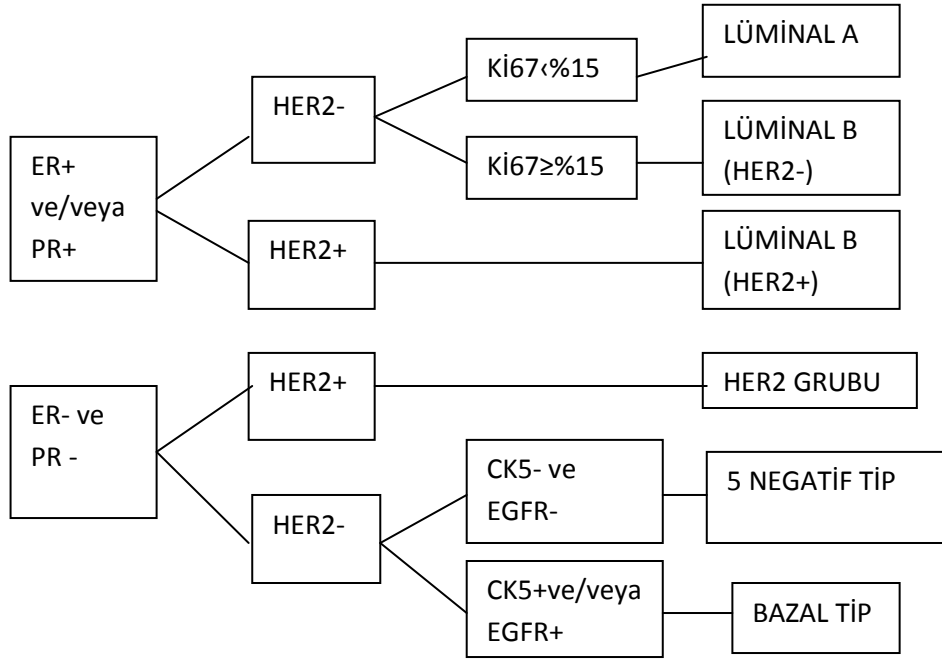
III.E.I. Meme Kanserinde Moleküler Alt Gruplar

İmmünohistokimyasal ve in situ hibridizasyon tekniklerin kullanımıyla birlikte meme kanserleri moleküler olarak Luminal A, Luminal B (HER2-), Luminal B (HER2+), HER2 tip, Bazal fenotip ve 5 negatif fenotip olmak üzere altı alt gruba ayrıldılar. Tablo 5 'te moleküler subgruplar özetlenmiştir.

1. Luminal A grubunda ER ve/ veya PR pozitifdir. HER2 negatifdir. Ki 67 proliferatif aktivite indeksi %15'in altındadır.
2. Luminal B (HER2-) grubunda ER ve/ veya PR pozitifdir. HER2 negatifdir. Ki 67 proliferatif aktivite indeksi %15'in üstündedir.
3. Luminal B (HER2+) grubunda ER ve/ veya PR ve HER2 pozitifdir.
4. HER2 grubu meme karsinomlarında ER ve PR negatifdir. HER2 pozitifdir.
5. 5 negatif fenotipte ER, PR, HER2, CK5 ve EGFR negatifdir.
6. Bazal fenotipte ER, PR, HER2 negatifken CK5 ve/ veya EGFR pozitifdir.

Uzun süreli takiplerde ilk 5 yılda ölüm oranları en fazla HER2 ve 5 negatif fenotiplilerde görülür (107).

Tablo-5: Meme kanserinde moleküler alt gruplar.



III.E.m. BRCA1

Hall ve arkadaşları BRCA1 geninin 17q kromozomunda yerleştiğini 1990 yılında saptamışlardır. Genetik sekansı da Miki ve arkadaşları tarafından 1994 yılında yapılmıştır (108, 109). BRCA1 geni 22 eksondan oluşur ve 1863 aminoasitlik bir protein kodlar. proteinin N- terminal ucunda RING zincir finger parçası, C- terminal uçta da iki tane BRCT tekrarı vardır (110). BRCA1 esansiyel bir gen olduğu için BRCA1'in kaybı meme ve over dokuları dışındaki dokularda hücre proliferasyonunda ciddi bir azalmaya veya hücre ölümüne neden olacaktır. BRCA1 bir tümör süpresör genidir. BRCA1 DNA tamiri sırasında oluşan çift zincir kırıklarının oluşmasını engeller. Bu işlem sırasında BRCA2 ve Rad51 ile ortak çalışmaktadır. BRCA1 geninde germline mutasyonlar doğrudan DNA tamir hasarlarına neden olur. Meme karsinogenezi aşamasında BRCA1 mutasyonu ile başlayan kaskadın tamamı çözülebilmemiş değildir. Örneğin BRCA1 ile ilişkili meme kanserlerinin %90'dan fazlasında p53 geni inaktiftir. Genel kanı mutasyonlu hücrelerin hayatta kalıp üzerlerine ilave mutasyonlar (PTEN ve p53 gibi) ve DNA hasarları alabildikleri yönündedir. Bunun nedeni de sürekli bölünme potansiyeli taşımadıkları için meme ve overlerdeki hücrelerin sağlam BRCA1 geni

olmadan diğerk dokulara nazaran daha uzun süre yaşayabilmeleridir (111). Ayrıca BRCA1 gen mutasyonlu meme dokusuna spesifik olarak ER aracılıklı bir yolla mutant meme hücrelerinin apoptozdan korunduğı gösterilmiştir. BRCA1 DNA tamir görevi dışında hücre siklusunda kontrolör olarak rol oynar ve ayrıca da transkripsiyon regülatörü olarak çalışır. Oksidatif stres karsinogenezde önemli bir basamak olabilir. Oksidatif strese hücre içindeki ilk yanıt NRF2 aracılıklı antioksidan yoldur. BRCA1 NRF2 transkripsiyon faktörünü etkileyerek oksidatif stresi dengeler (112).

BRCA1 gen mutasyonu olan hastalarda hayat boyu meme kanserine yakalanma riski %80'lere kadar yükselir. BRCA1 ve BRCA2'deki germline mutasyonlar herediter meme kanserlerine neden olmaktadır. BRCA1 germline mutasyon taşıyıcılarında gözlenen kanserler ve sporadik üçlü negatif meme kanserleri arasındaki benzerlikler BRCA1 inaktivasyonunun bazı sporadik tümörlerde rol aldığını göstermiştir (113).

İmmünohistokimyasal boyama yöntemi rutinde olgulara kolaylıkla uygulanabildiğinden, genetik analizlere göre daha kolay, ucuz ve kısa sürede sonuç alınan bir değerlendirme yöntemidir. BRCA1 immünohistokimyasal ekspresyonunu genetik analizler ve diğer prognostik parametrelerle korelasyonunun bulunması hastaların değerlendirilmesinde yol gösterici olacaktır. Bu konuda günümüze kadar yapılan çalışmalarda tam bir görüş birliğine ulaşılamamıştır.

Bu doğrultuda çalışmamızın amacı; meme kanseri olgularında immünohistokimyasal olarak BRCA1'in ekspresyon özelliklerini değerlendirip, bunların genetik yöntemlerle tespit edilmiş BRCA1 mutasyonları ile ve prognostik parametrelerle olan ilişkilerini incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

I. Olgu Seçimi

I.A. Olgu Seçimi

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 27-05-2014 tarihinde 2014-11/6 sayılı etik kurul onayı alındı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı'nda bilgisayar ortamında oluşturulan arşiv kayıtlarındaki raporlar incelenerek 2008-2010 yılları arasında invaziv meme karsinomu tanısı almış 99 olgunun tıbbi kayıtlarına ulaşıldı. Olgulardan 95'i 2008, biri 2009, üçü 2010 yılında ilk kez meme kanseri tanısı almıştı. Olguların tümü kadındır. Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı'ndan olgulardan 12'sine BRCA1 gen mutasyon analizi yapıldığı öğrenildi.

Hastaların klinik parametrelerini belirlemek amacıyla elektronik hasta dosyalarından yararlanıldı. Elektronik arşiv sisteminden hastaların iletişim bilgileri alındı. Hasta ya da hasta yakınına ulaşılarak total sağkalım süreleri belirlendi.

I.B. Olguların Hazırlanması ve Değerlendirilmesi

I.B.a.Histopatolojik Değerlendirme

Olguların histopatolojik değerlendirmesinde kullanılan tümör çapı, histolojik tümör tipi, tümörün nükleer derecesi (grade), aksiller lenf nodu metastazı,neoadjuvan kemoterapi, uzak metastaz, tümör yerleşimi bilgilerine olgulara ait patoloji raporlarından ve elektronik hasta dosyalarından ulaşıldı.

Nükleer derecelendirme için Modifiye Bloom-Richardson derecelendirme sistemi kullanıldı. Tablo-3 ve Tablo-6'da derecelendirme yapılırken kullanılan parametreler ve skorları gösterilmiştir (27).

Tablo- 6: Modifiye Bloom-Richardson sistemi.

Özellik	Puanlama	Tanım
Tübül formasyonu	1 puan	Tümörün %75'inden fazlasında tübül formasyonu
	2 puan	Tümörün %10-75'inde tübül formasyonu
	3 puan	Tümörün %10'undan azında tübül formasyonu
Nükleer pleomorfizm	1 puan	Çekirdeklerin boyutu ve şeklinde minimal varyasyon
	2 puan	Çekirdeklerin boyut ve şeklinde orta düzeyde varyasyon
	3 puan	Çekirdeklerin boyutu ve şeklinde belirgin varyasyon
Mitotik indeks	1 puan	Düşük
	2 puan	Orta
	3 puan	Yüksek
Toplam	3-5	Düşük (Grad I)
	6-7	Orta (Grad II)
	8-9	Yüksek (Grad II)

I.B.b. İmmünohistokimyasal Yöntem ve Değerlendirme

İmmünohistokimya çalışmalarının sağlıklı yapılabilmesi için her bir antikor için kontrol blokları belirlendi. ER, PR ve cerbB2 için invaziv duktal karsinoma, BRCA1 için normal meme dokusu ve Ki67 için invaziv duktal karsinoma kontrol blokları seçilerek bu dokularda uygun inkübasyon süreleri ve konsantrasyonlar belirlendi.

Olgulara ait parafin bloklardan birer adet HE boyanması için, 5 adet immünohistokimyasal boyama için toplam 6'şar lama 3 mikrometre kalınlığında kesitler hazırlandı. İmmünohistokimyasal yöntemde kullanılacak olan kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Bu preparatlar etüvde bir saat boyunca bekletilerek kurutuldu.

ER ile immünohistokimyasal boyama için bir saat etüvde bekletilen lamlar Bond Max İmmünohistokimya Boyama Cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki prosedür uygulandı:

- 1- 40 dakika deparafinizasyon
- 2-Sitrat ile pH:6'da antijen geri kazanım yöntemi.

3- Otuz dakika boyunca 1/50 dilüsyonda primer antikor inkübasyonu (Monoklonal fare anti-östrojen protein reseptör antikor -Novo Castra, Clone 6F11)

4- Altı dakika boyunca mixed DAB refine.

5-HE ile zıt boyama.

Makineden çıkarılan lamlar saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletildi. Ardından 3 kez 3 dakika boyunca ksilende bekletildi. Sakura Tissue-Tek Film kapama cihazında film ile kapama yapıldı.

İmmünohistokimyasal olarak ER ekspresyonu değerlendirilirken intranükleer boyanma oranına göre boyanan hücre yüzdesi belirlendi. Boyanma gözlenmeyen olgular negatif, boyanma gözlenen olgular pozitif olarak değerlendirildi.

PR ile immünohistokimyasal boyama için bir saat etüvde bekletilen lamlar Bond Max İmmünohistokimya Boyama Cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki prosedür uygulandı:

1- 40 dakika deparafinizasyon

2-EDTA ile pH:8'de antijen geri kazanım yöntemi.

3- Otuz dakika boyunca 1/100 dilüsyonda primer antikor inkübasyonu (Monoklonal fare anti-progesteron reseptör protein antikor -Novo Castra, Clone 16)

4- Altı dakika boyunca mixed DAB refine.

5-HE ile zıt boyama.

Makineden çıkarılan lamlar saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletildi. Ardından 3 kez 3 dakika boyunca ksilende bekletildi. Sakura Tissue-Tek Film kapama cihazında film ile kapama yapıldı.

İmmünohistokimyasal olarak PR ekspresyonu değerlendirilirken intranükleer boyanma oranına göre boyanan hücre yüzdesi belirlendi. Boyanma gözlenmeyen olgular negatif, boyanma gözlenen olgular pozitif olarak değerlendirildi.

C-erbB-2 ile immünohistokimyasal boyama için bir saat etüvde bekletilen lamlar Bond Max İmmünohistokimya Boyama Cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki prosedür uygulandı. 1- 40 dakika deparafinizasyon

2-Sitrat ile pH:6'da antijen geri kazanım yöntemi.

3- Otuz dakika boyunca 1/100 dilüsyonda primer antikor inkübasyonu (Monoklonal fare anti Her2 antikor -Novo Castra, Clone CB11).

4- Altı dakika boyunca mixed DAB refine.

5-HE ile zıt boyama.

Makineden çıkarılan lamlar saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletildi. Ardından 3 kez 3 dakika boyunca ksilende bekletildi. Sakura Tissue-Tek Film kapama cihazında film ile kapama yapıldı.

İmmünohistokimyasal olarak c-erbB-2 ekspresyonunun değerlendirilmesi için tümör hücrelerinde oluşan membranöz boyanmaya, boyanan hücrelerin yüzdesine ve boyanma gücüne bakıldı. Olgular immünohistokimyasal olarak skorlanırken "American Society of Clinical Oncology, College of American Pathologists (ASCO)" kriterleri baz alındı. Buna göre invaziv hücrelerde hiç boyanma olmaması Skor 0 olarak değerlendirildi. İnvaziv tümörün herhangi bir yüzdesinde, tümör hücrelerini tam çevrelemeyen veya belli belirsiz, zayıf membranöz boyanma olması veya invaziv tümör hücrelerinin %10'undan azında zayıf ve tam membranöz boyanma olması skor 1 olarak değerlendirildi. İnvaziv tümör hücrelerinin en az %10'unda belirgin olarak tüm hücreyi çevreleyen boyanma olmak şartı ile uniform olmayan veya orta yoğunlukta tam membranöz boyanma olması veya invaziv tümör hücrelerinin %30'u veya daha azında tam kuvvetli membranöz boyanma olması skor 2 olarak değerlendirildi. İnvaziv tümör hücrelerinin %30'undan fazlasında üniform, kuvvetli membranöz boyanma olması skor 3 olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal olarak skor 0 ve 1 negatif kabul edilirken skor 3 pozitif olarak değerlendirildi. Skor 2 boyanma ise kuşkulu olarak kabul edildi.

Ki67 ile immünohistokimyasal boyama için bir saat etüvde bekletilen lamlar Bond Max İmmünohistokimya Boyama Cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki prosedür uygulandı.

1- 40 dakika deparafinizasyon

2-EDTA ile pH:8'de antijen geri kazanım yöntemi.

3- Otuz dakika boyunca 1/250 dilüsyonda primer antikor inkübasyonu (Monoklonal fare anti ki67 antikor -Novo Castra, Clone MM1)

4- Altı dakika boyunca mixed DAB refine.

5-HE ile zıt boyama.

Makineden çıkarılan lamlar saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletildi. Ardından 3 kez 3 dakika boyunca ksilende bekletildi. Sakura Tissue-Tek Film kapama cihazında film ile kapama yapıldı.

İmmünohistokimyasal olarak Ki67 boyamasını değerlendirirken boyanmanın en yoğun olduğu alanda 100 hücre sayılarak çekirdek boyanması olanların sayısı belirlendi. Heterojen boyanmanın olduğu tümörlerde boyanmanın en yoğun olduğu alandaki boyanmanın ortalaması alındı.

BRCA1 ile immünohistokimyasal boyama için bir saat etüvde bekletilen lamlar Bond Max İmmünohistokimya Boyama Cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki prosedür uygulandı:

1- 40 dakika deparafinizasyon

2-EDTA ile pH:8'de antijen geri kazanım yöntemi.

3- Otuz dakika boyunca 1/80 dilüsyonda primer antikor inkübasyonu (Monoklonal fare anti BRCA1 antikor -Biocare, Clone MS110)

4- Altı dakika boyunca mixed DAB refine.

5-HE ile zıt boyama.

Makineden çıkarılan lamlar saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletildi. Ardından 3 kez 3 dakika boyunca ksilende bekletildi. Sakura Tissue-Tek Film kapama cihazında film ile kapama yapıldı.

İmmünohistokimyasal olarak hücre sitoplazmasında ve hücre nükleusunda BRCA1 ekspresyonu değerlendirildi. Hücre sitoplazmasında immünohistokimyasal olarak BRCA1 ile ekspresyon görülmediyse "immünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu negatif" olarak değerlendirildi. Hücre sitoplazmasında immünohistokimyasal olarak BRCA1 ile ekspresyon varsa "immünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu pozitif" olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu değerlendirilirken invaziv tümör hücre nükleuslarına bakıldı. İnvaziv tümör hücrelerinin nükleuslarında immünohistokimyasal olarak BRCA1 ile ekspresyon yoksa "immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu negatif" olarak değerlendirildi. İnvaziv tümör hücrelerinin %20'sinden azında immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu görülen olgular "Grup1" olarak değerlendirildi. İnvaziv tümör hücrelerinin %20-50'sinde immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu görülen olgular "Grup2" olarak değerlendirildi. İnvaziv tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasında immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu görülen olgular "Grup3" olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonunun olmaması veya immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonunun %20'nin altında olması "BRCA1 ekspresyon kaybı var"; immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonunun %20'nin üzerinde olması "BRCA1 ekspresyon kaybı yok" olarak kabul edildi.

I.B.c. Genetik Analiz ve Değerlendirme

Hastalarda BRCA1 veya BRCA2 gen mutasyonu olması ihtimalini düşündüren durumlar vardır. Bu durumlar aşağıda özetlenmiştir:

1)BRCA1 veya BRCA2 gen mutasyonu bilinen aile bireyi olması

2)Meme kanseri öyküsü olan ve aşağıdaki durumlardan bir veya birden fazlasını karşılamak:

- 40 yaşın altında meme kanseri olmak
- Ailede ikiden fazla yakın kadın akrabada herhangi bir yaşta meme kanseri veya epitelyal over kanseri öyküsü olması
- Yakın erkek akrabada meme kanseri öyküsü olması
- Kendisinde epitelyal over kanseri öyküsü olması
- Yakın akrabalarından birinde 50 yaşın altında meme veya epitelyal over kanseri olan 50 yaşın altında veya memesinde ikinci kez kanser olan hastalar
- Gen mutasyonu bilinen etnik gruba üye olmak

3)Gen mutasyonu bilinen etnik grup üyelerinde epitelyal over kanseri olması

4)Erkeklerde meme kanseri aşağıdaki kriterlerin bir veya daha fazlasını karşılamalı:

- Yakın erkek akrabaların bir veya daha fazlasında meme kanseri olması
- Bir veya daha fazla yakın kadın akrabada meme kanseri veya epitelyal over kanseri olması
- Gen mutasyonu bilinen etnik gruba üye olmak

5)Yukarıdaki kriterlerden herhangi birini taşıyan yakın bir akrabada meme kanseri olması

Yukarıdaki kriterleri karşılayan meme kanseri olgularına genetik olarak BRCA1 gen mutasyon analizi yapılmıştır.

Genetik analiz için gönderilen her olgudan periferik kan örneği toplandı. Standard kit prosedürler (Roche, Cat No: 11796828001, Germany) ile olguların DNA örnekleri elde edildi. Polimeraz zincir reaksiyonu DNA'nın tüm kodlayıcı eksonlarına uygulandı. Bu eksonlar içinde *BRCA1* (23 exons) da bulunmaktaydı. BRCA1'in kodlayıcı eksonları için primer modeller Egeli ve ark.'nın (114) bir çalışmasından alındı. PCR ile çoğaltılan DNA'lara PCR-product sequencing kit (DTCS, Quick Start Mix- M010812, USA) ile sekans analizi yapıldı. Sekans analizi sonuçları vahşi tip BRCA gen sekansları ile karşılaştırıldı. Sekans analizi sonuçları ve vahşi tip BRCA gen sekansları arasındaki ilişkiler ile meme/over kanser riski poatnsiyeli elektronik ortamda Ensemble Genome Browser (<http://www.ensembl.org/>), the human gene mutation database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php>), LOVD database (<http://www.lovd.nl/3.0/home>), and Human Genome Variation Society (<http://www.hgvs.org/dblist/dblist.html>) programları aracılığı ile değerlendirildi.

I.B.d. İstatistiksel Yöntem ve Değerlendirme

Çalışmada sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma kategorik değişkenler ise frekans ve ilgili yüzde değerleriyle ifade edilmişlerdir. Kategorik değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında Yates düzeltmeli ki-kare testi, Fisher'in kesin ki-kare testi ve Fisher-Freeman-Halton testi kullanılmıştır. Sağkalım sürelerinin hesaplanmasında Kaplan-meier yöntemi kullanılmış ve gruplar arası karşılaştırmalar Log-rank testi kullanarak

yapılmıştır. Mortalite üzerinde etkili olduğu düşünölen bağımsız risk faktörlerini belirlemek amacıyla Cox regresyon yöntemi kullanılmıştır. Analizler SPSS v.21 programında yapılmış olup, anlam düzeyi $\alpha=0,05$ olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Çalışma kapsamına Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 2008-2010 yılları arasında tanı almış, 99 meme karsinomu olgusu alındı. 2008 yılından 95 olgu, 2009 yılından 1 olgu, 2010 yılından 3 olgu çalışmaya dahil edildi. Olguların tıbbi bilgileri elektronik dosya sisteminden elde edildi. Total sağkalım bilgileri bilgisayar kayıt sisteminden ulaşılan iletişim bilgileri ile hasta ve hasta yakınlarından öğrenildi.

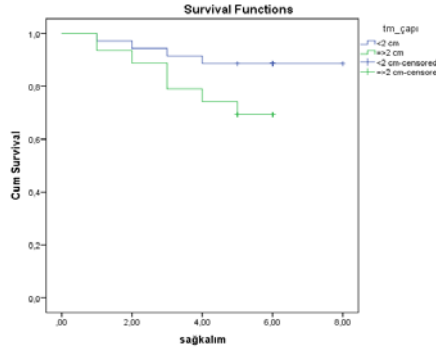
Çalışmaya alınan olguların tümü kadın hasta olup hastaların yaş ortalaması 53.03 ± 13.42 (29-82 yıl) 'dir. Hastaların total sağ kalım süreleri 5 ay ile 72 ay arasında değişmektedir. 23 (%23.2) hasta eks olmuştur. Eksitus olan hastaların tümü 2008 yılında tanı alan hastalardır.

Tümör yerleşimi 59 (%59.6) olguda sol memede, 37(%37.4) hastada sağ memede olup; 3 (%3) hastada bilateral yerleşimlidir. Total sağ kalım süreleri sağ meme yerleşimli tümörlerde ortalama 4.89 ± 0.29 yıl; sol meme yerleşimli tümörlerde ortalama 5.51 ± 0.16 yıldır. Tümörün sağ veya sol meme yerleşimli olmasıyla total sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p = 0.067$). Tablo-7'de çalışmadaki bulguların özeti görünmektedir.

Tablo-7: Çalışmadaki olguların klinikopatolojik bulguları.

Tümör yerleşimi	Sayı (%)
Sağ / Sol	37 (37.4)59 (59.6)
Bilateral	3 (3)
Tümör çapı	
<2 cm	36 (36.1)
≥2cm	63 (63.9)
Histolojik tip	
Duktal	83 (%83.8)
Lobuler	7 (7.1)
Müsinöz	5 (5.1)
Apokrin	1 (1)
Metaplastik	1 (1)
Sekretuar	1 (1)
Papiller	1 (1)
Histolojik derece	
1	17 (17.2)
2	45 (45.5)
3	37 (37.4)
Lenf nodu metastazı	
Yok	40 (40.4)
Mikrometastaz	12 (12.1)
≥1 metastaz	47 (47.5)
Uzak metastaz	
Yok	69 (69.7)
Var	30 (30.3)
Neoadjuvan kemoterapi	
Yok	75 (75.8)
Var	24 (24.2)
ER	
Negatif	35 (35.4)
Pozitif	64 (64.6)
PR	
Negatif	40 (40.4)
Pozitif	59 (59.6)
Erb B2	
0	62 (62.6)
1	7 (7.1)
2	6 (6.1)
3	24 (24.2)
Ki 67	
<150	37 (37.4)
≥150	62 (62.6)
Moleküler altgrup	
Luminal A	23 (24.7)
Luminal B (Her2 negatif)	22 (23.7)
Luminal B (Her2 pozitif)	13 (14)
Her2	9 (9.7)
Triple negatif	19 (20.4)
BRCA1 gen mutasyon durumu	
Mutasyon var	9 (9.1)
Mutasyon yok	3 (3.0)
BRCA1 immünohistokimyasal boyanma özelliği	
Sitoplazmik boyanma	
Var	80 (80.8)
Yok	19 (19.2)
Nükleer boyanma	
Yok	29 (29.3)
%0-20 arası boyanma	39 (39.4)
%21-50 arası boyanma	22 (22.2)
≥%50	9 (9.1)
Nükleer ekspresyon kaybı	
Var	68 (68.7)
Yok	31 (31.3)

Tümör çapı 35 (%35.4) hastada 2 cm'nin altındadır. Tümör çapı 2 cm'nin altında olan olgularda ortalama sağkalım 7.37 ± 0.30 yıl; 2 cm'nin üzerinde olanlar olgularda 5.04 ± 0.20 yıl olarak bulundu. Tümör çapının 2 cm'nin altında olması ile total sağkalım arasında **istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu $p=0.03$** . Tümör çapının sağkalım üzerine etkisi Grafik-1'de görülmektedir.



Grafik- 1: Tümör çapının sağkalım üzerine etkisi.

Mikroskopik tip açısından değerlendirildiğinde olguların çoğu invaziv duktal karsinoma (83 olgu) histolojik tipinde; geri kalanlar ise sırayla invaziv lobüler karsinom (7 olgu), müsinöz karsinom (5 olgu), apokrin karsinom (1 olgu), metaplastik karsinom (1 olgu), sekretuar karsinom (1 olgu), papiller karsinom (1 olgu) tipindedir. 5 yıllık sağ kalım invaziv duktal karsinomlu olgular için %78.3 iken invaziv lobuler karsinomlu olgular için %42.9'dur. Oransal olarak belirgin bir fark olmasına rağmen invaziv duktal karsinoma ve invaziv lobuler karsinomlu olguların arasında sağkalım açısından anlamlı istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.078$). Müsinöz karsinomlu olguların hiçbirinde takip süreleri boyunca ölüm gözlenmedi (Resim-1 invaziv duktal karsinoma, Resim-2 invaziv duktal karsinoma).

Modifiye Bloom Richardson derecelendirme sistemine göre 17 (%17.1) hasta derece 1; 45 (%45.5) hasta derece 2; 37 (%37.4) hasta ise derece 3 olarak saptandı. 5. yıl sonunda derecesi 2 olan olguların %84.4'ü hayattayken derecesi 3 olan olguların %70'i hayattadır. Modifiye Bloom Richardson derecelendirme sistemine göre nükleer dereceler arasında total sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.25$).

Negatif, 9 olgu da Her2 grubundaydı. Olgularımız 5 negatif grup ve Bazal Benzeri grup açısından değerlendirilmedi. Olguların 6'sında Her2/neu şüpheli boyandığı için bu olgular genetik sınıflamaya dahil edilmedi. 7 olguda ise immünohistokimyasal olarak ER negatif, PR pozitif boyandı. Bu olgular da genetik sınıflamaya dahil edilmediler.

Genetik sınıflamaya göre Luminal A grubundaki 23 olgunun 5 yıllık sağ kalım oranı % 90.4±0.04 olarak bulundu. Luminal A grubu hastalarla diğer hastalar arasında yaşam süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0.31).

Luminal A grubundaki olguların %56.5'inde tümör çapı 2 cm'nin altındayken; Luminal A dışında kalan (Luminal B (Her2 negatif), Luminal B (Her2 pozitif), Triple negatif, Her2 Grubu) olguların %27.5'inde tümör çapı 2 cm'nin altında bulundu. Tümör çapı bakımından Luminal A ve Luminal A dışında kalanlar arasındaki **fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.023)**.

Luminal A grubundaki olgular ile diğer olgular arasında lenf nodülü metastazı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0.944).

Luminal A grubundaki olguların 6'sında uzak organ metastaz mevcuttu. Diğer olguların 21'inde uzak metastaz görüldü. İki grup arasında uzak organ metastazı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0.925).

Luminal A grubundaki olguların immünohistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik ekspresyon durumu ile diğer olguların immünohistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (p=0.143).

Luminal A grubundaki olguların immünohistokimyasal olarak BRCA1'in nükleer ekspresyon durumu ile diğer olguların immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p=0.073).

Luminal A grubundaki olgularla diğer olgular arasında derecelendirmeye göre farklılık mevcuttu (p=0.003). Luminal A grubundaki olguların %34.8'i derece 1 iken; diğer olguların %10'u derece 1'di. Luminal A olgular daha sık derece 1'dir. Luminal A grubu olgularla diğer olgular

arasında derece 1 olma durumu bakımından **istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur (p=0.009)**.

Luminal A grubundaki olguların %52.2'si derece 2 iken; diğer olguların %44.3'ü derece 2'dir. Luminal A grubu olgularla diğer olgular arasında derece 2 olma durumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0.676).

Luminal A grubundaki olguların %13'ü derece 3 iken; diğer olguların %45.7'si derece 3 idi. Luminal A olgular daha düşük oranda derece 3'tür. Luminal A grubu olgularla diğer olgular arasında derece 3 olma durumu bakımından **istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (p<0.011)**.

Genetik sınıflamaya göre Luminal B (Her2 negatif) grubundaki 22 olgunun ortalama yaşam süresi 5.938 ± 0.63 yıldır. Luminal B (Her 2 negatif) olmanın sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi bulunmadı (0.916). Luminal B (Her2 negatif) grubundaki olgularla Luminal B (Her2 negatif) olmayan olgular arasında tümör derecesi, tümör çapı, lenf nodülü metastazı veya uzak organ metastaz durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0.955, p=0.384 p=0.554, p=1.0). Luminal B (Her2 negatif) olgularda immünohistokimyasal olarak BRCA1 ile sitoplazmik boyanma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi (p=1.0). Luminal B (Her2 negatif) olguların %9.1'i, Luminal B (Her2 negatif) dışındaki olguların %38.0'i immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu göstermemektedir. Luminal B (Her2 negatif) olgular ile Luminal B (Her2 negatif) dışında kalan olgular arasında immünohistokimyasal olarak **nükleer BRCA1 ekspresyonunun olmaması istatistiksel olarak anlamlı bulundu (0.033)**.

Genetik sınıflamaya göre Luminal B (Her2 pozitif) grubundaki 13 olgunun ortalama yaşam süresi 5.778 ± 0.147 yıldır. Luminal B (Her2 pozitif) grubun sağkalım üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi bulunmadı (p=0.056). Luminal B (Her2 pozitif) grubundaki olgularla Luminal B (Her2 pozitif) olmayan olgular arasında tümör derecesi, tümör çapı, veya uzak organ metastaz durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=1.0, p=0.762, p=0.75). Luminal B (Her2 pozitif) olgularda

immünohistokimyasal olarak BRCA1 ile sitoplazmik veya nükleer boyanma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ($p=0.725$, $p=0.845$). Luminal B (Her2 pozitif) olguların %30.8'inde lenf nodülünde mikrometastaz saptanırken Luminal B (Her2 pozitif) dışındaki olguların %8.8'de lenf nodülünde mikrometastaz saptandı. Luminal B (Her2 pozitif) olgularla Luminal B (Her2 pozitif) dışında kalan olgular arasında **lenf nodülünde mikrometastaz görülmesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur ($p=0.044$)**.

Genetik sınıflamaya göre Triple negatif olan olgular ortalama 5.913 ± 0.193 yıl yaşarken triple negatif olmayan olgular ortalama 5.949 ± 0.029 yıl yaşadılar. Genetik sınıflamaya göre Triple negatifliğin yaşam süresi üzerine istatistiksel olarak anlamlı etkisi bulunmadı ($p=0.822$).

Triple negatif olgularla Triple negatif olmayan olgular arasında derece bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0.007$). triple negatif olguların %68.4'ü derece 3 iken triple negatif olmayan olguların %29.7'si derece 3'tür. Triple negatif olgularla diğer olgular arasında derece 3 olma durumu bakımından **istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0.005$)**.

Triple negatif grubundaki olgularla Luminal Triple negatif olmayan olgular arasında tümör çapı, lenf nodülü metastazı veya uzak organ metastaz durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.762$, $p=0.977$, $p=0.75$). Triple negatif olgularda immünohistokimyasal olarak BRCA1 ile sitoplazmik veya nükleer boyanma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ($p=0.725$, $p=0.845$).

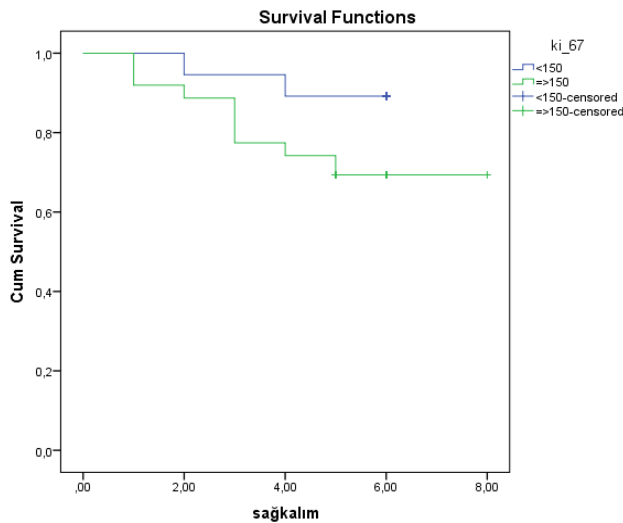
Genetik sınıflamaya göre Her2 grubundaki 9 olgunun ortalama yaşam süresi 5.955 ± 0.047 yıldır. Her2 grubun sağkalım üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi bulunmadı ($p=0.573$). Her2 grubundaki olgularla Her2 olmayan olgular arasında tümör derecesi, tümör çapı, lenf nodülü metastazı veya uzak organ metastaz durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.152$, $p=1.0$, $p=1.0$, $p=1.0$). Her2 olgularda immünohistokimyasal olarak BRCA1 ile sitoplazmik veya nükleer boyanma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ($p=1.0$, $p=0.291$).

Olguların tamamının Ki67 proliferatif aktivite indeksi, ER, PR ve cerbB2 ekspresyon durumu eksizyon materyallerinden değerlendirildi. İmmünohistokimyasal olarak ER ekspresyonu toplam 64 olguda (%64.6) pozitif. İmmünohistokimyasal olarak PR ekspresyonu toplam 59 olguda (%59.6) pozitif (Resim-3: İmmünohistokimyasal olarak ER ekspresyonu, Resim-4: İmmünohistokimyasal olarak PR ekspresyonu, Resim-5: İmmünohistokimyasal olarak cerbB2 ekspresyonu).

5 yıllık sağkalım ER pozitif olan olgularda %78.1 iken; ER negatif olan olgularda 5 yıllık sağkalım %74.3 olarak saptandı.

PR pozitif olgular ortalama 5.7 ± 0.19 yıl hayatta kaldı. PR negatif olgular ise ortalama 6.95 ± 0.34 yıl hayatta kaldı. İstatistiksel olarak PR ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.54$).

Ki 67 proliferatif aktivite indeksi düşük olan olguların total sağkalım süresi 5.67 ± 0.16 yılken; Ki 67 proliferatif aktivite indeksi yüksek olan olgularda total sağkalım süresi 6.40 ± 0.32 yıldır. Ki67 proliferatif aktivite indeksinin yüksekliği ile sağkalım süresinin kısalması arasında **istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0.02$)**. Grafik-3'te Ki 67 proliferatif aktivite indeksinin sağkalım üzerine etkisi görülmektedir.



Grafik-3: Ki 67 proliferatif aktivite indeksinin sağkalım üzerine etkisi.

12 (%12.1) olguda genetik değerlendirme ile BRCA1 mutasyon analizi bakılmış olup bunların 9 (%9.1)'unda agresif BRCA1 gen mutasyonu saptandı. Gen mutasyonu saptanan olguların yaş ortalaması 43.0 ± 13.07 'dir. 3 olguda genetik olarak BRCA1 mutasyonu saptanmadı. BRCA1 gen mutasyonu saptanmayan olgu sayısı 5'in altında olduğu için BRCA1 gen mutasyonu olan grupla BRCA1 gen mutasyonu olmayan grup arasında istatistiksel olarak karşılaştırma yapılamadı. Tablo-8'de BRCA1 geninde mutasyon saptanan olguların BRCA1 gen mutasyon özellikleri gösterilmiştir.

Tablo-8: Olguların BRCA1 gen mutasyon özellikleri.

Olgu Sayısı	Gen	Ekson	Nükleotid	Kodon	Baz değişimi	Aminoasit değişimi	Mutasyon tipi	Mutasyon etkisi	HGMD	BIC	Ensemble	LOVD
1	BRCA1	10-2	1643	508	delC	Pro→Stop	Frame-shift	Fs(stop)	+ ^a	+	+	-
1	BRCA1	10-6	3664	1182	delA	Gln→Arg	Frame-shift	Fs(stop)	- ^b	-	-	-
3	BRCA1	19	5366	1750	insT	Lys→Stop	Frame-shift	Fs(stop)	-	-	-	-
4	BRCA1	20	5382	1756	insC	Gln→Pro	Frame-shift	Fs(stop)	+	+	+	+

^a+:Raporlanmış; ^b -:Novel

BRCA1 geninde mutasyon olan olguların triple negatif hormon profili durumları ve immünohistokimyasal olarak Ki67 proliferatif aktivite indeksleri değerlendirildi. BRCA1 geninde mutasyon varlığı ile bu olguların triple negatif hormon profiline sahip olmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.49$). BRCA1 geninde mutasyon varlığı ile Ki 67 proliferatif aktivite indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p=1.0$).

BRCA1 ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesinde 80 olguda (%80.8) sitoplazmik ekspresyon saptandı. 19 (%19.2) olguda ise sitoplazmik ekspresyon görülmedi.

BRCA1 ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesinde nükleer ekspresyon varlığı da değerlendirildi. Nükleer ekspresyon gözlenmeyen 29 (%29.3) olgu mevcuttu. Grup 1'de (tümör hücrelerinde 0-%20 arasında nükleer ekspresyon) 39 (%39.4) olgu, grup 2'de (%21-%50 arasında nükleer ekspresyon) 22 (%22.2), grup 3'te (%51 ve üzerinde nükleer ekspresyon) 9 (%9.1) olgu saptandı.

BRCA1 geninde mutasyon saptanan olgularla immünhistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0.39$).

BRCA1 geninde mutasyon saptanan olgularla immünhistokimyasal olarak BRCA1'in nükleer ekspresyonu durumu arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.43$).

İmmünhistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu olan olgular 5.95 ± 0.24 yıl; sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu olmayanlar 4.89 ± 0.36 yıl yaşadı. Sitoplazmik BRCA1 ekspresyonunun varlığı ve yokluğu ile ortalama total sağkalım süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0.129$). Tablo- 9'da immünhistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu ile diğer parametrelerin ilişkisi görülmektedir (Resim-6 İmmünhistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu negative, Resim-7 İmmünhistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu pozitif).

Tablo-9: İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu ile diğer parametrelerin ilişkisi.

	BRCA1 sitoplazmik negatif (sayı,(%))	BRCA1 sitoplazmik Pozitif (sayı,(%))	p değeri
Tümör çapı			0.470
<2cm	2 (26.3)	31 (38.5)	
≥2cm	14 (73.7)	9 (61.5)	
Derece			0.400
1	4 (21.1)	13 (16.3)	
2	6 (31.5)	39 (48.8)	
3	9 (47.4)	18 (35)	
Aksiller lenf nodu metastazı			0.343
yok	10 (52.6)	30 (37.5)	
mikrometastaz	3 (15.8)	9 (11.3)	
makrometastaz	6 (31.6)	41 (51.3)	
Uzak organ metastazı			0.886
Yok	14 (73.7)	55(68.8)	
Var	5 (26.3)	25(31.3)	
ER			0.137
Negatif	10(52.6)	25 (31.3)	
Pozitif	9 (47.4)	55 (68.8)	
PR			0.142
Negatif	11 (57.9)	29 (36.3)	
Pozitif	8 (42.1)	51 (63.7)	
Ki67			0.398
Düşük	5 (26.3)	32 (40)	
Yüksek	14 (73.7)	48 (60)	
HER2/neu			
Negatif	14 (73.7)	55 (68.8)	
Şüpheli	0 (0)	6 (7.5)	
Pozitif	5 (26.3)	19 (23.8)	
Toplam	19	80	

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0.47).

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu ile çalışmamızda en sık görülen iki tümör tipi arasında (invaziv duktal, invaziv lobüler karsinom) istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=1.0).

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu durumu ile histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0.4$).

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyon durumu ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.34$).

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyon durumu ile uzak metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.88$).

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyon durumu ile immünohistokimyasal olarak ER ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.137$).

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyon durumu ile immünohistokimyasal olarak PR ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.142$).

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyon durumu ile Ki 67 proliferatif aktivite indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.39$).

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu olmayan olgular 6.72 ± 0.43 yıl; grup 1 olgular 5.38 ± 0.23 yıl; grup 2 olgular 5.18 ± 0.31 yıl; grup3 olgular 5.11 ± 0.45 yıl hayatta kaldılar. İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.47$). İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile diğer parametrelerin ilişkisi Tablo-10'da görülmektedir (Resim-8: İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu Grup1, Resim-9: İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu Grup2, Resim-10: İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu Grup3).

Tablo-10: İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile diğer parametrelerin ilişkisi.

	BRCA1 nükleer boyanma yok	BRCA1 nükleer boyanma <%20 (sayı,(%))	BRCA1 nükleer boyanma %20-50 (sayı,(%))	BRCA1 nükleer boyanma >%50 (sayı,(%))	p değeri
Tümör çapı					0.988
<2cm	11 (37.9)	14 (35.9)	7 (33.3)	3 (37.5)	
≥2cm	18 (62.1)	25 (64.1)	14 (66.7)	5 (62.5)	
Derece					0.699
1	9 (13.8)	8 (20.5)	4 (18.2)	1 (11.1)	
2	10 (34.5)	19 (48.7)	11 (50.0)	5 (55.6)	
3	15 (51.7)	12 (30.8)	7 (31.8)	3 (33.3)	
Aksiller lenf nodülü metastazı					0.750
Yok	13 (44.8)	17 (46.3)	8 (36.4)	2 (22.2)	
mikrometastaz	4 (13.8)	3 (7.79)	4 (8.2)	1 (11.1)	
makrometastaz	12 (41.4)	19 (48.7)	10 (45.5)	6 (66.7)	
Uzak organ metastazı					0.226
Yok	23 (79.3)	28 (71.8)	14 (63.6)	4 (44.4)	
Var	61 (20.7)	11 (28.2)	8 (36.4)	5 (55.6)	
ER					0.298
Negatif	14 (48.3)	11 (28.2)	8 (36.4)	2 (22.2)	
Pozitif	15 (51.7)	28 (71.8)	14 (63.6)	7 (77.8)	
PR					0.055
Negatif	17 (58.6)	10 (25.6)	9 (40.9)	4 (44.4)	
Pozitif	12 (41.4)	29 (74.4)	13 (59.1)	5 (55.6)	
Ki67					0.238
Düşük	13 (44.8)	17 (43.6)	5 (22.7)	2 (22.2)	
Yüksek	16 (55.2)	22 (56.4)	17 (77.3)	7 (77.8)	
HER2/neu					0.307
Negatif	24 (82.8)	27 (69.2)	12 (54.5)	6 (66.7)	
Şüpheli	0 (0)	3 (7.7)	2 (9.1)	1 (11.1)	
Pozitif	5 (17.2)	9 (23.1)	8 (36.4)	2 (22.2)	
Toplam	29	39	22	9	

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0.69).

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p=0.98).

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile lenf nodu metastaz durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.75$).

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile immünohistokimyasal olarak ER ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.29$).

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile immünohistokimyasal olarak PR ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.55$).

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu ile uzak metastaz durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.22$).

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu durumu ile Ki 67 proliferatif aktivite indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.23$).

İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonunun olmaması veya immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonunun %20'nin altında olması "BRCA1 ekspresyon kaybı var"; immünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonunun %20'nin üzerinde olması "BRCA1 ekspresyon kaybı yok" olarak kabul edildi.

BRCA1 nükleer ekspresyon kaybı olan 68 olgu vardı. 31 olguda ise ekspresyon kaybı gözlenmedi. Nükleer ekspresyon kaybı olan olgular 5.98 ± 0.5 yıl, nükleer ekspresyon kaybı olmayan olgular 5.91 ± 0.06 yıl yaşadılar. İki grup arasında yaşam süreleri açısından anlamlı fark saptanmadı ($p=0.45$).

Nükleer ekspresyon kaybı olan grupla nükleer ekspresyon kaybı olmayan grup arasında tümör çapı, histolojik derece, lenf nodu metastazı, uzak metastaz bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.0$, $p=0.71$, $p=0.31$, $p=0.14$).

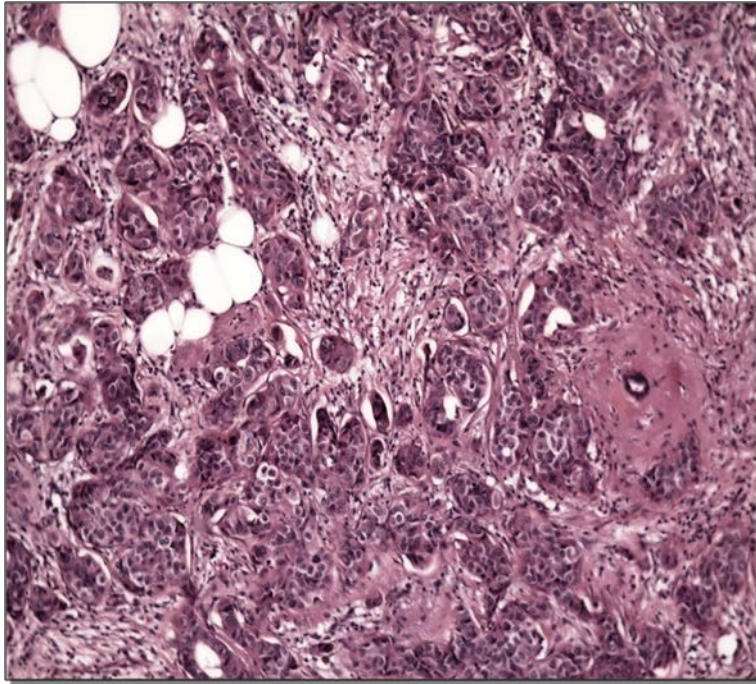
Hormon reseptörleri bakımından nükleer ekspresyon kaybı olan grupla nükleer ekspresyon kaybı olmayan grup karşılaştırıldı. Nükleer ekspresyon kaybı olan grupla nükleer ekspresyon kaybı olmayan grup arasında

immünohistokimyasal olarak ER ve PR ekspresyonu bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.84$, $p=1.0$).

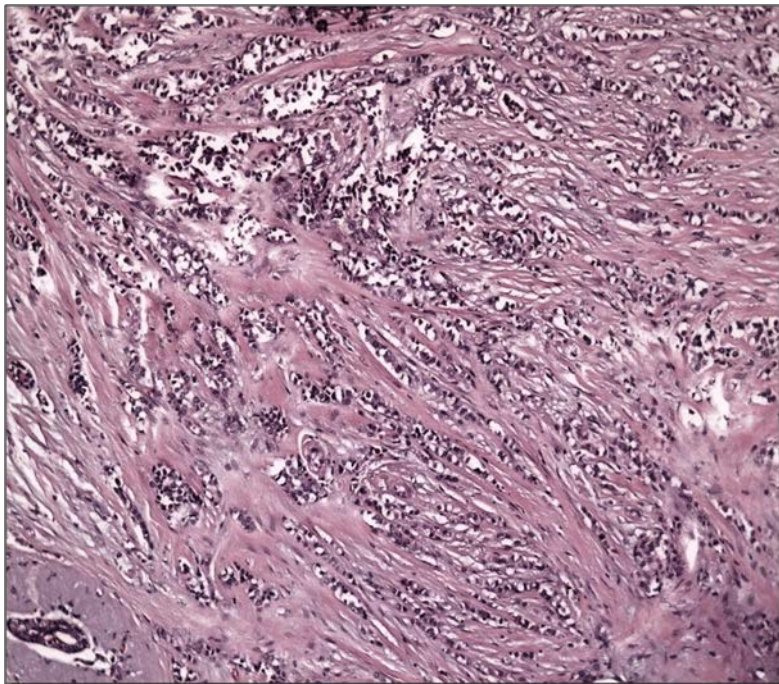
Nükleer ekspresyon kaybı olan grupla nükleer ekspresyon kaybı olmayan grup arasında cerbB2 bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p=0.22$).

Nükleer ekspresyon kaybı olan grupla nükleer ekspresyon kaybı olmayan grup arasında Ki67 proliferatif aktivite indeksi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.067$).

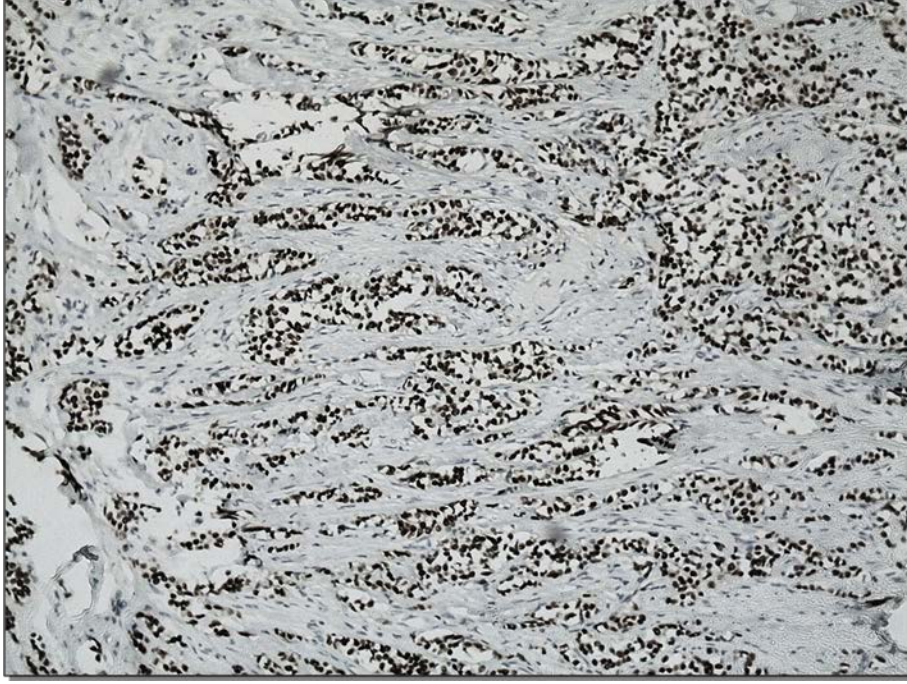
İstatistiksel olarak yaşam süresi üzerine anlamlı etkisi olan parametreler Cox Regression testi ile karşılaştırıldı. Sonuç olarak uzak metastaz varlığı ve Ki 67 proliferatif aktivite indeksi mortalite üzerinde risk faktörü olarak belirlendi. Uzak metastaz varlığının mortalite riskini 4.9 kat ($OR=4.91$; $CI:2.04-11.86$; $p<0.001$); Ki67 proliferatif aktivite indeksinin %15'in üstünde olmasının mortalite riskini 3.01 kat arttırdığı görüldü ($OR=3.01$; $CI:1.02-8.86$; $p<0.045$).



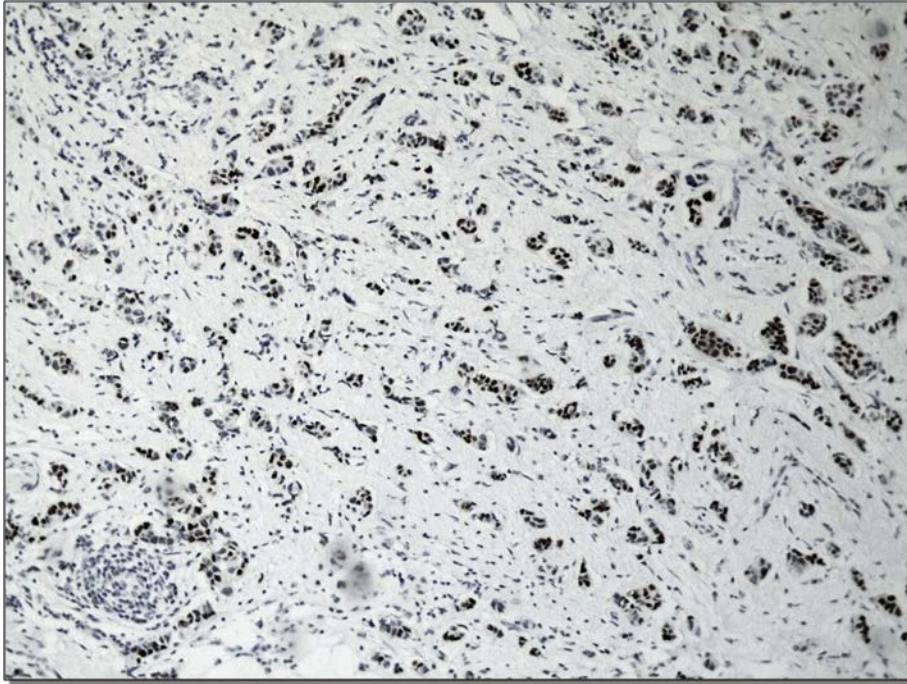
Resim-1: İnvaziv duktal karsinoma HEX10.



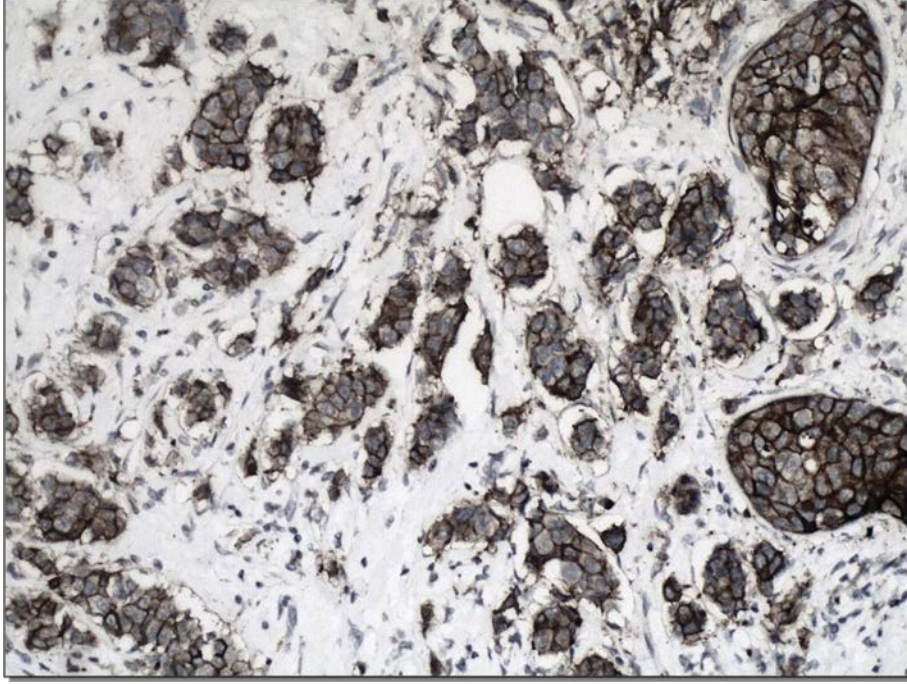
Resim-2: İnvaziv lobuler karsinoma HEX10.



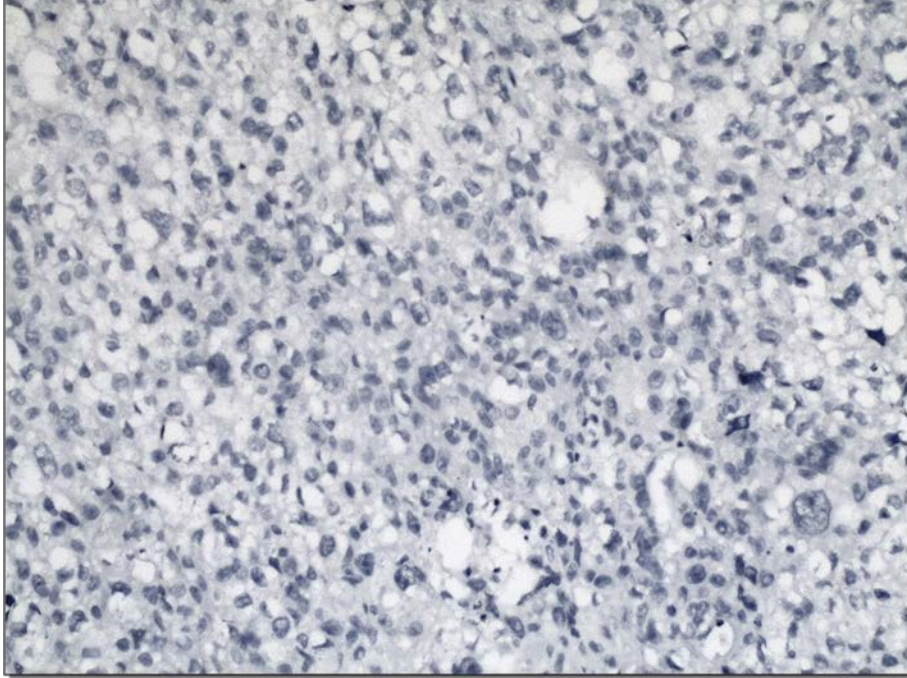
Resim-3: İmmünohistokimyasal olarak ER ekspresyonu X10.



Resim-4: İmmünohistokimyasal olarak PR ekspresyonu X10.



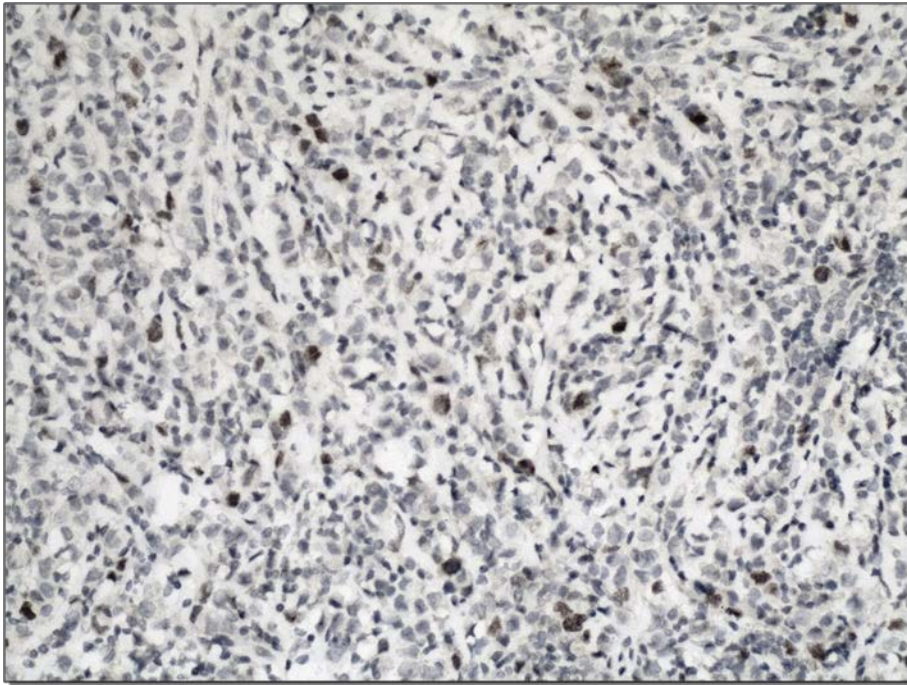
Resim-5: İmmünohistokimyasal olarak pozitif cerbB2 ekspresyonuX20.



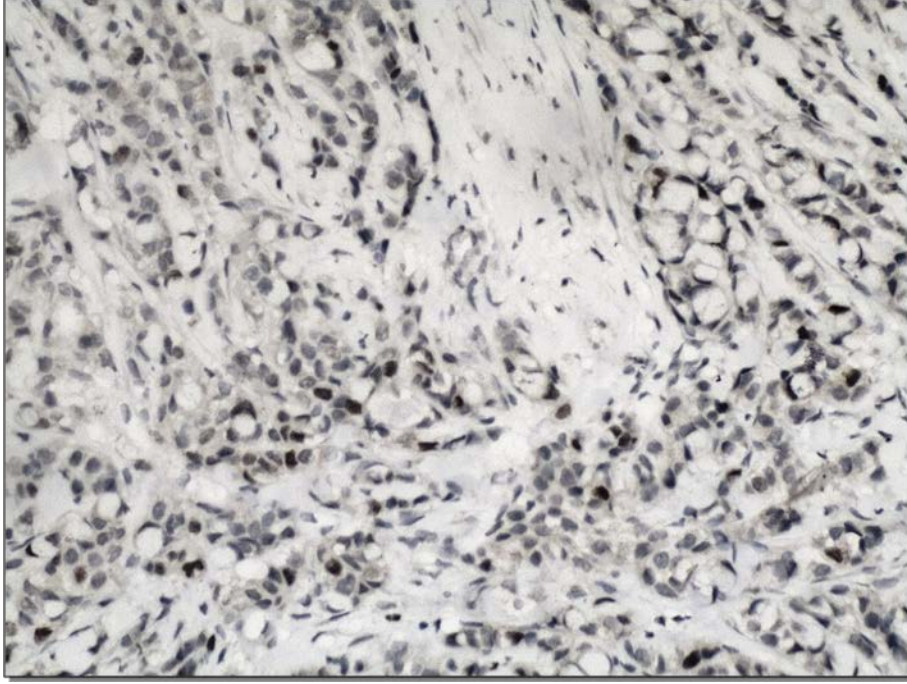
Resim-6: İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu negativeX20.



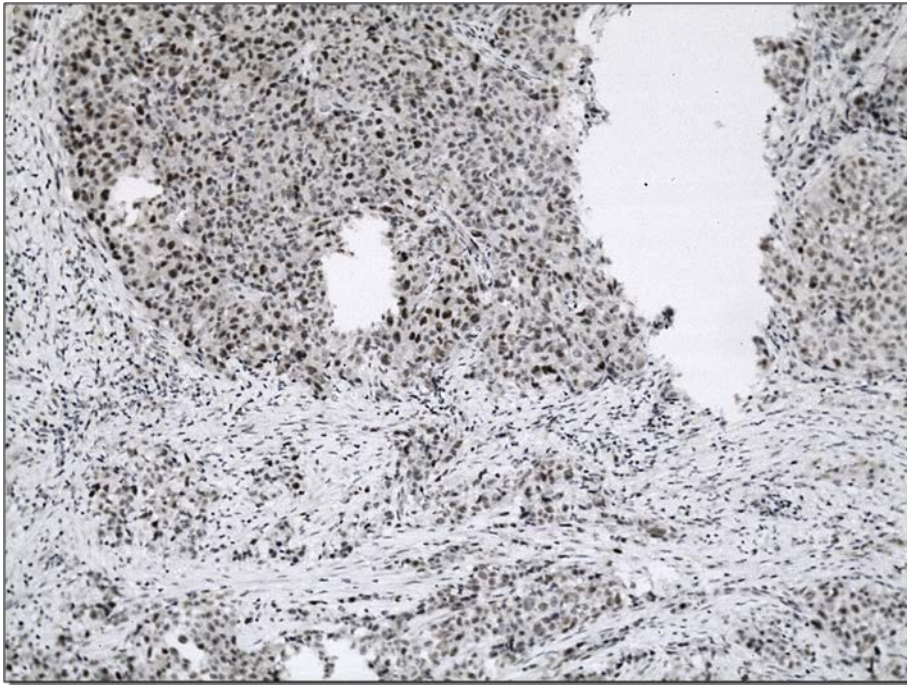
Resim-7: İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 ekspresyonu pozitif.



Resim-8: İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu – Grup 1 X20.



Resim-9: İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu – Grup 2 X20.



Resim-10: İmmünohistokimyasal olarak nükleer BRCA1 ekspresyonu – Grup 3 X20.

TARTIŞMA VE SONUÇ

BRCA1 geninin hem normal meme dokusu gelişiminde hem de tümör oluşumunda rol alan bir tümör supressör gen olduğu bilinmektedir. BRCA1 geninin oldukça kompleks bir yapısı vardır. Gende 300'den fazla germline mutasyon tanımlanmıştır. Meme kanserlerinin genetik heterojenitesi göz önüne alındığında BRCA1'in hızlıca değerlendirilebilmesi büyük bir avantaj sağlayacaktır. Kaynaklarda BRCA1 mutasyonu olan olgularda immünohistokimyasal olarak BRCA1 ekspresyon azalması olduğu görülmüştür (2).

Rosen ve ark.'nın (115) çalışmasında BRCA1 gen mutasyonuna bağlı meme karsinomlarının daha genç yaşta geliştiği ve BRCA1 gen mutasyonu olmayan olgularla kıyaslandığında nükleer derecelerinin daha yüksek, p53 mutasyonunun daha sık ve genellikle ER, PR HER2 negatif olduğunu gösterdiler.

Yu ve ark.'nın (116) yaptıkları çalışmada benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Buna göre BRCA1 gen mutasyonu olan olgularda sporadik meme karsinomu olgularına göre daha genç yaşta kanser gelişmektedir. BRCA1 gen mutasyonlu olgular sıklıkla triple negatiftir.

Çalışmamızda genetik olarak BRCA1 mutasyonu saptanan 9 olgunun yaş ortalaması 43.0 ± 13.07 'dir. Bu olguların dördü triple negatiftir. Çalışmamızda istatistiksel olarak triple negatiflikle BRCA1 gen mutasyonu varlığı arasında ilişki saptanmamıştır ($p=0.49$). Bunun nedeni çalışmamızdaki mutasyon varlığı bilinen hasta sayısının azlığı olabilir. Çalışmamızda 8 olgunun Ki67 proliferatif aktivite indeksi yüksek bulundu.

Kaynaklarda immünohistokimyasal olarak BRCA1'in malign hücrelerin hem nükleusunda hem sitoplazmasında eksprese edildiği bildirilmektedir. Scully ve ark. (117) BRCA1'in nükleer yerleşim gösterdiğini ancak farklı fiksasyon metodları ve immünohistokimyasal protokollerle boyanma sonuçlarının farklı olduğunu belirtmektedirler.

Lee ve ark.'nın (118) yaptığı bir çalışmada BRCA1'in 108 invaziv duktal karsinoma olgusunun % 76.8 ' inde nükleer , %1.9'da sitoplazmik, %2.8'de hem nükleer hem sitoplazmik boyandığı %18.5'inde ise hiç boyanmadığı görüldü.

Bizim çalışmamızda da benzer şekilde bazı olgularda sadece nükleer (%5.05), bazılarında sadece sitoplazmik (%13.13), bazılarında hem nükleer hem sitoplazmik boyanma (%68.68). gözlemlendi. Olguların % 14.4' de ise ne sitoplazmik ne de nükleer boyanma gözlenmedi. Çalışmamızda Biocare firmasının MS110 klon kodlu Monoklonal fare anti BRCA1 antikorunu, 1:80 dilüsyonda kullandık. Lee ve ark. ise Oncogene Research Products Firmasının Monoclonal, MS110 klon kodlu BRCA1 antikorunun 1:50 dilüsyonda kullandılar. İki çalışma arasındaki boyanma farklılığının nedeni kullanılan antikorların farklı olması olabilir. Bizim çalışmamızda farklı histolojik tiplerde meme karsinomu olguları mevcuttur. Lee ve ark.'nın çalışmasına sadece invaziv duktal karsinoma olgularını dahil etmişlerdir. İmmünohistokimyasal olarak BRCA1'in nükleer ve sitoplazmik ekspresyon farklılığının bir diğer sebebi de bu olabilir.

Fa'tima ve ark.'nın (119) yaptığı BRCA1 mutasyon taşıyıcılarının belirlenmesinde immünohistokimyasal yöntemin yardımı konulu çalışmada monoklonal BRCA1 antikorunu [anti-BRCA1 (Ab-1), human (mouse);epitope: 1–304 N-terminal amino acids of BRCA1] (Oncogene Research Products/Calbiochem; Darmstadt, Germany) kullandılar. Çalışmada BRCA1 gen mutasyonu için şüpheli aile öyküsü olan 53 olgu kullanılmış olup 18 olguda genetik yöntemlerle BRCA1 geninde mutasyon saptandı. İmmünohistokimyasal olarak BRCA1 sadece nükleer ekspresyon göstermekteydi. Çalışmanın sonucunda monoklonal BRCA1 antikorunun BRCA1 mutasyon taşıyıcılarını belirlemede %80 spesifiteye sahip olduğu görüldü.

Çalışmada olguların 9 tanesinde BRCA1 mutasyonu genetik olarak tespit edildi. Bunların 5 tanesinde hem sitoplazmik hem nükleer boyanma, ikisinde sadece sitoplazmik boyanma, birinde sadece nükleer boyanma gözlemlendi. Bir olguda hiç boyanma saptanmadı. Genetik olarak mutasyon

analizi yapılan üç olguda ise mutasyon saptanmadı. Bu olguların üçünde de hem sitoplazmik hem nükleer boyanma mevcuttu. Mutasyon saptanmayan gruptaki olgu sayısı beşin altında olduğu için mutasyon saptanan ve mutasyon saptanmayan grup arasında istatistiksel analiz yapılamadı. BRCA1 gen mutasyon durumu genetik yöntemlerle araştırılmış daha geniş serilerde immünohistokimyasal olarak BRCA1 ekspresyon durumlarını tekrar değerlendirmek anlamlı sonuçlar verebilir.

Mylona ve ark.'nın (120) yaptıkları çalışmada immünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 boyanması ile lenf nodülü metastazı arasında negatif bir korelasyon bulundu ($p=0.05$). immünohistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik boyandığı olgularda lenf nodülü metastazı sıklığı daha az bulundu ve hastaliksız sağkalım süreleri anlamlı olarak artmıştı. Mylona ve ark.'nın (120) çalışmasında olgular kemoterapi almamıştı ve sadece invaziv duktal ve invaziv lobuler karsinoma olguları çalışmaya dahil edildi. Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak sitoplazmik BRCA1 boyanması ile lenf nodülü metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık. Benzer bir çalışma olmasına rağmen bizim çalışmamızda bazı hastalar neoadjuvan kemoterapi almışlardı. Histolojik olarak 9 farklı tip invaziv karsinom çalışmaya dahil edildi.. Kemoterapi invaziv kanserlerin moleküler özelliklerini değiştirebilmekte, lenf nodu metastazlarını ortadan kaldırmaktadır. Bu çalışmalar arasındaki uyumsuzluğu açıklayabilir.

Rakha ve ark.'nın (121) 1940 olgu ile yaptığı çalışmada immünohistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik boyanması invaziv lobuler karsinoma göre invaziv duktal ve meduller karsinomda daha fazla görüldü ($p<0.001$). Aynı çalışmada sitoplazmik BRCA1 boyanması yüksek tümör derecesi, büyük tümör çapı ile ilişkili bulundu ($p=0.036$).

Bizim çalışmamızda ise immünohistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik boyanması ile tümör tipi, tümör derecesi, tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=1.0$, $p=0.47$, $P=0.4$). Rakha ve ark.'nın (121) çalışması literatürdeki en geniş serilerden biridir. Çalışmamızdaki olgu sayısının Rakha ve ark.'nın çalışmasındaki olgu sayısı

ile kıyaslandığında oldukça az olduğu görülmektedir. Olgu sayısı artırılarak yapılacak bir çalışmada farklı sonuçlar elde edilebilir.

Rakha ve ark. (121) immünohistokimyasal olarak ER negatifliği ile immünohistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik boyanması arasında sınırda anlamlı bir ilişki saptamışlardır ($p=0.05$). Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak ER ekspresyonu ile immünohistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik boyanması arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.137$).

Rakha ve ark.'nın (121) çalışmasında multivariate analizler sonucunda immünohistokimyasal olarak BRCA1'in sitoplazmik veya nükleer boyanmasının sağkalım üzerine etkisi olmadığı görüldü. Bizim çalışmamızda da immünohistokimyasal olarak BRCA1'in nükleer veya sitoplazmik boyanmasının sağkalım üzerine etkisi yoktu.

Yang ve ark.'nın (122) 175 sporadik meme karsinomu olgusu ile yaptıkları çalışmada immünohistokimyasal olarak BRCA1 nükleer boyanması ile tümör derecesinin negatif korelasyon gösterdiği bulundu. Aynı çalışmada immünohistokimyasal olarak BRCA1 nükleer boyanması ile lenf nodülü metastazı arasında da negatif korelasyon olduğu saptandı ($p=0.0017$). İmmünohistokimyasal olarak BRCA1 nükleer boyanmasının iyi survey ile ilişkili olduğu gösterildi ($p<0.0001$). Mylona ve ark.'nın (120) 111 sporadik meme karsinomu olgusu ile yaptıkları çalışmada immünohistokimyasal olarak BRCA1'in azalmış nükleer boyanmasının sağkalım üzerine olumlu etkisi olduğunu buldular ($p=0.0019$).

Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak %20'nin altındaki BRCA1 nükleer boyanmayı azalmış nükleer boyanma olarak kabul ederek yaptığımız değerlendirmelerde immünohistokimyasal olarak azalmış BRCA1 nükleer boyanmanın yaşam süresi üzerine bir etkisi olmadığını gördük ($p=0.45$). Yang ve ark. %10'un altındaki nükleer boyanmayı immünohistokimyasal olarak azalmış BRCA1 nükleer boyanma olarak değerlendirdiler. Mylona ve ark. (120) %50'nin altındaki nükleer boyanmayı immünohistokimyasal olarak azalmış BRCA1 nükleer boyanma olarak değerlendirdiler. Her üç çalışmada da immünohistokimyasal olarak azalmış BRCA1 nükleer boyanma için

kullanılan eşik değerlerin farklı olması çalışmalarda farklı sonuçlar çıkmasına neden olabilir. BRCA1 için boyanma eşik değerlerinin internal kontrol olan sağlam meme dokusuna göre verilmesi daha anlamlı sonuçlar verebilir.

Elkin ve ark.(123) 1975 ve 1999 yılları arasındaki meme kanseri olgularını 5 yıllık dönemlerle takip ettiler. Tümör çapına göre 5 yıllık total sağkalım durumu değerlendirildiğinde 1995-1999 yılları arasındaki 5 yıllık total sağkalım oranı 2cm 'nin altındaki meme kanseri olgularında %99.9; 2 cm 'nin üzerindeki meme kanseri olgularında %93, 5 cm'nin üzerindeki meme kanseri olgularında %83 olarak buldular.

Syed ve ark'nın (124) 458 olgu ile yaptıkları çalışmada 2 cm üzerindeki tümör çapının kötü bir prognostik parametre olduğu görüldü ($p<0.002$).

Biz de çalışmamızda tümör çapını 2cm'nin altı ve 2cm üstü olarak grupladık. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da 2 cm'den büyük tümörlerde 5 yıllık sağ kalım %69.5; 2cm'nin altındaki tümörlerde %88.6 bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.039$).

Wang ve ark. (125) yaptığı çalışmada Ki67 proliferatif aktivite indeksinin Luminal A grubu olgulara göre Luminal B, Her2 ve Triple Negatif olgularda daha yüksek olduğunu gösterdiler. Ki 67 kötü bir prognostik faktör olarak bulundu ($p<0.001$).

Çalışmamızda Ki 67 proliferatif aktivite indeksinin yüksek (>15) olması mortaliteyi 3.01 kat arttırmaktadır (OR=3.01;%95 (I:1.02-8.86); $p=0.04$). Bu sonuç Wang B ve ark.'nın çalışması ile örtüşmektedir.

Çalışmamızda hormon reseptörlerinin invaziv meme karsinomada prognostik bir önemi olmadığını gördük (ER için $p=0.73$;PR için $p=0.54$). William ve ark. (126) yaptıkları çalışmada ER'nin bağımsız bir prognostik faktör olduğunu buldular.

William ve ark. (126) tümörde 10 fmoles/ mg cytosol protein düzeyinden fazla ise ER pozitif kabul edilmişlerdir. Biz ise ER durumlarını immünohistokimyasal ekspresyon varlığına göre belirledik. William ve ark'nın (126) çalışması ile bizim çalışmamızdaki uygunsuzluğun nedeni ER değerlendirilmesinin farklı yollarla yapılmış olması olabilir.

Mohapatra ve ark.'nın (127) 178 meme karsinomlu hastanın klinikopatolojik değerlendirmesini yaptıkları çalışmalarında hastaların en sık invaziv duktal karsinoma (%95.5), ikinci sıklıkta invaziv lobuler karsinoma (%1.7). üçüncü sıklıkla müsinöz karsinoma tanısı aldılar (%1.1).

Bu çalışmada da hastalar en sık invaziv duktal karsinom tanısı aldılar (%83.8). İkinci sıklıkla invaziv lobuler karsinom (%7.1), üçüncü sıklıkla müsinöz karsinom görülmektedir (%5.1).

Mohapatra ve ark.'nın (127) aynı çalışmasında hastaların %59.1'i Modifiye Bloom Richardson'a göre derece 2; %26.1'i derece 1ve %14.4'ü derece 3'tür.

Çalışmamızda da benzer olarak olguların %45.5'i derece 2 idi. Ancak bizim çalışmamızda derece 3 olan olgular %37.4, derece 1 olan olgular %17.2 oranındaydı.

Yine Mohapatra ve ark.'nın (127) aynı çalışmasında olguların %58.9'unda lenf nodülü metastazı mevcuttu.

Bizim alışmamızda da benzer şekilde olguların %59.6'sında lenf nodülü metastazı saptandı.

Chen ve ark. (128) neoadjuvan kemoterapi almış hastalarda yaptıkları çalışmada neoadjuvan kemoterapi cevabının yaşam süresi üzerine anlamlı etkisi olduğunu buldular ($p=0.003$).

Bizim alışmamızda kemoterapi ile yaşam süresi arasında ilişki saptanmadı ($p=0.38$). Çalışmamızda 24 tane neoadjuvan kemoterapi almış olgu vardı. Olgu sayısı artırılarak yapılacak bir çalışmada farklı sonuçlar çıkabilir.

Haffty ve ark.'nın (129) yaptıkları çalışmada triple negatif olguların uzak metastaz yapma potansiyeli diğer subgruplara göre daha fazla bulunmuştur ($p=0.002$). Triple negatif olma durumu uzak metastaz için bağımsız bir risk faktörüdür ($p=0.002$). 482 olgu ile yapılan aynı çalışmada 10 olguda BRCA1 geninde mutasyon saptanmıştır. Bu on olgunun sekizi triple negatiftir.

Çalışmada uzak metastaz varlığını yaşam süresini kısaltan bir bağımsız risk faktörü olarak saptadık ($p<0.001$). Multivariate analizlerle de

uzak metastaz varlığının mortalite riskini 4.9 kat (OR=4.91; (CI:2.04-11.86); $p<0.001$) arttırdığını bulduk. Ancak triple negatifliğin yaşam süresi üzerinde anlamlı bir etkisi bulunamadı ($p=0.401$). BRCA1 mutasyon varlığı ile bu hastaların triple negatif hormon profiline sahip olmaları arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.49$).

Rakha ve ark.'nın (130) invaziv meme kanseri olan 1944 olgu ile yaptıkları çalışmada triple negatif olan olgularda derece 3 olma durumu istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.0001$) (130)

Bizim çalışmamızda da triple negatif olguların çoğu derece 3'tü ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.005$)

Wang ve ark.(131) Çin'deki Uygur ve Han Irklarındaki meme kanserlerinin moleküler suptiplerini araştırdılar. Çalışmalarının sonucunda meme karsinomunun Hanlar'ın %37.5'inde, Uygurlar'ın %33.75'inde Luminal A; Hanlar'ın %31.25'inde, Uygurlar'ın %25'inde Luminal B suptipinde olduğunu buldular.

Bizim çalışmamızda 86 olgudan 23 olgu Luminal A, 13 olgu Luminal B (Her2 pozitif), 8 olgu Luminal B (Her2 negatif), 19 olgu Triple Negatif, 9 olgu da Her2 grubundaydı. Farklı ırklarda moleküler alttipler farklılık gösterebilir.

Engstrom ve ark.(107) invaziv meme kanseri olan 909 olguluk serilerinde olguları moleküler alt gruplarına göre değerlendirmişlerdir. Luminal A grubu olguların %21'i derece 1, %68.6'sı derece 2, %10.4'ü derece 3 olarak bulunmuştur. Bu olguların %21.7' si 2 cm.'den küçük çaplıdır.

Bizim çalışmamızda ise Luminal A gruptaki olguların %34.8'i derece 1 ($p=0.009$), olarak bulundu. Luminal A grubundaki olguların %56.5'inde tümör çapı 2 cm'nin altında bulundu ($p=0.023$). Sonuçta bizim serimizde Luminal A grubu tümörler küçük çaplı ve düşük dereceliydiler. Ancak Luminal A grubun sağkalım üzerinde anlamlı etkisi bulunmadı ($p=0.31$)

Çalışmamızdaki bazı sonuçlar literatürle örtüşürken bazıları ise literatüre tamamen terstir. Bu durumun farklı nedenleri vardır.

Çalışmamızdaki olgu sayısı 99'dur. Literatürde 1944 veya daha fazla sayıdaki olguyla yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında olgu sayımız oldukça azdır.

Çalışmada heterojen bir hasta grubumuz vardı. Belirli bir histolojik tip veya moleküler alt tip belirlenip buna uygun olgu seçimi yapılarak çalışmanın tekrarlanması durumunda daha farklı sonuçlara ulaşılabileceği kanısındayız.

Meme kanseri tedavisinde önemli aşamalar katedilmiştir. Hedefe yönelik tedaviler hasta yaşam sürelerini anlamlı olarak uzatmıştır. Daha uzun takip sürelerini içeren bir çalışma planlanabilir.

Çalışmamızda 9 vakada BRCA1 mutasyon varlığı saptanmıştır. Bu sayı istatistiksel analizler için oldukça yetersizdir. BRCA1'in esas olarak hücre içindeki lokalizasyonu ile bunun gen mutasyon durumları ile olan ilişkilerini belirlemek için daha fazla sayıda mutasyon analizi yapılmış olgu serilerine BRCA1 immünohistokimyasal boyası yapılabilir.

BRCA1, meme kanseri oluşumunda görev alan tümör süpressör genlerden biridir. Bu gendeki mutasyonlar genetik analizlerle saptanır. BRCA1 ekspresyonunun immünohistokimyasal yöntemlerle saptanmasına yönelik günümüze dek yapılan çalışmaların bir kısmında bu yöntemin hasta seçiminde faydalı olduğu gösterilmiş olup BRCA1 prognostik bir parametre olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamız bunu desteklememekle birlikte BRCA1'in immünohistokimyasal ekspresyonu ile ilgili daha geniş hasta serileri ile yapılmış, daha fazla sayıda çalışmanın bu yöntemin değerini ortaya çıkaracağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanselerle Savaş Dairesi Başkanlığı, Kanseler İstatistikleri.<http://www.saglik.gov.tr/KSDB/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAC8287D72AD903BE00EA04F0B1B62666>, Erişim Tarihi: 27.08.2007.
2. Darendeliler E, Ağaoğlu FY. Meme kanserinin epidemiyolojisi ve etyolojisi. In: Topuz E, Aydınler A, Dinçer M (eds.) Meme kanseri.1. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003.13-33.
3. Kaya İ, Ceyhan R, Bıçakçılar T, Taşkın ŞÖ (eds). Kadınlarda en çok görülen 10 kanser türü. T.C.Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri 2003, Bakanlık Yayın No:677, 2004.
4. Rosai J, Ackerman V (eds). Rosai and Ackerman's surgical pathology. 9th edition. Philadelphia: Elsevier; 2004.
5. Ellis H, Colborn GL, Skandalakis JE. Surgical embryology and anatomy of the breast and its related anatomic structures. Surg Clin North Am 1993; 73:611-32.
6. Mills ES. Breast. In: Collins LC, Stuart JS. (eds.) Histology for pathologist. 3rd edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2007.57-69.
7. Ünal H, Ünal G (editörler). Meme hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi Ltd Şti; 2001.
8. Tavasolli FA (ed). Pathology of the breast. 2nd edition. Connecticut: Appelton and Lange; 1999.
9. Lakhani SR, O'Hare MJ. The mammary myoepithelial cell-Cinderella or ugly sister? Breast Cancer Res 2001;3:1-4.
- 10 Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC (eds), Pathologic basic of disease, 8th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010
11. Böcker W, Moll R, Poremba C, et al. Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. Lab Invest 2002;82: 737-46.
12. Longacre TA, Bartow SA. A correlative morphologic study of human breast and endometrium in the menstrual cycle. Am J Surg Pathol 1986;10:382-93.
13. Damjanow J, Linder J (eds). Andersons pathology. 10th edition. St Louis: Mosby; 1996.
14. Nicholson BT, Harvey JA, Cohen MA. Nipple-areolar complex: normal anatomy and benign and malignant processes. Radiographics 2009;29:509-23.
15. Rosen PP (ed). Rosen's breast pathology. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001.
16. Spratt JS, Tabin GR. Gross anatomy of the breast. In: Donegan WL, Spratt JS (eds). Cancer of the breast. 4th edition. Philadelphia. London: W.B.Saunders: 1995. 22-42.
17. Haagensen CD. Physicians role in detection and diagnosis of breast disease. In: Haagensen CD (ed). Disease of the breast. 3rd edition. Philadelphia, London. W.B.Saunders; 1986. 516-76.
18. Cunningham L. The anatomy of the arteries and veins of the breast. J Surg Oncol 1977;9:71-85.

- 19.** Romrell LJ, Blend KI. Anatomy of the breast, axilla, chest wall and related metastatic sites. In: Blend KI, Copeland EM (eds) *The breast comprehensive management of benign and malignant disease*. 2nd edition. Philadelphia, London:W.B.Saunders; 1995.16-21.
- 20.** Batson OV. The role of the vertebral veins in metastatic process of the breast cancer. *Ann Int Med* 1942;16:38-45.
- 21.** Miller MR, Kasahara M. Cutaneous innervation of the human breasts. *Anat Rec* 1959;135:153-67.
- 22.** Halsell JT. Lymphatic drainage of the breast demonstrated by vital dye staining and radiography. *Ann Surg* 1965;162:221.
- 23.** Hultborn KA, Lorsen KG, Ragnhult I. The lymph drainage from the breast to axillary and parasternal lymph nodes studied with the aid of colloidal Au 198. *Acta Radiologica* 1955; 43; 52.
- 24.** Rouviere H. *Anatomic des lymphatiques de l'hamme*. Paris: Masson: 1932.
- 25.** Spratt JS, Tabin GR. Gross anatomy of the breast. In: Donegan WL, Spratt JS (eds). *Cancer of the breast*. 4th edition. Philadelphia: London. W.B.Saunders. 1995; 22-42.
- 26.** Haagensen CD. Physicians role in detection and diagnosis of breast disease. In: Haagensen CD (ed). *Disease of the breast*. 3rd edition. Philadelphia, London:W.B.Saunders;1986. 516-76.
- 27.** Tavassoli FA, Devilee P. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. World Health Organization classification of tumours. Lyon: IARC Pres; 2003.
- 28.** MacGregor JI, Jordan VC. Basic guide to the mechanisms of antiestrogen action. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 151-96.
- 29.** Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993;15: 36-47.
- 30.** Hunter JD, Colditz GA, Hankinson SE, et al. Oral contraceptive use and breast cancer: a prospective study of young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19:2496-502
- 31.** Chlebowski RT, Nikolaenko L, Anderson G. Conduct of the women's health initiative randomised trial evaluating estrogen plus progestin: implications for breast cancer findings. *J Fam Plann Reprod Health Care* 2013;39:226-8.
- 32.** Albin A, Rosano C, Angelini G, et al. Exogenous hormonal regulation in breast cancer cells by phytoestrogens and endocrine disruptors. *Curr Med Chem* 2014;21:1129-45.
- 33.** Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 346:2025-32.
- 34.** Bernstein L, Ross RK. Endogenous hormones and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 1993;15:48-65.
- 35.** Key TJ. Serum estradiol and breast cancer risk. *Endocrine-Related Cancer* 1999;6:175-80.
- 36.** Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Bush TL, Longcope C, Gordon GB, Comstock GW. A prospective study of endogenous hormones and breast cancer. *Cancer Detect Prev* 1994;18: 79-85.

37. Rosenberg CR, Pasternack BS, Shore RE, Koenig KL, Toniolo PG. Premenopausal estradiol levels and the risk of breast cancer: a new method of controlling for day of the menstrual cycle. *Am J Epidemiol* 1994; 140: 518-25.
38. Secreto G, Zumoff B. Abnormal production of androgens in women with breast cancer. *Anticancer Res* 1994; 14: 2113-7.
39. Thomas HV, Key TJ, Allen DS, et al. A prospective study of endogenous serum hormone concentrations and breast cancer risk premenopausal women on the island of Guernsey. *Br J Cancer* 1997;75: 1075-9.
40. Kaaks R. Nutrition, hormones, and breast cancer: is insulin the missing link? *Cancer Causes Control* 1996; 7: 605-25.
41. Hankinson Se, Willett WC, Colditz GA, et al. Circulating concentrations of insulinlike growth factor- 1 and risk of breast cancer. *Lancet* 1998;351:1393-6.
42. Kaaks R, Lundin E, Manjer J, et al. A prospective study of IGF-I, IGF-binding proteins and breast cancer risk, in northern and southern Sweden. *Cancer Causes Control* 2002;13: 307-16.
43. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.
44. Hahn WC, Weinberg RA. Rules for making human tumor cells. *N Engl J Med* 2002;347:1593-603.
45. Iqbal M, Davies MP, Shoker BS, Jarvis C, Sibson DR, Sloane JP. Subgroups of non-atypical hyperplasia of breast defined by proliferation of oestrogen receptor-positive cells. *J Pathol* 2001;193:333-8.
46. Wiseman BS, Werb Z. Stromal effects on mammary gland development and breast cancer. *Science* 2002;296:1046-9.
47. Tlsty TD, Hein PW. Know thy neighbor: stromal cells can contribute oncogenic signals. *Curr Opin Genet Dev* 2001;11: 54-9.
48. Porter D, Domenici LJ, Keshaviah A, et al. Molecular markers in ductal carcinoma in situ of the breast. *Mol Cancer Res* 2003;1:362-75.
49. Key TJA, Pike MC. The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Eur J Cancer* 1988;24:29-43.
50. Russo J, Russo IH. Developmental pattern of human breast and susceptibility to carcinogenesis. *Eur J Cancer Prev* 1993;2:85-100.
51. Smith DF, Toft DO. Steroid hormone receptors and their associated proteins. *Mol Endocrinol* 1993;7: 4-11.
52. Osborne MP. Breast development and anatomy. In: Haris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellman S (eds). *Diseases of the breast*. Philadelphia: Lippincott-Raven;1996. 256-73.
53. Lupulescu A. Estrogen use and cancer risk: a review. *Exp Clin Endocrinol* 1993; 101:204-14.
54. Pertschuk LP, Kim DS, Nayer K, et al. Immunocytochemical estrogen and progesterin receptor assays in breast cancer with monoclonal antibodies. *Cancer* 1990; 66: 1663-70.
55. Ozzello L, DeRosa C, Habif DV, Greene GL. An immunohistochemical evaluation of progesterone receptor in frozen sections, paraffin sections, and cytologic imprints of breast carcinomas. *Cancer* 1991;67: 455-62.

56. Mansour EG, Ravdin PM, Dressler L. Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer* 1994; 74: 381–400.
57. McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 1992; 326:1756–61.
58. Murphy LC. Mechanisms associated with the progression of breast cancer from hormone dependence to independence. *Pezoller Foundation* 1995; J6–16.
59. Fuqua SAW, Chamness GC, McGuire WL. Estrogen receptor mutations in breast cancer. *J Cell Biochem* 1993; 51:135–9.
60. Fujimoto N, Katzenellenbogen BS. Alteration in the agonist/antagonist balance of antiestrogens by activation of protein kinase A signaling pathways in breast cancer cells: antiestrogen-selectivity and promotor-dependence. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 296–304.
61. Schuchard M, Landers JP, Sandhu NP, Spelsberg TC. Steroid hormone regulation of nuclear proto-oncogenes. *Endocrine Rev* 1993;14:659–68.
62. Somerville JE, Clarke LA, Biggart JD. *CerbB- 2* overexpression and histological type of in situ and invasive breast carcinoma. *J Clin Pathol* 1992; 45:16– 20.
63. Porter PL, Garcia R, Moe R, Corwin DJ, Gown AM. *CerbB- 2* oncogene protein in in situ and invasive lobular breast neoplasia. *Cancer* 1991;68: 331–4.
64. Allred DC, Clark GM, Tandon AK, et al. *Her- 2/neu* in node-negative breast cancer: prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma. *J Clin Oncology* 1992;10:599–605.
65. Barnes DM, Bartkova J, Camplejohn RS, Gullick WJ, Smith PJ, Millis RR. Overexpression of the *c-erbB- 2* oncoprotein: why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is this of prognostic significance? *Eur J Cancer* 1992;28:644–8.
66. Gusterson BA, Machin LG, Gullick WJ, et al. *CerbB2* expression in benign and malignant breast disease. *Br J Cancer* 1988;58:453–7.
67. Schimmelpennig H, Erikson ET, Falkmer UG, Azavedo E, Svane G, Auer GU. Expression of the *c-erbB- 2* protooncogene product and nuclear DNA content in benign and malignant human breast parenchyma. *Virchows Arch A Pathol Anat* 1992;420:433–40.
68. Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, et al. Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of the *c-erbB- 2* gene in breast carcinoma. *Cancer* 1990;65:1794–800.
69. Ramachandra S, Machin L, Ashley S, Monaghan P, Gusterson BA. Immunohistochemical distribution of *c-erbB2* in in situ breast carcinoma – a detailed morphological analysis. *J Pathology* 1990;161:7–14.
70. Murphy DS, McHardy P, Coutts J, et al. Interphase cytogenetic analysis of *erbB2* and *topoll* alpha co-amplification in invasive breast cancer and polysomy of chromosome 17 in ductal carcinoma in situ. *Int J Cancer* 1995;64:18–26.
71. An HX, Niederacher D, Beckmann MW. *ERBB2* gene amplification detected by fluorescent differential polymerase chain reaction in paraffinembedded breast carcinoma tissues. *Int J Cancer* 1995;64:291–7.

- 72.** Beckmann MW, Niederacher D, Massenkeil G, et al. Expression analyses of EGF-R and Her-2/neu: no advantage of prediction of recurrence or survival in breast cancer patients. *Oncology* 1996;53:441–7.
- 73.** De Bortoli M, Dati C, Antoniotti S, Maggiora P, Sapei ML. Hormonal regulation of c-erbB- 2 oncogene expression in breast cancer cells. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1992;43:21–5.
- 74.** Dati C, Antoniotti S, Taverna D, Perroteau I, De Bortoli M. Inhibition of c-erbB- 2 oncogene expression by estrogens in human breast cancer cells. *Oncogene* 1990;5:1001–6.
- 76.** Gudas JM, Nguyen H, Li T, Cowan KH. Hormone-dependent regulation of BRCA1 in human cancer cells. *Cancer Res* 1995;55:4561–4.
- 75.** Taverna D, Antoniotti S, Maggiora P, Dati C, De Bortoli M, Hynes NE. erbB- 2 expression in estrogen-receptor-positive breast-tumor cells is regulated by growth-modulatory reagents. *Int J Cancer* 1994;56:522–8.
- 77.** Deng G, Chen LC, Schott DR, et al. Loss of heterozygosity and p53 gene mutations in breast cancer. *Cancer Res* 1994;54:499–505.
- 78.** Wales MM, Biel MA, Deiry WE, et al. p53 activates expression of HIC- 1, a new candidate tumour suppressor gene on 17p13.3. *Nature Med* 1995;1:570–7.
- 79.** Chang F, Syrjänen S, Tervahauta A, Syrjänen K. Tumourigenesis associated with the p53 tumour suppressor gene. *Br J Cancer* 1993;68:651–61.
- 80.** Hedenfalk I, Duggan D, Chen Y, et al. Gene-expression profiles in hereditary breast cancer. *N Engl J Med* 2001;344:539-48.
- 81.** van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002;415;530-6.
- 82.** Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10869-74.
- 83.** West M, Blanchette C, Dressman H, et al. Predicting the clinical status of human breast cancer by using gene expression profiles. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98:11462-7.
- 84.** Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver MJ (eds). WHO classification of tumours of the breast. 4th edition. Lyon: IARC Press; 2012.
- 85.** Blamey RW. Clinical aspects of malignant breast lesions In: CW Elston, IO Ellis (eds). Systemic pathology. 3rd edition. Churchill Livingstone: London, 1998. 501-13.
- 86.** Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist* 2004;9:606–16.
- 87.** Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181–7.
- 88.** Bland KI, Menck HR, Scott-Connor CE, et al. The National Cancer Data Base 10-year survey of breast cancer treatment at hospitals in the United States. *Cancer* 1998;83:1262-73.
- 89.** Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, et al. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow-up of 18 years. *J Clin Oncol* 1989;7:1239-51.

- 90.** Neville AM, Bettelheim R, Gelber RD, et al. Factors predicting treatment responsiveness and prognosis in node-negative breast cancer. The International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1992;10:696-705.
- 91.** Fowble BL, Schultz DJ, Overmoyer B, et al. The influence of young age on outcome in early stage breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;30:23-33.
- 92.** Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol* 1994;12:888-94.
- 93.** Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr* 1994;16:35-42.
- 94.** Simpson J.F, Gray R, Dressler LG, et al. Prognostic value of histologic grade and proliferative activity in axillary node-positive breast cancer: results from the eastern cooperative oncology group companion study, EST 4189. *J Clin Oncol* 2000;18:2059-69.
- 95.** Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer: a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 1957;11:359-77.
- 96.** Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Friedman S, et al. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom- Richardson (SBR). An improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas. *Cancer* 1989;64:1914-21.
- 97.** Carstens PH, Greenberg RA, Francis D, et al. Tubular carcinoma of the breast. A long term follow-up. *Histopathol* 1985;99:271-80.
- 98.** Clayton F. Pure mucinous carcinomas of the breast: morphologic features and prognostic correlates. *Hum Pathol* 1986;17:34-8.
- 99.** Ridolfi RL, Rosen PP, Port A, et al. Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with a ten year follow-up. *Cancer* 1977;40:1365-85.
- 100.** Machiavelli MR, Romero AO, Pérez JE, et al. Prognostic significance of pathological response of primary tumor and metastatic axillary lymph nodes after neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast carcinoma. *Cancer J Sci Am* 1998;4:125-31.
- 101.** Fisher B, Redmond C, Fisher ER, et al. Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node-negative breast cancer patients. Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06. *J Clin Oncol* 1988;6:1076-87.
- 102.** Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* 1998;351:1451-67.
- 103.** Clark GM, McGuire WL. Follow-up study of HER-2/*neu* amplification in primary breast cancer. *Cancer Res* 1991;51:944-8.
- 104.** Semenza GL. Molecular mechanisms mediating metastasis of hypoxic breast cancer cells. *Trends Mol Med* 2012;18:534-43.

- 105.** Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM, Hayes MM, Gelmon KA. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol* 2010;11:174–83.
- 106.** Singletary SE, Allred C, Ashley P, et al. Revision of american joint committee on cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:3628-36.
- 107.** Engstrøm MJ, Opdahl S, Hagen AI, et al. Molecular subtypes, histopathological grade and survival in a historic cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2013;140:463–73.
- 108.** Hall JM, Lee MK, Newman B, et al. Linkage of early-onset familial cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990; 250:1684–9.
- 109.** Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene, BRCA1. *Science* 1994;266:66–71.
- 110.** Bertwistle D, Ashworth A. Functions of the BRCA1 and BRCA2 genes. *Curr Opin Genet Dev* 1998;8:14–20.
- 111.** Zhang, Powell SN. The role of the BRCA1 tumor suppressor in DNA double-strand break repair. *Mol Cancer Res* 2005;3:531-9.
- 112.** Lee EY. Issue-specific tumor suppression by BRCA1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:4353-54.
- 113.** Sevimli TS, Sevimli M, Özçelik N. Meme kanserinde protein ekspresyon değişimleri ve önemi. *Dicle Medical Journal* 2013;40:161-8.
- 114.** Egeli U, Cecener G, Tunca B, Tasdelen I. Novel germline BRCA1 and BRCA2 mutations in Turkish women with breast and/or ovarian cancer and their relatives. *Cancer Invest* 2006;24:484-91.
- 115.** Rosen EM, Fan S, Pestell RG, Goldberg ID. BRCA1 gene in breast cancer. *J Cell Physiol* 2003;196;19–41.
- 116.** Yu JH, Lee JW, Son BH, et al. Characteristics of BRCA1/2 mutation-positive breast cancers in Korea: a comparison study based on multicenter data and the Korean breast cancer registry. *J Breast Cancer* 2014;17:129-35.
- 117.** Scully R, Ganesan S, Brown M, et al. Location of BRCA1 in human breast and ovarian cancer cells *Histopathology* 1999;34:106-12.
- 118.** Lee WY, Jin YT, Chang TW, Lin PW, Su IJ. Immunolocalization of BRCA1 protein in normal breast tissue and sporadic invasive ductal carcinomas: a correlation with other biological parameters. *Histopathology* 1999;34:106-12.
- 119.** Vaz FH, Machado PM, Brandao RD, Laranjeira CT, Eugénio JS. Familial breast/ovarian cancer and BRCA1/2 genetic screening: the role of immunohistochemistry as an additional method in the selection of patients. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 2007;55:1105–13.
- 120.** Mylona E, Melissaris S, Nomikos A, et al. Effect of BRCA1 immunohistochemical localizations on prognosis of patients with sporadic breast carcinomas. *Pathol Res Pract* 2014;210:533-40.
- 121.** Emad A, Rakha MD, Somaia E et al. Expression of BRCA1 protein in breast cancer and its prognostic significance. *Human Pathology* 2008;39:857–65.
- 122.** Yang Q, Sakurai T, Mori I, et al. Prognostic significance of BRCA1 expression in Japanese sporadic breast carcinomas, *Cancer* 2001;92:54–60.

- 123.** Elkin FB, Hudis C, Begg CB, Schrag D. The effect of changes in tumor size on breast carcinoma survival in the U.S: 1975-1999. *Cancer* 2005;104:1149-57.
- 124.** Syed BM, Green AR, Nolan CC, et al. Biological characteristics and clinical outcome of triple negative primary breast cancer in older women – comparison with their younger counterparts *PLoS One* 2014;9:1-5.
- 125.** Wang B , Wang X, Wang J, et al. Expression of Ki67 and clinicopathological features in breast cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2014;36:273-5.
- 126.** Knight WA, Livingston RB, Gregory EJ, et al. Estrogen Receptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. *Cancer Res* 1977;37:4669-71.
- 127.** Mohapatra M, Satyanarayana S Evaluation of clinico: pathologic findings of breast carcinoma in a general hospital in Southern India. *Indian J Cancer* 2013;50:297-301.
- 128.** Chen S, Liu Y, Ouyang QW, et al. Clinical and pathological response to neoadjuvant chemotherapy based on primary tumor reduction is correlated to survival in hormone receptor-positive but not hormone receptor-negative locally advanced breast cancer *Ann Surg Oncol* 2014. DOI 10.1245/s10434-014-3894-0.
- 129.** Haffty BG, Yang Q, Reiss M, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5652-7.
- 130.** Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007;109:25-32.
- 131.** Wang CH, Li JZ, Zhang W. Breast cancer molecular subtypes of Uygur and Han in Xinjiang of China. *Int J Clin Exp Med* 2014;7:1116-21.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve eğitim sürecinde büyük ilgi ve katkıları olan sayın hocam Prof. Dr. Şahsine TOLUNAY'a, anabilim dalı başkanımız ve sayın hocamız Prof. Dr. Ömer YERCI'ye, uzmanlık eğitimim süresince ilgi ve desteklerini esirgemeyen, mesleki tecrübe ve bilgilerinden her zaman yararlanma olanağı bulduğum saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Sema BAYKARA, Doç. Dr. Ülviye YALÇINKAYA, Doç. Dr. Şaduman BALABAN ADIM, Doç. Dr. Elif ÜLKER AKYILDIZ, Doç. Dr. Özlem SARAYDAROĞLU, Doç. Dr. Hülya ÖZTÜRK NAZLIOĞLU, Doç. Dr. Berna AYTAÇ VURUŞKAN, Uzm. Dr. Nesrin UĞRAŞ, Uzm. Dr. Fatma ÖZ ATALAY'a, birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, Patoloji Anabilim Dalı tüm çalışanlarına ve tezimin hazırlanmasında desteklerinden dolayı Doç. Dr. Gülşah ÇEÇENER'e ve Dr. Gökhan OCAKOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak hayatımın her anında sevgi ve desteklerini karşılıksız olarak sunan canım annem Hasine YILMAZ ve babam Hasan YILMAZ'a, beni hep destekleyen sevgili eşim Ercan ERTÜRK'e, biricik kardeşim Hasan YILMAZ'a ve hayat ışığım, oğlum Arda ERTÜRK'e teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

05/06/1982 tarihinde Bulgaristan'da doğdum. İlkokulu Gemlik Atatürk İlkokulu'nda, ortaokulu Gemlik Celal Bayar Anadolu Lisesi'nde, liseyi Bursa Ali Osman Sönmez Fen Lisesi'nde okudum. 2000-2006 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde tıp doktorluğu eğitimi tamamladıktan sonra, 2006-2009 yılları arasında zorunlu görevimi Kırklareli Pınarhisar Kaynarca Sağlık Ocağı'nda pratisyen hekim olarak yaptım. 2009 yılında Edirne 112 Komuta Kontrol Merkezi'nde çalıştım. 01/09/2009 tarihinde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak başladığım görevime halen devam etmekteyim.