



T.C.

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Patoloji Anabilim Dalı

**AİLE ÖYKÜSÜ POZİTİF MEME KARSİNOMLARI;
İMMÜNFENOTİP, MORFOLOJİK VE GENETİK
OLARAK SPORADİK MEME KARSİNOMLARINDAN
FARKLI MIDIR?**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alper Koçbıyık

Ankara, 2008



T.C.

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Patoloji Anabilim Dalı

**AİLE ÖYKÜSÜ POZİTİF MEME KARSİNOMLARI;
İMMÜNFENOTİP, MORFOLOJİK VE GENETİK
OLARAK SPORADİK MEME KARSİNOMLARINDAN
FARKLI MIDIR?**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alper Koçbıyık

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Beyhan Demirhan

Ankara, 2008

ÖNSÖZ

Aile öyküsü pozitif meme karsinomları her toplumda seyrek olarak görülmektedir. Ailesel meme kanserli olguların histopatolojik, immünofenotipik ve genetik özelliklerinin sporadik meme karsinomlarından farklılıklar göstermesi beklenmektedir. Bu çalışmada elde edilecek verilerin; ailesel meme karsinomlarının karsinogenezisini anlamada yol gösterici olması bir diğer beklentidir.

Sonuçta ailevi kanser olguları ile ilgili araştırmalarda amaç; sonraki nesillerde ortaya çıkabilecek meme kanseri olgularını erken dönemde saptayabilmek, daha da iyisi; koruyucu tedavi seçeneklerini uygulayabilmektir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimini tüm içtenliğiyle, bana ve tüm asistan arkadaşlarıma eşit olarak paylaştıran, anlayış ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, Patoloji Anabilim Dalı çatısı altında “bir aile gibi olma” ruhunu aşıl原因an, eşi benzeri görülmemiş enerjisini ve çalışma disiplinini benimsediğim, azmini her zaman kendime örnek alacağım, bundan sonraki hayatımda da ilişkilerimizin asistanlığımda olduğu gibi olmasını dilediğim; Başhekimimiz, Dekan yardımcımız, Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım Prof. Dr. Beyhan Demirhan’a,

Eğitimime bir dönem damgasını vuran, unutulmaz anılar ile bilgi birikimime (özellikle benim için bilgisayarın patolojide ve genel kullanımı konusunda) kimsenin göremediği farklı bir bakış açısı ve çok yönlülük katan Prof. Dr. Bülent Celasun’a,

Eğitimime katkıları yanı sıra ihtiyacım olduğu her durumda yardım ve desteğini esirgemeyen, her konuda içten ve öğretici sohbetlerimizin bir ömür boyu sürmesini dilediğim Doç. Dr. M. Banu Bilezikçi’ye,

Alanındaki başarılı akademik hayatı ile hayranlık uyandıran ve farklı bakış açısıyla bizlere sunan, kararlılığı ve samimiyeti ile örnek aldığım Doç. Dr. B. Handan Özdemir’e,

Enerjisine ve bilgisine hayran olduğum, samimi ve nazik yaklaşımları ile daha asistanlık yıllarımdan ilk günlerinden beri gönlümde taht kuran Doç. Dr. Özlem Özen’e,

Dostluğunu hep hissettiğim, alçakgönüllü tavırları ile örnek olan ve bilgi birikimini cömertçe paylaşan Yrd. Doç. Dr. A. Nihan Reyhan Haberal’a,

Tanıdığım ilk günden bugüne neşeli sohbetlerimizi hiç unutmayacağım Yrd. Doç. Dr. Ünser Arıkan’a,

İsmi burada geçmeyen eğitimime katkıları olan herkese,
Sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

İlk günlerden beri her şeyimi paylaştığım ve bizi patolojiye bağlayan ipler kopsa da hiç kopmayacağım kader arkadaşlarım Dr. Müge Ünlükaplan ve Dr. Aysel Çolak'a,

Asistanlığımın başından bugüne ilişkilerimizde arkadaşlığın ön planda olduğu ve uyum içinde çalıştığımız Dr. Aylin Şar, Dr. Pınar Uyar, Dr. Dinç Süren, Dr. Serap Toru, Dr. Aydan Kılıçarslan, Dr. Gülnur Güven ve Dr. Berrin Çaylak'a teşekkür ederim.

Tezimin tamamlanmasında yardımcı olan;

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalından Prof. Dr. Feride İffet Şahin'e ve Yrd. Doç. Dr. Erkan Yurtçu'ya,

Genel Cerrahi Anabilim Dalından Doç. Dr. Mahmut Can Yağmurdur ve Dr. Şaban Uysal'a,

Biyoistatistik Bölümünden Yrd. Doç. Dr. Ayşe Canan Yazıcı'ya teşekkür ederim.

İmmunhistokimyasal inceleme ve diğer aşamalarda titizlikle çalışan teknisyen arkadaşlarım Halil, Büşra, Leyla ve Gürkan ile,

Asistanlığımın her aşamasında yardımlarını hiç esirgemeyen sekreter arkadaşlarım Ayten, Sema ve Sevgi'ye

Yardımcı personelimiz Ayhan Bey ve Sultan Hanım'a teşekkür ederim.

Asistanlık hayatımın ikinci yarısını birlikte paylaştığım, beni tüm konularda eksiksiz ve daima destekleyen, değerli eşim, Seçil Koçbıyık'a, hep yanımda olan canım anneme, sevgili babacığıma ve kardeşime de teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Alper Koçbıyık

ÖZET

Aile öyküsü pozitif meme karsinomları; immüfenotipik, morfolojik ve genetik olarak sporadik meme karsinomlarından farklı mıdır?

Fiziksel, kimyasal ya da biyolojik etkenlere maruz kalınması veya genetik nedenlerle normal hücre DNA'sının değişime uğraması sonucu kanser oluşur. Meme kanseri, kadınlarda sık izlenen ve ölümcül seyreden bir kanserdir. Hormonal nedenlerle gelişen meme kanserleri "sporadik", güçlü aile öyküsü olan veya "germ-line" mutasyon saptananlar "kalıtsal" meme kanseri olarak adlandırılmaktadır. Meme karsinomlarının yaklaşık %13 ünde birinci derece akrabada (anne, kız kardeş, kız) meme kanseri öyküsü vardır.

Matriks-metalloproteinaz ailesi (MMP), extrasellüler matriksin yapısal bileşenleri, büyüme faktörleri reseptörleri ve öncülleri, hücre adezyon molekülleri ve diğer proteinleri içeren çok sayıda farklı substratın proteolitik olarak parçalanmasında görevlidir. MMP-2 ve MMP-9 promotor gen bölgelerinin polimorfizmleri ve bu polimorfizmlerin ilgili genlerin transkripsiyonunun regülasyonunda etkisi olduğu daha önce pek çok çalışma ile belirlenmiştir. Özellikle MMP-2'nin meme, akciğer ve kolorektal kanserlerde tümör davranışı ve metastaz ile ilgili olduğu gösterilmiştir. MMP-9'un ise ileri evre tümörlerde tedaviyi takip amacı ile kullanıldığını biliyoruz.

Bu çalışmada; aile öyküsü olan ve olmayan meme kanserlerinde morfoloji, immüfenotip ile MMP-2 ve MMP-9 polimorfizmleri açısından farklılık olup olmadığı araştırıldı.

En az bir 1. derece akrabasında meme kanseri olan 40 hasta ve benzer özelliklerde (yaş ve cinsiyet) önceki aile öyküsü olmayan meme karsinomlu 50 hasta kontrol grubu (sporadik meme karsinomu) olarak alındı.

Araştırma ve kontrol gruplarına ait parafin bloklarından seçilen tümör kesitlerine; ayırt edici sitokeratin paneli olarak; bazal için CK5/6, CK14, luminal için CK7, CK19 ve miyoepitelyal için; SMA, p63 antikoru, bazal benzeri alt tip için EGFR, hormon

reseptörleri östrojen (ER), progesteron (PR) ve c-ERB-B2'ye (HER2) ek olarak p53, MMP-2 ve MMP-9 dışavurumları da immünohistokimyasal olarak araştırıldı. Ayrıca MMP-2 ve MMP-9 polimorfizmleri, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) - Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile belirlendi. Morfolojik olarak da tümör çapı, tipi, histopatolojik derecesi retrospektif olarak tekrar değerlendirildi. Toplam 64 olgu (n=90, %71.1) invaziv duktal karsinom; çalışma grubunda 29 (n=40, %72.5), kontrol grubunda 35 (n=50, %70.0) olarak değerlendirildi. Kontrol grubundan bir hasta medüller karsinom olup diğerleri invaziv lobüler karsinom ve mikst karsinomdur. Bu parametreler açısından iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır.

İmmünohistokimyasal incelemede, östrojen reseptör antikoru ile aile öyküsü olan olguların 31'inde (n=40, %77.5) pozitiflik var iken, kontrol grubunda 36 (n=50, %72.0) olguda pozitiflik izlenmiştir. Progesteron reseptörü ile bu pozitiflikler sırası ile 21 (n=40, %52.5) ve 33'tür (n=50, %66.0). HER2 incelemesinde ise 3+ olan ve 2+ olup dosyasında FISH (+) saptanan olgular pozitif diğerleri, negatif şeklinde değerlendirilmiş, 40 aile öyküsü olan meme kanseri olgusunun 4'ünde, 50 kontrol grubu hastasının 12'sinde HER2 pozitifliği saptanmıştır (p>0.05). Sitokeratin 7 ile ilk grupta olguların 30'unda (n=40, %75.0), ikinci grupta ise 46'sında (n=50, %92.0) reaksiyon saptanmış olup istatistiksel olarak bu fark anlamlıdır (p<0.05). p53 antikoru ile ilk grupta 18 olguda (n=40, %45.0), kontrol grubunda ise 21 olguda (n=50, %42.0) pozitiflik görülmüştür. Sitokeratin 19 ile kontrol grubunda 2 hastada (n=50, %4.0), SMA antikoru ile ilk grupta 1 olguda (n=40, %2.5) pozitiflik saptanmıştır. MMP 2 antikoru ile kontrol grubunda 1 vakada (n=50, %2.0) pozitiflik vardır. MMP-9 antikoru ile ilk grupta 19 olguda (n=40, %47.5), ikinci grupta ise 31 olguda (n=50, %62.0) pozitiflik dikkati çekmiştir (p>0.05) EGFR, sitokeratin 5/6, 14 ve p 63 antikoru ile olguların hiçbirinde pozitif reaksiyon saptanmamıştır.

Yapılan genetik çalışmada ise; incelenen tüm örneklerde MMP-2 -735CC genotipi saptanırken, MMP-9 -1562 C>T polimorfizmi açısından 37 olgu (%92.5) CC, 3 olgu (%7.5) CT, kontrol grubunda ise 40 olgu (%80.0) CC, 10 olgu CT (%20.0) olarak saptanmıştır.

Bu araştırma sonucunda; aile öyküsü olan ve olmayan meme kanserlerinde morfoloji, immünfenotip ile MMP-2 ve MMP-9 polimorfizmleri açısından farklılık olmadığı görölmüştür.

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖNSÖZ.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER.....	ix
KISALTMALAR.....	x
RESİMLER	xi
TABLolar.....	xii
I.GİRİŞ.....	1
II.GENEL BİLGİLER.....	2
III. HASTALAR VE YÖNTEM.....	23
IV. BULGULAR	31
V. TARTIŞMA.....	42
KAYNAKLAR.....	51

KISALTMALAR

ADH	:	Atipik duktal hiperplazi
BMK	:	Bazaloid meme kanseri
DH	:	Duktal hiperplazi
DKIS	:	Duktal karsinoma in situ
LKIS	:	Lobüler karsinoma in situ
EGFR	:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
ER	:	Östrojen reseptörü
FISH	:	Florosan in situ hibridizasyon
G	:	Histopatolojik derece
GS	:	Genel sağkalım
HR	:	Hormon reseptörü
HS	:	Hastaliksız sağkalım
İDK	:	İnvaziv duktal karsinoma
İHK	:	İmmünohistokimya
KT	:	Kemoterapi
M	:	Uzak metastaz
MMP	:	Matriks-metalloproteinaz
N	:	Bölgesel lenf nodları
NOS	:	Spesifiye edilmemiş
NSABP	:	National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project
RFLP	:	Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi
PBS	:	Fosfat buffered saline
PN	:	Patolojik klasifikasyon
PR	:	Progesteron reseptörü
PZR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
RT	:	Radyoterapi
SEER	:	Surveillance, Epidemiology ve End Results
SMA	:	Düz kas aktin
T	:	Primer tümör
WHO	:	World Health Organization

RESİMLER

	Sayfa
Resim 1. Memenin lokalizasyonu; ortaaksiller hat ile sternum arasında.....	4
Resim 2. İnvaziv duktal karsinomun %10'dan daha fazlasında tübül formasyonu görülmektedir (H&E, X100)	32
Resim 3. "Indian file" görünümü ile invaziv lobüler karsinom (H&E, X200)	32
Resim 4. Östrojen reseptörü ile invaziv tümörde, hücrelerin hemen tamamında kuvvetli nükleer pozitif reaksiyon (X200).....	34
Resim 5. Progesteron reseptörü ile invaziv tümörde, hücrelerin hemen tamamında kuvvetli nükleer pozitif reaksiyon (X100).....	34
Resim 6. HER2 antikoru ile tümör hücrelerinin %30'undan fazlasında, hücreleri çepeçevre saran membranöz pozitiflik (X400)	34
Resim 7. Sitokeratin 5/6 ile tümöre komşu nonneoplastik meme dokusunda bazal epitelyal hücrelerde pozitiflik (X200)	36
Resim 8. Sitokeratin 7 ile tümör hücrelerinde yaygın kuvvetli sitoplazmik boyanma (X400)	36
Resim 9. Sitokeratin 14 ile nonneoplastik meme dokusunda bazal epitelyal hücrelerde yaygın pozitiflik (X200).....	36
Resim 10. Sitokeratin 9 ile tümör hücrelerinde kuvvetli yaygın sitoplazmik reaksiyon (X100)	38
Resim 11. Tümör hücrelerinin büyük bir kısmında p53 antikoru ile kuvvetli nükleer boyanma izlenmiştir (X400)	38
Resim 12. Tümör hücrelerinin infiltre etiği meme dokusunda arada kalmış miyoepitelyal hücreler ile neoplastik olmayan meme duktusları etrafında p63 antikoru ile pozitiflik (X100).....	38
Resim 13. Resim 11'dekine benzer şekilde, tümör hücrelerinin infiltre etiği meme dokusunda arada kalmış miyoepitelyal hücreler SMA ile pozitiflik (X100)	40
Resim 14. MMP-2 antikoru ile plasentadan hazırlanan kesitlerde trofoblastik hücrelerde yaygın pozitiflik (X100).....	40
Resim 15. MMP-9 antikoru ile tümör hücrelerinin hemen tamamında sitoplazmik boyanma (X200)	40

TABLolar

	Sayfa
Tablo 1. Meme kanseri risk faktörleri.....	12
Tablo 2. Meme karsinomu gelişme olasılığını etkileyen faktörler ve bağlı riskler.....	13
Tablo 3. Meme kanseri belirti ve bulguları	15
Tablo 4. Meme kanseri evrelendirmesi; primer tümör: T	16
Tablo 5. Bölgesel lenf nodülleri: N, klinik ve patolojik sınıflandırma.....	17
Tablo 6. Meme kanserinde; uzak metastaz: M	18
Tablo 7. Meme kanserinde evreleme	18
Tablo 8. Meme tümörlerinin WHO sınıflaması	19
Tablo 9. İmmünohistokimyasal inceleme için kullanılan antikorlara ait bilgiler.....	25
Tablo 10. Hastaların yaş, cinsiyet, tümör tipi, çapı ve histopatolojik derecelerine göre gruplar arasında dağılımları	31
Tablo 11. Östrojen reseptörünün çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	33
Tablo 12. Progesteron reseptörünün çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	33
Tablo 13. HER2 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu.....	33
Tablo 14. Sitokeratin 5/6 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	35
Tablo 15. Sitokeratin 7 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	35
Tablo 16. Sitokeratin 14 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	35
Tablo 17. Sitokeratin 19 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	37
Tablo 18. p53 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	37
Tablo 19. p63 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	37
Tablo 20. SMA antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	39
Tablo 21. MMP-2 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu.....	39
Tablo 22. MMP-9 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu.....	39
Tablo 23. EGFR antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu	41
Tablo 24. MMP-2 -735C>T polimorfizmi çalışma ve kontrol grupları dağılımı	41
Tablo 25. MMP-9 -1562C>T polimorfizmi çalışma ve kontrol grupları dağılımı	41

I. GİRİŞ

Kanser yaşanan çevrede karşılaşılan ve/veya hücrede ortaya çıkan fiziksel, kimyasal ya da biyolojik etkenlere maruz kalınması nedeniyle normal hücre DNA'sının değişime uğraması sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır (1). Normal hücre DNA'sının değişime uğraması mutasyon olarak adlandırılır. Örneğin böyle bir genetik değişiklik (mutasyon), UV-B ışınımına bağlı olarak p53 tümör baskılayıcı geni gibi hücre için önemli genlerin yapısını ve işlevini bozarak deri kanserine yol açabilir. Deri kanseri örneğinde görüldüğü şekilde, kansere yol açan bu mutasyonlar farklı çevresel etkenler sonucu ortaya çıkabildiği gibi anne ya da babadan kalıtım yolu ile de çocuklara geçebilmektedir. Polimorfizm ise, sıklıkla yeni bir mutasyona bağlı DNA varyasyonudur. Ancak polimorfizm diyebilmek için mutasyonun frekansının aynı popülasyonda en az %1 olması gerekmektedir. Çevresel ve kalıtsal faktörlerin kanser oluşumuna katkıları kanser türüne ve yaşanan çevreye göre değişmektedir. Sadece çevre etkisi ile ortaya çıkan kanser tipleri söz konusu iken, sadece tek gende bozukluğa bağlı olarak ortaya çıkan kanser türleri de vardır. Kansere bağlı ölümler, kardiyovasküler nedenlerden sonra en sık ölüm nedeni olarak bilinmektedir (2). Meme kanserinde temel risk faktörleri, hormonal maruziyet ve genetik etkenlerdir (aile öyküsü). Hormonal nedenlerle gelişen meme kanserleri "sporadik", aile öyküsü olan veya germ-line mutasyon saptananlar "kalıtsal" meme kanseri olarak adlandırılmaktadır. Meme karsinomlarının yaklaşık %13 ünde birinci derece akrabada (anne, kız kardeş, kız) meme kanseri öyküsü vardır. Birden çok akrabada meme kanseri öyküsü ise yaklaşık %1 kadardır. Çoklu meme kanseri öyküsü olanların germ-line mutasyonuna sahip olma olasılığı dür. Çoklu öykü yanısıra menopoz öncesi meme karsinomu, erkek meme kanseri, meme kanseri ile başka organ kanserlerinin varlığı da yüksek penetrans gösteren gen mutasyonları ile ilişkiyi düşündürmektedir.

En sık kanserlerden olan meme ve kalın bağırsak kanserlerinin %5–10 kadarının günümüzde iyi tanımlanmış genlerdeki mutasyonlar sonucu oluştuğu kabul edilmektedir (3).

II. GENEL BİLGİLER

A. MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen kanserdir. Avrupa'da 2006 yılında %28,9 ile kadınlar arasında ilk sırada olup kansere bağlı ölümlerin %17,6'sından sorumlu olduğu bildirilmiştir (4). Diğer bir kaynağa göre de %34' lük görülme oranı ile meme kanserleri akciğer kanserlerinden sonra 2. sırada en sık ölüme neden olan malignitedir (5). Son 80 yıldır meme kanseri ABD'de kadınlarda yeni kanser olgularının %32'sini oluşturmaktadır. 1950–1970 yılları arasında ABD' de, 1 milyon kadının meme kanseri nedeni ile hayatını kaybettiği bildirilmektedir. Bu sayının ABD'nin 2. Dünya savaşı, Kore ve Vietnam savaşlarında kaybettiği insan sayısından fazla olduğu söylenmektedir. Meme kanseri Japonya hariç tüm gelişmiş ülkelerde kadınlarda en sık görülen kanserdir (6).

Türkiye'de meme kanseri görülme sıklığı ile ilgili tıbbi çalışmalar ve verilerin kısıtlı olduğu görülmektedir. Halen genel risk faktörleriyle ilgili kapsamlı istatistiksel bilgiler, yerleşmiş tarama programları yoktur. Bir kadın hastalığı olarak kabul edebileceğimiz meme kanseri hakkında kadınlar yeteri kadar aydınlatılmamaktadır. Ülkemiz Sağlık Bakanlığı 1999 yılı istatistiklerine göre de kadınlarda en sık görülen kanser türü %24,1 ile meme kanseridir (7).

Standart tedavi modaliteleri uygulanan aynı histoloji ve klinik evredeki hastaların klinik seyirleri farklı olabilmektedir. Güncel bilgiler, aynı mikroskopik özelliğe sahip tümörlerin, moleküler düzeyde birbirlerinden farklı özellikler taşıdığını göstermektedir. Bu sayede artık biliyoruz ki, bireysel tedavi kararı alırken standart çalışmaların dışında moleküler ve klinik belirleyicilere ihtiyacımız bulunmaktadır. Son dönemde geliştirilen "mikroarray" teknolojisiyle, moleküler kanser biyolojisine ait bilgilerimiz hızla artmaktadır. Böylece, bu metabolik yolların önemli molekülleri birer tedavi hedefi haline gelmiştir. Meme kanserinde bilinen en prognostik faktör aksiller lenf nodu tutulumudur. Reseptör durumu ve HER-2 ekspresyonunun hem prognostik hem de kestirimci önemi bulunmaktadır. Bunun dışında yaş, menopoz durumu, tümörün çapı, histopatolojik derecesi (grade'i) ve yukarıda bahsedildiği gibi tümöre ve kişiye ait faktörler de prognoza katkıda bulunmaktadır.

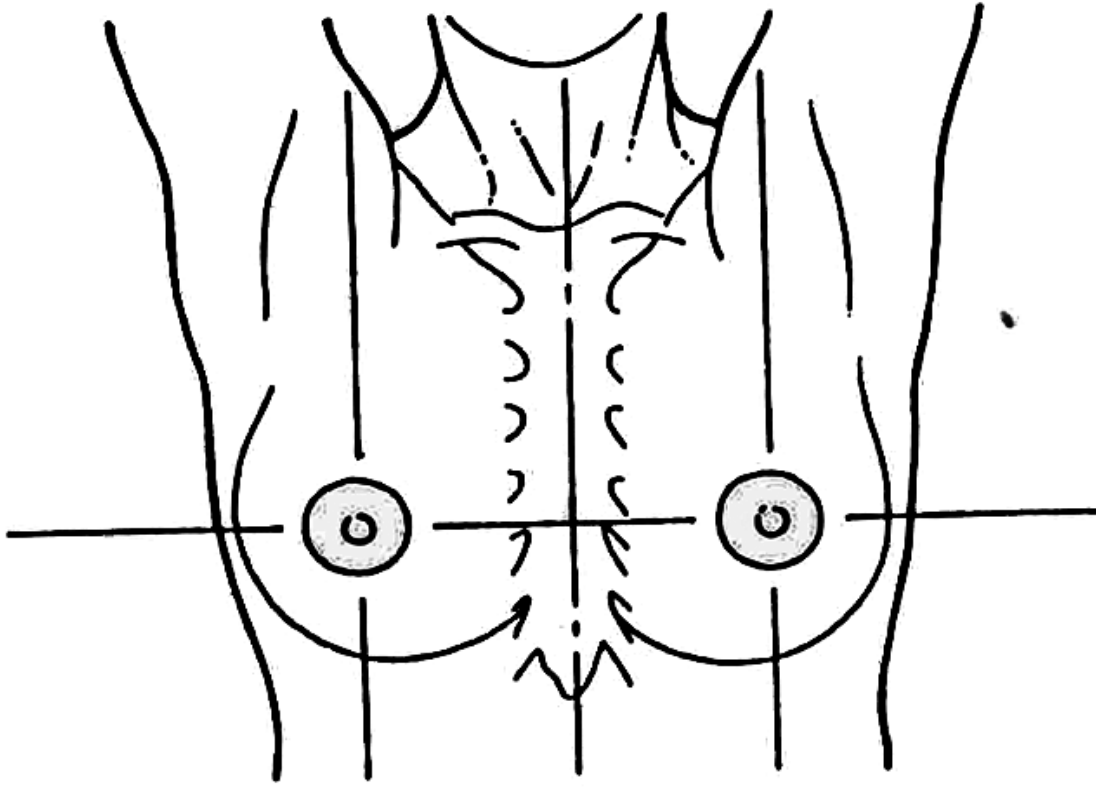
B. MEME ANATOMİSİ, EMBRİYOLOJİSİ VE HİSTOLOJİSİ

1. Anatomi

Meme, kas ve bağ doku yatağına oturmuş, fibroadipö doku ile sarılı değişime uğramış (modifiye) aksesuar bir ter bezidir (8). Ağırlığı 30 gr'dan az, 500 gr'dan fazla olabilir.

Ağırlığı ve şeklini, dokunun çoğunu oluşturan yağ dokusu belirler (5). Pectoralis major, serratus anterior ve obliquus abdominus externus kaslarının üzerine oturmuşlardır. Genellikle 2.–6. kostalar arasında ve ortaaksiller hat ile sternum arasında yer alırlar (Resim 1). 1/4' lük kısmı ise lateralde serratus anterior kası üzerinde bulunur. Bazen küçük bir kısmı aksillaya doğru uzanarak "Spence' in aksiller kuyruğu" adını alır. Meme dokusu üzerini örten deriye "Cooper' in asıcı bağları" ile tutunur (9).

Santral yerleşimli meme başı (papilla mammae), "areola mammae" denilen sirküler, pigmente alan ile çevrilidir. Meme başı tepesi, "apertura ductuli lactiferi" denilen 15–20 bez çıkışı ile delinmiştir. Bu bezleri "lig. suspensorium mammae" (Cooper ligamentleri) tam olmayarak birbirinden ayırırlar. Her gland bir lobu oluşturur. Areolada deri altı dokusu yoktur, yüzeyinde "glandula areolares" denilen bezler vardır. Bu bölgede sirküler ve longitudinal dizilmiş düz kaslar mevcuttur. Meme başı ve areola duyu sinirleri bakımından çok zengindir. Ayrıca areola çevresinde montgomeri bezleri (küçük yumrular) bulunmaktadır.



Resim 1. Memenin lokalizasyonu; ortaaksiller hat ile sternum arasında

Meme dokusu en fazla üst dış kadranda bulunur. Primer meme kanseri lezyonlarının kadranslara göre görülme oranı, üst dış kadranda %50, areola bölgesinde %18, üst iç kadranda %15, alt dış kadranda %11, alt iç kadranda ; %6'dır (10). Aksiller bölgeyi de kapsayan üst dış kadranda fazla meme dokusu bulunması bu bölümde tümörlerin daha fazla oluşmasına neden olur.

Memenin arterleri, internal ve external mammarian ile interkostal arterlerin dallarıdır. Yüzeysel venleri; v.thoracica interna, v.aksillaris ve v.interkostalis'lere dökülürler.

V.interkostalisler vertebral venöz sistemle bağlantıda olduğundan, bu yol meme tümörlerinin kemiklere ve sinir sistemine metastaz yapmasına sebep olur (11). Memenin lenfatiklerinin; kutanöz, aksiller, internal torasik ve posterior interkostal lenfatikler olmak üzere dört ana drenaj yolu vardır. Kutanöz lenfatikler, memenin superior, medial ve inferior kutanöz lenfatiklerinin çoğu, subareolar pleksus da dahil, aksillanın lateraline drene olurlar. Memenin alt sınırından rektus abdominalis

kılıfındaki epigastrik pleksusa buradan subdiafragmatik ve subperitoneal lenfatik pleksusa boşalır. Akım daha sonra karaciğere ve karın içindeki lenfatiklerle devam edebilir, bu yolla meme kanseri karaciğere metastaz yapabilir (9).

2. Embriyoloji

Primitif süt çizgisi ilk olarak gestasyonun yaklaşık 6. haftasında, aksiller bölgeden inguinal bölgeye uzanan epidermal bir kalınlaşma olarak belirir (12). Yaklaşık 9. haftada kaudal bölgedeki kalınlaşma gerilerken, pektoral bölgede yoğun interlober fibröz septa ile birbirinden ayrılan 15–20 kadar lob meydana gelir (8). Laktiferöz duktusların öncülü olan bu yapılar, meme başını oluşturacak olan küçük epitelyal çıkıntıya açılırlar. Gebeliğin son iki ayında duktuslar kanalize olur ve meme çıkıntısı oluşur. Doğumla birlikte veya doğumdan hemen sonra mezenkimal dokunun proliferasyonu ile meme başı oluşur (9).

Fetusun yaşamı boyunca, fetal meme, çeşitli hormonların etkisindedir. Fetal yaşamın erken evrelerinde meme gelişimi seks steroid hormonlarından bağımsızdır. 15. haftada meme dokusu geçici olarak testesterona duyarlı hale gelir. Testesteronun hedefi parankimdir. Testesteron epitelyal sap etrafında yoğunlaşan mezenkimi stimüle ederek meme tomurcuğunun deri altında izole olmasını sağlarken alveolar duktal sistemin gelişimini önler. Belirgin bir testesteron maruziyeti yoksa epitelyal tomurcuklar kanalize olmaya başlar ve 20–32. haftada süt duktusları oluşur. Memenin lobüloalveoler gelişimi 32 ile 40. haftalar arasında olur ve bu dönemde özgül hormonal dalgalanmalardan kısmen bağımsızdır. Terme yakın dönemde fetal meme dokusu maternal ve plasental steroidlerden ve prolaktinden etkilenir ve kolostrum sekresyonu oluşur. Doğumda maternal seks steroidleri ve prolaktinin çekilmesi ile bu sekretuar aktivite hayatın 1. ayı veya 2. ayında sona erer. İnfantın cinsiyeti bu gelişim evresini etkilemez. Maternal steroidler ve prolaktin eksikliğinin devam etmesi ile glandlar basit duktular organizasyonlarına dönerler. Bundan sonra meme dokusunun gelişimi ve diferansiasyonu, steroid ve peptid hormonlara ve büyüme faktörlerine bağlıdır (13).

Pubertede testesteronun relatif yokluğu, memenin esas gelişimini sağlar. Meme dokusu tam olarak geliştikten sonra menopoza kadar menstrual döngü sırasında ve

gebelikte çeşitli değişiklikler gösterir. Menopozda ise parankimal lobüloalveoler yapıların regresyonu ile karakterli involüsyonel değişiklikler olur (14,15,16).

3. Histoloji

Meme dokusu histolojik olarak 15–25 adet düzensiz lob, lobları birleştiren ve saran fibroadipö dokudan oluşur. Loblar bağ dokusu ile sarıdır ve pek çok lobüle ayrılır. Lobüller de bazal lamina ile çevrili 10–100 adet kadar alveole (asinüs) dallanır. Lobların herbiri meme başındaki laktiferöz sinüse açılır. Ampulla, laktiferöz sinüslerin birleşmesinden oluşur. Laktiferöz sinus, laktiferöz duktusların meme başına açılmadan önce oluşturduğu genişlemedir ve memenin segmental duktal sistemi bu sinüsle başlar. Laktiferöz duktuslar major (segmental) duktuslara, major duktuslar ise terminal (subsegmental) duktuslara dallanır. Terminal duktuslar lobüllerde sonlanır. Her bir lobül ve bu lobun terminal duktusu memenin temel yapısal birimi olan terminal duktal lobül ünitesini (TDLU) oluşturur. Bu tübüler yapıları, içte tek sıra epitelyal hücreler, dışta myoepitelyal hücreler döşer. En dışta ise bazal lamina bulunur. Lobülleri saran stroma yoğun, kollajenize fibroz stroma özelliği gösterirken lobül içi stroma daha gevşek ve mikzomatöz görünümündedir. Asinüslerin bulunduğu intralobüler alanda stroma hormona duyarlıdır (5,8,17).

Meme başı ektodermden gelişir ve çok sayıda sebace ve apokrin gland içerir. Laktasyonda olmayan memede ampulla tipik olarak lümende epitelyal döküntüler içerirken, laktasyon sırasında sütle dolar. Meme başının gövdesi sirküler ve longitudinal düz kaslar, kollajenöz ve elastik liflerden oluşur. Bu kas liflerinin kontraksiyonu, lokal venöz staz ile meme başı ereksiyonunu ve süt sinüslerinin boşalmasını sağlar. Meme dokusunu örten deri; kıl follikülleri, sebace glandlar ve ekrin ter bezleri içerir. Buradan süperfisiyel fasianın yüzeysel ve derin tabakalarına doğru fibröz bantlar uzanır. Fibrozis veya kitle etkisi ile bu fibröz bantların traksiyonu, meme başı ve meme derisinde çekintilere neden olur (5,8).

C. İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

Meme dokusundaki epitelyal hücreler; luminal ve bazal ikiye ayrılırlar ve çeşitli sitokeratinlerle (luminal için; CK7, CK8, CK18, CK19, bazal için; CK5, CK14, CK17) pozitiflik gösterir. Sekretuar aktivite boyunca alfa–laktalbumin pozitifliği söz

konusudur. Ayrıca östrojen (ER) ve progesteron (PR) reseptörü, bcl-2 için de immünreaktivite mevcuttur. Miyoepitelyal hücreler, ayrıca düz kas aktini (SMA), düz kas miyozin ağır zinciri, kalponin, kaldesmon, caveolin, laminin, p63, CD10, maspin, 14-3-3sigma ve S-100 pozitiflerdir. Luminal hücreler de ayrıca MUC1, alfa-6, integrin içerirler. Bazal lamina; laminin ve tip IV kollajen için immün boyanma gösterir (8).

Bu boyanma özelliklerinden de anlaşılacağı üzere, luminal ve bazal hücreler meme bezinde farklı dışavurum (ekspresyonlar) göstermektedir.

D. MEMENİN YAPI VE FONKSİYONUNU ETKİLEYEN HORMONLAR

Meme dokusunda östrojen hormonu duktal sistemin gelişmesini ve dallanmasını sağlar, progesteron ise lobüller gelişmeyi düzenler. Ayrıca duktal sistem gelişmesinde büyüme hormonu, prolaktin, adrenal glikokortikoidler ve insülin de rol almaktadır. Ayrıca gebelikte hipofizden; 5. haftadan itibaren giderek artan oranlarda salgılanan, doğum sırasında kanda normalin 10 katına yükselen prolaktin hormonu, doğumda östrojen ve progesteronun baskılayıcı etkilerinden kurtularak süt sekresyonuna neden olur. Sütün boşalması, birtakım nörojenik ve hormonal refleksler ile arka hipofizden salgılanan oksitosin hormonunun etkileri ile gerçekleşir (8,18).

E. NEOPLAZİ

1. Kanserin moleküler temelleri

Kanser genetik bir hastalıktır. Karsinogenezisin temelinde yatan asıl neden öldürücü olmayan genetik hasardır. Tümörler kazanılmış genetik değişikliğe sahip tek bir öncü monoklonal hücreden gelişirler. Genetik hasarın hedefi, 4 grup düzenleyici gen;

Büyümeyi sağlayan protoonkogenler

Büyümeyi inhibe eden tümör baskılayıcı genler

Apoptozu düzenleyen genler

DNA onarımını düzenleyen genler

Karsinogenezis çok aşamalı bir süreçtir. Malignitenin içerdiği özelliklerden her biri adım adım gelişir ve bu sürece tümör progresyonu denir.

2. Hücre döngüsü

Hücre döngüsünün fazları (G1, S, G2 ve M), seviyeleri döngü boyunca değişen siklinlerden oluşan moleküler kompleksler ve siklin bağımlı kinazlar (SBK) tarafından kontrol edilir. Hücre döngüsünde yer alan 5 çeşit siklin (A'dan E'ye), özgül SBK'larla bağlanır. Siklinler düzenleyici olarak, SBK ise katalitik subunit olarak kabul edilirler. Düzenleyici fonksiyonları diğer proteinlerin (retinoblastoma proteini; pRB ve p53) fosforilasyonu ve defosforilasyonu üzerinden gerçekleşir. p53 ölümcül olmayan DNA hasarı sonrası, hasarlı DNA tamir olana kadar ya da apoptozis indüklenene kadar replikasyonu durdurmak amacı ile hücre döngüsünü G1 fazında durdurur. İnsan tümörlerinde p53'ün DNA bağlayan bölgesinde çok sayıda mutasyon görülebilir. SBK inhibitörleri yeni tanımlanan hücre döngüsünün negatif düzenleyicileridir. Etki mekanizmalarından biri, stabil siklin-SBK birimi meydana getirerek katalitik olarak inaktif yapmaktır. p15, p16, p21 ile p27 ve insan tümörlerinde bu inhibitör moleküllere ait mutasyonlar saptanmıştır.

3. Büyüme sinyallerindeki yeterlilik, düzenleyici genler

Büyüme uyarıcı sinyaller olmadığında bile hücre proliferasyonunun protoonkogen aktivasyonu ile normal aşamaları gerçekleştirdiğinde, otonom tümör büyümesi başlar. Protoonkogenler, büyüme ve farklılaşma üzerine etkili normal hücre genleridir. Protoonkogenler onkogenlere; nokta mutasyonları, kromozomal yeniden düzenlenmeler ve gen amplifikasyonları ile dönüşebilir. Onkogenler, kanser hücrelerindeki otonom hücre çoğalmasını uyarıcı genlerdir.

4. Büyümeyi inhibe eden genlere duyarsızlık, tümör baskılayıcı genler

Kanser sadece büyüme uyarıcı onkogen aktivasyonu değil aynı zamanda normalde hücre proliferasyonunu baskılayan genlerin (tümör baskılayıcı genler) inaktivasyonu ile de gelişebilir. Örneğin; tümör baskılayıcı genlerden Retinoblastom (RB), G1'den S fazına ilerlemeyi düzenleyen bir ürün ekspres eder. p53 tümör baskılayıcı geni genetik hasarlanmış hücrenin çoğalmasını engeller. APC geni/beta katenin yolağı allellerinden birinde gelişen mutasyon, kolonda binlerce adenomatöz polip oluşmasına neden olur. Diğer tümör baskılayıcı genler ise TGF-beta, NF-1 ve WT-1'dir.

5. Apoptozis'den kaçış

Neoplastik hücrelerin artmasının bir nedeni de apoptozisi düzenleyen genlerde bir mutasyon meydana gelmesidir. Bu gruptaki prototipik gen bcl2'dir. Programlanmış hücre ölümünü mitokondriyal yol ile önler.

6. Kanser hücrelerinde DNA onarımı ve genomik kararsızlık

Üç adet DNA onarım mekanizmasından (yanlış eşleşme onarımı, nükleotid çıkarılması onarımı, rekombinasyon onarımı) birinde gelişen bozukluk, hatalı proteinler oluşmasına neden olabilir. DNA onarım genleri direkt onkogenik değildirler. BRCA-1 ve BRCA-2 genleri homolog rekombinasyon sonucu oluşan çift zincirli DNA kırıklarının onarımında yer alır. Her iki genden birinde mutasyon varsa ömür boyu meme kanseri olma ihtimali %60-85, over kanseri olma riski %15-40'dır.

Kanser hücreleri telomeraz aktiviteleri ile sınırsız çoğalma potansiyeli gösterebilirler. Bir-iki milimetre büyüyen tümör VEGF (vasküler endotel büyüme faktörü) ve bFGF (temel fibroblast büyüme faktörü) ile anjiyojenezi uyarır. Yeni damarlardan salgılanan bazı faktörlerle insülin benzeri büyüme faktörü ve PDGF ("platelet derived" büyüme faktörü) benzeri maddelerin etkileri ile tümör daha da büyür.

7. Metastaz

Malignitenin biyolojik belirteçleri invazyon ve metastazdır. Metastatik olay 2 basamakta incelenir.

A) Ekstraselüler Matriks İnvazyonu

Dokular bir seri kompartmanlar içinde organize olmuştur ve 2 tip ECM ile birbirinden ayrılmıştır; bazal membran ve interstisiyel bağ dokusu. ECM'in herbir komponenti kollagen, glikoprotein ve proteoglikanlardan oluşmuştur. Tümör hücrelerinin metastatik olaylarda ECM ile değişik aşamalarda temasa geçmesi gerekir. Kanser hücrelerinin ilk önce alttaki bazal membranı parçalaması, daha sonra interstisiyel bağ dokusunu geçmesi ve dolaşıma karışması söz konusudur. ECM invazyonu birkaç basamakta gerçekleşir; 1) Hücrelerin birbirinden ayrılması, 2) Matriks komponentlerine yapışma, 3) ECM yıkımı ve 4) Tümör hücrelerinin migrasyonu.

Normal hücreler birbirine ve çevrelerine çeşitli adezyon molekülleri ile tutunmuştur. Kadherin bunların en önemlilerindedir. Epitelyal dokuda homotipik adezyonu düzenler ve epitel hücrelerini birarada tutar. Tümör hücrelerinde kadherin sekresyonu azalır ve hücreler birbirinden ayrılır.

Ayrılma safhasından sonra, matriks komponentlerine yapışma gelir. Çevre ECM'e penetre olabilmek için tümör hücrelerinin önce matriks komponentlerine yapışması gerekir. İnvazyon ve metastaz için önce laminin ve fibronektine yapışma gereklidir. Bazal membran veya interstisiyel ECM'e tümör hücrelerinin yapışmasının ardından migrasyon için geçiş yolu arar. Matriks invazyonu sadece pasif büyüme basıncıyla değil aynı zamanda ECM komponentlerinin enzimatik yıkımı ile olur. Tümör hücreleri kendileri veya konakçı hücrelerini indükleyerek proteolitik enzimleri salgırlar ve proteazlar artar. Normalde proteaz ile antiproteaz aktivitesi dengededir. İnvazyon kenarında denge proteaz lehinedir.

3 tip proteaz vardır; 1) Matriks metalloproteinaz (MMP-2, MMP-9, vb.) 2) Serin 3) Sistein. Bu proteazlar, kollajeni epitel ve vasküler bazal membrandan ayırır ve tümör hücrelerinin migrasyonu için yol açılmış olur. İnvazyonun bir diğer aşamasında tümör hücreleri parçalanmış bazal membran ve proteoliz zonundan itmektir. Migrasyon iki moleküle idare edilir; tümör motilite faktörleri ve matriks komponentlerinin klivaj ürünleri (laminin).

Matriks metalloproteinaz ailesi:

Matriks metalloproteinazlar ECM'yi parçalayan, çinko bağlı endopeptidaz ailesidir (24 adet). Üretimleri translasyon ve transkripsiyon aşamalarında regüle edilirler. Ancak çok aşamalı kontrol mekanizmaları vardır. Başladıktan sonra ise birçok mekanizma tarafından, özellikle de doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) ile inhibe edilirler. MMP'lerin çoğu çözelti olarak enzim şeklinde salgılanır. Pek çok çalışmada bu proteazların hücresel fizyolojiyi birçok mekanizma ile düzenledikleri izlenmiştir (19).

B) Vasküler Yayılım

Dolaşımda tümör hücreleri kümeler yapar. Buna homotipik adezyon denir. Tümör ve kan hücre arasındaki agregasyon heterotopik adezyondur. Platelet tümör agregatları tümörün yayılımı ve implantasyonunu artırır. Tümör embolisinin ekstrasvazyonu

endotele invazyonla ilişkilidir. Bunu bazal membran yıkımı izler. Her organ metastazı doğal drenaj yolunu takip etmeyebilir, bazılarının metastazı organa özeldir.

8. Karsinogenezis

Genetik hasara neden olan ve neoplastik değişimi başlatan ajanlar şunlardır:

- Kimyasal ajanlar,
- Radyasyon,
- Onkojenik virüsler ve diğer mikroplar

Kimyasal karsinogenezis; “inisiasyon” (başlama) ile kalıcı DNA hasarı (mutasyon) ve “promosyon” (ilerleme) olarak iki aşamaya ayrılır. Kimyasal karsinogeneziste aslında karsinojenlerin çok büyük bir kısmı prokarsinojenlerdir. Çünkü etki gösterebilmek için aktive edilmeleri gerekmektedir. Çoğu olguda bu aktivasyon sitokrom P-450 oksijenazlara bağlıdır. Kimyasal karsinojenlerin moleküler hedefleri genellikle ras onkogenidir. Mutasyonların büyük bir kısmının DNA tamir mekanizmaları tarafından düzeltildiği düşünülmektedir. Onarılmamış DNA değişiklikleri tümörün başlamasında (inisiasyon) ilk gerekli aşamadır, bununla beraber hasarlı DNA zinciri, değişiklikleri kalıcı hale getirmek için çoğalmak zorundadır. Yani bir hücrede başlangıç olacaksa değişikliğin en az bir hücre döngü replikasyon ile kalması gerekmektedir. Çoğu kez ilerleme için mutajenik olayı takiben çeşitli hormonlar, ilaçlar, fenoller ve forbol esterlerini içeren destekleyici ajanlara maruz kalınması gereklidir.

Diğer bir mekanizma ise ultraviyole ışık ya da iyonize radyasyondan kaynaklanan enerjidir. Dalga boyları 280–320 nm olan ultraviyole B ışığı primidin dimerlerinin oluşmasına neden olması ve immün sistemi baskılaması (deneysel) ile karsinogenezise neden olur. DNA tamir mekanizmaları bozuk olan; dimerleri birbirinden ayıramayan ve çapraz bağları açamayan, Xseroderma pigmentozumlu hastalarda da DNA hasarı kalıcıdır. Ayrıca elektromanyetik ve parçacık radyasyonları da karsinojeniktir.

Onkojenik DNA virüsleri; human papilloma virüs (HPV), Epstein–Barr virus ve hepatit B virüsü insanlarda kanser oluşumuna neden olabilirler. Bir RNA virüsü olan ve onkojenik kabul edilen HTLV1 (insan T–hücreli lenfotropik virüs tip 1) lösemi ve lenfomalara neden olur.

F. MEME KANSERİ RİSK FAKTÖRLERİ

1. Risk faktörleri ve dağılımları

Bazı risk faktörlerini taşıyan kadınlarda, meme kanserinin daha sık görülür (Tablo 1) (20, 21). Bu faktörleri taşımayan kişiler de meme kanserine yakalanabilirler. Meme kanserine yakalanan kadınların bir kısmı, bu risk faktörlerini hiç taşımamaktadır.

Tablo 1. Meme kanseri risk faktörleri

Etkenler	Risk grupları	
	Düşük risk	Yüksek Risk
Cinsiyet	erkek	Kadın
Yaş	30–34	70–74
Menarş yaşı	>14	<12
Oral kontraseptif kullanımı (<45 yaş)	yok	var
İlk canlı doğum yaşı	<20	>30
Emzirme	>16 ay	yok
Doğum sayısı	>5	yok
Abortus	var	yok
Ooferektomi	<35 yaş	yok
Menopoz yaşı	<45	>55
Hormon replasman tedavisi	yok	var
Beden kitle indeksi (postmenopozal)	<22,9	>30,7
Göğüs bölgesine radyoterapi	yok	var
BRCA–1, BRCA–2 mutasyonu	yok	var
Plazma estradiolü	düşük	yüksek
Meme yoğunluğu	düşük	>%75 dansite
Kemik yoğunluğu	düşük	yüksek
Aile öyküsü		
• Birinci derece	yok	var
• İkinci derece	yok	var
• Üçüncü derece	yok	var
Önceki meme hastalığı		
• Atipisiz hiperplazi	yok	var
• Atipik duktal hiperplazi	yok	var
• Atipik lobüler hiperplazi	yok	var
• LKIS	yok	var
• DKIS	yok	var
• Diğer memede invaziv meme karsinomu	yok	var
Fiziksel aktivite	düzenli	yok
Alkol	yok	>3 kadeh/gün

Bu risk faktörlerini taşıyan kişilerin taşımayanlara göre, daha fazla meme kanserine yakalanma olasılıkları (Tablo 2) vardır (5, 22, 23, 24).

Tablo 2. Meme karsinomu gelişme olasılığını etkileyen faktörler ve bağıl riskler

Faktör	Bağıl risk
Yaş	25 yaşında sonra artar (>50yaş X4)
Aile öyküsü	
• Meme kanserli 1. derece akraba	1.2–3.0
• Premenopozal	3.1
• Premenopozal ve bilateral	8.5–9.0
• Postmenopozal	1.5
• Postmenopozal ve bilateral	4.0–5.4
Menstrüel öykü	
• Menarş yaşı <12	1.3
• Menopoz yaşı >55	1.5–2.0
Gebelik	
• İlk canlı doğumu 25–29 yaşlarında	1.5
• İlk canlı doğumu 30 yaşından sonra	1.9
• İlk canlı doğumu 35 yaşından sonra	2.0–3.0
• Nullipar	3.0
Meme hastalığı	
• Atipik hiperplazili proliferatif hastalık	4.4
• Karsinoma in situ	6.9–12.0

2. Meme Kanseri ve Erken Tanı

Meme kanserinde erken teşhis yöntemleri, hastanın taşıdığı risk faktörlerine göre değişmektedir. Bu risk faktörlerinin arasında en başta yaş gelmektedir. Erken tanı için 40 yaş üstündeki kadınlarda yılda bir kez mamografi ile tarama önerilmektedir. Meme kanseri yönünden riski artmış kadınlar titizlikle değerlendirilmelidir. Ailesel meme kanseri öyküsü olan kadınlar ile ailesel meme kanseri öyküsü olan kadınlar farklı değerlendirilmelidir. Kuvvetli aile veya genetik yatkınlığı olanlarda takip ölçütleri farklıdır. Bu gruptaki kişiler kalıtsal meme/yumurtalık kanseri olan kişiler olarak değerlendirilirler. Daha genç yaştan itibaren mamografi takibi ve daha ayrıntılı jinekolojik tümör takibi yapılır. Genetik test yaptırabilirlerse (BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları gibi) bu daha iyi bir şekilde doğrulanabilir. Test yaptırıp mutasyon bulunanlar ve test yaptıramayanlar riskli grup olarak değerlendirilirler. Meme muayeneleri 18 yaşından itibaren başlamalıdır. Mamografi 25 yaşından itibaren başlamalıdır ve 30–35 yaşından itibaren 6 ayda bir kadın doğum muayenesinde

“transvajinal doppler ultrasonografi” ve “tümör belirteçleri” (CA125 gibi) önerilir. Kendisinde herhangi bir sorun saptanmayan fakat kan bağı olan yakın akrabasında (yakın akraba 1. , 2. ve 3. derece kan bağı olan akrabaları içerir) aşağıda belirtilen durumu olan kişilerde kalıtsal meme/yumurtalık kanseri riski vardır (25):

- 1- BRCA1/BRCA2 ile genetik kanser riskinin varlığı saptananlar (bu tarama laboratuvarlarda aşağıda belirtilen durumlarda istenebilir),
- 2- Yakın akrabasında 40 yaş veya altında (40–50 yaş arası tam bilinmemektedir) meme kanseri öyküsü olanlar,
- 3- Yakın akrabasında her iki memede kanser veya 50 yaş veya altında bir memede kanser ve en az bir yakın akrabada daha 50 yaş ve altında meme kanseri veya yumurtalık kanseri öyküsü olanlar,
- 4- Yakın akrabasında meme kanserinin herhangi bir yaşta saptanması ve en az 2 yakın akrabada daha yumurtalık kanseri öyküsü olanlar,
- 5- Yakın akrabasında meme kanserinin herhangi bir yaşta saptanması ve en az 2 yakın akrabada daha meme kanseri öyküsü (özellikle 50 yaş altında veya iki memede çıkmışsa) olanlar,
- 6- Yakın akrabasında meme kanserinin herhangi bir yaşta saptanması ve başka bir yakın erkek akrabasında meme kanseri öyküsü olanlar,
- 7- Aynı yakın akrabasında hem meme, hem de yumurtalık kanseri olanlar,
- 8- En az iki akrabasında yumurtalık kanseri olanlar,
- 9- Yakın akrabasında yumurtalık kanseri ve en az bir yakın akrabasında daha 50 yaş ve altında meme kanseri veya iki memede kanser öyküsü olanlar,
- 10- Bir yakın akrabasında yumurtalık kanseri ve en az iki yakın akrabasında meme kanseri öyküsü olanlar,
- 11- Yakın akrabasında yumurtalık kanseri ve en az 1 yakın akrabasında meme kanseri öyküsü olanlar,
- 12- İki yakın erkek akrabasında meme kanseri öyküsü olanlar,
- 13- Yakın erkek akrabasında meme kanseri ve en az bir yakın kadın akrabasında meme veya yumurtalık kanseri öyküsü olanlar,
- 14- Li–Fraumeni sendromu (aynı ailede akut kan kanseri, erken yaşta meme kanseri, beyin tümörü, böbrek üstü bezi kanseri, kemik ve yumuşak doku sarkomu, diğer erken yaşta saptanan nadir adenokanserler veya çocukluk çağı kanseri hikâyelerinin olması) öyküsü olanlar,
- 15- Askhenazi Yahudileri

G. MEME KANSERİ BELİRTİ VE BULGULARI

Meme kanserinin belirti ve bulguları Tablo 3'de gösterilmiştir (12, 18, 20).

Tablo 3. Meme kanseri belirti ve bulguları

Belirti ve bulgular	Yorum
Kitle	Hareketsizdir Ağrısızdır 1–2 cm büyüklüğündedir Tek taraflı ve süreklidir Sınırları kısmen belirlenebilir Şekilsiz ve zor palpe edilir
Ağrı	Başlangıçta %90 oranında ağrısızdır Ağrı geç dönemde oluşur
Meme başı akıntısı	Pek sık rastlanmaz Tek taraflı Genellikle kanlıdır
Forgue belirtisi	Tümör taşıyan göğsün yukarıda, dik ve dolgun olmasıdır Memenin üst kadrantlardaki kanserlerinde meme başının kitleye doğru çekilmesiyle olur
Meme üzerindeki deride ödem	Tümör hücreleri, "Cooper" ligamentlerindeki lenf damarlarında ilerleyerek derinin yüzeysel lenf damarlarına ulaşır. Lenf damarları tıkanır, dolaşım bozulur ve deride sınırlı ödem oluşur
Meme başında retraksiyon veya çökme	Tümörün büyüüp meme başını tutması sonucunda oluşur
Deride ülserasyon ve eritem	Kanserin ileri dönemlerinde tümör hücrelerinin önce derin fasyaya sonrada M.Pectoralis'e ve göğüs duvarına ilerlemesi sonucu oluşur
Lenf nodüllerinde büyüme	Tümörün lenf nodüllerine metastazı sonucunda oluşur
Üst kolda anormal şişlik	Lenflerin tıkanması sonucu lenf dolaşımı bozulur ve kolda lenf ödem oluşur

H. MEME TÜMÖRLERİNİN PATOLOJİK EVRELENDİRMESİ (WHO)

Tablo 4. Meme kanseri evrelendirmesi; primer tümör: T (26)

Tx	Değerlendirilemeyen primer tümör	
T0	Primer tümör ait bulgu yok	
Tis	İn situ karsinom	
Tis (DCIS)	Duktal karsinoma in situ	
Tis (LCIS)	Lobüler karsinoma in situ	
Tis (Paget)	Meme başının paget hastalığı (primer başka tümör yok)	
T1	En büyük çapı ≤ 2cm	
	T1mic	En büyük çapı ≤ 0.1cm mikroinvazif tümör
	T1a	Tümör çapı > 0.1cm, ancak ≤ 0.5cm
	T1b	Tümör çapı > 0.5cm, ancak ≤ 1.0cm
	T1c	Tümör çapı > 1.0cm, ancak ≤ 2.0cm
T2	Tümör çapı > 2cm, ancak ≤ 5cm	
T3	Tümör çapı > 5cm	
T4	Göğüs duvarı ve cilde direk yayılım gösteren herhangi bir büyüklükte tümör	
	T4a	Pektoralis major kası dışında göğüs duvarına yayılım
	T4b	Ödem, peau d'orange, cilt ülserasyonu, aynı memede satellit nodülleri
	T4c	T4a ve T4b
	T4d	İnflamatuvar karsinom

İnflamatuvar karsinom klinikopatolojik bir bulgudur, deride yaygın endurasyon ile erizipeloid görünüm vardır. Genellikle ele kitle gelmez. Radyolojik olarak kitle olabilir ve meme üzerindeki deride karakteristik bir kalınlaşma vardır. Bu klinik görünüm dermal lenfatiklerde tümör embolisi ile oluşmaktadır. Paget hastalığında kitle varsa T'yi kitlenin büyüklüğü tayin eder. T ölçümünde tümörün en büyük boyutu göz önüne alınır.

Tablo 5. Meme kanserinde bölgesel lenf nodülleri: N, klinik ve patolojik sınıflandırma (26)

<i>Klinik Sınıflandırma</i>	
N_x	Daha önce çıkarıldığı için değerlendirilemeyen nodal tutulum
N_0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N_1	Hareketli, ipsilateral bölgesel lenf nodu metastazı
N_2	Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak (lenfosintigrafi dışı) görülebilen ipsilateral İM nodal metastaz
N_{2a}	Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı
N_{2b}	Aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak görülebilen ipsilateral İM nodal metastaz
N_3	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı veya klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görülebilen ipsilateral İM lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı veya supraklaviküler lenf nodu metastazı
N_{3a}	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı
N_{3b}	Klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görülebilen ipsilateral İM lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı
N_{3c}	Supraklaviküler lenf nodu metastazı

<i>Patolojik Sınıflandırma</i>	
pN_x	Değerlendirilemeyen bölgesel lenf nodları
pN_0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
$pN_{0(i-)}$	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK (-)
$pN_{0(i+)}$	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK (+), ancak tümör infiltrasyon alanı ≤ 0.2 mm
$pN_{0(mol-)}$	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR (-)
$pN_{0(mol+)}$	Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR (+)
pN_1	
pN_{mi}	Mikrometastaz, tümör infiltrasyon alanı >0.2 mm, ≤ 2.0 mm
pN_1	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu ve/veya klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen ancak sentinel biyopside saptanan İM lenf nodunda mikrometastaz
pN_{1a}	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu
pN_{1b}	Klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen ancak sentinel biyopside saptanan İM lenf nodunda mikrometastaz
pN_{1c}	1-3 aksiller lenf nodu tutulumu ve klinik veya radyolojik olarak görüntülenemeyen ancak sentinel biyopside saptanan İM lenf nodunda mikrometastaz
pN_2	4-9 aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller tutulum olmaksızın İM lenf nodlarında klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görüntülenebilen tutulum
pN_{2a}	4-9 aksiller lenf nodu metastazı, en küçük tümör infiltrasyon alanı >2.0 mm
pN_{2b}	Aksiller tutulum olmaksızın İM lenf nodlarında klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin olan tutulum
pN_3	10 veya daha fazla aksiller lenf nodu metastazı veya infraklaviküler lenf nodu metastazı veya klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin İM lenf nodu metastazı + en az 1 aksiller lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan mikroskopik İM lenf nodu metastazı + 3'den fazla aksiller lenf nodu metastazı
pN_{3a}	10 veya daha fazla aksiller lenf nodu metastazı, en küçük tümör infiltrasyon alanı >2.0 mm veya infraklaviküler lenf nodu metastazı
pN_{3b}	Klinik + radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin İM lenf nodu metastazı + en az 1 aksiller lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan mikroskopik İM lenf nodu metastazı + 3'den fazla aksiller lenf nodu metastazı
pN_{3c}	Supraklaviküler lenf nodu metastazı

Tablo 6. Meme kanserinde; uzak metastaz: M (26)

M_x	Değerlendirilemeyen uzak metastaz
M_0	Uzak metastaz yok
M_1	Uzak metastaz var

Tablo 7. Meme kanserinde evreleme (26)

Evre	T	N	M
Evre 0	T_{is}	N_0	M_0
Evre I	T_{mic}	N_0	M_0
Evre IIA	T_1	N_0	M_0
	T_0	N_1	M_0
Evre IIB	T_1	N_1	M_0
	T_2	N_0	M_0
	T_2	N_1	M_0
Evre IIIA	T_3	N_0	M_0
	T_0	N_2	M_0
	T_1	N_2	M_0
	T_2	N_2	M_0
Evre IIIB	T_3	N_1	M_0
	T_3	N_2	M_0
	T_4	N_0	M_0
	T_4	N_1	M_0
	T_4	N_2	M_0
Evre IIIB	T_{1-4}	N_3	M_0
Evre IV	T_{1-4}	N_{0-3}	M_1

Tablo 8. Meme tümörlerinin WHO sınıflaması (37)

<ul style="list-style-type: none">• Epitelial Tümörler• İnvaziv duktal karsinom, NOS-Spesifiye edilmemiş<ul style="list-style-type: none">- Mıstıptı karsinom- Pleomorfik karsinom- Osteoklastik deü korell karsinom- Köyokarsinomatöz özellikler içeren karsinom- Metastatik özellikler içeren karsinom• İnvaziv lobüler karsinom• Tübüler karsinom• İnvaziv kribriform karsinom• Medüller karsinom• Müsinöz karsinom ve abondan müsin içeren diğer tümörler<ul style="list-style-type: none">- Mıstıptı karsinom- Kırtade nokarsinom ve kolimular korell müsinöz karsinom- Taşlıyık korell karsinom• Nöroendokrin tümörler<ul style="list-style-type: none">- Solid nöroendokrin karsinom- Atıpk karsinoid tümör- Küçük korell karsinom- Büyük korell nöroendokrin karsinom• İnvaziv papiller karsinom• İnvaziv mikropapiller karsinom• Apokrin karsinom• Metaplastik karsinomlar<ul style="list-style-type: none">- Pıreptelıyal metaplastik karsinomlar- Skıamöz korell karsinom- Splıde korell metaplastik ade nokarsinom- Ade nokamöz karsinom- Mıkoeplıdemıold karsinom- Mıstıptelıyal / mezenkımal metaplastik karsinomlar• Lipıdden zengın karsinom• Sekretuar karsinom• Onkosıtik karsinom• Adenoid kistik karsinom• Asınık hücreli karsinom• Glikojenden zengın şeffaf hücreli karsinom• Sebese karsinom• İnflamatuar karsinom• Lobüler neoplazi<ul style="list-style-type: none">- Lobüler karsinoma lıstı• İntraduktal proliferatif lezyonlar<ul style="list-style-type: none">- Usval duktal lıpeplazi- Flatıepitelıyal atıpl- Atıpk duktal lıpeplazi- Duktal karsinoma lıstı• Mikroinvaziv karsinom• İntraduktal papiller neoplaziler	<ul style="list-style-type: none">• Benign epitelial proliferasyonlar<ul style="list-style-type: none">- Adenozis içeren varyantlar<ul style="list-style-type: none">• Sklerozing adenozis• Apokrin adenozis• Blunt duktus adenozis• Mıkroglandüler adenozis• Adenomyoepitelıyal adenozis- Radıal skar / komplekssklerozalı lezyon- Adenomalar• Myoepitelıyal Lezyonlar<ul style="list-style-type: none">- Myoepitelıyal- Adenomyoepitelıyal adenozis- Adenomyoepitelıyoma- Malign myoepitelıyoma• Mezenkımal Tümörler<ul style="list-style-type: none">- Hemangıoma- Angıomatoz- Hemangıoperıstıom- Pıdoangıom atöz stromal lıpeplazi- Myofıbroblastom- Fıbroblastık (agresif)- İntramıtar myofıbroblastık tümör- Lipom- Angıolıpom- Granular korell tümör- Nörofibrom- Solıngıom- Angıosarkom- Liposarkom- Rabdıomyosarkom- Osteosarkom- Leiomyom- Leiomyosarkom• Fıbroepitelıyal Tümörler<ul style="list-style-type: none">- Fıbroadıom- Pılylodes tümör- Perıduktal stromal sarkom, dışık derecelı- Meme kımarnomı• Meme Başı Tümörleri<ul style="list-style-type: none">- Nıppe adenom- Sırlıgmatöz adenom- Meme başını Paget hastalığı• Malign Lenfoma<ul style="list-style-type: none">- Dışık bıyık korell lenfoma- Bıyık korell lenfoma- MALT tıplı ekstraduktal marıjal zonal korell lenfoma- Folliküler lenfoma• Metastatik Tümörler• Erkek Meme Tümörleri
--	--

1. Meme kanserinde yeni sınıflama

Yukarıda da bahsedildiği gibi terminal duktal lobüler ünite luminal ve bazal olmak üzere iki tip hücreden oluşur. Bazal/miyoeitel hücreler heterojen özellik gösterirler. Anatomik lokalizasyon ve hormonal duruma bağlı olarak içsi veya küboidal yapı gösterebilirler. CK5, CK14, CK17, düz kas aktini (SMA), SM miyozin ağır zinciri, kalponin, kaldesmon, caveolin, laminin, p63, CD10, maspin, 14–3–3sigma ve S–100 pozitifler. Moll ve arkadaşları ile 1982’de başlayan süreçte sitokeratinlerin alt–tıpleri iki yönlü jel analizi ile belirlenmiş, basit ve stratifiye epitelial keratinler olarak adlandırılmışlardır (27). Daha sonra yine Moll ve arkadaşları 1983’te 14 ve 17’yi de içeren bir grup keratin, stratifiye keratinler olarak adlandırmışlardır. CK5/6 ve CK14 gibi yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) sitokeratinler, bazal tabaka hücrelerinde

saptandığı için bazal sitokeratinler olarak bilinmektedir (27, 29). İnvaziv meme kanserinde %2–18 ve grade 3 insitu meme lezyonlarında %25 oranında bu HMW sitokinler saptanmaktadır. Bu nedenle bu meme kanseri grubu bazal/miyoeptelyal fenotip gösteren grup olarak adlandırılır. Ayrıca bazal–benzeri, bazaloid grup da sinonim olarak kullanılmaktadır. Bu alt grubun diğer özelliği ER(–), PR(–) ve HER2(–) olmasıdır. Stratifiye epitel hücrelerden SMA, miyosin ve nötral endopeptidaz aktivite (CD10) pozitifliği göstermeleriyle ayrılırlar (30, 31). Luminal epitel hücreler ise karakteristik olarak CK7, CK8, CK18, CK19, MUC1, alfa–6, integrin ve epitel hücre adhezyon molekülleri içerirler (32–38). Sonraki çalışmalar, hücre kültüründe miyoeptel ve luminal hücreler uygun koşullarda desteklendiğinde hücrelerin %4’ünün luminal belirteç CK18’i kaybettiği, %2’sinin ise β 4 integrin, CD10 ve SMA ekspresyon özelliği kazandığı saptanmıştır. Miyoeptel hücrelerin bu şekilde bir değişim gösterdiği bilinmemektedir (39–41). Bir sonraki aşamada, antikor yardımıyla luminal hücrelerin bir alt grubunda ve duktusun bazal hücrelerinde CK5 ve CK14 pozitifliği saptanmıştır. Boecker ve arkadaşları ile Böcker ve arkadaşlarının çalışmaları CK5+ progenitör adult hücrelerin (CK5+/CK18/8+,CK5+/SMA+) içeren çift etiketli ara hücrelere dönüşüm sonrası sekretuar adult luminal hücrelere (CK5+/CK18/8+) ve miyoeptel hücrelere (CK5+/SMA+) diferansiye olduğunu göstermiştir (42, 43).

Temel kriter olarak CK5/6 ve/veya EGFR’nin pozitifliğinin gerekliliği bir çok yazar tarafından önerilmektedir (68–72). Meme kanseriyle ilişkili konsorsiyum tarafından bazaloid özelliğin BRCA–1 mutasyonu ile ilişkili olabileceği bildirilmekte olup, seçilmiş vakalarda BRCA–1 testinin yapılması önerilmektedir. Transkriptomik ve immünohistokimyasal analizlerde BRCA–1 germline mutasyonu ile BMK’nun benzer profil gösterdiği saptanmıştır. Genç yaşta görülen bazaloid/medüller morfolojik ve immünofenotipik özellik ailesel yatkınlık olabileceği yönünde uyarıcı olmalıdır (73, 74).

2. Moleküler ve immünohistokimyasal sınıflama

Mikroarrey gelişmeler ile meme kanseri moleküler olarak 5 gruba ayrılmaktadır;

- 1–Luminal A (ER+ ve/veya PR+, HER2–);
- 2–Luminal B (ER+ ve/veya PR+, HER2+);
- 3–HER2+;
- 4–Normal meme;
- 5–Bazal-benzeri/bazal/bazaloid (üçlü negatif) olarak sınıflandırılmaktadır.

İmmünohistokimyasal çalışmalarda bu sınıflama 5 kategoride incelenmektedir.

- 1–Luminal A (ER+ ve/veya PR+, HER2–);
- 2–Luminal B (ER+ ve/veya PR+,HER2+);
- 3–HER2+;
- 4–Bazal-benzeri/bazal/bazaloid (üçlü negatif, CK5/6 ve/veya EGFR pozitifliği)
- 5– “Null” tip veya sınıflandırılmayanlar(52, 68–72, 75–77).

Yapılan çalışmalarda bu grupların sağkalımlarının farklı olduğu gösterilmiştir. Bazaloid ve HER2+ grubun en kısa hastaliksız ve genel sağkalıma sahip olduğu, luminal özellik taşıyan tümörlerin ise daha iyi prognostik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (45, 51, 52, 72, 78). Bazı çalışmalar luminal B alt grubun daha yüksek dereceye sahip olup, daha agresif gidiş gösterdiğini bildirmektedir (45, 51, 72).

İ. PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Üzerinde daha çok çalışılmasına ve yenilerinin bulunmasına açık olan prognostik faktörler aşağıda gösterildiği gibi çeşitli alt gruplar altında sınıflanmıştır (8, 79, 80)

Fiziksel etkenler

Yaş, ırk, vücut ağırlığı.

Klinik Özellikler

Tümör büyüklüğü, deri ve kasa invazyon, çevre dokulara yapışıklık, aksiller lenf nodu (ALN) tutulumu, yerleşim yeri.

Patolojik özellikler

Tümör çapı ve büyüme şekli, yerleşim yeri, histolojik tip, histopatolojik derece, aksiller lenf nodu tutulumu, damar invazyonu, yaygın intraduktal komponent, cerrahi sınırlar, deri tutulumu.

Evre

HER2/neu (CerbB–2 veya HER 2)

Meme kanserlerinde prognozun biyolojik belirleyicileri

A– Proliferasyon belirleyicileri: PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) ve Ki–67 proteinleri en yaygın kullanılan belirteçlerdir.

B– DNA içeriği: İnvaziv meme kanserleri % 60–70 oranında anöploid özellik göstermektedir ve anöploid özellik kısa sağ kalım süresi ile ilişkilidir.

C– Litik enzimler: Stromal ve epitelyal hücreler tarafından sekrete edilen proteolitik enzimlerin meme kanserlerinin invazyon ve metastazında önemli rolleri vardır. Bunlar arasında en önemlileri katepsin D ve tip IV kollajenazdır.

D– Steroid hormon reseptörleri

a– Östrojen ve Progesteron reseptörü (ER–PR)

b– Androjen Reseptörü (AR)

E– Tümör baskılayıcı genler ve onkogenler

a– BRCA1 geni

b– BRCA2 geni

c– Ras protoonkogeni

d– c–myc, meme kanserlerinde % 17–32 oranında saptanır

e– p53 geni

III. HASTALAR VE YÖNTEM

A. HASTA GRUBU

Bu çalışmada; 1994 ve 2007 yılları arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalınca meme rezeksiyonu yapılan hastalar patoloji veri tabanından taranarak belirlendi. Bu hastaların dosyaları Genel Cerrahi Anabilim Dalının desteği ile taranarak aile hikâyeleri elde edildi. En az bir 1. derece akrabasında herhangi bir yaşta meme kanseri olan 40 hasta ve benzer özelliklerde (yaş ve cinsiyet) meme karsinomlu 50 hasta kontrol grubu (sporadik meme karsinomu) olarak alındı (Tablo 10). Araştırma ve kontrol gruplarına ait parafin bloklardan seçilen tümör kesitlerine; immünofenotipik meme karsinomu sınıflandırması amacıyla bazal ve luminal epitelyal tipleri ayırt edici sitokeratin paneli; bazal için CK5/6, CK14, luminal için CK7, CK19 ve miyoepitelyal farklılaşma için; SMA, p63 antikoları, bazal benzeri alt tip için EGFR antikoru ile immünohistokimyasal inceleme yapıldı. Tüm meme kanserli olgularda rutin olarak araştırılan ve tedaviyi (adjuvan kemoterapiyi) en çok etkileyen hormon reseptörleri östrojen (ER), progesteron (PR) ve c-ERB-B2'ye ek olarak p53, MMP-2 ve MMP-9 dışavurumları da immünohistokimyasal olarak araştırıldı.

MMP-2 (-735C>T) ve MMP-9 (-1562C>T) genlerine ait promotor bölge polimorfizmleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)-Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile belirlendi.

Morfolojik olarak da tümör çapı, tipi, histopatolojik derecesi retrospektif olarak tekrar değerlendirildi.

B. YÖNTEM

1. İmmünohistokimyasal inceleme

İmmünohistokimyasal inceleme için kullanılan antikora ait bilgiler tablo.9'da özetlendi. Doku bloklarından 3 mikron kalınlığında kesitler yapıp adhezivli lamlara alındı.

Kesitlerde rutin deparafinizasyon işlemi aşağıdaki şekilde uygulandı:

1. Bir gece boyunca 37 °C 'de etüvde ve sabah 1,5–2 saat 56 °C 'de etüvde inkübe edildi.
2. Üç kez 6 dakika ksilen banyosu yapıldı.
3. Altışar dakika sırası ile 96, 80, 70 derece etil alkol banyosu yapıldı.
4. Distile su banyosu uygulandı.

Deparafinizasyon işlemi sonrası immünohistokimyasal inceleme işlemi için aşağıdaki basamaklar uygulandı:

1. Antijenin yeniden kazanılması için antikorun uygulanacağı kesitler bir litre sitrat solüsyonu içinde mikrodalgada 20 dakika kaynatıldı.
2. Yirmi dakika soğutuldu.
3. Çeşme suyu ile 30 saniye yıkandı.
4. Onbeş dakika %3' lük hidrojen peroksitte inkübasyon ile endojen peroksit aktivitesinin ortadan kaldırıldı.
5. Beş dakika PBS banyosu uygulandı.
6. Primer antikor uygulanması; her antikor için uygun dilüsyonda hazırlanan primer antikorda uygun süre inkübe edildi.
7. PBS ile 5 dakika yıkandı.
8. Biyotinlenmiş sekonder antikor ile 15 dakika inkübe edildi.
9. PBS ile 5 dakika yıkandı.
10. Streptavidin–Horseradish peroksidaz ile 15 dakika inkübe edildi.
11. PBS ile 5 dakika yıkandı.
12. AEC substrat kromojen (3–amino 9–etilkarbazol) ile 10–15 dakika süren inkübe edildi.
13. Distile su ile yıkama yapıldı.
14. Zemin boyaması için hematoksilende 1 dakika bekletildi.
15. Musluk suyu ile 5 dakika yıkandı.
16. Havada kurutma işleminden sonra ksilen banyosu ve su bazlı kapama maddesi (AEC solüsyonu) ile kapatıldı.

Tablo 9. İmmünohistokimyasal inceleme için kullanılan antikorlara ait bilgiler

Primer antikor	Firma	Dilüsyon oranı	İnkübasyon süresi (saat)	Beklenen boyanma
ER	LABVISION	1/10	2	çekirdek
PR	LABVISION	1/10	2	çekirdek
HER2	NEOMARKERS	1/200	1 saat	hücre membranı
CK5/6	BIOCARE	Hazır	2.5	sitoplazmik
CK7	LABVISION	Hazır	2	sitoplazmik
CK14	THERMO	Hazır	2	sitoplazmik
CK19	LABVISION	Hazır	2	sitoplazmik
p63	DAKO	1/50	3.5	çekirdek
SMA	NEOMARKERS	Hazır	2	sitoplazmik
p53	DAKO	1/10	2	çekirdek
EGFR	THERMO	Hazır	2	hücre membranı
MMP-2	THERMO	1/25	2	sitoplazmik
MMP-9	THERMO	1/50	2	sitoplazmik

2. Polimorfizm belirlenmesi:

MMP-2 ve MMP-9 genleri promotör bölge polimorfizmleri (MMP-2 [-735C>T] ve MMP-9 [-1562C>T]) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile belirlendi.

1. Kullanılan cihazlar:

- Santrifüj cihazı (Eppendorf AG– Almanya)
- Minisantrifüj (Costar, ABD)
- Su banyosu (Medingen W12 – Almanya)
- Masaüstü vorteks cihazı (Snijders– Hollanda)
- Hassas terazi (Precisa 125A– İsviçre)
- Termal Cyclus (Applied Biosystems 2720– Singapur)
- Mikrodalga fırın (Arçelik – Çin)
- Yatay elektroforez cihazı (Consort E815– Belçika)
- UV transillüminatör (Herolab, Wiesloch– Almanya)
- Manyetik karıştırıcı (SBS– Güney Afrika Cumhuriyeti)
- Spektrofotometre (Biophotometer Eppendorf–Almanya)
- Mikropipetler (1–10µl, 10–100 µl, 100–1000 µl) (Eppendorf–Almanya)
- Mikropipet uçları (1–10µl, 10–100 µl, 100–1000 µl) (Greiner bio–one–Avusturya)

- Eppendorf tüpü, 1,5 ml (Greiner bio-one– ABD)
- Steril serolojik pipet (Costar Cornig, – ABD)
- Steril PZR tüpleri, 0.2 µl ince cidarlı (Greiner bio-one– ABD)
- Buzdolabı (Arçelik – Türkiye)
- Derin dondurucu (Arçelik – Türkiye)
- Yatay jel elektroforez tankı
- Güç kaynağı (Consort – Belçika)
- Filtre, 0,22 µm çapında (Sartorius – Almanya)

2. Kullanılan sarf malzemeleri:

- DNA izolasyon kiti (NucleoSpin Tissue Macherey– Nagel–Almanya)
- Primer sentezleri (AlphaDNA–Kanada)
- Taq DNA polimeraz (Qiagen–Almanya)
- PZR tamponu (Qiagen–Almanya)
- MgCl₂ (Qiagen–Almanya)
- dNTP (10X)= Her bir deoksiribonükleotidden (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 10 mM (Fermentas–İngiltere)
- Sph 1 restriksiyon endonükleaz (New England Biolabs – İngiltere)
- Hinf I restriksiyon endonükleaz (Fermentas – İngiltere)
- Agaroz (Sigma – ABD)
- Trizma baz (Sigma – ABD)
- Borik asit (Sigma – ABD)
- EDTA (Sigma – ABD)
- Bromfenol mavisi (Sigma–ABD)
- Sükroz (Sigma – ABD)
- Etidyum Bromür (EtBr)
- Moleküler ağırlık belirteci, 50 baz çifti (Fermentas – İngiltere)
- Ksilen (Merck – Almanya)
- Etanol (Merck– Almanya)

3. Kullanılan tamponlar ve çözeltiler:

Elektroforez çözeltileri ve tamponları

Agaroz = %2'lük 0.6 g agaroz

30 ml 0.5X TBE içinde mikrodalga fırında kaynatılarak eritildi

TBE tamponu (10X) = 108 g Tris baz

55 g Borik asit

9.3 g EDTA

Toplam hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı

TBE tamponu (0.5X) = 50 ml 10X TBE tamponu

Toplam hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı

Yükleme tamponu = %0.25 bromfenol mavisi

%40 (w/v) sükröz

Etidyum bromür = 10 mg/ml olacak şekilde distile suda çözüldü

a) Parafin blok doku kesitlerinden DNA eldesi

Meme dokusu parafin blok doku (20 µM'luk) kesitlerinden DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA elde edildi.

PARAFİN DOKUDAN DNA İZOLASYONU

1. Dokunun üzerine 1 ml ksilen eklendi, kuvvetli bir şekilde vorteks yapıldı. 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi, arasıra vorteks yapıldı.
2. Onüçbin rpm'de 3 dakika santrifüj edildi, süpernatant kısmı atıldı.
3. 1 ml absolute etanol eklendi, ters düz edilerek karıştırıldı.
4. Onüçbin rpm'de 3 dakika santrifüj edildi, süpernatant kısmı atıldı.
5. Etanol ile yıkama işlemi bir kez daha tekrarlandı (3–4 nolu basamak). Onüçbin rpm'de 3 dk santrifüj yapıldıktan sonra üst fazdaki etanolün tamamı pipetle çekildi.
6. Tüplerin ağzı açık olarak yatay konumda etanol tamamen uçuncaya kadar bekletildi.
7. Yüzseksen mikrolitre buffer T1 eklendi ve 25 µl proteinaz K koyularak tüpler vortekslenildi.
8. Bir-üç saat inkübe edildi (56°C 'de).
9. İnkübasyon süresi sonunda örnekler vortekslenildi, 200 µl B3, B2 şişesine eklendi ve kuvvetlice vortekslenildi, 70°C 'de 10 dakika bekletildi.

10. Süre sonunda hafifçe vorteks yapıldı. Eğer partiküller çözünmezse 5 dakika 13000 rpm'de santrifüj edilip süpernatant kısmı yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
11. Örneklerle 210 µl etanol eklenerek kuvvetlice vorteksleildi.
12. Filtre tüpü toplama tüpünün içine yerleştirildi. Örnek filtre tüpüne pipetlendi. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi, toplama tüpündeki sıvı dökülerek filtre tüpü tekrar toplama tüpü içine yerleştirildi
13. Birinci Yıkama: 500 µl buffer BW eklendi. Onüçbin rpm'de 1 dakika santrifüj edildi, süzülen sıvı döküldü ve filtre tüpü tekrar aynı toplama tüpü içine yerleştirildi.
14. İkinci Yıkama: 600 µl buffer B5 eklendi. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Süzülen sıvı döküldü filtre tüpü tekrar aynı toplama tüpü içine yerleştirildi.
15. Etanolu uzaklaştırmak için tüp 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
16. Filtreli tüp yeni bir 1,5'luk ependorf tüpüne yerleştirildi, 100 µl önceden ısıtılmış elution buffer (70 °C) eklendi. 1 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.

b) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):

MMP-2 ve MMP-9 genleri için promotör dizide hedef bölgeye özgü primerler kullanılarak PZR gerçekleştirildi. MMP-2 -735C>T polimorfizmi için kullanılacak primer dizileri primer tasarım programı kullanılarak belirlendi (81). MMP-9 -1562C>T polimorfizmi için daha önce belirtilen primerler kullanıldı (82, 83). Her iki bölge için kullanılan primerler, primerlerin bağlanma sıcaklıkları ve PZR döngüleri şu şekildedir.

MMP-2 promotör bölgesine özgü PZR primerleri (81);

Forward 5'-CGC AGG AAA GGA TTC AAG AG-3'

Reverse 5'-AGT GAA GAA GCC AGC CAA AA-3'

PZR birleşenleri

PZR tamponu: 1X

Q tamponu: 1X

MgCl₂: 4 mM

Primer Forward: 30 pmol

Primer Reverse: 30 pmol

dNTP: 0.2 mM

Hot Start Taq Polimeraz: 1,25 Ünite
DNA örneği: 100 ng
Son hacim steril distile su ile 25 µl'ye tamamlandı.

PZR koşulları;

Denatürasyon: 95°C 10 dakika

94°C 1 dakika

66°C 1 dakika

72°C 1 dakika

35 döngü

72°C 10 dakika

MMP-9 promotor bölgesine özgü PZR primerleri (83);

Forward 5'–CAG CCT GGT CAA CGT AGT GA–3'

Reverse 5'–ATG TTG CAG TGA GCC GAG AT–3'

PZR birleşenleri

PZR tamponu: 1X

Q tamponu: 1X

Mg: 3 mM

Primer Forward: 20 pmol

Primer Reverse: 20 pmol

dNTP: 0.2 mM

Hot Start Taq Polimeraz: 1,25 Ünite

DNA örneği: 100 ng

Son hacim steril distile su ile 25 µl'ye tamamlandı.

PZR koşulları;

Denatürasyon: 95°C 10 dakika

95°C 1 dakika

62°C 1 dakika

72°C 1 dakika

40 döngü

72°C 10 dakika

c) PZR ürünlerinin görüntülenmesi ve değerlendirilmesi:

Elde edilen PZR ürünlerinden 5 µl, 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak %2'lik agaroz jelde 90 voltta 50 dakika yürütüldü. Jel UV transillüminatörde incelendi ve fotoğrafı çekildi. Buna göre MMP-2 için 229 baz çifti, MMP-9 için 159 baz çifti ürün

olduğu görülen PZR ürünleri uygun restriksiyon endonükleazı ile kesilmek üzere +4 °C'de bekletildi.

d) Restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi

MMP-2 (-735 C>T) polimorfizmi:

PZR sonucunda elde edilen ürünler Hinf I restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi (82). Bunun için 5 µl PZR ürünü, 5 ünite enzim, 1X enzim tamponu ile karıştırıldı. Son hacim steril distile su ile 8 µl'ye tamamlandı. Karışım 37°C'de bir gece inkübe edildi. Süre sonunda elde edilen ürünlerinden 5 µl, 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak %2'lik agaroz jelde 90 voltta 50 dakika yürütüldü. Jel UV transillüminatörde incelendi ve fotoğrafı çekildi. Enzim kesimi sonunda beklenen bant boyları şu şekilde idi:

CC genotipi: 213 + 16 baz çifti

CT genotipi: 213 + 108 + 105 + 16 baz çifti

TT genotipi: 108 + 105 + 16 baz çifti

MMP-9 (-1562 C>T) polimorfizmi:

PZR sonucunda elde edilen ürünler Sph I restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi (83). Bunun için 5 µl PZR ürünü, 5 ünite enzim, 1X enzim tamponu ile karıştırıldı. Son hacim steril distile su ile 8 µl'ye tamamlandı. Karışım 37°C'de bir gece inkübe edildi. Süre sonunda elde edilen ürünlerinden 5 µl, 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak %2'lik agaroz jelde 90 voltta 50 dakika yürütüldü. Jel UV transillüminatörde incelendi ve fotoğrafı çekildi. Enzim kesimi sonunda beklenen bant boyları şu şekilde idi:

CC genotipi: 159 baz çifti

CT genotipi: 159 + 87 + 72 baz çifti

TT genotipi: 87 + 72 baz çifti

3. İstatiksel analiz

Veri seti Pearson ki-kare testi, olabilirlik oran testi ve Binary lojistik regresyon analizi yöntemleri ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 13.0 istatistik paket programı (SPSS 13.0, Chicago IL, USA) ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar n, % olarak ifade edilmiştir. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

IV. BULGULAR

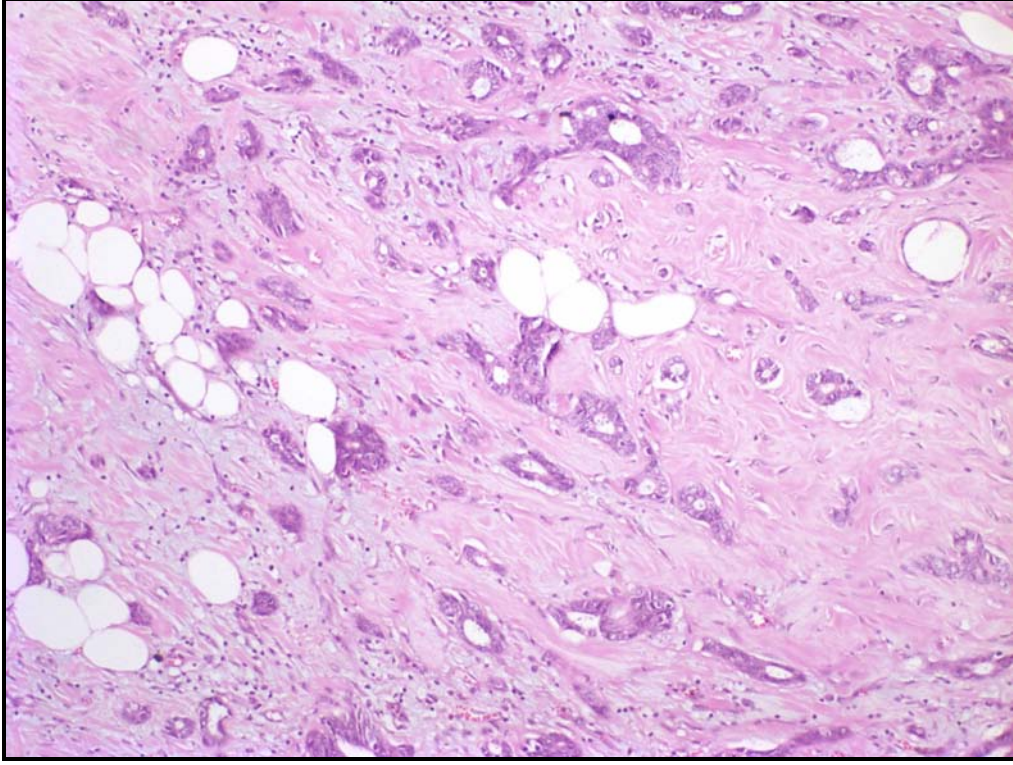
Demografik olarak hastaların 43 tanesi 50 yaşın altındadır. Tüm hastalar kadın olup toplam 64 olgu (n=90, %71.1) invaziv duktal karsinom; çalışma grubunda 29 (n=40, %72.5), kontrol grubunda 35 (n=50, %70.0) olarak raporlanmıştır. Kontrol grubundan bir hasta medüller karsinom olup diğerleri invaziv lobüler karsinom ve mikst karsinomdur (Tablo 10). Elliye hastada (n=90 %63.3) tümör çapı 2cm'nin altında, 33 hastada (n=90, %36.7) 2 ile 5 arasındadır. Olguların %85.5'inin (n=90) histopatolojik derecesi 2'dir. Hastaların klinik özelliklerine göre iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 10).

Tablo 10. Hastaların yaş, cinsiyet, tümör tipi, çapı ve histopatolojik derecelerine göre gruplar arasında dağılımları

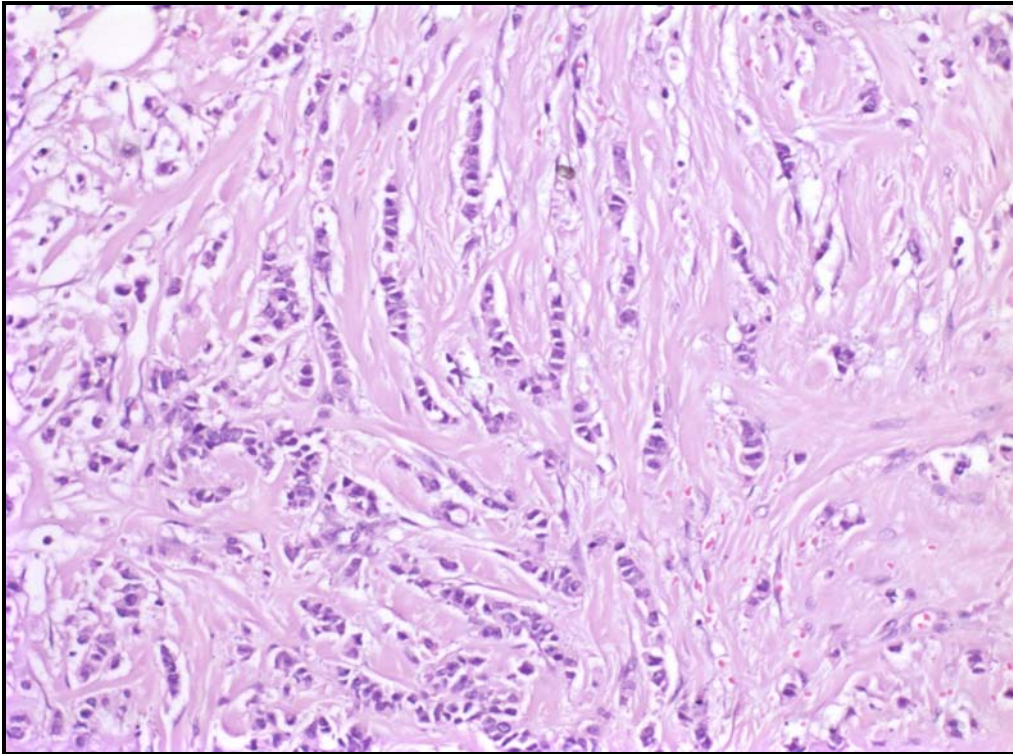
° Tümör tipleri; a–invaziv duktal karsinom, b–invaziv lobüler karsinom, c–mikst karsinom (invaziv duktal ve lobüler komponentler içeren), d–medüller karsinom.

	Yaş		Cins		Tümör tip °				Çap			Grade		
	<50	50≤	K	E	a	b	c	d	≤2	2<, ≤5	5<	1	2	3
Çalışma Grubu (n=40)	17	23	40	–	29	8	3	–	16	24	–	–	34	6
Kontrol Grubu (n=50)	18	32	50	–	35	11	3	1	41	9	–	–	43	7

İmmünohistokimyasal incelemede, östrojen reseptör antikoru ile aile öyküsü olan olguların 31'inde (n=40, %77.5), pozitiflik var iken kontrol grubunda 36 (n=50, %72.0) olguda pozitiflik izlenmiştir (Tablo 11). Progesteron reseptörü ile bu pozitiflikler sırası ile 21 (n=40, %52.5) ve 33'tür (n=50, %66.0) (Tablo 12). HER2 incelemesinde ise 3+ olan ve 2+ olup dosyasında FISH (+) saptanan olgular pozitif diğerleri negatif şeklinde değerlendirilmiş, 40 aile öyküsü olan meme kanseri olgusunun 4'ünde, 50 kontrol grubu hastasının 12'sinde HER2 pozitifliği saptanmıştır (p>0.05) (Tablo 13). Sitokeratin 7 ile ilk grupta olguların 30'unda (n=40, %75.0), ikinci grupta ise 46'sında (n=50, %92.0) pozitiflik saptanmış olup istatistiksel olarak bu fark anlamlıdır (p<0.05) (Tablo 15). p53 antikoru ile ilk grupta 18 olguda (n=40, %45.0), kontrol grubunda ise 21 olguda (n=50, %42.0) pozitiflik görülmüştür (Tablo 18). Sitokeratin 19 ile kontrol grubunda 2 hastada (n=50, %4.0) (Tablo 17), SMA antikoru ile ilk grupta 1 olguda (n=40, %2.5) pozitiflik saptanmıştır (Tablo 20). MMP 2 antikoru ile kontrol grubunda 1 vakada (n=50, %2.0) pozitiflik vardır (Tablo 21). MMP-9 antikoru ile ilk grupta 19 olguda (n=40, %47.5), ikinci grupta ise 31 olguda (n=50, %62.0) pozitiflik dikkati çekmiştir (p>0.05) (Tablo 22). EGFR, Sitokeratin 5/6, 14 ve p 63 antikoru ile olguların hiçbirinde pozitiflik saptanmamıştır (sırasıyla tablo 23, 14, 16, 19).



Resim 2. İnvaziv duktal karsinomun %10'dan daha fazlasında tübül formasyonu (H&E, X100)



Resim 3. "Indian file" görünümü ile invaziv lobüler karsinom (H&E, X200)

Yapılan genetik çalışmada ise; incelenen tüm örneklerde MMP-2 –735CC genotipi saptanırken, MMP-9 –1562 C>T polimorfizmi açısından 37 olgu (%92.5) CC, 3 olgu (%7.5) CT, kontrol grubunda ise 40 olgu (%80.0) CC, 10 olgu CT (%20.0) olarak saptanmıştır.

Tablo 11. Östrojen reseptörünün çalışma ve kontrol grupları dışavurumu

(^a) p değeri 0.05'in üstündedir.

			Östrojen reseptör ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	31	9	40
		% (yüzde)	%34.4	%10.0	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	36	14	50
		% (yüzde)	%40.0	%15.6	%55.6
Toplam		n (sayı)	67	23	90
		% (yüzde)	%74.4	%25.6	%100.0

Tablo 12. Progesteron reseptörünün çalışma ve kontrol grupları dışavurumu

(^a) p değeri 0.05'in üstündedir.

			Progesteron reseptör ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	21	19	40
		% (yüzde)	%23.2	%21.1	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	33	17	50
		% (yüzde)	%36.7	%18.9	%55.6
Toplam		n (sayı)	54	36	90
		% (yüzde)	%60.0	%40.0	%100.0

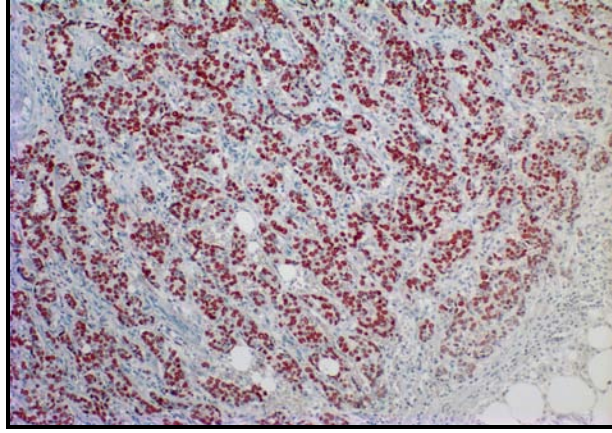
Tablo 13. HER2 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu

3+ olan ve 2+ olup dosyasında FISH (+) saptanan olgular pozitif diğerleri negatif şeklinde değerlendirildi.

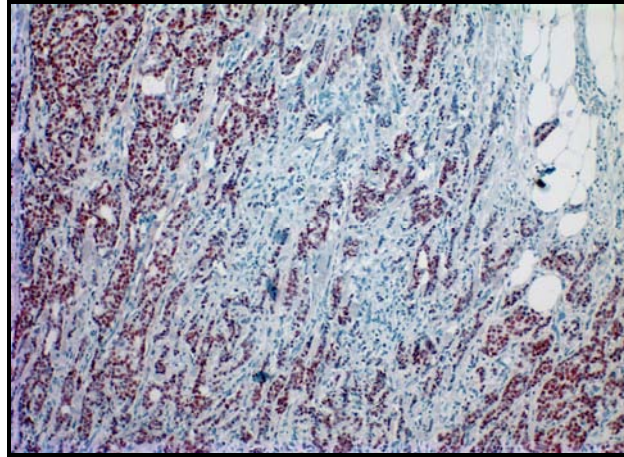
(^a) p değeri 0.05'in üstündedir.

			HER2 ^a		Toplam
			pozitif ^o	negatif ^o	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	4	36	40
		% (yüzde)	%4.4	%40.0	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	12	38	50
		% (yüzde)	%13.4	%42.2	%55.6
Toplam		n (sayı)	16	74	90
		% (yüzde)	%17.8	%82.2	%100.0

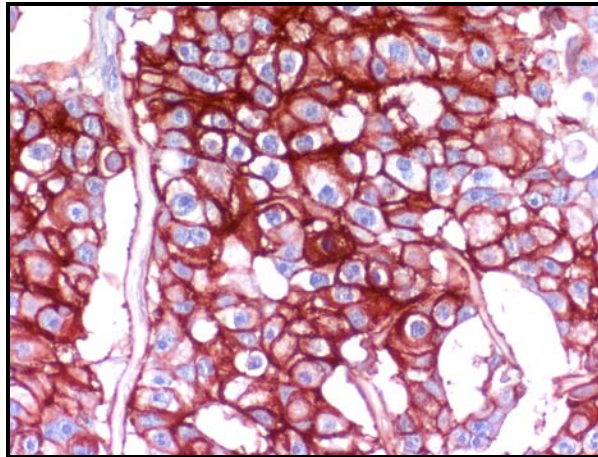
Toplam 13 olguda ER, PR ve HER2 antikorlarının her biri ile pozitiflik saptanmadı. Triple negatif olan bu olgularda EGFR ve CK5/6 antikorları ile de pozitiflik yoktu.



Resim 4. Östrojen reseptörü ile invaziv tümörde, hücrelerin hemen tamamında kuvvetli nükleer pozitif reaksiyon (X200)



Resim 5. Progesteron reseptörü ile invaziv tümörde, hücrelerin hemen tamamında kuvvetli nükleer pozitif reaksiyon (X100)



Resim 6. HER2 antikorunu ile tümör hücrelerinin %30'undan fazlasında, hücreleri çepeçevre saran membranöz pozitiflik (X400)

Tablo 14. Sitokeratin 5/6 antikoruunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu
(^a) p değeri 0.05'in üstündedir.

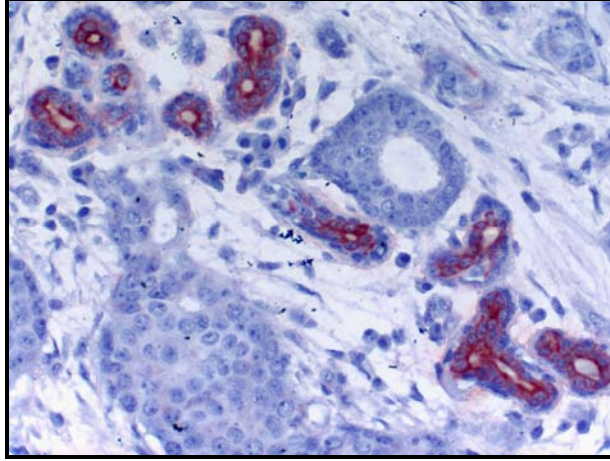
			Sitokeratin 5/6 ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	–	40	40
		% (yüzde)	%0	%44.4	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	–	50	50
		% (yüzde)	%0	%55.6	%55.6
Toplam		n (sayı)	–	90	90
		% (yüzde)	%0	%100.0	%100.0

Tablo 15. Sitokeratin 7 antikoruunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu
(^a) p değeri=0.027 olup, 0.05'in altındadır.

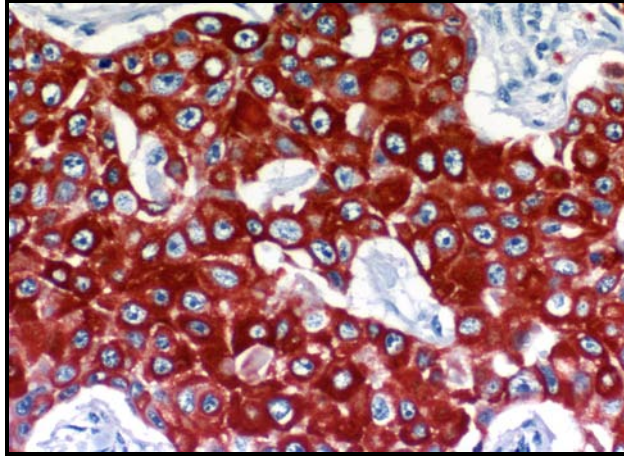
			Sitokeratin 7 ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	30	10	40
		% (yüzde)	%33.3	%11.1	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	46	4	50
		% (yüzde)	%51.1	%4.5	%55.6
Toplam		n (sayı)	67	23	90
		% (yüzde)	%84.4	%15.6	%100.0

Tablo 16. Sitokeratin 14 antikoruunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu
(^a) p değeri 0.05'in üstündedir.

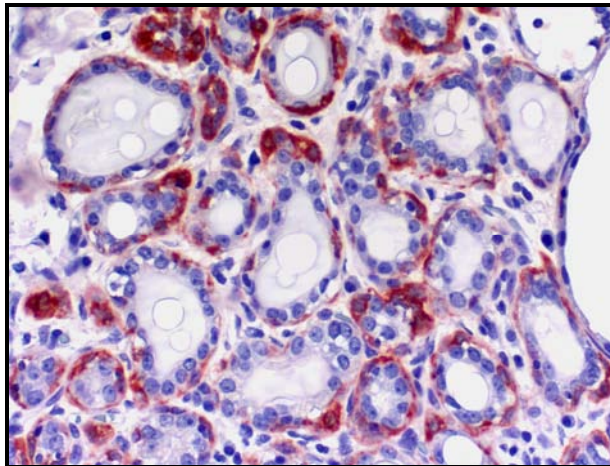
			Sitokeratin 14 ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	–	40	40
		% (yüzde)	%0	%44.4	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	–	50	50
		% (yüzde)	%0	%55.6	%55.6
Toplam		n (sayı)	–	90	90
		% (yüzde)	%0	%100.0	%100.0



Resim 7. Sitokeratin 5/6 ile tümöre komşu nonneoplastik meme dokusunda bazal epitelyal hücrelerde pozitiflik (X200)



Resim 8. Sitokeratin 7 ile tümör hücrelerinde yaygın kuvvetli sitoplazmik boyanma (X400)



Resim 9. Sitokeratin 14 ile nonneoplastik meme dokusunda bazal epitelyal hücrelerde yaygın pozitiflik (X200)

Tablo 17. Sitokeratin 19 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

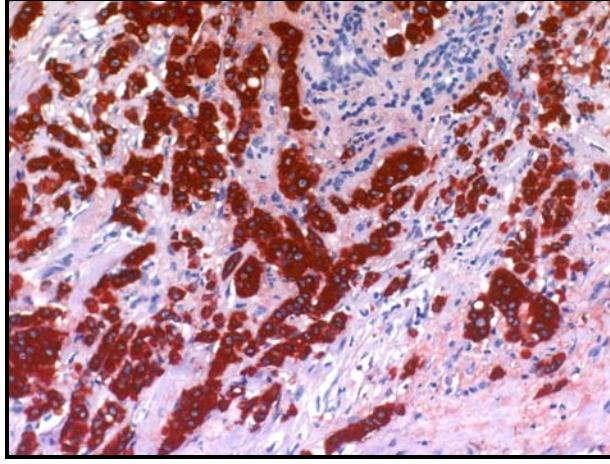
			Sitokeratin 19 ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	40	0	40
		% (yüzde)	%44.4	%0	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	48	2	50
		% (yüzde)	%53.4	%2.2	%55.6
Toplam		n (sayı)	88	2	90
		% (yüzde)	%97.8	%2.2	%100.0

Tablo 18. p53 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

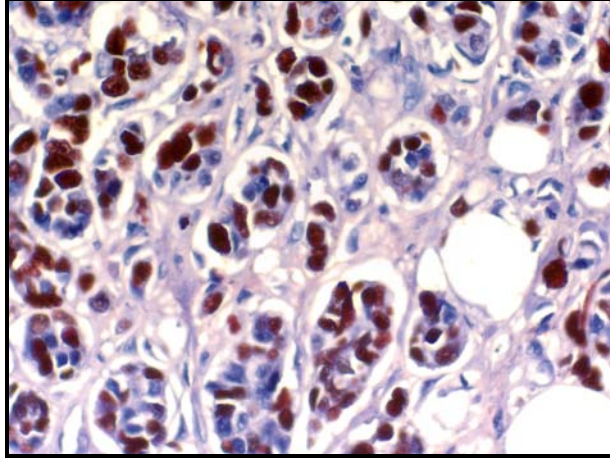
			p53 ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	18	22	40
		% (yüzde)	%20.0	%20.4	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	21	29	50
		% (yüzde)	%23.3	%32.3	%55.6
Toplam		n (sayı)	67	23	90
		% (yüzde)	%43.3	%56.7	%100.0

Tablo 19. p63 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

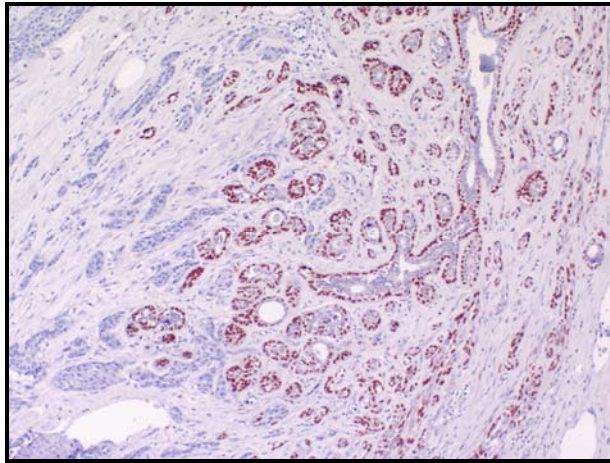
			p63 ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	–	40	40
		% (yüzde)	%0	%44.4	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	–	50	50
		% (yüzde)	%0	%55.6	%55.6
Toplam		n (sayı)	–	90	90
		% (yüzde)	%0	%100.0	%100.0



Resim 10. Sitokeratin 19 ile tümör hücrelerinde kuvvetli yaygın sitoplazmik reaksiyon (X100)



Resim 11. Tümör hücrelerinin büyük bir kısmında p53 antikoruna kuvvetli nükleer boyanma izlenmiştir (X400)



Resim 12. Tümör hücrelerinin infiltratif kenarında meme dokusunda arada kalmış miyoepitelyal hücreler ile neoplastik olmayan meme duktusları etrafında p63 antikoruna pozitiflik (X40)

Tablo 20. SMA antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

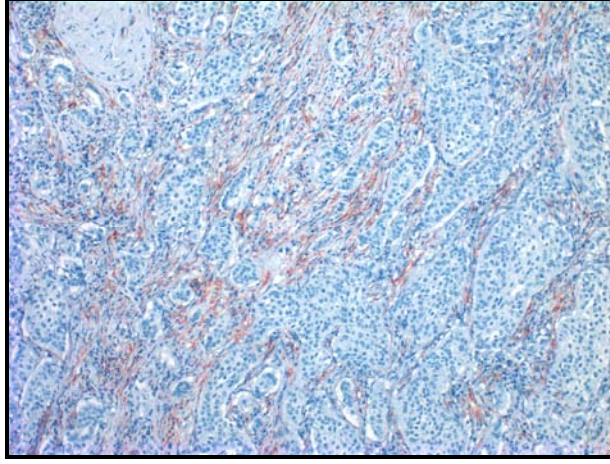
			Aktin (SMA) ^a		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	1	39	40
		% (yüzde)	%1.1	%43.3	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	–	50	50
		% (yüzde)	%0	%55.6	%55.6
Toplam		n (sayı)	1	89	90
		% (yüzde)	%1.1	%98.9	%100.0

Tablo 21. MMP-2 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

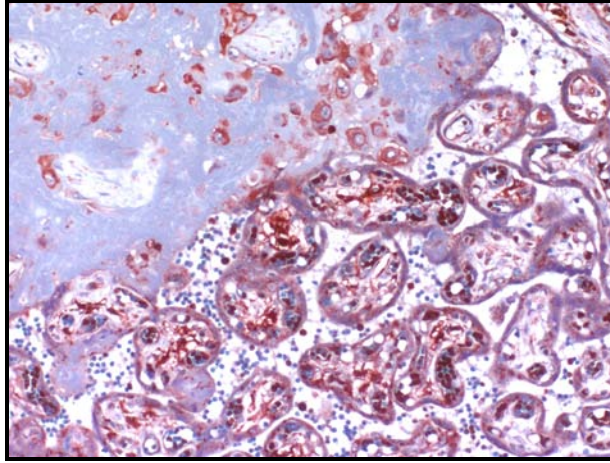
			MMP-2 ^a İHK		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	–	40	40
		% (yüzde)	%0	%44.4	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	1	49	50
		% (yüzde)	%1.1	%54.5	%55.6
Toplam		n (sayı)	1	89	90
		% (yüzde)	%1.1	%98.9	%100.0

Tablo 22. MMP-9 antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

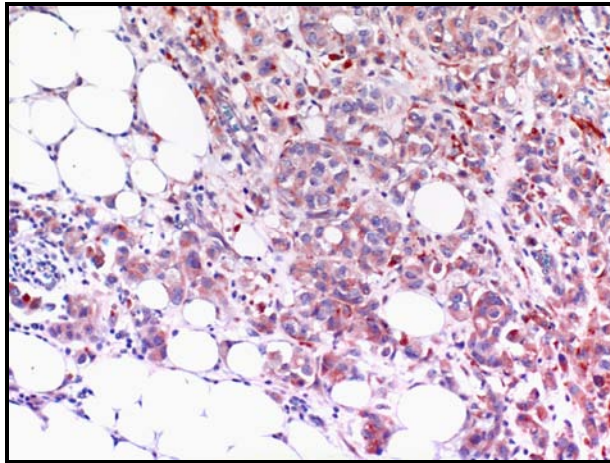
			MMP-9 ^a İHK		Toplam
			pozitif	negatif	
GRUP	Çalışma	n (sayı)	19	21	40
		% (yüzde)	%21.1	%23.3	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	31	19	50
		% (yüzde)	%34.5	%21.1	%55.6
Toplam		n (sayı)	50	40	90
		% (yüzde)	%55.6	%44.4	%100.0



Resim 13. Resim 11'dekine benzer şekilde, tümör hücrelerinin infiltre ettiği meme dokusunda arada kalmış miyoepitelyal hücreler SMA ile pozitiflik (X100)



Resim 14. MMP-2 antikoruna ile plasentadan hazırlanan kesitlerde trofoblastik hücrelerde yaygın pozitiflik (X100)



Resim 15. MMP-9 antikoruna ile tümör hücrelerinin hemen tamamında sitoplazmik boyanma (X200)

Tablo 23. EGFR antikorunun çalışma ve kontrol grupları dışavurumu^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

		EGFR ^a		Toplam	
		pozitif	negatif		
GRUP	Çalışma	n (sayı)	–	40	40
		% (yüzde)	%0	%44.4	%44.4
	Kontrol	n (sayı)	–	50	50
		% (yüzde)	%0	%55.6	%55.6
Toplam		n (sayı)	–	90	90
		% (yüzde)	%0	%100.0	%100.0

Tablo 24. MMP-2 –735C>T polimorfizmi çalışma ve kontrol grupları dağılımı^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

MMP-2 genotipi ^a		Çalışma Grubu		Kontrol Grubu		Toplam	
		n (sayı)	% (yüzde)	n (sayı)	% (yüzde)	n (sayı)	% (yüzde)
–735 C>T	CC	40	100	50	100	90	100
	CT	-	0	-	0	-	0
	TT	-	0	-	0	-	0
	Toplam	40	%100	50	%100	90	%100

Tablo 25. MMP-9 –1562C>T polimorfizmi çalışma ve kontrol grupları dağılımı^(a) p değeri 0.05'in üstündedir.

MMP-9 genotipi ^a		Çalışma Grubu		Kontrol Grubu		Toplam	
		n (sayı)	% (yüzde)	n (sayı)	% (yüzde)	n (sayı)	% (yüzde)
–1562 C>T	CC	37	92.5	40	80	77	85.6
	CT	3	7.5	10	20	13	14.4
	TT	-	0	-		-	0
	Toplam	40	%100	50	%100	90	%100

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda “binary” lojistik regresyon analizi sonuçlarına göre, parametrelerin grup değişkenleri üzerine birlikte etkileri yoktur. Ancak sitokeratin 7 tek başına etkili olduğu ($p<0.05$) görüldü.

V. TARTIŞMA

Ailevi meme kanseri ile ilgili çalışmalar, BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonların saptanması ile hız kazanmıştır. O günden bugüne bu genetik mutasyonları taşıyan hastaların klinik, morfolojik, immünohistokimyasal ya da genetik özellikleri ile önceden tespit edilebilmeleri araştırılmıştır. Ailevi tümörler için yüksek risk taşıyan bireylerde uygun tedavi seçenekleri belirlenmeye çalışılmaktadır. Yüksek riskli bireyleri tespit etmek yanı sıra tümör davranışını saptayarak tedavi seçeneklerini planlamak amacı ile de çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bunlardan genetik çalışmaların gün geçtikçe kullanımı artmakta ve bu doğrultuda fiyat etkinliği uygun hale gelmekte ise de maliyet yönünden çalışmalara dahil edilmesi hala birtakım kısıtlılıklar içermektedir. Ancak, kestirimci faktörleri belirlemek, tedaviye yanıt ile ilişkili sonuçlara ulaşmak, yüksek risk grubunu belirleyebilmek ve sonraki nesillere faydalı olmak amacı ile arayışlar sürmektedir. Bu nedenle bu çalışmada en az bir 1. derece akrabasında meme kanseri olan, yani “aile öyküsü pozitif” olan olguları ele aldık ve özellikle immünohistokimyasal, genetik ve morfolojik özellikler yönünden benzer özelliklerdeki sporadik meme kanserli gruptan farkını araştırdık.

Meme kanseri üzerine; en yaygın olarak kabul gören, prognostik öneme de sahip olan ve endokrin tedaviye yanıtı belirleyen hormon reseptör durumu ve HER-2 durumu, en çok üstünde durulan değişkenlerdir. Hastalık relapsı hakkında fikir veren diğer prognostik faktörler arasında lenf nodu durumu, tümör çapı, histolojik derece ve yaş bulunmaktadır. Meme kanserinde ER durumunun prognostik önemini gösteren çalışmalardan biri olan NSABP B-06 çalışmasında, ER(+) hastalar için 5 yıllık hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım, sırasıyla %74 ve %92 olarak bulunurken, ER(-) hastalar için %66 ve %82 olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda ER(-) ve PR(-) hastalara daha genç yaşta tanı konmaktadır. Bizim çalışmamızda hormon reseptör durumu açısından aile öyküsü olan grup ile sporadik meme kanseri olan grup karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmemiştir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasında da yerini alan bazaloid morfolojide meme kanseri güncel araştırmalara konu olmaktadır. Carey ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 496 meme kanseri hastası İHK ve genetik profiline göre değerlendirilmiş ve tüm populasyon için bazaloid meme kanseri oranı %20 olarak verilmiştir. Üçlü

negatiflerde (ER-, PR- ve HER2-) ise bazaloid meme kanseri oranı %70 olarak verilmektedir (84). Hedef popülasyon, aile öyküsü olan grup ile sporadik meme kanseri grubuna, bazaloid morfolojide meme kanserine yönelik immünohistokimyasal incelemeleri yaptığımızda toplam 13 hastada hormon reseptörleri (ER, PR) ve HER2 negatiftir. Ancak üçlü negatif olarak da adlandırılan bu hastalarda bazaloid morfolojiye H&E kesitlerde rastlanmamıştır. İlk olarak Lakhani ve arkadaşları 1997 yılında BRCA1 ve BRCA2 mutasyonu taşıyan kadınların histolojik fenotip açısından benzerlik gösterebilecek bir takım özelliklere sahip olabileceklerini söylemişler, BRCA1 mutasyonunu taşıyan kadınlarda yüksek mitoz ve pleomorfizm, BRCA2 mutasyonunu taşıyan kadınlarda tübül formasyonunun azaldığını belirtmişlerdir (85). Daha sonra 2002 yılında “Breast Cancer Linkage Consortium”da hormon reseptörleri ve HER2 ile p53 antikorları açısından BRCA1 ve BRCA2 mutasyonu gösteren meme kanserlerini birbiri ile karşılaştırmışlar (86). Sonuç olarak morfolojik ve immünohistokimyasal bulgular birlikte değerlendirildiklerinde risk grubu genç yaşta kadınların “germline” BRCA1 mutasyonuna ışık tutabileceğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada BRCA2 açısından fenotipik bir özelliğin henüz iyi tanımlanmadığına dair bilgiler de verilmiştir. Adem ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmada invaziv tümör özellikleri (tübül formasyonu, nükleer pleomorfizm, mitotik indeks), “Nottingham” derecesi, lenfoid infiltrat ve in situ karsinom özellikleri tip (LKIS, DKIS), yapı (komedo, nonkomedo), nükleer derece ile nekroz varlığına göre BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları saptanmış meme kanserleri ile kontrol grubunu karşılaştırdıklarında anlamlı farklılık saptamamışlardır (87). Aynı çalışmada sonuç olarak aile öyküsü olsun olmasın bu iki mutasyonu taşıyan kadınlarda meme neoplazisi gelişme riskinin belirgin derecede arttığı belirtilmiştir. Honrado ve arkadaşları 2006 yılında histolojik tip, histopatolojik derece, mitoz, tübül formasyonu, pleomorfizm, itici sınırlar (“pushing margins”), solid tabakalar, belirgin lenfoid infiltrasyon ve nekroz varlığına göre BRCA1, BRCA2, bu iki mutasyonu da içermeyen grup ile sporadik meme kanserlerini birbiri ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmaya göre, BRCA1 mutasyonunu içeren tümörlerin sıklıkla tipik ya da atipik medüller karsinom özelliklerini içeren invaziv duktal karsinomlar olduklarını söylemişlerdir. Ayrıca BRCA2 mutasyonunu içeren meme karsinomlarının benzer yaş kontrol gruplarına göre daha yüksek histopatolojik derece içerdiklerini belirlemişlerdir (88). Teng ve arkadaşları 2008 yılında yayınlanan çalışmalarında yukarıda bahsedilen önceki çalışmalara atıfta bulunarak BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarını taşıyan meme

kanserlerinin, bu mutasyonları taşımayanlara göre morfolojik, immünofenotipik ve moleküler karakteristik olarak farklılıklar içerdiklerini söylemişlerdir (89).

Bizim çalışmamızda ER, PR, HER2 ve p53 antikorları açısından aile öyküsü olan grup ile sporadik meme kanseri grubunun olguları arasında dışavurum farkı saptanmamıştır. Bu çalışma ile farklı sonuçların elde edilmesi çalışma grubu ve kontrol grubunun sınırlı sayıda hasta içermesi ve aile öyküleri bilindiği halde hangi genetik mutasyonu taşıdıklarının bilinmemesinden kaynaklanabilir.

Tümör çapı ve tutulan lenf nodu sayısı, birçok çalışmada önemli prognostik gösterge olarak bildirilmiştir. Carter ve arkadaşlarının SEER programı dahilinde yaptıkları 24740 vakalık çalışmaya göre, tümör çapının (T)<2 cm ve aksiller lenf nodu tutulumunun olmadığı vakaların 5 yıllık sağkalımının, T>5 cm olup, pozitif aksiller lenf nodu tutulumu olanlara göre daha iyi olduğunu göstermişlerdir (sırasıyla %96.3 ve %45.5). Bu bulgu, TNM evrelemesinin temelini atması açısından önemlidir (90). NSABP B-04 çalışmasını yeniden değerlendiren Fisher ve arkadaşları, istatistiksel olarak uzun sağkalımla ilişkili bulunan 10 patolojik özellikten sadece 3'ünün (nodal metastaz sayısı, tümör çapı ve meme başı tutulumu) bağımsız prognostik belirleyici olduğunu gösterdiler (91). Rosen ve arkadaşları da, T1 olarak evrelendirilen 644 hastayı median 18.2 ay takip edip saptadıkları olumsuz klinik-patolojik faktörleri geniş tümör çapı, perimenopozal durum, metastatik aksiller lenf nodu sayısı, yüksek grade, lenfatik tümör embolisi, damar invazyonu ve tümör çevresindeki lenfoplasmositer reaksiyon olarak bildirmişlerdir (92). SEER verilerinin değerlendirildiği diğer bir çalışmada, Grann ve arkadaşlarının çalışmasında, evre, grade ve tümör tipi ile meme tümörlerinde reseptör negatifliği arasında ilişki olduğuna dair literatür bilgisi bulunmaktadır. Yine bu analizde histopatolojik derece 1 olan hastalara göre histopatolojik derece 2 ve 3 olan hastalarda mortalite oranı 3 kat fazla olduğu; yüksek histopatolojik derecenin en az %25 daha fazla mortaliteye sahip olduğu bildirilmiştir (93). Putti ve arkadaşları ER(-) hastalarda grade 3 oranının %94, Swan ve Sousha ile arkadaşları da grade 2 oranının %18 ve grade 3 oranının ise %81 olduğunu çalışmalarında göstermişlerdir (94, 95).

Çalışmamızda tümör tipi, grade, tümör çapı ve yaş açısından iki grup arasında fark olup olmadığına bakıldı. Bizim serimizde grade 1 tümör bulunmamaktadır. Aile öyküsü olan grupta 34 hastada (n=40, %85.0) grade 2, 6 hasta (n=40, %15.0) grade

3 iken, kontrol grubunda 43 hasta (n=50, %86.0) grade 2, 7 hasta (n=50, %14.0) grade 3 olarak rapor edilmiştir. Literatüre göre grade 2 olan hasta sayısı yüksek iken, grade 3 hasta sayısı düşük olarak bulundu. Histopatolojik derece değerlendirmesinin literatürdeki diğer çalışmalara da yansıyan subjektif taraflarından ve rezeksiyon materyallerinde fiksasyon sürelerine bağlı olarak mitoz sayımındaki değişiklikler literatür ile uyumsuzluğu açıklanabilir. Ayrıca tümör tipi ve çapı ile yaş açısından da iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Lenf nodu durumu ve grade gibi meme kanserinin klinik gidişini öngörmek için kullanılan klasik parametrelerin günümüzde yetersiz kaldığı düşünülmektedir (52, 96). Az sayıda hasta ile yapılan bazı çalışmalarda, gen profili ile belirlenen alt gruplarda sağkalım ilişkisi araştırılmıştır. Norway/Stanford 17, van't Veer 21, West ise 37 vaka tanımladılar (52). Bu analizlerde meme kanseri; luminal A, luminal B, HER2 pozitif, normal meme, bazaloid olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Nielsen ve arkadaşları 21 bazaloid meme kanseri gen profiline sahip meme kanserinde İHK ile CK5/6 ve/veya EGFR ekspresyonu göstermişlerdir. van de Vijver ve arkadaşları, 295 hastada 70 gen ekspresyonuna bakarak bunlardan elde ettikleri bir skala ile kötü prognoz sekansları içeren gen profiline sahip olanların iyi prognoz işareti taşıyan gen profili taşıyıcılarına göre metastaz potansiyelinin daha fazla olduğunu gösterdiler (97). BMK alt grubunu saptamaya yönelik yapılan tetkiklerden biri olan İHK yöntemi, gen tarama yöntemiyle karşılaştırıldığında %76 duyarlılık ve %100 özgüllüğe sahiptir (68). Yine aynı çalışmada, BMK grubunda EGFR ekspresyonu sağ-kalımda azalma, metastaz ve invazyon potansiyeliyle ilişkili bulunmuştur. Tsutsui ve Klijin'in çalışmalarında EGFR 'nin prognostik önemi olduğu iddia edilmiş olup İHK yöntemiyle EGFR pozitifliği daha düşük olarak saptanmıştır (98, 99). Ferrero ve arkadaşlarının çalışmasında EGFR seviyesi ile tümör çapı, grade, lenf nodu durumu arasında ilişki bulunamamış ama ER ile ters ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu sonucun sınırlı prognostik önem arz ettiği ifade edilmiştir (100). Rampaul ve arkadaşlarının çalışmasında ise, EGFR pozitifliği %32 olarak saptanmış olup, prognostik önemi olmadığı sonucuna varılmıştır (101). ER(-) meme kanserli hastalarda EGFR pozitifliği Sainsbury'nin 89 hastalık çalışmasında %46 ve Putti ve arkadaşlarının 291 hastayı kapsayan serisinde ise %42 olarak verilmektedir. Putti'nin çalışmasında sağkalımla ilişkilendirilememekle birlikte, Sainsbury'nin çalışmasında yüksek düzeylerinin kötü prognoza katkıda

bulunabileceği bildirilmektedir (102). Bizim çalışmamızda olguların tümünde EGFR immünohistokimyasal olarak negatiftir.

Meme kanserinde CK5, CK14 ve CK17 eksprese eden tümör hücrelerinin kötü prognoza sahip olduğu ve/veya erken rekürrensle ilişkili olduğuna dair olarak literatürde bildirilen ilk çalışma 1987'de Dairkee ve arkadaşlarının çalışmasıdır (44). Sonraki çalışmalar bu veriyi desteklemiştir (70, 46–52). Korsching ve arkadaşları ayrıca CK5/6 pozitif tümörlerin ER(-) ve PR(-) özellik gösterdiği ve klinik olarak bunların HER2+ tümörlerden farklı bir grup olduğunu saptamışlardır. Ayrıca bu grubun p53, EGFR ve yüksek proliferatif indeks eksprese ettiklerini saptamışlardır (53). Wellings ve Kallenbach, Scarpelli ilk kez yapısal olarak myoepitelyal fenotip özellik gösteren bazaloid alt grubu tanımlamışlardır (55–57). Bu tümörler, daha genç hastalarda görülmekte ve daha agresif seyretmektedir. Fulford ve arkadaşlarının çalışmasında yaş ortalaması kontrol grubunda 53.9 iken bazaloid grubunda 49.9 olarak saptanmıştır (58). Grade'i daha yüksek olan bu tümörler, yüksek mitoz, medullar tümör benzeri yapı, santral nekroz/skar formasyonu, içsi hücre ve skuamoz diferansiasyon göstermektedir (48–60). BMK tanısı için hangi sitokeratinlerin kullanılması gerektiği konusunda tam bir konsensus bulunmamaktadır. CK5/6, CK14, CK17 veya EGFR pozitifliğinin tanısal yaklaşımda önemini savunan veriler bulunmaktadır (47, 48, 59–67). Yapılan çalışmalarda EGFR pozitiflik oranı %50–70 oranında bulunmuştur. Temel kriter olarak CK5/6 ve/veya EGFR'nin pozitifliğinin gerekliliği bir çok yazar tarafından önerilmektedir (69–72). İHK çalışmalarda literatürde farklı skorlama sistemleri bulunmaktadır. BMK tanısı için yaygın olarak kullanılan skorlama hiç boyanmanın görülmemesi negatif (0), ≤%20 pozitif tümör hücresinde boyanma saptanması zayıf pozitif (1+), >%20 hücrede boyanma görülmesi ise pozitif olmak üzere 3'lü skorlama sistemidir (68, 103). Bizim çalışmamızda CK5/6, CK14 veya EGFR pozitifliği saptanmadı. Buna üçlü negatif hastalarda da dahildir. Bunun nedeni olgu sayısındaki kısıtlılık olabileceği gibi, genetik mutasyonunu bilmediğimiz, aile öyküsü olan çalışma grubundaki bireylerin farklı mutasyonları olma ihtimalidir. Ayrıca bazal belirteçlerden p63 ve SMA ile de pozitiflik saptanmamıştır.

Sitokeratin 19 kök hücre ya da öncü hücre belirteci olarak düşünülmekte (104). Clarke ve arkadaşları ER ve CK 19 pozitif hücre popülasyonunun yenilenme

yeteneğine sahip olduklarını göstermişlerdir (105). Petersen ve arkadaşları tarafından suprabazal farzedilen öncü hücrelerin (106) CK19 pozitif oldukları ve Clarke ve arkadaşlarının tarfiledikleri ile aynı olabileceğini söylemişlerdir. Bu hücreler aynı zamanda insan memesi oluşumunda yer alan Dontu ve arkadaşlarının bahsettiği ER pozitif öncü hücreler (107) olabilir. Bu gözlemler daha önceden Taylor–Papadimitriou ve arkadaşlarının normal meme lobüllerinde bahsettiği CK19 pozitif hücre popülasyonu ile uyumludur. Bu hücre biyolojisi yaklaşımları normal meme hücre tiplerinin birbirinden ayrılmasında önemlidir. Ancak tam hiyerarşik düzen bulunana kadar karışık olayları ve memenin heterojenitesini açıklamak mümkün değildir. Fakat bu bilgilerle meme kanserlerinin moleküler yapılarına göre sınıflandırılabilceğini göstermektedir (104). Moll ve arkadaşları 101 meme kanserini incelemişlerdir. Bu çalışmanın önemi keratin profili ve histopatolojik derece arasında korelasyon olduğunu göstermektedir. Histopatolojik derecesi 1 ve 2 olan tümörlerin basit keratinleri, yüksek dereceli tümörlerin ise stratifiye epitelyal keratinlerle (CK4, CK14 ve/veya CK17) ilişkili olduğu saptanmıştır (49). Bu keratin fenotipi aynı zamanda kısa hastaliksız ve toplam sağkalım süreleri ile ilişkilidir (104). Bütün tümörler basit epitelyal keratinleri eksprese ederler (CK7, CK8, CK18 veya CK19) ve histopatolojik derecesi 3 olan 45 adet tümörün %62'sinde bimodal ekspresyon paterni görülmüştür, yani bu tümörler en az bir tane stratifiye keratin koeksprese etmişlerdir (CK4 36%, CK5 18%, CK14 20% ve CK17 38%). Bu önemli çalışmada, 1986'da Nagle ve arkadaşları ile başlayan (50) ve sonra Abd El–Rehim ve arkadaşlarının da doğruladığı (47), basit ve stratifiye sitokeratinlerin aynı tümörde eksprese edilebildikleri gösterilmiştir. Abd El–Rehim ve arkadaşlarının çalışmasında 1944 karsinom incelenmiş, %98.8'inde basit epitelyal keratinlerin pozitif olduğu saptanmıştır. Kombine bazal ve luminal %27.4, bazal tek başına %0.8 pozitif ve her ikisi de negatif %0.4 olgu saptanmış. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak olgulardan aile öyküsü olan grubun tümünde (%100, n=40), kontrol grubunun 48'inde (%96, n=50) CK 19 pozitifliği saptanmıştır. CK7 ise, çalışma grubunda 30 olguda (%75, n=40), kontrol grubunda 46 olguda (%92, n=50) pozitiflik göstermiştir. Her iki grup arasında CK19 İHK incelemesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. CK7 ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış ancak çok değişkenli analizlerde bu fark ortadan kalkmıştır.

MMP'ler 20'nin üzerinde proteolitik enzimden oluşan ekstrasellüler matriks yıkımı ile ilişkili enzim ailesidir (106). MMP-2 (jelatinaz A) ve MMP-9 (jelatinaz B), içerdikleri 3 kez tekrar eden tip 2 fibronektin zinciri sayesinde jelatin (denatüre kollajen), kollajen ve laminine bağlanarak pek çok fizyolojik olayda rol oynarlar (113). MMP'ler normal fizyolojik rollerine ek olarak tümör hücre invazyonu, metastaz ve anjiyogenez ile ilişkilidirler (112). Değişik tümörlerle MMP ailesini hedef alan birçok çalışma mevcuttur.

MMP-2 ile pek çok kanserin ilişkisi araştırılmış ve MMP-2 ekspresyonunun kanser hastalarında kontrol grubuna göre arttığı gösterilmiştir (119). MMP-2 promotor bölgesindeki -1306C>T ve -735C>T polimorfizmlerinin bir transkripsiyon faktörü olan Specificity protein 1'in (SP-1) bağlanma bölgesini yok ederek (123,124) transkripsiyonu belirgin derecede azalttığı ve pek çok kanserin gelişiminde riski arttırdığı bulunmuştur (121). Yifeng Zhou ve arkadaşları -1306C ve -735C haplotiplerinin, -1306T ve -735T haplotiplerine göre sinerjistik bir etki ile akciğer kanserini geliştirme riskini artırdığını saptamışlardır. Aynı araştırmacılar özofagus kanseri, gastrik kardial kanseri ve meme kanseri ile de benzer sonuçlar elde etmişlerdir (121). Decock ve arkadaşları kolorektal, meme ve akciğer kanserlerinde MMP polimorfizmleri ve ekspresyonlarını inceledikleri araştırmalarında MMP-2 ekspresyonunun ileri dönem hastalık ve kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (119). Ancak mesane kanseri ile ilgili bir çalışmada MMP-2 -1306C>T polimorfizminin kanser gelişme riskine etkisi olmadığı gösterilmiştir (109). Bu sonuçlar MMP-2 promotor bölgesine ait polimorfizmlerin farklı kanser gelişme riskleri ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Bugüne kadar tanımlanan MMP'ler içinde içinde MMP-2 (tip IV kollajenaz), meme kanserleri ile en yakından ilişkili olanıdır (114). Griou ve arkadaşlarının (2004) çalışmasında MMP-2'nin -1306C>T polimorfizmi ile tümör çapı ve hasta sağkalımı arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Bu polimorfizmin homozigot mutant allelini içeren tümörlerin daha küçük tümör çapına ve daha uzun sağkalıma sahip olduğu, bu durumun MMP-2 enzimi ekspresyonu ile ilgili olduğu belirlenmiştir. MMP-2 meme kanserinin ilerlemesinde ve belki de metastazında önemli rol oynar (115-117). Bir çalışmada tümör çapı MMP-2 doku ve serum seviyeleri arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada Shu-Chih Liu ve arkadaşlarına göre tümör çapı dikkate alındığında MMP inhibitörlerinin antimetastatik ajanlar olarak kullanılabileceği öne

sürülmüştür (118). Zhou ve arkadaşları akciğer kanserinde ile Grieu ve arkadaşları meme kanserinde MMP-2 polimorfizmlerinin (-1306C>T) kanser ile olan ilişkilerini araştırmışlardır. Zhou ve arkadaşları ek olarak akciğer kanserinde MMP-2 -735C>T polimorfizmini de çalışmışlar ve karsinogenezde MMP-2 promotor bölgedeki fonksiyonel haplotip ve genotipin genetik yatkınlığa neden olabileceğini saptamışlardır (121). Bizim çalışmamız meme kanseri ile -735C>T polimorfizmini inceleyen ilk araştırmadır. MMP-2 -735C>T polimorfizmi açısından bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda homozigot mutant allel (TT) saptanmamıştır. Bu bulgu ailesel ve sporadik meme kanseri gelişiminde MMP-2 promotor bölge polimorfizmlerinin rolünün tartışmalı olduğunu göstermesinin yanı sıra Shu-Chih Liu ve arkadaşlarının önerdiği MMP-2 inhibitörlerinin antimetastatik ajanlar olarak kullanılabilmesi görüşünü de desteklememektedir.

Cotignola ve arkadaşları kutanöz malign melanoma ile ilişkili 437 klinikopatolojik değişkenin 5 farklı MMP-9 polimorfizmi ile ilişkisini değerlendirdikleri çalışmada 39 değişken ile MMP-9 polimorfizmleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki olduğunu belirlemişlerdir (119). Vairaktaris ve arkadaşları oral skuamöz hücreli karsinom riski artışı ile yüksek promotor aktivitesi ile ilişkili olduğu düşünülen MMP-9 -1562C>T polimorfizmi arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu belirlemişlerdir (120). Benzer şekilde MMP-9 (-1562C>T ve -279R/Q) haplotipleri ve diplotiplerinin bulunması mesane kanseri ile ilgili bulunmuştur (110). Ancak MMP-9 (-1562C>T) kolorektal kanserlerle doğrudan ilişkili olmayıp, lenf nodu metastazı ile ilişkilidir (83). Ek olarak MMP-9 plazma seviyesi ile -1562C>T polimorfizmi arasında bağlantı bulunmamaktadır (111). Grieu ve arkadaşları 214 meme kanserli olguda MMP'lerin immünohistokimyasal ekspresyonlarını MMP polimorfizmleriyle kıyaslamışlardır (114). Bu çalışmada lenf nodu durumu, yaş, tümör tipi, tümör çapı, ER ve PR durumu, HER2 amplifikasyonu ile p53 mutasyonu, MMP-9 (-1562C>T) ve MMP-2 (-1306C>T) polimorfizmleri ile karşılaştırılmıştır. MMP-9 -1562C>T polimorfizmi açısından çalışmaya dahil edilen bireylerin %76'sının normal genotip (CC), %22'sinin heterozigot genotip (CT) ve %2'sinin homozigot mutant genotip (TT) taşıdığı belirlenmiş, ancak aradaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda aile öyküsü pozitif olan grupta MMP-9 -1562C>T polimorfizmi için TT genotipi saptanmazken, olguların %7.5'inde CT genotipi ve %92.5'inde CC genotipi belirlenmiştir. Kontrol grubunu oluşturan bireylerde ise yine TT genotip

saptanmazken, %80'i CC genotipi ve %20'si CT genotipi olarak belirlenmiştir. MMP-9 –1562C>T polimorfizmi açısından kontrol grubunu oluşturan bireylere ait değerler daha önce gerçekleştirilen ve sonuçları yayınlanan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (111,114).

Çalışmamızda aile öyküsü pozitif olan meme kanseri çalışma grubu (n=40) ile sporadik meme kanseri grubu arasında MMP-2 (–735C>T) ve MMP-9 (–1562C>T) polimorfizmleri açısından fark saptanmamıştır.

Bu araştırma sonucunda; aile öyküsü olan ve olmayan meme kanserlerinde morfoloji, immünofenotip ile MMP-2 ve MMP-9 polimorfizmleri açısından farklılık olmadığı görülmüştür.

KAYNAKLAR

- 1- Yakıcıer C, Akarsu NA, Kanser epidemiyolojisinde ailesel kanserlerin rolü, Türkiye'de Kanser Kontrolü, Tuncer AM. Ankara, Onur matbaacılık, 155–160, Eylül 2007.
- 2- Hossfeld DK, Sherman CD, “Klinik Onkoloji”, Uluslararası Kanserle Savaş Birliği, Kars A, Sarılioğlu F, Fırat D., Ankara, Başbakanlık Basım Evi, 236, 1992.
- 3- Ferrer A, Ollila J, Tobin G, Nagy B. Different gene expression in immunoglobulin–mutated and immunoglobulin–unmutated forms of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 153(1), 69–72, 2004.
- 4- J. Ferlay, P. Autier, M. Boniol, M. Heanue, M. Colombet, P. Boyle. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 18: 581–592, 2007.
- 5- Lester SC. The Breast In Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Editor. Pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 1120–1149, 2005.
- 6- Ahmedin J, Ram C, Taylor M. Cancer Statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 54: 8–29, 2004.
- 7- T.C. Sağlık Bakanlığı; Kadınlarda en çok görülen on kanser türü. Erişim: (Yıl bazında kanser istatistikleri, 1999, <http://www.saglik.gov.tr/>).
- 8- Tavassoli FA. Normal development and anomalies. In: Tavassoli FA ed. *Pathology of the Breast* 1st ed. Appleton&Lange. 1–24, 1992.
- 9- Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins R, Dyson M. In: *Gray's Anatomy*. 8th ed. Great Britain, 4217–4240, 1995.
- 10- Harris J., Morrow M., Norton L., “Malignant Tumors of the Breast Cancer Principles. Practice of Oncology, Ed: Devita J., Vircent t. Phidelphia, 1557–, 1997.
- 11- Steven G. Silverberg, Ronald A. DeLellis, William J.Frable, Virginia A. LiVolsi, Mark R. Wick. *Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology*. 4th Ed. China, Elsevier Inc,2006. Dere F. *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*. 5.baskı, Cilt II, İstanbul, Nobel, 1999.
- 12- Monaghan P, Perusinghe NP, Cowen P, Gusterson BA. Peripubertal human breast development. *Anat Rec*, 226: 501–508, 1990.
- 13- Mccarty KS, Tucker JA, Breast. In: Sternberg SS ed. *Histology for Pathologists*. 1st ed. Raven Press. New York. 893–902, 1992.
- 14- Viacava P, Naccarato AG. Bevilacqua G. Apocrine epithelium of the breast: does it result from metaplasia. *Virchows Arch*, 205–20, 1997.
- 15- Battersby S, Anderson TJ. Histological changes in the breast tissue that characerize recent pregnancy. *Histopathol*, 15: 415–433, 1989.
- 16- Longacre TA, Bartow SA. A correlative morphologic study of human breast and endometrium in the menstrual cycle. *Am J Surg Pathol*, 10(6): 382–393, 1986.

- 17- Silverberg SG, Masood S. The Breast. In: Silverberg SG, De Lellis RA, Frable W.J ed. Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology 3.ed. Churchill Livingston: New york, 575–673, 1997.
- 18- Guyton AC, Hall JE: Textbook of Medical Physiology. 9. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company 1044–46, 1996.
- 19- Chabottaux V, Æ Agne`s Noel Breast cancer progression: insights into multifaceted matrix metalloproteinases Clin Exp Metastasis 24: 647–656, 2007.
- 20- Clamp A, Danson S, Clemons M. Hormonal and genetic risk factors for breast cancer. Surgeon. 1(1): 23–31, 2003.
- 21- Korde LA, Calzone KA, Zujewski J. Assessing breast cancer risk: genetic factors are not the whole story. Postgrad Med. 116(4):6–8, 11–4, 19–20, 2004.
- 22- Tavassoli FA. Pathology of the breast. 2nd edition Stanford: Appleton&Lange, 1999.
- 23- Rosai J. Breast. In Rosai editor. Rosai and Ackerman's surgical pathology, 9th ed. Edinburgh: Mosby, p 1763–1827, 2004.
- 24- Millis RR, Hanby Am, Oberman HA, The Breast In Sternberg SS editor. Diagnostic Surgical Pathology, Third edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, p 319–379, 1999.
- 25- Topuz E, Adnan A, Akyan F. İstanbul konsensusu 2006, Meme Kanseri Tanı–Tedavi–Takip Nobel tip kitabevleri 1–2, 2006.
- 26- S. Eva Singletary and James L. Connolly. Breast Cancer Staging: Working With the Sixth Edition of the AJCC Cancer Staging Manual, 2006.
- 27- Moll R, Franke WW, Schiller DL. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell, 31(1): 11–24, 1982.
- 28- Dairkee SH, Blayney C, Smith HS, Hackett AJ. Monoclonal antibody that defines human myoepithelium. Proc Natl Acad Sci U S A 82(21): 7409–13, 1985.
- 29- Moll R, Krepler R, Franke WW. Complex cytokeratin polypeptide patterns observed in certain human carcinomas. Differentiation 23(3): 256–69, 1983.
- 30- Gusterson BA, Warburton MJ, Mitchell D, Ellison M, Neville AM, Rudland PS: Distribution of myoepithelial cells and basement membrane proteins in the normal breast and in benign and malignant breast disease. Cancer Res 42: 4763–4770, 1982.
- 31- Gusterson BA, Monaghan P, Mahendran R, Ellis J, O'Hare MJ: Identification of myoepithelial cells in human and rat breasts by anti–common acute lymphoblastic leukaemia antigen antibody A12. J Natl Cancer Inst 77: 343–349, 1986.
- 32- Popnikolov NK, Ayala AG, Graves K, Gatalica Z. Benign myoepithelial tumors of the breast have immunophenotypic characteristics similar to metaplastic matrix–producing and spindle cell carcinomas. Am J Clin Pathol 120: 161–167, 2003.

- 33- Wetzels RH, Kuijpers HJ, Lane EB, Leigh IM, Troyanovsky SM, Holland R. Basal cell-specific and hyperproliferation-related keratins in human breast cancer. *Am J Pathol* 138:751–763, 1991.
- 34- Purkis PE, Steel JB, Mackenzie IC, Nathrath WB, Leigh IM, Lane EB. Antibody markers of basal cells in complex epithelia. *J Cell Sci* 97: 39–50, 1990.
- 35- Heatley M, Maxwell P, Whiteside C, Toner P. Cytokeratin intermediate filament expression in benign and malignant breast disease. *J Clin Pathol* 48: 26–32, 1995.
- 36- Stingl J, Eaves CJ, Zandieh I, Emerman JT. Characterization of bipotent mammary epithelial progenitor cells in normal adult human breast tissue. *Breast Cancer Res Treat*, 67: 93–109, 2001.
- 37- Tavassoli F, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours. Tumours of the Breast and Female Genital Organs, Kleihues P, Sobin L (eds) IARC Press: Lyon, pp. 30–40, 2003.
- 38- Tamiolakis D, Papadopoulos N, Cheva A, Lambropoulou M, Kotini A, Jivannakis T. Immunohistochemical expression of alpha-smooth muscle actin in infiltrating ductal carcinoma of the breast with productive fibrosis. *Eur J Gynaecol Oncol* 23: 469–471, 2002.
- 39- Jarasch ED, Nagle RB, Kaufmann M, Maurer C, Bocker WJ: Differential diagnosis of benign epithelial proliferations and carcinomas of the breast using antibodies to cytokeratins. *Hum Pathol* 19: 276–289, 1988.
- 40- Nagle RB, Bocker W, Davis JR. Characterization of breast carcinomas by two monoclonal antibodies distinguishing myoepithelial from luminal epithelial cells. *J Histochem Cytochem* 34: 869–881, 1986.
- 41- Wetzels RHW, Kuijpers HJH, Lane EB. Basal cell specific and hyperproliferation-related keratins in human breast cancer. *Am J Pathol* 138: 751–763, 1991.
- 42- Boecker W, Buerger H: Evidence of progenitor cells of glandular and myoepithelial cell lineages in the human adult female breast epithelium: a new progenitor (adult stem) cell concept. *Cell Prolif* 36: 73–84, 2003.
- 43- Böcker W, Moll R, Poremba C. Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. *Lab Invest* 82: 737–745, 2002.
- 44- Dairkee SH, Mayall BH, Smith HS, Hackett AJ: Monoclonal marker that predicts early recurrence of breast cancer. *Lancet* 1: 514, 1987.
- 45- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406: 747–52, 2000.
- 46- Ross DT, Perou CM: A comparison of gene expression signatures from breast tumors and breast tissue derived cell lines. *Dis Markers* 17: 99–109, 2001.
- 47- Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 203: 661–671, 2004.

- 48- Van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R. Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol* 161: 1991–1996, 2002.
- 49- Malzahn K, Mitze M, Thoenes M, Moll R. Biological and prognostic significance of stratified epithelial cytokeratins in infiltrating ductal breast carcinomas. *Virchows Arch* 433: 119–129, 1998.
- 50- Nagle RB, Bocker W, Davis JR. Characterization of breast carcinomas by two monoclonal antibodies distinguishing myoepithelial from luminal epithelial cells. *J Histochem Cytochem* 34: 869–881, 1986.
- 51- Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 10869–74, 2001.
- 52- Sorlie T, Tibshirani R, Parker J. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 8418–23, 2003.
- 53- Korsching E, Packeisen J, Agelopoulos K. Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis. *Lab Invest* 82: 1525–1533, 2002.
- 54- Torsten ON, Forrest DH, Kristin J. Immunohistochemical and Clinical Characterization of the Basal-Like Subtype of Invasive Breast Carcinoma. *Clin Cancer Res* 10: 5367–5374, 2004.
- 55- Wellings SR, Roberts P. Electron microscopy of sclerosing adenosis and infiltrating duct carcinoma of the human mammary gland. *J Natl Cancer Inst* 30: 269–87, 1963.
- 56- Sarkar K, Kallenbach E. Myoepithelial cells in carcinoma of human breast. *Am J Pathol* 49(2): 301–7, 1966.
- 57- Murad TM, Scharpelli DG. The ultrastructure of medullary and scirrhous mammary duct carcinoma. *Am J Pathol* 50(2): 335–60, 1967.
- 58- Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res* 9(1): R4, 2007.
- 59- Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM. Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol* 208(4): 495–506, 2006.
- 60- Jones C, Nonni AV, Fulford L. CGH analysis of ductal carcinoma of the breast with basaloid/myoepithelial cell differentiation. *Br J Cancer* 85(3): 422–7, 2001.
- 61- Bryan BB, Schnitt SJ, Collins LC. Ductal carcinoma in situ with basal-like phenotype: a possible precursor to invasive basal-like breast cancer. *Mod Pathol* 19(5): 617–21, 2006.
- 62- Paredes J, Lopes N, Milanezi F, P-cadherin and cytokeratin 5: useful adjunct markers to distinguish basal-like ductal carcinomas in situ. *Virchows Arch* 2006.

- 63- Hannemann J, Velds A, Halfwerk JB. Classification of ductal carcinoma in situ by gene expression profiling. *Breast Cancer Res* 8(5): R61, 2006.
- 64- Livasy CA, Perou CM, Karaca G. Identification of a basal-like subtype of breast ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol* 38(2): 197–204, 2007.
- 65- Bergamaschi A, Kim YH, Wang P. Distinct patterns of DNA copy number alteration are associated with different clinicopathological features and geneexpression subtypes of breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 45(11): 1033–40, 2006.
- 66- Jones C, Ford E, Gillett C. Molecular cytogenetic identification of subgroups of grade III invasive ductal breast carcinomas with different clinical outcomes. *Clin Cancer Res* 10: 5988–97, 2004.
- 67- Fulford LG, Easton DF, Sofronis A. Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinomas of the breast. *Pathol Int* 54: A2–3, 2004.
- 68- Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 10: 5367–5374, 2004.
- 69- Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 23: 7350–7360, 2005.
- 70- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406(6797): 747–52, 2000.
- 71- Doğu GG. Meme kanserinde triiplet negatif alt grubunun immünhistokimyasal korelasyonu ve bu alt grupta survivinin prognostik önemi, Tıbbi onkoloji uzmanlık tezi, Erciyes Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Kayseri 2008.
- 72- Sotiriou C, Neo SY, McShane LM. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(18): 10393–8, 2003.
- 73- Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 11(14): 5175–80, 2005.
- 74- Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 95: 1482–5, 2003.
- 75- Perou CM, Jeffrey SS, van de Rijn M. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(16): 9212–7, 1999.
- 76- Sorlie T, Wang Y, Xiao C. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analyses across three different platforms. *BMC Genomics* 7: 127, 2006.
- 77- Reis-Filho JS, Simpson PT, Martins A, Preto A, Gartner F, Schmitt FC. Distribution of p63, cytokeratins 5/6 and cytokeratin14 in 51 normal and 400

- neoplastic human tissue samples using TARP-4 multi-tumor tissue microarray. *Virchows Arch* 443: 122–132, 2003.
- 78- van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature (Lond.)* 415: 530–6, 2002.
- 79- Leitner SP, Swern AS, Weinberger D, Dunkan LJ. Predictors of recurrence for patients with small (one centimeter or less) localized breast cancer (T1a,b NO MO). *Cancer* 76(11): 2266–2273, 1995.
- 80- Clayton F, Hopkins CL. Pathologic correlates of prognosis in lymph node – positive breast carcinomas. *Cancer* 71(5):1780–89, 1993.
- 81- Rozen S, Skaletsky HJ. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz S, Misener S (eds) *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp 365–386, 2000.
- 82- Armstrong C, Abilleira S, Sitzer M, Markus HS, Bevan S. Polymorphisms in MMP family and TIMP genes and carotid artery intima–media thickness. *Stroke* 38(11): 2895–9, 2007.
- 83- Xing LL, Wang ZN, Jiang L, Zhang Y, Xu YY, Li J, Luo Y, Zhang X. Matrix metalloproteinase–9–1562C>T polymorphism may increase the risk of lymphatic metastasis of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 14;13(34): 4626–9, 2007.
- 84- Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 295: 2492–2502, 2006.
- 85- Lakhani SR. Breast linkage Consortium 1999.
- 86- Lakhani SR. Breast linkage Consortium 2002.
- 87- Adem C, Reynolds C, Soderberg CL. Pathologic Characteristics of Breast Parenchyma in Patients with Hereditary Breast Carcinoma, Including BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *CANCER* 1: 97, 2003.
- 88- Honrado E, Benítez J, Palacios J. Histopathology of BRCA1– and BRCA2–associated breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 59, 27–39, 2006.
- 89- Teng L, Zheng Y, Wang H. BRCA1/2 associated hereditary breast cancer, *J Zhejiang Univ Sci B* 9(2): 85–89, 2008.
- 90- Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24 740 breast cancer cases. *Cancer* 63: 181–187, 1989.
- 91- Fisher ER, Costantino J, Fisher B, Redmond C. Pathologic findings from the National Surgical Breast Project (Protocol 4). Discriminants for 15–year survival. *Cancer* 71: 2141–2150, 1993.
- 92- Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Helman S. Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow–up of 18 years. *J Clin Oncol* 7: 1239–1251, 1989.

- 93- Grann VR, Troxel AB, Zojwalla NJ, Jacobson JS, Hershman D, Neugut AI. Hormone receptor status and survival in a population-based cohort of patients with breast carcinoma. *Cancer* 103: 2241–2251, 2005.
- 94- Putti TC, El-Heim DMA, Rakha EA. Estrogen receptor negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis. *Mod Pathol* 18: 26–35, 2005.
- 95- Scawn R, Shousha S. Morphologic spectrum of estrogen receptor negative breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 126: 325–330, 2002.
- 96- Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Senn HJ. Meeting highlights: International Concensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer. *J Clin Oncol* 19(18): 3817–27, 2001.
- 97- van de Vijer MJ, He YD, van't Veer LJ. A gen-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 347(25): 1999–2000, 2002.
- 98- Klijn JG, Look MP, Portengen H, Alexieva-Figusch J, van Putten WL, Foekens JA. The prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in primary breast cancer: results of a 10 year follow-up study. *Breast Cancer Res Treat* 29(1): 73–83, 1994.
- 99- Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, Hachitanda Y, Oda S. Prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGFR) and its relationship to the estrogen receptor status in 1029 patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 71(1): 67–75, 2002.
- 100- Ferrero JM, Ramaioli A, Largillier R. Epidermal growth factor receptor expression in 780 breast cancer patients: a reappraisal of the prognostic value based on an eight-year median follow-up. *Ann Oncol* 12: 841–846, 2001.
- 101- Rampaul RS, Pinder SE, Wency PM. EGFR expression in operable breast cancer: is it prognostic significance? *Clin Cancer Res* 10: 2578–, 2004.
- 102- Sainsbury J R, Malcolm A J, Appleton D R, Farndon J R, Harris A L. Presence of epidermal growth factor receptor as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. *J Clin Pathol* 38(11): 1225–8, 1985.
- 103- Jumppanen M, Gruvberger-Saal S, Kauraniemi P. Basal-like phenotype is not associated with patient survival in estrogen-receptor-negative breast cancers. *Breast Cancer Res* 9: 1–10, 2007.
- 104- Gusterson BA, Ross DT, Heath VJ. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. *Breast Cancer Research* 7: 143–14, 2005.
- 105- Clarke RB, Spence K, Anderson E, Howell A, Okano H, Potten CS: A putative breast stem cell population is enriched for steroid receptor-positive cells. *Dev Biol* 277: 443–456, 2005.
- 106- Petersen OW, Gudjonsson T, Villadsen R, Bissell MJ, Rønnov-Jessen L: Epithelial progenitor cell lines as models of normal breast morphogenesis and neoplasia. *Cell Prolif* 36: 33–44, 2003.

- 107- Dontu G, El-Ashry D, Wicha MS: Breast cancer, stem/progenitor cells and the estrogen receptor. *Trends Endocrinol Metab* 15: 193–197, 2004.
- 108- Taylor–Papadimitriou J, Stampfer M, Bartek J, Lewis A, Boshell M, Lane EB, Leigh IM: Keratin expression in human mammary epithelial cells cultured from normal and malignant tissue:relation of in vivo phenotypes and influence of medium. *J Cell Sci* 94: 403–413, 1989.
- 109- Curran S, Murray GI: Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumor invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 36: 1621–1630, 2000
- 110- A. Karim Kader, Lina Shao, Colin P. Dinney. Matrix Metalloproteinase Polymorphisms and Bladder Cancer Risk *Cancer Res* 66: (24). December 15, 2006.
- 111- Demacq C, P. de Souza A, Machado AA. Genetic polymorphism of matrix metalloproteinase (MMP)–9 does not affect plasma MMP-9 activity in healthy subjects. *Clinica Chimica Acta* 365, 183 – 187, 2006.
- 112- Westermarck J, Kahari VM: Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J* 13: 781–792, 1999.
- 113- Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 92: 827–39, 2003.
- 114- Grieu F, Li WQ, Iacopetta B. Genetic polymorphisms in the MMP-2 and MMP-9 genes and breast cancer phenotype. *Breast Cancer Res Treat* 88: 197– 204, 2004.
- 115- Talvensaaari–Mattila A, Paakko P, Turpeenniemi–Hujanen T: MMP-2 positivity and age less than 40 years increases the risk for recurrence in premenopausal patients with node–positive breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 58: 287–293, 1999.
- 116- Talvensaaari–Mattila A, Paakko P, Blanco–Sequeiros G, Turpeenniemi–Hujanen T: Matrix metalloproteinase–2 (MMP-2) is associated with the risk for a relapse in postmenopausal patients with node–positive breast carcinoma treated with antiestrogen adjuvant therapy. *Breast Cancer Res Treat* 65: 55–61, 2001.
- 117- Talvensaaari–Mattila A, Paakko P, Turpeenniemi–Hujanen T: Matrix metalloproteinase–2 (MMP-2) is associated with survival in breast carcinoma. *Br J Cancer* 89: 1270–1275, 2003.
- 118- Liu SC, Yang SF, Yeh KT. Relationships between the level of matrix metalloproteinase–2 and tumor size of breast cancer. *Clinica Chimica Acta* 371, 92–96, 2006.
- 119- Cotignola J, Reva B, Mitra N. Matrix Metalloproteinase–9 (MMP-9) polymorphisms in patients with cutaneous malignant melanoma. *BMC Medical Genetics* 8:10, 2007.
- 120- Vairaktaris E, Vassiliou S, Nkenke E. A metalloproteinase–9 polymorphism which affects its expression is associated with increased risk for oral squamous cell carcinoma. *EJSO* 34, 450–45, 2008.

- 121- Zhou Y, Yu C, Miao X. Functional haplotypes in the promoter of matrix metalloproteinase-2 and lung cancer susceptibility *Carcinogenesis* vol.26 no.6 pp.1117—1121, 2005.
- 122- Turpeenniemi-Hujanen T. Gelatinases (MMP-2 and -9) and their natural inhibitors as prognostic indicators in solid cancers. *Biochimie* 87: 287–297, 2005.
- 123- Price SJ, Greaves DR, Watkins H. Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene: role of Sp1 in allele-specific transcriptional regulation. *J Biol Chem* 276: 7549–7558, 2001.
- 124- Vasku V, Vasku A, Tschoplova S. Genotype association of C(-735)T polymorphism in matrix metalloproteinase 2 gene with G(8002)A endothelin 1 gene with plaque psoriasis. *Dermatology* 204: 262–265, 2002.