

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MEME KANSERLERİNDE CLCA4 EKSPRESYONUNUN
PROGNOSTİK PARAMETRELER VE SAĞKALIM İLE
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ramazan ARSLAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. İlknur ÇALIK**

ELAZIĞ-2022

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN

Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. İlknur ÇALIK

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince geniş bilgi ve tecrübelerinden faydalanma fırsatı bulduğum saygıdeğer hocalarım, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN olmak üzere Prof. Dr. Muhammet ÇALIK, Doç.Dr. Gökhan ARTAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÜÇER, Dr. Öğr. Üyesi Hilal BALTA'ya,

Tez çalışmamın kurgulanması ve yazım aşamalarında desteklerini esirgemeyen değerli tez danışmanım Doç. Dr. İlknur ÇALIK'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve dostluklarını ve yardımlarını esirgemeyen, değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Tez çalışmamda ve asistanlık dönemim boyunca birlikte çalıştığımız tüm Fırat Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı personeline ve patoloji laboratuvarı çalışanlarına,

Bugünlere ulaşmamda büyük katkısı olan, desteğini ve sevgisini hiç esirgemeyen öncelikle annem Obes ARSLAN, babam ÖMER ARSLAN ve tüm geniş aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Meme kanserleri kadınlarda 2020 verilerine göre dünyada ve Türkiye’de en fazla görülen kanserdir. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %15’ni oluşturmaktadır. Son yıllarda görüntüleme ve tarama sistemlerinin gelişmesi ve hedefe yönelik moleküler tedavilerin gelişmesi ile mortalitede düşüş görülmektedir.

Meme kanseri prognozunu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerin başlıcaları yaş, tümör boyutu, histolojik grade, tümörün histolojik tipi, hormon reseptör durumu, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazıdır.

Kalsiyum ile active klorür kanalı düzenleyicileri (CLCA) amino grubunun uç kuyruğunda simetrik homosistein motifine sahip proteinlerdir. CLCA proteinleri epitel hücrelerinde klorür etkinliğinde önemli rol oynarlar. Epitelden mezenkimal geçiş (EMT), epitel hücrelerinin hücre-hücre bağlantılarını aşağı regüle ettiği, iğsi hücre morfolojisi kazandığı ve hücre hareketlilik sergilediği gelişimsel bir programdır. Meme kanserinde EMT çevre dokulara invazyonu kolaylaştırır, kanser metastazı ve nüks ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. CLCA4’ ün PI3K/ATK sinyal yolağı ile epitelden mezenkimal geçişi baskılayarak hücre göçünü ve metastazı inhibe ettiği düşünülmektedir.

Çalışmamıza Fırat Üniversitesi hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’na Ocak 2010-Haziran 2016 Yılları arasında gönderilmiş mastektomi materyallerinde invaziv meme karsinomu-NOS (invaziv ductal karsinom) tanısı alan 90, invaziv lobüler karsinom tanısı alan 30 ve mikst meme karsinomu tanısı alan 30 olmak üzere toplamda 150 olgu alınmıştır. Bu olgular içinde tümör dışı alanlarında yeterli meme dokusu bulunan 10 olgudan da kontrol dokusu seçilmiştir. Hastalara ait yaş, aksiller lenf nodu metastazı, tümör çapı, bloom richardson skor ve sağ kalım durumlarının dijital arşivleme sisteminden ulaşıldı. Seçilen olgulara ait parafin bloklardan yapılan kesitlere immünohistokimyasal CLCA4 boyası uygulandı. CLCA4 immün skoru ve diğer prognostik değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Gruplar arasında CLCA4 İmmün skoru açısından anlamlı farklılık görülmüştür ($p<0,001$). Normal meme dokuları ile tümör alanları arasında immün skorda anlamlı farklılıklar izlenmiş olup normal dokuda daha yüksek eksprese edildiği görülmüştür.

CLCA4 skoru ile tümör çapı arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir. Ölmüş olanların CLCA-4 İmmün skor sonucu ($p=0,005$) ve takip süresi ($p<0,001$) sağ olanlardan anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. CLCA4 skoru ile diğer prognostik faktörler arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Sonuç olarak CLCA4'ün ekspresyonunun azalmasının EMT'yi aktive ettiği ve tümör yayılımının arttığını gözlemledik. Bu çalışma tümör çapı ve sağ kalım ile negatif korelasyon göstermesi prognozda etkin bir belirteç olabileceğini ve çoklu değişkenli yapılan sağ kalım analizlerine katkı sağlayabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Meme kanserleri, CLCA4, İmmünohistokimya



ABSTRACT

INVESTIGATING THE RELATIONSHIP CLCA4 EXPRESSION AND PROGNOSTIC AND SURVIVAL IN BREAST CANCER PATIENTS

Breast cancer is the most common cancer in women in the world and in Turkey, according to 2020 data. It accounts for 15% of cancer-related deaths in women. In recent years, because of development of imaging and scanning systems and targeted molecular therapies, decrease in mortality is observed. There are many factors that affect the prognosis of breast cancer. The main ones of these factors are age, tumor size, histological grade, histological type of tumor, hormone receptor status, lymphovascular invasion, lymph node metastasis, and distant organ metastasis. Calcium-activated chloride channel (CLCA) is protein that have a symmetrical homocysteine motif in the terminal tail of the amino group. CLCA proteins play an important role in chloride effectiveness in epithelial cells. Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) is developmental program that down-regulates cell-cell connections, acquires spindle cell morphology and exhibits cellular mobility. EMT in breast cancer facilitates invasion of surrounding tissues and also is thought to be closely related to cancer metastasis and recurrence. CLCA4 is thought to inhibit cell migration and invasion by suppressing mesenchymal transition from epithelium via PI3K/ATK signaling pathway.

Our study includes 150 cases that 90 cases diagnosed with invasive breast carcinoma-NOS (invasive ductal carcinoma), 30 case diagnosed with invasive lobular carcinoma, 30 cases diagnosed with mixed breast cancer in mastectomy materials sent to Firat University Hospital Medical Pathology Department Laboratory between January 2010-June 2016. Control tissues is chosen from 10 cases among these 150 cases with sufficient breast tissue in non-tumor areas. Age of the patients, axillary lymph node metastasis, tumor diameter, bloom Richardson score and survival status were accessed from the digital archiving system. Immunohistochemical CLCA4 staining was applied to the sections made from selected paraffin blocks. CLCA4 immune score and other prognostic values were compared statistically. There was a significant difference between CLCA4 immune score of the groups ($p < 0.001$). Significant differences in immune score were observed between normal breast tissues

and tumor areas and it was found to be expressed higher in normal tissue. A negative significant correlation was found between CLCA-4 scores and tumor diameter. In dead patients, CLCA4 immune score ($p=0.005$) and follow-up time ($p<0.001$) were significantly lower than survived patients. Significant correlation is not found between CLCA4 score and other prognostic factors.

In conclusion; we observed that decreased expression of CLCA4, activates EMT and increases tumor diffusion. This study proved that CLCA4 may be an effective predictor of prognosis and multivariate survival analysis because of negative correlations of tumor diameter and survival.

Key words: Breast cancers, CLCA4, Immunohistochemistry



İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1 Genel Bilgiler	3
1.1.1 Meme Embriyolojisi	3
1.2 Meme Anatomisi	5
1.2.1 Memenin Arteriyel Dolaşımı:	7
1.2.2 Memenin Venöz Dolaşımı	9
1.2.3 Memenin Lenfatik Drenajı	9
1.2.4 Memenin Sinir İnnervasyonu	11
1.3 Meme Histolojisi	12
1.4 Meme Kanseri	16
1.4.1 Meme Kanseri Epidemiyolojisi:	16
1.4.2 Meme Kanserlerinin Klinik bulguları	17
1.4.3 Meme Kanseri Risk Faktörleri	17
1.4.4 Meme Kanserinin Histopatolojik Sınıflandırması:	21
1.4.5 İn situ Karsinomlar	23
1.4.6 İnvaziv Karsinomlar	24
1.4.7 Meme Tümörlerinde Histolojik Derecelendirme:	30
1.4.8 Meme Kanserlerinin Moleküler Sınıflandırması	31
1.4.9 TNM Sınıflaması	33
1.4.10 Meme Kanserinde Prognostik Faktörler	36
1.5 Kalsiyum ile Aktive Klorür Kanalı-4 (CLCA-4)	40

2. MATERYAL VE METOD	42
2.1 İstatistiksel analiz	43
3. BULGULAR	44
4. TARTIŞMA	56
5. KAYNAKÇA	63
6. ÖZGEÇMİŞ	81



TABLO LİSTESİ

Tablo 1:	2019 Dünya Sağlık Örgütü Epitelyal Meme Tümörleri Sınıflandırması.	22
Tablo 2:	Modifiye Bloom-Richardson metodu (Nottingham Skor)	31
Tablo 3:	Meme karsinomlarının immunohistokimya temelli moleküler sınıflaması ve bazı özellikleri	32
Tablo 4:	Meme kanserleri T evresi	34
Tablo 5:	Meme kanserleri patolojik lenf nodu evrelemesi	35
Tablo 6:	Meme kanserleri M evresi	35
Tablo 7:	AJCC Anatomik Evre Grupları	36
Tablo 7:	Meme kanserinde prediktif ve prognostik belirteçler	37
Tablo 9:	Yaş, tümör çapı, lenf nodu metastazının ve CLCA4 immün skorunun gruplara göre karşılaştırılması	45
Tablo 10:	CLCA4 İmmün skorunun ikili karşılaştırılması	46
Tablo 11:	Sağ kalım süreleri ikili karşılaştırılması	47
Tablo 12:	Sağ kalım durumu ve Bloom richardson skorunun gruplara göre karşılaştırılması	47
Tablo 13:	Yaş, tümör çapı, lenf nodu metastazı ve sağ kalımla durumuna göre karşılaştırılması	48
Tablo 14:	CLCA-4 İmmün skorunun AJCC anatomik evreye göre karşılaştırılması	48
Tablo 15:	Tüm gruplarda korelasyon analizleri	50
Tablo 16:	Duktal grupta korelasyon analizleri	51
Tablo 17:	Lobüler grupta korelasyon analizleri	51
Tablo 18:	Mikst karsinom grupta korelasyon analizleri	52

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1:	Süt çizgisi	3
Şekil 2:	Epitelyal tomurcuktan meme yapılarının embriyolojik olarak gelişmesi ve meme başı oluşumu	4
Şekil 3:	Meme anatomisi	5
Şekil 4:	Meme dokusunun arteriyel beslenmesi	8
Şekil 5:	Memenin lenfatik drenajı	10
Şekil 6:	Memenin duktusları, lobülleri ve stromasının şematik görünümü	13
Şekil 7:	Terminal Duktal Lobüler Ünite	14
Şekil 8:	CLCA4 İmmün skorunun gruplara göre karşılaştırılması	45
Şekil 9:	Sağ kalım sürelerinin gruplara göre karşılaştırılması	46
Şekil 10:	Tümör çapının sağ kalım üzerine etkisi	48
Şekil 11:	Lenf nodu metastaz sayısının sağ kalım üzerine etkisi	49
Şekil 12:	CLCA4 immün skorunun sağ kalım üzerine etkisi	49
Şekil 13:	Hastaların sağkalım grafiği	53
Şekil 14:	CLCA4'ün normal meme dokusunda 3 pozitif boyanması	53
Şekil 15:	İnvaziv duktal karsinomda (İMK-NOS) CLCA4 boyanma şiddetleri	54
Şekil 16:	İnvaziv lobüler karsinomda CLCA4 boyanma şiddetleri	55

KISALTMALAR

ABD	: Amerikan Birleşik Devletleri
AJCC	: American Joint Committee on Cancer (Amerikan Birleşik Kanser Komitesi)
AR	: Androjen Reseptörü
Ark.	: Arkadaşları
BBA	: Büyük Büyütme Alanı
BMI	: Beden Kitle İndeksi
BRCA	: Meme Kanseri Duyarlılık Proteini
CK	: Sitokeratin
CLCA	: Kalsiyum ile Aktive Klorür Kanalı
DKIS	: Duktal Karsinoma İn Situ
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
EMA	: Epitelyal Membran Antijeni
EMT	: Epitelden Mezenkimal Geçiş
ER	: Östrojen Reseptörü
GCDFP-15	: Gross Cystic Disease Fluid Protein-15
HER2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 2
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
İDK	: İnvaziv Duktal Karsinom
İHK	: İmmünohistokimya
İMK	: İnvaziv Meme Karsinomu
İS	: İmmünskor
LKIS	: Lobüler Karsinoma İn Situ
LMWCK	: Düşük Molekül Ağırlıklı Sitokeratin
LVI	: Lenfovasküler İnvazyon
NOS	: No Special Type (Özel olmayan tip)
OKS	: Oral Kontraseptif
PAS	: Periodic Asid Schiff
PR	: Progesteron Reseptör
TDLU	: Terminal Duktal Lobüler Ünit
WHO (DSÖ)	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser olup her yıl yaklaşık olarak 2.1 milyon kadını etkilemektedir. Meme kanseri insidansı gelişmiş olan ülkelerde daha yüksek olmasına rağmen hemen her ülkede giderek artmaktadır. Meme kanseri kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin hala en sık nedenidir. Meme kanseri kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %15'ini oluşturmaktadır(1). Ancak meme kanserine bağlı mortalite birçok ülkede giderek azalmaktadır. Bu durumun en önemli nedeni taramada kullanılan görüntüleme yöntemleri ile meme kanserine erken evrede tanı konulabilmesidir. Özellikle erken evre meme kanserleri, gelişmiş ülkelerde %80 den fazla sağ kalıma sahip hatta potansiyel olarak tedavi edilebilir bir hastalıktır. Bunun yanı sıra sürekli geliştirilen medikal tedaviler de meme kanserine bağlı mortaliteyi azaltmıştır.

Günümüzde moleküler alandaki gelişmelerin de katkısıyla meme kanseri, morfolojik yapı, biyolojik davranış ve tedaviye yanıtta farklılıklar gösteren heterojen bir hastalık olarak değerlendirilmektedir.

Birçok kanserde olduğu gibi başvuru anındaki hastalık evresi mortaliteyi belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Amerika Birleşik Devletleri'nde tanı anında metastatik meme kanseri oranı yaklaşık %6'dır. Tanı anındaki evreye göre 5 yıllık sağ kalım lokalize hastalıkta %98, bölgesel hastalıkta %84 iken metastatik hastalıkta %24 olarak bildirilmiştir. Türkiye Kanser İstatistikleri 2016 verilerine göre meme kanseri hastalarının %46,2'si lokal hastalık, %41,7'si bölgesel hastalık, %12,2'si metastatik hastalıktır. Ayrıca hastalık evresi, yaş, cinsiyet, hormon reseptör durumu, tümör çapı gibi birçok parametrenin mortalite ile ilişkisi mevcuttur(2).

Meme kanseri birçok kanser türünde olduğu gibi multifaktöriyel bir hastalıktır. Etiyolojide genetik, çevresel, hormonal birçok faktörün rol oynadığı saptanmıştır. Yeni geliştirilen tedavi modaliteleri mortaliteyi azaltmış olsa da yukarıda bahsedildiği üzere meme kanseri hala kadınlarda kansere bağlı ölümlerde ilk sırada yer almaktadır. Bu durum birçok araştırmacıyı genetik ve kanser immünolojisini anlayamaya yönelik yeni araştırmalara yöneltmiştir.

İnvaziv meme karsinomu-NOS (İDK) meme kanserleri içerisinde en sık görülen tiptir. Meme kanserlerinin yaklaşık %70-80 ini oluşturur. İnvaziv lobuler

karsinom tüm meme kanserlerinin yaklaşık %5-10 'nu oluşturur. ABD'de son yıllarda lobüler karsinom insidansındaki artış, duktal karsinoma göre daha yüksektir. Daha önceleri duktal ve lobüler karsinomların benzer prognoza sahip olduğu düşünülüyor olmasına rağmen son çalışmalarda lobuler karsinomların (bazı varyantları hariç) prognozunun duktal karsinoma göre daha iyi olduğu görülmektedir (3).

Meme kanserlerinde prognozu etkileyen bir çok faktör bulunmaktadır. Hastaların prognostik faktörlerinin belirlenmesi seçilecek adjuvan tedavinin planlanması için önem arz etmektedir. Böylelikle düşük riskli hastalara gereksiz yüksek doz tedavi önlenmiş ve toksisitesinden korunmuş olurken yüksek riskli hastalarda ise eksik tedavinin önüne geçilmiş olur. Meme kanserlerinde en önemli prognostik faktörler aksiller lenf nodu tutulumu, tümör boyutu, histolojik grade, tümör tipi, yaş ve lenfovasküler invazyon (LVI) varlığıdır.

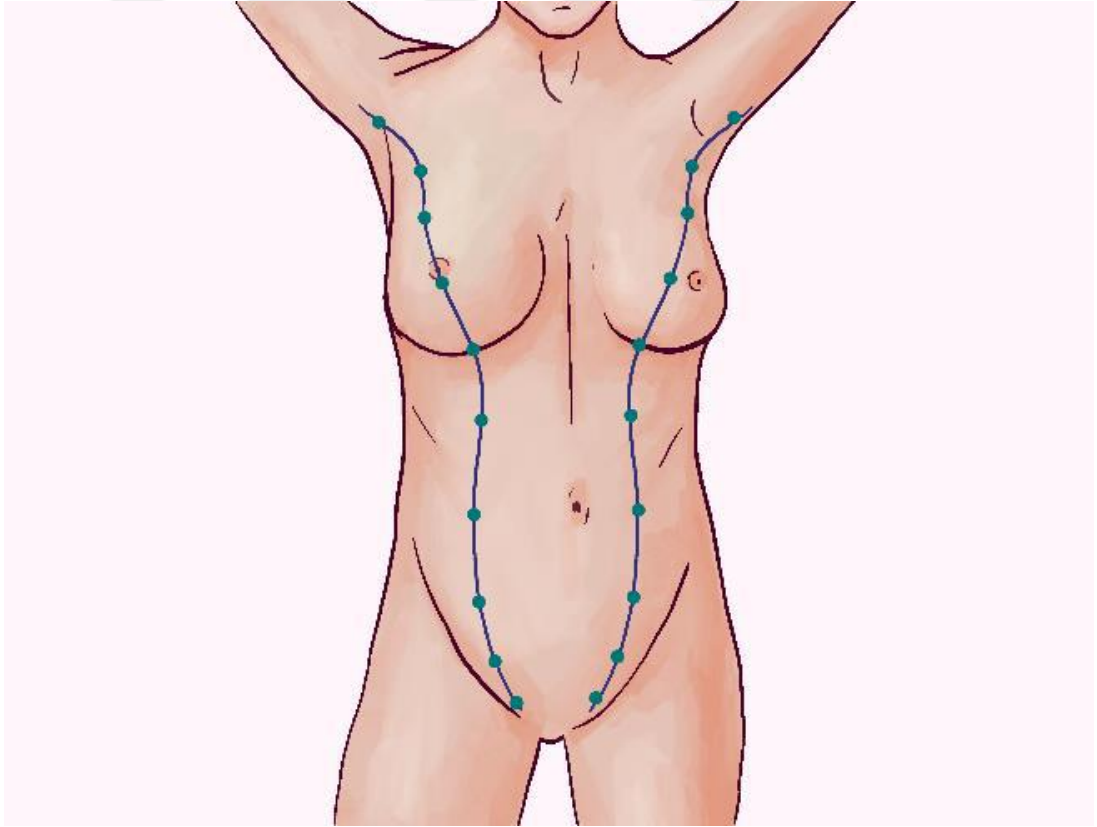
Kalsiyum ile aktive klorür kanalı düzenleyicileri (CLCA) amino grubunun uç kuyruğunda simetrik homosistein motifine sahip proteinlerdir. İnsan CLCA genlerin kromozom 1p31-1p22 üzerinde konumlanır (4, 5) . CLCA proteinleri epitel hücrelerinde klorür etkinliğinde önemli rol oynar. Önceki çalışmalar CLCA üyelerinin hücre farklılaşması, apoptoz, adezyon ve inflamasyonun ilerlemesinde rol oynadığını göstermiştir. CLCA4'ün memede epitelden mezenkimal geçiş (EMT) yolağında düzenleyici rol aldığı düşünülmektedir. Epitelden mezenkimal geçiş, epitel hücrelerinin hücre-hücre bağlantılarını aşağı regüle ettiği, iğsi hücre morfolojisi kazandığı ve hücre hareketlilik sergilediği gelişimsel bir popgramdır. Meme kanserinde EMT çevre dokulara invazyonu kolaylaştırır, kanser metastazı ve nüks ile yakından ilişkilidir. CLCA4' ün PI3K/ATK sinyal yolu ile epitelden mezenkimal geçişi baskılayarak hücre göçünü ve metastazı inhibe ettiği düşünülmektedir (6, 7).

Son yıllarda karsinogeneizde rol oynayan moleküllerin ortaya konulması ile erken tanı ve tedavide kullanılma durumları önem kazanmıştır. CLCA gibi iyon kanallarını düzenleyen proteinlerin kanserlerde rol oynadığı artık bilinmektedir. Kanser yayılımında ve prognozda rol aldığı düşünülen bu moleküllerin hedefe yönelik tedavilerde kullanılması hastalarda mortaliteyi azaltmaktadır. Biz de çalışmamızda memede eksprese edilen CLCA4 molekülünün meme kanserlerinde rolünü ve prognostik faktörlerle ilişkisini araştırmayı amaçladık.

1.1 Genel Bilgiler

1.1.1 Meme Embriyolojisi

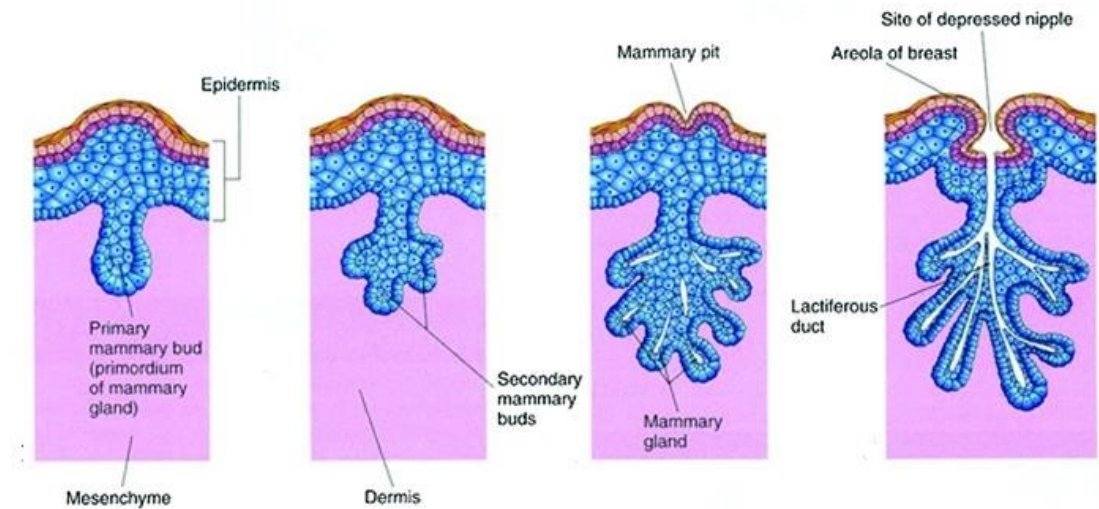
Potansiyel meme dokusunu oluşturan meme çıkıntıları ve süt kanallarının gelişimi, gebeliğin 5. haftasında fetüsün ventral yüzünde ektodermal kalınlaşma ile başlar. Aksilladan uyluğun proksimal kısmının medial yönüne kadar bilateral bir kalınlaşma izlenir. İnsanlarla birlikte diğer memeli hayvanlarda da bu bölgede bir hat boyunca birçok meme bezi gelişir(şekil 1). Ancak insanlarda pektoral bölgede olanlar hariç diğerleri fetal gelişim boyunca geriler. Bu regresyonun olmaması durumunda en sık aksilla, meme altı kıvrımı ve vulvada olmak üzere ektopik meme dokusu ve aksesuar meme uçlarının ortaya çıkmasına neden olur. Primer meme dokusu ektodermin 15-20 adet dal şeklinde mezenkimal doku içerisine girmesi ile oluşur (8, 9).



Şekil 1: Süt çizgisi

Meme gelişimi fetal dönemin erken evrelerinde seks steroid hormonlarından bağımsızdır. 4. aydan itibaren mezenşim testesterona geçici bir duyarlılık kazanır.

Testesteron etkisi ile meme tomurcuğu oluşur. Bunu mezenşimin göğüs duvarındaki epitelyal bir sapın etrafında yoğunlaşmasını sağlayarak yapar. Mezenşim içerisinde solid epitel yapıları gelişir ve bunlar sonundan meme bezinin loblarını veya bölümlerini oluşturur. Gelişen bu epitelyal yapıları fetal papiller dermisin bölümleri sarar ve sonunda meme kanallarını ve lobülleri çevreleyen vaskülarize fibröz bağ dokusu oluşmuş olur (Şekil 2). Meme parankimini cilde bağlayan Cooper ligamenti kollajen açısından zengin olan retiküler dermisin memeye doğru uzanımı sonucu oluşur. Gebeliğin 20-32. haftaları arasında mezenşim yağ dokusuna farklılaşır. 32-40. haftalarda epitelyal kordlar kanalize olur ve dallanarak lobüloalveolar yapılar gelişir. Bu dönemdeki gelişmeler spesifik hormonal dalgalanmalardan çok etkilenmez. Epidermiste süt çukurlarının birleşmesiyle meme çukurunda bir çöküntü oluşur. Doğuma yakın dönemde meme çukurunun dışarıya çıkması sonucunda bu alanda meme başı oluşur. Son dönemde meme bezi hem maternal hemde plasental steroid hormonlarına duyarlılık kazanır ve bunların etkisi ile asiner ünitelerdeki epitel hücrelerinde salgı aktivitesi başlar. Doğum ile beraber maternal ve plasental hormonların etkisini kaybetmesi ile prolaktin salgısı uyarılır ve bu da kolostrum salgısını uyarır. Yenidoğanların bu döneminde hem erkek hemde kadınlarda göğüs tomurcuğunda palpe edilebilir bir büyüme izlenir. Doğumdan sonraki birinci veya ikinci ayda maternal seks steroidleri ve prolaktinin çekilmesi ile bu sekretuar aktivite sona erer, bezler gerilemeye başlar ve inaktif hale gelirler (10).



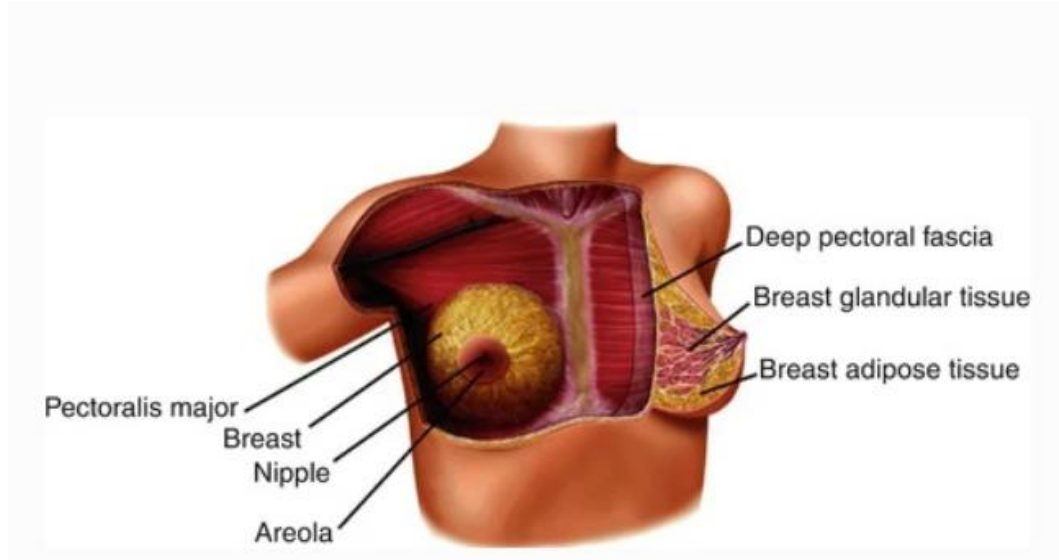
Şekil 2: Epitelyal tomurcuktan meme yapılarının embriyolojik olarak gelişmesi ve meme başı oluşumu (11)

Prepubertal dönemde meme dokusu, laktiferöz sinüsler ve laktiferöz duktuslardan oluşur. Asinus ve lobül yapıları prepubertal dönemde daha gelişmemiştir. Duktus çevresindeki stroma gevşek bağ dokusundan oluşmaktadır (12).

Puberte dönemine gelindiğinde meme gelişimi testosteronun olup olmamasına bağlıdır. Testosteronun relatif yokluğu ile kadınlarda meme gelişimi olur. Menarşın başlaması ile terminal duktuslardaki lobüller gelişir ve interlobüller stromanın hacmi artar. Meme dokusu tam olarak geliştikten sonra menstrüel siklus sırasında ve gebelikte çeşitli değişiklikler gösterir. Menopoz döneminde ise parankimal lobüloalveoler yapıların gerilemesi ile involüsyonel değişiklikler gerçekleşir (12, 13).

1.2 Meme Anatomisi

Meme göğüs ön duvarında T2-T6 interkostal aralıkta linea sternalis ve linea axillaris anterior arasında pektoral majör kasının yüzeysel ve derin fasyası arasında bulunur. Cooper ligamanti bu iki fasyayı birbirine bağlar. Pektoralis majörün bu iki fasyası, üst tarafta servikal fasya alt tarafta ise karın bölgesini örten fasya ile karışır. Memenin 2/3'lük kısmı pektoral kasın önünde yer alır, geri kalanı serratus anterior kasının önünde yer alır (Şekil 3). Meme pektoral fasya üzerinde bir derece kadar hareket edebilir. Bu hareket gevşek bağ dokusu ile dolu olan ve memenin derin sınırı ile alttaki iskelet kasının fasyası arasında yer alan boşluk sayesinde olur.



Şekil 3: Meme anatomisi (14)

Memenin büyüklüğü ve şeklini belirleyen bir çok faktör bulunmaktadır. Bunların başında genetik ve irksal faktörler gelmekle birlikte aynı zamanda bireyin yaşı, diyeti, paritesi ve menopoza da etkiler. Göğüs yarım küre, konik, sarkık, piriform veya basık gözükebilir. Ancak tipik olarak oval ve yarım küre şeklindedir ve uzun eksenini çapraz olarak göğüs üzerinde hizalanmıştır. Normal olgun emzirmeyen bir kadın memesi ortalama 200 gram ağırlığındadır. Emzirme döneminde ise 500 gramı bulabilir. Yetişkin bir meme ortalama olarak 12 cm çapında ve 6 cm kalınlığındadır. Smith ve ark. meme hacimleri üzerine yaptığı bir çalışmada 55 kadında sol meme hacminin sağ meme hacminden ortalama 15 ml fazla olduğunu bulmuşlardır. Bu durumu araştırmaya katılanların çoğunun sağ elini kullanmalarına bağlamışlardır (15).

Meme, meme başından doku içerisine ışınal tarzda dağılan 15-20 lobdan oluşur. Bu lobların her biri 20-40 lobül oluşturur. Her lobülde de 10-100 adet arasında duktül (asinüs) denilen yapılar vardır. Asinusler birleşerek intralobüller ve ekstralobüller segmenten oluşan terminal duktusa açılırlar. Bir terminal duktusun intralobüller segmenti ile buna açılan asinuslar lobülü oluşturur. Memenin fonksiyonel ünitesi; lobül ve lobülün ekstraterminal duktusundan oluşan terminal duktolobüller ünitedir. Terminal duktuslar birleşerek subsegmental duktusu oluştururlar. Subsegmental duktusların birleşmesiyle segmental/laktifer duktus meydana gelir. Laktifer duktus meme başında genişler, laktifer sinüs olarak isimlendirilir. Laktifer sinüs de ampulla ile meme başından dışarı açılır.

Meme derisinin en belirgin özelliği meme başı, merkezde yer alır ve tipik olarak çevredeki areoladan yükselir. Meme ucunun lokalizasyonu göğüs kafesine göre değişkenlik gösterebilir. Genç kadınlarda genellikle 4. İnterkostal aralığa denk gelen alandadır. Meme başı ve areola pembe, açık kahverengi veya daha koyu olabilir. Her ikisinde doğum yapmamış kadınlarda daha açık renkteyken özellikle gebeliğin 2. Ayından itibaren giderek daha da koyulaşır. Bu renk değişikliği kalıcıdır ve gebelikten sonra geri dönmez. Areola üzerinde 12-20 arasında küçük yuvarlak çıkıntılar bulunur ve bu çıkıntılara Montgomery tüberkülleri denir. Bu çıkıntılar genellikle laktiferöz bir kanalla ilişkili sebace gland birimlerini temsil ederler ve bunlar hamilelik ve emzirme döneminde belirgin hale gelip beslenme sırasında areolanın nemli tutulması ihtiyacını karşılarlar. Areolada bulunan düz kas lifleri meme ucuna kadar uzanır ve bu lifler meme başının ereksiyonunda görev alırlar. Areolanın kenarında kıl follikülleri, apokrin

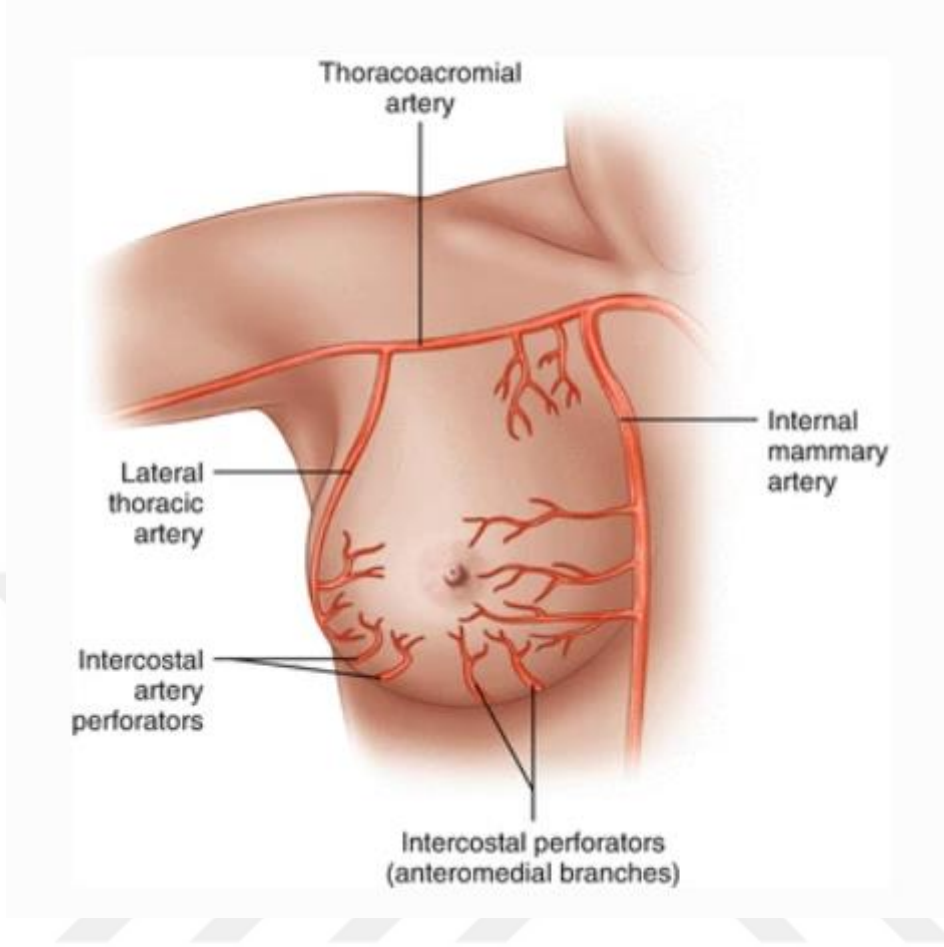
ve ter bezleride bulunur. Bu durumun kalıcı subareolar apselerin oluşumunda rol aldığı düşünülmektedir (16-18).

Meme klinikopatolojik olarak meme meme başı merkezde olacak şekilde yatay ve dikey hayali çizgiler ile üst-dış, üst-iç, alt-dış ve alt-iç olmak üzere 4 kadrana ayrılır. Fakat bu kadrana ayrımı anatomik bir ayrım değildir. Meme lezyonları lokalizyon olarak tarif edilirken bu kadrana ayrımı kullanılır ve ikiden fazla lezyon olması durumunda multifokal ve multisentrik terimleri söz konusu olur. Multifokal terimi aynı kadranda multisentrik terimi ise en az iki kadranda (veya en az 5 cm'lik mesafe bulunması) olması durumudur (19).

1.2.1 Memenin Arteriyel Dolaşımı:

Memenin arteriyel dolaşımı internal torasik, aksiller ve interkostal arterler ve bunların dalları tarafından sağlanır;

- 1) İnternal torasik arter
- 2) Aksiller arter
 - superior torasik arter
 - torakoakromiyal arter ve pektoral dallar
 - lateral torasik arter
- 3) 3,4 ve 5. İnterkostal arterler



Şekil 4: Meme dokusunun arteriyel beslenmesi (14)

Bu 3 ana damarın memenin beslenmesine katkıları arasında birçok kişisel varyasyon vardır. Sağ ile sol meme arasında da simetrik bir dolaşım paterni olmayabilir. İnternal torasik arterin dalları genel olarak en önemli yüzdeye sahip arterdir. İnsanların %50'sinde interkostal arterlerin memenin beslenmesine katkısı yok denecek kadar azken, %30'sunda aksiller arter daha az katkıda bulunur. Meme parankiminde bu arterlerin veya dallarının izlediği yollar ana duktus sistemini spesifik olarak takip etmez (20).

İnternal torasik arter subklavian arterin bir dalıdır, İnternal interkostal kasların arkasından sternumun lateral kenarı boyunca ilerler. İnternal torasik arterden çıkan perforan dallar 2,3 ve 4. interkostal aralıktan interkostal kasları ve pektoral kasını geçer. Bu dallar memenin medial yarısını ve bu bölgeye denk gelen deri kısmının kanlanmasını sağlarlar. Lateral kısmın kanlanmasını ise aksiller arterin dalları olan suprema torasik, torakoakromial ve lateral torasik arterler ile posterior interkostal

arterlerin lateral (mammaryan) dalları sağlar. Bu arterler dış yan taraftan aşağı iner ve memebaşı seviyesinin hemen yukarısında meme başı kompleksini oluştururlar. Bu kompleksten ötürü cerrahide radial insizyonlar transvers insizyonlara göre memenin üst bölümündeki esas arteriyel kanlanmayı daha az yaralayacaktır. Memenin meme başı altında kalan bölümü ana damarlardan yoksun olup genellikle daha küçük dallardan beslenme alır (3, 21, 22)

1.2.2 Memenin Venöz Dolaşımı

Memenin venöz drenaj sistemi genel olarak arteriyel sistemi takip eder. Posterior interkostal ven dalları, aksiller ven dalları ve internal mammaryan ven dallarından oluşur. Yüzeysel venöz sistem internal torasik vene akar. Yüzeysel venöz sistemin küçük bir kısmı suprasternal çentiğe doğru uzunlamasına akarak boyun yüzeysel venlerine drene olur. Derin venöz sistem, aksiller ven, internal torasik ven, lateral torasik ve üst interkostal venlerin dalları ile devam eder. Venöz sistem areola çevresinde bir venöz pleksus (sirkulus venozus) oluşturur (23). Posterior interkostal venin dalları vertebral pleksus ile ilişkilidir. Bu pleksus kapaksız venöz kanallar içerir. Bu durum meme kanserlerinin vertebral, kostal ve beyin bölgesine vasküler yolla metastaz yapmasına neden olur. Ayrıca torasika lateralisin aksiller vene, torasika internanın brakiosefalik vene drene olmasından dolayı akciğer metastazları izlenebilir (3, 20, 24).

1.2.3 Memenin Lenfatik Drenajı

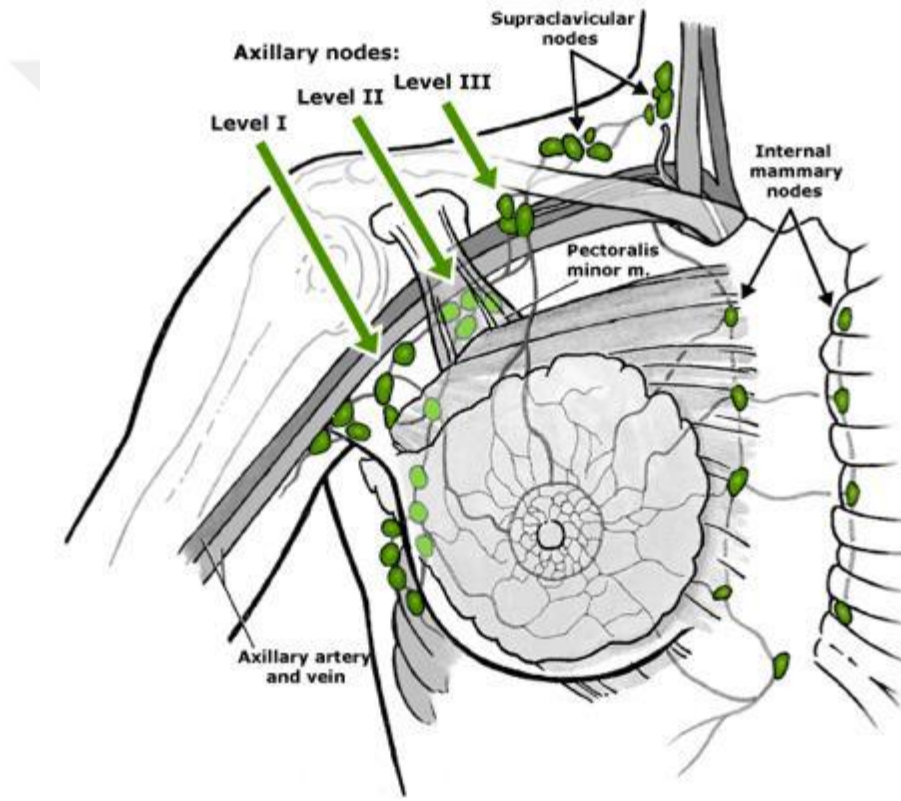
Meme kanserlerinin yayılımı açısından meme lenfatik sistemi önemli rol oynamaktadır. Lenfatik drenajın büyük kısmı aksilla yoluyla olurken kalan kısmı internal lenfatikler, interpektoral, internal torasik, supraklaviküler ve infraklaviküler lenf nodlarına giden lenfatikler sayesinde olur (25). Memenin lenfatik kanalları aksiller veya medial meme düğümlerine subareolar lenfatik pleksus içermeyen az veya çok direkt bir yol izleyebilirler (26).

Meme kanserlerinin yayılımındaki majör yol aksiller lenfatik drenaj sistemidir. Bu yüzden metastatik ilerlemeyi öngörebilmek amacıyla aksiller lenf nodları memenin aksiller lenfatik drenajının izlediği yola göre 3 seviye ayrılmıştır (Şekil 5). Bu sınıflamada topografik olarak pektoralis minör kası esas alınmaktadır (3, 20).

Alt axilla (Level I): Pectoralis minör kasının lateral kenarı ve altında bulunan lenf nodlarını içerir.

Orta aksilla (Level II): Pectoralis minör kasının lateral ve medial kenarlarının arasındaki ve arkasındaki lenf nodlarıdır. Bu bölgedeki Rotter's lenf nodları interpektoral fasya içerisinde yerleşimlidir.

Üst aksilla (Level III): Pectoralis minör kasının medial kenarında ve klavikulanın altında kalan lenf nodlarını içerir. Bu bölge LN'lerinin metastazları daha kötü bir prognozun habercisidir.



Şekil 5: Memenin lenfatik drenajı (27)

Aksiller lenf nodlarının sayısı ortalama 24 olmakla birlikte genelde 20-30 arasında değişir. Ancak burdan 80 civarı lenf nodu diseksiyonu yapıldığı görülmüştür. Sentinal lenf nodları hastaların %23'ünde kadar level II de ve %2-3 ünde level 3 te (Level I'i atlayıp daha ileriye metastaz yapma durumları) bulunabilir (28). Rotter lenf düğümleri bir alman cerrah olan Josef Rotter tarafından 19. yüzyılın sonlarında tariflenmişlerdir. Pectoralis majör ve pectoralis minör kasları arasında bulunan orta

aksiller (Level II) lenf nodları arasında yer alan 4 adete kadar düğüm içerebilen lenf nodlarıdır. Üst aksilla (Level III) lenf düğümleri ayrıca apikal veya infraklaviküler düğümler olarakta adlandırılırlar. Bu 3 gruptan özellikle orta aksiller gruba olan metastazlar daha kötü prognozla ilişkilidir. Rotter lenf nodlarına olan metastazlar genellikle memenin üst-orta ve üst-dış bölgelerinde yer alan meme karsinomlarından kaynaklanır (26).

İnternal mammaryan lenf nodları daha çok memenin santral ve medial kısmından drenaj alırlar. Bu lenf nodları endotorasik fasya içinde sternumun kenarında 2-4. İnterkostal aralıklar boyunca yerleşirler. İnternal mammaryan lenf nodlarından gelen akım aksiller Level II lenf nodlarına drene olarak sonlanır. Meme dokusu içerisinde yer almalarına rağmen evreleme sisteminde aksiller lenf nodları olarak belirtilirler. Supraklaviküler lenf düğümleri bölgesel lenf nodları içerisinde değerlendirilir. Lateral ve süperiorda omohyoid kas, medialde internal juguler ven ve inferiorda klavikula tarafından tanımlanan bir üçgen olan supraklaviküler fossada bulunurlar. Bu lenf nodları dışındaki herhangi bir lenf nodu metastazının varlığı (karşı taraf aksilla ve internal mammaryan lenf nodları dahil) uzak metastaz olarak kabul edilir (20).

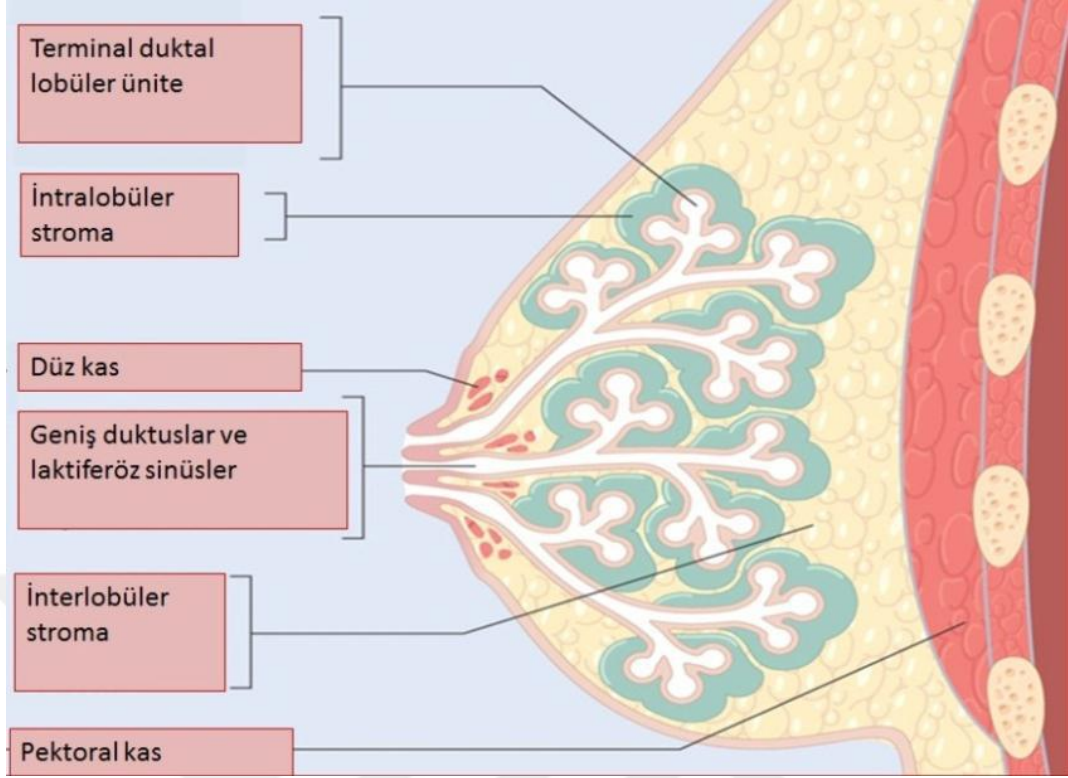
1.2.4 Memenin Sinir İnnervasyonu

Memenin yüzeyel deri innervasyonu servikal pleksusun dallarından supraklaviküler daldan, derin innervasyonu ise 2-6. İnterkostal sinirlerin lateral ve anterior dallarından gelir. İnterkostal sinirler hem duyuşal hem de sempatik efferent lifler taşırlar. Otonom ve duyuş sinir innervasyonuna sahip meme ucu esas olarak T4'ün lateral kutanöz ramusunun anterior dalı tarafından innerve edilir (29). Bu sinir biri meme ucunun merkezinde, iki üst ve iki alt olmak üzere 5 fasiküle ayrılır. Memeyi innerve eden sinirler genel olarak arterleri ve arteriyolları takip eder. Sempatik sinirler meme ucunun düz kas hücreleri arasında ve meme arterlerinin adventisyası ile medyası arasında bolca bulunur. Memenin parasempatik innervasyonu ve meme dokusunda ganglion yoktur. Duyuşal lifler epidermise yakın serbest uçlar olarak sonlanır ve emme sürecini merkezi sinir sistemine iletirler. Memenin salgı aktivitesi motor sinirlerden ziyade hormonlar tarafından kontrol edilir. Bu hormonlardan en önemlileri prolaktin ve oksitosindir. Bu iki hormonun salınımı duyuşal sinir liflerinin uyarımı sonucu

meydana gelir. Sempatik stimölasyon areola ve meme başındaki myoepitelyal hücrelerde kontraksiyona yol açarken, myoepitelyal adrenerjik reseptörleri norepinefrin uyarılması sonucunda da gevşeme olur. Emme sırasında meme başında parasempatik aktivitenin olmamasına rağmen myoepitelyal kontraksiyon olur. Bu kontraksiyon oksitosin etkisi ile oluşur (30).

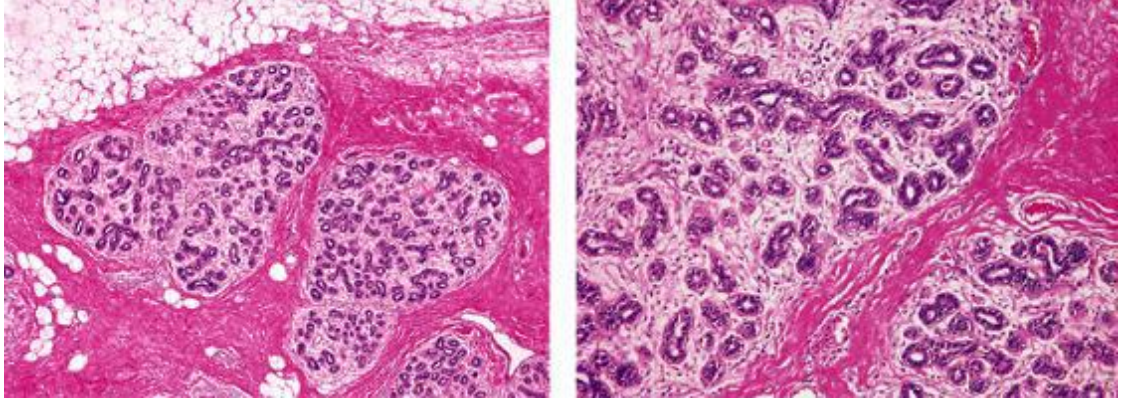
1.3 Meme Histolojisi

Memenin üç boyutlu görünümü tepede meme ucu ve tabanda lobüllerin bulunduğu daha derin meme dokusu olan koniler şeklindedir. Her bir meme tipik olarak 15-25 adet lob, bu lobların arasında ve lobları birleştiren fibröz doku ile lobları saran yağ dokusundan oluşur. Her lob pek çok lobüle ayrılır. Lobüller de 10-100 kadar alveole dallanır ve her bir alveol bazal lamina ile çevrelenir. Alveollere asinüs ya da duktül de denir. Laktiferöz duktuslar (toplayıcı duktuslar) meme başına açılmadan önce genişleyip laktiferöz sinüsleri oluştururlar. Lobların hepsi meme başında yer alan laktiferöz sinüse açılır. Laktiferöz duktuslar segmental (majör) duktuslara, segmental duktuslar ise terminal (subsegmental) duktuslara dallanır. Terminal duktuslar ise lobüllerde sonlanırlar. Her bir lobül ve bu lobüle açılan terminal duktus memenin temel yapısal birimi olan terminal duktal lobüler üniteyi (TDLU) oluşturur (12, 22, 31, 32). Memenin glandüler birimi terminal duktal lobüler ünitir ve bu kısım en aktif proliferatif kısımdır. TDLU'nun epitel hücreleri hamilelik ve emzirme döneminde salgılama dönemlerinde değişkenlik gösterir. Meme hastalıklarının çoğu TDLU'dan kaynaklanır.



Şekil 6: Memenin duktusları, lobülleri ve stromasının şematik görünümü (32)

Meme başı ve areola kısmı çok katlı yassı epitel ile döşelidir ve burası meme derisi ile süreklilik gösterir. Meme başında yer alan toplayıcı duktuslar emzirme dönemleri haricinde genellikle keratinli artıklarla tıkanmış durumdadırlar. Toplayıcı duktusların skuamöz epiteli derine ilerledikçe yalancı çok katlı kolumnar epitele ve son olarak da küboidal veya düşük kolumnar epitele dönüşür. Bu döşeyici epitelin bazalinde bir myoepitelyal hücre tabakası yer alır. Bazal membran ise miyoepitelyal hücre tabakasının altında bulunur. Meme başındaki laktiferöz duktusların etrafı düz kas demetleri ile sarılıdır. Kas lifleri genel olarak dairesel şekilde dizilim gösterirler ancak toplayıcı ve laktiferöz duktuslar arasında bazı lifler birbirine dikey olarak dizilir. Dairesel kas lifleri emme ile meme ucunun sertleşmesini sağlayarak emzirmeye yardımcı olur. Dikey kas lifleri döngüsel olarak kasılarak laktiferöz sinüslerin boşalmasını sağlar. Meme başı ve areolanın altında neredeyse hiç yağ dokusu bulunmaz (33) .



Şekil 7: Terminal Duktal Lobüler Ünite (12)

Meme dokusunun makroskopik kesitlerinde lobül çıplak gözle görülemez. Her lobüldeki asini sayısı farklı olduğundan dolayı boyutu değişkenlik gösterir. Her bir lobül 10-100 arası asiniden oluşabilir. İntralobüler stroma gevşek bağ dokusundan oluşur ve menstrüel siklusun sekretuar döneminde mikst bir inflamatuvar hücre infiltratı izlenebilir.

Luminal ve myoepitel hücreler farklı immünohistokimyasal boyanma özelliklerine sahiptirler. Luminal epitel hücreleri sitokeratin 7,8,18,19 gibi çeşitli düşük molekül ağırlıklı sitokeratinler (LMWCK) ve E-kaderin pozitiflerdir (12, 34). Ayrıca EMA, α -laktalbümin, GCDFP-15(gross cystic disease fluid protein-15) ile de boyanırlar. Normal epitel hücrelerinde östrojen (ER) ve progesteron (PR) ile az da olsa boyanma izlenebilir. ER ekspresyonu yaşla birlikte artar, gebelik ve Ki-67 proliferasyonu gösteren hücrelerde azalır (35).

Myoepitelyal hücreler belirsiz sitoplazmalı ve iğ şeklinde hücrelerdir. Myoepitelyal hücrelerin ince ve sıkıştırılmış çekirdekleri glandlardaki epitel hücrelerinin dizilimine dik olarak yerleşir. Toplayıcı kanallardan asini yapılarının ucuna kadar bulunurlar. İnce iğne aspirasyon sitolojilerinde sitoplazmadan tamamen yoksun şekilde görülürler. Bu hücreler S100, düz kas aktin (SMA), düz kas miyozin ağır zincir, P63, CD10, kalponin, CK5/6, CK14, CK17 ekspresyonu gösterirler fakat ER eksprese etmezler. Ayrıca normal memede myoepitel hücreler EGFR boyanabilir (12,34). Neoplastik bezlerin etrafındaki miyoepitelyal hücre tabakasının kaybının olması genellikle invaziv karsinom lehine değerlendirilir. Tüm apokrin kistlerin tamamında olmasada bazı kistlerde miyoepitelyal hücre kaybı olduğu bildirilmiştir

(36). Bazal membran, myoepitelyal hücre tabakasının hemen dışında yer alır ve bezleri stromadan ayırır. Bazal membran ise laminin ve tip IV kollajen ile immünohistokimyasal, retikülin ve periyodik asit-Schiff (PAS) ile histokimyasal boyanma gösterir (37) .

Meme kanalları ve lobülleri değişken fibröz ve yağ dokusundan oluşan bir stromanın içinde bulunurlar. Laktasyon ve hamilelik dönemleri haricinde bu stroma memenin büyük kısmını oluşturur. Yağ dokusu genelde interlobar stromada bulunur ve atrofi dışında lobüller arasında bulunmaz. Stromada bulunan fibroblastik ve myofibroblastik elemanlar yalancı anjiyomatöz bir görünüm sergileyerek psödoanjiyomatöz stromal hiperplaziye neden olabilirler. Genç kadınların mamografik görüntüleri daha yoğundur bunun nedeni kollajen miktarının daha fazla olmasıdır (38).

Yetişkin kadınlarda meme bezlerinin normal bir bileşeni de apokrin hücrelerdir. Bu hücreler pembe renkli ve küboidal veya kolumnar görünür. Nadiren de olsa apokrin granülleri özellikle hücrelerin apikal kısmında birikerek belirgin hale gelebilir. Apokrin hücreler EMA, GCDFP-15 ve androjen reseptörleri (AR) ile güçlü pozitifken, ER ve PR için hemen daima negatiftirler (39). Köpüksü hücreler tipik olarak kistik olan normal bezlerde ve stromada bulunabilir. Bu hücrelerin bazıları histiyositiktir (poligonal) diğerleri epitelooid veya iğsi hücre görünümüne sahiptirler. Yaklaşık %15 oranında pigment yüklü histiyositler periduktal bağ dokusunda görülebilir (40).

Meme ucu çok katlı yassı epitelinin arasında şeffaf hücreler ve Toker hücreleri bulunur. Bu iki tip hücre benign şeffaf görünümde hücrelerdir. Daha yaygın görülen şeffaf hücreleri berrak sitoplazmaya ve kenara sıkıştırılmış yarım ay şeklinde çekirdeğe sahiptirler. Bu hücrelerin sitoplazmalarının berraklığı hidropik değişimler sonucu kazanıldığı düşünülmektedir. Şeffaf hücre sitoplazmalarının açık kısmı EMA, sitokeratinler, karsinoembriyonik antijen (CEA) ve papillomavirüs belirteçlerine karşı immün reaktivite göstermez (41). Toker hücreleri klinik açıdan daha önemli hücrelerdir. Çünkü meme ucunun Paget hastalığı ile tanıda karışıklığa yol açabilirler. Bir patolog olan Cyril Toker tarafından tanımlanan bu hücreler skuamöz hücrelerden daha büyük paget hücrelerinden daha küçüktürler . Toker hücrelerinin embriyonik meme tomurcuğunun kalıntısı veya duktus epitel hücrelerinin epidermise uzantısı olduğu düşünülmektedir. En çok laktiferöz duktusların açıklıkları çevresinde

bulunurlar ve düzenli çekirdekleri ile soluk sitoplazmaları vardır. CK7 ile boyamada stellat şekilde görülürler

1.4 Meme Kanseri

1.4.1 Meme Kanseri Epidemiyolojisi:

Meme kanseri Türkiye ve dünyada kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Görülen tüm kanserler içinde dünyada %11,7 Türkiye’de %10.3 lük bir oranı bulunmaktadır (43). Hastaların çoğu rutin taramalar sırasında teşhis alır. Meme kanseri meme kitlesi, meme şekli veya boyutunda değişiklik, meme başı akıntısı ile kendini gösterebilir. Meme kanserinin popülasyonda dağılımı çok heterojendir. Bu yüzden popülasyon risk değerlendirilmesinden öte bireysel risk değerlendirilmesi klinik açıdan daha değerlidir. Son zamanlarda gelişen erken tanı ve hedefe yönelik tedaviler ile mortalite oranı giderek azalmaktadır. Meme kanserinin histolojik ve moleküler özelliklerinin belirlenmesi, yeni tedavilerin bulunmasına yardımcı olmakla birlikte tanıda kolaylık sağlaması açısından son derece önemlidir.

Meme kanseri insidansı dünyada her geçen yıl artmaktadır. Kuzey Amerika, Avustralya ve Batı Avrupa da meme kanseri insidansı 100 000’de 85-94, Orta Doğu, Asya ve Afrika’da 100 000’de 27 dir. Avrupada meme kanserinin en fazla görüldüğü ülke Fransa’dır (44) . Genel olarak bakıldığında gelişmiş ülkelerde meme kanseri görülme sıklığı daha fazlayken, gelişmekte olan ülkelerde ise mortalite oranı daha yüksektir(45). Bu heterojen dağılımın sosyoekonomik farklılıklar ve sanayileşme sonucu toplumsal farklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Beslenme alışkanlıkları, vücut yağlanma oranı, doğum yaşı, üreme ve emzirme alışkanlıkları, gelişmiş ülkelerdeki eğitim seviyesinin yüksek olması, tarama programlarına önem verilmesi gibi birçok faktör bu durumda rol oynar. Tüm dünyada meme kanseri insidansı artarken Amerika ve Kanada gibi bazı ülkelerde 2000 yılından bu yana azalma izlenmektedir (46). Kadınlarda kansere bağlı ölümlerde gelişmiş ülkelerde ilk sırada akciğer kanseri 2. sırada meme kanserleri gelmekteyken, geri kalmış ülkelerde ilk sırada meme kanseri bulunmaktadır. Son yıllarda gelişen erken tanı yöntemleri ile tedavideki gelişmeler meme kanserine bağlı ölümlerin azalmasını sağlamıştır (47).

Erkeklerde meme kanserleri nadiren izlenmektedir. Tüm meme kanser vakalarının %0.6'sı erkeklerde görülürken, tüm malignitelerin %1'lik kısmını oluşturur (48)

1.4.2 Meme Kanserlerinin Klinik bulguları

Meme kanserlerinin en önemli klinik bulgusu palpe edilebilir kitledir. Diğer bulgular ise cilt ve/veya meme başı retraksiyonu, meme başı akıntısı ile memede boyut, şekil, renk ve doku değişimidir. Bazen hasta memede herhangi bir bulgu vermeden lenf nodu büyümesi ile de gelebilir. Bu bulgular invaziv meme kanserlerinin yanı sıra diğer benign meme lezyonlarında da görülebileceğinden radyolojik ve patolojik korelasyon yapılmalıdır (49).

1.4.3 Meme Kanseri Risk Faktörleri

Meme kanseri etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Daha önceden yapılan bazı çalışmalarda belli risk faktörlerine sahip kadınlarda meme kanserinin görülme olasılığının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (50-51) . Bu risk faktörlerinin başlıcaları yaş, genetik-ailesel faktörler, ırk-etnik köken, yaşam tarzı faktörleri, reproduktif faktörlerdir. Ancak genelde meme kanseri teşhisi almış kadınların %66 sında bilenen bir risk faktörü yoktur (52).

Yaş: Meme kanseri riski ve mortalitesi yaş ile birlikte artmaktadır. 50 yaş üstü kadınlar yeni teşhis edilen olguların %79'unu, meme kanserine bağlı ölümlerin ise %88'ini oluşturmaktadır (53) . ABD'de bir kadının yaşam boyu meme kanserine yakalanma riski %12,5'tir. Bu oranın yaşlara göre dağılımı ise şöyledir (54);

1- Doğumdan 49 yaşına kadar – %2,0

2- 50-59 yaş arasında – %2.3

3- 60-69 yaş arasında – %3.5

4- 70 yaşından sonra – %6.7

2. Cinsiyet: Erkeklerle göre kadınlarda meme kanseri 100 kat fazla görülmektedir. Erkeklerde siroz, klinefelter sendromu gibi vücutta östrojen miktarının arttığı durumlarda risk artmaktadır. Jinekomasti meme kanseri risk faktörlerinden değildir (55).

3. Genetik faktörler: Meme kanseri vakalarının %20-25'inin aile öyküsü mevcuttur. Ancak kalıtsal nedenlerle oluşan ve otozomal dominant kalıtım gösteren meme kanseri oranı %5-10'dur (23). Kalıtsal meme kanserlerinin en sık nedeni BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonlarıdır. BRCA1 gen mutasyonuna sahip olanlarda yaşam boyu meme kanseri gelişme riski %65-81, BRCA2 taşıyıcılarında ise %45-85 arasında değişmektedir (56-57). Bunların dışında Li-Fraumeni sendromuyla sonuçlanan TP53 mutasyonları, Cowden sendromu, Peutz-Jeghers sendromu (STK11 mutasyonu), nörofibromatöz (NF1) ve E-cadherin (cdh-1) mutasyonları sayılabilir (58)

4. Ailede meme kanseri öyküsü: Aile öyküsü meme kanserlerinin en önemli risk faktörlerinden biridir. Meme kanseri olan birinci derece bir akrabaya (anne, kız kardeş, kızı) sahip olmak meme kanserine yakalanma riskini 1.8 katına, birinci derece iki akrabaya sahip olmak bu riski 2.93 katına çıkarırken, üç birinci derece akrabada meme kanseri öyküsü bulunanlarda ise bu risk 3.90 katına çıkmaktadır (59). İkinci derece akrabada meme kanseri öyküsü olması da riski 1.5 kat artırmaktadır. Bu oranlar da gösteriyor ki meme kanserli akraba sayısı arttıkça risk de artmaktadır. Aile öyküsü bulunan vakalarda olmayanlara göre meme kanseri daha erken yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Yine babasında veya erkek kardeşinde meme kanseri olan bir kadında risk artmaktadır. Tüm meme kanserli hastalarda aile öyküsü %15 civarında mevcuttur (60) .

5. Irk :Yapılan araştırmalara göre beyaz kadınlarda meme kanseri görülme oranı siyahi kadınlara göre %20 daha fazladır. Ancak mortalite oranı siyahi kadınlarda daha yüksektir. Siyah ırkın meme kanseri nedeniyle hastaneye başvurusunda lokal ileri ve metastatik olma oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Irklar arasındaki bu farklılıkların yaşam tarzı ve sosyoekonomik düzey farkından kaynaklandığı düşünülmektedir (61, 62).

6. Doğum öyküsü: Hiç doğum yapmamış kadınların (Nullipar) doğum yapmış kadınlara göre meme kanserine yakalanma riskleri daha yüksektir. Yapılan bir çalışmada nullipar kadınların meme kanseri risklerinin multiparlara göre %30 daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (63). İlk doğumunu 30 yaşın altında yapanlar görece düşük riskli iken ileri yaşlarda ilk doğum yapmak riski artırır. Hatta ileri yaş doğumda risk nulliparlarınkinden yüksektir(64). Bazı görüşlere göre doğum sayısının artması meme kanseri riskini düşürmektedir. Doğurganlığın ilk yıllarda riski artırdığı ancak

uzun dönemde koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir (64, 65). Gebelik endojen östrojen maruziyetini azalttığı ve epitel hücrelerinin yenilenmesine katkıda bulunduğu için erken yaşta gebeliğin ve çok sayıda gebeliğin koruyucu etkisi vardır (66).

7. Menstrüel öykü: Erken menarş ilk adet 12 yaşından önce görülmesi olarak tanımlanır. Geç menopoza ise 55 yaşından sonra menopoza girilmesidir. Bu iki durumda endojen östrojen ve progesteron maruziyetini artırdığı için meme kanseri gelişme riskini artırmaktadır. Yapılan bir araştırmada menarş başlama yaşında gecikmelerde her 1 senede meme kanseri riskinin %5 azaldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada menopaza girme yaşları incelendiğinde her 1 yıllık gecikmede riskin %1 arttığı izlenmiştir (65). Başka bir çalışmada 13 yaşından sonra menarş olanlarla 11 yaşında önce menarş olanlar incelenmiş ve 13 yaş üstü olanlarda %20 daha az meme kanseri riski tespit edilmiştir. 55 yaş üstü menopaza girenlerin 50-54 yaşından daha önce girenlere göre %12 oranında daha yüksek meme kanseri riski taşıdığı belirlenmiştir. Düzensiz ve sık adet görme gibi adet düzensizliklerinin de meme kanseri riskini artırdığı bildirilmiştir (67, 68).

8. Emzirme: Emzirmenin meme kanseri gelişimine karşı koruyucu bir etkisi olduğu bilinmektedir. Emzirme döneminde menstrual siklus sayısının azalması ve buna bağlı olarak da memenin endojen östrojene daha az maruz kalması bu etkide rol oynar. Ayrıca emzirme ile memenin fonksiyonel olmayan bileşenleri histolojik değişikliğe uğrayarak süt üreten işlevsel bir dokuya dönüşürler. Bir yıldan uzun süren emzirme durumunda meme kanseri riskinin bariz bir şekilde azaldığı bildirilmektedir (69-71).

9. Hormon Replasman Tedavisi (HRT): Menopozal semptomların giderilmesinde ve postmenopozal osteoporoz tedavisinde sıklıkla kullanılan HRT ile meme kanseri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (23). 5 yıldan uzun sadece östrojen içeren HRT kullanımında meme kanseri riskinin bir miktar arttığı, hem östrojen hem progesteron içerenlerde ise riskin 2-4 kat arttığı görülmektedir. Ancak kısa süreli HRT kullanımının riski artırmadığı görülmüştür. HRT tedavisinin bırakılmasından 5 yıl sonra meme kanseri riskinin hiç HRT almamış bireylerle aynı düzeyde olduğu görülmüştür (72-74).

10. Oral Kontraseptif (OKS) Kullanımı: OKS kullanan kadınlarda kullanmaya göre meme kanseri riski bir miktar fazladır. OKS kullanımının terk edilmesiyle bu risk azalır ve 10 yılın sonunda risk ortadan kalkar. OKS'ler içinde meme kanseri riskini en fazla artıranlar yüksek doz östrojen ve progesteron bulunduranlardır. 20 yaşından önce veya ilk gebelikten önce OKS kullananlarda risk daha fazladır. 6 yıldan kısa kullanımlarda risk 2 kat artarken, 6 yıldan fazla kullananlarda bu risk 3 katına çıkmaktadır. Bunlar da gösteriyor ki OKS kullanımına bağlı risk başlanan yaşa ve kullanım süresine göre değişmektedir(75-77).

11. Alkol: Kandaki östradiol seviyesi alkol kullanımına bağlı olarak yükselir. Daha önceden yapılan bir çok çalışmada alkol ile meme kanseri araştırılmış ve bu araştırmalar sonucunda günlük düzenli alkol tüketen bir insanda meme kanseri riskinin %30-50 oranında arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca alkolün ER pozitif meme kanserlerinin gelişiminde etkili olduğu belirlenmiştir. Folat alımının alkol kullanımına bağlı artan bu riski azaltabileceği belirlenmiştir (78, 79).

12. Obezite: Perimenapozal dönemde yüksek BMI'ye sahip kadınlarda meme kanseri riskinin arttığı izlenmiştir. Ancak premenopozal dönemde obeziteye bağlı olarak anovulatuvar menstrual sikluslara nedeniyle meme kanseri riski azalmaktadır. Postmenopozal dönemde ise obezite, yağ dokusunun artmasına ve östrojen öncüllerinin östrojene dönüşümü ve östrojen maruziyeti artmasıyla meme kanseri riski yükselir (80, 81).

13. Histolojik Lezyonlar: Bening meme hastalıklarının hepsi kanser riskini artırmaz. Nonproliferatif meme lezyonları olan papillom, duktal ektazi, hafif hiperplazi, lipom, hamartom, fibrokistik hastalık, non-sklerozan adenozisin meme kanseri riskini artırmadığı veya çok az artırdığı kabul edilir. Atipisiz proliferatif meme lezyonlarının (atipisiz duktal hiperplazi, fibroadenom, radial skar, sklerozan adenozis) meme kanseri riskini 1.5-2 kat, atipik proliferatif lezyonlarının (atipik duktal hiperplazi, atipik lobüler hiperplazi) ise 4-5 kat artırdığı belirlenmiştir (71).

Diğer risk faktörleri: Fiziksel aktivite azalığı, radyasyon maruziyeti, sigara kullanımı meme kanseri riskini artıran diğer faktörlerdir.

1.4.4 Meme Kanserinin Histopatolojik Sınıflandırması:

Meme epitelyal kanserlerinin histolojik tiplendirmesi için WHO (Dünya Sağlık Örgütü) 2019 sınıflaması (5. Edisyon) kullanılmaktadır (tablo 1) (43) . DSÖ'ye göre, meme tümörleri epitelyal, mezenkimal, fibroepitelyal, meme başı tümörleri, malign lenfoma ve metastatik tümörler olarak alt sınıflara ayrılmaktadır. Epitelyal tümörler içerisinde invaziv meme karsinomları yanısıra prekürsör lezyonlar ve benign epitelyal proliferasyonlar da bulunmaktadır. Bu sınıflamaya göre en büyük grubu oluşturan invaziv duktal karsinom, 'özel tip olmayan invaziv karsinom' olarak tanımlanırken, diğer tüm invaziv epitelyal karsinomlar 'özel subtipler' olarak sınıflandırılarak tanımlanmıştır.

Tablo 1: 2019 Dünya Sağlık Örgütü Epitelyal Meme Tümörleri Sınıflandırması.

TANI	ICD-O KOD	TANI	ICD-O KOD
Benign epitelyal proliferasyonlar ve prekürsörleri:		İnvaziv meme karsinomu:	
Olağan duktal hiperplazi		İnvaziv meme karsinomu, NOS	8500/3
Atipik duktal hiperplazi		Onkositik karsinom	8290/3
Kolumnar hücre lezyonları (flat epitelyal atipi dâhil)		Lipitten zengin karsinom	8314/3
Adenozis ve benign sklerozan lezyonlar:		Glikojenden zengin karsinom	8315/3
Sklerozan adenozis		Sebase karsinom	8410/3
Apokrin adenoma	8401/0	Lobüler karsinom, NOS	8520/3
Mikroglandüler adenozis		Tübüler karsinom	8211/3
Radial skar/kompleks sklerozan lezyon		Kribriform karsinom, NOS	8201/3
Adenomlar:		Müsinöz adenokarsinom	8480/3
Tübüler adenom, NOS	8211/0	Müsinöz kistadenokarsinom, NOS	8470/3
Lactating adenom	8204/0	Memenin invaziv mikropapiller karsinomu	8507/3
Duktus adenomu, NOS	8503/0	Apokrin adenokarsinom	8575/3
		Metaplastik karsinom, NOS	
Epitelyal myoepitelyal tümörler:		Nadir ve tükrük bezi tipi tümörler:	
Pleomorfik adenom	8940/0	Asiner hücreli karsinom	8550/3
Adenomyoepitelyoma, NOS	8983/0	Adenoid kistik karsinom	
Karsinom içeren adenomyoepitelyoma	8983/3	Klasik adenoid kistik karsinom	8200/3
Epitelyal myoepitelyal karsinom	8562/3	Solid bazaloid adenoid kistik karsinom	8502/3
		Yüksek dereceli transformasyon gösteren adenoid kistik karsinom	8430/3
Papiller neoplazmlar:		Sekretuar karsinom	8525/3
İntraduktal papillom	8503/0	Mukoepidermoid karsinom	8509/3
Duktal karsinoma in situ, papiller	8503/2	Polimorföz adenokarsinom	
Enkapsüle papiller karsinom		Ters polariteli tall cell karsinom	
İnvazyon yapan enkapsüle papiller karsinom	8504/2		
Solid papiller karsinoma in situ	8504/3		
İnvazyon yapan solid papiller karsinom	8509/2		
İnvazyon yapan intraduktal papiller adenokarsinom	8509/3		
	8503/3		
Non invaziv lobüler neoplaziler :		Nöroendokrin neoplaziler:	
Atipik duktal hiperplazi		Nöroendokrin tümör, NOS	8240/3
Lobüler karsinoma in situ, NOS	8520/2	Nöroendokrin tümör, derece 1	8240/3
Klasik lobüler karsinoma in situ		Nöroendokrin tümör, derece 2	8249/3
Florid lobüler karsinoma in situ		Nöroendokrin karsinom, NOS	8246/3
Lobüler karsinoma in situ, pleomorfik		Nöroendokrin karsinom, küçük hücreli	8041/3
		Nöroendokrin Karsinom, Büyük Hücreli	8013/3
Duktal karsinoma in situ (DCIS):			
İntraduktal karsinom, infiltrasyon yapmayan;	8500/2		
Düşük nükleer dereceli DKİS			
Orta nükleer dereceli DKİS			
Yüksek dereceli DKİS			

1.4.5 İn situ Karsinomlar

Duktal Karsinoma İn Situ (DKIS): Meme duktalobüler sistemde sınırlı, bir dizi yapısal patern ve nükleer atipi bulunan, koheziv neoplastik epitel hücrelerinin invaziv olmayan bir proliferasyonudur. DKIS klinikte meme başı akıntısı, palpable kitle ve rutin mammogarfilerde kalsifikasyonlarla fark edilebilir. Genelde tek tarafta gelişir ancak bir memede DKIS odağı bulunan kadınların yaklaşık %23'ünde karşı memede DKIS ya da invaziv karsinom odağı gelişir(82). DKIS nükleer derecesine göre düşük, orta ve yüksek olmak üzere 3 kategoriye ayrılır. Düşük dereceli DKIS granüler ve amorf paterne sahipken derece artıkcı lineer, pleomorfik veya dallanan paternler ve kalsifikasyonlar gelişir.

DKIS ayrıca yapısal paternlere göre solid, kribriform, mikropapiller veya papiller tipler olarak da kategorize edilir. Komedo tip DKIS bazı sistemlerde yapısal bir tip olarak geçse de bazı sınıflamalarda da komedo nekroz varlığı veya yokluğu kullanılır. DKIS'ın histolojik derecelendirmesi için sitonükleer morfolojinin kullanılması önerilir. Genel olarak nükleer derecenin yapısal paternden daha fazla homojenliği vardır. (83,84)

Düşük dereceli DKIS'ta nükleus düzenli kromatin ve göze çarpmayan nükleollerle, boyut ve şekil bakımından uniform görünümündedir. Nükleus boyutu bir eritrosit boyutunun 1,5-2 katıdır. Çok nadir mitoz ve nekroz izlenir. Genelde kribriform, mikropapiller veya solid büyüme paternindedir. Düşük dereceli solid DKIS'ta lümenal boşluklara sahip mikrorozetler görülebilir. Mikrokalsifikasyon genellikle lümen boşluklarındaki sekresyonlarda görülür ve psammomatöz olabilir (83).

Orta dereceli DKIS boyut, şekil ve polarizasyonda orta derecede değişkenlikler gösteren hücrelerden oluşur. Kaba kromatin ve belirgin nükleoller vardır. Mitoz mevcut olabilir. Komedo nekroz ve mikrokalsifikasyonlar görülebilir.

Yüksek dereceli DKIS büyük ve atipik hücrelerden oluşurken en yaygın olarak solid büyüme paterninde görülür. Ancak kribriform ve mikropapiller paternler de izlenebilir. Nükleuslar büyük, düzensiz konturlu, kaba kromatinli ve sıklıkla belirgin nükleollü olup tipik olarak pleomorfiktir. Çap olarak bir eritrosit boyutunun 2.5 katından büyüktür. Belirgin mitoz bulunur. Tanı için zorunlu olmamakla birlikte santral komedonekroz ve mikrokalsifikasyonlar sıklıkla mevcuttur (83).

Lobüler Karsinoma İn Situ (LKIS): LKIS, terminal duktalobüler unitten kaynaklanan diskoheziv hücrelerin invaziv olmayan bir proliferasyonudur. Bir TDLU'deki asinilerin yarısından fazlası neoplastik hücrelerce doldurulur ve genişletilir.

LKIS, %80 oranında multisentrik ve %30-70 oranında da bilateralidir. Multisentrik LKIS ile birlikte invaziv lobüler karsinom olasılığının arttığı bildirilmiştir. Meme biyopsilerinde LKIS tanımlanma oranı %0,5-3,9 civarındadır(43, 85-87).

Klasik LKIS tip A ve/veya tip B epitel hücrelerinin diskoheziv proliferasyonları ile karakterizedir. Tip A hücreler, monoton, hiperkromatik nükleusa sahip küçük hücrelerdir. Tip B hücreler ise boyut ve şekil bakımından değişkendir ve küçük nükleoları bulunan biraz daha veziküler çekirdeklere sahiptirler. LKIS tanısı için bir TDLU'deki asinin %50'den fazlasının neoplastik hücreler tarafından doldurulması ve genişletilmesi gerekir. Mitoz nadirdir ve küçük nekroz odakları izlenebilir. Hücre boyutu bir lenfositin 4 katından fazla olan LKIS'lar pleomorfik LKIS olarak tanımlanır. Florid LKIS'da hücreler klasik LKIS morfolojindedir. Ancak TDLU'lerde veya duktuslarda belirgin bir genişleme vardır. Bu da birleşen bir kitle yapısı oluşturur(43, 85, 86).

1.4.6 İnvaziv Karsinomlar

İnvaziv Duktal karsinom (İDK) (İnvaziv karsinom, özel tip olmayan) :

Özel tip olmayan invaziv meme karsinomu (İMK-NOS) terimi, morfolojik olarak diğer özel histolojik tiplerden herhangi birine morfolojik olarak sınıflandırılmayan büyük ve heterojen İMK grubunu ifade eder. En sık görülen alt tiptir. Epitelyal meme kanserlerinin yaklaşık %40-75'ini bu grup oluşturur. İnvaziv duktal karsinom, 'invasive carcinoma of no special type (ductal NST)', 'invasive carcinoma-not otherwise specified (ductal NOS)', infiltratif duktal karsinom olarak da adlandırılır. Son yıllarda daha çok 'invaziv karsinom, özel olmayan tip' kullanımı tercih edilmektedir. İMK-NOS kendi içerisinde çok heterojenite gösterir ancak temel olarak diğer tanımlanan histolojik subtiplerin dışlanması ile tanı konulmaktadır (88).

Makroskopik olarak düzensiz, nodüler veya yıldızsı, sınırları kesin olarak seçilemeyen kitleler olarak izlenirler. Palpasyonda sert olup kesilirken tebeşir hissi

verirler. Kesit yüzlerine bakıldığında gri beyaz renkli olup arada sarı çizgilenmeler izlenir. Nekroz, hemoraji ve kistik dejenerasyon alanları nadir de olsa olabilir. Yapısal olarak tümör hücreleri kordlar, trabeküller, hücre kümeleri oluşturabilir. Hücre grupları solid ya da bazen sinsityal infiltratif patern gösterebilir. Özellikle tübüler yapıların baskın olduğu tümörlerde daha çok olmak üzere glandüler diferansiasyon izlenebilir. Daha nadir olarak tek tek hücre infiltrasyonları şeklinde izlenebilir. Hücreler genelde bol sitoplazmalı ve eozinofilik görünümündedir. Nükleuslar düşük dereceli tümörlerde uniform ve düzgün yapıda iken yüksek dereceli tümörlerde daha pleomorfik, hiperkromatik olabilir. Nükleoller değişen sayılarda bulunabilir. Mitoz tümörün derecesine göre değişkenlik gösterir. Duktal karsinoma in situ(DKİS) olguların %80'e yakınında eşlik eder. Az sayıda vakada tümöre eşlik eden lenfoplazmositik infiltrasyon görülür.

Bir tümöre invaziv karsinom, NOS tanısı vermek için özel olmayan paternin tümörün %50'sinden daha fazlasını oluşturması gerekmektedir. Eğer bu oran %10-49 arasında ise ve tümörün geri kalanını spesifik bir başka paterne sahip tümör oluşturuyorsa bu tümör mikst gruptadır; mikst invaziv karsinom, NOS ve özel suptip adı ile tanımlanır (mikst invaziv karsinom; NOS ve lobüler karsinom gibi (49). Ayrıca invaziv karsinom; NOS 'un nadir görülen morfolojik varyantları mevcuttur. Tümöre %50'den fazla eşlik eden pleomorfik, bizar görünümde hücreler, bazen tümör dev hücreleri de bulunursa 'pleomorfik karsinom' olarak adlandırılır(89). Bazende tümörlerin epitelyal komponentinin veya stromasında değişen sayıda nükleus içeren farklı boyut ve sayılarda osteoklast tipi dev hücreler bulunur. Bu tümörlere de 'osteoklastik dev hücreler içeren karsinom' denilmektedir (90). Bu hücrelere sıklıkla invaziv karsinom;NOS eşlik etmekle birlikte invaziv kribriform karsinom, papiller karsinom, lobüler karsinom, metaplastik karsinom ve pleomorfik karsinom da ender olarak bulunabilir. Bazı tümörler Hcg pozitif koryokarsinomatöz diferansiasyon gösterir ve bu tümörler yüksek serum β -Hcg seviyesine sahiptirler. Çok ender görülür ve literatürde 'koryokarsinomatöz özellikler gösteren karsinom' olarak isimlendirilirler (91). İMK-NOS ile malign melanom birlikteliği olan tümörler de mevcuttur. Hatta bazı çalışmalarda bu iki tümörün birbirine dönüştüğünü bildirmişlerdir (92, 93).

Tümörün stromal bileşeni son derece değişkendir. Belirgin hyalinizasyon ve yüksek düzeyde hücrel fibroblastik proliferasyon olabilir. Az sayıda vakada, tümörle ilişkili belirgin bir lenfoplazmasitoid infiltrat tanımlanabilir. İMK-NOS vakalarının %20-30'luk bir bölümünde perinöral invazyon veya lenfovasküler invazyon mevcuttur.

İnvaziv lobüler karsinom (İLK):

İkinci en sık görülen meme karsinomu olup tüm invaziv meme tümörlerinin yaklaşık %5-15 kadarını oluşturmaktadır. Görülme yaşı ortalama 57-65 yaş arasındadır (94).

Histolojik olarak 5 alt gruba ayrılmıştır. Bu gruplar klasik, solid, pleomorfik, tübülobüler ve mikst tiptir. En çok görülen alt grubu klasik tiptir. Klasik lobüler karsinom kohezyondan yoksun ve fibröz bir bağ dokusu boyunca tek tek duran veya stromayı istila eden tek sıralı lineer kordlar halinde düzenlenmiş küçük malign hücrelerin proliferasyonu şeklinde görünürler(95, 96). Neoplastik hücreler, yuvarlak veya çentikli oval nükleuslu ve ince bir sitoplazma kenarına sahiptir. Ara sıra merkezi bir mukoid inklüzyon barındıran intrasitoplazmik lümen içerir. Mitoz ve lenfovasküler invazyon düşük oranda görülür. Lobüler karsinom sıklıkla lobüler karsinoma in situ (LKİS) ile ilişkilidir(97). Düşük mitoz sayısı, tübül yapısı içermemeleri, uniform küçük nükleusları nedeniyle genellikle düşük derece ve orta histolojik derece gösterirler. Klasik varyant tümörlerin çoğu derece 2 iken, derece 3 tümörler genellikle klasik olmayan alt tiplerdendir (98).

Solid patern lobüler karsinomlar klasik non-koheziv ve lobüler morfolojideki küçük hücreler ile tanımlanır, ancak bu hücreler tabakalar halinde büyür ve mitoz sıklığı klasik tipe göre yüksektir (99). Alveolar paternli hücreler tipik olarak en az 20 hücreden oluşan yuvarlak kümeler halinde düzenlenirler (100). Pleomorfik lobüler karsinom yüksek derecede pleomorfizm gösteren hücrelerden oluşur ancak lobüler karsinomun ayırt edici özelliklerini genelde korur. Pleomorfik karsinom ayrıca histiositoid ya da apokrin farklılaşma gösterebilir ve taşlı yüzük hücreler içerebilir(43). Tübülobüler patern, tübüler bir büyüme paternine sahip ve lineer şekilde dizilmiş uniform hücrelerin karışımından oluşur (101).

İnvaziv lobüler karsinomlarda ER'nin %80-95 oranında pozitif olduğu literatürde geçmekte olup, klasik tipin hemen her zaman ER pozitif olduğu

bilinmektedir. PR ile %60-70 oranında pozitiflik saptanmıştır. Her-2 amplifikasyonu immünohistokimyasal olarak nadir görülür. Karşılaştırma yapmak gerekirse İnvaziv meme karsinomu, NOS'larda ER 70-80 pozitiflik gösterirken, PR pozitifliği her ikisinde de benzerdir (101, 102). Myoepitelyal belirteçler (p63) ve bazal belirteçler genelde negatiftir. Vakaların %85-100 arasında E-kadherin kaybı mevcuttur. Bu yüzden E-kadherin ile boyanma invaziv lobüler karsinom tanısını ekarte ettirmez. P53 genelde negatif olup Ki-67 indeksi genelde düşüktür. Ancak pleomorfik varyant gibi histolojik derecesi yüksek olanlarda Ki-67 indeksi yüksek olabilir (103) .

Tübüler Karsinom:

Tübüler karsinom, düşük dereceli, tek bir neoplastik hücre tabakası içeren açık lümenli iyi şekillendirilmiş tübüllerden oluşan bir karsinomdur. İnvaziv meme karsinomlarının yaklaşık %1,6'sını oluştururlar. Daha çok yaşlı hastalarda görülür ve çok büyük boyutlara ulaşmazlar. T1 evresindeki küçük boyuttaki meme kanserlerinde daha fazla sıklıkta rastlanılmaktadır(104, 105).

Tübüller genel olarak oval-yuvarlaktır bazen farklı geometrik şekillerde de bulunabilirler. Tümörü oluşturan hücreler küboidal ile kolumnar özellikte, küçük veya orta büyüklükte nispeten uniform nükleusa sahiptir. Tübüllerin luminal yüzünde apikal çıkıntılar olabilir ve lümen içinde sekresyonlar veya kalsifikasyonlar izlenebilir. Tübüler karsinomun önemli özelliklerinden biride içerisinde tübül yapıları bulunan hücreden zengin desmoplastik stromadır. Bu tümörlerin radial skar ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir (106). Tanı için tübül yapılarının tümörün %90 kadarını oluşturması gerekmektedir. Eğer tübül oranı %50-90 arasında ise mikst tümör olarak kabul edilip eşlik eden komponent belirtilmelidir. Tübüler karsinom hemen her zaman ER ve PR pozitif olup Her-2, EGFR, P-kadherin, P53, HMWK negatiflerdir (104).

Tübüler karsinom grade 1 karsinomlardır. Nottingham derecelendirmesine göre aksi bir durum olması, yüksek mitotik aktivite bulunması, sitolojik atipi ve çok katmanlık varsa tübüler karsinom tanısı dışlanır (107).

Medüller özellikler gösteren karsinom:

Tüm meme karsinomlarının %1 kadarını oluşturmaktadır. Ortalama görülme yaşı 45-52 arasındadır ve vakaların %26'sı 35 yaş altında görülür. Histolojik olarak düzgün sınırlı, itici tarzda olan, sinsityal büyüme paternine sahip, yüksek nükleer dereceli, belirgin lenfoid infiltrasyon içeren ve belirgin glandüler ya da tübüler yapı

göstermeyen tümörlerdir (108, 109). Medüller karsinom tanısı için aşağıdaki tanı kriterlerinin sağlanması gerekir:

- Kitlenin %75'inden fazlasında sinsityal patern, histolojik iyi veya itici tarzda sınır,
- Veziküler, birkaç nükleol barındıran yüksek dereceli pleomorfik nükleuslu hücreler,
- Tübüler diferansiyasyon olmaması,
- Baskın ve diffüz lenfoplazmasiter stromal infiltrasyon.

Bu tanı kriterlerini tam olarak karşılamayan tümörlerde 'atipik medüller karsinom' veya 'medüller özellikler gösteren invaziv karsinom, NOS' terimleri kullanılmaktadır. Bu tümörler genellikle triple (ER,PR, HER-2) negatiftir. Değişen oranlarda CK5/6, CK14, P53, P-kadherin, EGFR ve caveolin-1 pozitifliği izlenebilir. Yapılan bazı aratırmalarda bu grup tümörlerin moleküler olarak bazal benzeri fenotip gösterdiği gösterilmiştir (49, 110).

Metaplastik karsinom:

Tümör hücrelerinin skuamöz ve/veya mezenkimal benzeri hücrelere diferansiyasyonu ile karakterize olan tümör grubudur. Mezenkimal hücreler iğsi, kondroid, osseöz ve rhabdomyoid olabilir. Metaplastik karsinom bir metaplastik bileşenli (monofazik) veya birden fazla metaplastik bileşenli (bifazik) olabilir. İki bileşen bulunduğu her ikisi de mezenkimal bileşene sahip skuamöz ve/veya iğsi hücreler gibi metaplastik histolojiye ait olabileceği gibi bir metaplastik bileşen ve bir adenokarsinom bileşeni (en sık olarak İMK-NOS) birlikte olabilir. Tümörde birden fazla bileşen olması durumunda her bileşenin ve tümör içindeki yüzdesinin raporda belirtilmesi gerekir (111).

Fibromatöz benzeri metaplastik tümörler, tümörün %95'inden fazlasının soluk eozinofilik sitoplazmalı yumuşak iğsi hücrelerden ve değişen derecelerde kollajenizasyonundan meydana gelir. Düşük dereceli adenoskuamöz karsinom, glandüler ve tübüler yapıların solid yapıda skuamöz hücre adaları ile bir arada görüldüğü tümördür. Spindle hücreli karsinom ise atipik spindle hücrelerin oluşturduğu balıksırtı, iç içe geçmiş, storiform paternli farklı boylarda fasiküler ile karakterizedir. Metaplastik karsinomlarda genel olarak pleomorfizm belirgindir (112, 113).

Metaplastik karsinomlar immünhistokimyasal olarak %90'dan fazla oranda ER, PR ve HER-2 negatif tümörlerdir. Çoğunlukla CK5/6, CK14 ve EGFR pozitif izlenir. Epitelyal komponente HMWK pozitif iken, LMWK negatif olur. Gen ekspresyonlarına bakıldığında bazal benzeri fenotipte bulunmuşlardır. Diğer triple negatif karsinoma göre lenf nodu metastazı yapmadan uzak metastaz yapma oranları yüksektir (114-116).

Apokrin Diferansiasyonlu Adenokarsinom:

Bol eozinofilik granüler sitoplazmaya sahip, apokrin ter bezlerine benzeyen belirgin nükleollü iri nükleuslar ile karakterize invaziv bir karsinomdur. Hücreler, belirgin hücre sınırları ile bol miktarda PAS pozitif granüler eozinofilik (Tip A hücreler) veya vakuollü sitoplazmaya (Tip B hücreler) sahiptirler (114, 117, 118).

Genellikle solid büyüme paterni göstermesine rağmen herhangi bir yapısal patern olmayabilir. Orta derecede mitotik aktivite genelde görülür. Apokrin diferansiasyonu olan çoğu tümör sonuç olarak derece 2 ya da derece 3'tür. Apokrin morfolojili DKIS genellikle invaziv karsinoma eşlik eder. Kalsifikasyonlarla ve komedo nekroz ile birlikte sıklıkla yüksek nükleer dereceye sahiptirler (119).

Apokrin diferansiasyon gösteren hücreler immünhistokimyasal olarak bcl-2 negatif olup GCDFP-15 ile pozitiflerdir. İleri evrelerde GCDFP-15 immünreaktivitesinde kayıp izlenebilir. ER ve PR genelde negatiftir. Ancak ER-alfa36 klonu bu tümörlerde sıklıkla kuvvetli bir şekilde boyanabilir. Bu tümörler AR ve HER-2 amplifikasyonu göstermektedirler (120).

Müsinöz adenokarsinom:

Memenin müsinöz adenokarsinomu, kapiller kan damarları içeren ince fibröz septalarla ayrılmış dücre dışı müsin göllerinde asılı kalan epitelyal tümör hücre kümeleri ile karakterize edilen invaziv bir meme karsinomudur. Pür müsinöz adenokarsinomlar tüm invaziv meme karsinomlarının %2 kadarını oluşturmaktadır. Genelde 55 yaş üstünde bireylerde görülür. Makroskopik olarak itici tarzda paterni gösteren yumuşak kıvamda tümörlerdir. Tümör boyutu değişken olup çok küçük (1 cm) veya çok büyük (20 cm'den büyük) boyutlarda olabilir (43, 122, 123).

Tip A müsinöz adenokarsinomlar klasik non-endokrin tip olup geniş ekstraselüler müsin içerirler. Tip B tipi daha hiperselüler ve büyük hücre kümeleri

içerir. Saf müsinöz adenokarsinom tanısı için müsinöz komponentin %90'dan fazla olması gerekmektedir (124).

İmmünohistokimyasal olarak bu tümörler ER ve PR pozitif HER-2 negatif olup, AR ile düşük seviyede ekspresyon gösterirler. Saf müsinöz adenokarsinomların genel olarak iyi prognoza sahip olup düşük lokal ya da uzak rekürrens riskine sahip tümörlerdir (123, 125).

İnvaziv Mikropapiller Karsinom:

Küçük, morula benzeri malign hücre kümeleri ve etrafında berrak stromal boşluklarla karakterize bir tümördür. ‘‘Ters polarite’’ diye adlandırılan karakteristik ters polarizasyona sahip bir büyüme paternine sahiptir. Apikal kutupta bulunan hücreler luminal yüzey yerine stromaya bakmaktadır. Bu özellik immünohistokimyasal olarak MUC-1 ve EMA ile stromaya bakan yüzlerde boyanma paterni göstermektedir. Mikropapiller karsinomların büyük kısmı ER (%61-100) ve PR (%46-83) ile pozitiflik gösterir (49, 126).

Kribriform Karsinom:

İnvaziv meme karsinomlarının yaklaşık %0.4'ünü oluşturan kribriform karsinom iyi tanımlanmış kribriform boşluklara sahip tümör hücre adalarından oluşan düşük dereceli bir invaziv bir meme karsinomudur (43). Görünüşte kribriforma paterne sahip DKIS ile benzer, iyi tanımlanmış, yuvarlak boşluklar içeren invaziv epitel adalarından oluşur. Adaların oval veya anguler bir dış hatları vardır. Bu alanlar desmoplastik bir stroma içerisinde yer alır. Epitel hücreleri küboidal veya kolumnar olabilir ve ikincil glandüler yapılar oluşturabilirler. Nükleer atipi yoktur ve seyrek mitotik aktivite görülür. Düşük veya orta dereceli DKIS genellikle kribriform mimariye sahiptir ve vakaların %80'inde görülebilir (127)

1.4.7 Meme Tümörlerinde Histolojik Derecelendirme:

İnvaziv meme karsinomları morfolojik olarak gelişim paternlerine ve diferansiasyon derecelerine göre alt sınıflara ayrılır. Meme tümörlerinde histolojik derecelendirme için Modifiye Bloom-Richardson metodu (Nottingham Skor) kullanılır (Tablo 2). Bu sistemde tübül formasyonu, nükleer derece, mitoz sayısı skorlanır. Histolojik derecelendirme tümörün davranışı ve prognozu hakkında fikir sahibi olunması açısından önemlidir (128-129).

Tübül formasyonu, tümörün diferansiasyonunun ve normal meme dokusuna benzerliğinin derecesini gösteren skordur. Tümörün %75'lik kısmından fazlası tübüler yapıda ise skor 1, bu oran %10 ile %75 arasında ise skor 2 ve tübül yapısı %10'dan az bir kısmı oluşturuyorsa skor 3 kabul edilir.

Nükleer plemorfizm değerlendirilen, nükleuslar küçük, düzenli ve boyutta büyüme minimal düzeyde ise skor 1, nükleuslar normalden daha geniş, daha açık veziküler yapıda ve orta derecede bir şekil ve boyut değişikliği olmuşsa skor 2, belirgin şekil ve boyut değişikliği ile bizar hücreler ve nükleol belirginlikleri varsa skor 3 kabul edilir. Şekil ve boyut değişikliği için referans olarak normal meme epitel hücreleri kullanılabilir ancak normal meme epitel hücreleri yoksa stromadaki lenfoid hücreler baz alınabilir.

Mitoz prognozla ilgili en önemli bilgiyi veren kriterdir. 10 büyük büyütme alanında (BBA, 400x büyütme) sayım yapılır. Mitoz sayısı 0-3 arasında ise skor 1, 4-7 arasında ise skor 2, 8 ve üzerinde ise skor 3 kabul edilir.

Tüm bu özelliklere göre, derece verilirken tübül formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitoz skorları toplanır; skor 3- 5 ise Derece 1, skor 6 ve 7 ise Derece 2, skor 8 ve 9 ise Derece 3 olarak kabul edilir.

Tablo 2: Modifiye Bloom-Richardson metodu (Nottingham Skor)

Histolojik özellik	Skor 1	Skor 2	Skor 3
Glandüler/Tübüler Diferansiasyon	%75'inden fazla	%10-75 arasında	%10'dan az
Nükleer Pleomorfizm	Küçük nükleus, hafif pleomorfizm	Açık veziküler nükleus, izlenebilen nükleolus, orta dereceli pleomorfizm	Belirgin nükleolus ve pleomorfizm
Mitoz (x40'luk büyütmede 10 BBA'da)	0-3 arasında	4-7 arasında	8 ve daha fazla ise

1.4.8 Meme Kanserlerinin Moleküler Sınıflandırması

Meme kanserlerinin klinik yönetiminde tedaviyi planlamak ve prognoz açısından değerlendirmede bulunmak açısından rutin olarak özel moleküler belirteçler kullanılmaktadır. Bunlar ER, PR ve HER-2'dir. Perour, Surlie ve ark. meme kanserini intrinsik subtiplere ayırmışlardır. Bunlar; Luminal A, luminal B, normal meme benzeri, İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 2 (HER2) zengin ve bazal

benzeri/triple negatif olmak üzere 5 subtipdir (Tablo 3) (130, 131). Bu sınıflama normal meme dokusunda bulunan luminal ya da bazal hücrelere dayanarak yapılmıştır. Bazal hücreler CK5/6 VE CK17 ile immünreaktivite gösterirken, luminal hücreler ER,PR ve CK8/18 ile immünreaktivite gösterirler (131). Bu alt tiplerin tedavi yanıtları, yaş dağılımları ve rijs faktörlerinde farklılıklar bulunmaktadır. Son yıllarda yeni subtiplerde tanımlanmıştır. Luminal belirteçleri eksprese etmeyen ve kök hücre benzeri genetik yapılanmaya sahip klaudin düşük subtip, ER negatif AR pozitif apokrin morfolojiye sahip olan apokrin subtip ve luminal benzeri subtipler yeni tanımlanan gruplardır (49, 132).

Tablo 3: Meme kansinonlarının immunohistokimya temelli moleküler sınıflaması ve bazı özellikleri

	Luminal A	Luminal B (HER2 (-))	Luminal B (HER2 (+))	HER2 zengin	Triple negatif
Ekspresyon	ER (+) PR (+) HER2(-)	ER (+) (daha az) PR (+) (daha az) HER2(-)	ER (+) (daha az) PR (+) (daha az) HER2(+)	ER (-) PR (-) HER2(+)	ER (-) PR (-) HER2(-) Bazal belirteçler (+) EGFR (+) Yüksek
Ki-67	Düşük (<%14)	Orta-Yüksek (>%14)	Orta-Yüksek (>%14)	Yüksek	Yüksek
Prognoz	İyi	Daha az iyi	Daha az iyi (HER2 tedavisiyle daha iyileştirilebilir) Orta	Daha az iyi (HER2 tedavisiyle daha iyileştirilebilir) Kötü	Kötü
Hormonoterapiye yanıt	İyi	İyi	Orta	İyi	Bir kısmı iyi yanıt verir
Kemoterapiye Yanıt	Kötü	Kötü	Orta	İyi	Metaplastik Medüller Adenoid Kistik Sekretuar
Alakalı histolojik görünüm	Lobüler Karsinom Klasik varyant Tübüler Karsinom	Mikropapiller Pleomorfik Lobüler	Mikropapiller	Mikropapiller	

2013 yılında yapılan St. Gallen Meme kanseri Konferasında bu sınıflamada Ki-67 sınırının ≥ 20 olarak değerlendirilmesinin daha iyi olacağı öne sürülmüş ancak luminal B hastalarının kemoterapiden fayda görmesi açısından tedavide yetersizlik riski doğurabileceğinden bu oran merkezlerin kendi deneyimine bırakılmıştır (135).

1.4.9 TNM Sınıflaması

Meme kanserlerinde en önemli prognostik göstergelerden biri hastalığın evresidir. Meme kanserlerinde yaygın olarak kullanılan sistem Amerikan Birleşik Kanser Komitesi'nin (AJCC) TNM sınıflamasıdır. Evreleme hem hastanın tedavisinin belirlenmesinde faydalıdır hem de prognoz hakkında bilgi verir. Ayrıca uygulanan farklı tedavilerin karşılaştırılmasını sağlar. Steintal 1905'te meme kanserini bölgesel anatomik yayılımına göre üç gruba ayırmış ve bugünkü kriterlere uygun ilk klinik evrelemeyi ortaya koymuştur. Fakat invaziv ve non-invaziv tümörleri ayıramaması ve tümör boyutunu göz ardı ederek tamamen klinik değerlendirmeye dayalı olması modifiye edilmesi gereksinimlerini doğurmuştur. Klinik evreleme, sadece anatomik yayılımı esas alarak fizik muayene ve görüntüleme yöntemlerine dayanır. Reseptör durumu ve grade gibi önemli prognoz ölçütleri bu sınıflamada yer almaz. Bu durum hastanın en doğru prognozunu her zaman tahmin edilememesine neden olmaktadır. Patolojik evreleme cerrahi sonrası çıkartılan materyalin incelenmesi sonucu yapılmakta ve daha doğru sonuçlar vermektedir. Bu nedenle 1960'dan itibaren TNM sistemi devreye girmiştir. Sonralarında çeşitli yıllarda (1977 ve 1992) modifiye edilen TNM sistemi oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. En son güncellenmiş hali AJCC tarafından ocak 2018'de yayınlanmıştır. TNM sisteminde T harfi primer tümör boyutunu, N bölgesel lenf düğümlerini, M ise uzak metastazı temsil etmektedir(134-136).

AJCC bunlara ek olarak ER,PR ve HER2 durumlarını da ele alan prognostik sistemlerin de kullanılmasını tavsiye etmektedir (137).

T tümör boyutunu esas alır. Değerlendirme tümörün en büyük boyutuna göre yapılır. Ölçümlere DKIS alanları dahil edilmez. Tümörün multipl olması halinde büyük odağın en büyük çapı esas alınır ve beraberinde 'm' ifadesi kullanılır (Tablo 4). Neoadjuvan tedavilerde ise tedavi öncesi klinik ve radyolojik olarak belirlenen klinik T (cT) ve tedavi sonrası klinik T ise ycT'dir (137).

Tablo 4: Meme kanserleri T evresi

Tx: Primer tümör değerlendirilemedi
T0: Primer tümör yok
Tis (DKIS): DKIS (LKIS, AJCC tarafından benign sayılmış ve son sınıflamada bu kategoriden çıkarılmıştır)
Tis (Paget): Paget Hastalığı. Paget hastalığı invaziv karsinom ve DKİS ile ilişkili değildir. Parankimde ayrı tümörü olan hastalar bu tümöre göre sınıflandırılır ancak Paget hastalığı olduğu da belirtilir.
T1: Tümör en büyük boyutu ≤ 20 mm
T1mi: Tümör en büyük boyutu ≤ 1 mm
T1a: Tümör en büyük boyutu >1 mm fakat ≤ 5 mm
T1b: Tümör en büyük boyutu >5 mm fakat ≤ 10 mm
T1c: Tümör en büyük boyutu >10 mm fakat ≤ 20 mm
T2: Tümör en büyük boyutu >20 mm fakat ≤ 50 mm
T3: Tümör en büyük boyutu >50 mm
T4: Tümör herhangi bir boyutta olabilir. Ancak göğüs duvarına ve/veya deriye (ülserasyon veya makroskopik nodüller şeklinde) direkt yayılım yapmıştır. Sadece dermis invazyonu bu kategoride sayılmaz.
T4a: Göğüs duvarına yayılım. Diğer göğüs duvarı yapıları tutulmamışsa sadece pektoralis kasına invazyon veya yapışma T4 olarak sayılmaz
T4b: Ülserasyon ve/veya satellit nodüller ve/veya derinin ödemi (portakal kabuğu görünümü dahil/ inflamatuvar karsinomu karşılamayan)
T4c: T4a ve T4b birlikteliği
T4d: İnflamatuvar karsinom

N kategorisi lenf nodu metastaz varlığını esas alır. Bir lenf nodunda birden fazla tümör grubunun bulunması durumunda en büyük tümör grubunun boyutu esas alınır. Patolojik sınıflandırmanın temelinde aksiller lenf nodu diseksiyonu vardır. Derecelendirme yapılırken eğer aksiller lenf nodu diseksiyonu olmadan sadece sentinel lenf nodu biyopsisine dayanılarak yapıldı ise (sn) kısaltması kullanılır ve pN 'nin yanına parantez içinde (sn) yazılır (Tablo 5)(134-136).

Tablo 5: Meme kanserleri patolojik lenf nodu evrelemesi

pNx: Lenf nodları değerlendirilemedi (örneğin daha önceden alındıysa)
pN0: Lenf nodu metastazı yok veya sadece izole tümör toplulukları (ITC) var
pN0(i+): Sadece ITC var (2 mm'den küçük tümör toplulukları)
pN0(mol+): ITC yok ama revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonunda (RT-PCR) pozitif moleküler bulgular var
pN1: 1-3 aksiller lenf nodunda mikro (0,2 mm'den daha büyük ama 2 mm'den küçük metastazlar) veya makro metastazlar ve/veya sentinel lenf nodu biyopsisinde mikro veya makro metastazı olup klinik olarak aksiller ve/veya internal mamaryan lenf nodlarında metastaz olmaması
pN1mi: Mikrometastazlar (200 hücre, 0,2 mm'den daha büyük ama 2 mm'den küçük metastazlar).
pN1a: Metastazların bir tanesi 2mm'den büyük olmak şartıyla 1-3 aksiller lenf noduna metastaz
pN1b: İpsilateral internal mamaryan sentinel lenf nodlarına metastaz (ITC sayılmaz)
pN1c: pN1a ve pN1b birlikteliği
pN2: 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz veya patolojik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın görüntülemeyle ipsilateral lenf nodu metastazları
pN2a: 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (en az bir metastaz odağı 2 mm'den daha büyük olmalı)
pN2b: Patolojik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmaksızın görüntülemeyle aynı taraf lenf nodu metastazları (mikroskopik teyit olsun veya olmasın)
pN3: 10 ya da daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz veya Seviye 3 lenf nodlarına metastaz veya seviye 1 ve 2 lenf nodlarında 1 ya da 1'den daha fazla metastazla birlikte görüntüleme ile aynı taraf internal mamaryan lenf nodlarında metastaz bulunması veya görüntüleme ile internal mamaryan lenf nodu metastazı olmaksızın 3'ten daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz ile sentinel lenf nodu biyopsisinde mikro veya makrometastaz varlığı veya aynı taraf supraklaviküler lenf nodu metastazı
pN3a: 10 ya da daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (en az bir metastaz odağı 2 mm'den daha büyük olmalı)
pN3b: pN1a veya pN2a'nın cN2b (görüntüleme ile pozitif internal mamaryan lenf nodları) ile bulunması veya pN1b ile pN2a bulunması
pN3c: Aynı taraf supraklaviküler lenf nodu metastazı

M, metastaz olma durumunu ifade eder (Tablo 6). Uzak metastaz genelde klinik ve radyolojik olarak belirlenir. Meme kanserlerinin en çok metastaz yaptığı bölgeler kemik, akciğerler ve karaciğerdir (134-136).

Tablo 6: Meme kanserleri M evresi

M0: Klinik ve radyolojik olarak metastaz yok
cM0(i+): Klinik ve radyolojik metastaz olmamasına rağmen dolaşan kanda (dolaşan tümör hücreleri), kemik iliğinde veya bölgesel lenf nodları dışındaki herhangi bir yerde mikroskopik olarak 0,2 mm'den daha büyük olmayan veya moleküler tekniklerle tespit edilen tümör depozitleri bulunması.
M1: Klinik ve radyolojik olarak tespit edilen ve/veya mikroskopik olarak 0,2 mm'den daha büyük olan uzak metastazların bulunması

AJCC 2018 Kanser Evreleme Kılavuzunda T, N ve M evrelerini esas alan anatomik evre gruplaması ve bunlara ek olarak sınıflamada histolojik derece, ER, PR ve HER2 durumlarını da ele alan prognostik evre gruplaması olmak üzere iki gruplama

sistemi yapılmasını önermektedir. Çalışmamızda anatomik evre kullanıldığından aşağıda tablo halinde verilmiştir (Tablo 7) (134-137).

Tablo 7: AJCC Anatomik Evre Grupları

T	N	M	ANATOMİK EVRE GRUBU
Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	IA
T0	N1mi	M0	IB
T1	N1mi	M0	IB
T0	N1mi	M0	IIA
T1	N1mi	M0	IIA
T2	N0	M0	IIA
T2	N1mi	M0	IIB
T3	N0	M0	IIB
T0	N2	M0	IIIA
T1	N2	M0	IIIA
T2	N2	M0	IIIA
T3	N1	M0	IIIA
T3	N2	M0	IIIA
T4	N0	M0	IIIB
T4	N1	M0	IIIB
T4	N2	M0	IIIB
HERHANGİ BİR	N3	M0	IIIC
HERHANGİ BİR	HERHANGİ BİR	M1	IV

1.4.10 Meme Kanserinde Prognostik Faktörler

Meme kanserinde erken tanı kadar doğru tedavinin belirlenmesi de oldukça önemlidir. Adjuvan tedavi seçenekleri ile meme kanserine bağlı ölümlerde azalma sağlanmakla birlikte, hastaların bir kısmında tedavinin toksisitesi nedeniyle sağkalım faydası azalabilmektedir. Adjuvan tedavi uygulanacak hasta ve verilecek tedavinin seçiminde prognostik faktörler göz önünde bulundurulur. Böylelikle düşük riskli hastalara gereksiz sistemik tedaviden kaçınılırken, yüksek riskte yer alan hastaların da eksik tedavi almaları önlenmiş olur. Prognostik faktörler, tedavi öncesi tanı anında klinik gidiş ile ilgili bilgi verir. En önemli prognostik faktörler aksiller lenf nodu tutulumu, tümör boyutu, histolojik grade, tümör tipi, yaş ve lenfovasküler invazyon (LVI) varlığıdır. Bunların belirlenmesi için dikkatli patolojik incelemenin yapılması gerekir (138). Prediktif faktörler ise tedavi yanıtı ile ilişkili durumlardır. ER,PR ve HER-2 reseptör durumları hormonal tedavi ile ilişkili prediktif belirteçlerdir. Hormon reseptör durumlarının prognostik önemi tartışma konusu olsa da ER ve PR negatif vakaların mortalitesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (101).

Sonuç olarak tedavi kararını verirken reseptör durumu göz önünde bulundurulur. Prediktif ve prognostik faktörler Tablo 7’de gösterilmiştir. Meme kanseri hastalarda son zamanlarda moleküler alt tiplendirmede ve tedaviye yön verebilecek genetik, moleküler ve yeni immünohistokimyasal çalışmalar oldukça ilgi görmektedir.

Tablo 7: Meme kanserinde prediktif ve prognostik belirteçler

Özellikler	Prediktif	Prognostik
Tümör çapı	+	+
Yaş	-	+
TNM (AJCC) evresi	-	+
Histolojik grade	-	+
Aksiller lenf nodu	+	+
Lenfovasküler invazyon	+	+
ER/PR	+	+
CerbB2	+	+

Aksiller Lenf Nodu Tutulumu: Aksiller lenf nodu tutulumunun olup olmaması ve tutulum olması durumunda tutulan lenf nodu sayısı prognostik faktörlerin en önemlilerinden biridir. Yapılan araştırmalar nüks ve mortalite oranlarının metastatik lenf nodu sayısı ile direk ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (139). Mortalite oranlarına bakıldığında lenf nodu pozitif olanların negatif olanlara göre 4-8 kat arası daha fazla olduğu görülmektedir (140). 10 yıllık hastalıksız sağ kalım oranları aksiller lenf nodu olmayanlarda %70-80 civarıyken metastaz bulunan vakalarda bu oran %30’a kadar düşer (141). Aksiller lenf nodu değerlendirilmesi için bu bölgeden çıkarılan en az 10 lenf nodunun değerlendirilmiş olması gerekir. Level I ve level II lenf nodlarının çıkarılması aksiller değerlendirme için yeterlidir. Level I düzeyinde tutulum olmadan level II ve level III’te metastaz olma durumuna atlayan metastaz denir ve çok nadir görülen bir durumdur. Aksillanın tam diseksiyonun yapılması hasta sağ kalımını çok fazla etkilememektedir. Ancak tam diseksiyon yapılan hastalarda radyoterapi ile birlikte koltuk altı ödemi gelişebilmektedir. Evreleme ve prognostik değerlendirme için level I ve level II seviyelerinin diseksiyon için yeterli olduğu bilinmekte olup morbiditeyi azaltmak için tam diseksiyonun yapılmaması önerilmektedir (142).

Tümör Çapı: Aksilla lenf nodu tutulumu olmayan hastalarda histolojik olarak prognostik en önemli parametre tümör çapıdır. Aynı zamanda nüks riski açısından ve

lenf nodu tutulumu olmayan vakalarda adjuvan tedavi seçiminden en güvenilir faktördür (143). Tümör çapı aynı zamanda aksiller lenf nodu tutulumu içinde bir belirteçtir, tümör boyutu arttıkça lenf nodu metastaz riski de artar. Aksiller lenf nodu tutulumu olanlarda ise küçük boyutlu tümörlerin prognozu daha iyidir. Tümör çapı belirlenirken klinik, radyolojik ve patolojik ölçümler kullanılır ancak bazı zamanlarda bu üç ölçümde çelişkiler bulunabilir. Bu gibi durumlarda patolojik tümör çapının daha güvenilir olduğu ve esas alınması gerektiği vurgulanmaktadır (144).

Histolojik Tümör Tipi ve Prognoz: Meme kanserlerinin histolojik tiplerinin mortalite oranları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Genel olarak bakıldığında invaziv meme karsinomu-NOS ve lobüler karsinomun prognozları ve klinik seyirleri benzer olduğundan tedavi kararını etkilemezler (145, 146). Tübüler karsinom, müsinöz karsinom ve invaziv kribriiform karsinomun prognozu iyi olan meme kanserleridir. Sekretuar karsinom tüm yaş gruplarında görülür ancak çocukluk yaş grubunda daha iyi prognoz ile seyreder (140, 147). Metaplastik karsinom, taşlı yüzük hücreleri bulunduran karsinom, lipitten zengin karsinom, medüller karsinom ve skuamöz hücreli karsinomlar meme kanserlerinin kötü prognozlu ve agresif seyirli tipleridir (146, 148-152).

Meme Kanserinde Hormon Reseptörleri ve Prognoz: Meme kanserlerinde östrojen ve progesteron hormonları oldukça önemli roller oynamaktadır. Her iki hormonun da mutajenik ve promotor etkileri bulunmaktadır. Östrojen hormonunun mutajenik etkisi reseptörler tarafından kontrol edilmektedir. Yapılan kültür çalışmalarında fonksiyonel ER taşıyan meme kanser hücresinde mutajenik etki kanıtlanmıştır (152). ER ve PR pozitif tümörler hormonal tedaviye daha iyi yanıt verirler ve prognozları daha iyidir. ER primer meme kanserlerinin ortalama %55-65'inde, meme kanseri metastazlarının ise %45-55'inde pozitifdir (153). Primer ve metastatik meme kanserlerinde PR pozitiflik oranı benzer ve yaklaşık %45-60 arasındadır. Hormonal tedaviye yanıt oranlarına bakıldığında ER pozitif vakalarda %55-60, ER negatif vakalarda ise sadece %8 olduğu görülmektedir. Hem ER hem de PR pozitif tümörlerde hormonal tedavi yanıtı %75-80'e varabilmektedir(154).

Tümör Profilerasyon Hızı ve Prognostik Önemi: Tümör proliferasyon hızı, metastaz veya nüks riski yüksek olan ve adjuvan tedavi olması gereken hastaların belirlenmesinde prognozun belirlenmesinde kullanılan önemli bir belirteçtir. Tümör

proliferasyon hızının saptanması ve prognostik değerlerinin anlaşılması için kullanılan bazı yöntemler vardır. Bunlar mitotik indeks, İHK'sal proliferasyon belirteçleri (Ki-67, Cyclin A), S-faz reaksiyonu, Thymidine labeling indeks gibi indekslerdir. Günlük pratikte en fazla kullanılan Ki-67 proliferasyon indeksi olmakla birlikte bu faktörlerle ilgili kapsamlı çalışmalar yapılmaktadır (155). Ki-67 nükleer bir protein olup ve proliferasyon hızı ile grade ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek olan hastalarda lenf nodu metastazı olsun veya olmasın yüksek nüks oranı tespit edilmiştir. Yüksek Ki-67 proliferasyon indeksine sahip vakalar adjuvan kemoterapiden daha fazla yarar görmektedirler (140,156).

CerbB2 (HER-2,Neu) Onkoproteini: Protoonkogenlerin anormal ekspresyonunun kanser hücrelerinde bulunduğu ve karsinogenezisde rol oynadığı bilinmektedir. Hücrel transformasyon, tümör büyümesi veya yayılımında yer alan onkogenlerin aşırı yapımının meme tümörlerinin önemli bir bölümünde rol aldığı gösterilmiştir. Bunlar içerisinde en yaygın olarak çalışılan CerbB2 olarak da bilinen neu onkogenidir(Neu onkogeni, Her-2, c-erb B2).

HER-2/neu transmembranöz HER ailesinin bir üyesidir. HER-2 (CerbB2) amplifikasyonu veya aşırı ekspresyonu invaziv meme kanserinde %18-20 oranında saptanmaktadır (140). HER-2 pozitifliği, trastuzumab tedavisinden yarar görebilecek hastaları belirleyen prediktif bir göstergedir ve trastuzumab tedavisi ile nüks riski %50 azaltılabilir(157). Prognostik önemiyle ilgili tartışmalar olsa da, tedavi edilmeyen hastalarda HER-2 overekspresyonu kötü prognozu işaret eder.

Yaş: Genç kadınlarda (40 yaş altı) görülen meme kanserlerinde uzak metastaz ve lokal nüks olasılığı daha yüksektir. Bunun nedenin ise gençlerde görülen meme kanserlerinde büyük tümör çapı olması, aksiller lenf nodu metastazının daha fazla izlenmesi, ER ve PR negatifliği ile HER-2 pozitifliğinin daha fazla olması düşünülmektedir. 35 yaşından genç hastalarda mortalite oranları 40-49 yaş arasındakilerin göre yaklaşık 2.2 katıdır(140, 158).

Lenfovasküler Invazyon: Lenfovasküler invazyon hem kötü prognoz hem de metastaz göstergesidir (159).

1.5 Kalsiyum ile Aktive Klorür Kanalı-4 (CLCA-4)

Kalsiyum ile active klorür kanalı düzenleyicileri (CLCA) amino grubunun uç kuyruğunda simetrik homosistein motifine sahip proteinlerdir. İnsan CLCA genlerinin kromozom 1p31-1p22 üzerinde konumlanır . CLCA proteinleri epitel hücrelerinde klorür etkinliğinde önemli rol oynarlar (4, 5). Epitel hücrelerinde lokalize CLCA proteinleri kalsiyum tarafından aktive edilerek klorür etkinliklerini gösterirler (160). Önceki çalışmalarda CLCA üyelerinin hücre farklılaşması, apoptoz, adezyon ve inflamasyonun ilerlemesinde rol oynadığı gösterilmiştir (161, 162). Buna ilave olarak yapılan bazı çalışmalarda CLCA1,CLCA2 ve CLCA4'ün tümörün yayılımında rol oynadığı ortaya konulmuştur (163). CLCA1 ile kolorektal kanserler arasında ilişkiyi araştıran bir çalışmada CLCA1'in kötü diferensiasyonun ve hücre proliferasyonun baskılanmasına katkıda bulunduğu bu yüzden de kolorektal kanserlerde iyi prognozla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (163, 164). CLCA2 tümör hücre infiltrasyonunu inhibe eder, bu proteinin kaybının kanser metastazını kolaylaştırdığı gösterilmiştir (165, 166).

İnsan genomu 3 farklı CLCA protein kodlar bunlardan CLCA2 ve CLCA4 meme epitelinde eksprese edilir. CLCA2'nin p53 mutasyonu ile indüklenen hücrelerin aşırı proliferasyonunu inhibe ettiği ve tümör progresyonu ile birlikte meme epitel hücrelerinde ekspresyonunun azaldığı bazı çalışmalar ile gösterilmiştir (6).

CLCA4, CLCA ailesinin bir üyesidir ve moleküler olarak CLCA1 ve CLCA2'nin yapısına benzer. Yapılan RT- PCR (real time PCR) analizlerinde CLCA4'ün beyin, testis, ince bağırsak, kolon ve akciğer dokusunda edildiği görülmüştür (162). CLCA4'ün memede epiteliden mezenkimal geçiş (EMT) yolağında düzenleyici rol aldığı düşünülmektedir. Epiteliden mezenkimal geçiş epitel hücrelerinin hücre-hücre bağlantılarını aşağı regüle ettiği, iğsi hücre morfolojisi kazandığı ve hücre hareketlilik sergilediği gelişimsel bir programdır. Meme kanserinde EMT çevre dokulara invazyonu kolaylaştırır, kanser metastazı ve nüks ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. CLCA4' ün PI3K/ATK sinyal yolağı ile epiteliden mezenkimal geçişi baskılayarak hücre göçünü ve metastazı inhibe ettiği düşünülmektedir (7, 167).

CLCA4 karsinogenezdeki rolü tam olarak bilinmeyen ve tedavide etkili olabileceği düşünülen yeni bir molekül olmasından dolayı merak uyandırmaktadır.

Mesane kanserleri ile CLCA4 ilişkisini araştıran bir çalışmada tümöre komşu alanlarda ve normal ürotelyal hücrelere kıyasla mesane kanserlerinde CLCA4'n ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Düşük CLCA4 ekspresyonun mesane kanselerinde tümör boyutu, ileri evre ve kötü prognoz ile koreli olduğu izlenmiştir. CLCA4 ekspresyonunun artmasının durumunda mesane kanserlerinde hücre proliferasyonunu, büyümesini, yayılımını inhibe ettiği görülmüştür (168). Yapılan başka bir çalışmada CLCA4'n kolorektal kanserlerde de lenf nodu metastazı ve sağ kalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca CLCA4'n ekspresyon seviyesinin kolorektal kanser hastalarının sağ kalımı ile negatif ilişkisi ortaya konulmuştur (169).



2. MATERYAL VE METOD

Olguların Seçilmesi: Fırat Üniversitesi hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na Ocak 2010-Haziran 2016 tarihleri arasında gönderilmiş mastektomi materyallerinde invaziv meme karsinomu-NOS (invaziv ductal karsinom) tanısı alan 90, invaziv lobüler karsinom tanısı alan 30 ve mikst meme karsinomu tanısı alan 30 olmak üzere toplamda 150 olgu hastanemiz tarafından kullanılan dijital arşivleme sisteminde taranarak belirlendi. Olgulara ait H&E boyalı lamalar ve tümörlere ait yeterli doku içeren bloklar arşivden çıkarıldı. Olgulara ait lamalar Olympus BX400 ışık mikroskobu ile tekrar değerlendirildi ve tümörü en iyi yansıtan ve immünohistokimyasal çalışma için en uygun bloklar seçildi. Tümör dışı alanlarında yeterli meme dokusu bulunan 10 olguya ait blok kontrol grubu için belirlendi. Hastalara ait klinik verilere (yaş, aksiller lenf nodu metastazı, tümör çapı, bloom richardson skor ve sağ kalım durumları)hastanemizin dijital arşivleme sisteminden ulaşıldı.

İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi: Olguların bloklarından elde edilen 3 mikron kalınlıkta kesitlere ekspresyonları CLCA4 immünohistokimyasal olarak uygulandı. Boyama işlemi Roche Ventana otomatik immünohistokimya boyama cihazı ile yapıldı. İmmünohistokimyasal yöntem için bloklardan hazırlanan kesitler (+) şarjlı lamlara alınarak bir gece 37 °C'lik etüvde bekletildi. Seçilen kesitlere immünohistokimyasal CLCA4 boyaları uygulandı.

Kullanılan Antiserum:

CLCA4: Anti- Calcium-Aktivated Chloride Channel A4, Polyclonal Rabbit,kod no: ab197347, 1/10-1/50 dilüsyon, ABCAM, Cambridge, UK

İmmünohistokimyasal değerlendirme: Değerlendirme ışık mikroskobu (Olympus BX40) altında gerçekleştirildi ve sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Boyanmanın yoğunluk derecesi ve yüzdesi ile birlikte vakanın immün skoru belirlendi(İmmün skor (İS)= yoğunluk x yüzde). Yoğunluk derecesi belirlenirken;

- 0: boyanma olmaması,
- 1: zayıf boyanma,
- 2: orta boyanma,
- 3: güçlü boyanma olarak kabul edildi.

Boyanma yüzdesi;

1: %1-25 pozitif,

2: %26-50 pozitif,

3: %51-75 pozitif,

4: %76-100 pozitif olarak değerlendirildi.

Her vakaya ait immün skor (0-12 arasında) belirlendi. iS göre 4 ve üzeri vakalar CLCA açısından immünreaktivitesi yüksek olarak değerlendirildi(170).

2.1 İstatistiksel analiz

Analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences; SPSS Inc., Chicago, IL) 22 paket programında değerlendirilmiştir. Çalışmada tanımlayıcı veriler kategorik verilerde n, % değerleri, sürekli verilerde ise medyan minimum-maksimum değerleri ile gösterilmiştir. Gruplar arası kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare analizi (Pearson Chi-kare) uygulanmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirilmiştir. İkili grupların karşılaştırılmasında Mann Whitney U-testi kullanılmıştır. İkiden fazla değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi yapılmıştır. Sürekli değişkenlerin birbiriyle ilişkisinin incelenmesinde Spearman korelasyon testinden yararlanılmıştır. Sağkalım analizi Kaplan-Meier ile değerlendirilmiştir. Analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

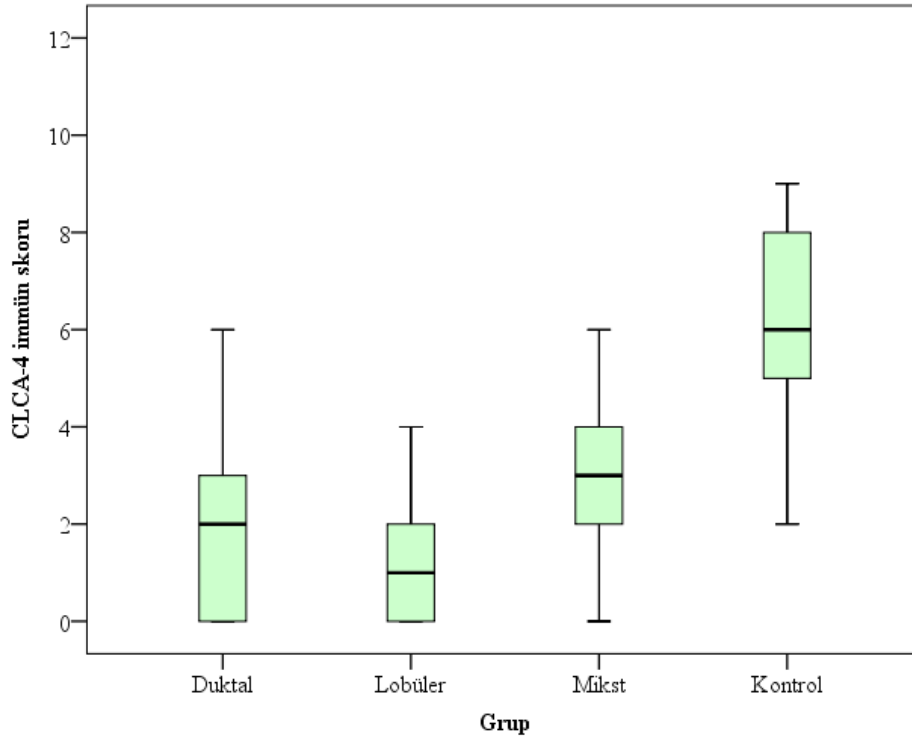
3. BULGULAR

Çalışmaya 90 invaziv duktal karsinom (İMK-NOS), 30 invaziv lobüler karsinom, 30 mikst karsinom ve 10 kontrol olmak üzere toplam 160 olgu dahil edilmiştir. İnvaziv duktal karsinom tanılı olguların yaş ortalaması 60,5 (37,0-92,0) , invaziv lobüler karsinom tanılı olguların yaş ortalaması 58,5 (45,0-81,0) ve mikst karsinom tanılı olanları ise 60,0 (36,0-86,0) yıl olarak bulunmuş olup gruplar arasında yaş açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,819$).

İnvaziv duktal karsinomu olgularında tümör çapı ortalaması 25,0 (3,0-120,0) mm, invaziv lobüler karsinomlularda 31,5 (4,0-130,0) mm ve mikst tip kanseri olanlarında ise tümör çapı o 29,5 (5,0-190,0) mm olarak bulunmuş olup gruplar arasında tümör çapı açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,341$).

İnvaziv duktal karsinom tanılı olguların lenf nodu metastazı sayısı ortalaması 2,0 (,0-40,0) olarak tespit edilirken, invaziv lobüler karsinom olanların 4,0 (,0-39,0) olarak ve mikst karsinom kanseri olanların 2,0 (,0-47,0) olarak bulunmuş olup gruplar arasında lenf nodu metastazı sayısı açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,205$).

İnvaziv duktal karsinom olanların CLCA4 İmmün skoru ortalaması 2,0 (,0-12,0) olarak, invaziv lobüler karsinom olanların 1,0 (,0-12,0), ve mikst karsinom kanseri olanların 3,0 (,0-9,0) olarak değerlendirilirken, kontrol grubunda olanların CLCA4 İmmün skoru sayısı ortalaması 6,0 (2,0-9,0) bulunmuş olup gruplar arasında CLCA4 İmmün skoru açısından anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0,001$)(Şekil 8).



Şekil 8: CLCA4 İmmün skorunun gruplara göre karşılaştırılması

İnvaziv duktal karsinom olan olguların sağ kalım süresi ortalaması 90,5 (11,0-144,0) ay, invaziv lobüler karsinom olanların takip süresi ortalaması 79,0 (8,0-134,0) ay ve mikst karsinom olanların 76,0 (4,0-137,0) ay olarak bulunmuş olup gruplar arasında sağ kalım süreleri açısından anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p=0,025$)(Şekil 9)(Tablo 9).

Tablo 9: Yaş, tümör çapı, lenf nodu metastazının ve CLCA4 immün skorunun gruplara göre karşılaştırılması

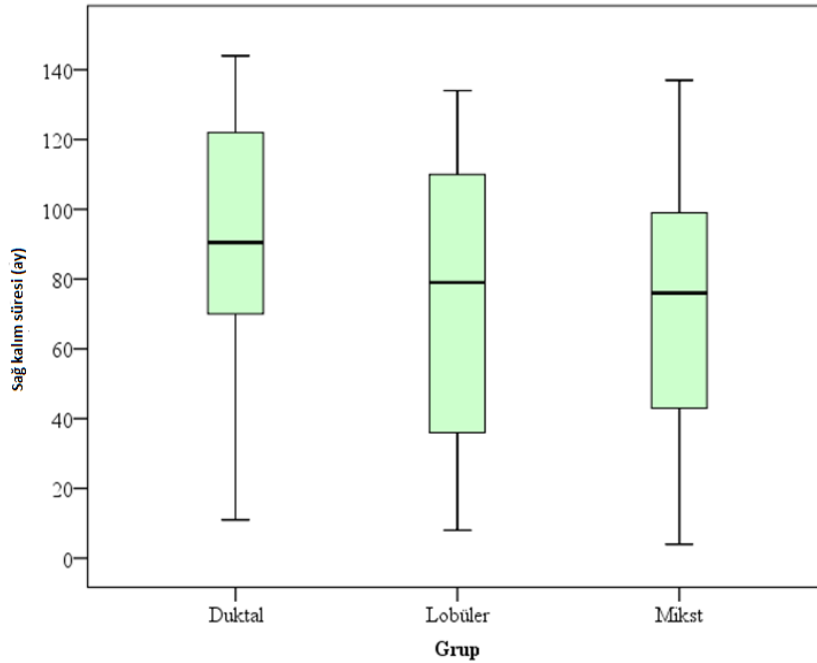
	İDK	İLK	Mikst karsinom	Kontrol	p*
	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	
Yaş	60,5 (37,0-92,0)	58,5 (45,0-81,0)	60,0 (36,0-86,0)	-	0,819
Tümör çapı (mm)	25,0 (3,0-120,0)	31,5 (4,0-130,0)	29,5 (5,0-190,0)	-	0,341
Lenf nodu metastazı sayısı	2,0 (0-40,0)	4,0 (0-39,0)	2,0 (0-47,0)	-	0,205
CLCA4 İmmün skoru	2,0 (0-12,0)	1,0 (0-12,0)	3,0 (0-9,0)	6,0 (2,0-9,0)	<0,001
Takip süresi (ay)	90,5 (11,0-144,0)	79,0 (8,0-134,0)	76,0 (4,0-137,0)	-	0,025

*Kruskal Wallis testi yapılmıştır.

Gruplar arasında CLCA4 İmmün skoru açısından anlamlı farklılık görülmüştür ($p<0,001$). Bu farklılığın neden kaynaklandığını bulmak için yapılan ikili karşılaştırmalarda lobüler tip ile mikst tip arasında, lobüler tip ile kontrol grubu arasında ve invaziv duktal karsinom ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir (Tablo 10).

Tablo 10: CLCA4 İmmün skorunun ikili karşılaştırılması

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	p
İLK - İDK	9,211	9,585	,961	1,000
İLK – Mikst karsinom	-33,717	11,739	-2,872	0,024
İLK - Kontrol	-71,417	16,601	-4,302	<0,001
İDK - Mikst karsinom	-24,506	9,585	-2,557	0,063
İDK - Kontrol	-62,206	15,155	-4,105	<0,001
Mikst karsinom -Kontrol	-37,700	16,601	-2,271	0,139



Şekil 9: Sağ kalım sürelerinin gruplara göre karşılaştırılması

Gruplar arasında sağ kalım süreleri açısından anlamlı farklılık görülmüştür ($p=0,025$). Bu farklılığın nerden kaynaklandığını bulmak için yapılan ikili karşılaştırmalarda mikst karsinom ile invaziv duktal karsinom grubu arasında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir (Tablo 11).

Tablo 11: Sağ kalım süreleri ikili karşılaştırılması

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	p
Mikst karsinom - İLK	5,983	11,216	,533	1,000
Mikst karsinom -İDK	22,256	9,158	2,430	0,015
İLK - İDK	16,272	9,158	1,777	0,454

İnvaziv duktal karsinom olanların %25,6'sı, invaziv lobüler karsinom olanların %40'ı ve mikst karsinom olanların %43,3'ü ölmüştür. Gruplar arasında ölüm oranı açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,112$).

İnvaziv duktal karsinom olanların %17'si, invaziv lobüler karsinom olanların %26,7'si ve mikst karsinom olanların %26,7'si Bloom Richardson sınıflamasına göre Grade 3 olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında Bloom Richardson sınıflaması açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,388$) (Tablo 12) .

Tablo 12: Sağ kalım durumu ve Bloom richardson skorunun gruplara göre karşılaştırılması

		İDK	İLK	Mikst Karsinom	p*
		Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	
Sağ kalım	Ölü	23 (25,6)	12 (40,0)	13 (43,3)	0,112
	Sağ	67 (74,4)	18 (60,0)	17 (56,7)	
	Grade 1	24 (27,3)	4 (13,3)	5 (16,7)	
Bloom Richardson	Grade 2	49 (55,7)	18 (60,0)	17 (56,7)	0,388
	Grade 3	15 (17,0)	8 (26,7)	8 (26,7)	

*Kikare analizi yapılmıştır.

Ölen olguların tümör çapı ($p=0,037$) ve lenf nodu metastaz sayısı ($p=0,002$) sağlardan anlamlı şekilde yüksek görülmüştür. Ölenlerin CLCA-4 İmmün skor sonucu ($p=0,005$) ve takip süresi ($p<0,001$) sağlarındakinden anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (Tablo 13, Şekil 10-12).

Tablo 13: Yaş, tümör çapı, lenf nodu metastazı ve sağ kalımla durumuna göre karşılaştırılması

	Ölü	Sağ	p*
	Ortanca (min-maks)	Ortanca (min-maks)	
Yaş	59,5 (40,0-92,0)	60,0 (36,0-88,0)	0,837
Tümör çapı (mm)	35,0 (5,0-190,0)	25,0 (3,0-93,0)	0,037
Lenf nodu metatazı sayısı	6,5 (0-47,0)	1,5 (0-40,0)	0,002
CLCA4 İmmün skor sonucu	1,0 (0-4,0)	2,0 (0-12,0)	0,005

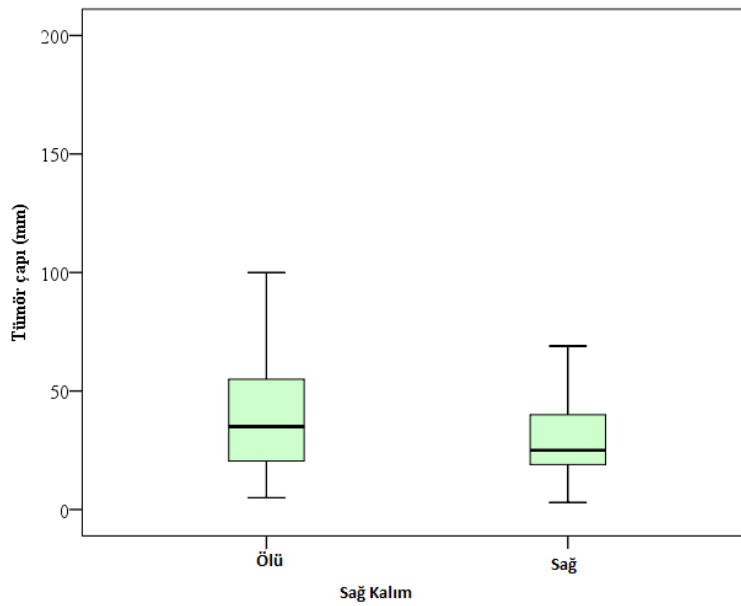
*Mann Whitney U testi yapılmıştır.

Olguların AJCC anatomik evreleri arasında CLCA-4 İmmün skoru açısından anlamlı farklılık görülmemiştir (p=0,630)(Tablo 14).

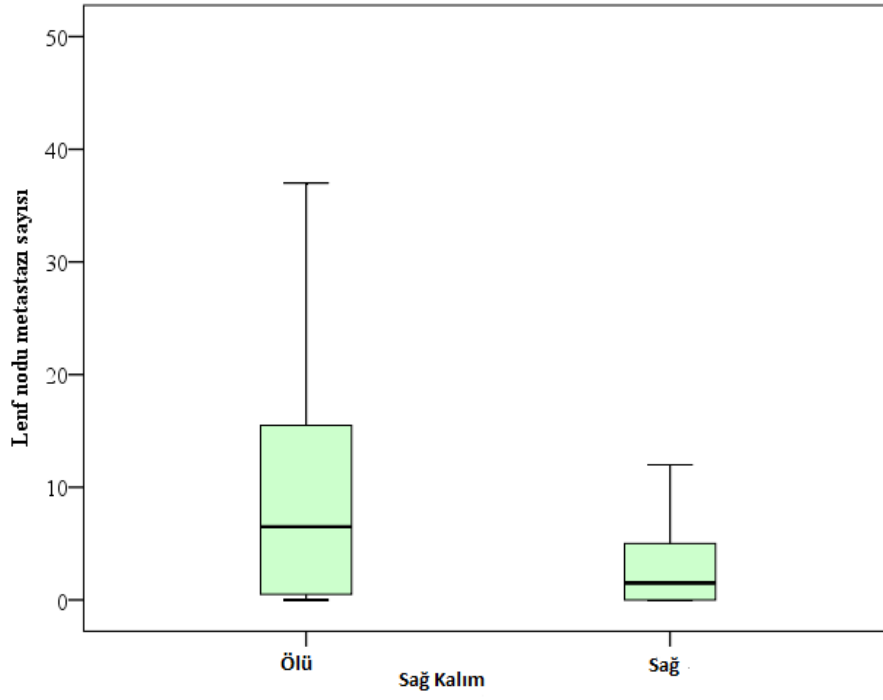
Tablo 14: CLCA-4 İmmün skorunun AJCC anatomik evreye göre karşılaştırılması

		Olgu Sayısı	CLCA-4 İmmün skor sonucu	p*
			Ortanca (min-maks)	
Evre	1	37	2,0 (0-12,0)	0,630
	2	43	2,0 (0-8,0)	
	3	64	2,0 (0-12,0)	
	4	6	1,5 (0-3,0)	

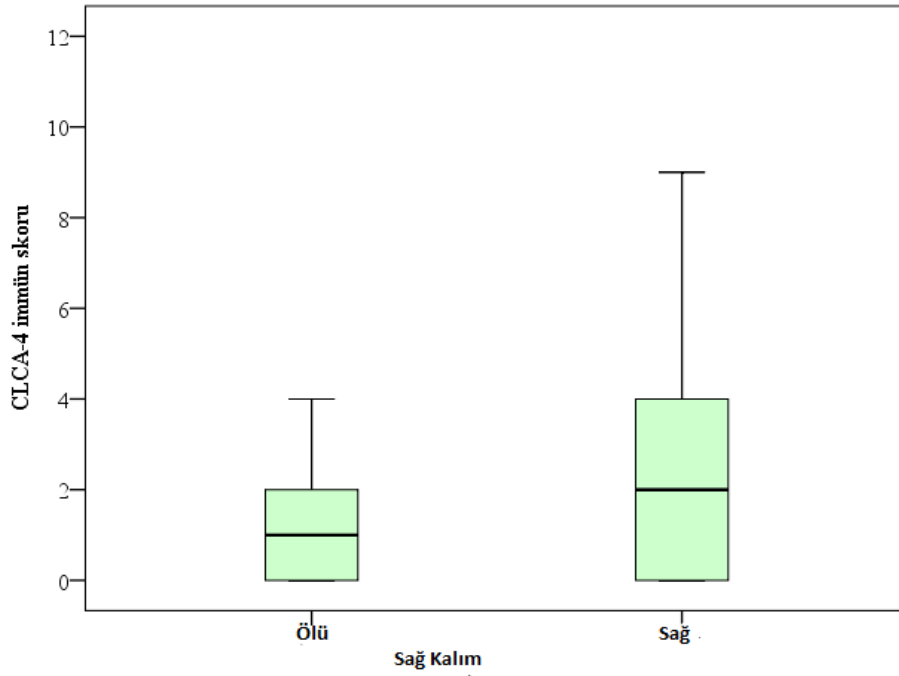
*Kruskal Wallis testi yapılmıştır.



Şekil 10: Tümör çapının sağ kalım üzerine etkisi



Şekil 11: Lenf nodu metastaz sayısının sağ kalım üzerine etkisi



Şekil 12: CLCA4 immün skorunun sağ kalım üzerine etkisi

CLCA4 skoru ile tümör çapı arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir. Bloom Richardson grade ile lenf nodu metastaz sayısı arasında pozitif yönde; Bloom Richardson grade ile sağ kalım arasında ise negatif yönde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tümör çapı ile lenf nodu metastaz sayısı arasında pozitif yönde; tümör çapı ile yaş arasında ise negatif yönde anlamlı bir korelasyon tespit edilmiştir. Yaş ile lenf nodu metastaz sayısı arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Lenf nodu metastaz sayısı ile sağ kalım arasında negatif yönde anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (Tablo 15).

Tablo 15: Tüm gruplarda korelasyon analizleri

		CLCA-4 İmmün skor sonucu	Bloom richardson grade	Tümör çapı (mm)	Yaş	Lenf nodu metastazı sayısı
Bloom richardson grade	r	,039				
	p	,642				
Tümör çapı (mm)	r	-,189	,117			
	p	,020	,158			
Yaş	r	-,024	-,161	-,243		
	p	,771	,051	,003		
Lenf nodu metastazı sayısı	r	-,008	,341	,325	-,198	
	p	,927	,000	,000	,015	
Takip süresi (ay)	r	,159	-,212	-,051	-,069	-,235
	p	,052	,010	,533	,403	,004

İnvaziv duktal karsinom olan grupta yapılan korelasyon analizinde Bloom Richardson grade ile lenf nodu metastaz sayısı arasında pozitif yönde; Bloom Richardson grade ile yaş ve takip süresi arasında ise negatif yönde anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Tümör çapı ile lenf nodu metastaz sayısı arasında pozitif yönde; tümör çapı ile yaş arasında ise negatif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Lenf nodu metastaz sayısı ile sağ kalım arasında negatif yönde anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (Tablo 16).

Tablo 16: Duktal grupta korelasyon analizleri

		CLCA-4 İmmün skor sonucu	Bloom richardson grade	Tümör çapı (mm)	Yaş	Lenf nodu metastazı sayısı
Bloom richardson grade	r	,111				
	p	,304				
Tümör çapı (mm)	r	-,084	,157			
	p	,432	,145			
Yaş	r	-,165	-,261	-,225		
	p	,120	,014	,033		
Lenf nodu metastazı sayısı	r	,085	,225	,442	-,150	
	p	,423	,035	,000	,159	
Takip süresi (ay)	r	,171	-,226	-,004	-,131	-,282
	p	,107	,034	,974	,218	,007

İnvaziv lobüler karsinom grubunda yapılan korelasyon analizinde CLCA4 skoru ile tümör çapı arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon tespit edilirken Bloom Richardson grade ile lenf nodu metastaz sayısı arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Tablo 17).

Tablo 17: Lobüler grupta korelasyon analizleri

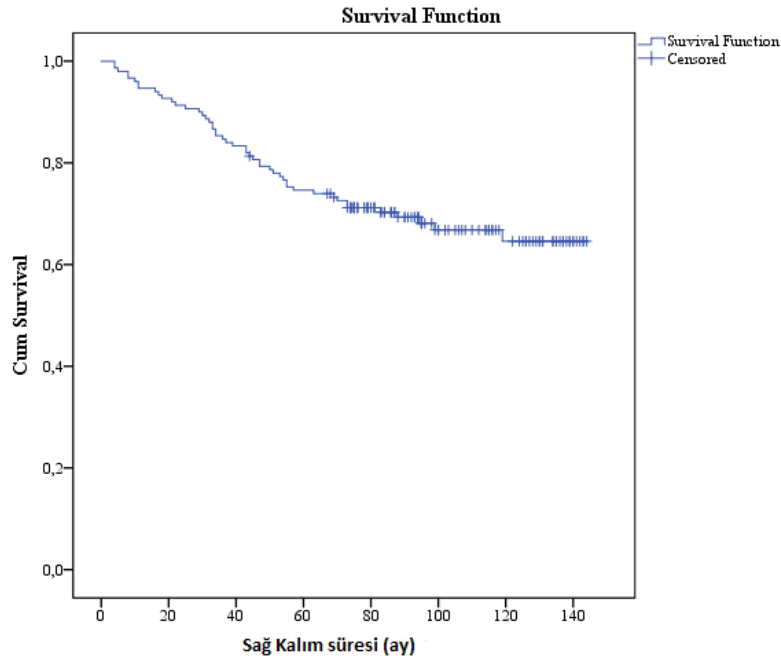
		CLCA4 İmmün skor sonucu	Bloom richardson grade	Tümör çapı (mm)	Yaş	Lenf nodu metastazı sayısı
Bloom richardson grade	r	-,118				
	p	,536				
Tümör çapı (mm)	r	-,363	-,018			
	p	,048	,923			
Yaş	r	,343	,006	-,170		
	p	,064	,975	,370		
Lenf nodu metastazı sayısı	r	-,038	,580	-,120	-,287	
	p	,843	,001	,526	,124	
Sağ kalım süresi (ay)	r	,206	,042	-,158	,117	-,045
	p	,275	,828	,406	,538	,812

Mikst karsinom grubunda yapılan korelasyon analizinde CLCA4 ve diğer prognostik faktörler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. (Tablo 18)

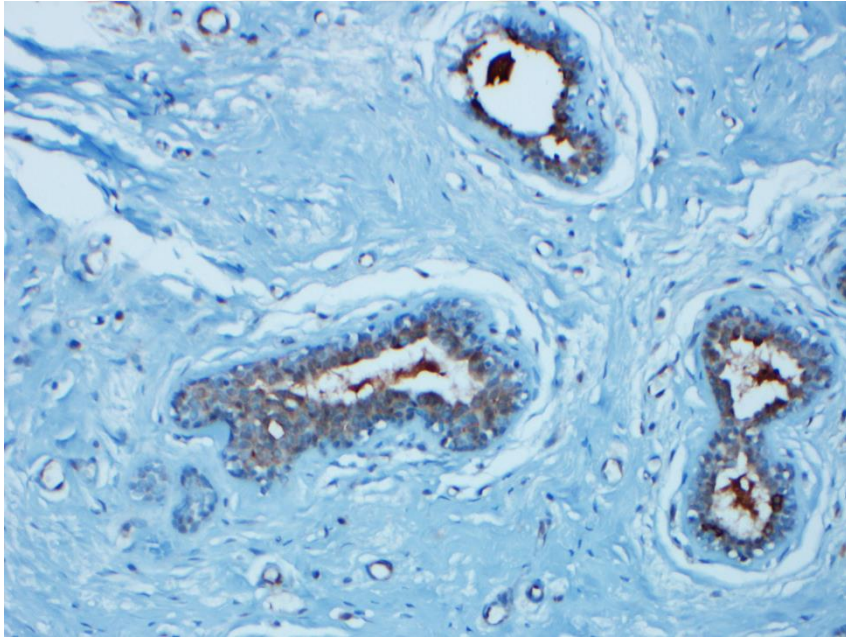
Tablo 18: Mikst karsinom grupta korelasyon analizleri

		CLCA4 İmmün skor sonucu	Bloom richardson grade	Tümör çapı (mm)	Yaş	Lenf nodu metastazi sayısı
Bloom richardson	r	-,092				
grade	p	,628				
Tümör çapı (mm)	r	-,357	-,071			
	p	,053	,711			
Yaş	r	-,089	-,025	-,335		
	p	,641	,895	,071		
Lenf nodu metastazi	r	-,141	,353	,274	-,286	
sayısı	p	,457	,056	,142	,125	
Sağ kalım süresi (ay)	r	,288	-,319	,048	-,012	-,295
	p	,122	,085	,799	,950	,113

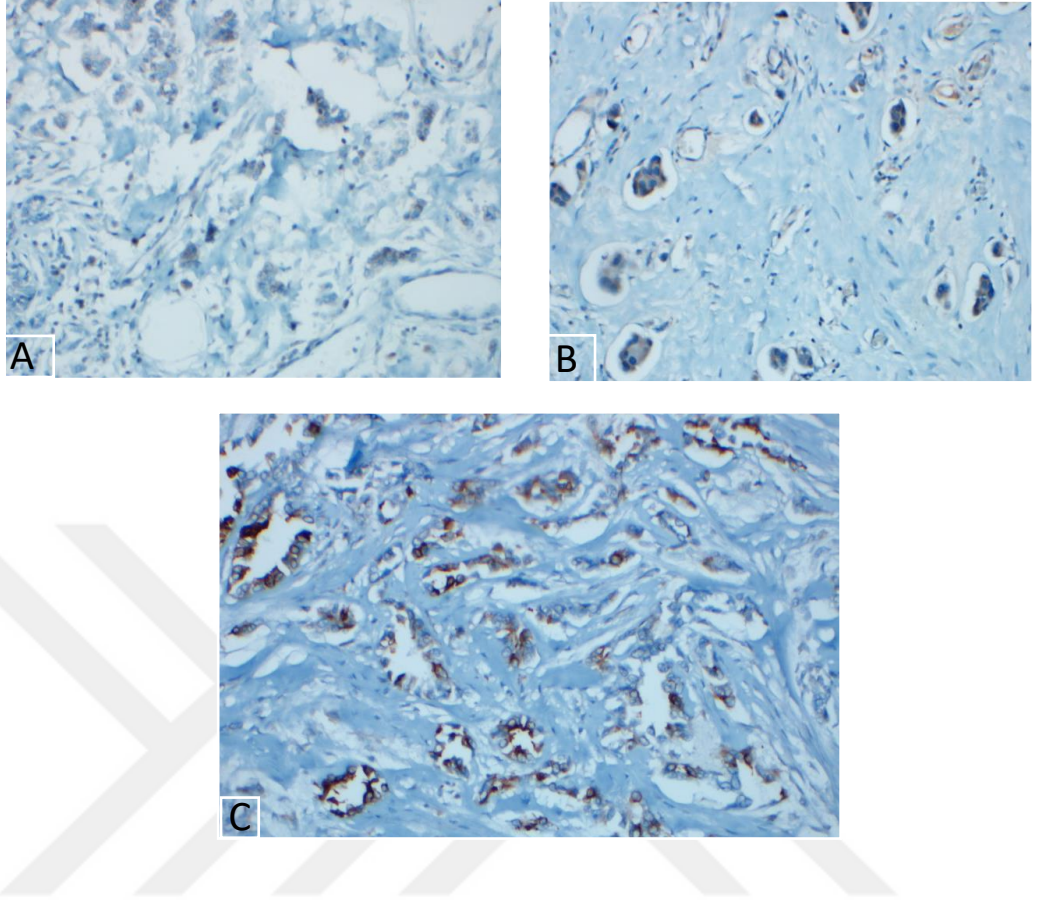
Çalışmaya dahil edilen 150 hastanın 48'i ölmüştür ve genel sağkalım oranı %68 olarak bulunmuştur. Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde ortalama sağkalım süresi 110,041 ay olarak bulunmuştur. Hastaların 12 aylık sağkalım oranı %94,7 , 24 aylık sağkalım oranı %91,3 olarak, 36 aylık sağkalım oranı %85,3 olarak, 48 aylık sağkalım oranı %79,3 olarak ve 60 aylık sağkalım oranı ise %74,6 olarak tespit edilmiştir. Hastaların sağkalım grafiği Şekil 13'de görülmektedir.



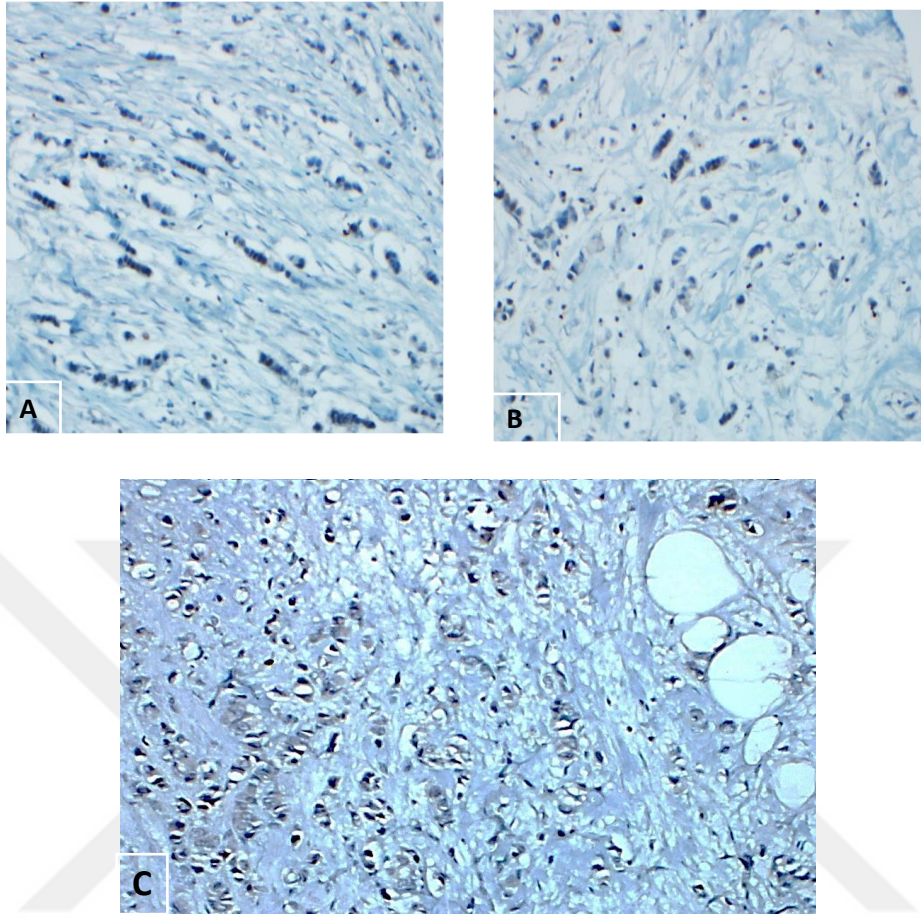
Şekil 13: Hastaların sağkalım grafiği



Şekil 14: CLCA4'ün normal meme dokusunda 3 pozitif boyanması (400 x İmmünperoksidaz)



Şekil 15: İnvaziv duktal karsinomda (İMK-NOS) CLCA4 boyanma şiddetleri; A: 1 pozitiflik boyanma B: 2 pozitiflik boyanma C: 3 pozitiflik boyanma



Şekil 16: İnvaziv lobüler karsinomda CLCA4 boyanma şiddetleri; A: 1 pozitiflik boyanma B: 2 pozitiflik boyanma C: 3 pozitiflik boyanma

4. TARTIŞMA

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser olup her yıl yaklaşık olarak 2.1 milyon kadını etkilemektedir. Meme kanseri insidansı gelişmiş olan ülkelerde daha yüksek olmasına rağmen hemen her ülkede giderek artmaktadır. Meme kanseri kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin de hala en sık nedeni olup, kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %15'ini oluşturur. Ancak meme kanserine bağlı mortalite birçok ülkede giderek azalmaktadır. Bu durumun en önemli nedeni taramada kullanılan görüntüleme yöntemleri ile meme kanserine erken evrede tanı konulabilmesidir. Özellikle erken evre meme kanserleri, gelişmiş ülkelerde %80 den fazla sağ kalıma sahip hatta potansiyel olarak tedavi edilebilir bir hastalıktır (1).

Meme kanserine neden olan etyolojik faktörlerin hepsi tam olarak ortaya konulmamıştır. Daha önceki çalışmalarla belli risk faktörlerine sahip kadınlarda meme kanseri görülme olasılığının arttığı gösterilmiştir. Yaş, genetik-ailesel faktörler, ırk-etnik köken, yaşam tarzı faktörleri ve reproduktif faktörler risk faktörlerinin başlıcalarıdır. Ancak meme kanseri tanısı almış kadınlara bakıldığı zaman %66'sında bilinen rijs faktörlerinin olmadığı görülmektedir (50- 52) .

Meme epitelyal kanserlerinin histolojik tiplendirmesi için WHO-2019 sınıflaması kullanılmaktadır. Epitelyal tümörler içerisinde invaziv meme karsinomları yanısıra prekürsör lezyonlar ve benign epitelyal proliferasyonlar da bulunmaktadır. İnvaziv meme karsinomlarının yaklaşık %89'una yakın kısmını invaziv meme karsinomu-NOS (İDK) ve invaziv lobüler karsinom oluşturur (1).

Meme kanserli hastaların prognozu çok değişkendir ve birçok faktöre bağlıdır. En önemli prognostik faktörler aksiller lenf nodu tutulumu, tümör çapı, histolojik grade, tümör tipi, lenfovasküler İnvazyon varlığı ve yaşıdır. Bu faktörlerin belirlenmesi için dikkatli bir patolojik inceleme son derece önemlidir. Prognostik faktörler, tedavi öncesi tanı anında klinik gidiş ile ilgili bilgi verir.

Günümüzde moleküler alandaki gelişmelerin de katkısıyla meme kanseri, morfolojik yapı, biyolojik davranış ve tedaviye yanıtta farklılıklar gösteren heterojen bir hastalık olarak değerlendirilmektedir. Yeni geliştirilen tedavi modaliteleri mortaliteyi azaltmış olsa da yukarıda bahsedildiği üzere meme kanseri hala kadınlarda

kansere bağlı ölümlerin ilk sırasında gelmektedir. Bu durum birçok araştırmacıyı genetik ve kanser immnolojisini anlamaya yönelik yeni araştırmalara yöneltmiştir.

CLCA4, CLCA ailesinin bir üyesidir. Kalsiyum ile active klorür kanalı düzenleyicileri (CLCA) amino grubunun uç kuyruğunda simetrik homosistein motifine sahip proteinlerdir. CLCA proteinleri epitel hücrelerinde klorür etkinliğinde önemli rol oynayan iyon kanal dzenleyeci moleküllerdir. İyon kanalları, hücre dışı ve hücre içi ortamlar arasındaki akışı düzenleyen transmembran proteinlerdir. Çok çeşitli çalışmalarda iyon kanallarının, apoptoz, hücre büyümesi, metastaz, invazyon ve hücre adezyonu dahil olmak üzere tümör gelişiminde ve birçok hücreyel olayda sıklıkla görev yaptığı gösterilmiştir. CLCA proteinlerinin çeşitli kanser türlerinde karsinogeneizde önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir(168, 171). Yang ve ark. CLCA1 ekspresyon düzeylerinin, kolorektal kanserli hastalarda tümör derecesi, lenf noduna metastaz oranı ve sağ kalım ile önemli ölçüde korele olduğunu gösterdi(164). Adam ve ark. ise CLCA2 ekspresyonun varlığının akciğer adenokarsinomlarında kısa sağ kalım ile ilişkili olabileceğı n grsnde bulundular (172). CLCA4'n dokularda EMT yolağında düzenleyici rol aldığı bilinmektedir. EMT, epitel hücrelerinin hücre-hücre bağlantılarını aşağı reğle ettiğı, iğsi hücre morfolojisi kazandığı ve hücreyel hareketlilik sergilediğı gelişimsel bir programdır. Kanserli dokularda EMT vre dokulara invazyonu kolaylaştırır, kanser metastazı ve nüks ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. CLCA4'n PI3K/ATK sinyal yolağı ile epitelden mezenkimal geçişi baskılayarak hücre göçünü ve metastazı inhibe ettiğı düşünülmektedir. Kolbe ve ark. kistik fibrozis hastalarında CLCA4 gen analizi çalışmasında CLCA4 proteininin kistik fibroziste rol oynayan bir gen olmasının yanı sıra kolon epitel hücrelerinde sinyal iletiminde rol oynadığını ve kolon epitelinin bütünlüğünün korunmasında etkili bir molekül olabileceğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca Crohn hastalığı ve ülseratif kolit için bir biyobelirteç olabileceğini savunmuşlardır (173).

Lihui ve ark. kolorektal kanserlerde gen analizi ve İHK'sal olarak CLCA4 düzeylerine baktılar. Yaptıkları alışmada CLCA4 mRNA düzeylerinin kanserli olgularda norma dokulara kıyasla belirgin derecede azaldığını ölçtüler. İHK'sal çalışmalarında ise normal doku, adenomatöz polip ve kanserli dokularda kademeli olarak CLCA4 ekspresyonunun azaldığını tespit ettiler. Rektum ve kolon bölgesi kanserleri arasında anlamlı bir fark elde edemediler. Ayrıca karaciğere metastaz

yapmış kolon adenokarsinomlarında da CLCA4 ekspresyonunun metastaz yapmamış olanlara göre düşük olduğunu gözlemledirler. Başka bir çalışmada Han. ve ark. kolorektal kanserlerde biyoinformatik analizle CLCA4 ekspresyon düzeyinin kolorektal kanserlerde azaldığını belirlemişlerdir. Primer kolorektal kanserli hastalarda yaptıkları sağ kalım analizlerinde düşük CLCA4 ekspresyonuna sahip hastaların daha kötü prognoza sahip olduğunu gördüler ve buna dayanarak CLCA4'ün koruyucu etkisi olduğunu düşündüler. İki çalışmada da CLCA4'ün kolorektal kanserlerde inhibitör etkisi olabileceği, CLCA4'ün PI3K/ATK yoluyla EMT'yi ve hücreler arası iletişimi etkilediğini göstermişlerdir. CLCA4'ün kolorektal kanserli olgularda tanı ve tedavide etkili olabilecek bir belirteç olduğu sonucuna varmışlardır(170, 174).

Liu ve ark. hepatoselüler karsinomlarda (HCC) yaptıkları çalışmada CLCA4 ekspresyonunun bitişik tümörlü olmayan dokulardan daha düşük olduğunu gösterdiler. CLCA4 ekspresyonunun tümör boyutu, vasküler invazyon ve TNM evresi ile negatif korelasyonda olduğunu tespit ettiler. HCC'de CLCA4 ekspresyonu artıkça hücre çoğalmasının, invazyonunun ve metastaz olasılığının azaldığını ortaya koymuşlardır. Çalışmalarında, CLCA4 ekspresyonu ve serum AFP seviyesinin kombinasyonunun, hastaların sağkalımını ve nüksünü ayırt etmek için tek başına CLCA4 ekspresyonu veya serum AFP seviyesine kıyasla daha yararlı bulmuştur. Sonuç olarak, CLCA4'ün EMT'yi PI3K/AKT yolu aracılığıyla baskılayarak HCC'nin invazyonunu ve metastazlarını önleyebileceği ve CLCA 4 ekspresyonunun serum AFP seviyesi ile kombine edilerek rezeksiyon sonrası hastaların prognozunu belirlemek için kullanılabileceğini belirtmişlerdir (6).

Hou ve ark. yaptığı çalışmalarda CLCA4'ün overekspresyonunun mesane kanseri hücre proliferasyonunu, koloni oluşumunu, invazyonu ve metastazını baskıladığını göstermişlerdir. CLCA4'ün mesane kanserli hastalarda hem genel hem de nüksüz sağ kalım için potansiyel bir belirteç olabileceği ortaya konulmuştur. Ayrıca ileri tümör evrelerinde ve tümör boyutu artıkça CLCA4 ekspresyonu azalmaktaydı. Sonuç olarak CLCA4 ekspresyonunun mesane kanser prognozu arasında pozitif bir ilişki bulmuşlardır(168).

Yu ve ark. meme epitel hücrelerinde, meme kanserleri ve bazı stress durumlarında RT-PCR ile CLCA4 düzeylerine baktılar. Kanserli olgularda CLCA4 düzeylerinin düştüğü gözlenmiş bununla EMT'yi indüklemesi sonucuna tümör

progrosyonuna neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptıkları klinik takiplerde CLCA4 ekspresyon düzeyi düşük olguların nüksüz sağ kalım oranlarının ekspresyon düzeyi yüksek olanlara göre belirgin düşük olduğunu belirlemişlerdir. Meme epitel hücrelerinin DNA'sına zarar verebilecek stres durumunda da CLCA4 düzeyleri yükselmiştir. Transkripsiyonel çalışmalarında CLCA4'ün meme epitel hücrelerinin farklılaşmasını gösteren bir belirteç olduğu ve TGF- beta ekspresyonunun azalttığını ortaya koymuşlardır. CLCA4 ekspresyonunun azalması, meme kanseri hücrelerinde E-kadherin ekspresyonunun azalmasına neden olurken N-Kadherin ve vimentin ekspresyonunun artmasına yol açtığı gözlemlenmiş ve bunun sonucunda EMT yolağının aktifleştğini göstermişlerdir. Bu verilere dayanarak CLCA4'ün tanısal ve terapötik bir ajan olabileceğini savunmuşlardır (175).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 3 tümör tipinin CLCA4 skor ortalamasını invaziv duktal karsinomda (İMK-NOS) 2,0 invaziv lobüler karsinomda 1,0 ve mikst karsinomlarda ise 3,0 tespit ettik. Kontrol grubunda ise bu değeri 6,0 olarak bulduk. Bu değerlere bakıldığında CLCA4 normal meme dokusunda yüksek ekspresyona sahip olduğu, kanserli alanlarda ise ekspresyonun azaldığı görülmüştür. Bu da CLCA4 proteinin meme kanserlerinin karsinogenezinde rol aldığını ve ekspresyonunun azalmasını tümör oluşumuna neden olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca meme kanserleri tipleri arasında da CLCA4 ekspresyonu farklılıklar mevcuttu. Özellikle ikili karşılaştırmalarda invaziv lobüler karsinom ile mikst karsinomlar arasında anlamlı farklılık mevcuttu.

Çalışmaya dahil edilen grupların tümör çaplarına baktığımızda gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. Ancak hastalarda tümör çapı ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki mevcuttu. Hastalarda tümör çapı arttıkça ölüm oranı da artmaktaydı. CLCA4 skoru ile tümör çapı arasında negatif yönde anlamlı bir korelasyon tespit ettik. Bu durum azalan CLCA4 düzeylerinin EMT üzerindeki baskılayıcı etkisinin azalmasına ve tümörün çevre dokulara yayılarak tümör çapının büyümesine neden olduğunu düşündürmektedir.

Song ve ark. özefagus karsinomlarında CLCA4 düzeylerinin hastalığın evresi ve prognostik faktörlerle olan ilişkilerini RT-qPCR ve western blot yöntemi ile ölçtüler. Özefagus kanser hücrelerinde normal dokuya göre belirgin derece azalma tespit ettiler. Klinikopatolojik faktörler ile karşılaştırdıklarında CLCA4 düzeylerinin T

evresi ve lenf nodu metastazı olanlarda hastalarda anlamlı düşük seviyede olduğunu gördüler. Yaş, cinsiyet ve tümör boyutu ile CLCA4 düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon mevcut değildi. Bu analizler sonucunda CLCA4 EMT'yi inhibe ettiği ve tümör yayılımına engel olduğuna kanat getirdiler. Ayrıca özefagus karsinomlarında CLCA4'ün hem tanısal bir belirteç hem de çoklu değişkenli sağ kalım modellerinde olması gerektiğini savunmuşlardır (176). Li B ve ark. başka bir çalışmada baş ve boyun bölgesi skuamöz hücreli karsinomlarında CLCA4 ekspresyonunun artmasının hücre proliferasyonunu ve tümör metastazını inhibe ettiğini tespit ettiler (177). Yine baş boyun bölgesi kanserleri ile yapılan başka bir çalışmada Ye ve ark. oral bölge ve dil skuamöz hücreli karsinomlarında CLCA4'ün düşük eksprese edildiğini transkripsiyonel çalışmalarla tespit etmişlerdir ve CLCA4'ün skuamöz hücreli kanser için potansiyel terapötik bir ajan olabileceğini öne sürmüşlerdir (178).

Chen ve ark. 104 kolorektal kanser olgusu ve 24 normal bireyi içeren bir çalışmalarında kolorektal kanser prognostik belirteçleri ile CLCA4 ekspresyon düzeylerini karşılaştırdılar. Yaptıkları çalışmada normal kolon epitelinde CLCA4 düzeyinin kanserli alanlara göre daha yüksek olduğunu tespit ettiler. Lenf nodu metastazı bulunan olguların CLCA4 düzeylerini lenf nodu metastazı bulunmayanlara göre anlamlı düşük buldular. Baktıkları diğer prognostik faktörler olan yaş, cinsiyet, tümör boyutu ve TNM evresi ile CLCA4 ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulamadılar. Yaptıkları gen analiz çalışmalarında CLCA4 ekspresyonu yüksek olan hastalarda PI3K/ATK sinyal yolağını inhibe ettiği ve bu hastalara IGF-1 (PI3K/ATK sinyal yolağı aktivatörü) verdiklerinde CLCA4 tarafından inhibe edilmiş tümör invazyonun ve metastazının arttığını gözlemlediler. Buna dayanarak CLCA4'ün kolorektal kanserin PI3K/AKT sinyali yoluyla epitelyal-mezenkimal geçişi baskılayarak invazyon ve metastazında rol oynadığını savunmuşlardır(169).

Çalışmamıza dahil edilen 150 hastanın 51'inde lenf nodu metastazı mevcuttu. Metastatik lenf nodu sayısı ile CLCA4 skoru arasında anlamlı bir korelasyon bulunamadı. Meme kanserlerinde metastaz en önemli prognostik faktörlerden biridir ve çalışmamızda lenf nodu metastazı sayısı artıkça sağ kalım süresinin azaldığı izlenmektedir. Ayrıca çoğu nüks eden vakada lenf nodu metastazı bulunmaktadır. EMT'in meme kanserlerinin metastazında rol aldığı düşünülmektedir. CLCA4

molekölünün metastazlardaki rolü açısından daha fazla hasta ve çok merkezli çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

İnvaziv duktal karsinom (İMK-NOS) hastalarımızın %17'si, invaziv lobüler karsinom hastalarımızın %26,7'si ve mikst karsinomların %26,7'sinin Bloom-Richardson sınıflamasına göre grade 3'tü. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık izlenmedi. Bloom-Richardson grade ile lenf nodu metastaz sayısı ile pozitif, sağ kalım süresi ile negatif yönde ilişki vardı. CLCA4 ekspresyonu ile Bloom-Richardson gradeleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi.

Çalışmaya dahil ettiğimiz 150 hastanın 48'i ölmüştü ve genel sağ kalım oranı %68 olarak tespit edildi. Hastaların 12 aylık sağ kalımı %94,7 iken 60 aylık sağ kalım %74,6'ydı. Ölü olguların CLCA4 immün skoru sonucunun sağlariğine göre anlamlı olarak düşük olduğunu bulduk. Bu da CLCA4 ün sağ kalım üzerinde etkili olduğunu ve bir prognostik belirteç olabileceğini göstermektedir.

Meme kanserlerinde en önemli prognostik belirteçlerden biri hastaların evresidir. Yaygın olarak AJCC'nin belirlediği iki evreleme sistemi kullanılmaktadır. AJCC kanser evreleme kılavuzunda TNM'e dayalı anatomik evreleme ve ER, PR, HER2 biyobelirteçlerine dayalı patolojik evreleme olmak üzere iki evreleme sistemi mevcuttur. Çalışmamıza dahil ettiğimiz olgularımızın tamamının hastanemiz veri tabanında ER, PR, HER2 immünohistokimya sonuçlarının olmamasından dolayı anatomik evreleme sistemini kullandık. Bu sisteme göre çalışmamıza dahil ettiğimiz 150 olgunun AJCC anatomik evresine baktığımızda 37 olgu evre 1, 43 olgu evre 2, 64 olgu evre 3 ve 6 olgu evre 4'te yer almaktaydı. CLCA4 ekspresyonu ile anatomik evreler arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Ancak CLCA4'ün tümör çapı ve sağ kalım üzerine etkilerini göz önüne alındığında daha fazla olgu ile yapılacak çalışmalar ihtiyaç duyulmaktadır.

Epitelden mezenkimal geçiş, epitel hücrelerinin hücre-hücre bağlantılarını aşağı regüle ettiği, iğsi hücre morfolojisi kazandığı ve hücre hareketlilik sergilediği gelişimsel bir programdır. EMT tümör hücrelerinin yayılmasını sağlar, invazyon, metastaz, çeşitli büyüme faktörlerinden bağımsız hareket edebilme ve kemotrepiye direnç gibi çeşitli avantajlar sağlar(8). Bu süreci anlamak ve engelleyebilmek meme kanserlerinin temel araştırma konularındandır. İyon kanallarının bozuklukları EMT'yi destekler. Serviks kanserlerinde klorür/potasyum ortak taşıyıcısı olan KCC-3'ün

yukarı regülasyonu EMT'yi tetikler (9). Klorür kanallarının da tümörler üzerinde baskılayıcı veya indükleyici olduğu çalışmalarca tespit edilmiştir. Anoktamin 1 (ANO1) geni meme, prostat ve baş-boyunda bulunan bazı klorür kanallarını kodlar. ANO1 geninde mutasyon izlenen meme kanserlerinin daha yüksek proliferasyona sahip olduğu tespit edilmiştir (179). CLCA4 molekülü EMT üzerinde etkili klorür kanallarından biridir.

Genel olarak, bu çalışma CLCA4'ün meme kanserlerinde proliferasyon ve tümör yayılımı ile olan ilişkisini göstermiştir. Meme kanser hücresi ve normal meme dokusunda farklı ekspresyon seviyelerinin bulunması nedeniyle bu belirtecin tanısal olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Tümör çapı ve sağ kalım ile negatif korelasyon göstermesi prognozda etkin bir belirteç olabileceğini ve çoklu değişkenli yapılan sağ kalım analizlerine katkı verebileceğini düşünmekteyiz. CLCA4 yeni bir molekül olup EMT üzerindeki etklileri de düşünüldüğünde ileride yapılacak moleküler çalışmalar ile hedefe yönelik tedaviler bulunabilir.

5. KAYNAKÇA

1. Coleman, M.P., et al., *Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD)*. Lancet Oncol, 2008. 9(8): p. 730-756.
2. türkiye kanser istatistikleri. 2019; Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Trkiye_Kanser_statistikleri_2016.pdf.
3. AJCC Cancer Staging Manual. In: Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, eds. Breast. 7 ed. Chicago: American Joint Committee of Cancer, Springer Co, 2010:345-376.
4. Xiao X, Tang YS, Mackins JY et al: Isolation and characterization of a folate receptor mRNA-binding trans-factor from human placenta. Evidence favoring identity with heterogeneous nuclear ribonucleoprotein E1. J Biol Chem, 2001; 276(44): 41510–41517.
5. Patel AC, Brett TJ and Holtzman MJ: The role of CLCA proteins in inflammatory airway disease. Annu Rev Physiol 2019;71: 425-449
6. Liu Z, Chen M, Xie LK et al: CLCA4 inhibits cell proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma by suppressing epithelial-mesenchymal transition via PI3K/AKT signaling. Aging (Albany NY), 2018; 10(10): 2570–2584.
7. Hsu YM, Chou CY, Chen HH, Lee WY, Chen YF, et al. (2007) IGF-1 upregulates electroneutral K-Cl cotransporter KCC3 and KCC4 which are differentially required for breast cancer cell proliferation and invasiveness. J Cell Physiol 210: 626–636.
8. Hoda SA, Rosen PP, Brogi E, et al. Rosen's Breast Pathology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2020.
9. Harris JR, Lippman ME, Osborne CK, et al. Diseases of the Breast. 5th ed. Wolters Kluwer Health; 2012
10. Anbazhagan R, Bartek J, Monaghan P, et al. Growth and development of the human infant breast. Am J Anat. 1991;192(4):407–417.

11. Javed A, Lteif A. Development of the human breast. *Semin Plast Surg.* 2013;27(1):5-12.
12. Collins LC, Schnitt SJ. Breast. In: Mills SE, Sternberg SS, eds. *Histology for Pathologists.* 3 ed. New York: Lippincott Williams and Wilkins, 2004:55-71.
13. Howard BA, Gusterson BA. Human breast development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2000 Apr;5(2):119-137.
14. Darlington, A.J. (2015). *Anatomy of the Breast.* In: Hogg, P., Kelly, J., Mercer, C. (eds) *Digital Mammography.* Springer, Cham.
15. Smith DJ, Palin WE, Katch VL, et al. Breast Volume and Anthropomorphic Measurements. *Plast Reconstr Surg.* 1986;78(3):331–335.
16. Schwartz SI, Brunickardi F, Brandt ML. *Schwartz' Principles of Surgery: Self-Assessment and Board Review, Eighth Edition.* McGraw-Hill Companies, Incorporated; 2007.
17. Skandalakis JE, Colborn GL, Skandalakis LJ, et al. *Skandalakis' Surgical Anatomy: The Embryologic and Anatomic Basis of Modern Surgery.* 1st ed. PMP; 2004.
18. Cady B. How to perform adequate local excision of mammographically detected lesions. *Surg Oncol Clin N Am.* 1997;6(2):315–334.
19. Shaikh T, Tam TY, Li T, et al. Multifocal and Multicentric Breast Cancer is Associated with Increased Local Recurrence Regardless of Surgery Type. *Breast J.* 2015;21(2):121–126.
20. Rosen PP. *Rosen's Breast Pathology.* 3 ed. New York: Lippincott Williams and Wilkins, 2009.
21. Ferner H, Staubesand J. *Sobotta İnsan Anatomisi Atlası.* 18 ed. Munchen, 1985.
22. Breast. In: Rosai J, ed. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology.* 10 ed. Edinburgh: Elsevier Co, 2011:1659-770.
23. Aydiner A, Igci A, Soran A. *Breast Disease: Diagnosis and Pathology.* 1st ed. Springer International Publishing; 2019.

24. Tavassoli FA, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press, 2003.
25. Tanis PJ, Nieweg OE, Valdés Olmos RA, et al. Anatomy and physiology of lymphatic drainage of the breast from the perspective of sentinel node biopsy11No competing interests declared. *J Am Coll Surg*. 2001;192(3):399–409.
26. Chandawarkar RY, Shinde SR. Interpectoral nodes in carcinoma of the breast: Requiem or resurrection. *J Surg Oncol*. 1996;62(3):158–61.
27. Hadley, G., *Essential Clinical Anatomy*. *Journal of Anatomy*, 2007. 211(3): p. 413-413.
28. Fisher B, Slack NH. Number of lymph nodes examined and the prognosis of breast carcinoma. *Surg Gynecol Obstet*. 1970;131(1):79–88.
29. Jaspars JJP, Posma AN, van Immerseel AAH, et al. The cutaneous innervation of the female breast and nipple-areola complex: implications for surgery. *Br J Plast Surg*. 1997;50(4):249–259.
30. LeVasseur NP, Healow LK. Breastfeeding: A Guide for the Medical Profession. *J Hum Lact*. 1995;11(2):146–146.
31. Tavassoli FA. Normal development and anomalies. In: Tavassoli FA, ed. *Pathology of the Breast* 2ed: Appleton&Lange, 1999:1-24.
32. Lester SC. The Breast. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, eds. *Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2010:1065-95.
33. Bussolati G, Cassoni P, Ghisolfi G, et al. Immunolocalization and gene expression of oxytocin receptors in carcinomas and non-neoplastic tissues of the breast. *Am J Pathol*. 1996;148(6):1895–1903.
34. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004 Jun;203(2):661-671.

35. Elizabeth M, Hammond H. Hormone receptors in breast cancer: Clinical utility and guideline recommendations to improve test accuracy. In: Dizon DS, ed. Uptodate, May 2012.
36. Cserni G. Lack of myoepithelium in apocrine glands of the breast does not necessarily imply malignancy. *Histopathology*. 2007;52(2):253–255.
37. Mills SE. *Histology for Pathologists*. 4th ed. Wolters Kluwer Health; 2012.
38. Gram IT, Funkhouser E, Tabár L. The Tabár classification of mammographic parenchymal patterns. *Eur J Radiol*. 1997;24(2):131–136.
39. Eusebi V, Damiani S, Losi L, et al. Apocrine differentiation in breast epithelium. *Adv Anat Pathol*. 1997;4(3):139–155.
40. Damiani S, Cattani MG, Buonamici L, et al. Mammary foam cells. *Virchows Arch*. 1998;432(5):433–440.
41. Garijo MF, Val D, Val-Bernal JF. An overview of the pale and clear cells of the nipple epidermis. *Histol Histopathol*. 2009;24(3):367–376.
42. Toker C. Clear cells of the nipple epidermis. *Cancer*. 1970;25(3):601–610.
43. WHO Classification of Tumours Editorial Board, editor. *Breast Tumours*. 5th ed. Lyon (Fransa): International Agency for Research on Cancer; 2019.
44. Sancho-Garnier, H. and M. Colonna, [Breast cancer epidemiology]. *Presse Med*, 2019. 48(10): p. 1076-1084.
45. Fidaner C, Eser SY, Parkin DM. Incidence in İzmir in 1993-1994: First results from İzmir cancer registry. *Eur J Cancer* 2001;37:83-92.
46. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2019*. *CA Cancer J Clin*, 2019. 69(1): p. 7-34.
47. de Gelder, R., et al., The effects of population-based mammography screening starting between age 40 and 50 in the presence of adjuvant systemic therapy. *Int J Cancer*, 2015. 137(1): p. 165-172.
48. Kim BS, Sung SH. Usefulness of 18F-FDG uptake with clinicopathologic and immunohistochemical prognostic factors in breast cancer. *Annals of Nuclear Medicine*. 2012;26(2):175-183.

49. Lakhani SR. WHO Classification of Tumours of the Breast: International Agency for Research on Cancer; 2012.
50. Driedger SM, Eyles J. Organochlorines and breast cancer: the uses of scientific evidence in claimsmaking. *Soc Sci Med.* 2001;52(10):1589-1605.
51. Campbell JB. Breast cancer-race, ethnicity, and survival: a literature review. *Breast Cancer Res Treat.* 2002;74(2):187-192.
52. Lacey JV, Kreimer AR, Buys SS, et al. Breast cancer epidemiology according to recognized breast cancer risk factors in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial Cohort. *Biomed Central Cancer* 2009;9:84. doi:10.1186/1471-2407-9-84.
53. Breast Cancer Facts & Figures. American Cancer Society. <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/breast-cancer-facts-and-figures-2019-2020.pdf>.
54. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*, 2020. 70(1): p. 7-30.
55. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians.* 2018;68(6):394-424.
56. Schwartz GF, Hughes KS, Lynch HT, et al. Proceedings of the International Consensus Conference on Breast Cancer Risk, Genetics, & Risk Management, April, 2007. *Breast J.* 2009;15(1):4-16.
57. Ford D, Easton DF, Stratton M, et al. Genetic Heterogeneity and Penetrance Analysis of the BRCA1 and BRCA2 Genes in Breast Cancer Families. *Am J Hum Genet.* 1998;62(3):676–689.
58. Sharif S, Moran A, Huson SM, et al. Women with neurofibromatosis 1 are at a moderately increased risk of developing breast cancer and should be considered for early screening. *J Med Genet.* 2007;44(8):481–484.

59. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet* (London, England). 2001;358(9291):1389–1399.
60. Smith RA, Cokkinides V, von Eschenbach AC, et al. American cancer society guidelines for the early detection of cancer. *CA Cancer J Clin*. 2002;52(1):8-22.
61. Koçak Ş, Çelik L, Özbaş S, Saka DS, Tükün A, Yalçın B. Meme kanserinde risk faktörleri, riskin değerlendirilmesi ve prevansiyon: İstanbul 2010 konsensus raporu. *Meme Sağlığı Dergisi*. 2011;7(2):47-67.
62. Richardson, L.C., et al., Patterns and Trends in Age-Specific Black-White Differences in Breast Cancer Incidence and Mortality - United States, 1999-2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2016. 65(40): p. 1093-1098.
63. Nindrea RD, Aryandono T, Lazuardi L. Breast cancer risk from modifiable and non-modifiable risk factors among women in Southeast Asia: A Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2017;18(12):3201-3206.
64. Rosner B, Colditz GA, Willett WC. Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer: The nurses' health study. *Am J Epidemiol*. 1994;139(8):819–835.
65. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol*, 2012. 13(11): p. 1141-1151.
66. Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk - where do we stand in 2005? *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2005;9(1):208-211.
67. Masi, C.M., D.J. Blackman, and M.E. Peek, Interventions to enhance breast cancer screening, diagnosis, and treatment among racial and ethnic minority women. *Med Care Res Rev*, 2007. 64(5 Suppl): p. 195s-242s.
68. Dall GV, Britt KL. Estrogen effects on the mammary gland in early and late life and breast cancer risk. *Frontiers in Oncology*.

69. Kavlak O, Bal Yılmaz H, Dülgerler Ş. Emzirme ve kanser araştırmalarının incelenmesi. *The Journal of Breast Health*. 2010;6(4):141-144.
70. Anstey EH, Shoemaker ML, Barrera CM, O'Neil ME, Verma AB, Holman DM. Breastfeeding and breast cancer risk reduction: implications for black mothers. *American Journal of Preventive Medicine*. 2017;53(3):40–46.
71. Breast Cancer Risk Factors and Prevention Methods. American Cancer Society. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/risk-and-prevention/breast-cancer-risk-factors-you-cannot-change.html>.
72. Salman MC, Gültekin M, Taşkiran Ç, Ayhan A. Hormon ve meme. *Türk Jinekolojik Onkol Derg*. 2005;8(2):37-53.
73. Ozsoy A, Barca N, Akdal Dolek B, et al. The relationship between breast cancer and risk factors: a single-center study. *European Journal of Breast Health*. 2017;13(3):145–149.
74. Cancer CG on HF in B. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. *Lancet* (London, England). 1997;350(9084):1047–59.
75. Casey PM, Cerhan JR, Pruthi S. Oral contraceptive use and the risk of breast cancer. *Mayo Clin Proc* 2008;83(1):86-91.
76. Kahlenborn C, Modugno F, Potter DM, Severs WB. Oral contraceptive use as a risk factor for premenopausal breast cancer: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2006;81(10):1290-1302.
77. Wahidin M, Djuwita R, Adisasmita A. Oral contraceptive and breast cancer risks: a case control study in six referral hospitals in Indonesia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018;19(8):2199-220.
78. Terry MB, Zhang FF, Kabat G, et al. Lifetime alcohol intake and breast cancer risk. *Ann Epidemiol*. 2006;16(3):230-240.

79. Suzuki R, Ye W, Rylander-Rudqvist T, Saji S, Colditz GA, Wolk A. Alcohol and postmenopausal breast cancer risk defined by estrogen 54 and progesterone receptor status: a prospective cohort study. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97(21):1601-1608.
80. Amadou A, Ferrari P, Muwonge R, et al. Overweight, obesity and risk of premenopausal breast cancer according to ethnicity: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Obes Rev.* 2013;14(8):665-678.
81. Key, T.J., et al., Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst.* 2003. 95(16): p. 1218-1226
82. Ward BA, McKhann CF, Ravikumar TS. Ten-Year Follow-up of Breast Carcinoma In Situ in Connecticut. *Arch Surg.* 1992;127(12):1392–1395.
83. Lester SC, Bose S, Chen YY, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with invasive carcinoma of the breast. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(10):1515–1538.
84. Quinn CM, Ostrowski JL. Cytological and architectural heterogeneity in ductal carcinoma in situ of the breast. *J Clin Pathol.* 1997;50(7):596–599.
85. Bagaria SP, Shamonki J, Kinnaird M, et al. The Florid Subtype of Lobular Carcinoma In Situ: Marker or Precursor for Invasive Lobular Carcinoma? *Ann Surg Oncol.* 2011;18(7):1845–1851.
86. Shamir ER, Chen Y-Y, Chu T, et al. Pleomorphic and Florid Lobular Carcinoma In Situ Variants of the Breast. *Am J Surg Pathol.* 2019;43(3):399–408.
87. Li CI, Daling JR, Malone KE. Age-Specific Incidence Rates of In situ Breast Carcinomas by Histologic Type, 1980 to 2001. *Cancer Epidemiol Prev Biomarkers.* 2005;14(4):1008–1011.
88. Goldblum JR, Lamps LW, McKenney JK, Myers JL. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 11th edition. Philadelphia. 2018.
89. Silver SA, Tavassoli FA. Pleomorphic carcinoma of the breast: clinicopathological analysis of 26 cases of an unusual high-grade phenotype of ductal carcinoma. *Histopathology* 2000; 36 (6): 505-514.

90. Herrington CS, Tarin D, Buley I, Athanasou N. Osteosarcomatous differentiation in carcinoma of the breast: a case of 'metaplastic' carcinoma with osteoclasts and osteoclast-like giant cells. *Histopathology* 1994; 24 (3): 282-285.
91. Sheth NA, Saruiya JN, Ranadive KJ, Sheth AR. Ectopic production of human chorionic gonadotrophin by human breast tumours. *British Journal of Cancer* 1974; 30 (6): 566-570.
92. Nobukawa B, Fujii H, Hirai S, Kumasaka T, Shimizu H, Matsumoto T, et al. Breast carcinoma diverging to aberrant melanocytic differentiation: a case report with histopathologic and loss of heterozygosity analyses. *The American Journal of Surgical Pathology* 1999; 23 (10): 1280-1287.
93. Padmore RF, Lara JF, Ackerman DJ, Gales T, Sigurdson ER, Ehya H, et al. Primary combined malignant melanoma and ductal carcinoma of the breast. A report of two cases. *Cancer* 1996; 78 (12): 2515-2525.
94. Ellis IO, Galea M, Broughton N, Locker A, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1992; 20 (6): 479-489.
95. Foote F. W.. Jr., and Stewart, FW: A histologic classification of carcinoma of the breast. *Surgery*. 1946;19:74–99.
96. Martinez V, Azzopardi JG. Invasive lobular carcinoma of the breast: incidence and variants. *Histopathology*. 1979;3(6):467–488.
97. Arpino G, Bardou VJ, Clark GM, Elledge RM. Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome. *Breast Cancer Research: BCR* 2004; 6 (3): R149-56.
98. Hoda SA, Brogi E, Koerner F, Rosen PP. *Rosen's Breast Pathology*. 4th ed. China: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
99. Fechner RE. Histologic variants of infiltrating lobular carcinoma of the breast. *Hum Pathol*. 1975;6(3):373–378.

100. Shousha S, Backhous CM, Alaghband-Zadeh J, et al. Alveolar Variant of Invasive Lobular Carcinoma of the Breast: A Tumor Rich in Estrogen Receptors. *Am J Clin Pathol.* 1986;85(1):1–5
101. Fisher ER, Gregorio RM, Redmond C, et al. Tubulolobular invasive breast cancer: A variant of lobular invasive cancer. *Hum Pathol.* 1977;8(6):1679–1683.
102. Porter PL, Garcia R, Moe R, Corwin DJ, Gown AM. C-erbB-2 oncogene protein in in situ and invasive lobular breast neoplasia. *Cancer* 1991; 68 (2): 331-334.
103. De Leeuw WJ, Berx G, Vos CB, Peterse JL, Van de Vijver MJ, Litvinov S, et al. Simultaneous loss of E-cadherin and catenins in invasive lobular breast cancer and lobular carcinoma in situ. *The Journal of Pathology* 1997; 183 (4): 404-411.
104. Oakley GJ, Tubbs RR, Crowe J, et al. HER -2 Amplification in Tubular Carcinoma of the Breast. *Am J Clin Pathol.* 2006;126(1):55–58.
105. Kader HA, Jackson J, Mates D, Andersen S, Hayes M, Olivotto IA. Tubular carcinoma of the breast: a population-based study of nodal metastases at presentation and of patterns of relapse. *The Breast Journal* 2001; 7 (1): 8-13.
106. Sloane JP, Mayers MM. Carcinoma and atypical hyperplasia in radial scars and complex sclerosing lesions: importance of lesion size and patient age. *Histopathology* 1993; 23 (3): 225-231.
107. Rakha EA, Lee AH, Evans AJ, Menon S, Assad NY, Hodi Z, et al. Tubular carcinoma of the breast: further evidence to support its excellent prognosis. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 2010; 28 (1): 99-104.
108. Anderson WF, Pfeiffer RM, Dores GM, Sherman ME. Comparison of age distribution patterns for different histopathologic types of breast carcinoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: a Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2006; 15 (10): 1899-1905.

109. Rapin V, Contesso G, Mouriesse H, Bertin F, Lacombe MJ, Piekarski JD, et al. Medullary breast carcinoma. A reevaluation of 95 cases of breast cancer with inflammatory stroma. *Cancer* 1988; 61 (12): 2503-2510.
110. Huvos AG, Lucas JC, Jr., Foote FW, Jr. Metaplastic breast carcinoma. Rare form of mammary cancer. *New York State Journal of Medicine* 1973; 73 (9): 1078-1082.
111. Lester SC, Hicks DG. *Diagnostic pathology: breast*: Elsevier Health Sciences; 2016.
112. Gersell DJ, Katzenstein A-LA. Spindle cell carcinoma of the breast: a clinocopathologic and ultrastructural study. *Hum Pathol.* 1981;12(6):550–561.
113. Wargotz ES, Does PH, Norris HJ. Metaplastic carcinomas of the breast. II. Spindle cell carcinoma. *Hum Pathol.* 1989;20(8):732–740.
114. Rosen PP. *Rosen's breast pathology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
115. Droufakou S, Deshmane V, Roylance R, Hanby A, Tomlinson I, Hart IR. Multiple ways of silencing E-cadherin gene expression in lobular carcinoma of the breast. *International Journal of Cancer Journal International du Cancer* 2001; 92 (3): 404-408.
116. Weigelt B, Horlings HM, Kreike B, Hayes MM, Hauptmann M, Wessels LF, et al. Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types. *The Journal of Pathology* 2008; 216 (2): 141.
117. Eusebi V, Millis RR, Cattani MG, et al. Apocrine carcinoma of the breast. A morphologic and immunocytochemical study. *Am J Pathol.* 1986;123(3):532–541.
118. Page DL. Apocrine carcinomas of the breast. *The Breast.* 2005;14(1):1–2.
119. Vranic S, Schmitt F, Sapino A, et al. Apocrine carcinoma of the breast: a comprehensive review. *Histol Histopathol.* 2013;28(11):1393–1409.

120. Vranic S, Gatalica Z, Deng H, Frkovic-Grazio S, Lee LM, Gurjeva O, et al. ER-alpha36, a novel isoform of ER-alpha66, is commonly over-expressed in apocrine and adenoid cystic carcinomas of the breast. *Journal of Clinical Pathology* 2011; 64 (1): 54-57.
121. Bhargava R, Beriwal S, Striebel JM, Dabbs DJ. Breast cancer molecular class ERBB2: preponderance of tumors with apocrine differentiation and expression of basal phenotype markers CK5, CK5/6, and EGFR. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology: AIMM / Official Publication of the Society for Applied Immunohistochemistry* 2010; 18 (2): 113-118.
122. Di Saverio S, Gutierrez J, Avisar E. A retrospective review with long term follow up of 11,400 cases of pure mucinous breast carcinoma. *Breast cancer research and treatment.* 2008 Oct;111 (3):541-547.
123. Barkley CR, Ligibel JA, Wong JS, Lipsitz S, Smith BL, Golshan M. Mucinous breast carcinoma: a large contemporary series. *American journal of surgery.* 2008 Oct;196 (4):549-551.
124. Tan PH, Tse GM, Bay BH. Mucinous breast lesions: diagnostic challenges. *Journal of clinical pathology.* 2008 Jan;61 (1):11-19.
125. Lacroix-Triki M, Suarez PH, MacKay A, Lambros MB, Natrajan R, Savage K, et al. Mucinous carcinoma of the breast is genomically distinct from invasive ductal carcinomas of no special type. *The Journal of pathology.* 2010 Nov;222 (3):282-298.
126. Kuroda H, Sakamoto G, Ohnisi K, Itoyama S. Overexpression of Her2/neu, estrogen and progesterone receptors in invasive micropapillary carcinoma of the breast. *Breast cancer.* 2004;11 (3):301-306.
127. Page DL, Dixon JM, Anderson TJ, et al. Invasive cribriform carcinoma of the breast. *Histopathology.* 1983;7(4):525–536.
128. Dabbs DJ. *Breast pathology.* 2nd edition. Philadelphia, 2016.
129. Elston CW, Ellis IO. pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19(5):403-410.

130. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. Clin Cancer Res 2004; 10(16):5367-5374.
131. Krishnamurthy S, Poornima R, Challa VR, Goud YB. Triple negative breast cancer-our experience and review. Indian J Surg Oncol 2012; 3(1):12-16.
132. Ping Tang, Gary M. Tse. Immunohistochemical Surrogates for Molecular Classification of Breast Carcinoma: A 2015 Update. Archives of Pathology & Laboratory Medicine. 2016;140(8):806-814.
133. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology. 2013;24(9):2206-2223.
134. Donegan WL. Staging and primary treatment. In: Donegan WL, Spratt JS. Cancer of the breast, 4th ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1995: 375-384.
135. Ciatto S, Pacini P, Axini J, et al. Preoperative staging of primary breast carcinoma. Cancer. 1988; 61: 1038-1764.
136. Fleming ID. For the American Joint Commission on Cancer. In: Cooper JS, Henson DE. AJCC Cancer staging manual, 5th edition. Philadelphia: LippincottRaven, 1997: 45-49.
137. Amin MB. AJCC Cancer Staging System, 8th Edition. American Joint Committee on Cancer. 2017.
138. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. Lancet. 2005;365:1687-1717.
139. Arriagada R, Le MG, Dunant A, Tubiana M, Contesso G. Twenty-five years of follow-up in patients with operable breast carcinoma: correlation between clinicopathologic factors and the risk of death in each 5-year period. Cancer. 2006;106:743-50.

140. Stickeler E. Prognostic and Predictive Markers for Treatment Decisions in Early Breast Cancer. *Breast Care (Basel)*. 2011;6:193-198.
141. Berg JW, Robbins GF. Factors influencing short and long-term survival of breast cancer patients. *Surg Gynecol Obstet*. 1966; 122: 1311-1316.
142. Robbins GF, Leis HP Jr, Hutter Rup. A rational approach to and result of women with breast carcinoma. *J Breast* 1997; 3: 9-13.
143. Joensuu H, Toikanen S, Klemi PJ. DNA index and S phase fraction and their combinations as prognostic factors in operable ductal breast carcinoma. *Cancer*. 1990; 66: 331-340.
144. Crowe JR, JP Gordon NH, Shenk RR, Zolliger Jr. RM, Brumberg DJ and Shuck JM. Primary tumor size. Relevance to Breast Cancer Survival. *Arch Surg* 1992; 127: 910-915.
145. Du Toit RS, Locker AP, Ellis IO, et al. Invasive lobular carcinoma of the breast. *Br J Cancer* 1989; 60: 605-609.
146. Rosen PP. Invasive lobular carcinoma. In: Rosen PP. *Breast Pathology*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997: 545-65.7.
147. Tavassol FA, Norris HJ. Secretory carcinoma of the breast. *Cancer* 1980; 45: 2404-2413.
148. International Histological Classifications of tumours. In: World Health Organization. *Histological Typing of Breast Tumors*, 2nd ed. Geneva: World Health Organizations 1982:19.
149. Cartens PHB, Greenberg RA, Francis D, et al. Tubular carcinoma of the breast: A long term follow-up. *Histopathology* 1985; 9: 221-280.
150. Anderson TJ, Lamb J, Donnan P, et al. Comparative pathology of breast cancer in randomised trial of screening. *Br J Cancer* 1991; 64: 108-113.
151. Tavassoli FA. Infiltrating carcinoma: special types. In: Tavassoli FA, editor. *Pathology of the breast*. 2nd ed. Stamford, CT: Appleton & Lange; 1999, p. 481-570.

152. Reis-Filho JS, Milanezi F, Steele D, et al. Metaplastic breast carcinomas are basal-like tumors. *Histopathology* 2006;49:10-21
153. Giri DD, Dundas SAC, Nothingam JF, Underwood JCE. Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraductal carcinomas of the breast: An immunohistological study. *Histopathology*. 1989; 574-584.
154. Tavanssol F. *Pathology of the breast*. 2nd Ed. Stamford, Connecticut: Appleton & Lange, 1999; 52-53.
155. Molino A, Micciolo R, Turazza M, Bonetti F, Piubello Q, Cougnati A, et al. Prognostic significance of estrogen receptors in 405 primary breast cancers. *Breast Cancer Res Treat*. 1997; 45: 241-249.
156. Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer* 2007; 96:1504.
157. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353:1659-1672.
158. Kroman N, Jensen MB, Wohlfahrt J, Mouridsen HT, Andersen PK, Melbye M. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study *BMJ*. 2000;320:474.
159. Eliassen AH, Colditz GA, Rosner B, Willett WC, Hankinson SE. Adult weight change and risk of postmenopausal breast cancer. *JAMA* 2006; 296: 193-201.
160. Hughes K, Blanck M, Pensa S, Watson CJ. Stat3 modulates chloride channel accessory protein expression in normal and neoplastic mammary tissue. *Cell Death Dis*. 2016; 7: e2398.
161. Pawlowski K, Lepisto M, Meinander N, Sivars U, Varga M, Wieslander E. Novel conserved hydrolase domain in the CLCA family of alleged calcium-activated chloride channels. *Proteins*. 2006; 63: 424-39. <https://doi.org/10.1002/prot.20887>.

162. Piirsoo M, Meijer D, Timmusk T. Expression analysis of the CLCA gene family in mouse and human with emphasis on the nervous system. *BMC Dev Biol.* 2009; 9: 10.
163. Yang B, Cao L, Liu B, McCaig CD, Pu J. The transition from proliferation to differentiation in colorectal cancer is regulated by the calcium activated chloride channel A1. *PLoS One.* 2013; 8: e60861.
164. Yang B, Cao L, Liu J, Xu Y, Milne G, Chan W, Heys SD, McCaig CD, Pu J. Low expression of chloride channel accessory 1 predicts a poor prognosis in colorectal cancer. *Cancer.* 2015; 121: 1570-80.
165. Sasaki Y, Koyama R, Maruyama R, Hirano T, Tamura M, Sugisaka J, Suzuki H, Idogawa M, Shinomura Y, Tokino T. CLCA2, a target of the p53 family, negatively regulates cancer cell migration and invasion. *Cancer Biol Ther.* 2012; 13: 1512-21.
166. Walia V, Yu Y, Cao D, Sun M, McLean JR, Hollier BG, Cheng J, Mani SA, Rao K, Premkumar L, Elble RC. Loss of breast epithelial marker hCLCA2 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and indicates higher risk of metastasis. *Oncogene.* 2012; 31: 2237-46.
167. Walia V, Ding M, Kumar S, Nie D, Premkumar LS, et al. (2009) hCLCA2 Is a p53-Inducible Inhibitor of Breast Cancer Cell Proliferation. *Cancer Res* 69: 6624–6632.
168. Hou T, Zhou L, Wang L, Kazobinka G, Zhang X, Chen Z. CLCA4 inhibits bladder cancer cell proliferation, migration, and invasion by suppressing the PI3K/AKT pathway [published correction appears in *Oncotarget.* 2019 Jan 29;10(9):1010]. *Oncotarget.* 2017;8(54):93001-93013. Published 2017 Oct 9. doi:10.18632/oncotarget.21724.
169. Chen H, Liu Y, Jiang CJ, Chen YM, Li H, Liu QA. Calcium-Activated Chloride Channel A4 (CLCA4) Plays Inhibitory Roles in Invasion and Migration Through Suppressing Epithelial-Mesenchymal Transition via PI3K/AKT Signaling in Colorectal Cancer. *Med Sci Monit.* 2019;25:4176-4185. Published 2019 Jun 5.

170. Lihui W, Wujin C, Jinyan Z, Yi F, Jiumao L :Downregulation of CLCA4 expression is associated with the development and progression of colorectal cancer May 18, 2020.
171. Xia J, Wang H, Li S, Wu Q, Sun L, Huang H, Zeng M. Ion channels or aquaporins as novel molecular targets in gastric cancer. *Mol Cancer*. 2017;16:54.
172. Man Y, Cao J, Jin S, Xu G, Pan B, Shang L, Che D, Yu Q, Yu Y. Newly identified biomarkers for detecting circulating tumor cells in lung adenocarcinoma. *Tohoku J Exp Med*. 2014;234:29–40.
173. Kolbe EW, Tamm S, Hedtfeld S, Becker T, Tümmler B, Stanke F. CLCA4 variants determine the manifestation of the cystic fibrosis basic defect in the intestine. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(6):691-694.
174. Han J, Zhang X, Liu Y, Jing L, Liu YB, Feng L. CLCA4 and MS4A12 as the significant gene biomarkers of primary colorectal cancer. *Biosci Rep*. 2020;40(8):BSR20200963.
175. Yu, Yang et al. “Loss of CLCA4 promotes epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer cells.” *PloS one* vol. 8,12 e83943. 26 Dec. 2013.
176. Song X, Zhang S, Li S, Wang Y, Zhang X, Xue F. Expression of the CLCA4 Gene in Esophageal Carcinoma and Its Impact on the Biologic Function of Esophageal Carcinoma Cells. *J Oncol*. 2021;2021:1649344. Published 2021 Jun 4.
177. Li B., Jiang Y.-P., Zhu J., Meng L. MiR-501-5p acts as an energetic regulator in head and neck squamous cell carcinoma cells growth and aggressiveness via reducing CLCA4. *Molecular Biology Reports*. 2020;47(3):2181–2187.
178. Hussein A.A., Forouzanfar T., Bloemena E., de Visscher J., Brakenhoff R.H., Leemans C.R. et al. (2018) A review of the most promising biomarkers for early diagnosis and prognosis prediction of tongue squamous cell carcinoma. *Br. J. Cancer* 119, 724–736.

179. Britschgi A, Bill A, Brinkhaus H, Rothwell C, Clay I, et al. (2013) Calcium-activated chloride channel ANO1 promotes breast cancer progression by activating EGFR and CAMK signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: E1026–1034.

