

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**METASTATİK MEME KARSİNOMUNDA OSTEOPONTİN VE
CYCLIN D1 EKSPRESYONU DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Merve SEVİM**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Asude AKSOY**

**ELAZIĞ
2019**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Asude AKSOY _____ **Danışman**

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

İhtisasımı yaparken bilgi ve birikimleriyle bana yol gösteren F.Ü. İç Hastalıkları AD'nin değerli öğretim üyelerine ve bugüne kadar üzerimde emeği olan bütün öğretmenlerime, beraber çalıştığımız, çalışma ortamımızın her zaman yardımlaşma içinde ve dostuk havasında geçmesini sağlayan ve bir kısmı artık uzman olan değerli asistan arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanması sürecinde bana mesai dışı zamanlarında bile her fırsatta yardımcı olan tez danışmanım Onkoloji AD Öğretim Üyesi Doç. Dr. Asude AKSOY'a, tezimin kurgu aşamasından itibaren değerli fikirleriyle destek olan, tezimdeki immunhistokimyasal çalışmaları yürüten Patoloji AD Öğretim Üyesi Doç. Dr. Gökhan ARTAŞ'a, çalışmanın istatistiksel analizlerini özenle yapan F.Ü Biyoistatistik AD Arş. Gör. Betül DAĞOĞLU'na, olguların klinik bilgilerine erişmemde yardımcı olan Onkoloji poliklinik sekreteri Sami IŞIK'a ve tüm patoloji laboratuvarı çalışanlarına teşekkürü borç bilirim.

Son olarak kalemi ilk kez elime veren, sevgi ve destekleriyle emekleri üzerimde herkesten çok olan, beni bugünlere getiren ve her zaman yanımda olan annem ve babama, hayatı zevkle paylaştığım her konuda destekçim değerli eşime ve bu süreçte zaman zaman bebekliklerinden çaldığımı hissettiğim en değerli varlıklarım oğlum ve kızıma teşekkürü borç bilirim...

Dr. Merve SEVİM

ÖZET

Meme karsinomu kadınlarda en sık görülen kanserdir. Kansere bağılı ölümlerde 2. sırada yer almaktadır. Her yıl yaklaşık 1.5 milyon kişi yeni meme karsinomu tanısı almaktadır. Hastalığın seyri temel olarak metastaz durumuna bağılı olduğundan hangi hastalarda daha çok metastaz görüleceğı konusunda güvenilir ve spesifik biyobelirteç arayışları önem kazanmıştır.

Osteopontin (OPN) mineralize kemik matriksinde osteoklastların bağlanması rol oynayan bir asidik yapışkan glikoproteindir. OPN, vasküler endotelial faktör ekspresyonunu artırarak, proliferatif sürece ve tümör progresyonuna katkıda bulunur. Cyclin D1 (CD1)'in fazla ekspresyonu hücre siklusunun G1 fazını kısaltarak, karsinom oluşumunun erken fazından ve tümör progresyonundan sorumlu tutulmaktadır.

Bu çalışmada invaziv duktal meme karsinomu tanılı olgularda CD1, OPN ekspresyonları bazı klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi araştırıldı. Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalında 2008-2017 yılları arasında takip edilen lokal ileri evre ve ileri evredeki 30'ar olgu ile karsinom tanısı olmayan 10 olgu alındı. Olguların patoloji preparatları immünohistokimyasal boyama ile CD1, OPN ekspresyonları “Düşük” ve “Yüksek” olarak kategorize edildi. Ekspresyon dereceleri ile olguların klinikopatolojik özellikleri, sağkalımları arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak, % 95 güven aralığında, $p < 0.05$ istatistiksel anlamlılık içerisinde değerlendirildi.

Çalışmada CD1 ekspresyonu normal meme dokusuna göre ileri evredeki meme kanserli olgularda yüksek bulunurken, OPN ekspresyonu daha düşük bulundu ($p < 0.05$). CD1 ekspresyonu ileri evredeki olgularda lokal ileri evredekilere göre daha yüksek bulundu ($p = 0.003$). CD1 ve OPN ekspresyon dereceleri ile ortalama sağkalım (OS) arasında anlamlı fark bulunmadı. İmmünohistokimyasal olarak; yüksek CD1 ve düşük OPN düzeyleri invaziv meme karsinomu olgularında metastaz varlığını öngörmede kullanılabilecek biyomarkırlar gibi görünmekle birlikte bu konuda daha kapsamlı araştırmalar bilinmezleri aydınlatacaktır.

Anahtar Kelimeler: Meme karsinomu, metastaz, cyclin D1, osteopontin

ABSTRACT

EVALUATION OF OSTEOPONTIN AND CYCLIN D1 EXPRESSION IN METASTATIC BREAST CARCINOMA

Breast carcinoma is the most common cancer in women. It is ranked 2nd in cancer-related deaths. Approximately 1.5 million people are diagnosed with new breast carcinoma every year. As the course of the disease depends mainly on the status of metastasis, the researches for a reliable and specific biomarker has gained importance to predict which patients will metastasize.

Osteopontin (OPN) is an acidic adhesive glycoprotein involved in the binding of osteoclasts in the mineralized bone matrix. OPN contributes to proliferative process and tumor progression by increasing vascular endothelial factor expression. Overexpression of Cyclin D1 (CD1) is responsible for the early stage of carcinoma formation and tumor progression by shortening the G1 phase of the cell cycle.

In this study, we investigated the relationship between CD1, OPN expressions and some clinicopathological parameters in patients with invasive ductal breast carcinoma. The study included 30 patients with local advanced stage and advanced stage who were followed in Firat University Medical Oncology Department between 2008-2018. 10 patients without carcinoma were also included as control group.

Pathological specimens of the cases were stained immunohistochemically and categorized in two as “low expression” and “high expression” for CD1 and OPN. Clinicopathological features and survival rates of the patients were evaluated statistically with in 95% confidence interval and $p < 0.05$.

In the study, CD1 expression was found to be higher in breast cancer patients with advanced breast tissue compared to normal breast tissue, whereas OPN expression was found to be lower ($p < 0.05$). CD1 expression was found to be higher in the advanced stage than in the locally advanced group ($p = 0.003$). There was no significant difference between CD1 and OPN expression degrees and mean survival (OS). Immunohistochemically; although high CD1 and low levels of OPN seem to be biomarkers that can be used to predict the presence of metastases in invasive breast carcinoma cases, more extensive researches will clarify the unknowns.

Keywords: Breast carcinoma, metastasis, cyclin D1, osteopontin

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.1.1. Tanım ve Epidemiyoloji	1
1.1.2. Etiyoloji	2
1.1.3. Risk Faktörleri	3
1.1. 4. Meme Karsinomu Klinik ve Tanı	5
1.1.5. Meme Karsinomu Histopatolojik Sınıflandırma	6
1.1.5.1. İn situ Karsinomlar	7
1.1.5.2. İnvaziv Karsinomalar	7
1.1.5.3. Meme Kanseri Histolojik Gradlama	7
1.1.5.4. Meme Karsinomu Evreleme	8
1.1.5.5. Meme Karsinomunda İmmunhistokimyasal Belirteçler	10
1.1.5.5.1. Östrojen Reseptörü ve Progesteron Reseptörü	10
1.1.5.5.2. İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (HER2)	11
1.1.5.5.3. Ki-67	11
1.1.5.5.4. TP53	11
1.1.5.6. Meme Karsinomunun Moleküler Belirteçlere Göre Prognostik Sınıflaması	12
1.1.5.7. AJCC 2018 Meme Karsinomu Anatomik Evreleme	12
1.1.5.8. AJCC Prognostik Evreleme Grupları	13
1.1.5.8.1. Klinik Prognostik Evreleme	13
1.1.5.8.2. Patolojik Prognostik Gruplar	13
1.1.5.8.3. AJCC Multigenik Panellere Göre Patolojik Prognostik Evreleme	16
1.1.6. Meme Kanserinde Prognostik ve Prediktif Faktörler	17

1.1.6.1. Majör prognostik faktörler	17
1.1.6.2. Minör prognostik faktörler	20
1.1.7. Hücre Siklusu, Siklus Düzenleyici Proteinler ve İnsan Neoplazisindeki Roller	22
1.1.7.1 Sikline Bağlı Kinazlar (CDK)	22
1.1.7.2 Siklinler	22
1.1.7.3. D Tipi Siklinler ve Siklin D1	25
1.1.7.3.1. Siklin D1 ve Kanser	26
1.1.7.4. İleri Evre Meme Kanserinde Tedavide Selektif CDK4/6 İnhibitörleri	27
1.1.8. Osteopontin: Kanser Tedavisinde Umut Vaad Eden Biyobelirteç	29
1.1.8.1. Yapısı ve Normal Hücrelerde Fonksiyonları	29
1.1.8.2. Kanser Progresyonunda Osteopontinin Genel Rolü	30
1.1.8.3. Tümör Hücresi Proliferasyonunda Osteopontinin Rolü	31
1.1.8.4. Kanser Metastazı ve Osteopontin	32
1.1.8.5 Osteopontin ve Meme Kanser	33
2. GEREÇ VE YÖNTEM	35
2.1. Hasta Seçimi ve Çalışma Metodu	35
2.2. İmmunohistokimyasal Çalışmalar	35
2.3. İstatistiksel değerlendirme	36
3. BULGULAR	37
3.1. Klinik Bulgular	37
3.2. Histopatolojik ve immunhistokimyasal Bulgular	40
3.3. Metastatik Özellikler	41
3.4. Sağkalım Analizleri	42
4. TARTIŞMA	47
5. KAYNAKLAR	54
6. ÖZGEÇMİŞ	65

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	DSÖ'nün invaziv meme kanseri histopatolojik sınıflaması -2012	6
Tablo 2.	AJCC 2018'e göre gözden geçirilmiş TNM sınıflaması	9
Tablo 3.	Meme karsinomunda TNM Evrelemesi	13
Tablo 4.	AJCC 8'e Göre Prognostik Evreleme Grupları	14
Tablo 5.	AJCC 8 yeni evreleme sistemine göre klinik evreleme	16
Tablo 6.	AJCC TNM sınıflamasında metastaz (M) durumu	18
Tablo 7.	AJCC TNM sınıflamasında lenf nodu (N) durumu	18
Tablo 8.	AJCC 8 TNM sınıflamasına göre tümör (T) evrelemesi	19
Tablo 9.	Modifiye Bloom- Richardson Gradlama Sistemi	21
Tablo 10.	Olguların klinikopatolojik özellikleri	37
Tablo 11.	Bazı klinik özellikler ile CD1 ve OPN ekspresyon oranları arasındaki ilişki	38
Tablo 12.	Sağlıklı grup ve hasta grupları arasındaki CD1 ve OPN ekspresyonlarının kontrol grubuna göre değerlendirilmesi	39
Tablo 13.	Olguların bazal özellikleri ile CD1 ve OPN ekspresyonları arasındaki korelasyon ilişkisi	39
Tablo 14.	Patoloji örneklemelerinin immunhistokimyasal özelliklerine göre dağılımı	40
Tablo 15.	Patoloji örneklemelerinin immunhistokimyasal belirteçleri ile CD1 ve OPN ekspresyon oranları arasındaki ilişki.	41
Tablo 16.	Olguların metastaz ve nüks yerlerine göre dağılımı	41
Tablo 17.	Metastaz yerleri CD1 ve OPN ekspresyonları arasındaki ilişki.	42
Tablo 18.	Cox regresyon (çok değişkenli) analizine göre sağkalımı etkileyen faktörler	45
Tablo 19.	Histopatolojik özelliklerinin sağkalım üzerine etkileri	46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Hücre döngüsü ve kanserle ilişkisi	24
Şekil 2.	Hücre döngüsünde siklin tipleri	25
Şekil 3.	Hücre döngüsü ilerlemesinde CDK4/6'nın düzenlenmesi ve işlevi	28
Şekil 4.	Tümör progresyonunda osteopontinin sinyal yolları üzerine etkileri	30
Şekil 5.	Kanser metastazında osteopontinin rolü	32
Şekil 6.	Kaplan Meier analizine göre olguların evrelere göre sağkalım grafiği	43
Şekil 7.	Siklin D1 için ROC eğrisi	43
Şekil 8.	Osteopontin için ROC eğrisi	44
Şekil 9.	Kaplan Meier'e göre CD1 düzeylerine göre ortalama sağkalım eğrisi	44
Şekil 10.	Kaplan Meire'e göre OPN düzeylerine göre ortalama sağkalım eğrisi	45

KISALTMALAR LİSTESİ

AJCC	: American Joint Committee on Cancer
CCND1	: Cyclin D1 geni
CD1	: Cyclin D1
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
DCIS	: Duktal karsinoma in situ
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
EMT	: Epitelyum-mezenkimal geçiş
ER	: Östrojen reseptörü
FDA	: Gıda ve ilaç idaresi
FoxM1	: “Forkhead box” proteini 1
H&E	: Hematoksilin Eozin
HER2	: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
HRT	: Hormon replasman tedavisi
HSK	: Hastalıksız sağkalım
IDC	: İnvaziv duktal karsinom
İDK	: İnvaziv duktal karsinom
ILC	: İnvaziv lobüler karsinom
IMK	: İnvaziv meme karsinomu
İMK-NST	: İnvaziv meme karsinomu, nonspesifik tip
LCIS	: Lobüler karsinoma in situ
M	: Uzak bölgelere yayılım
MBR	: Modifiye Scarff-Bloom-Richardson
MEKK1	: Mitojenle aktive olan protein kinaz1
MKC	: Meme koruyucu cerrahi
MRM	: Modifiye radikal mastektomi
N	: Aksiller lenf nodlarına yayılım
NIK	: Nükleer faktör indükleyici kinaz
OKS	: Oral kontraseptif
OPN	: Osteopontin
PPAR	: Peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör

PR	: Progesteron reseptörü
RB	: Retinoblastom geni
ROC	: Receiver operation caharacteristics
SK	: Sağkalım
T	: Tümör boyutu
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
WHO	: Dünya sağlık örgütü (World Health Organization)



1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Meme karsinomu tüm dünyada 2. en sık ve kadınlar arasında en sık görülen karsinom türüdür. Birçok meme karsinomu laktofer lobül veya duktuslardan başlar. Teşhis ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen her yıl meme karsinomuna bağlı 40.000 ölüm görülmektedir (1, 2). Dünyada kadınlarda akciğer karsinomundan sonra ölüme en çok neden olan karsinomudur. Görülme sıklığı yaşla artmaktadır ve 45-55 yaşları arasındaki kadınlarda ise ölüme en sık neden olan karsinomdur. Meme karsinomu gelişmiş ülkelerde, gelişmekte olan ülkelere göre daha sık görülmektedir. 2012 yılında 1.67 milyon yeni vaka bildirilmiştir ve bu sayı tüm karsinomların %25'ini oluşturmaktadır (3).

Türkiyede yapılan çalışmalarda da tüm yaş gruplarında kadınlar arasında karsinomların %24.7'si ile 1.sırada meme karsinomu gelmektedir. Tanı konulan her 4 kadın karsinomundan 1'i meme karsinomudur. Ülkemizde meme karsinomu tanısı alan kadınların %44.5'inin 50-69 yaş yaş arasında olduğu, %40.6'sının ise 25-49 yaş aralığında olduğu görülmüştür. Tanı alma ortanca yaşı 53 olarak bulunmuştur. Meme karsinomunun insidansı 43/100.000'dir. Bir yıl içinde toplam 17.183 kadın meme karsinomu tanısı almıştır bunların sadece %11.5'inin ileri evrede olduğu gösterilmiştir (4).

Meme karsinomunda temel mortalite nedeni kritik organ tutulumlarına bağlı organ yetmezlikleridir. Bu karsinom için metastazla ilişkisi araştırılan birçok prognostik faktör olmakla birlikte ağırlıklı olarak östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) durumu ile kritik organ tutulumu etkili olabilmektedir. Meme karsinomunda hastalığın seyri temel olarak metastaz durumuna bağlı olduğundan hangi hastalarda daha çok metastaz görüleceği, metastazların kritik organlara ulaşp ulaşmayacağının, dolayısıyla hastalarda sağkalım beklentisinin önceden tahmini konusunda güvenilir ve spesifik biyobelirteçler son yıllarda önemli bir araştırma konusudur.

İleri evre meme karsinomlu hastalar genellikle düşük riskli ve yüksek riskli olmak üzere 2 grupta incelenebilir. Düşük riskli gruptaki hastalar genellikle

asemptomatik ve uzun süre hastaliksız intervale sahiptirler, hastalık kemik veya yumuşak dokuya sınırlıdır. Bazı hastalarda minimal viseral hastalık bulunabilir. Bu gruptaki hastalar genellikle ileri yaşta, post-menapozal ve hormon reseptörü pozitif hastalardır. Bu hastalarda endokrin tedaviler uygun seçeneklerdir. Yüksek riskli hastalar ise yukardaki özelliklerin tam tersine hormon reseptörü negatif, yaygın viseral organ tutulumu görülebilen, kısa hastaliksız intervale sahiptirler. Bu hastalarda sitotoksik tedaviler tercih edilmektedir.

Cyclin D1 (CD1) hücre döngüsünde ilerletici rol oynayan protein grubundandır. Birçok malignitede onkogeneze sürecinde CD1'in aşırı ekspresyonunun görüldüğü bulunmuştur. İçinde meme karsinomunun da olduğu baş boyun tümörleri, lenfomalar, sarkomlar gibi birçok tümörde CD1 ekspresyonun arttığı görülmüştür. Memenin normal lobüloalveolar gelişimde rol aldığı gibi meme karsinomunda onkogeneze de rol almaktadır. Bu çalışmalardan yola çıkarak meme karsinomu tedavisinde hücre siklus düzenleyicileri olan CD1 ve siklin bağımlı kinaz (CDK) 4/6 inhibitörleri meme karsinomunda kullanılmaya başlanmıştır (5, 6).

Osteopontin (OPN) aktive olmuş makrofajlar, lökositler ve aktive olmuş T lenfositler tarafınca salgılanan ve ekstrasellüler sıvılarda, inflamasyon bölgelerinde ve mineralize dokuların ekstrasellüler matriksinde bulunan fosforile olmuş bir glikoproteindir. OPN hücre sağkalımında, migrasyonunda ve adezyonunda gerekli olan bir sitokindir ve neogeneze, progresyon ve metastazla ilişkilidir. İleri evre meme karsinomlu hastalarda yüksek OPN ekspresyonunun düşük sağkalım ve yüksek tümör yüküyle ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır (7).

Meme karsinomunda metastatik süreçte etkili olabilecek birçok faktör araştırılmıştır fakat CD1 ve OPN ekspresyon oranlarının etkisini ortaya koyan yeterince çalışma yoktur. Bu çalışmada metastatik meme kanserli hastalarda OPN ve CD1 ekspresyonlarının metastatik süreç ve sağkalım üzerine etkileri araştırılmıştır.

1.1.2. Etiyoloji

Meme karsinomunun etiyolojisi diğer birçok kanser türünde olduğu gibi multifaktöriyeldir. Günümüzde yapılan çalışmalar birçok faktörle meme kanseri arasında ilişki saptamıştır. Genetik, çevresel ve diyetle ilgili birçok faktör saptanmıştır. Kalıtsal meme kanseri, tüm meme kanserlerinin yaklaşık %10'unu

oluşturur (8). Bu gruptaki kanserlerde hastalardaki tümör supresör genlerde görülen germline mutasyonlardır. En sık görülen mutasyonlar BRCA1 VE BRCA2 mutasyonlarıdır. BRCA-1 ve BRCA-2 genleri 17. ve 13. kromozomlarda bulunan tümör supresör genlerdir. Bu genlerde görülen mutasyonlar ailesel meme kanserlerinin büyük kısmını oluşturur. Ayrıca p53 ve PTEN tümör süpresör genlerindeki mutasyonların da meme kanseri oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir (8).

1.1.3. Risk Faktörleri

Cinsiyet: Meme kanseri kadınlarda erkeklerden 100 kat daha sık görülür. ABD verilerine göre her yıl 200.000 kadın ve 2000 erkek invaziv meme karsinomu tanısı almaktadır (9, 10).

Yaş: Meme kanseri insidansı yaşla birlikte artar, menopoza kadar her 10 yılda bir ikiye katlanır ve menopoz sonrası artışta dramatik bir yavaşlama izlenir. Akciğer kanseri ile kıyaslandığında daha genç yaşlarda daha yüksek insidansa sahiptir (11, 12).

Genetik Faktörler: Tüm meme kanseri olgularının %10'unu ailevi meme kanserleri oluşturur. BRCA1 (17q21), BRCA2 (13q14), PTEN ve p53 gen mutasyonlarının varlığı ile meme kanseri riski arasında ilişki vardır. Erken tanı ve tedavi şansı açısından risk altındaki bireylerin tanınması, genetik danışmanlık verilmesi ve gerekli taramalarının zamanında yapılması bu grupta tedavi başarısını oldukça artıracaktır. BRCA1 and BRCA2 mutasyonları toplumda %1 oranında görülürler. Tüm meme kanseri vakalarının %7'sinden azında görülürler (13).

- a) **BRCA-1 Gen Mutasyonu:** Bu mutasyonu taşıyan bireylerin yaşam boyu meme kanseri geliştirme riski %65-85'tir. Aynı zamanda diğer jinekolojik maligniteler açısından da risk altındadırlar. Bu bireylerin yaşam boyu over kanseri geliştirme riski %50'dir. Kolon ve prostat kanseri için de artmış risk söz konusudur. Bireylerin bu kanserler açısından da bilgilendirilmesi ve seçilmiş bireylerde yaşa uygun taramalarının yapılması faydalı olacaktır (13, 14).
- b) **BRCA2 Gen Mutasyonu:** Bu mutasyon taşııcılarında da yaşam boyu meme kanseri gelişme riski %65-85 oranındadır, over kanseri riski de diğer

bireylere göre artmıştır, fakat risk BRCA1 mutasyonu taşıyıcılarına göre daha azdır. Pankreas ve erkek meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir (13, 14).

Ailevi meme kanseri olgularının çoğunda BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları saptanmıştır. P53 ve PTEN gen mutasyonları da kalıtsal meme kanseri olgularının %1' inden daha azında sorumludur (14).

Aile Öyküsü: Birinci veya ikinci derece aile bireylerinde meme kanseri görülen bireyler meme kanseri açısından daha yüksek risk altındadır. Ailesinde 1. derece akrabalarından 1 kişide meme kanser olması riski 2 kat, 2 kişide meme kanseri olması riski 5 kat arttırmaktadır. Benzer şekilde ailede 2. derece 1 akrabanın meme kanseri tanısı alması bireyde riski 1.5 kat arttırmaktadır (9, 15).

Meme Kanseri Bireysel Öyküsü: Daha öncesinde meme kanseri teşhisi alan bireylerde aynı meme farklı bölge veya diğer memede yeni meme kanseri riski artmıştır. Bir memede kanser tespit edilen bireylerde diğer meme için meme karsinomu gelişmesi riski %10-15'tir (1).

Hormonal Faktörler: Gerek endojen gerek eksojen kaynaklı olsun östrojene uzun süreyle maruziyet meme kanseri riskini artırır. Hormon replasman tedavisi (HRT) ve oral kontraseptif (OKS) kullanımı eksojen östrojen olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda kombine östrojen/progesterone tedavisinin riski yalnız östrojen tedavisine göre daha çok arttırdığı görülmüştür. OKS kullanımı hala tartışmalı bir risk faktörüdür (9, 10). Postmenapozal HRT alanlarda meme kanseri riski artmıştır. Bununla birlikte ailesinde meme kanseri öyküsü olanlarda OKS kullanımı da meme kanseri riskini arttırmaktadır. Kadınların OKS kullandığı zaman dilimi ve kesildikten sonraki 10 yıl içerisinde meme kanseri gelişimi riskinde küçük bir artış vardır. OKS ajanın kesilmesi sonrası 10 yıldan fazla süre geçtiğinde ise bu riskte önemli bir artış söz konusu değildir. Kullanım süresi, ilk kullanım yaşı, dozu ve içerdiği hormon tipinin meme kanser riski üzerinde önemli bir etkisi görülmemiştir. OKS ajan kullanımına 20 yaşından önce başlayan kadınlar, daha geç bir yaşta başlayanlara göre daha yüksek riske sahip gibi görünmektedir (16, 17).

Diyet: Bazı beslenme biçimleriyle meme kanseri sıklığı arasında bağlantı saptanmıştır. Yüksek kalorili diyetle beslenmenin meme kanseri riskini arttırdığı düşünülmektedir. Sebze tüketiminin ise meme kanserine karşı hafif koruyucu etkisi vardır. Alkol kullanımı ile meme kanseri riski arasında anlamlı bir artış vardır.

Günde 3-4 kadeh alkol riski %32, 4'ten fazla kadeh ise riski %46 arttırmaktadır (18).

İrk: Afriko-Amerikan kökenli kadınlarda insidansı daha az görülmesine rağmen daha erken yaşta teşhis edilmekte, daha agresif tümörler tanı almakta, ve prognozu daha kötü seyretmektedir (10).

Yoğun meme dokusu: Mamografide saptanabilen yoğun glandüler meme dokusu özelliğini gösteren bireylerde meme kanseri riski artmıştır (16).

Radyasyon: 40 yaşından önce medikal tanı veya tedavi amaçlı iyonize radyasyon maruziyeti ile meme kanseri riski artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde meme kanseri olgularının yaklaşık %1'inin tanı amaçlı mammografiye bağlı geliştiği düşünülmektedir. Hodgkin lenfoma tanısı ile 15 yaşından önce kemoterapi ile kombine olarak mantle radyoterapi uygulanan genç kızlarda meme kanseri riski belirgin olarak artmaktadır ve bu nedenle sıkı takip gerekmektedir (19).

1.1. 4. Meme Karsinomu Klinik ve Tanı

Meme karsinomunun önemli mortalite ve morbidite sebebi olması nedeniyle, hastalığın erken teşhisi oldukça önemlidir. Hasta değerlendirilirken detaylı fizik muayene, kapsamlı aile öyküsü olmazsa olmazdır. Fizik muayene sırasında her iki meme oturur ve yatar pozisyonunda dikkatli biçimde incelenmelidir. Memeler boyut, asimetri, renk, pigmentasyon, cilt lezyonları açısından dikkatli incelenmelidir.

Meme başından spontan akıntı, meme başı çekilmeleri konusunda dikkatli olunmalıdır. Ele gelen kitle olması durumunda kitlenin boyutu, lokasyonu, kıvamı, hassasiyeti mobil olup olmadığı dikkatle incelenmelidir. Fizik muayenede axillar, supraklavikular ve infraklavikular lenf nodları mutlaka dikkatle incelenmelidir (20).

Meme karsinomu tanısı klinik, radyolojik ve patolojik incelemeler sonucunda konur. Hastalık sıklıkla mamografide anormal bulgu verir. Ağrısız ele gelen sert kitle hastalar tarafından genellikle ilk fark edilen bulgudur. Memede ciltte kalınlaşma, şişlik, ciltte çukurlaşma, ciltte hassasiyet, irritasyon, kızarıklık, belirgin yüzeysel damarlanma artışı, ciltte portakal kabuğu görünümü gibi değişiklikler olabilir. Meme ucunda ülserasyon, çekilme, çökme ve meme başı spontan akıntısı invaziv meme karsinomu bulgularındandır. Meme karsinomu en sık üst dış kadranda yer alır. Hastaların 1/3'ünde tümör merkezde yer alır (20, 21).

1.1.5. Meme Karsinomu Histopatolojik Sınıflandırma

Meme karsinomu %80'i invaziv duktal adenokarsinom (İDK) ve %10'u invaziv lobuler karsinomdan (İLK) oluşur. İDK; Tübüler, mikropapiller, medüller gibi alt tiplere ayrılır.

Bununla birlikte, duktal adenokarsinomların %80'i hiç bir alt tipe uymayan “not otherwise specified- NOS” olarak isimlendirilen tipten oluşur.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ-World Health Organization: WHO) 2012 Sınıflaması'na göre epitelyal meme kanserlerinin histolojik sınıflaması (Tablo 1)' de gösterilmiştir.

Tablo 1. DSÖ'nün invaziv meme kanseri histopatolojik sınıflaması -2012

İNVAZİV MEME KARSİNOMLARI	
❖ İnvaziv Karsinom, Özellik Göstermeyen Tip	• Skuamöz hücreli karsinom
• Pleomorfik karsinom	• İyi hücreli karsinom
• Osteoklast benzeri stromal dev hücreli karsinom	• Mezenkimal diferansiasyonlu metaplastik karsinom
• Koriokarsinomatöz özellikler gösteren karsinom	• Kondroid diferansiasyon
• Melanositik özellikler gösteren karsinom	• Osseöz diferansiasyon
❖ İnvaziv Lobuler Karsinom	• Diğer mezenkimal diferansiasyon tipleri
• Klasik lobüler karsinom	❖ Mikst Metaplastik Karsinom
• Solid lobüler karsinom	❖ Miyoepitelyal Karsinom
• Alveoler lobüler karsinom	❖ Nadir Tipler
• Pleomorfik lobüler karsinom	Nöroendokrin Özellikler Gösteren Karsinom
• Tübülolobüler karsinom	• Nöroendokrin tümör. İyi diferansiye
• Mikst lobüler karsinom	• Nöroendokrin karsinom. Az diferansiye (küçük hücreli karsinom)
❖ Tubuler Karsinom	• Nöroendokrin diferansiasyonlu karsinom
❖ Kribriform Karsinom	• Sekretuar karsinom
❖ Müsinöz Karsinom	• İnvaziv papiller karsinom
❖ Medüller Özellikler Gösteren Karsinom	• Asinik hücreli karsinom
• Medüller karsinom	• Mukoepidermoid karsinom
• Atipik medüller karsinom	• Polimorfik karsinom
• Medüller özellikler gösteren karsinom	• Onkositik karsinom
❖ Apokrin Diferansiasyon Gösteren Karsinom	• Lipitten zengin karsinom
❖ Taşlı Yüzük Hücreli Diferansiasyonu Gösteren Karsinom	• Glikojenden zengin berrak hücreli karsinom
❖ İnvaziv Mikropapiller Karsinom	• Sebace karsinom
❖ Metaplastik Karsinom	Tükürük Bezi/ Deri Adneksial Tip Karsinom
• Düşük grade adenoskuamoz karsinom	• Silindiyom
• Fibromatozis benzeri metaplastik karsinom	• Berrak hücreli hidradenom

1.1.5.1. İn situ Karsinomlar

Malign hücrelerin bazal membranı aşmadığı durumlardır.

Duktal karsinoma in situ (DCIS): Tüm in situ vakaların %83'ünü oluşturur. Prognozu belirleyen faktörler tümörün nükleer gradı, yakın veya pozitif cerrahi sınır, geniş tümör çapı, nekroz varlığıdır.

Lobüler karsinoma in situ (LCIS): Lobüler karsinom in situ, (in situ vakaların %13'ü), memenin bazı lobüllerinde büyüyen ve genişleyen anormal hücreleri belirtir. LCIS'in genellikle invaziv kanserin bir öncüsü olduğu düşünülmez, ancak invaziv kanser için güçlü bir risk faktörüdür.

Paget's hastalığı: Meme kanserinin duktuslardan başlayarak meme areolasına ve cildine yayıldığı durumdur. Areola çekilmiş, skuamli, yapısı bozulmuş, kızarık ve hassas görünür. Sadece areolanın etkilenip kitlenin görülmediği durumlarda prognozu iyidir.

Mikroinvazyon: Malign hücrelerin bazal membran arkasında 2 mm'yi aşmayan çapta invazyonudur (16).

1.1.5.2. İnvaziv Karsinomalar

İnvaziv duktal karsinom (IDC): En sık görülen meme kanseri tipidir. Tüm meme kanseri vakalarının %50'sinden çoğunda görülür. Çoğunlukla bir in situ komponent içerir. Malign hücreler solid kord ve gruplar şeklinde görünür.

İnvaziv lobuler karsinom (ILC): Malign hücreler teker teker veya kümeler halinde bulunur. Agresif ve multisentrik olma eğilimdedir. Mamografik olarak çoğunlukla saptanamayabilirler. Bilateral ve multisentrik olma ihtimali vardır.

İnflamatuvar karsinom: Nadir (%1-6) ve agresif tümörlerdir. Genellikle meme cildinde ısı artışı, ödem, hiperemi, hassasiyet gibi inflamasyon bulguları vardır ve antibiyotiğe cevap vermez. Klinik tanı önemlidir. Patolojide dermal lenfatiklere yayılan malign hücreler saptanır. Kötü prognozludur (16).

1.1.5.3. Meme Kanseri Histolojik Gradlama

İnvaziv meme kanserinde Bloom-Richardson histolojik gradlama sistemi kullanılmaktadır.

Grade 1: İyi diferansiye nispeten normal görünümlü ve yavaş büyümeye meyilli hücreler mevcuttur.

Grade 2: Orta diferansiye hücreler mevcuttur

Grade 3: En yüksek gradlı hücrelerdir, kötü diferansiyedir, hücreler normal görünümünü yitirmiş, hızlı ve agresif büyümeye meyillidirler.

Prognostik önemi: Grad 1 tümörlerin grad 2 ve grad 3 tümörlere göre daha iyi prognoza sahip olması beklenir.

1.1.5.4. Meme Karsinomu Evreleme

Tümör evreleme sistemleri, kanserin yayılımı ve ciddiyeti hakkında belli standartlara göre bilgi edinilmesini sağlar. Günümüzde hemen her yerde American Joint Committee on Cancer (AJCC)'in biçimlendirdiği TNM sistemi kullanılmaktadır. TNM Evreleme Sistemi'nde tümörleri sınıflamak için kullanılan kriterler; tümör boyutu (T), aksiller lenf nodlarına yayılım (N) ve uzak bölgelere yayılımdır (M). Daha önceden tanımlanmış kriterlere göre bu üç özellik belirlenip kombine edilerek, tümör için son TNM evresi hesaplanır.

Son yıllarda tarama amaçlı mamografik tetkiklerin yaygın uygulanması, sentinel lenf nodu diseksiyon tekniklerinin gelişmesi sonucunda invaziv meme kanserleri daha erken evrede yakalanmaktadır. Meme kanserinin doğal seyrindeki bu değişiklikler sonucunda evreleme sisteminde bazı değişiklikler olmuş ve AJCC'de oluşturulan klinik fikir birliği sonucunda yeni evreleme sistemi oluşturulmuştur (22). LCIS TNM evreleme sisteminden çıkarılmıştır benign kabul edilmiştir. Ayrıca temel bir değişiklik olarak biyokimyasal belirteçler (ER, PR VE HER2) TNM evrelemesiyle birlikte kullanılarak prognostik evreler oluşturulmuştur.

Tablo 2. AJCC 2018’e göre gözden geçirilmiş TNM sınıflaması (22)

Primer Tümör: T
Tx: Değerlendirilemeyen primer tümör
T0: Primer tümöre ait bulgu yok
Tis: İn situ karsinom
Tis (DCIS): Duktal karsinoma in situ
TİS (Paget): Meme başında Paget hastalığı (primer başka tümör yok)
T1: En büyük çapı ≤ 2 cm tümör
T1mic: En büyük çapı ≤ 0.1 cm (mikroinvaziv tümör)
T1a: Tümör çapı > 0.1 cm ancak ≤ 0.5 cm
T1b: Tümör çapı > 0.5 cm ancak ≤ 1 cm
T1c: Tümör çapı > 1 cm ancak ≤ 2 cm
T2: Tümör çapı > 2 cm ancak ≤ 5 cm
T3: Tümör çapı > 5 cm
T4: Boyutu ne olursa olsun, göğüs duvarı veya cilde direkt yayılan tümör
T4a: Pektoralis major kası dışında göğüs duvarına yayılım
T4b: Ödem, cilt ülserasyonu, aynı memede satellit cilt nodülleri, portakal kabuğu görünümü
T4c: T4a + T4b
T4d: İnflamatuvar karsinom
Bölgesel lenf nodları: N
Lenf Nodları Klinik Sınıflandırma
Nx: Değerlendirilemeyen nodal tutulum
N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1: Hareketli ipsilateral bölgesel lenf nodu metastazı
cN1mi: Mikrometastaz (0.02-0.2 cm)
N2: Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı veya aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak görülebilen ipsilateral internal mammarial nodal metastaz
N2a: Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiller lenf nodu metastazı
N2b: Aksiller metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak görülebilen ipsilateral internal mammarial nodal metastaz
N3: Ipsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı veya klinik + radyolojik olarak görülebilen ipsilateral internal mammarial lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı veya supraklaviküler lenf nodu metastazı
N3a: Ipsilateral infraklaviküler lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı
N3b: Klinik + radyolojik olarak görülebilen ipsilateral internal mammarial lenf nodu metastazı + aksiller lenf nodu metastazı
N3c: Supraklaviküler lenf nodu metastaz
Lenf Nodları Patolojik Sınıflama (pN)
pNX Bölgesel lenf nodları saptanamamakta (örn. patolojik inceleme için daha önce çıkartılmış veya çıkartılmamış)
pN0 Histolojik olarak bölgesel lenf nodu metastazı olmayan veya sadece izole tümör hücreleri (ITC) saptanan
Not : H&E boyası ile verifiye edilebilen ancak sıklıkla sadece immünohistokimyasal (IHK) veya moleküler metodlarla saptanan, 0.2 mm’ den daha geniş olmayan tek tümör hücreleri veya küçük hücre kümeleri ‘izole tümör hücreleri (ITH)’ olarak tanımlanır. ITH, proliferasyon veya stromal reaksiyon gibi malign aktivite kanıtlarını genellikle göstermez.
pN0 (i+) Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif IHK, 0.2 mm’ den geniş IHK kümesi yok
pN0 (mol+) Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif moleküler bulgular (RT-PCR)b
pN1 1-3 arası aksiller lenf nodlarında, ve/veya internal mammaryal nodlarda sentinel lenf nodu diseksiyonu ile saptanan mikroskopik hastalıkla birlikte metastaz
pN1mi Mikrometastaz (0.2 mm’ den geniş, 2.0 mm’ den geniş değil)
. pN1a 1-3 adet aksiller lenf nodunda metastaz , en az biri 2 mm’ den daha geniş
. pN1b Sentinel lenf nodu diseksiyonu ile internal mammaryal nodlarda mikroskopik hastalık olarak saptanan metastaz, ITC dışı
. pN1c 1-3 adet aksiller lenf nodunda ve internal mammaryal nodlarda sentinel lenf nodu diseksiyonu ile mikroskopik olarak saptanan metastaz, (3 aksiller lenf nodundan fazla pozitif nod varsa, artmış tümör yükünü göstermek için internal mammaryal lenf nodları pN3b olarak sınıflandırılır) (pN1 pN1b)

pN2 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz, veya aksiller lenf nodu metastazı olmadığında internal mammaryal lenf nodlarında metastaz

. **pN2a** 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm' den büyük en az bir tümör odağı)

. **pN2b** Aksiller lenf nodu metastazı yokken, internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin* metastaz

pN3 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda, veya infraklaviküler lenf nodlarında, veya 1 ya da daha fazla aksiller lenf nodu pozitif olduğunda klinik olarak belirgin* ipsilateral internal mammaryal lenf nodlarında metastaz; veya internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak negatif mikroskopik metastazla birlikte 3'ten daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz; veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz

pN3a 10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm.den büyük en az bir tümör odağı), veya infraklaviküler lenf nodlarına metastaz

pN3b cN2b varlığında pN1a veya pN2a (görüntüleme ile pozitif internal mammaryal lenf nodları)

pN3c Ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz

Uzak metastaz: M

Mx: Değerlendirilemeyen uzak metastaz

M0: Uzak metastaz yok

cM0 (i+) Tümör hücreleri veya metastaz belirtileri veya semptomları olmayan bir hastada mikroskopik olarak veya dolaşımdaki kan, kemik iliği veya diğer bölgeler arası nodal dokularda moleküler tekniklerle saptanan, 0.2 mm'den geniş olmayan tümör hücreleri veya depozitlerin bulunması, uzak metastazların hiçbir klinik veya radyografik kanıtı yoktur

cM1: Klinik ve radyografik yollarla saptanan uzak metastazlar.

pM1: Uzak organlarda histolojik olarak kanıtlanmış metastazlar veya bölgesel olmayan düğümlerde ise, 0.2 mm' den büyük metastazlar

*Görüntüleme metodları (lenfosintigrafi hariç) veya klinik muayene ile saptanan metastazlarda 'klinik olarak belirgin' terimi kullanılır.

** Görüntüleme metodları (lenfosintigrafi hariç) veya klinik muayene ile saptanamayan metastazlarda 'klinik olarak belirgin olmayan' terimi kullanılır.

a Sınıflama sentinel lenf nodu diseksiyonu uygulanan veya uygulanmayan aksiller lenf nodu diseksiyonuna göre yapılır. Ardından aksiller lenf nodu diseksiyonu uygulanmayan sentinel lenf nodu diseksiyonuna dayalı yapılan sınıflama, sentinel nod için (sn) ile belirtilir, örn ; pN0 (i+) (sn).

b RT-PCR : ters transkriptaz/ polimeraz zincir reaksiyonu

1.1.5.5. Meme Karsinomunda İmmunhistokimyasal Belirteçler

1.1.5.5.1. Östrojen Reseptörü ve Progesteron Reseptörü

Normal meme epitel hücreleri östrojen ve progesteron için reseptörlere sahiptir ve etkileri altında proliferasyona uğrarlar. Çoğu meme karsinomu da bu reseptörleri eksprese eder ve bu hormonlar tarafından büyümek için stimüle edilebilirler. Ooforektomi veya farmasötik yolla hormon blokajı (tamoksifen ya da aromataz inhibitörleri) ile endojen hormonların kesilmesi tümör büyümesini yavaşlatıp sağkalımı arttırabilir. Hormon reseptör durumu, hormonal terapiden fayda görebilecek hastaları belirlemek için ortaya konur. İnvaziv meme karsinomlarının (IMK) yaklaşık %75-80'i ER ve PR için pozitifdir. Bu oran içerisinde neredeyse tüm iyi diferansiye kanserler ve orta differansiye kanserlerin çoğu bulunur. Çalışmalar göstermiştir ki ER (+) tümörü olan hastalar endokrin terapiden sağkalım olarak fayda görmektedir. Gerçek ER (+) PR (+) karsinomlar çok nadir görülür; ancak bu hastalar

da hormonal terapiden fayda görürler. Hormon reseptör durumu sıklıkla formalinde fikse olmuş, parafine gömülü doku kesitlerinde İHK olarak belirlenir. Sadece nükleer boyanma pozitif olarak kabul edilir. $\geq \%1$ immunoreaktif hücre görüldüğünde tümör hormon pozitif kabul edilir. Yanlış negatif sonuçlara sebep olabilecek farklı süreçleri ilgilendiren olası sorunlar hakkında bilgili olunmalı, gerekli önlemler alınarak hastanın uygun tedaviye ulaşma ihtimali korunmalıdır (23).

1.1.5.5.2. İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (HER2)

Meme karsinomlarının yaklaşık %15-20'si HER2'yi eksprese eder. Protein fazla ekspresyonu genelde gen amplifikasyonuna bağlıdır. Gen kopya sayısı, mRNA miktarı ile genelde benzer sonuçlar verir. Gen amplifikasyonu izlenen olguların %95'inde protein ekspresyonu ile koreledir. Karsinomların çok küçük bir miktarında protein fazla ekspresyonu başka mekanizmalarla meydana gelir. Fazla ekspresyonu, hem prediktif hem de prognostik nitelikli faktördür. HER2 ve anti-HER2 durumu tedaviden faydalananacak hastaları belirlemek için ortaya konmalıdır. Formalinle fikse, parafine gömülü dokularda tümör hücrelerinin membranlarında İHK yolla protein ekspresyonu belirlenebileceği gibi, HER2 gen kopyalarının sayısı in situ hibridizasyon ile de tespit edilebilir. Nadir olguda sonuçlar uyumsuz çıkabilir ki bu da intratümöral heterojeniteyi yansıtır (23).

1.1.5.5.3. Ki-67

Tümör içerisindeki prolifere hücreleri gösterebilen Ki-67 antikoruna hücre siklusunun bütün fazlarında yer alan nükleer bir proteindir ve hücre proliferasyon belirleyicisidir. Formalinle fikse parafine gömülü doku kesitlerinde Ki-67 değerlendirmesinde en sık kullanılan monoklonal antikor MIB-1'dir. İHK olarak verilen Ki67 pozitif tümör hücrelerinin yüzdesi hastaları kötü ve iyi prognostik gruplara ayırmak için kullanılır ama skorlamada, eşik değerde ve tümörün hangi kısmının skorlanması gerektiği konusunda fikir birliği yoktur (23).

1.1.5.5.4. TP53

Bu TP53'ün germline mutasyonları Li-Fraumeni sendromu ile ilişkilidir ve sarkom, beyin tümörü, adrenokortikal karsinom ve nadir pediatrik tümörler için artmış risk söz konusudur. Sendrom çok nadir izlenmekle birlikte ayrıca kalıtsal

meme karsinomu için de görece artmış bir risk mevcuttur. Luminal A meme tümörlerinde TP53 mutasyonu yalnızca olguların %10-12'sinde; Luminal B tümörlerin ise yaklaşık %30'unda görülür. HER2 amplifiye meme kanserlerinin %50'sinden çoğunda TP53'ün missense (kayıp) mutasyonları görülmüştür. Ayrıca TNMK'ların %80'inde TP53 mutasyonu izlenir. Eğer çerçeve kayması mutasyonlar ya da stop kodonu oluşturan bir mutasyon meydana gelirse protein ekspresyonu görülmez ve İHK negatifleşir (24).

1.1.5.6. Meme Karsinomunun Moleküler Belirteçlere Göre Prognostik Sınıflaması

Moleküler biyolojideki ilerlemelerle birlikte HER2, ER, PR ve Ki-67 gibi moleküler özellikler yeni prognostik grupların geliştirilmesine yol açmıştır. St. Gallen 2011 konsensüsünde bu moleküler belirteçlere göre beş farklı prognostik grup belirlenmiştir. Üçlü negatif hastalar en kötü prognozlu grup olarak değerlendirilmektedir (25).

- Luminal A
 - ER/PR (+), HER2 (-), Ki-67 $\leq$ %14
- Luminal B (HER2 negatif)
 - ER/PR (+), HER2 (-), Ki-67 $\geq$ %14
- Luminal B (HER2 pozitif)
 - ER/PR (+), HER2 (+) ve herhangi bir değerde Ki-67
- Non- Luminal
 - ER/PR (-), HER2 (+)
- Üçlü negatif ER/PR (-), HER2 (-)

1.1.5.7. AJCC 2018 Meme Karsinomu Anatomik Evreleme

Son AJCC evrelemesinde prognostik evrelemeye biyomarkerlerin eklenmesiyle, bu biyomarkerların rutin olarak çalışıldığı tüm ülkelerde prognostik evreleme kullanılması önerilmektedir. Bu tablo sadece biyomarkerların (ER, PR, HER2) rutinde kullanılmadığı bölgelerde kullanılmalıdır.

Tablo 3. Meme karsinomunda TNM Evrelemesi (AJCC 8. baskı)

Evre	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0	N1mi	M0
IB	T1	Nmi	M0
IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	T1-4	N3	M0
VI	T1-4	N0-3	M1

1.1.5.8. AJCC Prognostik Evreleme Grupları

1.1.5.8.1. Klinik Prognostik Evreleme

Prognostik evre grup tabloları, primer evreleme, biyobelirteç testlerinin rutin olarak kullanıldığı ülkelerde evreleme sistemi olarak kullanılmalıdır. Biyobelirteçlerin kullanılmadığı yerlerde kanser evrenmemiş olarak değerlendirilmelidir.

Klinik evreleme anamnez, fizik muayene, görüntüleme, biyopsi ve biyobelirteçlere dayanan (grad, ER, PR ve HER2) bir evreleme sistemidir. Preoperatif sistemik veya radyasyon tedavisi alacak olanlar da dahil olmak üzere tüm hastalar için geçerlidir. Herhangi bir tedaviden önce evrelemeye izin verir. Bazal ve neo-adjuvan tedavi arasındaki değişikliklerin belirlenmesini sağlayabilir. Ayrıca bu evreleme sistemi ameliyatla tedavi edilen gruplar veya diğer tedavi yöntemleri arasında karşılaştırma yapılmasına da izin verir.

1.1.5.8.2. Patolojik Prognostik Gruplar

Bu gruplandırma klinik bilgilere ek olarak cerrahi sonrası patolojik bulgular ve biyobelirteçlere (Grad, ER, PR ve HER2, yanı sıra multigene prognostik paneller) dayanarak yapılır. İlk tedavi olarak cerrahi ile tedavi edilen tüm hastalar için uygundur. Neoadjuvan sistemik veya radyasyon tedavisi alan hastalar için uygun değildir. ABD’de tüm tümör kayıtlarında kullanılması önerilen evreleme sistemidir.

Tablo 4. AJCC 8'e Göre Prognostik Evreleme Grupları

AJCC 8 e göre prognostik evreleme grupları -I					
TNM	Grade	HER	ER	PR	EVRE
Tis N0 M0	Farketmez	Farketmez	Farketmez	Farketmez	0
			Pozitif	Pozitif	IA
		Pozitif		Negatif	IA
	1		Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
			Pozitif	Pozitif	IA
		Negatif		Negatif	IA
			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
			Pozitif	Pozitif	IA
	2	Pozitif		Negatif	IA
			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
			Pozitif	Pozitif	IA
		Negatif		Negatif	IA
T1* N0 M0			Negatif	Pozitif	IA
T0 N1mi M0				Negatif	IB
T1* N1mi M0			Pozitif	Pozitif	IA
		Pozitif		Negatif	IA
	3		Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IA
			Pozitif	Pozitif	IA
		Negatif		Negatif	IA
			Negatif	Pozitif	IA
				Negatif	IB
AJCC 8 e göre prognostik evreleme grupları -II					
TNM	Grade	HER	ER	PR	EVRE
			Pozitif	Pozitif	IA
		Pozitif		Negatif	IB
	1		Negatif	Pozitif	IB
				Negatif	IIA
			Pozitif	Pozitif	IA
		Negatif		Negatif	IB
			Negatif	Pozitif	IB
				Negatif	IIA
			Pozitif	Pozitif	IA
T0 N1** M0		Pozitif		Negatif	IB
T1 N1** M0			Negatif	Pozitif	IB
T2 N0 M0	2			Negatif	IIA
			Pozitif	Pozitif	IA
		Negatif		Negatif	IIA
			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA
			Pozitif	Pozitif	IA
		Pozitif		Negatif	IIA
			Negatif	Pozitif	IIA
	3			Negatif	IIA
			Pozitif	Pozitif	IB
		Negatif		Negatif	IIA
			Negatif	Pozitif	IIA
				Negatif	IIA

AJCC 8'e göre prognostik evreleme grupları -III					
TNM	Grade	HER	ER	PR	EVRE
T2 N1 M0 T3 N0 M0	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IA
			Negatif	Negatif	IIB
			Pozitif	Pozitif	IIB
			Negatif	Negatif	IIB
			Pozitif	Pozitif	IA
		Negatif	Negatif	Negatif	IIB
			Pozitif	Pozitif	IIB
			Negatif	Negatif	IIB
			Pozitif	Pozitif	IB
			Pozitif	Negatif	IIB
	2	Pozitif	Negatif	Pozitif	IIB
			Negatif	Negatif	IIB
			Pozitif	Pozitif	IB
			Negatif	Negatif	IIB
			Negatif	Pozitif	IIB
		Negatif	Pozitif	Pozitif	IB
			Negatif	Negatif	IIB
			Pozitif	Pozitif	IIB
			Negatif	Negatif	IIB
			Pozitif	Pozitif	IIA
			Negatif	Negatif	IIB
3	Pozitif	Negatif	Pozitif	IIB	
		Negatif	Negatif	IIB	
		Pozitif	Pozitif	IIA	
		Negatif	Negatif	IIB	
		Negatif	Pozitif	IIB	
	Negatif	Pozitif	Pozitif	IIA	
		Negatif	Negatif	IIB	
		Pozitif	Pozitif	IIB	
		Negatif	Negatif	IIIA	
		Negatif	Negatif	IIIA	

AJCC 8 e göre prognostik evreleme grupları -III					
TNM	Grade	HER	ER	PR	EVRE
T0 N2 M0 T1 N2 M0 T2 N2 M0 T3 N1 M0 T3 N2 M0	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IB
			Negatif	Negatif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IB
		Negatif	Negatif	Negatif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IB
			Pozitif	Negatif	IIIA
	2	Pozitif	Negatif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IB
			Negatif	Pozitif	IB
		Negatif	Pozitif	Negatif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IIA
			Negatif	Negatif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IIIA
	3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IIB
			Negatif	Negatif	IIIA
			Negatif	Pozitif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IIIC
		Negatif	Pozitif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IIIA
			Pozitif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IIIC
			Negatif	Negatif	IIIC

AJCC 8'e göre prognostik evreleme grupları -IV					
TNM	Grade	HER	ER	PR	EVRE
T4 N0 M0 T4 N1 M0 T4 N2 M0 Herhangi T N3 M0	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IIIA
				Negatif	IIIB
			Negatif	Pozitif	IIIB
		Negatif	Negatif	Negatif	IIIB
			Pozitif	Pozitif	IIIA
			Negatif	Negatif	IIIB
	2	Pozitif	Negatif	Pozitif	IIIB
				Negatif	IIIB
			Pozitif	Pozitif	IIIA
		Negatif	Negatif	Negatif	IIIB
			Pozitif	Pozitif	IIIB
			Negatif	Negatif	IIIC
	3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	IIIB
				Negatif	IIIB
			Negatif	Pozitif	IIIB
		Negatif	Pozitif	Negatif	IIIB
			Negatif	Pozitif	IIIC
			Negatif	Negatif	IIIC
Herhangi T, N ve M1	Herhangi G	Pozitif	Pozitif	Pozitif veya	IV

Tablo 5. AJCC 8 yeni evreleme sistemine göre klinik evreleme

TNM	Anatomik Evreleme	Patolojik Prognostik Evreleme
T1N0M0	IA	IA IB
T1N1M0	IIA	IA IB IIA
T3N0M0	IIB	IA IB IIA IIB IIIA
T3N2M0	IIIA	IA IB IIA IIB IIIA

1.1.5.8.3. AJCC Multigenik Panellere Göre Patolojik Prognostik Evreleme

Patolojik prognostik evreleme yapılırken multigenik profillerin dahil edilmesi zorunlu değildir. Uygun hasta grubunda uygulanabilirler.

Östrojen reseptörü/Progesteron reseptörü (ER/PR) pozitif, HER-2 negatif, nod negatif, 5 cm veya 5 cm'den küçük tümörler ile kombine olarak

- Mammaprint düşük risk skoru
- EndoPredict düşük risk skoru
- PAM50 rekurrens skoru düşük
- Breast Cancer Index düşük risk
- OncotypeDx Skoru ≤ 11 ise multigenik panellerden biri uygulanabilir.

1.1.6. Meme Kanserinde Prognostik ve Prediktif Faktörler

Prognostik faktörler hastalığın prognozu ve hastaya uygulanabilecek olan kemoterapi ya da hormonoterapi gibi adjuvan tedavilerin yararlılığı konusunda fikir vermesi nedeniyle önemlidir. Meme karsinomlarında prognostik faktörler majör ve minör olarak gruplanabilir. Majör prognostik faktörler AJCC'nin klinik evreleme sisteminde adı geçen faktörleri içerir (23, 24) (Tablo 2). Minör prognostik faktörler ise hastanın kemoterapi ve/veya hormonoterapiden yarar görüp göremeyeceğine karar verilmesinde rol oynar. Nodal tutulum olsun veya olmasın invaziv tümörü 1 cm civarında olan olgular sistemik tedavilerden yarar görür. Lenf nodu tutulumu göstermeyen, tümör çapı küçük olan olgularda tedavi kararı için minör faktörler kullanılır.

1.1.6.1. Majör prognostik faktörler

1. Tümörün invaziv ya da insitu karsinom olması: İnsitu karsinom duktal sistemde sınırlı olup metastaz yapma özelliği taşımaz. Bu nedenle cerrahi kür şansı vardır. Aksine, invaziv karsinomların en az yarısına tanı esnasında lokal ya da uzak metastaz eşlik etmektedir (26). DCIS ve bunlardan gelişen invaziv karsinomların grad'ları ve histolojik tipleri arasında önemli ilişki olduğu bulunmuştur. Örneğin düşük grad'lı olan tübüler karsinom, mikropapiller ya da kribriiform DCIS'dan gelişir; yüksek grad'lı bir invaziv duktal karsinom (İDK) ise solid veya komedo in situ DCIS'dan gelişmektedir (26).

2. Uzak metastaz: Meme karsinomları uzak metastazlarını en sık akciğer, kemik, adrenal gland, beyin ve meninkslere yapmaktadır (25). TNM sınıflamasında uzak metastaz "M" ile gösterilir (18, 24) (Tablo 6). Özellikle hormon tedavisine

cevap veren hastalarda adjuvan terapiler ile uzun süreli remisyonlar sağlanabilmesine rağmen, uzak metastazın varlığı tam kür sağlanmasını olanaksız kılmaktadır (25).

Tablo 6. AJCC, TNM sınıflamasında metastaz (M) durumu (22).

M durumu	Uzak metastaz
M1	Bilinmiyor
M0	Yok
M0 (i+)	Klinik veya radyolojik uzak metastaz bulgusu yokken 0,2 mm den daha küçük boyutta tümöre moleküler veya mikroskopik yöntemlerle rastlanması.
M1	Var

3. Lenf nodu metastazı: İnvaziv karsinomlarda uzak metastazın olmaması halinde aksiller lenf düğümlerinin tutulumu en önemli prognostik faktördür (25). Bir lenf nodunda metastaz bulunma olasılığı metastatik odağın çapı, lenf nodunun çapı ve makroskopide diseke edilen lenf nodu sayısı ile ilişkilidir. Hematoksilin Eozin (H&E) ile morfolojik olarak negatif olduğu düşünülen bir lenf nodunda, seri kesitlerle ve immunhistokimyasal yöntemle metastaz çıkma olasılığı %10–20 arasında değişmektedir (27). TNM sınıflamasında bölgesel lenf düğümü tutulumu (N) klinik ve patolojik olmak üzere iki şekildedir. Klinik sınıflamada aksiller, supraklaviküler gibi tutulan lenf düğümünün yeri ve klinik olarak tutulum olup olmaması esas alınırken, patolojik sınıflamada tutulan lenf düğümü sayısı ve mikrometastaz için metastatik odağın çapı da önem kazanmaktadır (22) (Tablo 7).

Tablo 7. AJCC, TNM sınıflamasında lenf nodu (N) durumu (22)

cNX	Bilinmiyor
cN0	Görüntüleme veya fizik muayene ile lenf nodu metastazı yok
cN1	Hareketli İpsilateral, axillar level 1 veya level 2 lenf nodlarına metastaz
cN2	Fikse ya da konglomere level I-II lenf nodu (nodları) veya internal mammarian lenf nodları
cN3	İpsilateral infraklavikular lenf nodu (level 3) veya internal mammarian lenf nodu + level I-II aksiller lenf nodu veya, supraklavikular lenf nodu tutulumu

4. Tümör çapı: Tümör çapı, lenf nodu tutulumundan sonra, en önemli ikinci parametre olup tek başına kullanılabilen en önemli prognostik faktördür (25-27). TNM sınıflamasında “T” olarak ifade edilir; patolojik ve klinik sınıflamada benzer ölçütler kullanılır (22) (Tablo 4). Lenf nodu tutulumundan bağımsız bir faktör

olmakla birlikte tümör çapı arttıkça aksiller lenf nodu tutulumu olasılığı da artar. Lenf nodu tutulumu olmayan bir olguda karsinom alanının çapı 1 cm'den az ise bu hastanın prognozu kansersiz bir hastaninkine yakındır. Diğer yandan tümör çapı 2 cm'yi bulan olguların yaklaşık yarısında lenf nodu metastazı mevcut olup, bu kadınların çoğu en sonunda hayatını meme kanseri nedeniyle kaybetmektedir (25).

Multipl invaziv odak görülen olgularda, odaklar aynı kadranda ise multifokalite, farklı kadrarlarda ise multisentrisiteden bahsedilir. Multisentrik veya multifokal tümörlerde, AJCC evrelemesinde büyük boyutlu tümör odağı esas alınır (25). Yapılan bir çalışmada multifokal/multisentrik tümörü olan olgularda lenf nodu tutulumunun, tümör yüzey alanı ve hacmi eşit olan unifokal olgulara nazaran, anlamlı olarak fazla olduğu gözlenmiştir (28). Multifokalite/multisentrisite varlığı bağımsız bir prognostik faktör olmamakla birlikte hastaya yapılacak olan meme koruyucu cerrahi veya mastektomi kararının verilmesinde önemlidir.

Tablo 8. AJCC 8. baskı (2018), TNM sınıflamasına göre tümör (T) evrelemesi (22)
T durumu- Primer Tümör: T

T durumu	T kriteri
TX	Değerlendirilemeyen primer tümör
T0	Primer tümör yok
Tis (DCIS)	Duktal karsinoma in situ
Tis (Paget)	İnvaziv tümör olmaksızın meme başının paget hastalığının olması
T1	2 cm veya daha küçük boyutlu tümör
T1 mic	En büyük çapı ≤ 0.1 cm (mikroinvaziv tümör)
T1a	Tümör çapı > 0.1 cm ancak ≤ 0.5 cm
T1b	Tümör çapı > 0.5 cm ancak ≤ 1 cm
T1c	Tümör çapı > 1 cm ancak ≤ 2 cm
T2	Tümör çapı > 2 cm ancak ≤ 5 cm
T3	Tümör çapı > 5 cm
T4	Boyutu ne olursa olsun, göğüs duvarı veya cilde direkt yayılan tümör
T4a	Pektoralis major kası dışında göğüs duvarına yayılım
T4b	Ödem, cilt ülserasyonu, aynı memede satellit cilt nodülleri, portakal kabuğu görünümü
T4c	T4a + T4b
T4d	İnflamatuvar karsinom

5. Deri veya göğüs duvarı tutulumu: Sıklıkla eş zamanlı bir uzak metastazın varlığı ile ilişkilidir (26). AJCC sınıflamasında göğüs duvarı tutulumu T4a, cilt tutulumu T4b'ye denk gelmektedir (Tablo 4) (24). Göğüs duvarı invazyonu, kotların, interkostal kasların veya serratus anterior kasının tutulumunu ifade eder.

T4b klinik olarak deride ödem, ülserasyon veya satellit nodüllerin görülmesini gerektirir. Sadece histopatolojik incelemede görülen dermal infiltrasyon T4b tanımlaması için yeterli olmayıp daha iyi prognoz gösterir. Paget hastalığı, DCIS'in epidermis içinde yayılımı olup AJCC sınıflamasının deri tutulumunun da önemi yoktur (18, 22, 27).

6. İnflamatuvar karsinom: AJCC sınıflamasında T4d'ye karşılık gelir (Tablo 8) (22). Meme derisinde portakal kabuğu görünümüne neden olan eritem, endurasyon, ödem, ısı artışı ve hassasiyet ile karakterizedir. Tümör trombüslerinin lenfatik damarlarda yaptığı obstrüksiyon nedeniyle oluşur. Klinik bir tanıdır ve patolojik incelemede dermişte lenfovasküler invazyonun görülmesi ile desteklenir. Klinik olarak yeterli kriterlerin olmadığı durumlarda, sadece histomorfoloji ile inflamatuvar karsinom tanısı konulamaz (20). İnflamatuvar karsinomlu olgularda 3 yıllık sağkalım sadece %3–10 kadardır (26).

1.1.6.2. Minör prognostik faktörler

1. Histolojik tip: Histolojik tiplendirme için WHO–2012 (World Health Organization -Dünya Sağlık Örgütü) sınıflaması kullanılmaktadır (26). İnvaziv meme karsinomlarının çoğunluğu İDK morfolojisindedir. Tümörün %50'den fazlası spesifik tiplere uymuyorsa “İDK (NOS)” şeklinde adlandırılır (27).

2. Histolojik grad: En sık kullanılan grad'lama sistemi Bloom ve Richardson tarafından hazırlanmıştır. Bu sistemde tübülüs yapımı, çekirdek pleomorfizmi ve mitoz sayısı değerlendirilir (28). Mitoz sayısı 40'lık büyütmede tümör periferinden yapılmalı ve mitozun en çok görüldüğü yer temel alınmalıdır (29). Ayrıca her mikroskopta görülen alanın çapı farklı olduğundan kullanılan mikroskoba göre sayım yapılmalıdır (25, 27, 28). Histolojik grad'ın yüksek olması, lenf nodu tutulumu ve tümör çapından bağımsız olarak, uzak metastaz ve kısa sağkalım süresi ile ilişkilidir (29). Grad I tümörü olan olguların %85'i, grad II'lerin %60'ı, grad III'lerin %15'i 10 yıllık sağkalım süresine sahiptir (29).

Tablo 9. Modifiye Bloom- Richardson Grad'lama Sistemi (29)

	Skor
Tübülüs yapımı	
Tümörün %75'inden fazlası	1
Tümörün % 10-75'i	2
Tümörün % 10'dan azı	3
Çekirdek polimorfizmi	
Küçük, düzgün, uniform çekirdek	1
Çekirdek boyutunda hafif artış	2
Çekirdek boyutlarında belirgin değişiklik	3
Mitoz (10 BBA*) (0,44 mm, 0,152 mm²)**	
0-5	1
6-10	2
1 ve fazla	3
Grad I...skor 3-5...İyi diferansiye	
Grad II... skor 6-7...Orta derece diferansiye	
Grad III...skor 8-9...Az diferansiye	

* : BBA: Büyük büyütme alanı.

** : Mitoz sayısı kullanılan mikroskobun tipine göre değişmektedir. Tabloda Nikon Labophot marka mikroskop için kullanılan değerler gösterilmiştir.

3. Östrojen ve progesteron reseptörü: Meme karsinomlarının %50–85'i ER eksprese eder ve olumlu bir prognostik faktör olarak kabul edilir. ER ve/veya PR ekspresyonu olgunun hormonoterapiden (adjuvan tamoksifen) fayda göreceğini gösterir. Bunun için tümör hücrelerinin en az %10'unda nükleer boyanma gerekir. ER ve PR'nin birlikte pozitif olduğu durumlarda hormonoterapiye cevap vermeansı %80 iken birinin pozitif olması halinde bu oran %40'tır (18, 25).

4. HER2/neu: HER2 hücre kontrolünde çeşitli büyüme faktörleri için koreseptör görevi olan bir transmembran glikoproteinidir. Meme karsinomlarının %20–30'unda eksprese edilir. Olguların %90'ında overekspresyonu 17q21 üzerindeki gen amplifikasyonu ile ilgilidir. Bu İHK, floresan in situ hibridizasyon (FISH) veya SISH yöntemiyle tespit edilebilir. Çoğu çalışmanın sonucuna göre HER2 pozitifliği kötü prognozla ilişkili bulunmasına rağmen monoklonal antikor olan trastuzumab tedavisine cevap şansı doğmaktadır (18, 25).

5. Lenfovasküler invazyon: Artmış lenf nodu metastazı olasılığı ile ilişkili olup kötü bir prognostik faktördür. Tümör periferinde görülmesi anlamlıdır (25). Sadece H&E kesitlerle değerlendirme yapıldığında invaziv karsinomların %15'inde lenfatik tümör trombüsü görülmektedir. Bunların çoğu aksiller metastazla gitmekle birlikte, nod negatif olguların %5–10'unda da lenfatik invazyon görülebilmektedir

(25). Kan damarı invazyonu görülme sıklığı daha az olup H&E boyalı kesitlerde birbirinden ayrılmaları zor olduğu için, bazı araştırmacılar lenfatik ve kan damarı invazyonunu ‘‘lenfovasküler invazyon’’ olarak birlikte değerlendirmektedir (25).

6. Proliferasyon indeksi: Proliferasyon hızının yüksek oluşu kötü prognostik faktördür (25). ER ve PR (-) olgularda Ki-67 indeksi yüksek olup kısa sağkalım süresi ile ilişkilidir (26).

7. DNA içeriği: Anöplöid tümörler diploid olanlara göre daha kötü prognozladur (25). Anöplöidi kısa sağkalım süresi, ER negatifliği ve yüksek histolojik grade ile ilişkilidir (26). Meme karsinomlarının yaklaşık %25’inde p53 mutasyonları mevcut olup bulgular genelde tedaviye yanıt vermezler ve sağkalım süreleri kısadır (26).

1.1.7. Hücre Siklusu, Siklus Düzenleyici Proteinler ve İnsan Neoplazisindeki Roller

Hücre döngüsü her siklusta özel olarak sentezlenen ve dönüşümlü aktifleşen protein kinazlar aracılığıyla kontrol edilir. Bu döngüyü kontrol eden proteinler genel olarak 2 ayrı grupta incelenirler: Sikline bağlı kinazlar ve siklinler.

1.1.7.1 Sikline Bağlı Kinazlar (CDK)

Hücre siklusunda sadece siklinler ile kompleksler oluşturarak protein kinaz aktivitesi gösterirler ve kısaca CDK olarak adlandırılırlar. Ökaryotik hücrelerde CDK1, CDK2 CDK4 ve CDK6 olmak üzere dört tip CDK bulunmaktadır.

CDK4 ve CDK6, G1 siklinlere

CDK2, G1/S ve S siklinlere

CDK1, ise M- sikline bağlanır

Oluşan farklı CDK-siklin kompleksi de farklı hedef proteinlerin foforilasyonunu gerçekleştirerek döngünün ilerlemesine neden olmaktadır (30, 31).

1.1.7.2 Siklinler

Her hücre döngüsünde siklik olarak sentezlenir ve yıkılırlar. Hücre siklusunda CDK ile aktif kompleks oluşturan siklinler, CDK'larda olduğu gibi ilkel ve ileri ökaryotlarda farklı tiplerde bulunurlar. İlkel ökaryotlardan mayalarda G1 ve Mitotik siklin olmak üzere iki tip olarak bulunurlar. Buna karşın yüksek yapıli canlılarda ve

insan hücrelerinde ise A, B, C, D, E ve F olmak üzere 6 tip siklin olduğu belirtilmiştir.

G1 siklinler (siklin D); geç G1’de özel CDK’lara (CDK2, CDK4 ve CDK6) bağlanarak kısıtlama noktasından geçişi sağlar.

G1/S siklinler (Siklin E); G1 sonunda daha geç sentezlenir ve CDK2’ye bağlanarak G1’den S fazına geçişi ve DNA sentezine karar verilmesi için gereklidir.

S Siklinler (Siklin A); CDK2’ye S fazında bağlanarak replikasyonun başlaması hücrenin S fazında ilerlemesi için gereklidir.

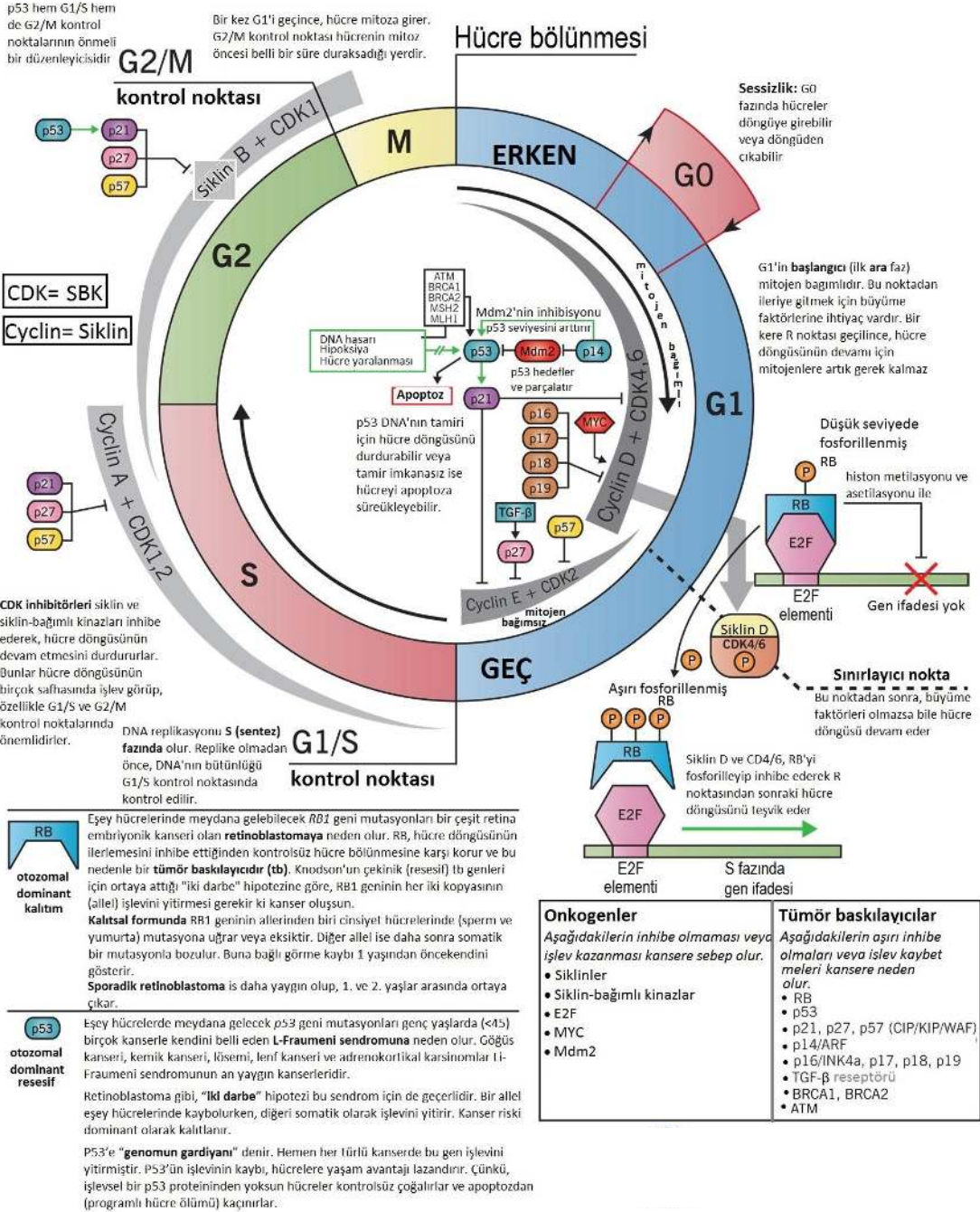
M-Siklinler (Siklin B); G2’den M evresine geçiş için CDK1’e bağlanarak mitoz olaylarını başlatır.



Hücre döngüsü ve kanserle ilişkisi

Orijinali: Eric Wong
Türkçesi: Hikmet Geçkil

Siklinler ve SBKlar ► hücre döngüsünü teşvik ederler. **SBK inhibitörleri** ► döngüyü durdururlar. Bu iki molekül grubu arasındaki denge, hücrenin çoğalmasını veya susukun kalmasını belirler.

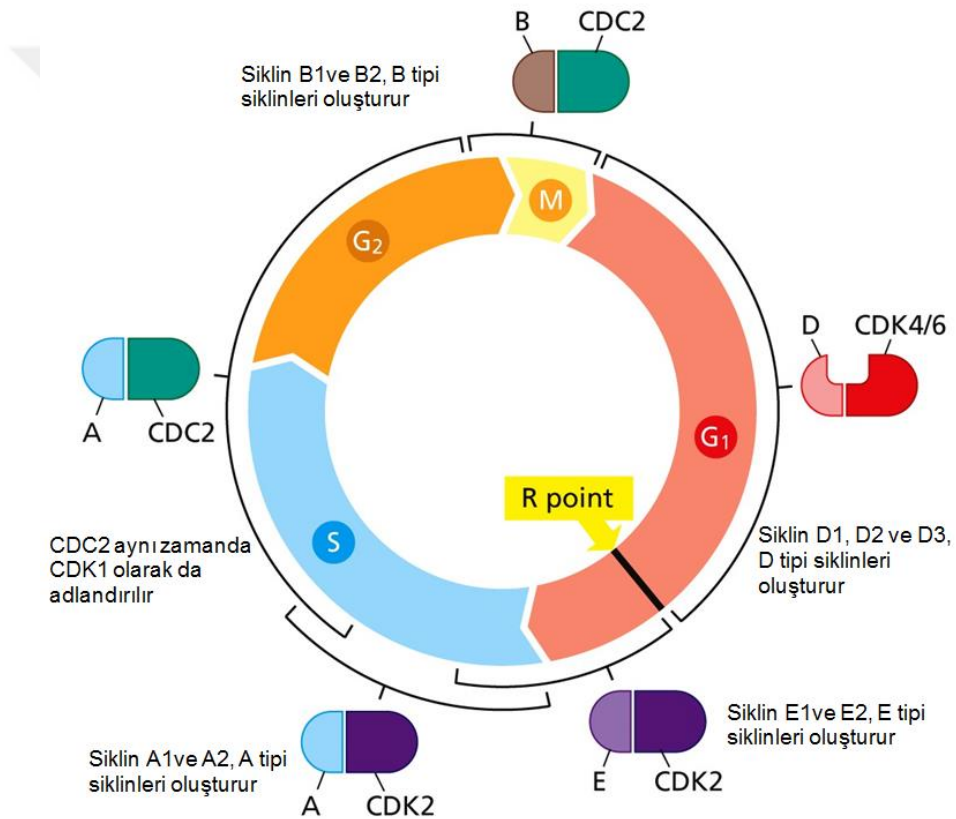


Şekil 1. Hücre döngüsü ve kanserle ilişkisi

1.1.7.3. D Tipi Siklinler ve Siklin D1

Onkogenez mekanizması incelendiğinde hücre siklusunda ilerletici özellik gösteren siklinlerin sentezinin artmış olduğu görülmüştür. Tümörlerde hücre siklusunu yavaşlatıcı ve bu sayede tümör supresör olan proteinlerin (CDK inhibitörleri gibi) sentezinin ise yavaşladığı görülmüştür. D-tipi Siklinler; Siklin D1, D2 ve D3'ü içerir.

Siklin D1 hücre düzenleyici proteinler arasında fonksiyonları en iyi anlaşılmış ve kanser gelişimi üzerinde en çok çalışılmış siklindir. CD1'in görevlerini 2 temel başlık altında toplamak mümkündür:



Şekil 2. Hücre döngüsünde siklin tipleri

1) CDK Aktivasyonu: CD1'in en erken ve en iyi anlaşılmış fonksiyonlarından biridir. CD1, CDK 4 veya CDK 6 ile kompleks oluşturarak hücre bölünmesini ilerletirler. CD1-CDK4/CDK6 kompleksi RB fosforilasyonunu uyarır, E2F-duyarlı genlerin aktivasyonunu sağlar ve bu yolla DNA sentezi gerçekleşir. Bu kompleksin tek substratı retinoblastom ailesi üyeleri değildir. Bu grup içerisinde

TGFB–duyarlı transkripsiyonel modölatör SMAD3, RUNX ailesi üyeleri, GATA4 ve MEF2 ailesini de içeren hücre farklılaşması ve proliferasyonundan sorumlu transkripsiyon faktörleri; BRCA1 gibi DNA hasar tamiri ve genomik stabiliteden sorumlu bir gen mevcuttur. Diğer CDK4 hedefleri arasında sentrozom duplikasyonu ve ayrılması, mitokondriyal fonksiyonlar, hücre büyümesi, hücre adezyon ve motilitesi sayılabilir. Cyclin D-CDK4 kompleksinin hücre büyümesi üzerine etkileri protein sentezi (mTOR'un tüberoskleroz kompleksi ile regülasyonu) ve ribozom biyogenezi yoluyla olur.

2) Katalitik Olmayan Fonksiyonları: D-tipi siklinler, kromatin-modifiye edici enzimler ve çeşitli transkripsiyon faktörleri ile CDK bağımsız transkripsiyonel etkiler oluşturabilir. Bu grup içerisinde steroid hormon reseptörleri sayılabilir. CD1, koreseptörlerini uyararak ER-alfa reseptör aktivitesini arttıran bir etkiye sahiptir. CD2 ve D3'ün ER-alfa ile ilişkileri kısıtlıdır. CD1, ER-alfa üzerindeki etkisine zıt olmak üzere, tiroid hormon reseptörü beta ve PPAR gama (peroksizom proliferatör-aktive reseptörleri) reseptörleri üzerinde inhibe edici özelliklere sahiptir (30, 32).

1.1.7.3.1. Siklin D1 ve Kanser

Hücre döngüsünün G1 fazı boyunca geçişi düzenleyen basamaklardaki genetik sapmalar sıklıkla insan kanserinde ortaya çıkar ve CD1'in aşırı ekspresyonu en sık gözlenen değişikliklerden biridir (33). Bir modele göre, CD1'in fazla sentezlenmesinin, hücre döngüsü düzenleyici fonksiyonu vasıtasıyla bir onkogen olarak hizmet edebileceğini düşündürmektedir. CD1, farklı insan tümörlerinde önemli bir oranında amplifiye edilir ve/veya aşırı eksprese edilir. Artmış CD1 ekspresyonu, neogenez sırasında nispeten erken ortaya çıkar (34).

Siklin D1 başlangıçta klonlandı ve paratiroid tümörlerinin gelişiminde bir onkogen olarak kabul edildi (35-37). Paratiroid adenomlarının bir alt kümesi, CD1 onkogenine proksimal olarak PTH geninin promotörünü yan yana bırakan ve CD1'in aşırı ekspresyonu ile sonuçlanan bir klonal yeniden düzenlemeyi içerir.

Daha sonra paratiroid adenomlarının % 20-40'ının CD1 proteinini aşırı eksprese ettiği gösterilmiştir (36, 38-42). CD1 proteininin aşırı ekspresyonu, paratiroid dokusunun neoplastik proliferasyonu ile sınırlı değildir, aynı zamanda paratiroid bezinin non-neoplastik proliferasyonunda da görülür. Bununla birlikte

CD1 protein ekspresyonu, normal paratiroid dokusunda nadiren mevcuttur (40). İlgili çekici olarak, PTH-CD1 transjenik mikroenjansı, paratiroid hücrelerinin anormal büyümesiyle birlikte hiperparatiroidizm geliştirmiştir (38). Böylece, CD1 sadece hücrel proliferasyonu kontrol etmekle kalmaz, aynı zamanda anormal hormonal sekresyona da katkıda bulunabilir. Bununla birlikte, PTH sekresyonunu düzenleyen CD1'in moleküler mekanizması üzerinde çalışılmaya devam edilmektedir.

Siklin D1 geni (CCND1) primer insan meme kanserlerinin % 30-50'sinde aşırı eksprese edilir. Akciğer, meme, sarkom ve kolon kanseri dahil olmak üzere çoğu kanser türünde, CD1 aşırı ekspresyonu, CD1 genindeki bir klonal somatik mutasyon veya onkojenik sinyallerle indüksiyondan kaynaklanır (43).

D-tipi siklinlerin artmış ekspresyonunun G1 fazını kısalttığı, hücre boyutunu küçülttüğü, mitojen-bağımsız proliferasyonu uyardığı gösterilmiştir. Ancak CD1'in bu anlatılan özelliklerine ek olarak, doğrudan ya da dolaylı yollarla, potansiyel onkojenik sonuçlar doğurabilecek şekilde diğer hücrel süreçleri de etkileyebileceği bilinmektedir. Bu bahsedilen sonuçlar içinde VEGF ekspresyonu yoluyla anjiogenez, sentrozom duplikasyonu ve DNA hasar yanıtı mevcuttur (44).

Sonuç olarak CD1, hücre döngüsü progresyonu için önemli bir düzenleyicidir ve CD1'in aşırı ekspresyonu, kanserin gelişimi ve ilerlemesi ile bağlantılıdır. Bozuk CD1 ekspresyonu, meme kanserinde hormon tedavisine direnç gelişmesiyle de bağlantılıdır. CD1 geninin (CCND1, kromozom 11q13 lokalizasyonlu) rearanjman ya da amplifikasyonu veya CD1 proteininin overekspresyonu içinde meme karsinomu da olan, mantle hücreli lenfoma; başboyun, özofagus, dil ve larinkste skuamöz hücreli karsinom; uterin serviks karsinomları, astrositomlar, küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri, yumuşak doku sarkomları gibi geniş spektrumdaki neoplazilerde izlenir ve CD1'in rolünü daha iyi anlamamızı sağlar (45).

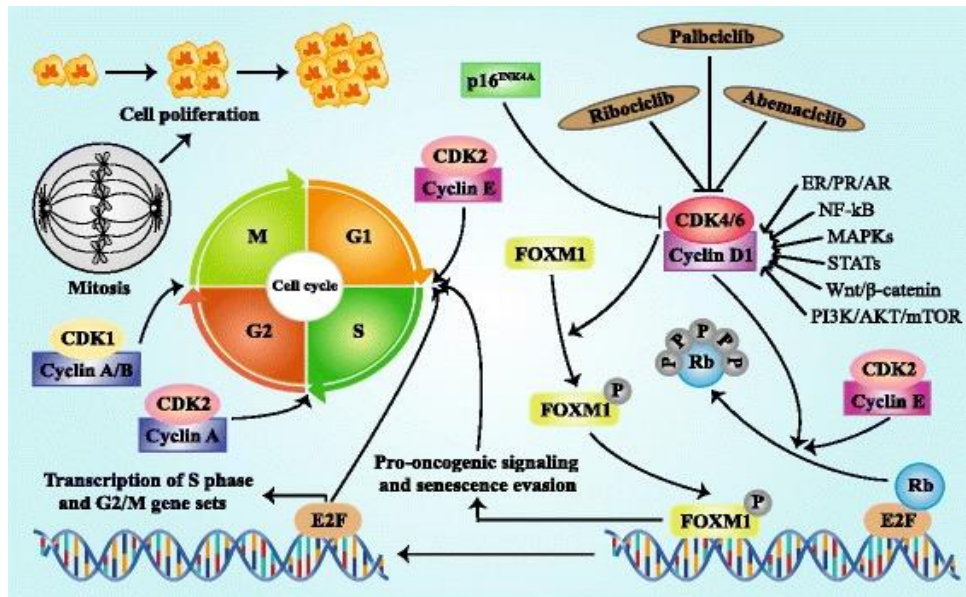
1.1.7.4. İleri Evre Meme Kanserinde Tedavide Selektif CDK4/6 İnhibitörleri

Hücre siklusu regülasyonunun tam olarak anlaşılması, son yıllarda umut verici kanser terapilerine katkıda bulunmuştur. Özellikle, CD ile kombinasyon halinde hücre bölünmesinin önemli düzenleyicileri olan sikline bağlı kinazlar 4/6 (CDK4/6), gittikçe daha fazla dikkat çekmektedir. CDK4/6' yı inhibe eden ilaçları

araştırmak ve bu ilaçların özellikle meme kanseri olmak üzere kanserdeki etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirmek için kapsamlı çalışmalar yapılmıştır.

Kabul edilemeyen yan etkilere ve in vivo olarak gözlemlenen daha az etkinliğe bağlı olarak, başlangıçta pan-CDK inhibitörü flavopiridolün çalışmaları sonlandırılmıştır ve daha sonra spesifik inhibitörler palbociclib (PD0332991), ribociclib (LEE011) ve abemaciclib (LY2835219) kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve geliştirilmiştir. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), yakın zamanda (Mart 2017) menapoz sonrası (postmenapozal) ER (+) ve HER2 (-) olan, ileri evre veya metastatik meme kanserli olgularda aromatoz inhibitörü ile kombine olarak başlangıç tedavisi olarak, yani daha önce herhangi bir tedavi almış olma şartı aranmadan, ribociclib'in kullanımı uygun görülmüştür.

Hormon reseptör-pozitif, HER2 (-) metastatik meme kanseri tedavisi için palbociclib ve ribociclib'i onayladı ve son klinik çalışma verileri palbociclib'in letrozol veya fulvestrant ile kombine edildiğinde klinik sonucu önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir. Ayrıca, abemaciclib'in meme kanseri hastalarının hayatta kalma süresinin uzaması üzerine olumlu etkileri, hem tek ajan hem de kombinasyon stratejisi için klinik çalışmalarda da gözlenmiştir. HR pozitif metastatik meme kanseri tedavisinin yeni nesil ilaçları palbociclib ve ribociclib FDA onayı almakla birlikte henüz ülkemizde geri ödeme kapsamına alınmamıştır (46).



Şekil 3. Hücre döngüsü ilerlemesinde CDK4/6'nın düzenlenmesi ve işlevi.

Hücre siklus düzenleyicileri olan sikline bağlı kinazlar 4/6 ve siklin D'nin aktif kompleksi, RB proteinini inaktive eder ve daha sonra hücre döngüsü G1/S geçişi ile hücre proliferasyonunu destekleyen E2F-duyarlı up-regülasyonunu tetikleyen transkripsiyon faktörü E2F'yi serbest bırakır. CDK4/6 ve CD1'in kombinasyonu, aynı zamanda, kanser hücrelerini hücre döngüsü bloğundan koruyan FOXM1-bağımlı ekspresyonuna yol açan, transkripsiyon faktör FOXM1'i fosforile edebilir. CDK4/6'nın kinaz aktivitesi, p16INK4A ve palbociclib, ribociclib ve abemaciclib dahil olmak üzere farmakolojik CDK4/6 inhibitörleri tarafından baskılanır. CD1, ER/PR/AR, NF-kB, MAPK'ler, STAT'ler, Wnt/y-katenin ve PI3K/AKT/mTOR gibi çoklu yollar ile düzenlenir. Ayrıca CDK2/Siklin E de RB fosforilasyonuna katılır. CDK2/Siklin S, G2 ve M fazlarında bir kompleks artar, CDK1/Siklin A/B kompleksi G2'den M fazına geçişe aracılık eder (46).

1.1.8. Osteopontin: Kanser Tedavisinde Umut Vaad Eden Biyobelirteç

1.1.8.1. Yapısı ve Normal Hücrelerde Fonksiyonları

Osteopontin mineralize kemik matriksinde osteoklastların bağlanması rol oynayan yaklaşık 44 kDa'lık bir moleküler kütleyle sahip bir asidik arginin-glisin-aspartat (RGD motifi) içeren yapışkan glikoproteindir.

Osteopontin hücreden salgılandıktan sonra, farklı memeli hücrelerinde elde edilen 44 kDa ila 75 kDa moleküler büyüklüğünü veren post-translasyonel modifikasyonlara uğrar.

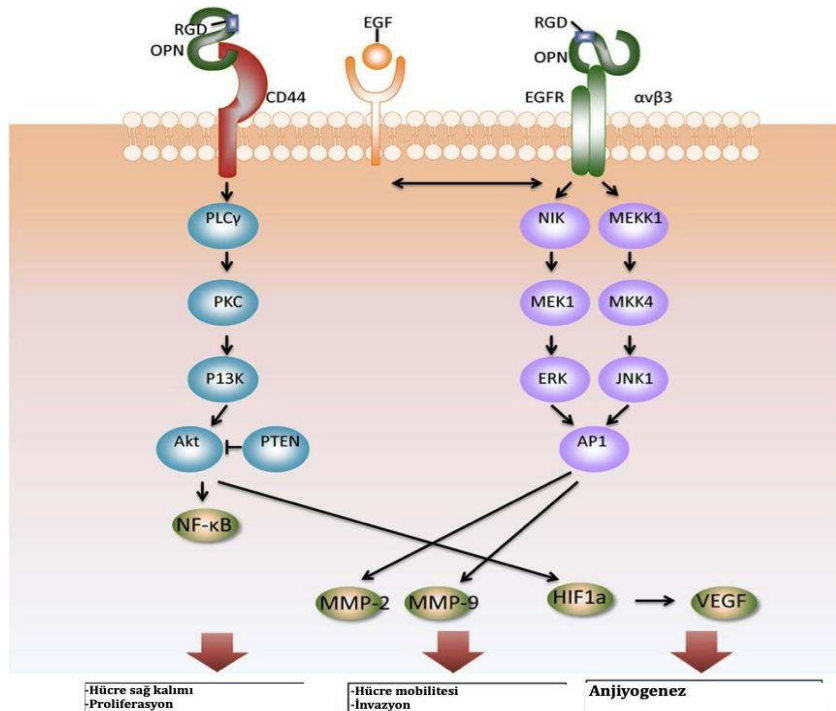
Kemik matriks proteini oluşunun yanı sıra birçok farklı sinyal yolları aracılığıyla birçok biyolojik olayda rol oynayan çok yönlü bir proteindir. OPN immun cevap, hücre adezyonu ve migrasyonu ve tümörogeneizde rol oynar (47).

Osteopontin esas olarak osteoblastlar, osteositler ve diğer hematopoietik hücreler tarafından sentezlenir (48). Ek olarak, OPN ayrıca nötrofiller, dendritik hücreler, NK hücreleri, T hücreleri ve B hücreleri tarafından da salgılanır (49). OPN'nin yapısı, tek zincirli bir polipeptit oluşturan yaklaşık 300 amino asit ile nispeten basittir ve 33-KDa gelişmekte olan bir protein olarak ifade edilir. OPN birçok fizyolojik fonksiyonda aktif olarak yer almaktadır. Kemikğin yeniden şekillenmesinde, kemiklerin kemik matrisine osteoklastların sabitlenmesinde önemli bir faktördür (50). Ek olarak, OPN hem doğuştan gelen hem de uyarlanabilir

bağışıklık sistemini düzenler. T hücreleri sitokinlerine benzer bir şekilde işlev gören OPN, hücre aracılı bir bağışıklık yanıtı geliştirir (51). OPN, hücre-hücre etkileşimlerinde yer alan bir hücre yüzeyi glikoproteini olan CD44v 6/7 ile etkileşime giren bir integrin-bağlama dizisi içerir. OPN ayrıca bağışıklık sistemi içindeki gen ekspresyonunu düzenlemek için hücre içi yolları da aktive edebilir (52). OPN'nin hücre farklılaşmasında önemli rolü iyice araştırılmış ve adipojenik farklılaşmayı baskıladığı ve mezenkimal kök hücrelerde integrin $\alpha\beta 1$ ile etkileşerek osteojenik farklılaşmayı desteklediği gösterilmiştir (53). Buna ek olarak, OPN sitokin üretimini düzenler (47). Özet olarak, OPN, kemik mineralizasyonunun düzenlenmesinden makrofaj aktivasyonunda ve hücre adezyon ve göçünün kolaylaştırılmasına kadar çeşitli fonksiyon dizilerine sahip bir proteindir.

1.1.8.2. Kanser Progresyonunda Osteopontinin Genel Rolü

Normal fizyolojik tepkilere aracılık etmedeki rolüne ek olarak, kanser ilerlemesinde OPN sinyal yollarının rolü giderek daha fazla fark edilmektedir ve tümör metastazının çok adımlı aşamalarında rol oynadığı gösterilmiştir (Şekil 4 ve 5) (13, 54).



Şekil 4. Tümör progresyonunda osteopontinin sinyal yolları üzerine etkileri

Osteopontin, Arg-Gly-Asp (RGD) bağımlı ve RGD'den bağımsız olarak çeşitli integrinlerle etkileşime girebilir (13). OPN ayrıca CD44 reseptör ailesi ile etkileşime girebilir. Reseptörlerin bağlanması üzerine OPN hücre sağkalımı, motilite ve tümör progresyonu, MMP lokalizasyonu ve kompleman inhibisyonu gibi hücrel reaksiyonları indükleyebilir. CD44 ailesinin reseptörleri ile etkileşerek, OPN, tümör hücrelerindeki anti-apoptotik sinyalleri, Fosfolipaz C- γ (PLC-protein kinaz C (PKC) -fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) -Akt yolu vasıtasıyla aktive edebilir. Fosfataz ve tensin homologu (PTEN) Akt fosforilasyonunu inhibe edebilir, $\alpha v \beta 3$ 'e bağlandıktan sonra OPN, nükleer faktör indükleyici kinaz (NIK) –ERK (hücre dışı sinyal-ilişkili kinaz) ve MEKK1 (mitojenle aktive olan protein kinaz kinaz1)–JNK1 (c-Jun N-terminal kinaz 1) sinyal yolları: AP1, kanser hücreleri motilitesini ve tümör ilerlemesini teşvik eder, ayrıca, OPN tarafından epidermal büyüme faktörü reseptörünün (EGFR) transaktivasyonu, AP1 aktivasyonuna yol açan ERK'nin fosforilasyonunu artırır ve HIF-1 yolları gelişmiş tümör hücresi sağkalımı, proliferasyon, invazyon ve anjiyogeneze yol açar

1.1.8.3. Tümör Hücresi Proliferasyonunda Osteopontinin Rolü

Yüksek OPN sekresyonu ile meme ve prostat kanseri, skuamöz hücreli karsinom, melanom, osteosarkom ve glioblastoma gibi çeşitli maligniteler arasındaki ilişki birçok çalışmada göstermiştir (55). Yüksek OPN DNA konsantrasyonunun, OPN içermeyen meme kanseri hücrelerinde anjiyogenezi arttırdığı ve dolayısıyla kemik metastazını ilerlettiği, dolayısıyla tümör gelişimini arttırdığını göstermiştir (56).

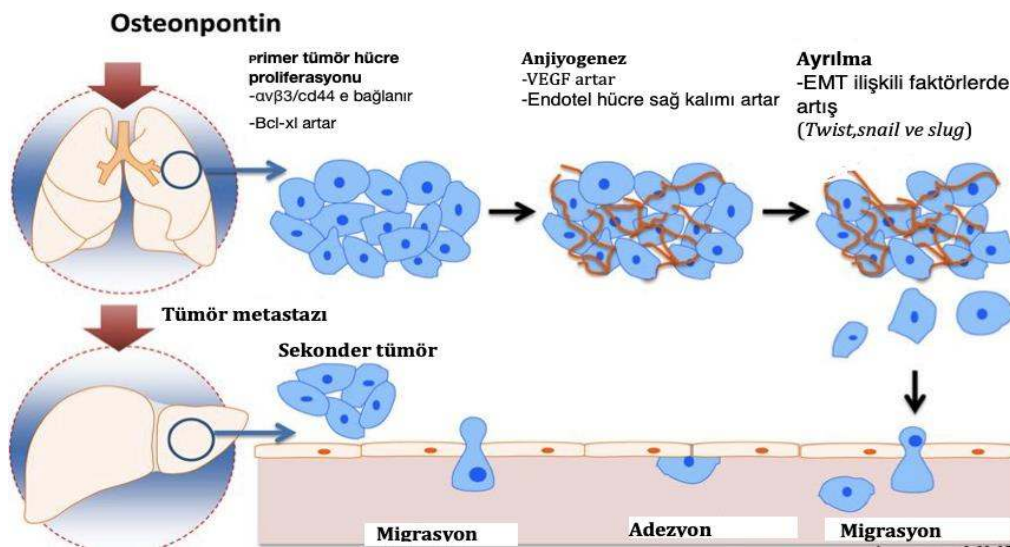
Bunun yanı sıra OPN, invaziv melanomda tümör progresyonu ile bağlantılıyken, OPN ekspresyonunun in vitro olarak melanom hücre sayılarını azalttığını göstermiştir. Bu bulgular OPN' nin melanomun gelişmesinin erken evrelerinde etkili olabileceğini göstermektedir (57). Farelerde yapılan bir çalışmada, Nükleer faktör indükleyen kinazın OPN'yi uyardığı ve böylece melanom büyümesi ile MMP-9' un uyarılmasından sorumlu olduğu gösterilmiştir (55). Ayrıca, melanosit büyüme faktörü reseptörünün aktivasyonunun OPN'nin sekresyonunu uyardığı, böylece anti-apoptotik sinyalleme teşvik ettiği ve melanomanın ilerlemesini arttırdığı bulunmuştur (57). Genel olarak, bu çalışmalar OPN'nin çeşitli yolları

düzenleyerek tümör progresyonuna aracılık etmede önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

1.1.8.4. Kanser Metastazı ve Osteopontin

Kanser metastazı, kanser hücrelerinin birincil tümörden ayrılması, intravazasyon, kanser hücrelerinin dolaşımı, kan damarı duvarına yapışması, ekstravazasyon ve ikincil tümörün büyümesi adımlarını içeren kompleks bir işlemdir (58). OPN' nin tüm bu süreçleri düzenlemedeki rolü tam olarak anlaşılmamış olsa da, son zamanlarda yayınlanan bir meta-analiz, OPN'nin aşırı ekspresyonunun kolorektal kanserlerin, akciğer kanserlerinin ve melanomların metastazı ile yakından ilişkili olduğunu bildirmiştir (59).

Epitelyum-mezenkimal geçiş (EMT), epitel hücrelerinin mezenkimal fenotipe geri döndüğü süreci anlatır. EMT, apikal-bazal polarite kaybı, artmış hücresel motilite ve sitoskeletonun yeniden düzenlenmesi ile karakterizedir. Üç ana tip EMT vardır: Tip 1 embriyogenez, tip 2 yara iyileşmesi, tip 3 ise kanser metastazıdır. OPN, tip 2 ve 3 EMT'ye aracılık etmede çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bir meme kanseri modelinde, OPN, Twist, Snail ve Slug dahil EMT ile ilişkili transkripsiyon faktörlerinde artışa neden olmuştur (60). OPN aşırı ekspresyonu, daha sonra Bm-1 promotoruna bağlanan ve daha sonra meme kanseri hücre hatlarında EMT'yi aktive eden, Twist' in serin fosforilasyonu ile sonuçlanır (61).



Şekil 5. Kanser metastazında osteopontinin rolü

Osteopontinin aşın ekspresyonu, farklı protein mediyatörlerini aktive ederek kanser hücresi metastazında birçok adımı indükler. OPN bir primer tümörden vasküler endotelyal büyüme faktörü gibi çeşitli büyüme faktörleri salgılanmasını arttırarak anjiyogenez ile vaskülarizasyonu arttırır. Ardından kanserli hücrenin ayrılması, ardından intravazasyon; tümör hücresi vasküler sisteme girer ve dolaşır. Hücre, kan damarını terk etmeden önce son olarak kan damarının duvarına bağlanır burada daha sonra metastaza neden olan ikincil tümör olarak büyür.

1.1.8.5 Osteopontin ve Meme Kanseri

Osteopontin ve meme kanseri ilerlemesi arasındaki ilişki ilk olarak 1997'de Tuck ve ark. (62) tarafından çalışıldı. Eş zamanlı, bilateral invaziv meme karsinomu olan bir hastadan doku örnekleri çıkarıldı. Daha sonra aynı yazarlar lenf nodu negatif meme kanseri olan 154 kadın tümöründe OPN proteini ve mRNA ekspresyonunu araştırdı. Tümörlerin % 70'inde tümör infiltre eden makrofajlar ve lenfositlerde OPN tespit edildi ve ayrıca tümörlerin % 26'sında OPN spesifik olarak karsinom hücrelerinde lokalize edildi. Genel olarak, bu pilot çalışmanın sonuçları, tümör agresifliğinin ve kötü prognoz, meme kanseri hücrelerinin OPN sentezlemesine veya tümörün mikroçevresinden OPN'ye bağlanmalarına ve bağlanma yeteneklerine bağlı olduğunu göstermektedir (63). Son zamanlarda, meme kanseri olan hastalar için OPN'nin tanı, prognoz ve klinik bilgi sağlama potansiyeli gösterilmiştir. Yaygın meme kanseri olan hastalarda, OPN serum seviyeleri 10 kata kadar artmıştır ve yüksek OPN konsantrasyonu daha tümör derecesi ile ilişkilidir (64-66). Hücresel migrasyonun integrin aracılı indüksiyonunu araştıran yeni bir çalışmada, $\alpha\beta 3$ integrininin, yüksek oranda tümörjenik, metastatik meme kanseri hücre hattının OPN'ye doğru göçüne dahil olduğu bulunmuştur; metastatik olmayan hücreler ise $\alpha\beta 1$ ve $\alpha\beta 5$ integrinlerini kullanmıştır (67). Diğer çeşitli çalışmalar OPN'yi bağlayan tümör hücrelerinin daha agresif eğilimlere sahip olduğu fikrini desteklemektedir (68).

Sonuç olarak OPN'nin tümör progresyonuna katkıda bulunduğunu gösteren kanıtlar vardır. Bununla birlikte, bu moleküler yolların net anlaşılmasında ve solid organ tümörlerinin ilerlemesi ve metastazına aracılık etmede OPN'nin kesin rolünü aydınlatmak için daha fazla araştırma gereklidir. OPN, çeşitli malignitelerde tümör

progresyonunu yönetmek için yeni bir biyobelirteç ve anti-kanser terapötik hedef olma potansiyeline sahiptir ve böylelikle kanser ve metastazın erken tespiti ve tedavisi olasılığını müjdelemektedir.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hasta Seçimi ve Çalışma Metodu

Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilen, 30 ileri evrede ve 30 lokal ileri evrede İDK tanılı olgular çalışma grubunu oluşturmuştur. Olgular seçilirken Bloom-Richardson gradeleme sistemine göre grade 1, 2 ve 3 10'ar olgu seçilmiştir. Kontrol grubu olarak da kanser tanısı olmayan benign sebeplerle (mamoplasti, meme küçültme cerrahisi vb.) meme dokusu incelenen 10 farklı bireyden alınan sağlıklı meme dokusu alanları seçilmiştir. Olguların doku örneklerine ait preparatlar F.Ü. Patoloji AD arşivinden çıkarılmıştır. Etik kurul onayı alındıktan sonra, çalışmaya alınma ve dışlanma kriterleri aşağıdaki şekilde uygulanmıştır:

Araştırmaya dahil olma kriterleri:

- 1- İDK doku tanısının olması
- 2- Lokal ileri evrede İDK tanılı olgular
- 3- İleri evrede İDK tanılı olgular
- 4- Olgulara ait patoloji preparatlarının hastane patoloji arşivinde mevcut olması

Araştırma dışı bırakılma kriterleri:

- 1- Takibi eksik olgular
- 2- Patoloji preparatı hastanemizde bulunamayan olgular
- 3- İDK dışı patolojik tanı alan meme kanserli olgular
- 4- İkincil maligniteli olgular

2.2. İmmunohistokimyasal Çalışmalar

Tamponlanmış formalinle tespit edilmiş, rutin yöntemler ile takibi sağlanmış olan dokulardan elde edilen parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. OPN (Rabbit polyclonal, 1/300, ab8448 ABCAM) ve CD1 (anti-Cyclin D1 (SP4-R) rabbit monoclonal, 1/150, VENTANA) boyamaları için otomatik boyama cihazında (Ventana Medical System. SN: 712299, REF: 750-700, Arizona, USA) işleme alındı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Boyamada immün reaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok,

+0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu (histoskor= yaygınlık x şiddet).

2.3. İstatistiksel değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS statistics versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümlerse medyan ve minimum - maksimum olarak özetlendi. Kategorik sürekli ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında “Ki Kare” testi kullanıldı. Sürekli ölçüm değerine sahip değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov-Smirnov testiyle değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen sürekli ölçümlerin iki grup arasında karşılaştırılmasında “Mann Whitney U” testi kullanılırken ikiden fazla grup arasında genel karşılaştırmada “Kruskal Wallis” testi kullanıldı. İki grup arasında karşılaştırmada anlamlı bulunan durumlar için grupların ikili karşılaştırılmalarında Bonferroni düzeltmesi yapılmış “Mann Whitney U” testi kullanıldı. Tümör belirteçleriyle osteopontin arasındaki ilişkiye “Pearson Korelasyon” testiyle bakıldı. Yaşam süresinin tümör belirteç değişkenleri ile ilişkisini incelemeye Kaplan-Meier analizi altında “Log-Rank” testi yapıldı. Sonuçlar sağkalım eğrileriyle gösterildi. CD1 ve OPN değişkenleri için uygun kesim noktalarını belirlemek amacıyla ROC analizi yapıldı. Özgünlük ve duyarlılığın en yüksek olduğu düzey belirlenerek %95 güven aralığında eğri altında kalan alan hesaplandı. Belirtilen değişkenler için eşik değerler Youden indeksi kullanılarak belirlendi. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

Çalışmamıza 2008-2017 yılları arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilip İDK tanısı alan 60 olgu alındı.

Olgular 30'arlık iki grup olarak lokal ileri ve ileri evre olgulardan oluşuyordu. Lokal ileri ve ileri evre hastalığı olan olgular içinden Modifiye Scarff-Bloom-Richardson (MBR) Gradeleme Sistemine göre grad 1, grad 2 ve grad 3 olarak derecelendirilen 10'ar olgu çalışmaya dahil edildi. Olguların ortalama takip süresi 48.00 ± 25.47 aydı. Olguların yaş ortalaması 55.00 ± 10.56 idi. Tüm olguların 51'i (%85) 65 yaş altı iken, 9'u (%15) 65 yaş ve üzeri hastalardı. Olgulara ait genel klinik özellikler Tablo 10'da görülmektedir.

Tablo 10. Olguların klinikopatolojik özellikleri

		n	%
Evre	Lokal ileri	30	50
	Metastatik	30	50
Lokal ileride grad	Grad 1	10	16,6
	Grad 2	10	16,6
	Grad 3	10	16,6
Metastatik evrede grad	Grad 1	10	16,6
	Grad 2	10	16,6
	Grad 3	10	16,6
Tümör boyutu	T1	5	8,3
	T2	39	65
	T3	12	20
	T4	4	6,7
Tümör yerleşimi	Sağ	22	36,7
	Sol	34	56,7
	Bilateral	4	6,7
Meme operasyonu	Var	57	95
	Yok	3	5
Operasyon tipi	MKC	11	19
	MRM	47	81
Menapozal durum	premenapozal	29	48,3
	postmenapozal	31	51,7
ECOG skoru	0, 1, 2	41	68,3
	3, 4	19	31,7
Son durum	Hayatta	41	68,3
	Ex	19	31,7

MKC: Meme koruyucu cerrahi MRM: Modifiye radikal mastektomi

Olguların klinik özellikleri ile OPN ve CD1 ekspresyon oranları arasındaki ilişki Tablo 11'de görüldüğü gibidir. Yaş, menapoz, tümör lokalizasyonu, tümör çapı, geçirilen cerrahi tipi, ECOG performans skoru ile adjuvan kemoterapide herceptinli ve antrasiklinli tedavi alıp almaması ile OPN ve CD1 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı.

Tablo 11. Bazı klinik özellikler ile CD1 ve OPN ekspresyon oranları arasındaki ilişki

Değişkenler		CD1*	p değeri	OPN*	p değeri
Yaş	65 yaş altı	1.60 (0.10-2.70)	0.748	0.80 (0.40-2.00)	0.475
	65 yaş üstü	1.20 (1.10-2.70)		0.80 (0.60-1.80)	
Menapozal durumu	Premenapozal	1.60 (0.10-2.70)	0.827	0, 80 (0, 40-2, 00)	0.337
	Postmenapozal	1.50 (0.40-2.70)		0.70 (0.40-1.90)	
Tümör lokalizasyonu	Sağ	1.60 (0.10-2.70)	0.125	0.60 (0.40-1.20)	0.301
	Sol	1.80 (0.10-2.70)		0.80 (0.40-1.80)	
	Bilateral	2.25 (1.50-2.70)		0.80 (0.70-0.90)	
Tümör boyutu	T1	1.50 (1.20-2.70)	0.946	0.80 (0.70-1.20)	0.161
	T2	1.70 (0.40-2.70)		0.70 (0.40-1.20)	
	T3	1.75 (0.30-2.70)		0.70 (0.40-1.8)	
	T4	1.30 (0.10-2.70)		0.60 (0.40-0.80)	
Geçirilen cerrahi tipi	MKC	1.80 (0.60-2.70)	0.936	0.70 (0.40-0.80)	0.399
	MRM	1.70 (0.10-2.70)		0.80 (0.40-1.80)	
ECOG skoru	0, 1, 2	1.60 (0.40-2.70)	0.661	0.80 (0.40-1.80)	0.527
	3, 4	1.80 (0.10-2.70)		0.70 (0.40-1.80)	
Tedavide Herceptin alması	Almış	1.70 (0.10-2.70)	0.572	0.80 (0.40-0.90)	0.988
	Almamış	1.60 (0.30-2.70)		0.65 (0.40-1.20)	
Tedavide Antrasiklin alması	Almış	1.70 (0.10-2.70)	0.568	0.70 (0.40-1.80)	0.804
	Almamış	1.60 (0.60-2.70)		0.80 (0.40-0.90)	

*medyan (min-max)

Olguların evreleri ve normal meme dokusuna göre OPN ve CD1 ekspresyon oranları Tablo 12’de görülmektedir.

Normal meme dokusu ile karşılaştırıldığında meme ca tanılı olgularda CD1 ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmış bulundu ($p= 0.003$). İleri evre hastalığı olanlarda Grade 1, 2 ve 3 hastalığı olan hastalar arasında CD1 ekspresyon oranları anlamlı olarak farklıydı; CD1 ekspresyonu ileri evre grade 1 olgularda grade 3 e göre daha yüksek bulundu ($p= 0.004$).

Osteopontin ekspresyon skorları ise meme ca tanılı olgularda normal meme dokusuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p< 0.001$). OPN ekspresyonu ileri evre olgularda, lokal ileri hastalığı olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p< 0.001$).

Osteopontin ekspresyon oranlarına gradlar arasında anlamlı farklılık bulunamadı. Lokal ileri hasta grubunda ise gradeler arasında CD1 ve OPN arasında anlamlı fark bulunmadı ($p= 0.471$ ve $p= 0.768$)

Tablo 12. Sağlıklı grup ve hasta gruplar arasındaki CD1 ve OPN ekspresyonlarının kontrol grubuna göre değerlendirilmesi

		CD1*	p değeri	OPN*	p değeri
Grup	Kontrol	1.20 (1.10-1.40)		1, 70 (1.50-2.00)	
			0.003		<0.001
Evre	Lokal ileri	1.35 (0.40-2.70)		0.75 (0.40-1.80)	
	Metastatik	1.80 (0.10-2.70)		0.70 (0.40-0.90)	
Lokal ileri evre	Grad 1	1.45 (0.90-2.70)		0.65 (0.40-0.90)	
	Grad 2	1.20 (0.40-2.70)	0.471	0.80 (0.60-1.20)	0.768
	Grad 3	1.55 (0.60-2.70)		0.70 (0.40-1.80)	
İleri evre	Grad 1	2.45 (1.80-2.70)		0.90 (0.40-0.90)	
	Grad 2	1.95 (0.40-2.70)	0.006	0.60 (0.40-0.90)	0.610
	Grad 3	1.55 (0.10-2.70)		0.70 (0.40-0.80)	

*medyan (min-max)

Yaş, Pozitif lenf nodu sayısı, tanı anındaki CEA, son CEA, Tanı CA-15-3 , En son CA-15-3 değerleri ile CD1 ve OPN arasındaki korelasyon ilişkisine bakıldı, son CEA değeri ile CD1 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlılık içerisinde pozitif korelasyon bulundu, fakat bu korelasyon zayıftı ($p= 0.012$). Diğer parametrelerle CD1 ve OPN düzeyleri arasında anlamlı korelasyon bulunmadı (Tablo 13).

Tablo 13. Olguların bazal özellikleri ile CD1 ve OPN ekspresyonları arasındaki korelasyon ilişkisi

Parametre	CD1 r (p)	Osteopontin r (p)
Yaş	-0.14 (0.908)	-0.34 (0.781)
Pozitif lenf nodu sayısı	0.65 (0.632)	0.164 (0.227)
Tanıdaki CEA	0.008 (0.950)	0.073 (0.587)
Son CEA	0.329 (0.012)	-0.144 (0.280)
Tanı CA-15-3	-0.161 (0.224)	0.151 (0.254)
Son CA-15-3	0.048 (0.715)	-0.051 (0.678)

3.2. Histopatolojik ve immünohistokimyasal Bulgular

Tablo 14. Patoloji örneklerinin immünohistokimyasal özelliklerine göre dağılımı

Histokimyasal Özellikler		n	%
ER	Pozitif	39	65
	Negatif	21	35
PR	Pozitif	44	73.3
	Negatif	16	26.7
HER2	Negatif	17	28.4
	Pozitif	43	71.6
Ki67	%10 ve altı	3	6.8
	%10-20	7	15.9
	%20 üstü	34	77.3
PNİ	Pozitif	20	76.9
	Negatif	6	23.1
LVİ	Pozitif	45	80.4
	Negatif	11	19.6

ER: Östrojen reseptörü PR: Progesteron reseptörü HER2: İnsan epidermal büyüme faktörü-2 PNİ: Perinöral invazyon
LVİ: Lenfovasküler invazyon

Olguların ER, PR, Ki67, PNİ, LVİ ve HER2 durumları ile CD1 ve OPN ekspresyonları arasındaki ilişki Tablo 15’ de görülmektedir. ER, PR, Ki67, PNİ, LVİ ve CD1 ve OPN ekspresyonları arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$). HER2 pozitif ve negatif grupta ortalama, minimum ve maksimum OPN ekspresyon oranları Tablo 15’de görülmektedir. HER2 pozitif grupta OPN ekspresyonu negatif gruba göre istatistiksel anlamlılık düzeyinde daha yüksek bulundu ($p= 0.020$). HER2 pozitif ve negatif grupta CD1 ekspresyon dereceleri arasında ise istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ($p= 0.954$) (Tablo 15).

Tablo 15. Patoloji örneklemelerinin immunhistokimyasal belirteçleri ile CD1 ve OPN ekspresyon oranları arasındaki ilişki.

		CD1*	P değeri	OPN*	P değeri
ER durumu	Pozitif	1.80 (0.30-2.70)	0.497	0.80 (0.40-1.80)	0.862
	Negatif	1.60 (0.10-2.70)		0.70 (0.40-1.20)	
PR durumu	Pozitif	1.75 (0.40-2.70)	0.686	0.75 (0.40-1.80)	0.973
	Negatif	1.60 (0.10-2.70)		0.70 (0.40-1.20)	
Cerb2 durumu	Pozitif	1.70 (0.30-2.70)	0.954	0.80 (0.40-1.80)	0.020
	Negatif	1.80 (0.10-0.90)		0.60 (0.40-0.90)	
Ki 67 eksp.derecesi	Düşük %10	1.80 (0.80-2.70)	0.124	0.90 (0.40-0.90)	0.451
	Orta %10-20	2.10 (0.90-2.70)		0.60 (0.40-0.90)	
	Yüksek %20	1.65 (0.10-2.70)		0.75 (0.40-1.20)	
LVİ olup olmaması	Var	1.70 (0.10-2.70)	0.732	0.70 (0.40-1.80)	0.792
	Yok	1.80 (0.40-2.70)		0.60 (0.40-0.90)	
PNİ olup olmaması	Var	1.65 (0.30-2.70)	0.256	0.75 (0.40-0.90)	0.456
	Yok	1.20 (0.60-1.80)		0.80 (0.40-1.80)	

* Medyan (min-max)

3.3. Metastatik Özellikler

Olguların uzak organ tutulumu olanların metastaz yerlerine göre dağılımı tablo 4’te görülmektedir. İleri evre olguların 18’inde (%60) kemik, 7’sinde (%23.3) karaciğer, 1’er (%3.3) hastada beyin ve akciğer, 3 (%10) hastada lenf nodu metastazı mevcuttu. İleri evre olguların 16’sında (%53.3) nüks mevcuttu; nüks yeri en sık sırasıyla beyin (%52.9), akciğer ve kemikti.

Tablo 16. Olguların metastaz ve nüks yerlerine göre dağılımı

		n	%
Metastaz yeri	Beyin	1	3.3
	Karaciğer	7	23.3
	Akciğer	1	3.3
	Lenf Nodu	3	10
	Kemik	18	60
Nüks durumu	Var	16	26.7
	Yok	44	73.3
Nüks yeri	Beyin	9	52.9
	Karaciğer	1	5.9
	Akciğer	3	17.6
	Lenf Nodu	1	5.9
	Kemik	2	11.8

İleri evre hasta grubunda metastaz ve nüks yerleri ile CD1 ve OPN arasında ilişki Tablo 17 ‘de gösterilmiştir.

Kemik ve kemik dışı metastazı olanlar arasında CD1 ve OPN ekspresyon oranları arasında anlamlı fark yoktu ($p= 0.917$ ve $p= 0.477$).

Nüks olup olmaması ve nüks bölgesi ile OPN ve CD1 arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$).

Tablo 17. Metastaz yerleri CD1 ve OPN ekspresyonları arasındaki ilişki.

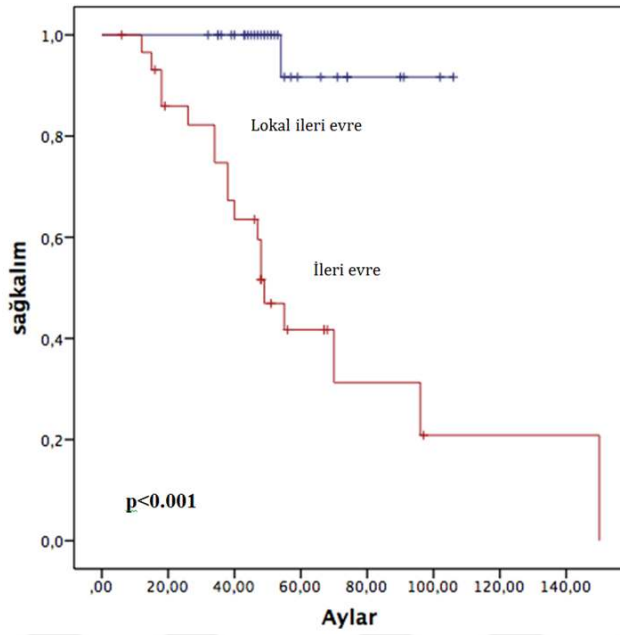
	CD1 (p)	OPN (p)
Kemik metastazı ve diğer metastazlar	0.917	0.477
Nüks olan ve olmayan grup	0.238	0.330
Beyin nüksü veya viseral nüks	0.377	0.185
N durumu (N0-N3)	0.936	0.007

N:Lenf nodu

N0, N1, N2 ve N3 olgularda Cyclin D1 ekspresyonları arasında anlamlı farklılık görülmedi. Olgularda nodal evreye göre osteopontin ekspresyonları nodal evresi ileri olan olgularda anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p= 0.007$).

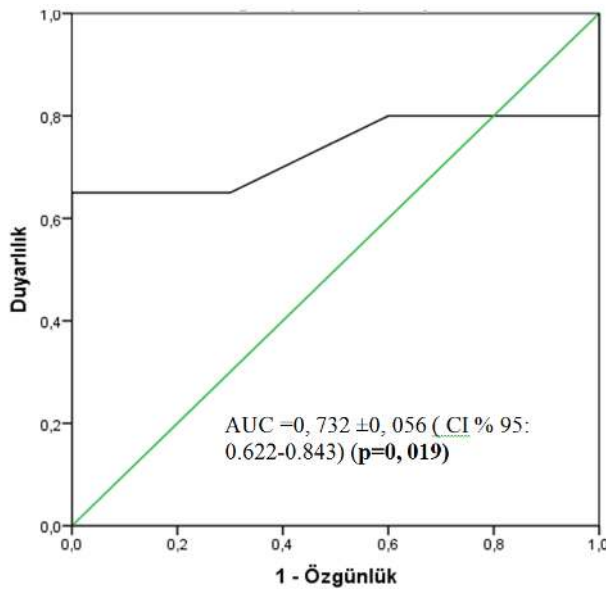
3.4. Sağkalım Analizleri

Olguların ortalama takip süresi 48.00 ± 25.47 aydı. Takip sürecinde genel sağkalım 100.28 ± 10.02 aydı. Ortalama sağ kalım lokal ileri olanlarda 101 ± 4.19 ay, ileri evre hastalarda 69.49 ± 11.23 aydı ($p< 0.001$) (Şekil 6).



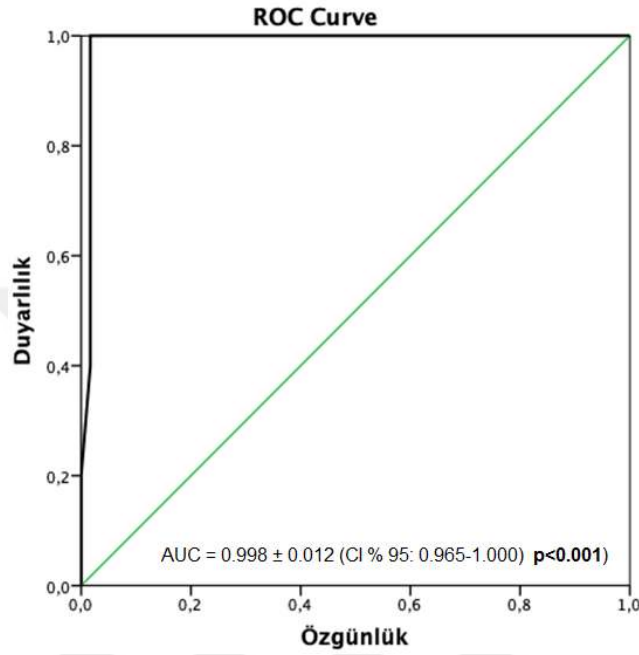
Şekil 6. Kaplan Meier analizine göre olguların evrelere göre sağkalım grafiği

Siklin D1'in meme kanserli hastalarda bir tümör belirteci olarak değeri ROC (Receiver Operation Caharacteristics) eğrisi ile test edildi. CD1 için AUC (eğrinin altındaki alan) = 0.732 ± 0.056 (CI % 95: 0.622-0.843) ($p=0.019$) ile 1.25 değeri prognoz açısından eşik değer olarak alındı (Sensitivitenin %65 ve spesifitenin %30 olduğu değer) (Şekil 7).

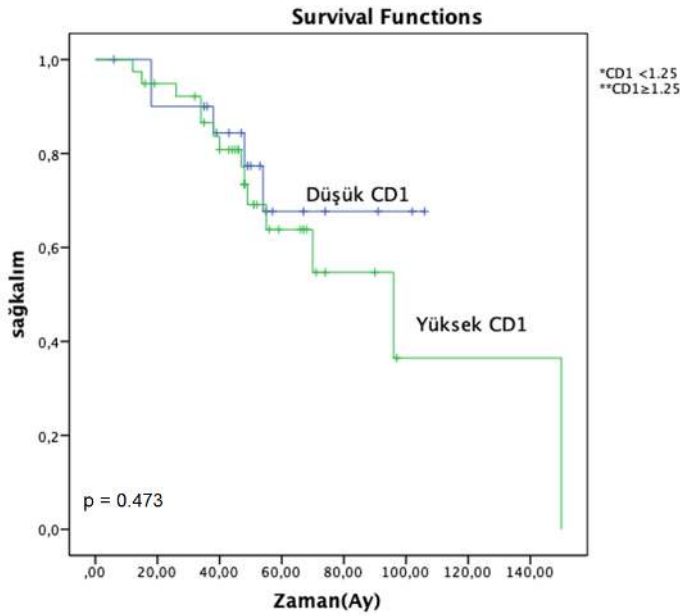


Şekil 7. Siklin D1 için ROC eğrisi

Osteopontinin meme kanserli hastalarda bir tümör belirtici olarak değeri ROC (Receiver Operation Caharacteristics) eğrisi ile test edildi. OPN için AUC (eğrinin altındaki alan) = 0.998 ± 0.012 $p < 0.001$ (CI % 95: 0.965-1.000) ($p < 0.001$) ile 1.35 değeri prognoz açısından eşik değer olarak alındı (Sensitivitenin %100 ve spesifitenin %1.70 olduğu değer).

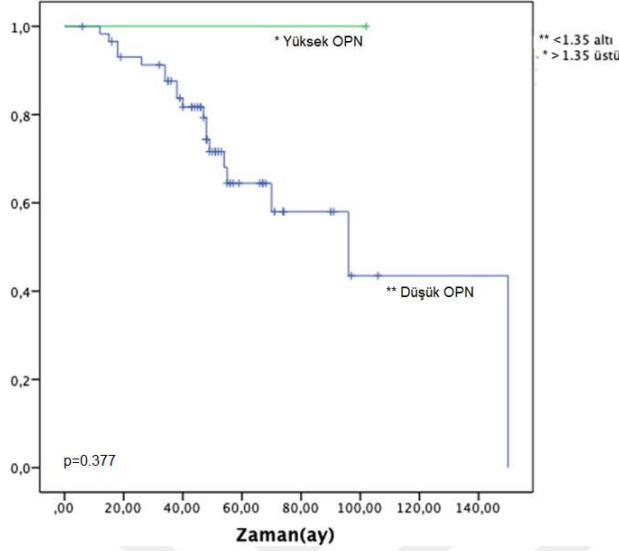


Şekil 8. Osteopontin için ROC eğrisi



Şekil 9. Kaplan Meier'e göre CD1 düzeylerine göre ortalama sağkalım eğrisi

Siklin D1 yüksek olarak grupta ortalama sağ kalım 96 ± 25.151 ay idi (CI %95: 67.742-117.592) CD1 düşük ve yüksek gruplar arasında ortalama sağ kalım için istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p= 0.473$).



Şekil 10. Kaplan Meire'e göre OPN düzeylerine göre ortalama sağkalım eğrisi.

Osteopontin için belirlenen eşik değere göre OPN ekspresyon oranı düşük ve yüksek olarak gruplanan hastalarda ortalama sağ kalım arasında ilişki Şekil 10'da görülmektedir.

Osteopontin için belirlenen eşik değere göre yüksek OPN ekspresyonu gözlenen olgu sayısı yetersiz olduğundan ve bu olgular içinden ölen olmadığı için ortalama sağkalım hesaplanamadı.

Osteopontin yüksek grupla düşük gruplarda arasında OS açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p= 0.377$).

Tablo 18. Cox regresyon (çok değişkenli) analizine göre sağkalımı etkileyen faktörler

Değişken	P	Hazard ratio	%95 güven aralığı Alt sınır-üst sınır
Performans düzeyi (ECOG 0, 1, 2 vs 3, 4)	< 0.001	39.2	6.753-228.219
Nodal durum (N0, N1, N2 ve N3)	0.124	1.679	0.867-3.252
Tanı anında CEA	0.217	0.479	0.149-1.543
En son CEA	0.957	1.037	0.270-3.981
CD1 düzeyi (düşük vs yüksek)	0.095	0.349	0.101-1.201
OPN düzeyi (düşük vs yüksek)	0.989	0	0.000-

Performans durumu, nodal durum, CEA, CD1 ve OPN düzeylerinden sadece performans durumunun sağ kalımı etkileyebilecek prognostik faktör olduğu bulundu.

Tablo 19. Histopatolojik özelliklerinin sağkalım üzerine etkileri (Tek değişkenli analiz)

Değişken	p
ER pozitif vs negatif	0.782
PR pozitif vs negatif	0.142
Cerb2 pozitif vs negatif	0.219
LVI +/-	0.439
PNI +/-	0.860
Menapozal durum (premenapoza/postmenapozal)	0.291
Tümör büyüklüğü (T1, T2, T3, T4)	0.803

Tabloda belirtilen özelliklerin sağkalım üzerine etkisi tespit edilmedi.

4. TARTIŞMA

Meme karsinomu kadınlarda en sık görülen malignite olduğundan, yeni alternatif tümör belirteçlerinin geliştirilmesi çok önemlidir. Yeni tanı meme karsinomu vakalarının %6'sı başlangıçta metastatiktir, %30'u da metastaz yapmaktadır ve bu karsinom metastazları önemli mortalite ve morbidite sebebidir. İçlerinden sadece birkaçının etkili olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen, çeşitli meme kanseri belirteçleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır (69, 70). Karsinoembriyonik antijen (CEA) ve diğerleri gibi serum tümör marker seviyeleri, hastalık takibinde kullanışlıdır ancak erken teşhis için duyarlı olduğu kanıtlanmamıştır (71).

Son yıllarda, mamaglobin ve maspin erken evre meme kanseri teşhisinde ve gizli metastazları belirlemede potansiyel bir biyobelirteç olarak tarif edilmiştir (72-74). Moleküler prognostik faktörlerden ER ve PR ise hem prognostik hem de prediktif değeri olan hormonal belirteçlerdendir (75-77). Hücre siklusu markerları da (örneğin, Ki-67), büyüme faktörleri ve reseptörleri (örn., HER2) hücre adezyon molekülleri (örneğin, E-cadherin ve P-cadherin) meme tümörü belirteçleri olarak çalışılmıştır (78-84). OPN de, içinde meme karsinomunun da olduğu birçok malignitede progresyon ve proliferasyon belirteci olarak çalışılmaktadır.

Osteopontin ve tümör arasındaki ilişki ilk defa 1989 yılında Senger ve ark. (85) tarafınca araştırılmıştır. OPN'nin tümörlerde fazla yapıldığı over karsinomlu kadınların serumlarında da fazla miktarda bulunduğu ve hastalık progresyonu ile ilişkili olduğunun saptanması üzerine olası bir karsinom belirteci olabileceği düşünülmüş ve birçok çalışma yapılmıştır (86, 87). Birçok karsinom türünde OPN dokularda immünflorans yöntemle bakılmış ve sağkalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Farklı tümörlerde OPN ekspresyonun ya da uyardığı yolların inhibisyonun tümör büyümesine karşı yeni bir tedavi yöntemi olabileceği ve hastalık progresyonunu kontrol etmede bir yöntem olabileceği de öne sürülmüştür (88).

Meme karsinomunda birçok çalışmada OPN'nin prognostik önemi ortaya koyulmuştur. Macri ve ark. (89) yaptığı bir çalışmada OPN'nin meme karsinomunda metastazla ilişkisi değerlendirilmiş, meme karsinomu prognozu ve evresini belirlemede ve takipte biyotümöral belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir. Benzer şekilde Patani ve ark. (90)'ın yaptığı çalışmada meme karsinomunda OPN ekspresyonun tümör derecesi, evresi ve prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Farklı bir çalışmada da OPN aşırı ekspresyonunun meme karsinomu gelişimi ve metastazı ile de ilişkili olduğunu göstermiştir (91).

Weber ve ark. (92)'in yaptığı meta analiz tipinde çalışmada gestasyonel trofoblastik hastalıklar ve melanom dışı cilt kanserleri haricinde birçok kanser tipi için yüksek OPN düzeylerinin düşük sağkalım ve daha agresif tümör ile ilişkili olduğu saptanmış.

Mevcut çalışmada Weber ve ark. (92)'in aksine, meme karsinomlu olgularda OPN ekspresyon derecesi benign meme dokusuna göre istatistiksel anlamlılık düzeyinde düşük saptandı ($p < 0.001$).

Nemoto ve ark. (93) yaptığı bir çalışmasında farelerde OPN eksikliğinin metastaz kabiliyeti en yüksek tümörlerden biri olan melanom hücrelerinin kemik ve akciğere metastazını azalttığı görülmüş.

Mevcut çalışmada ileri evre olgularda en sık kemiğe metastaz görülmüştür. Nemoto ve ark. (93)'in yaptığı deneysel melanom modelinde, OPN kemik metastazları için gerekli bir molekül gibi gözükmemektedir. OPN düzeyi düşük olgularda daha az metastaz görülmesi, mevcut çalışmayla paralellik göstermektedir. Olgularımızın büyük çoğunluğunda kemik metastazı görülmesi, kemik metastazı mekanizmasında bir basamakta OPN'nin kullanılmasına bağlı tümörlü dokudaki ekspresyonunun azalmasıyla da açıklanabilir. Farklı çalışmalarda çıkan farklı sonuçlar OPN'nin ekspresyonun spesifik metastaz yerlerine ve farklı tümör karakterine bağlı olabileceğini düşündürmektedir. OPN ekspresyonunu metastaz yeri ilişkisine göre inceleyen az sayıda çalışma vardır. Mevcut çalışmada kemik ve kemik dışı metastazı olan olgularda OPN ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır, meme karsinomunun kemik metastazı ve OPN ekspresyon derecesi ile ilişkisi için daha geniş vaka serilerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Rudland ve ark. (64) 2002'de lokal ileri evredeki 333 meme karsinomu olgusunda OPN seviyelerine Western Blot ve İHK yöntemlerle bakmış ve olgular OPN negatif ve pozitif boyananlar olarak 2 grupta toplamıştır, OPN negatif olguların daha yüksek sağ kalıma sahip olduğunu göstermişlerdir ($p < 0.0001$). Bu çalışmanın aksine mevcut çalışmada ROC analizine göre belirlenen eşik değere göre yüksek ve düşük OPN ekspresyonuna sahip olgularda ortalama sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

İMK tanılı olgularla 5 yıllık izlem süresi boyunca yapılan bazı çalışmalarda, mevcut çalışmayla benzer şekilde sağkalım ile OPN ekspresyon derecesi arasında ilişki bulunamadı (62, 94).

Mevcut çalışmada HER2 pozitif grupta OPN ekspresyon derecesi, HER2 negatif gruba göre daha yüksek bulundu. Rudland (64) 'ın çalışmasında da mevcut çalışmaya benzer şekilde HER2 pozitif grupta OPN ekspresyon derecesi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Ayrıca mevcut çalışmada Rudland ve ark.(64)'ın yaptığı çalışmaya benzer şekilde OPN ekspresyon derecesiyle ER, PR, KI67, PNI, LVI ekspresyonları arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).

Hücre siklus düzenleyicilerinden CD1 de mevcut çalışmada ekspresyon derecesi ve metastaz ilişkisini incelediğimiz bir diğer biyobelirteçti. CD1'in meme karsinomunda ekspresyon durumunun incelendiği bir çok yayın mevcuttur. Mylano ve ark. (95) yaptığı bir çalışmada İMK olguların %76.9'unda (223/290) CD1 aşırı ekspresyonu görülmüştür.

He ve ark. (96)'ın 2014'te 168 olguyu içeren çalışmalarında olguların %52.9'unda CD1 aşırı ekspresyonu izlenmiştir.

Guo. ve ark. (97)'in 2007'de 98 İMK tanılı olgu ile yaptığı çalışmada olguların %52'sinde CD1' i pozitif olarak izlenmiştir.

Prasad ve ark. (98)'in yaptığı 98 İDK tanılı olguyu kapsayan çalışmada 59 olguda (%60) CD1 overekspresyonu izlenmiştir.

Mevcut çalışmada yukarda bahsi geçen çalışmalarla benzer olarak tüm meme ca tanılı olguların %65' inde (39/60) hastada belirlenen eşik değere göre CD1'i yüksek eksprese ettiğini bulduk. CD1'in meme karsinomunda yüksek eksprese olduğunu bulduğumuz bu oran literatürle uyumludur. Bununla birlikte yapılan diğer çalışmalarda CD1 ekspresyonlarının bakılma tekniği ve belirlenen eşik değerlerin farklılık gösterdiği göz önünde bulundurulmalıdır.

Cyclin D1 ekspresyonu ile klinik özelliklerin karşılaştırıldığı çalışmalarda yaş ve menapozal durum ile CD1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır, mevcut çalışmada da benzer şekilde yaş ve menapozal durum ile CD1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmadı.

Tümör çapının meme karsinomunda prognostik değer taşımasından ötürü mevcut çalışmada tümör çapı ve tümöral evre ile CD1 ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelenmeye değer bulunmuştur. Literatür incelendiğinde tümör boyutu ve evre ile CD1 ekspresyon düzeyi arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda mevcut çalışmanın aksine istatistiksel anlamlılık içerisinde tümör boyutu artıkça CD1 ekspresyonunun da arttığı saptanmıştır (96, 98).

Kenney ve ark. (99)'ın 1999'da 253 primer meme karsinomlu olguda yaptığı çalışmada ER (+) olgularda CD1 mRNA aşırı ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu bulmuştur. Bu çalışmada tümör çapı ile CD1 ekspresyonu arasında bir ilişkiye rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada da CD1 ekspresyonu farklı yöntemle bakılmış olsa da (İHK) bu çalışmalara benzer biçimde tümör çapı ve (T) evresiyle CD1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Guo ve ark. (100)'ın yaptığı çalışmada ise mevcut çalışmayla benzer olarak tümör çapı ile CD1 ekspresyon dereceleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Lenfovasküler invazyon ve CD1 ilişkisini CD1'in hücre migrasyonu ve dolayısıyla kanser invazyonu ve metastaz üzerindeki fonksiyonunu belirleyebilmek amacıyla incelendi. Kenny ve ark. (99)'ın yaptığı çalışmada LVİ ve CD1 ekspresyonu arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p= 0.208$). Mevcut çalışmada da bu çalışmaya benzer biçimde CD1 ve LVİ arasında istatistiksel anlamlılık düzeyinde ilişki tespit edilmedi ($p= 0.732$).

Siklin D1'in hormonal reseptörle ilişkisi de mevcut çalışmada incelendi. Literatürde yapılan çalışmalarda ER mRNA'sı ile CD1 mRNA değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptanmıştır (99, 100). Van Diest ve ark. (101)'in 148 İMK olgu ile yaptığı çalışmada CD1 ekspresyonun İLK tanılı hastalarda ER durumuyla güçlü pozitif korelasyon saptanmıştır.

Mevcut çalışmada bu çalışmaların aksine ER (+) olgularda CD1 ekspresyon derecesi ER (-), olgulara göre daha yüksek olmasına rağmen ER (+) ve ER (-) olgularla CD1 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p= 0.497$).

Bu sonuç ER ve CD1 ekspresyonu değerlendirmesinde kullanılan yöntemlerin farklılığı, olguların histolojik alt tipinin sadece İDK olması, tek

patoloğun değerlendirmesi veya olgu sayısının yetersiz olması ile ilişkili olabilir. Çalışmamızda PR reseptör durumuyla CD1 ekspresyon oranı arasında da anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p= 0.686$).

İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 amplifikasyonu meme karsinomunda kötü prognostik faktörlerden biridir. Mevcut çalışmada HER2 ile CD1 ekspresyon derecesi arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunamazken, Lee ve ark. (102)'ın ve Ahnström ve ark. (103)'ün yapmış oldukları çalışmalarda HER2 durumu, FISH ve İHK yöntemlerle incelenmiş, HER2'nin aşırı ekspresyonu, CD1'in yüksek ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir.

Mohammadizadeh ve ark. (104)'ün 2013'te yaptığı kesitsel nitelikteki çalışmada ise mevcut çalışmayla benzer şekilde HER2 durumuyla CD1 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Hücre proliferasyon belirteçlerinden Kİ-67 ekspresyon düzeyi ile CD1 ekspresyonu arasındaki ilişkiye bakıldı. Mevcut çalışmada CD1 ekspresyon derecesiyle ile Ki-67 ekspresyon oranları arasında ilişki görülmedi ($p= 0.124$). Mevcut çalışmanın aksine Aaltonen ve ark. (105). 'ün yaptığı çalışmada, yüksek CD1 ekspresyonu ER (+) tümörlerde daha yüksek Kİ-67 ekspresyonu ile korele bulunurken, yüksek CD1 ekspresyonu ER (-) tümörlerde düşük Ki-67 ekspresyonu ile korele bulunmuş.

Siklin D1'in metastaz sürecindeki etkilerini incelemek amacıyla, olguların metastaz ve nüks durumlarını ve bu olguların CD1 ekspresyonuyla ilişkisi incelendi. Olgular arasında ileri evreki olgularda CD1 ekspresyonu istatistiksel anlamlılık içerisinde yüksek bulundu. Bu sonuç birçok çalışma ile uyumluydu (96-98).

Çalışmadaki olgularda en sık metastaz bölgesi kemikti (18/30). 2. sırada karaciğer geliyordu (7/30). Kemik ve kemik dışı metastazları olan iki grup arasında CD1 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Olgulardan takip sürecinde nüks eden ve etmeyenler arasında CD1 ekspresyonları da istatistiksel olarak anlamlı değildi. Nüks görülen grupta olguların büyük çoğunluğunda nüks beyinde görülmüştü (9/16). Beyin ve viseral nüks görülen olgular arasında CD1 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Literatür incelendiğinde ileri evre hastalarda metastaz yeri ile CD1 ilişkisini inceleyen çalışmaya rastlanmadı. Bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu açıktır.

Mevcut çalışmada CD1 düzeyi ile olguların ortalama sağkalım analizleri de incelendi. CD1'in ROC analizinde belirlenen eşik değere göre düşük ve yüksek düzeyleri ile olguların ortalama sağkalımları arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı. Literatür incelendiğinde 2005'te 48 invaziv duktal karsinom tanılı olguyla yapılan bir çalışmada yüksek CD1 ekspresyonunun hem genel sağ kalım, hem de nüksüz sağkalımla ilişkisi olduğunu bulmuştur. CD1'in yüksek ekspresyonunun sağkalım üzerine olumlu etkisini gösteren bu çalışmanın aksine Cheng ve ark. (106)'ın çalışmasında CD1'in overekspresyonu görülen olgularda 10 yıllık takiplerinde hastalıksız sağkalım (HSK) ve genel sağkalım (SK) oranlarının daha düşük olduğu görülmüştür.

Mevcut çalışmayla benzer şekilde Michalides ve ark. (107)'ın CD1 overekspresyonu ile klinikopatolojik bulguların ilişkisinin incelendiği bir çalışmada ise CD1 ekspresyonu ile HSK ve SK arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Takip süresi, olgu sayısı ve düzenli kayıt oranı arttıkça CD1 ve SK üzerine yapılan çalışmalarda daha sağlıklı sonuçlara ulaşılabilmektedir.

Özetle OPN'nin ve CD1'in kötü veya iyi yönde prognostik belirteç olabileceğini veya prognostik önemi olmadığını destekleyen çok sayıda farklı yayın vardır (64, 85-92, 93, 95, 96-98,102, 105-107). Literatürde OPN ile yapılan birçok çalışmada OPN'nin plazma seviyelerine bakılmıştır ve CD1 ile yapılan çalışmaların bazılarında ise CD1'in PCR ile amplifikasyonları kontrol edilerek iki yöntem arasında korelasyona da bakılmıştır. Mevcut çalışmada her iki biyobelirteçe de tümör dokusunda sadece İHK yöntem ile bakılmıştır, bulguların İHK bulgular ile korele olup olmadığı değerlendirilmemiştir. Aynı zamanda çalışmada değerlendirmeyi tek pataloğun yapması da objektif bir sonuçtan uzaklaştırabilir. Bu konuda literatürde bulunan farklı çalışmalardaki tartışmalı sonuçların nedenleri arasında; immünohistokimyasal boyama yönteminde tek, standart bir uygulama şeklinin olmaması (fiksasyon, işleme ve antijen elde etme gibi), kullanılan primer antikorların değişken duyarlılık ve özgüllükte olması, immünohistokimyasal boyama için farklı immünohistokimyasal boyama yöntemlerin kullanılması sonuçlarının değerlendirilmesindeki farklılıklar bulunmaktadır.

Sonuç olarak OPN ve CD1'in meme karsinomlarında metastatik süreçte prognostik ve prediktif değeri şimdiye kadar yapılan çalışmalarda farklı sonuçlarla karşımıza çıksa da ilgiyle araştırılmaya devam edilmektedir. Bu çalışmada immunhistokimyasal olarak yüksek CD1 ve düşük OPN ekspresyonlarının invaziv meme karsinomu olgularında metastaz varlığını öngörmeye kullanılabilecek biyomarkırlar olduğu bulunmakla birlikte bu konuda daha kapsamlı araştırmalar bilinmezleri aydınlatacaktır.



5. KAYNAKLAR

1. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ* 2000; 321: 624-628.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108.
3. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: 359–386.
4. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Türkiye Kanseri İstatistikleri. 2015: 28-32.
5. Deshpande A, Sicinski P, Hinds PW. Cyclins and cdks in development and cancer: a perspective. *Oncogene*. 2005; 24: 2909–2915.
6. Lamb R, Lehn S, Rogerson L, Clarke RB, Landberg G. Cell cycle regulators cyclin D1 and CDK4/6 have estrogen receptor-dependent divergent functions in breast cancer migration and stem cell-like activity. *Cell Cycle* 2013; 12: 2384-2394.
7. Singhal H, Bautista DS, Tonkin KS, O'Malley FP, Tuck AB, Chambers AF, et al. Elevated plasma osteopontin in metastatic breast cancer associated with increased tumor burden and decreased survival. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 603-611.
8. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2310.
9. Jemal A, Siegel R, Xu J. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300.
10. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29.
11. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001; 2: 133-140.

12. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics 2013; 63: 11-30. 211-266.
13. Ford D, Easton DF, Stratton M. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. Am J Hum Genet 1998; 62: 676-689.
14. Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. J Natl Cancer Inst 2002; 94: 1365-1372
15. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Calle EE, Heath CW, et al. Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. Br J Cancer 2002; 87: 1234-1245.
16. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. Br J Cancer 2005; 93: 1046-1052.
17. Grabrick DM, Hartmann LC, Cerhan JR, Vierkant RA, Therneau TM, Vachon CM, et al. Risk of breast cancer with oral contraceptive use in women with a family history of breast cancer. JAMA 2000; 284: 1791-1798.
18. Singletary KW, Gapstur SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. JAMA 2001; 286: 2143-2151.
19. Bhatia S, Yasui Y, Robison LL, Birch JM, Bogue MK, Diller L, et al. High risk of subsequent neoplasms continues with extended follow-up of childhood Hodgkin's disease: report from the Late Effects Study Group. J Clin Oncol 2003; 21: 4386-4389.
20. Gunhan BI, Ustun EE, Memis A. Inflammatory breast carcinoma: mammographic, ultrasonographic, clinical, and pathologic findings in 142 cases. Radiology 2002; 223: 829-838.
21. Parthasarathy V, Rathnam UN. Discharge: an early warning sign of breast cancer. Int J Prev Med 2012; 3: 810-814.

22. American Joint Committee on Cancer. Comparison Guide: Cancer Staging manual, 8th edition. www.cancerstaging.org. 2017: 624–628.
23. Fitzgibbons PL, Dillon DA, Alsabeh R, Berman MA, Hayes DF, Hicks DG, et al. Template for reporting results of biomarker testing of specimens from patients with carcinoma of the breast. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138: 595-601.
24. Elledge RM. Assessing p53 status in breast cancer prognosis: where should you put the thermometer if you think your p53 is sick? *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 141-143.
25. Lester SC. The Female Breast, Prognostic and Predictive Factors. Kumar V, Abbas AK, Fausto N (eds). *Robins and Kotran Pathologic Basis of Disease*. Seventh edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005: 1146–1148.
26. Rosen PP. Invasive Duct Carcinoma: Assesment of Prognosis, Morphologic Prognostic Markers and Tumor Growth Rate. *Rosen's Breast Pathology*. Third edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009: 358–394.
27. Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre-Gerau X, Bussolati G, Tavassoli FA, Eusebi V, et al. Invasive Breast Carcinoma. Tavassoli FA, Devielee P (eds). *Tumours of the Breast, WHO Classification*. Lyon: IARC Pres, 2012: 8-76.
28. Andea AA, Bouwman D, Wallis T, Visscher DW. Correlation of tumor volume and surface area with lymph node status in patients with multifocal/multicentric breast carcinoma. *Cancer* 2004; 100: 20–27.
29. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19: 403–410.
30. Lim S, Kaldis P. Cdks, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation. *Development* 2013; 140: 3079–3093.
31. Musgrove E, Caldon C, Barraclough J, Stone A, Sutherland R. Cyclin D as a therapeutic target in cancer. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 558–572.
32. Stacey DW. Cyclin D1 serves as a cell cycle regulatory switch in actively proliferating cells. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15: 158–163.

33. Zwijsen RM, Buckle RS, Hijmans EM, Loomans CJ, Bernards R. Ligand-independent recruitment of steroid receptor coactivators to estrogen receptor by cyclin D1. *Genes Dev* 1998; 12: 3488–3498.
34. Weinstein IB. Relevance of cyclin D1 and other molecular markers to cancer chemoprevention. *J Cell Biochem Suppl* 1996; 25: 23–28.
35. Motokura T, Bloom T, Kim HG, Juppner H, Ruderman JV, Kronenberg HM, Arnold A. A novel cyclin encoded by a bcl1-linked candidate oncogene. *Nature* 1991; 350: 512–515.
36. Mallya SM, Arnold A Cyclin D1 in parathyroid disease. *Front Bio Sci* 2000; 5: 367–371.
37. Arnold A, Motokura T, Bloom T, Kronenberg H, Ruderman J, Juppner H, Kim HG The putative oncogene PRAD1 encodes a novel cyclin. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1991; 56: 93–97.
38. Imanishi Y, Hosokawa Y, Yoshimoto K, Schipani E. Primary hyperparathyroidism caused by parathyroid-targeted overexpression of cyclin D1 in transgenic mice. *J Clin Invest* 2001; 107: 1093–1102.
39. Hemmer S, Wasenius VM, Haglund C, Zhu Y, Knuutila S, Franssila K, Joensuu H. Deletion of 11q23 and cyclin D1 overexpression are frequent aberrations in parathyroid adenomas. *Am J Pathol* 2001; 158: 1355–1362.
40. Vasef MA, Brynes RK, Sturm M, Bromley C, Robinson RA. Expression of cyclin D1 in parathyroid carcinomas, adenomas, and hyperplasias: a paraffin immunohistochemical study. *Mod Pathol* 1999; 12: 412–416.
41. Tominaga Y, Tsuzuki T, Uchida K, Haba T, Otsuka S, Ichimori T, et al. Expression of PRAD1/cyclin D1, retinoblastoma gene products, and Ki67 in parathyroid hyperplasia caused by chronic renal failure versus primary adenoma. *Kidney Int* 1999; 55: 1375–1383.
42. Hsi ED, Zukerberg LR, Yang WI, Arnold A. Cyclin D1/PRAD1 expression in parathyroid adenomas: an immunohistochemical study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1736–1739.

43. Hosokawa Y, Arnold A. Mechanism of cyclin D1 (CCND1, PRAD1) overexpression in human cancer cells: analysis of allele-specific expression. *Genes Chromosomes Cancer* 1998; 22: 66–71.
44. Musgrove E, Caldon C, Barraclough J, Stone A, Sutherland R. Cyclin D as a therapeutic target in cancer. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 558–572.
45. Deshpande A, Sicinski P, Hinds PW. Cyclins and cdks in development and cancer: a perspective. *Oncogene* 2005; 24: 2909–2915.
46. Xu H, Yu S, Liu Q, Yuan X, Mani S, Pestell RG, Wu K. Recent advances of highly selective CDK4/6 inhibitors in breast cancer. *J Hematol Oncol* 2017; 10: 97.
47. Steinman L. A molecular trio in relapse and remission in multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 440–447.
48. Wang KX, Denhardt DT. Osteopontin: role in immune regulation and stress responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19: 333–345.
49. Patarca R, Saavedra RA, Cantor H. Molecular and cellular basis of genetic resistance to bacterial infection: the role of the early T-lymphocyte activation-1/osteopontin gene. *Crit Rev Immunol* 1993; 13: 225–246.
50. Reinholt FP, Hultenby K, Oldberg A, Heinegard D. Osteopontin--a possible anchor of osteoclasts to bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4473–4475.
51. Higashi A, Dohi Y, Uraoka N, Sentani K, Uga S, Kinoshita H, et al. The potential role of inflammation associated with interaction between osteopontin and CD44 in a case of pulmonary tumor thrombotic microangiopathy caused by breast cancer. *Intern Med* 2015; 54: 2877–2880.
52. Ramaiah SK, Rittling S. Pathophysiological role of osteopontin in hepatic inflammation, toxicity, and cancer. *Toxicol Sci* 2008; 103: 4–13.
53. Chen Q, Shou P, Zheng C, Jiang M, Cao G, Yang Q, et al. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? *Cell Death Differ* 2016; 23: 1128–1139.

54. Bellahcène A, Castronovo V, Ogbureke KU, Fisher LW, Fedarko NS. Small integrin-binding ligand N-linked glycoproteins (SIBLINGs): multifunctional proteins in cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 212–226.
55. Rangaswami H, Bulbule A, Kundu GC. Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression. *Trends Cell Biol* 2006; 16: 79–87.
56. Wai PY, Kuo PC. The role of osteopontin in tumor metastasis. *J Surg Res* 2004; 121: 228–241.
57. Zhou Y. Osteopontin expression correlates with melanoma invasion. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 1044–1052.
58. Wirtz D, Konstantopoulos K, Searson PC. The physics of cancer: the role of physical interactions and mechanical forces in metastasis. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 512–522.
59. Weber GF, Lett GS, Haubein NC. Categorical meta-analysis of osteopontin as a clinical cancer marker. *Oncol Rep* 2011; 25: 433–441.
60. Kothari AN, Arffa ML, Chang V, Blackwell RH, Syn WK, Zhang J, et al. Osteopontin-a master regulator of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Med* 2016; 5: 1–16.
61. Li NY, Weber CE, Mi Z, Wai PY, Cuevas BD, Kuo PC, et al. Osteopontin up-regulates critical epithelial-mesenchymal transition transcription factors to induce an aggressive breast cancer phenotype. *J Am Coll Surg* 2013; 217: 17–26.
62. Tuck AB, O'Malley FP, Singhal H, Harris JF, Tonkin KS, Kerkvliet N, et al. Osteopontin expression in a group of lymph node negative breast cancer patients. *Int J Cancer* 1998; 79: 502–508.
63. Mitas M, Mikhitarian K, Walters C, Baron PL, Elliott BM, Brothers TE, et al. Quantitative real-time RT-PCR detection of breast cancer micrometastasis using a multigene marker panel. *Int J Cancer* 2001; 93: 162–171.
64. Rudland PS, Platt-Higgins A, El-Tanani M, De Silva Rudland S, Barraclough R, Winstanley JH, et al. Prognostic significance of the metastasis-associated protein osteopontin in human breast cancer. *Cancer Res* 2002; 62, 3417–3427.

65. Brown LF, Papadopoulos-Sergiou A, Berse B, Manseau EJ, Tognazzi K, Perruzzi CA, et al. Osteopontin expression and distribution in human carcinomas. *Am J Pathol* 1994; 145: 610–623.
66. Tuck AB, Chambers AF. The role of osteopontin in breast cancer: clinical and experimental studies. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2001; 6: 419–429.
67. Tuck AB, Elliott BE, Hota C, Tremblay E, Chambers AF. Osteopontin-induced, integrin-dependent migration of human mammary epithelial cells involves activation of the hepatocyte growth factor receptor (Met). *J Cell Biochem* 2000; 78: 465–475.
68. Noti JD. Adherence to osteopontin via $\alpha_5\beta_3$ suppresses phorbol ester-mediated apoptosis in MCF-7 breast cancer cells that overexpress protein kinase C- α . *Int J Oncol* 2000; 17: 1237–1243.
69. Ross JS, Linette GP, Stec JCE. Breast cancer biomarkers and molecular medicine. *Expert Rev Mol Diagn* 2003; 3: 573–585.
70. Ross JS, Linette GP, Stec JCE. Breast cancer biomarkers and molecular medicine: part II. *Expert Rev Mol Diagn* 2004; 4: 169–188.
71. Hayes DF. Serum (circulating) tumour markers for breast cancer. *Recent Results Cancer Res* 1996; 140: 101–113.
72. O'Brien N, Maguire TM, O'Donovan N. Mammaglobin: a promising marker for breast cancer. *Clin Chem* 2002; 48: 1362–1364.
73. Maass N, Nagasaki K, Ziebart M, Mundhenke C, Jonat W. Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2002; 3: 281–287.
74. Corradini P, Voena C, Astolfi M, Delloro S, Pilotti S, Arrigoni G, Bregni M, et al. Maspin and mammaglobin genes are specific markers for RT-PCR detection of minimal residual disease in patients with breast cancer. *Ann Oncol* 2001; 12: 1693–1698.
75. Kinoshita J, Kitamura K, Kabashima A, Saeki H, Tanaka S, Sugimachi K. Clinical significance of vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 66: 159–164.

76. Sanchez R, Nguyen D, Rocha W, White JH, Mader S. Diversity in the mechanisms of gene regulation by estrogen receptors. *Bioassays* 2002; 24: 244–254.
77. Ariazi EA, Clark GM, Mertz JE. Estrogen-related receptor alfa and estrogen-related receptor gama associate with unfavorable and favorable biomarkers, respectively, in human breast cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 6510–6518.
78. MacGrogan G, Jollet I, Huet S, Sierankowski G, Picot V, Bonichon F, Coindre JM. Comparison of quantitative and semiquantitative methods of assessing MIB-1 with the S-phase fraction in breast carcinoma. *Mod Pathol* 1997; 10: 769–776.
79. Ross JS, Fletcher JA, Linette GP, Stec J, Clark E, Ayers M, et al. The HER-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy. *Oncologist* 2003; 8: 307–325.
80. Mitas M, Mikhitarian K, Walters C, Baron PL, Elliott BM, Brothers TE, et al. Quantitative real-time RT-PCR detection of breast cancer micrometastasis using a multigene marker panel. *Int J Cancer* 2001; 93: 162–171.
81. Sjogren S, Inganas M, Lindgren A, Holmberg L, Bergh J. Prognostic and predictive value of c-erbB-2 overexpression in primary breast cancer, alone and in combination with other prognostic markers. *J Clin Oncol* 1998; 16: 462–469.
82. Paredes J, Milanezi F, Viegas L, Amendoeira I, Schmitt F. P-cadherin expression is associated with high-grade ductal carcinoma in situ of the breast. *Virchows Arch* 2002; 440: 16–21.
83. Paredes J, Stove C, Stove V, Milanezi F, Van Marck V, Derycke L, et al. P-Cadherin is up-regulated by the antiestrogen ICI 182, 780 and promotes invasion of human breast cancer cells. *Cancer Res* 2004; 64: 8309–8317.
84. Matos I, Dufloth R, Alvarenga M, Zeferino LC, Schmitt F. p63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch* 2005; 447: 688–694.
85. Senger DR, Perruzzi CA, Papadopoulos A, Tenen DG. Purification of a human milk protein closely similar to tumor-secreted phosphoproteins and osteopontin. *Biochim Biophys Acta* 1989; 996: 43–48.

86. Kim JH, Skates SJ, Uede T, Wong KK, Schorge JO, Feltmate CM, et al., Osteopontin as a potential diagnostic biomarker for ovarian cancer. *JAMA* 2002; 287: 1671-1679.
87. Wong KK, Cheng RS, Mok SC. Identification of differentially expressed genes from ovarian cancer cells by MICROMAX cDNA microarray system. *Biotechniques* 2001; 30: 670-675.
88. Kurisetty VV, Johnston PG, Johnston N, Erwin P, Crowe P, Fernig DG, et al., RAN GTPase is an effector of the invasive/metastatic phenotype induced by osteopontin. *Oncogene* 2008; 27: 7139-7149.
89. Macrì A, Versaci A, Lupo G, Trimarchi G, Tomasello C, Loddo S, et al. Role of osteopontin in breast cancer patients. *Tumori* 2009; 95: 48-52.
90. Patani N, Jouhra F, Jiang W, Mokbel K. Osteopontin expression profiles predict pathological and clinical outcome in breast cancer. *Anticancer Res* 2008; 28: 4105-4110.
91. Rodrigues LR, Teixeira JA, Schmitt FL, Paulsson M, Lindmark-Månsson H. The role of osteopontin in tumor progression and metastasis in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 1087-1097.
92. Weber GF, Lett GS, Haubein NC. Osteopontin is a marker for cancer aggressiveness and patient survival, *Br J Cancer*. 2010; 103: 861-869.
93. Nemoto H, Rittling SR, Yoshitake H, Furuya K, Amagasa T, Tsuji K, et al. Osteopontin deficiency reduces experimental tumor cell metastasis to bone and soft tissues *J Bone Miner Res*. 2001; 16: 652-659.
94. Kim YW, Park YK, Lee J, Ko SW, Yang MH. Expression of osteopontin and osteonectin in breast cancer. *J Korean Med Sci* 1998; 13: 652-657.
95. Mylona E, Tzelepis K, Theohari I, Giannopoulou I, Papadimitriou C, Nakopoulou L. Cyclin D1 in invasive breast carcinoma: favourable prognostic significance in unselected patients and within subgroups with an aggressive phenotype. *Histopathology* 2013; 62: 472-480.

96. He Y, Liu Z, Qiao C, Xu M, Yu J, Li G. Expression and significance of Wnt signaling components and their target genes in breast carcinoma. *Mol Med Rep* 2014; 9: 137–143.
97. Guo LL, Gao P, Wu YG, Jian WC, Hao CY, Li H, et al. Alteration of Cyclin D1 in Chinese Patients with Breast Carcinoma and its Correlation with Ki-67, pRb, and p53. *Arch Med Res* 2007; 38: 846–852.
98. Prasad CP, Gupta SD, Rath G, Ralhan R. Wnt Signaling Pathway in Invasive Ductal Carcinoma of the Breast: Relationship between -Catenin , Disheveled and Cyclin D1 Expression. *Oncology* 2007; 73: 112-117.
99. Kenny FS, Hui R, Musgrove EA, Gee JMW, Blamey RW, Nicholson RI, et al. Overexpression of Cyclin D1 Messenger RNA Predicts for Poor Prognosis in Estrogen Receptor-positive Breast Cancer 2010; 5: 2069–2076.
100. Cornish L, McClelland A, Nicholson I, Robertson FR, Street V, New S. Cyclin Positively D1 and Estrogen Receptor in Primary Messenger RNA Levels Are Correlated 1996; 2: 923–929.
101. Van Diest PJ, Michalides RJ, Jannink L, van der Valk P, Peterse HL, de Jong JS, et al. Cyclin D1 expression in invasive breast cancer. Correlations and prognostic value. *Am J Pathol* 1997; 150: 705-711.
102. Ahwon Lee, Woo Chan Park, Hyeon Woo Yim, Myung Ah Lee, Gyeongsin Park and Kyo Young Lee Expression of c-erbB2, cyclin D1 and Estrogen Receptor and their Clinical Implications in the Invasive Ductal Carcinoma of the Breast *Jpn J Clin Oncol* 2007; 37: 708–714.
103. Ahnström M, Nordenskjöld B, Rutqvist LE, Skoog L, Stål O Role of cyclin D1 in ErbB2-positive breast cancer and tamoxifen resistance *Breast Cancer Res Treat* 2005; 91: 145-151.
104. Mohammadizadeh F, Hani M, Ranaee M, Bagheri M. Role of cyclin D1 in breast carcinoma. *J Res Med Sci* 2013; 18: 1021-1025.
105. Aaltonen K, Amini RM, Landberg G, Eerola H, Aittomäki K, Heikkilä P, et al. Cyclin D1 expression is associated with poor prognostic features in estrogen receptor positive breast cancer *Breast Cancer Res Treat* 2009; 113: 75-82.

- 106.** Cheng CW, Liu YF, Yu JC, Wang HW, Ding SL, Hsiung CN, et al. Prognostic Significance of cyclin D1, β -catenin, and MTA1 in Patients with Invasive Ductal Carcinoma of the Breast. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 4129–4139.
- 107.** Michalides R, Hageman P, van Tinteren H, Houben L, Wientjens E, Klompmaker R, et al. A clinicopathological study on overexpression of cyclin D1 and of p53 in a series of 248 patients with operable breast cancer. *Br J Cancer* 1996; 73: 728–734.



6. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Maden/Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladıktan sonra, 2007'de Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde üniversite eğitimime başladım, 2013 yılında mezun oldum.

2014 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD'de ihtisas eğitimime başladım. Halen eğitimime burada devam etmekte olup İngilizce bilmekteyim.

