T1387

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

PRİMER MEME KARSİNOMLARI VE METASTATİK LENF DÜĞÜMLERİNDE, ANGİOGENEZİSİN (VEGF), BAZI PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE (Östrojen Reseptorü, Progesteron Reseptorü, nm23 Ekspresyonu , Tümörün Histolojik Tipi, Nükleer Grade, Histolojik Grade, Tümör Çapı ve Metastaz) İLİŞKİSİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Nazif Hikmet AKSOY

T1387/1-1

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Şeyda KARAVELİ

'Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonunca 20.01.0103.20Proje No ile Desteklenmiştir'

"Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir"

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ

Antalya, 2002

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve becerilerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarıma, tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Şeyda KARAVELİ'ye, tezimin istatistik çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Özlem Elpek ve Uz. Dr. Hakan Gülkesen'e, immünohistokimyasal boyalarda büyük emek harcayan Uz. Biol. Nuran Keleş'e, laboratuvar çalışmalarından dolayı Hümeyra Çiftçi ve tüm laboratuvar çalışanlarına, birlikte çalışmaktan zevk aldığım asistan arkadaşlarıma , sabrı ve desteği nedeniyle eşime teşekkür ederim.

Dr. Nazif Hikmet AKSOY
Antalya,2002

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No :
Giriş ve Amaç	1 - 19
Materyal ve Metod	20 - 25
Bulgular	26 - 73
Tartışma	74 - 92
Sonuçlar	93 - 98
Özet	99 - 101
Kaynaklar	102 - 115

GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, Avrupa'da yılda 180 bin, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yılda 182 bin yeni olgu saptanmaktadır.[102]

Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsünün (NCI) 1997 verilerine göre, kadınlardaki tüm yeni kanser olgularının %30'unu meme kanseri oluşturmaktadır. 1997-1998 yıllarında ABD 'de kansere bağlı ölümlerde, %18 ile akciğer ve bronş kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir.[64,102]

Meme kanseri görülme sıklığı 1973'den itibaren ABD'de %1.8; dünyanın çeşitli ülkelerinde %1-2 oranında bir artış göstermekte olup, dünyada her yıl yaklaşık bir milyon yeni olguya tanı konulmaktadır.[102]

Meme kanseri 30 yaşından önce ender olup, izleyen reprodüktif yıllarda hızlı bir tırmanış gösterir. Bu nedenle her sekiz kadından birinde yaşamı boyunca meme kanseri gelişebileceği olasılığı bu konudaki çalışmaların önemini bir kez daha vurgulamaktadır.[64,80,102]

İnsanlarda meme kanserinin nedeni bilinmemektedir. Genetik, çevresel, hormonal, sosyobiyolojik ve psikolojik etkenlerin oluşumda rol aldığı kabul edilmekle birlikte, meme kanserli kadınların %70-80'i bu risk faktörlerine sahip değildir. Hayvanlarda ise bazı kimyasal maddeler, iyonizan radyasyon ve virüsler kanser oluşumuna neden olurlar. Tüm bu ajanların mutasyonlara neden olabileceği ve kromozomal mutasyonlarında insanda kanser ortaya çıkış ve gelişimi ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir.[102]

Normal meme dokusunun kanser hücresine dönüşmesi çok aşamalı, karmaşık bir süreçtir. Başlangıçta, normal hücrelerde gerçekleşen ve

nükleer yada sitoplazmik onkogenleri aktifleştiren, transkripsiyonu düzenleyen mekanizmaları, sinyal moleküllerini etkileyen, büyüme faktörü ve reseptör etkileşimini bozan veya tümör supressör genlerin aktivitesini baskılayan çeşitli değişiklikler bu hücrelere belirli çoğalma avantajı sağlar. Karsinogenezisin temelinde öldürücü olmayan genetik hasar yatar. Böyle genetik hasar yada mutasyon kalıtsal olarak germ çizgisinde bulunabileceği gibi, kimyasal madde, radyasyon gibi çevresel ajanların veya virusların etkisiylede ortaya çıkabilir.

Genetik kanser hipotezi, bir tümör kütlesinin genetik hasara uğrayan tek bir öncü hücrenin klonal büyümesi ile oluştuğunu ileri sürer. Genetik hasarın esas hedefi olan üç normal regülatör gen vardır; büyümeyi uyaran protoonkogenler, büyümeyi inhibe eden kanser baskılayıcı genler (antionkogenler) ve apoptozu düzenleyen genler. Bunlara ek olarak hasara uğrayan DNA onarımını düzenleyen dördüncü bir gen türüde karsinogeneziste önemlidir. Karsinogenezis fenotipik ve genetik düzeylerde çok basamaklı bir olaydır. Malign bir neoplazm aşırı büyüme, lokal invazyon ve uzak metastaz yapma yeteneği gibi çeşitli fenotipik özelliklere sahiptir. Bu özellikler aşamalı bir şekilde kazanılır. Moleküler düzeyde ilerleme, bazı örneklerde DNA onarımındaki defekte bağlı genetik lezyonların birikiminden kaynaklanır.

Tümör hücre büyümesini hücre kinetiği dışındaki faktörlerde etkiler. Bunlardan en önemlisi kanlanmadır.[39,40] Solid tümörlerin damarlanmadıkları takdirde 2-3mm^3'den daha fazla prolifere olamayacağı kanıtlanmıştır.[43] Anjiogenez tümörlerin büyüme ve yayılmasında vazgeçilmez bir rol oynadığı için son yıllarda çalışmaların odak noktası olmuştur. Tümörlerin sonraki herbir yayılımı, tümör hücreleri ile tümörün dolaşıma geçmesi için bir yol sağlayan yeni gelişmiş vasküler kanallar

arasındaki etkileşimden kaynaklanır.[76,102] Ayrıca birçok çalışma tümör damarlanması ile hasta yaşam süresi arasında ters bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Bu bilgi, neovaskülarizasyonun baskılanması ve sonunda tümör büyümesinin önlenmesini sağlayan anti-anjiogenik terapi formundaki tedavilere yeni yaklaşımlar için önemlidir.[85,102]

Anjiogenezis normalde çoğalma, gelişme ve yara iyileşmesi süresinde gözlenir. Anjiogenezis, ekstrasellüler matriksin yeniden oluşumu, endotelyal hücrelerin göçü ve çoğalması, kapiller formasyon ve anastamoz oluşumunu içerir ve bu basamaklar anjiogenik faktörler tarafından kontrol edilir.[11,44,82] Anjiogenezisin bu ilginç çok basamaklı seyri, ya anjiogenezis sitümülatörlerinin salınımı yada anjiogenezisin supresörlerindeki muhtemel değişiklikler tarafından başlatılır. İnvivo ve invitro anjiogenik yeteneği olduğu gösterilen faktörler; VEGF (vascular endothelial cell growth factor), pdECGF (platelet derived endothelial cell growth factor), TGF-β1 (transforming growth factor), TNF (tumor necrosis factor), PG (prostaglandinler) ve pekçok ilgili faktörlerdir.[44,102] Tümörlerle ilişkili anjiogenik faktörler, tümör hücrelerinin kendinde ve tümörü infiltre eden yangısal hücrelerde (ör., makrofaj) yapılır. Yeniden damarlanma tümör büyümesi üzerine iki yönlü etki gösterir: perfüzyonla besin maddeleri ve oksijen gelir ve yeni oluşan endotel hücreleri salgıladığı büyüme faktörleri ile tümörün büyümesini uyarır.[76] Son zamanlardaki çalışmalarda bir anjiogenez inhibitörü olan trombospondin yapımının, tümör supressör genlerden P53 geni ile kontrol edildiğinin gösterilmesi oldukça ilginçtir. Anjiogenezis sadece tümör büyümesi için değil, aynı zamanda metastaz için de gerekli dinamik ve süregelen bir proçestir. Yapılan anjiogenezis çalışmaları ile tümör içi mikrodamar yoğunluğunun, meme karsinomları için bağımsız ve anlamlı bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir.[12,47,53,102,110,111,112] Bununla birlikte pekçok rapor

anjiogenezisin değerini doğrulamaz ve anjiogenezisin önemini tayin etmede bir takım güçlükler ve problemlere dikkat çeker.[5,27,49,74]

Sonuçlardaki bazı değişiklikler, büyük olasılıkla teknik yaklaşım ve damar işaretleyici olarak kullanılan antikor tipindeki değişiklerden dolayıdır. Bu antikorlardan: CD31; 'platelet endothelial cell adhesion molecule-1(PECAM-1)' olarak adlandırılır, kapiller endotelyal hücreler ve neoplazmdan oluşan endotelyal hücre belirtecidir.[45,53,62,81] CD34; 110kDa ağırlığında endotelyal hücre belirleyicisi olan bir transmembran glikoproteindir.[50,70,75] FVIII; factor VIII-related antigen (von willebrand factor) 270 kDa ağırlığında multimerik bir glikoprotein yapısında endotelyal hücre belirtecidir. En önemli sorun mikrodamarların alan seçimi ve sayımı ile ilişkili değişkenlikler ve araştırmacılar arasındaki değerlendirme farklılıklarıdır. Weidner ve ark.'ı invaziv meme karsinomunda, ışık mikroskobunda küçük büyütmede (4x10) damar yoğunluğunun en fazla olduğu neovasküler alanı (hot spots) saptadılar, immunohistokimyasal olarak CD31, CD34 ve FVIII endotelyal hücre belirteçleri ile boyalı kesitlerde, 0,72-mm^2 'lik 'hot spot' alanında mikrodamar sayımı yaptılar.[112] Axelson ve ark. aynı yöntemi kullanarak, araştırmacılar arasında ve aynı tümördeki farklı alanlar arasında değişkenlik olduğunu buldular.[5]

Başka bir sorun ise bazı çalışmalarda karsinomların evre ve tiplerindeki değişkenliklerdir. Bu yöndeki çalışmalar klasik invaziv lobüler karsinomlar da dahi morfolojik varyasyonların önemini göstermiş ve bunların anjiogenezisin farklı tip ve mekanizmalarına sahip olduğunu vurgulamıştır.[15]

VEGF, bilinen anjiogenik faktörler arasında anjiogenik proçesin fizyolojik ve patolojik durumlarında başlıca düzenleyici faktördür.[32] Bu

molekül, tümör damarlanmasının geçirgenliği üzerine kuvvetli etkisinden dolayı Dworak ve ark. tarafından ilk kez vasküler permabilite faktörü (VPF) olarak isimlendirilmiştir.[76] Daha sonra Ferrara ve ark. bu faktörün endotelyal hücre proliferasyonu ve anjiogenezisi selektif olarak sitümüle eden mitojenik bir faktör olduğunu göstermiş ve VEGF olarak adlandırmışlardır.[32,76] Aynı molekül diğer araştırıcılar tarafından da tanımlanmıştır.[76] Connolly ve ark.'ı raporlarında, VPF'ün vasküler proliferasyonu sitümüle ettiği ve endotelyal hücreler için mitojenik olduğunu belirttiler.[26] Yapılan cDNAs zincir analizinde VEGF ve VPF 'nin aynı molekül olduğu gösterildi.

VEGF, mRNA daki varyasyonlara bağlı olarak dört farklı izoform içerir. $VEGF_{121}$, $VEGF_{165}$, $VEGF_{189}$ ve $VEGF_{206}$. Beşinci izoform olan $VEGF_{145}$ kadın genital sistem karsinomlarında ve plasentada bulunmuştur. Son zamanlardaki çalışmalarla VEGF büyüme faktörleri ailesine; plasenta büyüme faktörü (PIGF), VEGF-B, VEGF-C ve VEGF-D'olmak üzere dört yeni molekül daha dahil edilmiştir.[76]

VEGF molekülleri sinyal ileten peptid zinciri içerir ve konvansiyonel yollar aracılığıyla homodimerler şeklinde sekrete edilir. $VEGF_{165}$ matür formudur ve 45kda ağırlığındadır. $VEGF_{189}$ ve $VEGF_{206}$ temel izoformlardır ve heparine $VEGF_{165}$ ten daha yüksek bir afinite ile bağlanırlar ve hemen hemen tamamen ekstrasellüler matrikste bulunurlar. $VEGF_{121}$ çok solubl bir izoformdur ve heparine bağlanmaz.

VEGF iki tane tirozin kinaz reseptörüne yüksek afinite ile bağlanır. Bunlar VEGF reseptör-1 *(flt-1)* ve VEGF reseptör-2 *(KDR/flk-1)*' dir.[32,107] VEGF nin bağlanması reseptörün otofosforilazasyonu ve sinyal transdüksiyonu ile sonlanan reseptör dimerizasyonuna neden olur. VEGF-1ve VEGF-2 arasında anlamlı farklılıklar vardır. Örneğin, endojen VEGF

reseptörü içermeyen endotelyal hücreler VEGF-2 ile transfekte edildiğinde VEGF ye cevap olarak migrasyon ve proliferasyon gösterir, fakat VEGF-1 ile transfekte edildiğinde böyle bir cevap alınmaz.[109] Bununla beraber VEGF-1, PIGF ile indüklenen endotelyal hücre proliferasyonu ve plazminojen aktivatör ekspresyonunda aracılık edebilir.[63]

Gen knockout deneysel çalışmalar; anjiogenezde VEGF-1 ve VEGF-2' nin kritik rolünü göstermiştir.[76] Vaskülogenez süreci indiferansiye mezenkimden kan damarlarının denovo oluşum sürecidir ve VEGF-2 geni inaktivasyonu vaskülogenezde yetmezliğe neden olur.[76] VEGF-2 knockout embriyolar, kan adaları ve hemopoetik prokürserler oluşturma bakımından yetersizdir. VEGF-1 geni hedef alan mutasyonlar endotelyal hücrelerin diferansiasyonunu etkilemez fakat gelişen damar sisteminin diziliminde disorganizasyona neden olur.[76] Vasküler anomaliler nedeniyle VEGF-1 ve VEGF-2 knockout embriyolar 8.5-9.5 günler arasında ölürler. Tek (VEGF+/-) yada her iki VEGF (VEGF-/-) allel gen defektine sahip embriyolar vaskülogenez yetmezliği gösterirler, buda 10-12. günlerde intrauterin ölümle sonuçlanır.[31] Heterozigot embiryolarda (VEGF+/-) vaskülojenik defektin demostrasyonu kritik bir VEGF eşiğinin olduğunu gösterir, bu eşiğin altında yeni damar oluşumu yetersizdir.[31]

VEGF mRNA 'sı malign hayvan ve insan tümör hücrelerinde büyük oranda yapılır.[18,19,20,29] Meme, tiroid, akciğer, mide, kolon, böbrek, mesane, over ve servikal karsinomlarda, anjiosarkomlarda, germ hücre tümörlerinde, santral sinir sistemi tümörlerinde VEGF ekspresyonu saptanmıştır.[32] Benign tümörler daha az çalışılmış olmakla birlikte, kolonun benign adenomatöz poliplerinde VEGF ekspresyonu normal kolonik mukoza seviyeleri üzerinde bile değilken,[20] memede duktal karsinoma insituda tümör invazyonundan önce VEGF mRNA'sının yüksek oranda yapıldığı kanıtlanmıştır.[18] Hücre kültürü çalışmalarında

VEGF-B birçok tümörde eksprese edildiği bulunurken, VEGF-C'nin sadece sınırlı sayıda prostat, akciğer ve böbrek karsinomunda yapıldığı saptanmıştır.[76] Salven ve ark.'ı meme karsinomlarında, yassı epitel hücreli karsinomlarda, lenfomalarda, melanomlarda, sarkomlarda, adenomlarda ve papillomlarda VEGF-B ve VEGF-C 'nin farklı tiplerinin yapıldığını göstermişlerdir.[90]

VEGF diğer önemli non-neoplastik patolojik olgularda da yüksek oranda yapılabilmektedir. Kutanöz yara iyileşmelerinde, psöriazis te ve gecikmiş tip hipersensitivitede epidermal keratinositlerde , makrofaj benzeri hücrelerde VEGF mRNA yapıldığı izlenmiştir. Benzer olarak iskemik myokardda, kardiyak miyositlerde, romatoid artritde vaskülarize pannus daki snoviyal hücrelerdede izlenmiştir. Aynı zamanda birçok fetal doku tarafından, [16,17] plasentada sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblastlar [29,56] tarafından, renal glomerüllerin podositleri, prostatik epitel, semen, adrenal korteks ve akciğerin epitelyal hücrelerinde [29] de yapılır.

Sonuç olarak insan neoplazmları VEGF ve VEGF-ilişkili molekül ekspresyonunda heterojen bir yapı göstermektedir.[76] Bu heterojenitenin olması sürpriz değildir, çünkü bu büyüme faktörlerini kontrol eden farklı düzenleyici mekanizmalar vardır.

Meme bezinin normal büyüme ve diferansiasyonu birçok steroid hormonlar, peptid hormonlar ve büyüme faktörlerince düzenlenir. Normal büyümenin hormonal düzenlenmesi malign büyümede olduğu gibi büyük ölçüde otokrin ve parakrin faktörler aracılığıyladır.[89] VEGF mRNA protein yapımı normal insan meme bezinde düşük seviyelerde, primer ve metastatik meme kanserlerinde yüksek seviyede tespit edilmiştir.[9,18,89,105] Buna rağmen meme kanser büyümesinde yada meme bezinin steroid düzenlemesinde VEGF'nin muhtemel rolü hakkında çok az şey bilinmektedir.[89] Rat uterusunda ve insan endometrium karsinomu

hücrelerinde VEGF ekspresyonunun östrojen ile düzenlendiği birçok çalışmada gösterilmiştir.[89]

Östrojen-bağımlı insan MCF-7 [79] ve androjen-regüle fare S115 [89] meme kanseri hücre dizilerinde yapılan çalışmalarda VEGF mRNA yapımının, östrojen ve androjenler ile arttığı ve bununda yeni kapiller oluşumuna katkıda bulunduğu dolayısıyla tümör büyümesini kolaylaştırdığı belirtilmiş ve meme kanser tedavi planı ve büyümeyi önlemede östrojen ve antiöstrojenlerin VEGF mRNA yapımı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi gereken önemli bir özellik olduğu vurgulanmıştır.[89]

Kadınlarda meme kanserine bağlı mortalite ve morbiditenin en büyük nedeni uzak metastazlardır.[51] Metastatik eğilimin önceden bilinebilmesi prognoz tayini ve tedavi seçiminde ön plandadır. Tümör metastazı iyi düzenlenen çok basamaklı bir süreçtir.[51,60] Steeg ve ark.' ları metastatik proçesle yakından ilişkili olan bir gen (nm23) ailesi rapor ettiler [99] ve düşük metastaz potansiyeli ile yüksek nm23 yapımı arasında ters bir ilişki saptadılar.[68,100] nm23-H1 ve nm23-H2 olmak üzere 2 tane nm23 geni klonlandı. Her iki gende 17. Kromozomun uzun kolunda 21.3 bölgesinde yer alır ve genlerin ürünü nükleosid difosfat (NDP) kinaz A olarak belirlenmiştir.[66,67] nm23' ün biyolojik aktivasyonun moleküler mekanizması henüz bilinmemektedir fakat NDP kinaz aktivitesinden bağımsızdır.[51,67] Yapılan çalışmalarda insan meme karsinomlarında nm23 RNA ve protein yapımı ile tümör metastazı arasında anlamlı ters bir ilişki olduğu gösterildi [51] ve azalmış nm23-H1 ekspresyon düzeyi ve lenf düğümü metastazı,[10,52,78,106] tümör grade [6,52] yada sağkalım [6,52] arasında ilişki olduğu bildirildi.

Tümör büyümesi, metastaz ve progresyonun anjiogenezisle ilişkili olduğu kanıtlanmıştır.[41,42,51,85] Anjiogenezis ve nm23 malign progresyonda farklı proçeslerin fenotipik ifadeleridir ve birlikte değerlendirildiğinde metastaz eğiliminin saptanmasında daha anlamlı olduğu bazı araştırıcılar tarafından belirtilmektedir.[51]

Meme kanserinde prognozu belirleyen bir çok parametrenin önemi vurgulanmaktadır. Hedef ise sistemik adjuvan tedavi uygulanmaksızın memeyi korumaya yönelik uygun şekilde tedavi edilebilecek hastaları seçebilmek ve bu grubun dışında kalan hastalardada, en iyi sonucu verebilecek lokal-bölgesel kontrol ve sistemik tedavi şeklinin belirlenebilmesidir. Bu hedefe yönelik olarak en çok irdelenmiş parametreler; yaş, siklik hormonal durum, aksiller lenf düğümü durumu, primer tümörün lokalizasyonu, multisantrisite, bilateralite, tümör çapı, tümör sınırlarının özelliği, nekroz, histolojik tip, mikroskopik grade, lokal lenfositik doku yanıtı, tümör hücre kinetiği, elastozis, steroid hormon reseptörleri, deri ve meme başı invazyonu, lenfatik-kan damarı-perinöral invazyon, stromal fibrozis, tümör supresör genleri ve anjiogenezisdir.[102]

Hastalığın sistemik kontrolü için adjuvan olarak eklenen kemoterapiye veya endokrin tedaviye yanıt verecek olguların seçimi, tedavi sistemlerinin morbidite-mortalite riskini minimalize edebilmek ve rasyonel sonuçlara ulaşabilmek açısından önemli ilk noktadır. Günümüzde bu amaca yönelik olarak, daha objektif parametre arayışları halen üzerinde yoğun olarak çalışılan konulardan biridir. Herhangi bir sebeple lenf düğümü örneği alınmayan hastalarda anjiogenik sayımlar lenf düğümü tutulumunun yerini tutabilir ve daha yoğun bir tedavi gerektiren kötü prognozlu bir grubu tanımlayan bir bulgu olabilir. Yine bu sayımlar antianjiogenik ilaç tedavisi için uygun hastaların seçiminde faydalı olabilir.

Meme kanserlerinde hangi tedavilerin hangi birleşimde hangi hastaya uygulanacağı en önemli sorulardır. Bunun bilinmesi için önce tedavi verilmediği durumda hastalığın nüks olasılığı tespit edilmeli, verilecek tedavinin yararı, muhtemel yan etkileri ile birlikte değerlendirilerek karar verilmelidir. Ancak,doğal seyri çok değişken olan meme kanserinde nüks riskini hesaplayabilmek ve kötü seyirli hasta altgruplarını belirlemek için biyolojik işaretleyicilere gereksinim vardır.

Tanı veya cerrahi sırasında mevcut olup adjuvan tedavi yapılmadığı durumda hastalıksız ve genel sağkalım ile ilişkili bulunan her türlü ölçüm prognostik faktör olarak adlandırılır. Yaş, menopoz durumu ve etnik yapı gibi özellikler, tümör büyüklüğü, aksiller lenf düğümü durumu ve patolojik alttip gibi tümör özellikleri, onkojenler, tümör supresör genler, büyüme faktörleri ve proliferasyon ölçümleri gibi biyolojik işaretleyiciler muhtemel prognostik faktörlerdir. Prognostik faktörler bir tümörün doğal seyrini önceden belirlemek amacıylada kullanılabilir. Belirli bir tedaviye yanıtı veya yanıtsızlığı önceden gösteren ölçümlere ise prediktif faktör denir. Tümörün östrojen reseptör statüsü hormonal tedaviye yanıtı belirleyen bir prediktif faktör örneğidir.

Kısa süre öncesine kadar lenf düğümü metastazı olmayan meme kanserli hastalara prognozun iyi olduğu gerekçesi ile cerrahi sonrası sistemik tedavi verilmiyordu. Bu hastalarda adjuvan tedavinin yararını gösteren bazı randomize çalışma sonuçlarına ve Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group tarafından yapılan metaanalize dayanarak tüm hastalara sistemik tedavi önerilmeye başlandı.[102] Günümüzde prognostik faktörlerden bazı klinik durumlar da yarar beklenmektedir: 1.Prognozu çok iyi olup lokal tedavi sonrası sistemik tedaviden yarar görmeyecek hastaların tanımlanması; 2.Prognozu çok kötü olup daha

agresif tedaviye gereksinim duyulan hastaların belirlenmesi; ve 3.Lokal tedavi sonrası hangi hastanın hangi tür tedaviden yarar göreceğinin bilinmesi.

Meme kanseri tedavisinde bugün kullanılan önemli prognostik faktörler şunlardır:

Aksiller lenf düğümü durumu, histolojik alt tip, tümör büyüklüğü, nükleer veya histolojik grade, östrojen ve progesteron reseptör durumu ve proliferasyon ölçümleri.

Bugünkü bilgilerimizle ne yazık ki lokal tedavi ile iyileşen veya uygulanan tedaviye rağmen nüksederek ölen hastaları kesin olarak belirlemek mümkün olmamaktadır ve yeni prognostik faktör arayışları devam etmektedir.

En sık rastlanan meme kanseri tipleri invaziv duktal ve invaziv lobüler karsinomdur. Birden fazla türde hücre birarada görüldüğünde prognoz en malign elemana göre tayin edilir. İnvaziv duktal karsinomlu hastalarda aksiller lenf düğümü tutulumu daha sık ve buna bağlı olarak klinik seyir daha kötüdür.[102] Tubuler karsinom, medüller karsinom, saf müsinöz karsinom, adenoid kistik karsinom ve papiller karsinom ile sekretuar karsinomun genç yaştaki formları iyi prognoza sahip tümörlerdir.[102] Taşlı yüzük hücreli karsinom ve inflamatuar karsinomlar agressif seyirli tümörlerdir.[102]

Aksiller lenf düğümlerinde metastatik tutulum primer meme kanserli hastalarda bilinen en güçlü prognostik faktördür. Birçok klinik çalışmada hastalar lenf düğümü negatif, 1-3 lenf düğümü pozitif ve >3 lenf düğümü pozitif olarak gruplanmakla birlikte, tutulan lenf düğümü sayısı ile klinik seyir arasında doğrudan ilişki olduğu belirlenmiştir.[34] Lenf düğümü

tutulumu tümör büyüklüğü ile ilişkili, ancak steroid reseptörleri ve proliferasyon ölçümleri gibi biyolojik işaretleyicilerden bağımsızdır; bu nedenle sadece tümörün kronolojik yaşını gösterdiği de iddia edilmiştir.[72] Primer meme kanserli bazı hastalarda aksiller disseksiyon yerine kullanılabilecek prognostik faktörler araştırılmıştır. Tümör büyüklüğüne ek olarak yaş, S-faz fraksiyonu ve östrojen reseptör (ER) durumu kullanıldığında aksiller durumun daha iyi belirlendiği gösterilmiş, ama yeterince duyarlı bir yöntem bulunamamıştır.[83] Neoadjuvan tedavi çalışmaları sonucu sağkalım avantajı gösterilirse lenf düğümü tutulumu ve tümör büyüklüğü de prognostik faktör olarak önemini kaybedecek, neoadjuvan tedaviye yanıtı belirleyecek prediktif faktörler giderek önem kazanacaktır.

Lenf düğümü negatif hastalık altgrubunda en güçlü ve tutarlı prognoz belirleyici tümör büyüklüğüdür. Tümör büyüdükçe hastalık nüksünün arttığı ve klinik seyrin kötüleştiği birkaç çalışmada gösterilmiştir.[22,36] McGuire ve Clark lenf düğümü negatif hastaların %50'sinde tümör büyüklüğü ve histolojik alttip kullanılarak tedavi kararı verilebileceğini ileri sürmüşlerdir.[71] Memorial Sloan Kettering Kanser Merkezi' nin verilerine göre 1 cm'nin altındaki tümörlerde 20 yıllık nüks oranı %12, bir çalışmada ise lenf düğümü negatif, ER negatif tedavi almamış hastalarda nüks oranı %25'tir.[102] Tarama çalışmalarında giderek daha fazla oranda 1 cm'den küçük tümörlere tanı konulmakta ve tedavi yapılmaktadır. Palpasyonla tanı konulan tümörler ile mammografik olarak tanı konulan 1 cm'lik tümörler arasında biyolojik davranış farkı olup olmadığı henüz bilinmemektedir; bu nedenle tümör büyüklüğü dışında bazı prognostik parametrelere giderek daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır.

Tümörün çekirdek atipisi ile ilgili özelliklerine dayanan ve tübül formasyonunu ve bunun miktarını yansıtan tümör derecelendirme (grade) sistemlerinin prognoz ile korelasyonu bilinmektedir. Bu derecelendirme sistemleri içerisinde iyi bilinenler Bloom ve Richardson, Black yöntemleri ile bunlardan birincisini modifiye eden Elston yöntemi ve her ikisini birleştirip modifiye eden Fisher yöntemidir.[35,102]

Fisher ve ark.'nın kullandığı sistemde nükleer pleomorfizm (çekirdekteki büyüklük ve şekil farklılıkları) üçlü sistem ile I'den III'e kadar derecelendirilip bir nükleer grade verilmektedir. Yine tümördeki tübül ve adenokistik yapıların miktarı I'den III'e kadar derecelendirilip bir histolojik grade verilmektedir.[102] Elston'ın kullandığı sistemde ise tübül formasyonu, çekirdek pleomorfizmi ve mitoz sayıları ayrı ayrı 1 puan dan 3 puana kadar derecelendirilip, bu üç parametrenin puanları toplanmaktadır. Sonuçta 3-5 puan arası Grade I, 6-7 puan arası Grade II ve 8-9 puan arası Grade III olarak değerlendirilmektedir. Taşıdıkları bir ölçüdeki subjektiviteye rağmen grade'lendirme sistemleri çok iyi prognostik göstergelerdir.[102] Derecelendirmenin tüm tümörlerde mi, yoksa sadece klasik tip invaziv duktal karsinomlarda mı yapılması gerektiği konusuda tartışmalıdır. Bugün bazı merkezlerde; alt tiplerde histolojik ve nükleer grade , invaziv lobüler karsinomlarda nükleer grade verilmektedir.

Yaygın intraduktal komponent, lenfatik invazyon, tümör nekrozu ve mononükleer yangısal hücre reaksiyonu bazı çalışmalarda klinik gidişle ilişkisi gösterilmiş diğer histolojik faktörlerdir. Hepsi için geçerli biyolojik hipotezler var olmakla birlikte, hiçbirinin prognostik veya prediktif değeri ispatlanmamıştır. Bir çalışmada, lenfatiklerde tümör embolilerinin varlığı nüks riskinde artış, kan damarlarında tümör embolilerinin varlığı ise tümör boyutu, histolojik grade, lenf düğümü durumu, uzak metastaz gelişimi ve kötü prognoz ile ilişkili olarak bildirilmiştir.[102]

Uzun yıllardan beri ileri meme kanserinde steroid reseptör durumu tedavi kararlarını vermede kullanılmaktadır. Knight ve ark. 1977 yılında erken meme kanserinde östrojen reseptörünün (ER) erken nüks açısından bağımsız prognostik önem taşıdığını bildirdiler. Daha uzun takipli büyük çalışmalarda ER pozitif hastalarda hastalıksız sağkalımın ER negatif hastalara göre daha uzun olduğu gösterilmiş olup, San Antonio ve NSABP verilerine göre hastalıksız sağkalım avantajı 5 yılda %10'dur.[25] Lenf düğümü negatif hastalıkta progesteron reseptör (PR) ölçümünün sağkalım konusundaki bilgilere katkısı bilinmemektedir. ER ve PR nükleer proteinlerdir. Progesteron reseptörü östrojen tarafından indüklenir ve teorik olarak PR varlığı, ER işleme yolunun sağlam olduğunun bir göstergesidir. Lenf düğümü negatif hastalarda yapılan çok değişkenli analizlerde ise, ER veya PR klinik seyirle ilişkili bulunmaktadır; ancak her ikisinin birden prediktif değer taşıması enderdir. Genellikle, ER hastalıksız sağkalım için kuvvetli prediktif değer taşımakta, PR ise muhtemelen hastalık nüksü durumunda endokrin tedaviye daha iyi yanıt göstergesi olduğundan, genel sağkalımla ilişkili bulunmaktadır.

Bazı çalışmalarda uzun takipte hastalıksız sağkalım eğrilerinin birleşme eğilimi gösterdiği bildirilmiştir.[25] Bu ER'nün tümörün metastatik potansiyelinden çok, proliferasyon yeteneğini yansıttığını düşündürmektedir. Hem ER, hem de PR düzeyleri proliferasyon ölçümleri ile ters ilişkilidir. ER düzeyleri yaş ile hemen hemen lineer olarak artar; PR düzeyleri ise daha çok menopoz durumu ile ilişkilidir.[25]

Danimarkada yapılan bir çalışmada postmenopozal 952 meme kanserli hasta incelendiğinde ER durumu ile klinik seyir arasında olağandışı bir ilişki saptanmıştır.[103] Çok yüksek ER düzeylerine sahip hastaların prognozunun ER negatif hastalar kadar kötü olduğu, buna karşılık orta derecede ER düzeyi saptanan hastalarda en uzun hastalıksız

sağkalım olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar çok yüksek ER düzeylerinin tümörün hormona yanıtsız duruma gelişi sırasında oluşan özel bir geçiş dönemi olduğunu öne sürmüşlerdir. Tedavisiz bırakıldığında bu hasta grubunda gözlenen kötü prognoza rağmen, adjuvan hormonal tedaviden en yüksek oranda yararlanan hasta grubunun çok yüksek ER düzeyi olan grup olduğu bildirilmektedir.

Erken tanı konan meme kanserlerinde tümör boyutlarının giderek küçülmesi ve biyokimyasal metodların tümör içi heterojen dağılımı göstermemesi, steroid reseptör tayininde immünohistokimyasal yöntemleri ön plana çıkarmıştır. Kinsel ve ark. 257 hastalık bir seride biyokimyasal ile immünohistokimyasal yöntemlerle ER tayini arası korelasyonu 0.63 olarak bulmuşlardır.[59] Her iki teknikle ölçülen ER hastalıksız ve genel sağkalım ile ilişkili bulunmuş, ancak sadece immünohistokimyasal değerler 5 yıldan uzun takipte anlamlı kalmıştır. Berger ve ark. ise PR düzeyi ölçümünde biyokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemler arası 0.78 korelasyon saptamış, ancak sağkalım ile PR düzeyi ilişkisini değerlendirmemişlerdir.[7] Anderson ve ark. medyan (ortanca) 130 ay takip edilmiş olan 130 postmenopozal yüksek riskli meme kanserli hastada ER düzeyini hem biyokimyasal yöntemle hem de donmuş ve parafin dokuda ayrı ayrı olmak üzere immünohistokimyasal yöntemle (İHK) değerlendirmişlerdir.[4] Biyokimyasal yöntem donmuş dokuda İHK yöntemden biraz daha duyarlı (%80'e karşı %73 pozitif), donmuş dokuda İHK ise parafin dokuda olduğundan daha duyarlı (%73'e karşı %60 pozitif) bulunmuştur. Her üç ölçüm arasında korelasyonlar 0. 61 ile 0. 85 arasında değişmektedir. Sırasıyla biyokimyasal, donmuş dokuda İHK ve parafin dokuda İHK ile ER negatif olduğu saptanan hastalarda nüks riski 3.12, 2.90 ve 1.94 bulunmuştur.

ER pozitifliğinin tayin edildiği eşik düzey, reseptör ölçümünün amacına göre değişmelidir. Eğer amaç hormonal tedaviden yararlanacak hastaların seçimi ise daha az sayıda ER pozitif hasta oluşturacak yüksek bir eşik noktası seçilmesi tercih edilir. Buna karşılık, hormonal tedaviden yarar görmeyecek hasta grubu seçilmek isteniyorsa düşük bir eşik değer seçimi istenir. İHK yöntemlerinin daha az duyarlı olması, bu ER ölçüm yöntemini endokrin tedaviye yanıt açısından prediktif faktör olarak değerli kılar. Ancak reseptör durumunun prediktif değerinin araştırılması, yöntem ve pozitiflik tanımının standardizasyonunun sağlandığı çalışmaları gerektirmektedir.

nm23 geni değişik metastatik yeteneği olan melanom hücrelerinin taranması ile bulunmuştur.[98,99,100] nm23-H1 [87] ve nm23-H2 [97] olmak üzere 2 tane nm23 geni klonlandı. Her iki gende 17. Kromozomun uzun kolunda 21.3 bölgesinde yer alır ve genlerin ürünü nükleosid difosfat (NDP) kinaz A olarak belirlenmiştir [28] nm23' ün biyolojik aktivasyonun moleküler mekanizması henüz bilinmemektedir fakat NDP kinaz aktivitesinden bağımsızdır.[65,67] Yapılan çalışmalarda insan meme karsinomlarında nm23 RNA ve protein ekspresyonu ile tümör metastazı arasında anlamlı bir ters korelasyon olduğu gösterildi [51] ve azalmış nm23-H1ekspresyon düzeyi ve lenf düğümü metastazı,[10,52,78,88,106] tümör grade,[52,88] yada sağkalım [6,52] arasında korelasyon olduğu bildirildi. Ayrıca nm23 mRNA ekspresyonu ile uzun hastalıksız ve genel sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.[52]

Tümöre bağlı prognostik özelliklerden biride anjiogenezistir. Solid tümörlerin damarlanmadıkları takdirde 2-3mm^3'den daha fazla prolifere olamayacağı kanıtlanmıştır.[43] Anjiogenez tümörlerin büyüme ve yayılmasında vazgeçilmez bir rol oynadığı için son yıllarda çalışmaların odak noktası olmuştur. Tümörlerin sonraki herbir yayılımı, tümör hücreleri ile tümörün dolaşıma geçmesi için bir yol sağlayan yeni gelişmiş vasküler

kanallar arasındaki etkileşimden kaynaklanır.[76,102] Ayrıca birçok çalışma tümör vaskülaritesi ile hasta survival'ı arasında ters bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Bu bilgi, neovaskülarizasyonun inhibisyonu ve sonunda tümör büyümesinin önlenmesini sağlayan anti-anjiogenik terapi formundaki tedavilere yeni yaklaşımlar için önemlidir.[85,102]

Anjiogenezis normalde çoğalma, gelişme ve yara iyileşmesi süresinde gözlenir. Anjiogenezis, ekstrasellüler matriksin yeniden oluşumu, endotelyal hücrelerin migrasyonu ve proliferasyonu, kapiller formasyon ve anastamoz oluşumunu içerir ve bu basamaklar anjiogenik faktörler tarafından kontrol edilir.[11,44,82] Anjiogenezisin bu ilginç çok basamaklı seyri, ya anjiogenezis sitümülatörlerinin salınımı yada anjiogenezisin supressörlerindeki muhtemel değişiklikler tarafından başlatılır. İnvivo ve invitro anjiogenik yeteneği olduğu gösterilen faktörler; VEGF (vascular endothelial cell growth facror), pdECGF (platelet derived endothelial cell growth factor), TGF (transforming growth factor), TNF (tumor necrosis factor), PG (prostaglandinler) ve pekçok ilgili faktörlerdir.[44,102] Tümörlerle ilişkili anjiogenik faktörler, tümör hücrelerinin kendinde ve tümörü infiltre eden yangısal hücrelerde (ör., makrofaj) yapılır. Yeniden damarlanma tümör büyümesi üzerine iki yönlü etki gösterir: perfüzyonla besin maddeleri ve oksijen gelir ve yeni oluşan endotel hücreleri salgıladığı büyüme faktörleri ile tümörün büyümesini uyarır.[76] Son zamanlardaki çalışmalarda bir anjiogenez inhibitörü olan trombospondin yapımının, tümör supressör genlerden P53 geni ile kontrol edildiğinin gösterilmesi oldukça ilginçtir. Anjiogenezis sadece tümör büyümesi için değil, aynı zamanda metastaz için de gerekli dinamik ve süregelen bir proçestir. Yapılan anjiogenezis çalışmaları ile tümör içi mikrodamar yoğunluğunun, meme karsinomları için bağımsız ve anlamlı bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir.[12,47,53,102,110,111,112] Bununla birlikte pekçok rapor anjiogenezisin

değerini doğrulamaz ve anjiogenezisin önemini tayin etmede bir takım güçlükler ve problemlere dikkat çeker.[5,27,49,74]

Deneysel veriler tümör büyümesinin yeni kapiller damar oluşumuna, yani anjiogenezise bağımlı olduğunu göstermektedir.[43] Craft ve Harris anjiogenezis sonuçları ile klinik seyir arası korelasyon bildiren çalışmaları toplamışlardır.[28] Devam eden çalışmada daha sonra mikrodamar sayısının lenf düğümü durumu, tümör büyüklüğü, ER durumu, S-fazı fraksiyonu, c-erbB-2 ekspresyonu, Ki67, EGFR ekspresyonu ve Katepsin D ile karşılaştırıldığında hastalıksız ve genel sağkalım açısından bağımsız bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir. Horak ve ark. tümör damar sayımı ile aksiller lenf düğümü tutulumu arasında sıkı bir korelasyon bulmuş, ancak ER durumu, EGFR, c-erbB-2 veya p53 ile ilişki saptamamışlardır.[53] Lenf düğümü negatif hastalarda yapılan bir çalışmada medyan 62 ay takip edilmiş 254 hastada mikrodamar yoğunluğu hastalıksız sağkalım açısından en kuvvetli prognostik belirleyici olarak tanımlanmış ve çokdeğişkenli analizde nüks relatif riski 5.78 bulunmuştur.[47] Eşik değer 80 damardan 70 damara düşürüldüğünde aynı özellik genel sağkalım için de geçerli olmakta ve ölüm relatif riski 3. 27 olarak bildirilmektedir.

Bu çalışmaların sonuçları etkileyicidir; ancak anjiogenezis faktörlerinin klinikte prognostik faktör olarak kullanımını belirlemek için daha fazla hasta sayıları ve takip süreleri içeren yeni çalışmalara gereksinim vardır. Ayrıca anjiogenezis sadece prognoz ilişkisi ile değil, tedavi modellerinin yaratılmasında yeni yaklaşım ve hedefler sağlaması ile de önemlidir.

Bu çalışmada geniş bir seride, primer meme karsinomları ve metastatik lenf düğümlerinde endotelyal hücre belirteçlerinden CD31 ve

CD34 ile immünohistokimyasal olarak boyanan vasküler alanların, küçük damar sayımı yöntemi ile değerlendirilmesi, belirlenen mikrodamar yoğunluğunun; anjiogenik faktörlerden $VEGF_{121}$ ve prognostik faktörlerden östrojen reseptör, progesteron reseptör, anti-metastatik genlerden nm23 ekspresyonu ve tümörün histolojik tipi, nükleer grade, histolojik grade ve tümör çapı ile ilişkisi araştırıldı.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı rutin ve immünohistokimya laboratuvarlarında yapılmıştır. Çalışmaya retrospektif olarak 1997-2001 yılları arasında anabilim dalımıza gelen, primer meme karsinomu nedeniyle opere edilmiş, formalin ile fikse edilip parafine gömülü olarak arşivimizde saklanan, 98 olguya ait radikal mastektomi ve lenf düğümü diseksiyonu materyalleri dahil edilmiştir. Çalışmamızda, 41 tane metastazsız primer meme karsinomu (NMK) ve 57 tane aksiller lenf düğümü metastazı olan primer meme karsinomu (MK) olgusu değerlendirilmiştir. Olgular Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasına göre [95] değerlendirildi. İnvaziv duktal karsinomlarda histolojik ve nükleer derecelendirmede (grade), Fisher'in modifiye ettiği Bloom-Richardson ve Black yöntemi kullanılmıştır.[35,95] Olgularda mikrodamarlanmanın değerlendirilmesi için, damarlanmanın en yoğun olduğu bir tümör preperatı seçildi. Seçilen preparatların formalin fikse parafine gömülmüş bloklarından 5μm kalınlığında kesitler önceden hazırlanmış chromalium-gelatin adhesiv ile kaplanan lamlara alındı. Doku örneklerine immünohistokimyasal olarak 'streptoavidin-biotin-peroksidaz' yöntemi ile anti-human endothelial cell CD31 (DAKO-JC/70A), anti-human CD34 (DAKO-QBEnd 10), mouse anti-human PR (DAKO-PgR 636), mause ant-human ER (DAKO-1D5), rabbit anti-human nm23 protein (DAKO-A0096) ve mouse monoklonal $VEGF_{121}$ (NEOMARKERS-JH121) antikorları uygulandı (Tablo-A).

	Klon no	Kaynak	Kod no	Dilüsyon oranı
VEGF	JH121	NEOMARKERS	MS-350	1/25
CD31	JC/70A	DAKO	M 0823	1/50
CD34	QBEnd 10	DAKO	M 7165	1/50
nm23		DAKO	A 0096	1/25
ER	1D5	DAKO	N1575	Predilüe
PR	PgR 636	DAKO	N1630	Predilüe

Tablo-A: Kullanılan antikorların özellikleri

Arşiv kayıtları ve doku örnekleri incelenerek olguların yaşları, tümörün lokalizasyonu, çapı, lenf düğümü metastazı durumu ile ilgili bilgiler elde edilmiştir.

İmmünohistokimyasal olarak boyanacak doku seri kesitleri Chromalium-Gelatin adhesiv ile kaplanan lamlara 5µm kalınlığında kesilerek alındı ve 56 °C'de etüvde 1 gece kurutulup ksilolde iki kere 5'er dakika bırakılarak deparafinize edildi. Daha sonra azalan derecelerde alkollerden geçirilip distile suya alınarak hidrate edildi. Bundan sonra CD31, CD34, ER, PR ve nm23 antikorları ile boyanacak doku kesitlerine mikrodalga fırında ısıtma yöntemi ile 'antigen retrieval' işlemi uygulandı. Bu işlem için kesitler 0.01 molar ve pH6 olarak hazırlanan trisodyum sitrat solüsyonu içinde sıvı seviyesi lamların üzerini kapatacak ve kesitler

kurumayacak şekilde 90°C'de 10 dakika mikrodalga fırında bekletildi. $VEGF_{121}$ için 'antigen retrieval' işleminde yüksek pH 'lı solüsyon kullanıldı ve sonrasında 20 dakika soğumaya bırakıldı.

Streptoavidin-Biotin peroksidaz yöntemi ile immünohistokimyasal boyama sırasıyla aşağıdaki basamaklardan geçilerek gerçekleştirildi :

1- Endojen peroksidaz enzim blokasyonu için %3 'lük H2O2 solüsyonu ile kesitler 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra preparatlar tamponlanmış fosfat solüsyonunda yıkanarak 5 dakika bekletildi.

2- Zemin boyanmasını önlemek amacı ile kesitler 10 dakika Blocking solüsyonunda (Goat, Zymed) bekletildi.

3- Primer antikor ile üzerleri kaplanan doku kesitleri 45 dakika inkübe edildi. Kesitler tamponlanmış fosfat solüsyonunda 5 dakika bekletildi.

4- Distile su ve PBS ile yıkama işlemi yapıldı.

5- Primer antikor ile enzim taşıyan antikor arası bağlayıcı görev yapan Linking Reagent (Dako, Glostrup, Denmark) ile doku kesitleri 15 dakika inkübe edildi. Sonrasında 4. Basamak tekrar edildi.

6- Labelling Reagent (Dako, Glostrup, Denmark) streptoavidin ile konjüge edilmiş "horseradish peroksidaz" ile dokular 15 dakika inkübe edildi ve 4. basamak tekrar uygulandı.

7- Chromogenic substrate (DAB) (Dako, Glostrup, Denmark) ile 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra 4. basamak tekrarlandı.

8- Preparatlara H&E (Dako, Glostrup, Denmark) ile zıt boyama yapıldı ve lamelle kapatıldı.

İnkübasyon basamakları oda sıcaklığında ve nemli ortamda gerçekleştirildi. Renklendirici olarak Diaminobenzidine (DAB) kullanıldı, oluşan kahverengi renk reaksiyonu pozitif olarak kabul edilip ışık mikroskobunda değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal boyalar ışık mikroskobunda semikantitatif olarak değerlendirildi. İmmünboyanma tümör hücrelerinde % alan ve boyanma şiddeti olmak üzere iki özellik şeklinde değerlendirildi. Ayrıca $VEGF_{121}$ için alan ve boyanma şiddetinin çarpımı ile $VEGF_{121}$ skoru elde edilerek gruplar arası ilişkisi araştırıldı.[11] $VEGF_{121}$ için tümör hücrelerindeki sitoplazmik granüler boyanma ve nm23 için homojen stoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. ER ve PR için hücre çekirdeğindeki boyanma pozitif olarak kabul edildi. Küçük büyütmede (x40) (10 x 4) tümör hücrelerinin boyanma yüzdesi saptandı ve boyanan hücre miktarı %0-100 arasında değerlendirildi. Boyanma şiddeti ise kromojen yoğunluğuna göre negatif (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak saptandı. $VEGF_{121}$ immünreaktivitesi <%10 negatif, üzeri pozitif olarak, ER, PR ve nm23 ise <%5 negatif, üzeri pozitif olarak değerlendirildi.[95] ayrıca boyanma yüzdeleri bulgularının medyan değeri eşik değer kabul edilerek immünreaktivite düşük ve yüksek olarak gruplandırıldı.

CD31 ve CD34 immünohistokimyasal boyaları ile mikrodamar yoğunluğu olgularda lenf düğümü durumu bilinmeksizin körleme değerlendirildi. Seçili preparatta öncelikle ışık mikroskopunda küçük büyütmede (x40 ve x100) damarlanmanın en yoğun olduğu alanlar belirlendi (hot spot). Daha sonra x200'lük büyütme ile skalalı objektif kullanılarak küçük damar sayımı yapıldı ve ortalamaları alındı.[50,66,91] Mikrodamar yoğunluğu; 'hot spot' alanı, 5 alan ve 10 alan olmak üzere 3 grupta değerlendirildi. Damarlar sayılırken lümen oluşturup oluşturmamalarına bakılmaksızın tek bir endotel hücresi veya küçük endotel hücre toplulukları ve lümeni 50μm çapından büyük olmayan (8-10

taneden fazla eritrosit içermeyen) damarlar da sayıma dahil edildi. Diğerinden tam olarak ayırdedilemedikçe dallanmalı yapılar tek olarak sayıldı.

İstatistik:

İstatiksel analiz için SPSS 10.0 yazılımı kullanıldı. Sonuçlar değerlendirilirken parametrik değerlerin karşılaştırılmasında korelasyon testleri, bir parametrik değerle bir nominal değerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Parametrik değerlerin gruplar arası karşılaştırmalarında t testi, grup içi (metastaz-primer) karşılaştırmalarında bağımlı değişkenler için t testi kullanıldı. Non parametrik verilerin karşılaştırılmasında gruplar arasında ki-kare testler, grup içinde Mc Nemar testi kullanıldı.

Kısaltmalar:

NMK: nonmetastatik primer meme karsinomu
MK: aksiller lenf düğümü metastazlı primer meme karsinomu
MLD: metastatik aksiller lenf düğümleri
MDY: mikrodamar yoğunluğu

MIDK: mikroinvaziv İDK
IBK: invaziv berrak hücreli karsinom
TYK: taşlı yüzük hücreli karsinom+İDK
MÜK: müsinöz karsinom
AK: apokrin karsinom
NEDK: nöroendokrin diferansiasyonlu karsinom
İKBİDK: intraduktal komponenti baskın İDK

İDK: invaziv duktal karsinom
IPK: invaziv papiller karsinom
TK: tübüler karsinom
MEK: medüller karsinom
METK: metaplastik karsinom

LDS: lenf düğümü sayısı

hs: hot spot

CD31(34) 5 : 5 hs alanda sayılan küçük damar sayısı ortalaması medyan değeri

CD31(34) 10 : 10 hs alanda sayılan küçük damar sayısı ortalaması medyan değeri

ÜD: üst dış kadran AD: alt dış S: santral

Üİ: üst iç Aİ: alt iç

NG: nükleer grade

HG: histolojik grade

Met : metastaz

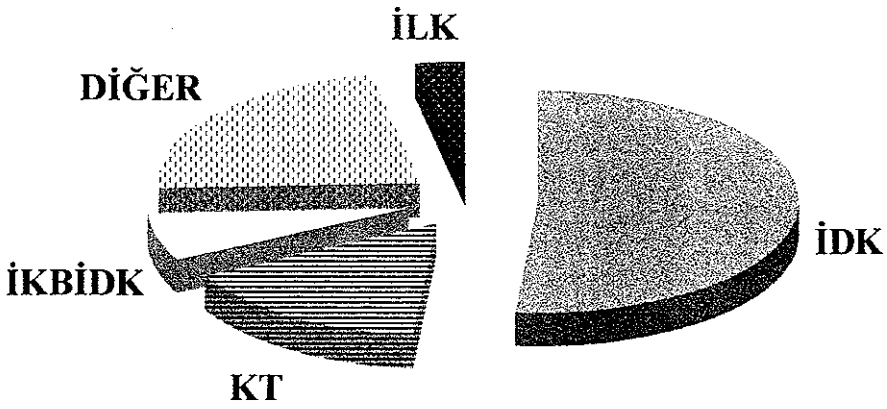
BULGULAR

Çalışmamızda meme karsinomu nedeniyle radikal mastektomi uygulanmış, 41 metastazsız primer meme karsinomlu (NMK) ve 57 metastazlı primer meme karsinomlu (MK) 98 olguya ait tümör dokularının parafin bloklarından hazırlanan kesitler H&E ve immünohistokimyasal olarak ER, PR, VEGF, nm-23, CD31 ve CD34 antikorları ile boyanarak ışık mikroskobunda incelenmiştir Ayrıca 57 MK olgusunun metastatik aksiller lenf düğümü bloklarından hazırlanan kesitler; ER, PR, VEGF, CD31 ve CD34 antikorlarıyla immünohistokimyasal olarak boyanarak değerlendirilmiştir.

41 metastazsız primer meme karsinomu olgusunun (NMK) 21 tanesi (%51,2) invaziv duktal karsinom (İDK), 5 tanesi (%12,3) kombine tip (invaziv duktal+invaziv lobuler) (KT), 3 tanesi (%7,3) intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinom (İKBİDK), 3 tanesi (%7,3) nöroendokrin diferansiasyonlu karsinom ve 8 taneside diğer tiplerden (%19,5) oluşmaktadır.

57 metastazlı primer meme karsinomu olgusunun (MK) 31tanesi (%54,4) İDK, 11 tanesi (%19,3) kombine tip, 4 tanesi (%7) intraduktal komponenti baskın İDK, 4 tanesi (%7) apokrin karsinom, 2 tanesi (%3,5) invaziv lobüler karsinom ve 8 tanesi (%8) diğer tiplerden oluşmaktadır.

98 olguluk genel grup (NMK+MK) içerisinde 52 olgu (53,1) İDK, 16 olgu (%16,3) KT, 7 olgu (%7,1) İKBİDK' dur 18 olgu (%23,5) diğer tiplerden oluşmaktadır (Grafik-1).



GRAFİK-1

(Olguların genel grup içerisinde tümör tiplerine göre dağılımı)

Gruplara göre tümör tip dağılımı Tablo-2 de gösterilmiştir.

			İSDK	İDK	İBK	TYK	İKBİDK	İLK	KT	MÜK	MÜK+TYK	MEK	İPK	TK	AK	METK	NEDK	EMK	tolal
GRUP	NMK	Sayı	2	21			3	1	5	1		1	1	1		1	3	1	41
		%	4,9	51,2			7,3	2,4	12,2	2,4		2,4	2,4	2,4		2,4	7,3	2,4	100
	MK	Sayı		31	1	1	4	2	11		1	1			4		1		57
		%		54,4	1,8	1,8	7	3,5	19,3		1,8	1,8			7		1,8		100
Total		Sayı	2	52	1	1	7	3	16	1	1	2	1	1	4	1	4	1	98
		%	2	53,1	1	1	7,1	3,1	16,3	1	1	2	1	1	4,1	1	4,1	1	100

TABLO-2 (NMK ve MK gruplarında tümör tip dağılımı)

41 NMK olgusunun 23 tanesi sağ memede, 18 tanesi sol memede izlenmiştir. MK olgularının 29 sağ meme, 28 sol memededir (Tablo-3). Genel grup içerisinde 52 olguda (%53,1) tümör sağ memededir.

GRUPLAR	TARAF	
	SAĞ	SOL
NMK	23(%56,1)	18(%43,9)
MK	29(%50,9)	28(%49,1)
toplam	52(%53,1)	46((46,9)

TABLO-3

Her iki grup içerisinde de tümör sıklıkla üst dış kadran (%64,9) yerleşimli olup gruplara göre dağılımı Tablo-4 ' te verilmiştir Yapılan istatistiksel analizde NMK ve MK olgularında tümör taraf ve kadranla ilişkili bulunmamıştır ($p>0,05$).

			KADRAN						
			ÜD	AD	Üİ	Aİ	S	ÜD+AD	ÜD+Üİ
GRUP	NMK	SAYI	21	4	10	2	2	2	
		%	51,2	9,8	24,4	4,9	4,9	4,9	
	MK	SAYI	37	3	5	4	2	1	2
		%	64,9	5,3	8,8	7,0	3,5	1,8	3,5
Total		SAYI	58	7	15	6	4	3	2
		%	59,2	7,1	15,3	6,1	4,1	3,1	2,0

TABLO-4

(Tümörün kadranlara göre dağılımı)

NMK çalışma grubu için yaş ortalaması 46 olup, en küçüğü 30, en büyüğü 76 yaşındadır.

MK çalışma grubunda yaş ortalaması 50 olup, en küçüğü 30, en büyüğü 80 yaşındadır. Yaş frekans dağılımında (Tablo-5) 5 ve 6 onyıl, 63 olgu ile en sık frekansı oluşturmuştur.

			GRUP		Total
			NMK	MK	
ONYIL	4	SAYI	6	7	13
		%	46,2%	53,8%	100%
	5	SAYI	12	18	30
		%	40,0%	60,0%	100%
	6	SAYI	15	18	33
		%	45,5%	54,5%	100%
	7 ve >	SAYI	8	14	22
		%	36,4%	63,6%	100%
Total		SAYI	41	57	98
		%	41,8%	58,2%	100%

TABLO-5

Olguların %51'i 50 yaş üzerindedir (Tablo-6). Genel grup içerisinde İDK olgularının 25tanesi (%48,1) 50 yaş altında iken, 27 olgu (%51,9) 50 yaş üzerindedir.

			YAŞ		Total
			<50	>50	
GRUP	NMK	SAYI	20	21	41
		%	48,8%	51,2%	100%
	MK	SAYI	28	29	57
		%	49,1%	50,9%	100%
Total		SAYI	48	50	98
		%	49%	51%	100%

TABLO-6

Genel grup içerisinde tiplere göre çalışma veri dağılımını Tablo-7' de özetlenmiştir.

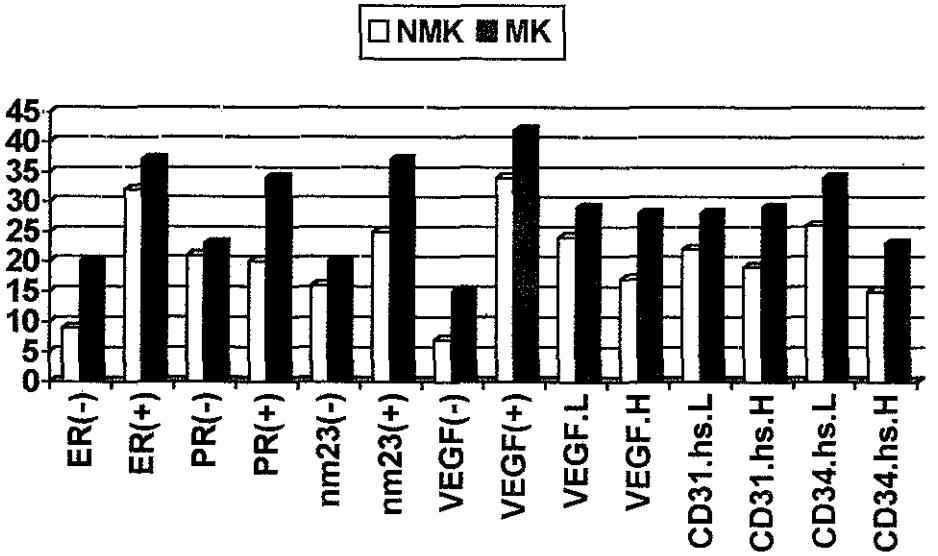
	ER		PR		VEGF		VEGF		nm23		CD31.hs		CD34.hs		CD31.5		CD34.5		CD31.10		CD34.10	
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	L	H	(-)	(+)	L	H	L	H	L	H	L	H	L	H	L	H
İDK	19	33	27	25	9	43	23	29	19	33	29	23	31	21	28	24	24	28	25	27	26	26
	36,5%	63,5	51,9	48,1	17,3	82,7	44,2	55,8	36,5	63,5	55,8	44,2	59,6	40,4	53,8	46,2	46,2	53,8	48,1	51,9	50,0	50,0
İKBİDK	2	5	5	2	4	3	5	2	1	6	2	5	3	4	3	4	2	5	4	3	3	4
	28,6%	71,4	71,4	28,6	57,1	42,9	71,4	28,6	14,3	85,7	28,6	71,4	42,9	57,1	42,9	57,1	28,6	71,4	57,1	42,9	42,9	57,1
İLK		3		3	1	2	2	1	2	1		3	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1
		100		100	33,3	66,7	66,7	33,3	66,7	33,3		100	66,7	33,3	33,3	66,7	66,7	33,3	33,3	66,7	66,7	33,3
KT	2	14	4	12	4	12	10	6	7	9	8	8	11	5	7	9	9	7	8	8	9	7
	12,5%	87,5	25%	75%	25%	75%	62,5	37,5	43,8	56,3	50%	50%	68,8	31,3	43,8	56,3	56,3	43,8	50%	50%	56,3	43,8
MÜK		1		1		1		1		1	1			1	1			1	1			1
		100		100		100		100		100	100			100	100			100	100			100
MEK	2		1	1	1	1	1	1		2		2	1	1		2		2	1	1		2
	100%		50%	50%	50%	50%	50%	50%		100		100	50%	50%		100		100	50%	50%		100
İPK		1	1			1	1		1			1		1		1		1		1		1
		100	100			100	100		100			100		100		100		100		100		100
TK		1		1		1	1		1		1		1			1	1		1		1	
		100		100		100	100		100		100		100			100	100		100		100	
AK	2	2	2	2	1	3	2	2	1	3	2	2	3	1	1	3	3	1	1	3	3	1
	50%	50%	50%	50%	25%	75%	50%	50%	25%	75%	50%	50%	75%	25%	25%	75%	75%	25%	25%	75%	75%	25%
MK	1		1			1	1			1	1		1		1		1		1		1	
	100%		100			100	100			100	100		100		100		100		100		100	
NEDK		4		4	1	3	2	2		4	3	1	2	2	3	1	2	2	2	2	2	2
		100		100	25%	75%	50%	50%		100	75%	25%	50%	50%	75%	25%	50%	50%	50%	50%	50%	50%

TABLO-7

NMK ve MK olgularında bulguları gösterir tablo ve grafik aşağıdadır.

		ER		PR		VEGF		VEGF		nm23		nm23		CD31 hs		CD34 hs		CD31 5		CD34 5	
		(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	low	high	(-)	(+)	low	high	low	high	low	high	low	high	low	high
GRUP	NMK	9	32	21	20	7	34	24	17	16	25	21	20	22	19	26	15	21	20	23	18
		22 %	78 %	51,2 %	48,8 %	17,1 %	82,9 %	58,5 %	41,5 %	39 %	61 %	51,2 %	48,8 %	53,7 %	46,3 %	63,4 %	36,6 %	51,2 %	48,8 %	56,1 %	43,9 %
	MK	20	37	23	34	15	42	29	28	20	37	28	29	28	29	34	23	28	29	26	31
		35,1 %	64,9 %	40,4 %	59,6 %	26,3 %	73,7 %	50,9 %	49,1 %	35,1 %	64,9 %	49,1 %	50,9 %	49,1 %	50,9 %	59,6 %	40,4 %	49,1 %	50,9 %	45,6 %	54,4 %
TOTAL		29	69	44	54	22	76	53	45	36	62	49	49	50	48	60	38	49	49	49	49
%		29,6 %	70,4 %	44,9 %	55,1 %	22,4 %	77,6 %	54,1 %	45,9 %	36,7 %	63,3 %	50 %	50 %	51 %	49 %	61,2 %	38,8 %	50 %	50 %	50 %	50 %

TABLO-8



GRAFİK-2

NMK çalışma grubunda 21olguda (%53,8) tümör çapı 2cm yada altında iken, MK olgularının 18 tanesinde (%34,6) tümör çapı <2cm' dir. Gruplara göre tümör çap dağılımını gösteren tablo aşağıdadır (Tablo-9,10,11).

		ÇAP		Total
		<2cm	>2cm	
GRUP	NMK	21	18	39
		53,8%	46,2%	100%
	MK	18	34	52
		34,6%	65,4%	100%
Total		39	52	91
		42,9%	57,1%	100%

TABLO-9

NMK grubunda tümör çapı <2cm olan 21 olgudan 4 tanesinde (%10,3) çap 1cm'nin altındadır (Tablo-9,10).

		ÇAP				Total
		<1cm	1-2cm	2-5cm	>5cm	
GRUP	NMK	4	17	17	1	39
		10,3%	43,6%	43,6%	2,6%	100%
	MK	2	16	32	2	52
		3,8%	30,8%	61,5%	3,8%	100%
Total		6	33	49	3	91
		6,6%	36,3%	53,8%	3,3%	100%

TABLO-10

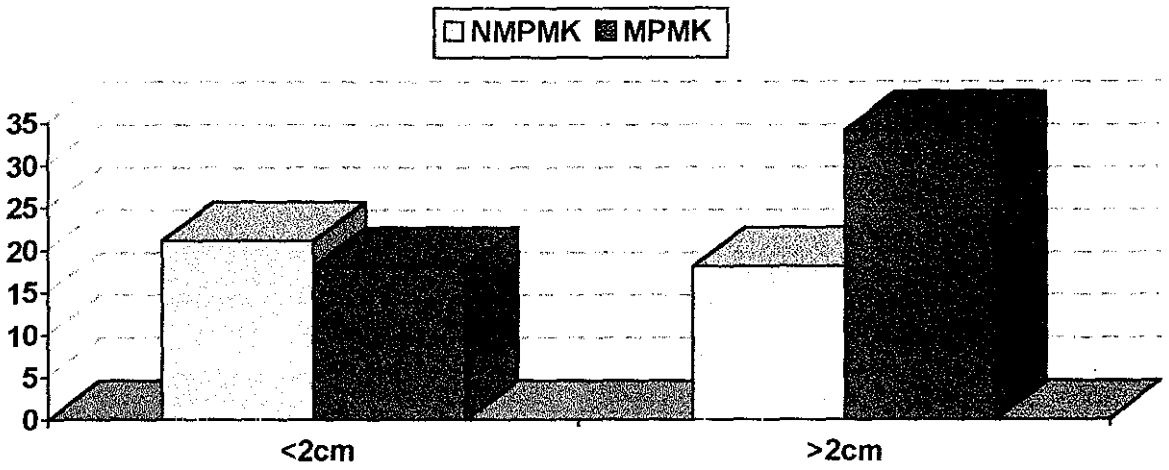
		ÇAP			Total
		<2cm	2-5cm	>5cm	
GRUP	NMK	21	17	1	39
		53,8%	43,6%	2,6%	100%
	MK	18	32	2	52
		34,6%	61,5%	3,8%	100%
Total		39	49	3	91
		42,9%	53,8%	3,3%	100%

TABLO-11

NMK grubunda en küçük tümör çapı 0,8cm, en büyük tümör çapı 7cm olup, 41 olguluk grup içinde ortalama çap 2,5cm'dir. MK grubunda ise en küçük 1cm, en büyük 7,5 cm olup ortalama tümör çapı 3cm' dir (Tablo-12).

MK olgularının %65,4 'ünde, NMK olgularının %46,2 'sinde tümör çapı 2 cm 'nin üzerindedir. MK grubu içerisinde sadece 2 olguda (%3,8) çap 1cm 'in altındadır. NMK grubu içerisinde 2 olguda MK grubunda ise 5 olguda tümör multisentrik yerleşimlidir. Çalışmamızda NMK ve MK grubunda çap ile metastaz arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) (grafik-3).

Genel grup içerisinde tümör çapı ile ER değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,05$). Tümör çapı <2cm olan 39 olgudan 32' sinde ER reseptörü pozitif ve bunlarında 23 tanesinde ER pozitifliği şiddetli derecede izlenirken, tümör çapı >2cm olan 52 olgudan 37 'sinde ER immünreaktivitesi görülmemiştir.



GRAFİK-3

(Tümör çapı ile gruplar arası ilişkiyi gösteren grafik)

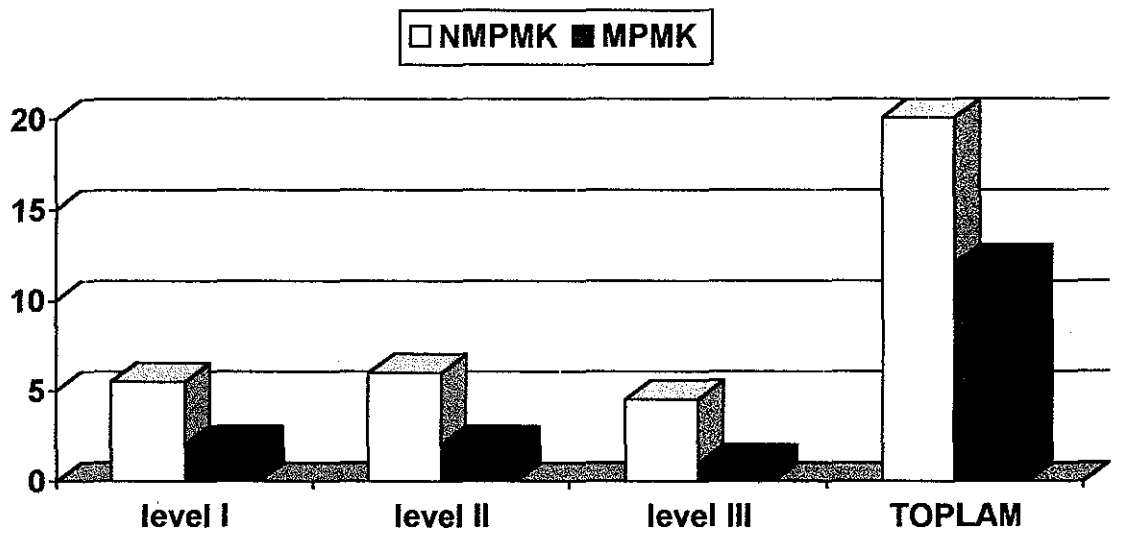
ÇAP(cm)	ortalama	medyan	Minimum	maksimum
NMK	2,53	2	0,8	7
MK	3	3	1	7,5

TABLO-12

NMK grubunda ortalama 20 adet reaktif aksiller lenf düğümü diseksiyonu saptandı. En fazla level (düzey)II' de sonra sırasıyla I ve III 'te izlendi. MK olgularında reaktif lenf düğümleri en fazla level I'den diseke edildi. Lenf düğümü durumunu gösteren Tablo ve grafik aşağıdadır. Toplam reaktif lenf düğümleri sayısı NMK ve MK grubu ile ilişkili idi ($p<0,05$).

REAKTİF LENF DÜĞÜMLERİ	Level-I ortalama	Level-I medyan	Level-II ortalama	Level-II medyan	Level-III ortalama	Level-III medyan	Toplam ortalama	Toplam medyan
NMK	6,98	5,5	7,75	6	5,15	4,5	20,6	20
MK	4,07	2	6,89	2	2,89	1	13,26	12

TABLO-13



GRAFİK-4

(reaktif lenf düğümleri)

MK olgularında metastatik lenf düğümü sayısı ile aksiller düzeyi karşılaştırdığımızda (Tablo-14), ortalama 8 lenf düğümünde metastaz saptandı, bunlarda en fazla level-I ' bölgesinde izlendi

MK	Level-I (ortalama)	Level-II (ortalama)	Level-III (ortalama)
	3,07	2,5	2,17

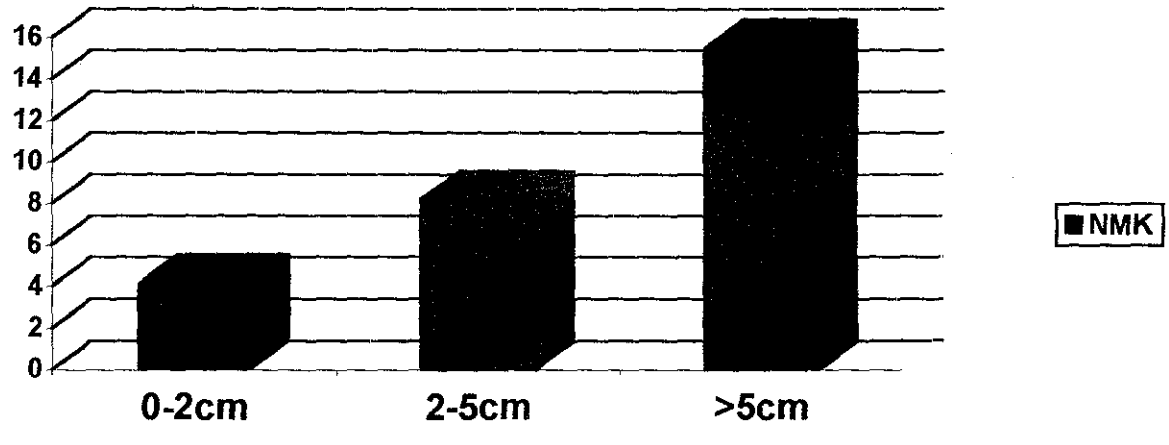
TABLO-14

Lenf düğümü sayısı çapla ilişkili olarak bulundu. Tümör çapı arttıkça metastatik lenf düğümü sayısında da artış tespit edildi. 2cm'nin altındaki MK olgularında metastatik lenf düğümü sayısı bu çap üzerindeki olgulardan daha düşük idi. Yapılan istatistiksel analizde bu ilişki anlamlı idi (p=0,035) (Tablo-15) (Grafik-5).

MK GRUBU		**ÇAP (cm)**		
		<2	**2-5**	**>5**
Toplam + LD sayısı	Ortalama	**4,2**	**8,2**	**15,5**
	Medyan	**2**	**5**	**15,5**
Olgu sayısı		18	32	2
%		34,6%	61,5%	3,8%

TABLO-15

(Toplam pozitif lenf düğümleri sayısının çapla ilişkisini gösteren tablo)



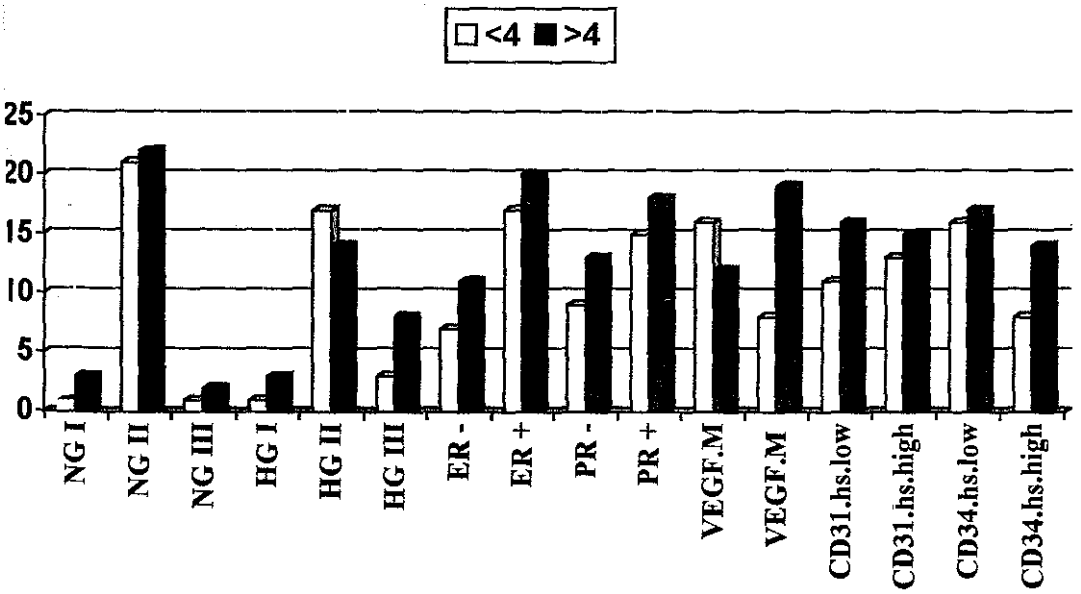
GRAFİK-5 (metastatik lenf düğümü sayısı ve tm çapı ilişkisi)

Metastatik lenf düğümü sayısı ile bulguları karşılaştıran tablo ve grafik aşağıda sunulmuştur.

	+LDS	NGI	NGII	NGIII	HGI	HGII	HGIII	CD31.hs	CD31.hs	CD31.5	CD31.5	CD34.hs	CD34.hs	CD34.5	CD34.5	VEGF	VEGF	VEGF	VEGF	ER	ER	PR	PR
								low	high	low	high	low	high	low	high	(-)	(+)	low	high	(-)	(+)	(-)	(+)
MK	<4	1	21	1	1	17	3	11	13	12	12	16	8	12	12	8	16	16	8	7	17	9	15
	≥4	3	22	2	3	14	8	16	15	15	16	17	14	13	18	7	24	12	19	11	20	13	18

TABLO-16

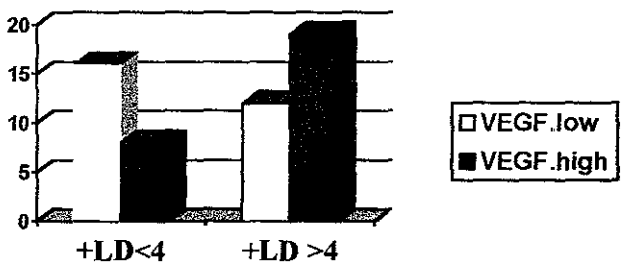
(aksiller seviye metastatik lenf düğümleri ile bulguları karşılaştıran tablo)



GRAFİK-6 (pozitif lenf düğümü sayısına göre bulguları gösterir grafik)

Metastatik lenf düğümü sayısı 4 ve üzerinde olan 31 MK olgusunun (%70,4) 19 tanesinde aynı zamanda yüksek VEGF immünreaktivitesi saptanmıştır (medyan >%70). MLD sayısı 4'ün altında olan olgulardan sadece 8'inde yüksek VEGF pozitifliği görülmüştür. Yapılan istatistiksel analizde bu ilişki anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo-17 ve Grafik-7).

	+LDS	VEGF	VEGF
		low	high
MK	<4	16	8
	≥4	12	19



TABLO-17

GRAFİK-7

(metastatik lenf düğümü sayısı ile VEGF pozitifliği medyan değeri korelasyonu)

NMK ve MK 'dan oluşan her iki grupta da tümör dokusundaki nm23 immünreaktivitesi pozitiflik ve medyan değere göre gruplandırılarak diğer parametrelerle ilişkisi araştırıldı (Resim-1,2).

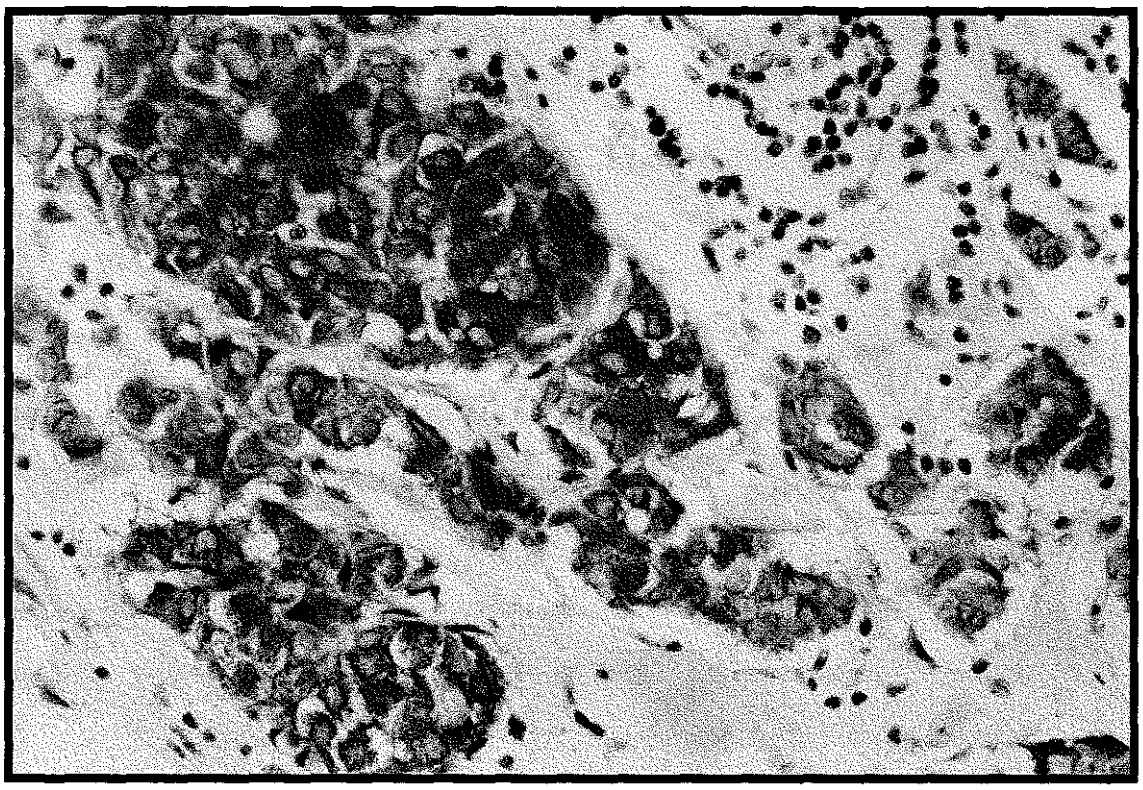
nm23 immünreaktivitesi; tümör çapı, yaş, menopozal durum, taraf, kadran, metastaz, tümör tipi, grade gibi bilinen prognostik parametrelerle istatistiksel olarak ilişkisiz bulunmuştur. Bulguları gösteren tablo aşağıdadır (Tablo-18,19).

		ER		ER		PR		PR		VEGF	
		(-)	(+)	low	high	(-)	(+)	low	high	low	high
nm23	(-)	10	26	19	17	15	21	22	14	24	12
	(+)	19	43	34	28	29	33	33	29	29	33
Total		29	69	53	45	44	54	55	43	53	45

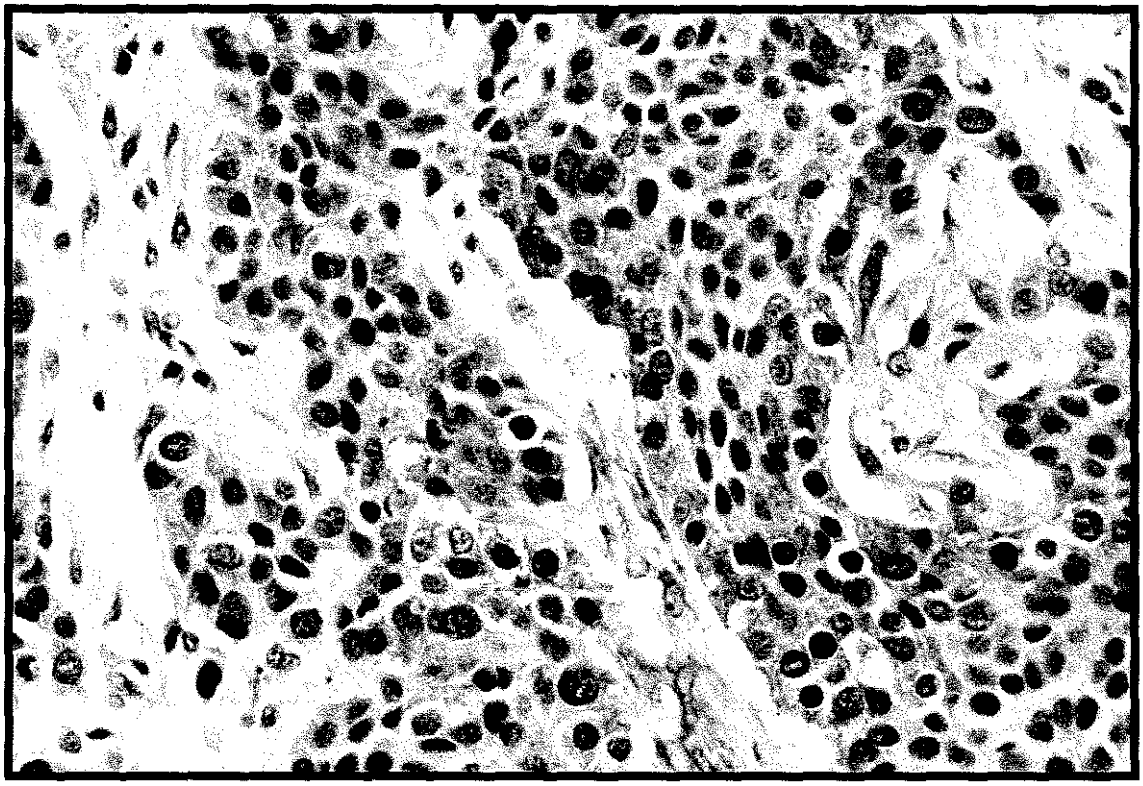
TABLO-18

		CD31.hs		CD31.5		CD31.10		CD34.hs		CD34.5		CD34.10	
		low	high	low	high	low	high	low	high	low	high	low	high
3	(-)	20	16	16	20	17	19	21	15	18	18	20	16
	(+)	30	32	33	29	32	30	39	23	31	31	32	30
l		50	48	49	49	49	49	60	38	49	49	52	46

TABLO-19



Resim-1-) NMK: nm23 – invaziv duktal karsinom. x400

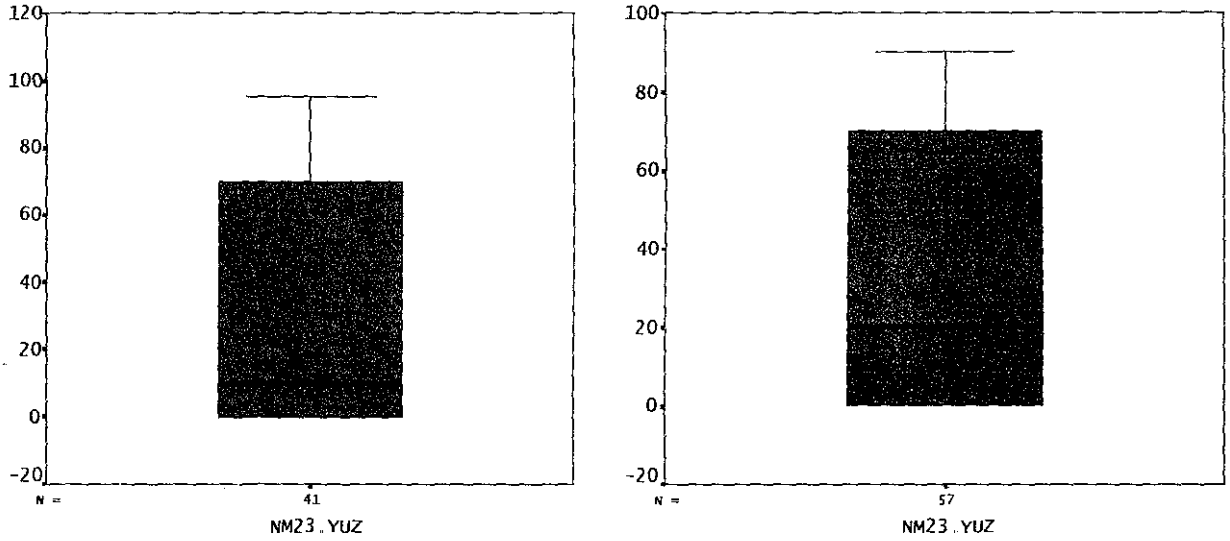


Resim-2-) MK: nm23 – kombine tip. x400

Yine nm23 immünreaktivitesi her iki gruptada; ER, PR, mikrodamar yoğunluğu ile istatistiksel olarak ilişkisizdir. VEGF ile ilişki göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamsızdır (p=0,057).

nm23 pozitifliği medyan değere göre düşük ve yüksek olmak üzere gruplandırıldığında NMK ile MK olguları arasında ve diğer çalışma parametrelerimiz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

NMK grubunda nm23 immünreaktivitesi % alan ortalaması 33, medyan değer 10 iken, MK grubunda pozitif % alan ortalama 31, medyan 20 olarak saptanmıştır. Her iki grup arasında nm23 immünreaktivitesi yönünden anlamlı ilişki saptanmamıştır (Grafik-8).



NMK **MK**

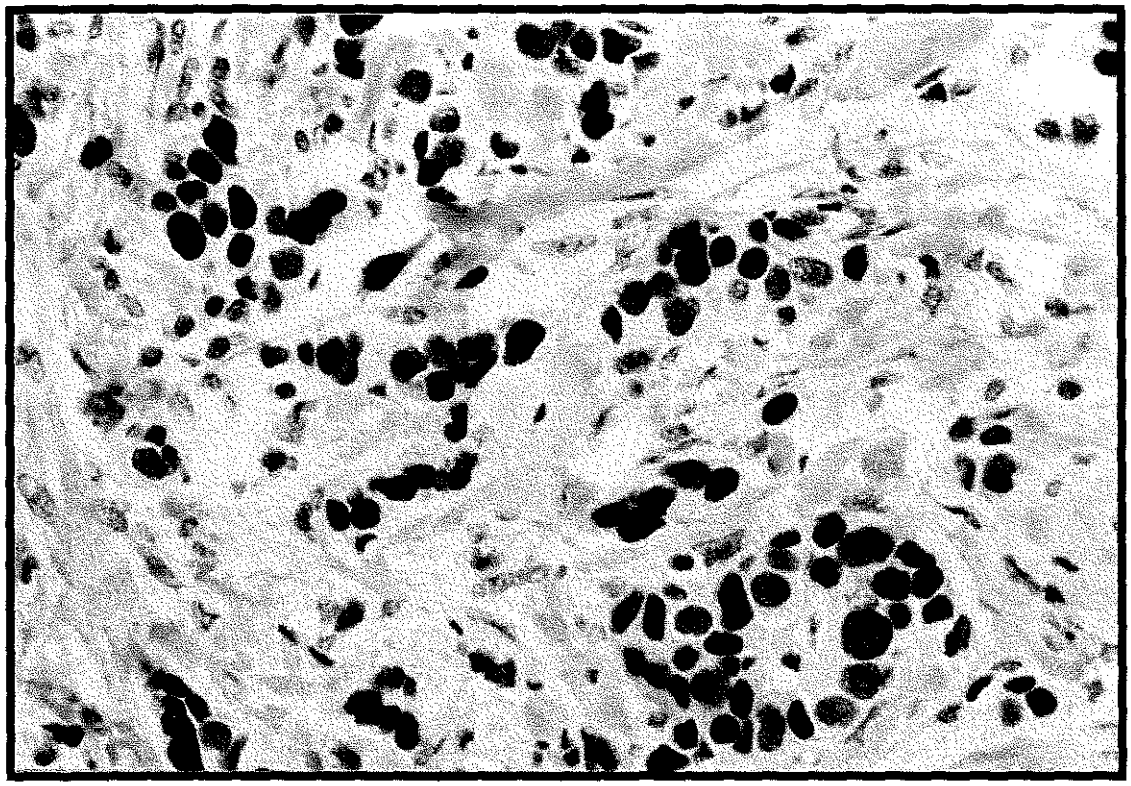
GRAFİK-8

(NMK ve MK gruplarında nm23 % alan pozitifliği)

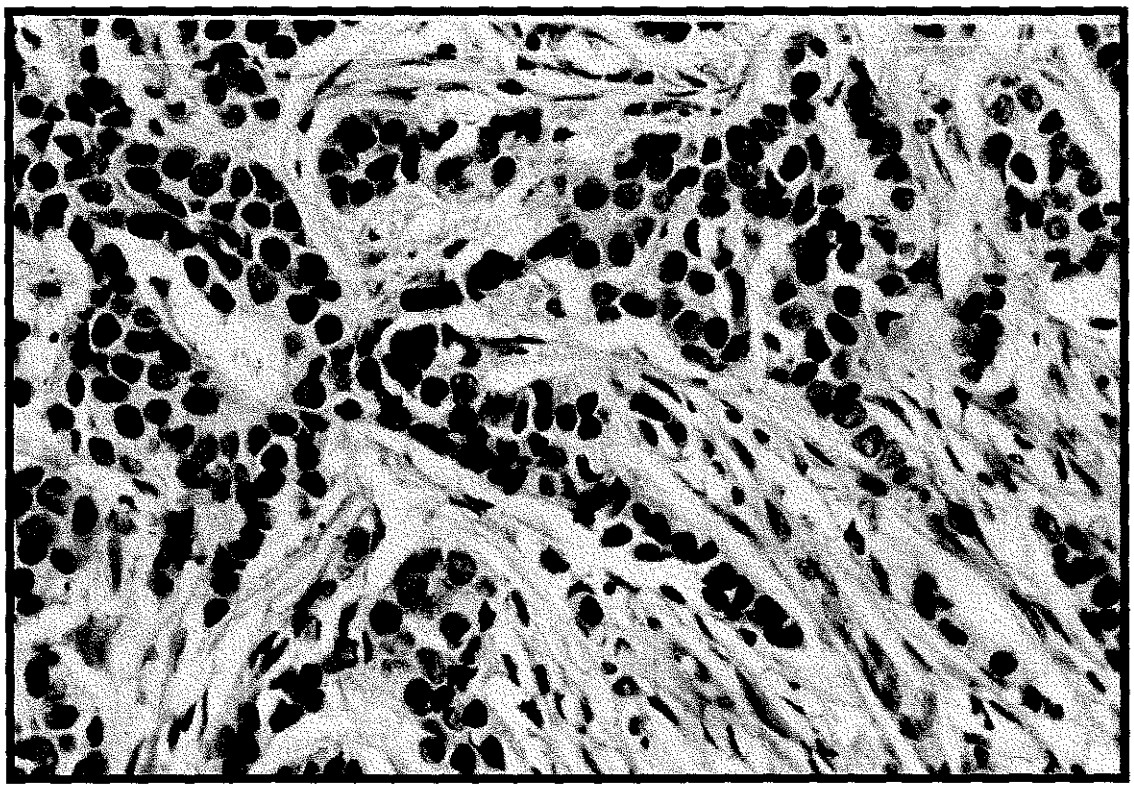
Östrojen reseptörlerinin immünohistokimyasal değerlendirmesinde bulguları gösterir tablo aşağıda sunulmuştur (Tablo-19) (Resim-3,4). NMK grubu içerisinde 9 olgu negatif, 32 olgu pozitif iken MK grubunda 20 olgu pozitif, 37 olgu negatif boyanma izlendi. Yine ER reaktivitesi medyan değere (M±50)göre değerlendirildiğinde NMK grubunda ER pozitifliği MK grubundan daha yüksek olarak bulundu. NMK grubunda ER medyan değer 60, MK grubunda 30, MLD'lerinde 50 dir (Grafik-10). NMK ve MK grubunda ER immünreaktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p<0,05$).

		ER		ER		Total
		(-)	(+)	low	high	
GRUP	NMK	9	32	14	27	41
	MK	20	37	31	26	57
Total		29	69	45	53	98

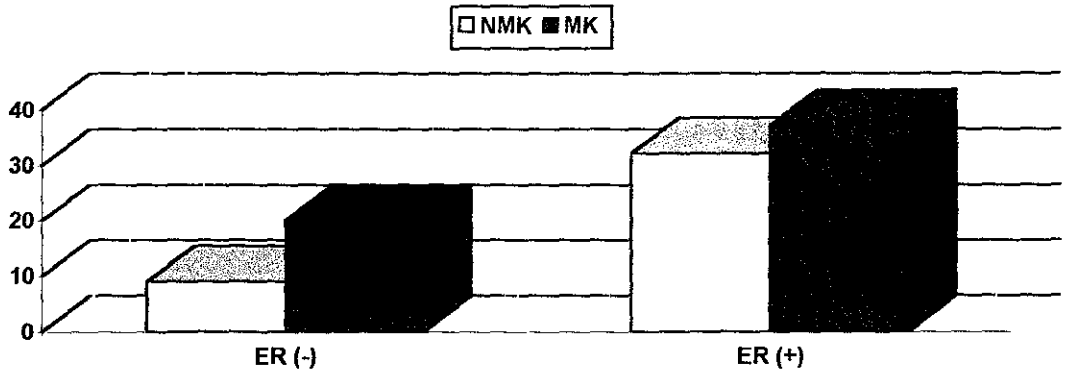
TABLO-20



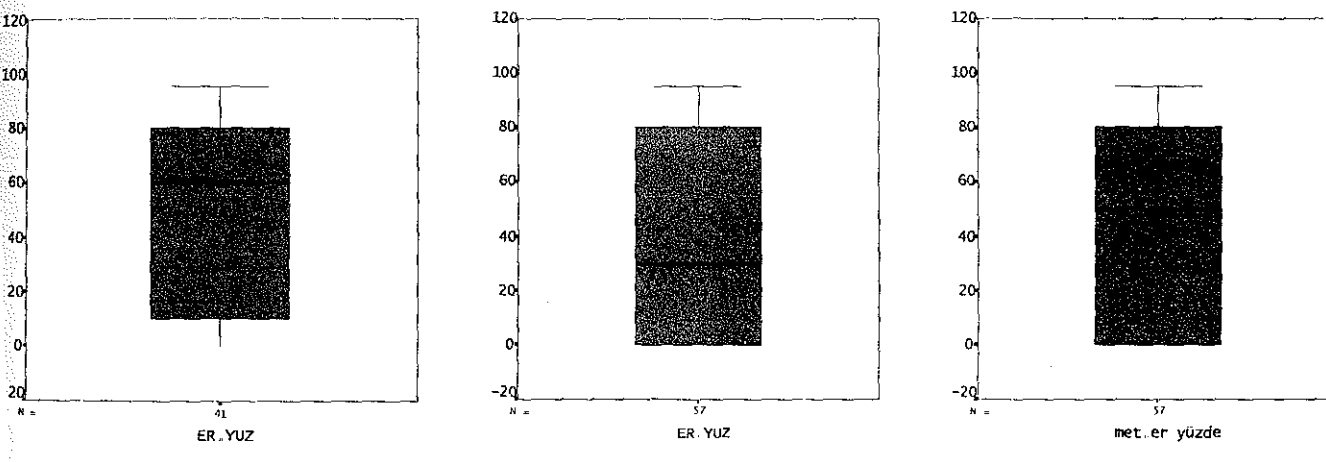
Resim-3-) MK: ER – invaziv duktal karsinom. x400



Resim-4-) NMK: PR – kombine tip. x400.



GRAFİK-9



NMK -ER **MK-ER** **MLD-ER**

GRAFİK-10

(gruplarda ER pozitifliği bulguları ve medyan değerler)

Genel grupta ER immünreaktivitesi PR ile korelasyon göstermekte olup yapılan istatistiksel analizde birbirleriyle kuvvetli olarak ilişkili bulunmuştur (p=0,00). Progesteron pozitifliği genellikle ER pozitifliği ile birlikte olup ER negatif iken PR pozitifliği sadece 6 olguda (%6,1) izlenmiştir (Tablo-21).

NMK+MK		PR		PR	
		(-)	(+)	low	high
ER	(-)	23	6	25	4
	(+)	21	48	30	39
Total		44	54	55	43
Sig.		P=0,00		P=0,00	

TABLO-21

ER immünreaktivitesi ile taraf, kadran, tümör tipi, grade, nm23 ve mikrodamar yoğunluğu (CD31 VE CD34 ile yapılan) ilişkisi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0,05$). Yaş ile ER pozitifliği arasında bir korelasyon saptanırken ($p<0,05$), PR ile bu ilişki görülmemiştir.

Genel grup içerisinde ER pozitifliği ile diğer parametreleri karşılaştıran tablo aşağıdadır (Tablo-22)

NMK+MK		nm23		VEGF		CD31.hs		CD34.hs		nm23	
		low	high	low	high	low	high	low	high	(-)	(+)
ER	(-)	13	16	15	14	17	12	18	11	10	19
	(+)	36	33	38	31	33	36	42	27	26	43
Total		49	49	53	45	50	48	60	38	36	62

TABLO-22

ER immünreaktivitesi pozitiflik ve medyan değere göre incelendiğinde tümör çapı ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki

saptanmıştır (p<0,05). Genel grup içerisinde Tümör çapı < 2cm olan 39 olgudan 32' sinde ER reseptörü pozitif ve bunlarında 23 tanesinde ER pozitifliği şiddetli derecede izlenirken, tümör çapı >2cm olan 52 olgudan 37 'sinde ER immünreaktivitesi görülmemiştir (Tablo-23).

p=0,014		ER		p=0,1		PR	
		(-)	(+)			(-)	(+)
ÇAP	<2cm	7	32	ÇAP	<2cm	15	24
	>2cm	22	30		>2cm	28	24
p=0,004		ER		p=0,2		PR	
		low	high			low	high
ÇAP	<2cm	16	23	ÇAP	<2cm	20	19
	>2cm	37	15		>2cm	33	19

Tablo-23 (çap ile hormon reseptörleri ilişkisi)

MK ve NMK grubunda ER ve VEGF immünreaktivitesi birbirleriyle istatistiksel olarak anlamlı ilişki göstermektedir (Tablo-24,25,26).

p=0,007		VEGF		Total	p>0,05		VEGF		Total
		(-)	(+)				(-)	(+)	
MK ER	(-)	1	19	20	NMK ER	(-)	3	6	9
	(+)	14	23	37		(+)	4	28	32
Total		15	42	57	Total		7	34	41

TABLO-24

p>0,05		VEGF		Total	p=0,036		VEGF		Total
		low	high				low	high	
MK ER	(-)	7	13	20	NMK ER	(-)	8	1	9
	(+)	22	15	37		(+)	16	16	32
Total		29	28	57	Total		24	17	41

TABLO-25

p=0,047		VEGF		Total	p=0,014		VEGF		Total
		(-)	(+)				(-)	(+)	
MK ER	low	6	29	35	NMK ER	Low	6	12	18
	high	9	13	22		High	1	22	23
Total		15	42	57	Total		7	34	41

TABLO-26

NMK grubunun %51,2 'sinde PR negatif ve %63,4 'ü medyan değerin altında iken MK grubunda %40,3 oranında PR negatif ve %50,8 medyan değerin altındadır. Her iki grup arasındaki PR immünreaktivitesi ilişkisiz bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamsızdır (Tablo-27).

p>0,05		PR		PR		Total
		(-)	(+)	low	High	
GRUP	NMK	21	20	26	15	41
	MK	23	34	29	28	57
Total		44	54	55	43	98

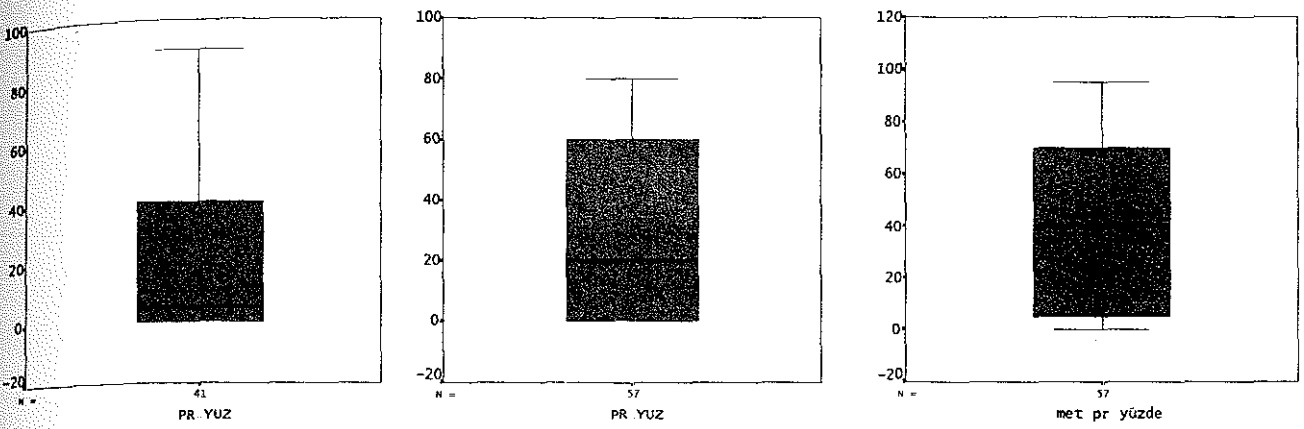
TABLO-27

Genel grup içerisinde (MK+NMK) PR negatif 23 olguda aynı zamanda ER negatif ve 31 olguda düşük ER immünreaktivitesi saptandı. PR pozitifliği ER pozitifliği ve ER yoğunluğu ile korelasyon göstermekteydi ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$)(Tablo-28).

p=0,000		ER		p=0,003		ER		Total
		(-)	(+)			low	high	
PR	(-)	23	21	PR	(-)	31	13	44
	(+)	6	48		(+)	22	32	54
Total		29	69	Total		53	45	98

TABLO-28

NMK grubunda PR pozitifliği ortalama % 23,4 ve medyan %5, MK grubunda ortalama %29,3 ve medyan %20 ile MLD'lerinde ortalama %39,4 ve medyan %40 olarak saptandı (Grafik-11).



NMK-PR **MK-PR** **MLD-PR**

GRAFİK-11

98 olguluk genel grup içerisinde PR pozitifliği ve diğer parametreleri gösterir tablo aşağıdadır (Tablo-29).

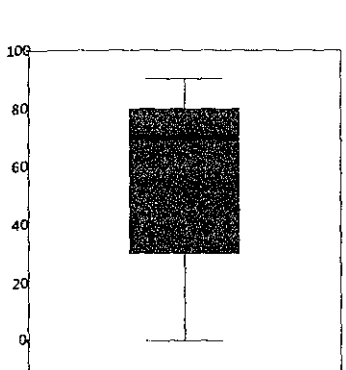
		VEGF		VEGF		nm23		nm23		Total
		low	high	(-)	(+)	(-)	(+)	low	high	
PR	(-)	23	21	8	36	15	29	20	24	44
	(+)	30	24	14	40	21	33	29	25	54
Total		53	45	22	76	36	62	49	49	98

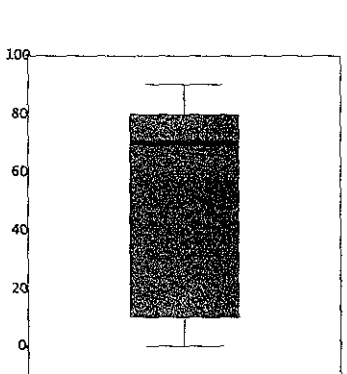
TABLO-29

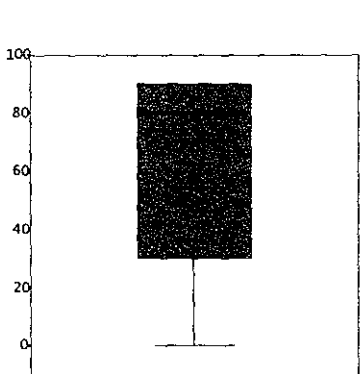
Çalışma gruplarımızda VEGF ile tümör dokularında hücre sitoplazmasında granüler tarzda boyanma izlendi. Stromada ve yangısal

hücrelerde de yer yer reaktivite izlenirken non tümöral meme dokusunda immünhistokimyasal olarak boyanma görülmedi (Resim-5,6,7,8).

NMK ve MK olgularında tümör dokusunda VEGF boyanma bulgularını gösteren tablo ve grafik aşağıdadır.







NMK-VEGF **MK-VEGF** **MLD-VEGF**

GRAFİK-12

			VEGF		VEGF		Total
			(-)	(+)	low	high	
GRUP	NMK	SAYI	7	34	24	17	41
		%	17,1%	82,9%	58,5%	41,5%	100%
	MK	SAYI	15	42	29	28	57
		%	26,3%	73,7%	50,9%	49,1%	100%
Total		SAYI	22	76	53	45	98
		%	22,4%	77,6%	54,1%	45,9%	100%

TABLO-30

Tümör tiplerine göre VEGF boyanma verileri aşağıdadır. 52 İDK olgusunun 29'unda yüksek VEGF immünreaktivitesi saptanırken, 9 olguda VEGF boyanması %10 'un altında idi (Tablo-31).

			VEGF		VEGF		Total
			(-)	(+)	low	high	
TİP	İDK	Sayı	9	43	23	29	52
		%	17,3%	82,7%	44,2%	55,8%	100%
	İKBİDK	Sayı	4	3	5	2	7
		%	57,1%	42,9%	71,4%	28,6%	100%
	İLK	Sayı	1	2	2	1	3
		%	33,3%	66,7%	66,7%	33,3%	100%
	KT	Sayı	4	12	10	6	16
		%	25%	75%	62,5%	37,5%	100%
	AK	Sayı	1	3	2	2	4
		%	25%	75%	50%	50%	100%

TABLO-31

NMK ve MK gruplarında VEGF skoru birbirleriyle ilişkisiz iken, metastatik lenf düğümlerinde VEGF skoru MK 'lardan daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermektedir (p=0,000) (Tablo-32).

	Ortalama	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGFSKOR-MK	105,8772	57	87,6637	11,6113
VEGFSKOR-MLD	132,2807	57	89,5329	11,8589
Paired samples correlations-sig = **0,000**				
Paired samples differences-sig = **0,009**				

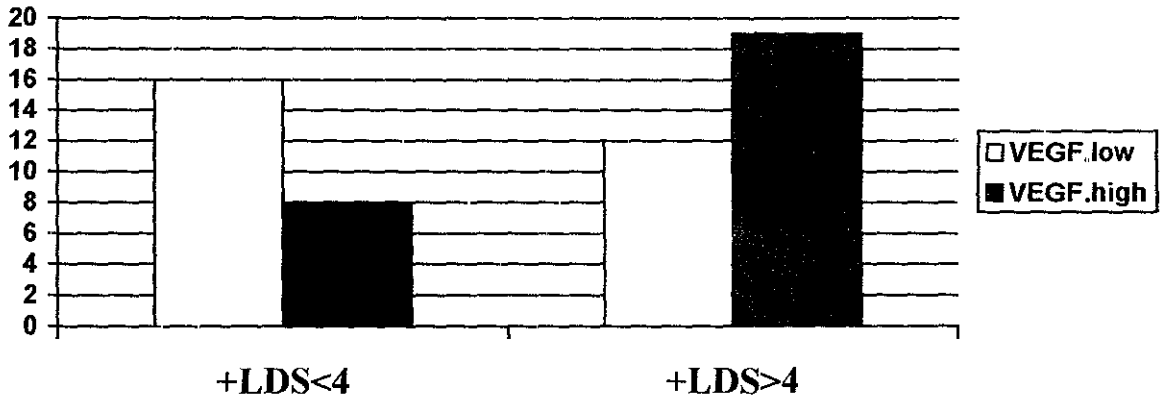
TABLO-32

VEGF medyan değeri ile metastatik lenf düğümü sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık (P<0,05). Pozitif lenf düğümü sayısı 4 ve daha fazla olan tümörlerde yüksek VEGF immünreaktivitesi saptandı (Tablo-33).

P=0,04		+ lenf düğümü	
		<4	>4
VEGF	low	16	12
		57,1	42,9
	high	8	19
		29,6	70,4

TABLO-33

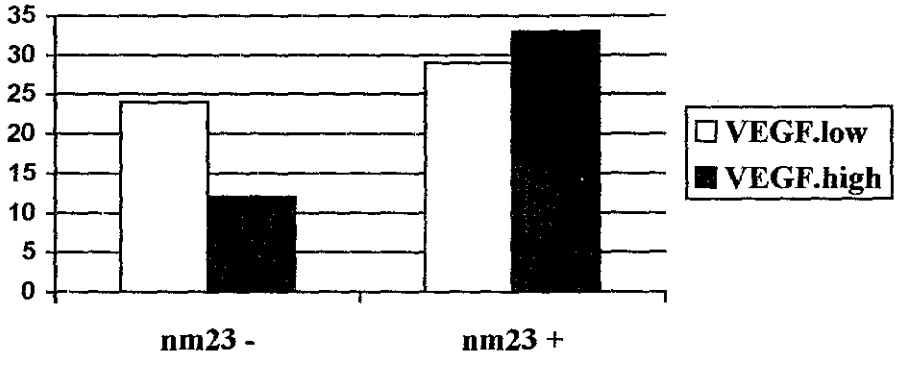
Yüksek VEGF boyanması izlenen 19 olguda aynı zamanda metastatik lenf düğümü sayısı 4 ve üzerinde bulundu (Grafik-13) (Resim-9,10).



GRAFİK-13

(VEGF immünreaktivitesi ve metastatik lenf düğümü sayısı ilişkisi)

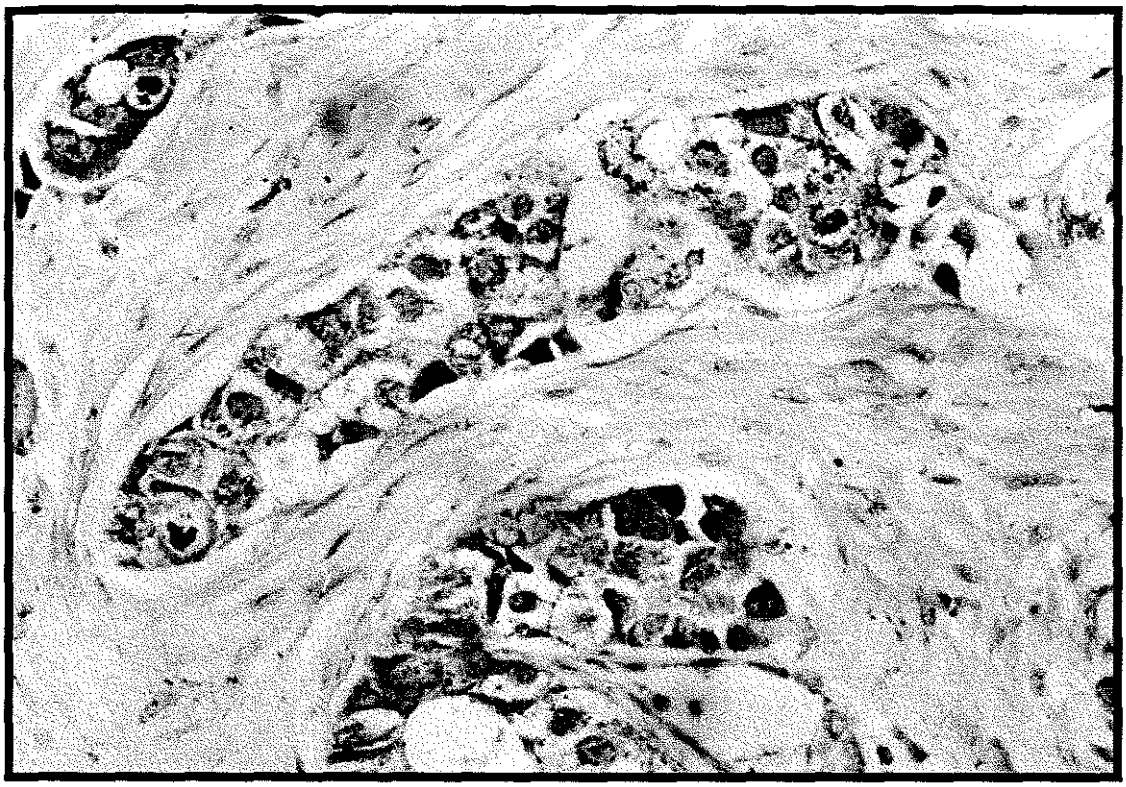
Genel grupta VEGF ile ER ve PR immünreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. VEGF boyanması nm23 ile ilişkili bulunmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamsızdır (p=0,057) (Tablo-34) (Grafik-14).



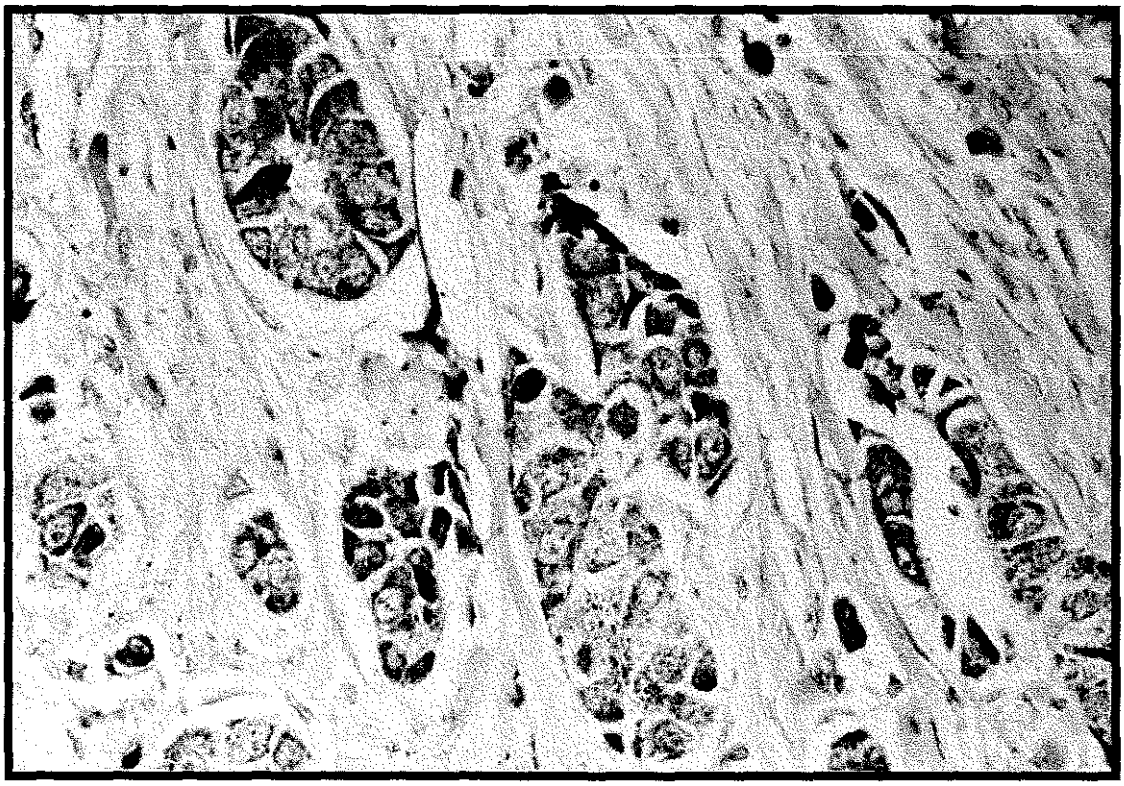
GRAFİK-14

enel Grup		ER		PR		ÇAP		nm23		Total
MK+MK)		(-)	(+)	(-)	(+)	<2cm	>2cm	(-)	(+)	
GF	low	15	38	23	30	21	28	24	29	**53**
	high	14	31	21	24	18	24	12	33	**45**
Total		29	69	44	54	39	52	36	62	**98**
Sig.		p>0,05								

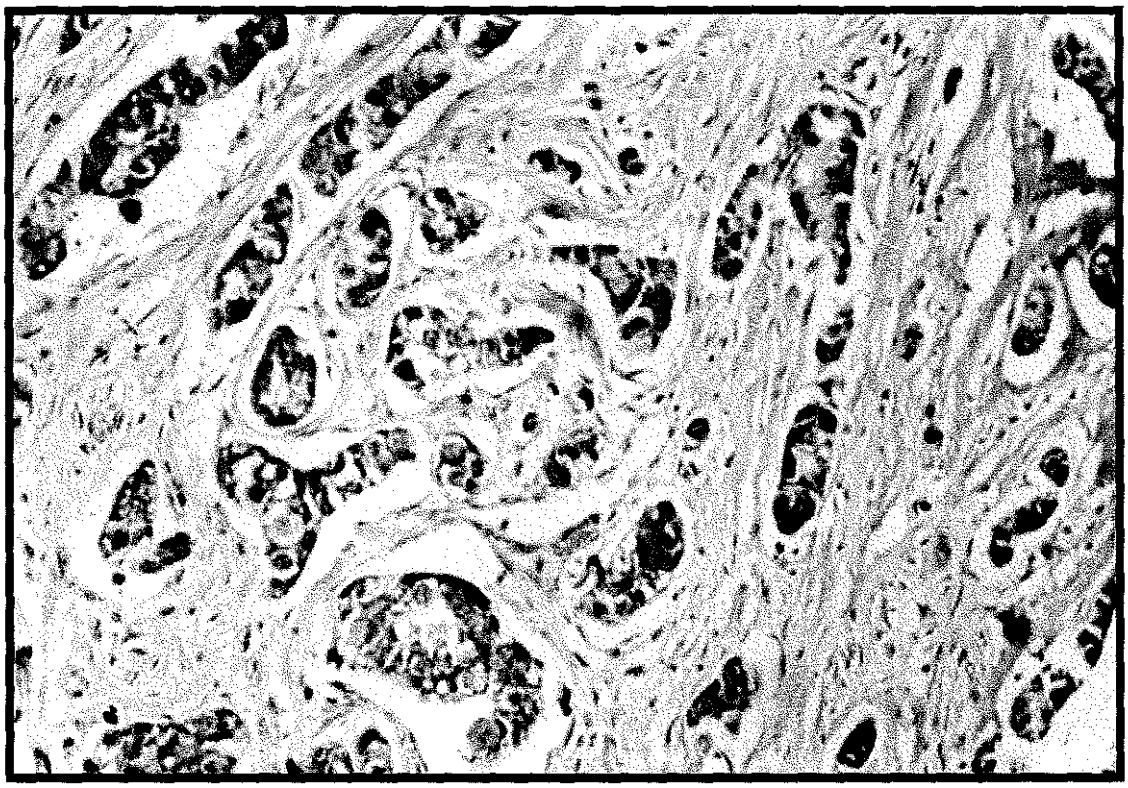
TABLO-34



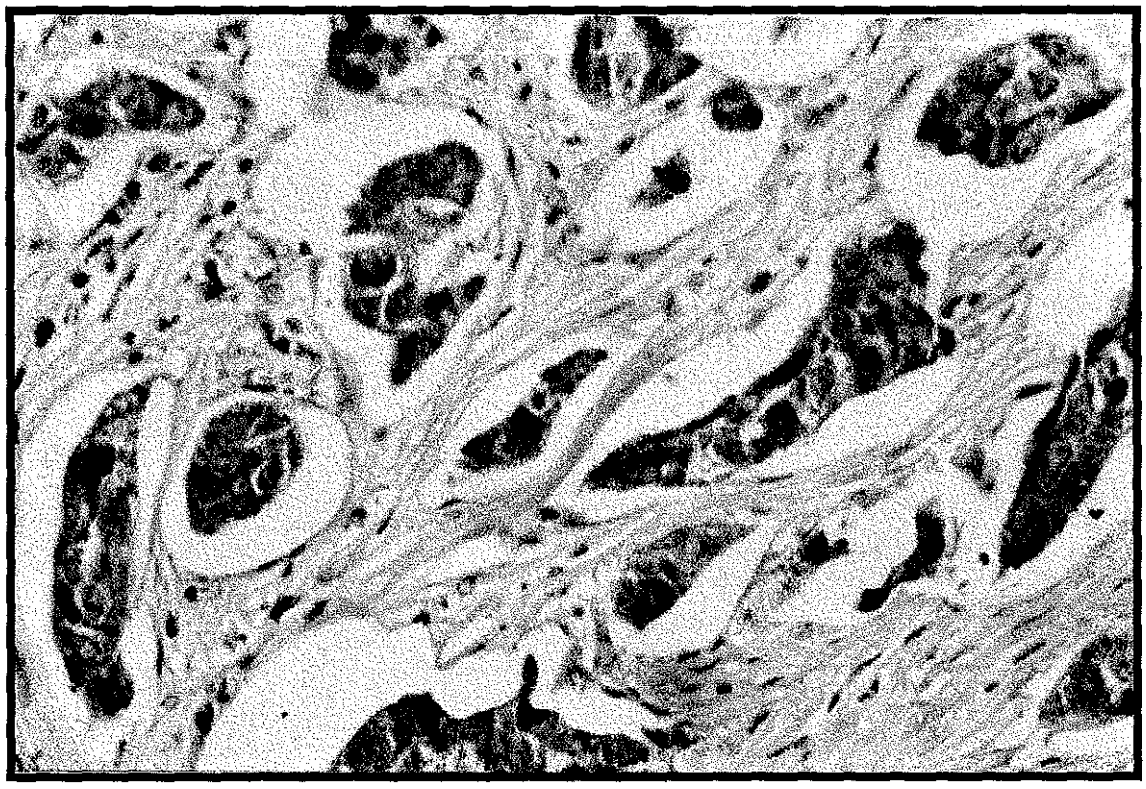
Resim-5-) NMK: VEGF - invaziv duktal karsinom. x400



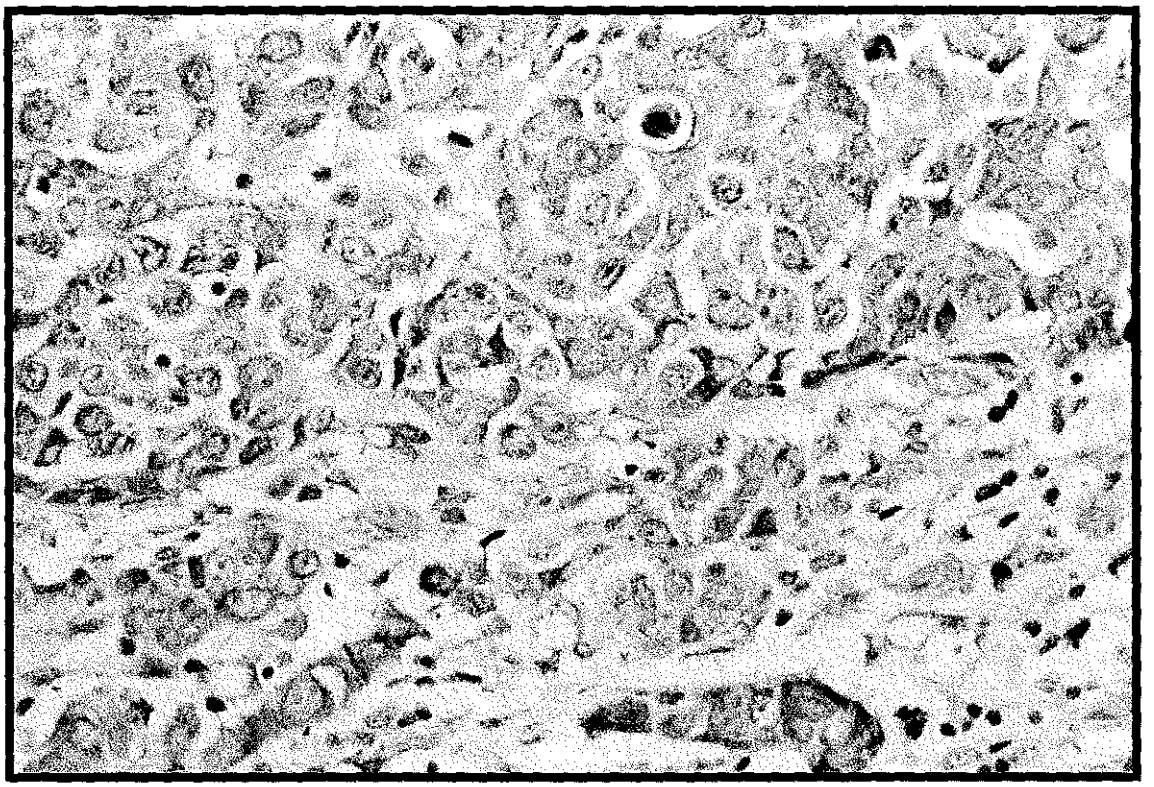
Resim-6-) MK: VEGF - apokrin karsinom. x400



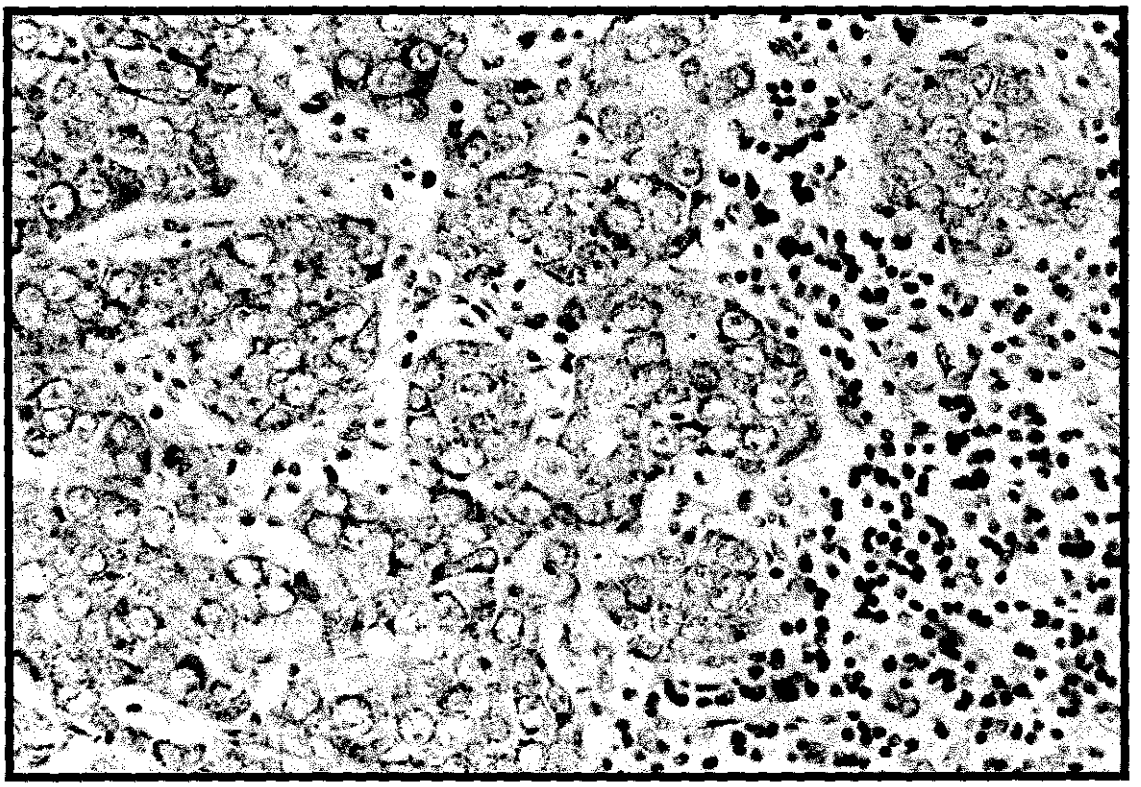
Resim-7-) NMK:VEGF - invaziv duktal karsinom. x200



Resim-8-) MK: VEGF – invaziv duktal karsinom. x400



Resim-9-) MK: VEGF – invaziv duktal karsinom. x400



Resim-10-) MLD: VEGF – invaziv duktal karsinom metastazı. x400

VEGF immünreaktivitesi ile CD31 ve CD34 antikorları ile saptanan tümör mikrodamar yoğunluğu arasında (hot spot, 5 alan ve 10 büyük büyütme alanlarında) anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (Tablo-35).

		CD31.hs		CD31.5		CD31.10		Total
		low	high	low	high	low	high	
VEGF	low	31	22	31	22	31	22	53
	high	19	26	18	27	18	27	45
Total		50	48	49	49	49	49	98
Sig.		p=0,1		p=0,06		p=0,06		
		CD34.hs		CD34.5		CD34.10		Total
		low	high	low	high	low	high	
VEGF	low	36	17	29	24	32	21	53
	high	24	21	20	25	20	25	45
Total		60	38	49	49	52	46	98
Sig.		p=0,1		p=0,3		p=0,1		

TABLO-35

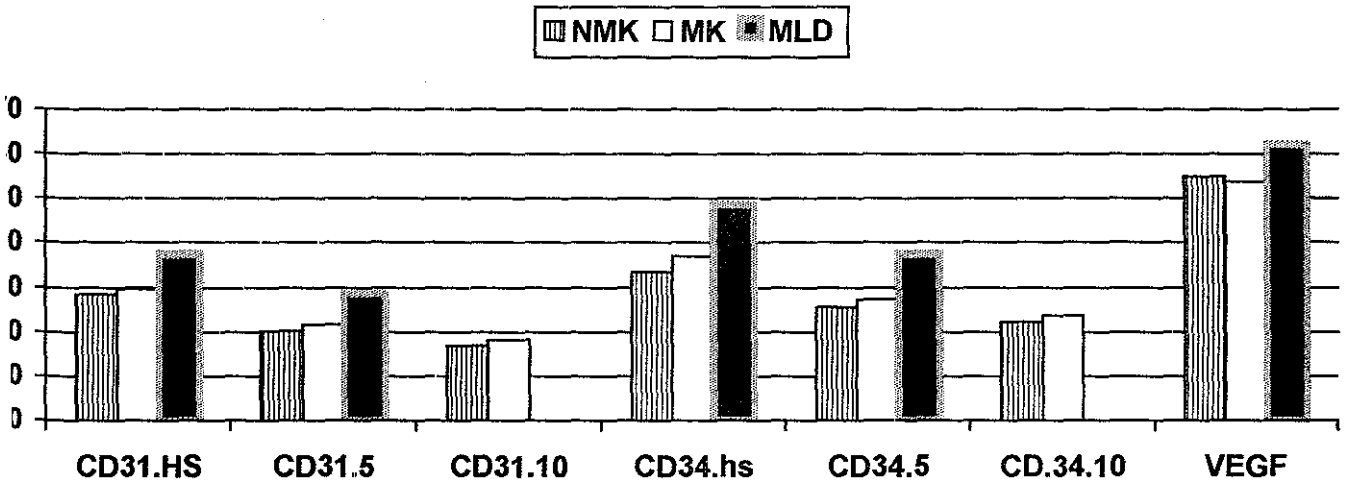
(VEGF ile mikrodamar yoğunluğu ilişkisi)

Çalışmamızda mikrodamar sayımı için CD31 ve CD34 antikorları kullanıldı. Mikrodamar sayımında CD34 ile CD31'den daha fazla damar sayıldı ayrıca MK'larda her iki antikor ile tüm alanlarda ortalama damar sayısı NMK'lardan daha yüksek idi. Fakat bu ilişki istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Tablo-36) (Resim-11,12,13,14).

		CD31.hs	CD31.5	CD31.10	CD34.hs	CD34.5	CD34.10	VEGF
NMK	ortalama	28,5	20,3	16,9	33,6	25,6	22,3	55
	medyan	27	19,8	15,8	31	23,2	21	70
MK	ortalama	29,7	21,7	18,2	36,9	27,3	23,7	53,8
	medyan	28	20,2	16,3	33	25,4	22	70
MLD	ortalama	37,5	28,7		48,6	37,5		62,2
	medyan	34	26,4		45	32		80

TABLO-36

Mikrodamar yoğunluğu en fazla MLD'nde saptandı. CD31ile saptanan damar yoğunluğu bulguları CD34 bulguları ile istatistiksel olarak kuvvetli korelasyon göstermekteydi (Tablo37, Grafik-15).



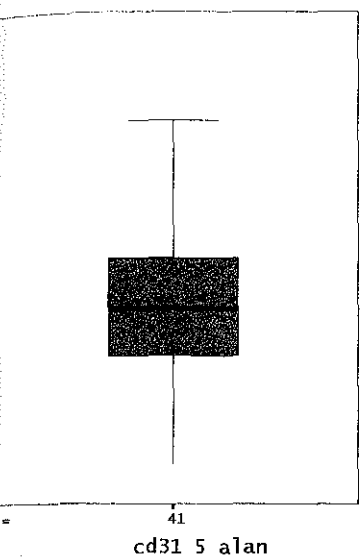
GRAFİK-15

MK ve NMK gruplarında tümör dokularında CD31 ile saptanan mikrodamar yoğunluğu bulgularının CD34 bulgularıyla korelasyonunu gösterir tablo aşağıdadır.

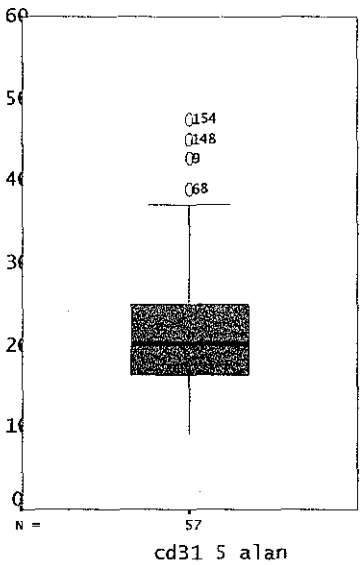
		CD34.hs		CD34.5		CD34.10		Total
		low	high	low	high	low	high	(olgu)
CD31.hs	low	39	11	31	19	35	15	50
	high	21	27	18	30	17	31	48
Total		60	38	49	49	52	46	98
Sig.		p=0,001		p=0,01		p=0,001		
		CD34.hs		CD34.5		CD34.10		Total
		low	high	low	high	low	high	
CD31.5	low	39	10	32	17	35	14	49
	high	21	28	17	32	17	32	49
Total		60	38	49	49	52	46	98
Sig.		p=0,000		p=0,002		p=0,000		
		CD34.hs		CD34.5		CD34.10		Total
		low	high	low	high	low	high	
CD31.10	low	34	15	31	18	34	15	49
	high	26	23	18	31	18	31	49
Total		60	38	49	49	52	46	98
Sig.		p=0,09		p=0,09		p=0,001		

TABLO-37

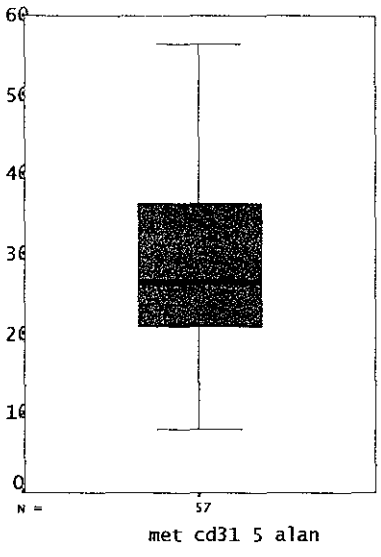
Çalışma gruplarında 5 alanda CD31 ve CD34 ile saptanan damar yoğunluklarını gösteren grafik aşağıdadır (Grafik-16).



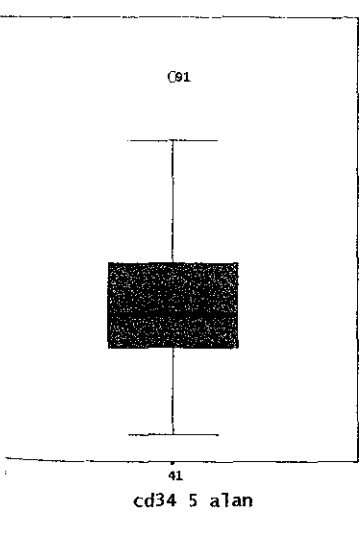
A-)NMK-CD31.5 alan



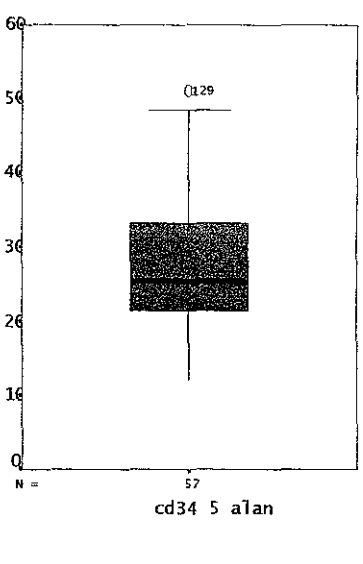
B-)MK-CD31.5 alan



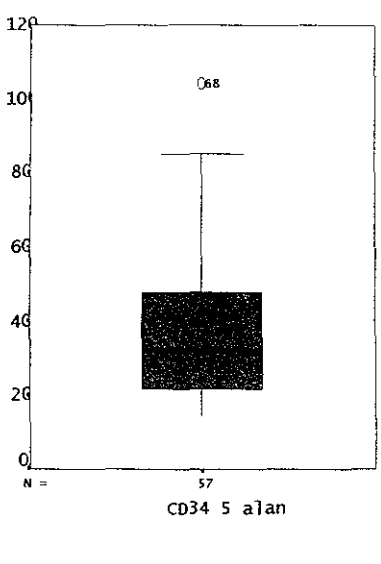
C-)MLD-CD31.5 alan



D-)NMK-CD34.5 alan

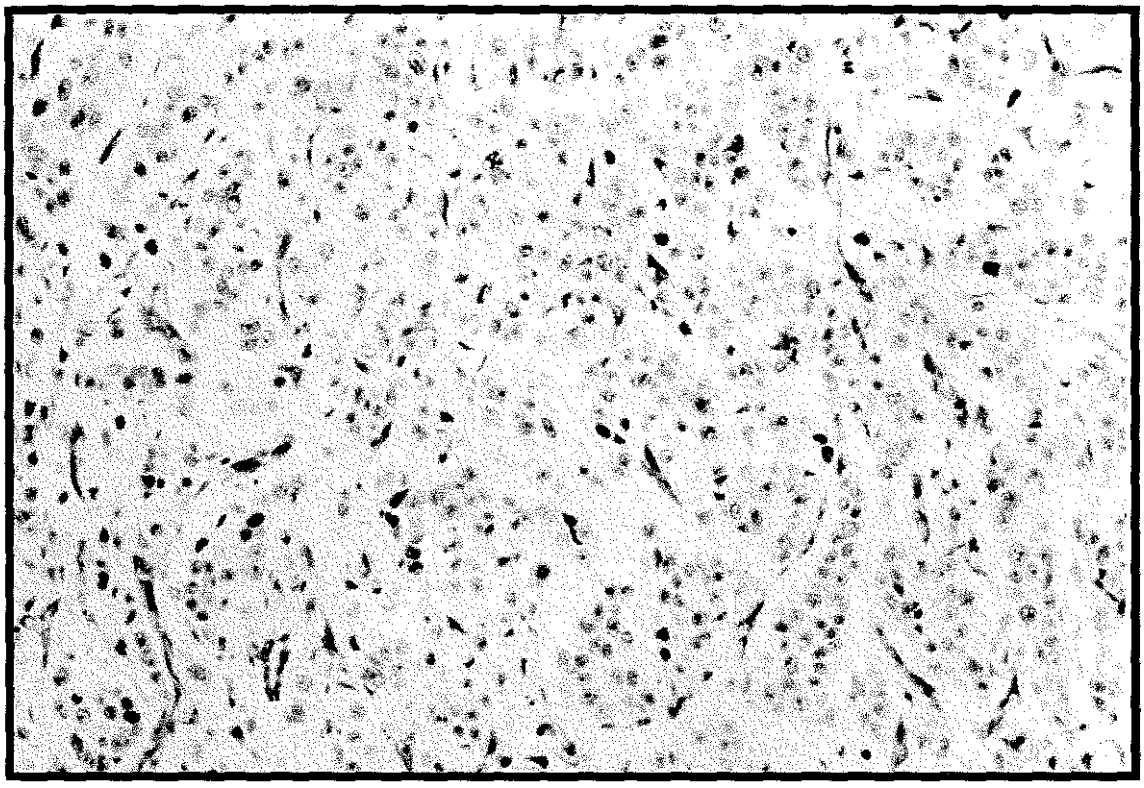


E-)MK-CD34.5 alan

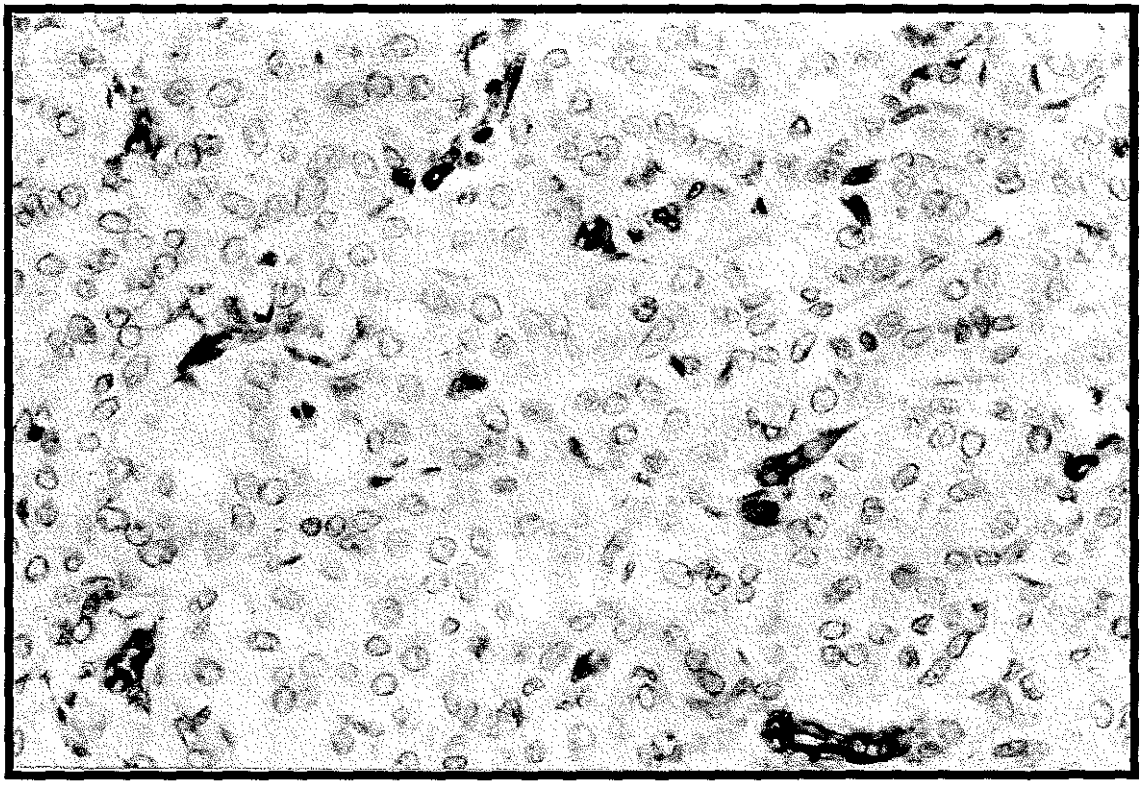


F-)MLD-CD34.5 alan

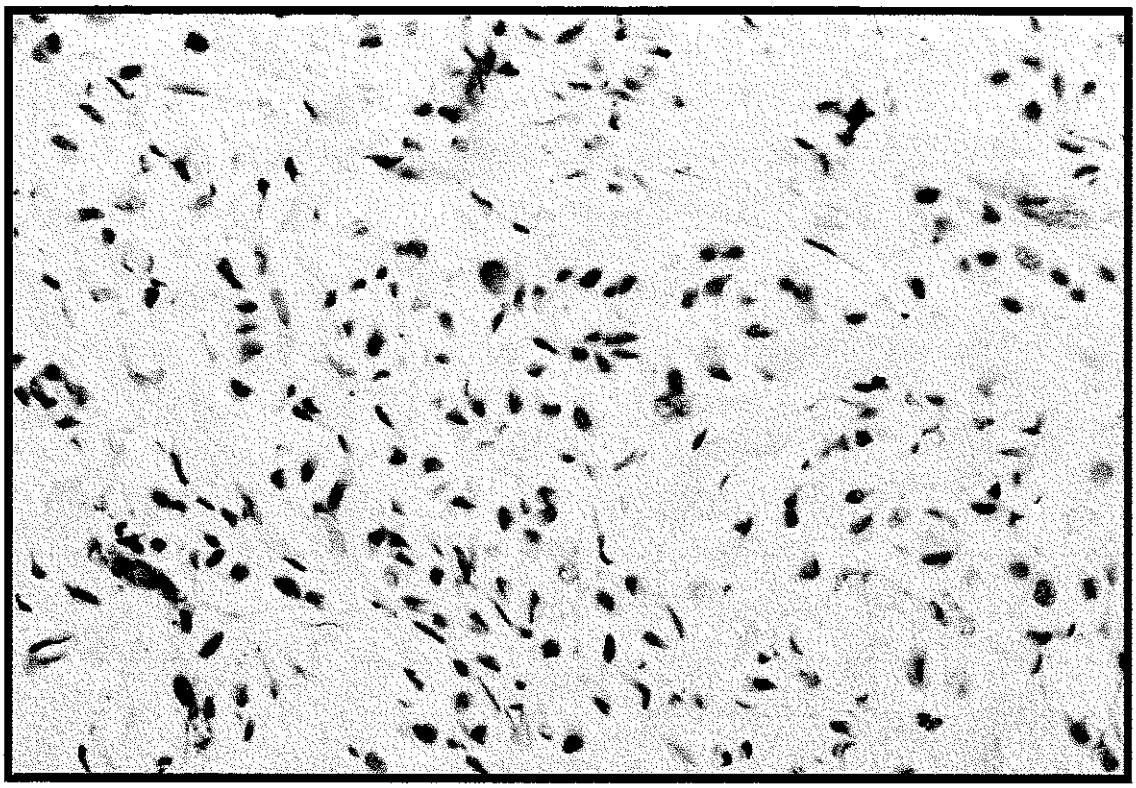
GRAFİK-16



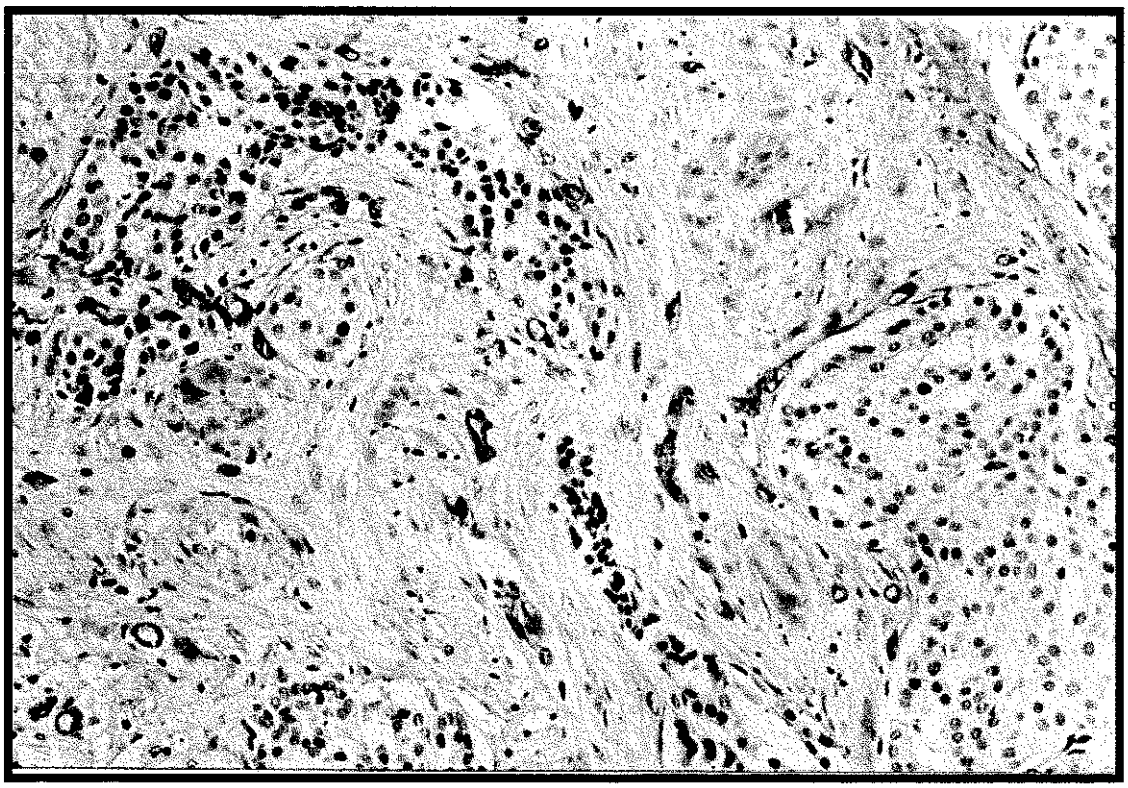
Resim-11-) MK: CD31 – apokrin karsinom. x200



Resim-12-) MK: CD34 – invaziv duktal karsinom. x400



Resim-13-) NMK: CD31 – kombine tip. x400



Resim-14-) NMK: CD34 – invaziv duktal karsinom. x200

MK grubu ve bunların metastatik lenf düğümlerinde; ER, PR, VEGF immünohistokimya boyaları bulguları ve CD31, CD34 ile saptanan mikrodamar yoğunluğu bulguları karşılaştırıldı.

Çalışma gruplarında VEGF pozitifliği ve medyan değere göre olgu dağılımını Tablo-38 'de sunulmuştur.

			VEGF		Total	VEGF		Total
			(-)	(+)		low	high	
GRUP	NMK	sayı	7	34	41	24	17	41
		%	17,1%	82,9%	100%	58,5%	41,5%	100%
	MK	sayı	15	42	57	29	28	57
		%	26,3%	73,7%	100%	50,9%	49,1%	100%
	MLD	sayı	9	48	57	22	35	57
		%	15,8%	84,2%	100%	38,6%	61,4%	100%
Total		sayı	31	124	155	75	80	155
		%	20%	80%	100%	48,4%	51,6%	100%

TABLO-38

VEGF metastazda 9 olguda negatif iken, primer tümörde 15 olguda negatif izlendi. Primerinde negatif olan 9 olgunun metastatik lenf düğümünde VEGF pozitif saptandı. 3 olguda Primerinde pozitiflik saptanırken metastatik lenf düğümünde boyanma izlenmedi. Pirimerinde pozitif olan 3 olguda metastatik lenf düğümünde VEGF negatif idi. MK olgularında VEGF immünreaktivitesi MLD ile kuvvetli derecede korelasyon gösteriyordu (Tablo-39,40).

P=0,003	Met.VEG		p=0,000	Met.VEGF	
VEGF	(-)	(+)	VEGF	low	high
(-)	6	9	low	18	11
(+)	3	39	high	4	24

TABLO-39

p=0,000		Met.VEGF		p=0,013		Met.VEGF		p=0,000		Met.VEGF.	
		low	high			(-)	(+)			low	high
EGF	(-)	13	2	VEGF	low	8	21	VEGF	low	18	11
	(+	9	33		high	1	27		high	4	24
Total		22	35	Total		9	48	Total		22	35

TABLO-40

VEGF şiddeti metastazda daha fazla idi. VEGF pozitifliği; yüzde alan, şiddet, medyan değer ve skorlama yöntemleriyle saptanarak birbirleriyle korelasyonu araştırıldı (Tablo-41).

	N	Correlation	Sig
VEGF.% alan & met.VEGF.% alan	57	,642	,000
VEGF şiddet & met.VEGF şiddet	57	,641	,000

TABLO-41

NMK ile MK arasında skorlama sistemi ile anlamlı ilişki saptanmazken, MK ve MLD ' leri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Tablo-42).

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGFSKOR MK	105,8772	57	87,6637	11,6113
VEGFSKOR MLD	132,2807	57	89,5329	11,8589
Paired samples correlations-sig = **0,000**				
Paired samples differences-sig = **0,009**				

TABLO-42

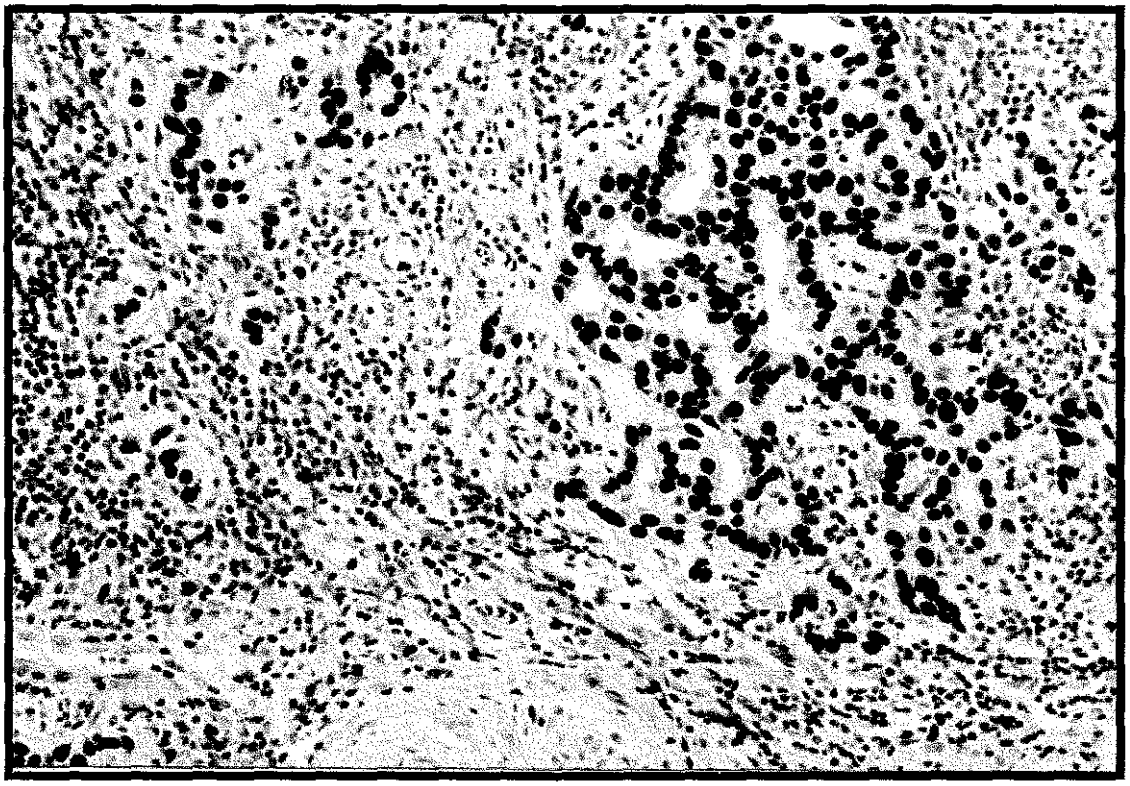
MK ve MLD'lerinde ER ve PR bulgularını gösterir tablo aşağıdadır (Tablo-43,44) (Resim-15,16).

	N	Min.	Max.	Ortalama	Std. Deviation
ER.%	57	0	95	40,18	362
Met.ER.%	57	0	95	43,77	34,84
PR.%	57	0	80	29,30	29,80
Met.PR.%	57	0	95	39,47	33,80

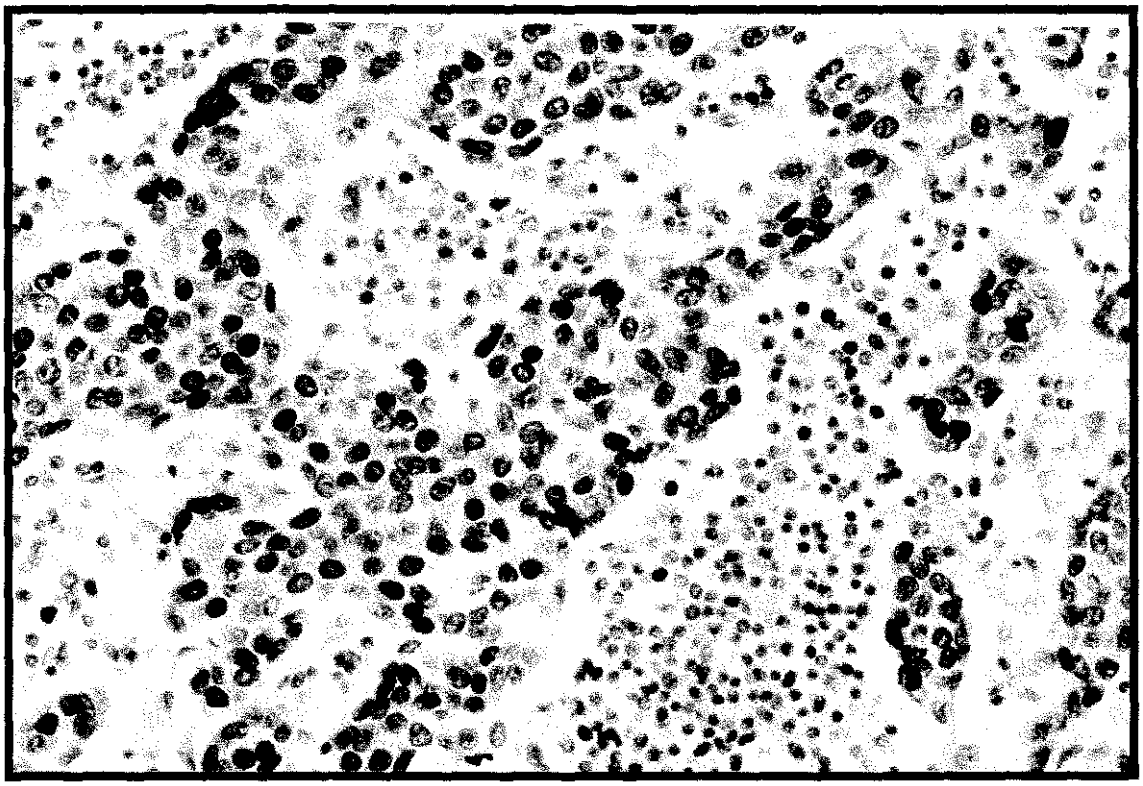
TABLO-43

	N	Correlation	Sig
ER.% alan & met.ER.% alan	57	,659	,000
ER şiddet & met.ER şiddet	57	,733	,000
PR.% alan & met.PR.% alan	57	,597	,000
PR şiddet & met.PR şiddet	57	,677	,000

TABLO-44



Resim-15-) MLD: ER – invaziv duktal karsinom. x200



Resim-16-) MLD: PR – invaziv duktal karsinom. x400

MK olgularında ER immünreaktivitesi MLD'lerindeki ER immünreaktivitesi ile kuvvetli bir korelasyon göstermekteydi (p=0,000). ER negatif olan 6 MK olgusunun MLD 'lerinde pozitif boyanma izlenirken, ER pozitif olan 6 MK olgusunda ise MLD 'lerinde ER ile immünreaktivite izlenmedi. Yine MK olgularında PR immünreaktivitesi MLD PR immünreaktivitesi ile pozitiflik ve medyan değerlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kuvvetli bir korelasyon saptandı (p=0,000). Pirimerinde pozitif iken metastatik lenf düğümünde negatif olan sadece 4 olgu vardı. MK ve MLD gruplarında hormon reseptör bulgularının birbirleriyle korelasyonunu gösteren tablo aşağıdadır.

p=0,000		**Met.ER**		p=0,000		**Met.ER**	
		(-)	(+)			low	high
ER	(-)	14	6	**ER**	Low	25	10
	(+)	6	31		high	4	18

p=0,000		**Met.PR**		p=0,000		**Met.PR**	
		(-)	(+)			low	high
PR	(-)	13	10	**PR**	Low	20	9
	(+)	4	30		high	4	24

TABLO-45

(MK ve MLD 'lerinde hormon reseptör bulgularının korelasyonu)

MK olgularında ER pozitifliği ile MLD'ki PR pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı, kuvvetli bir korelasyon olduğu saptandı. ER pozitif olan 30 olgunun MLD'lerinde aynı zamanda PR reseptörleri de pozitif idi. MK 'larda ER pozitifliği ile MLD 'lerindeki PR bulgularını karşılaştıran tablo aşağıdadır (Tablo-46).

p=0,014		Met.PR		Total
		(-)	(+)	
ER	(-)	10	10	20
	(+)	7	30	37
Total		17	40	57

p=0,010		Met.PR		Total
		low	high	
ER	(-)	13	7	20
	(+)	11	26	37
Total		24	33	57

TABLO-46

Yine MK'larda PR pozitifliği ile MLD'lerindeki ER immünreaktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptandı. PR pozitif olan 27 MK olgusunda aynı zamanda MLD'lerinde ER pozitif idi. Her iki grupta bulguları gösteren tablo aşağıdadır.

p=0,005		Met.ER	
		(-)	(+)
PR	(-)	13	10
	(+)	7	27

p=0,020		Met.ER	
		Low	high
PR	(-)	16	7
	(+)	13	21

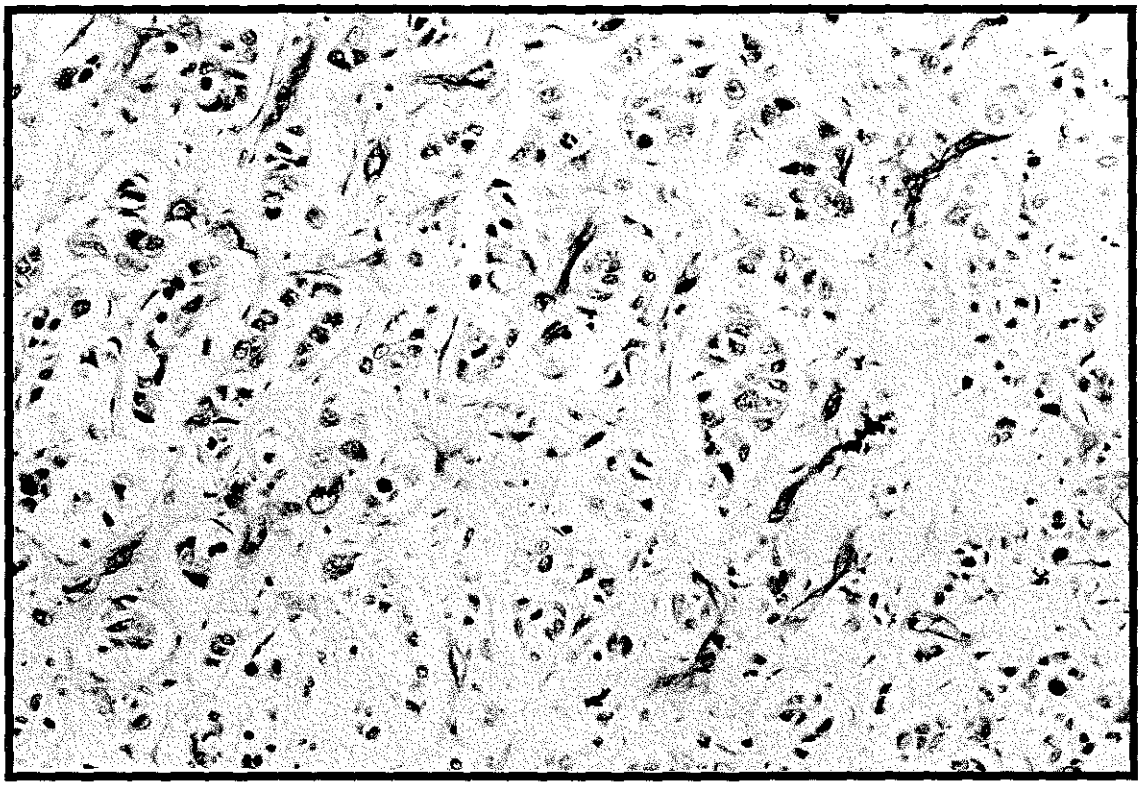
TABLO-47

MK olgularında PR reaktivitesi medyan değerin üzerinde olan 22 olguda MLD'lerinde ER pozitifliği saptandı. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,05$). Fakat MK grubu içinde ER pozitifliği medyan değerin üzerinde olan olgularda MLD' lerinde PR immünreaktivitesi ile böyle bir ilişki saptanmadı (Tablo-48).

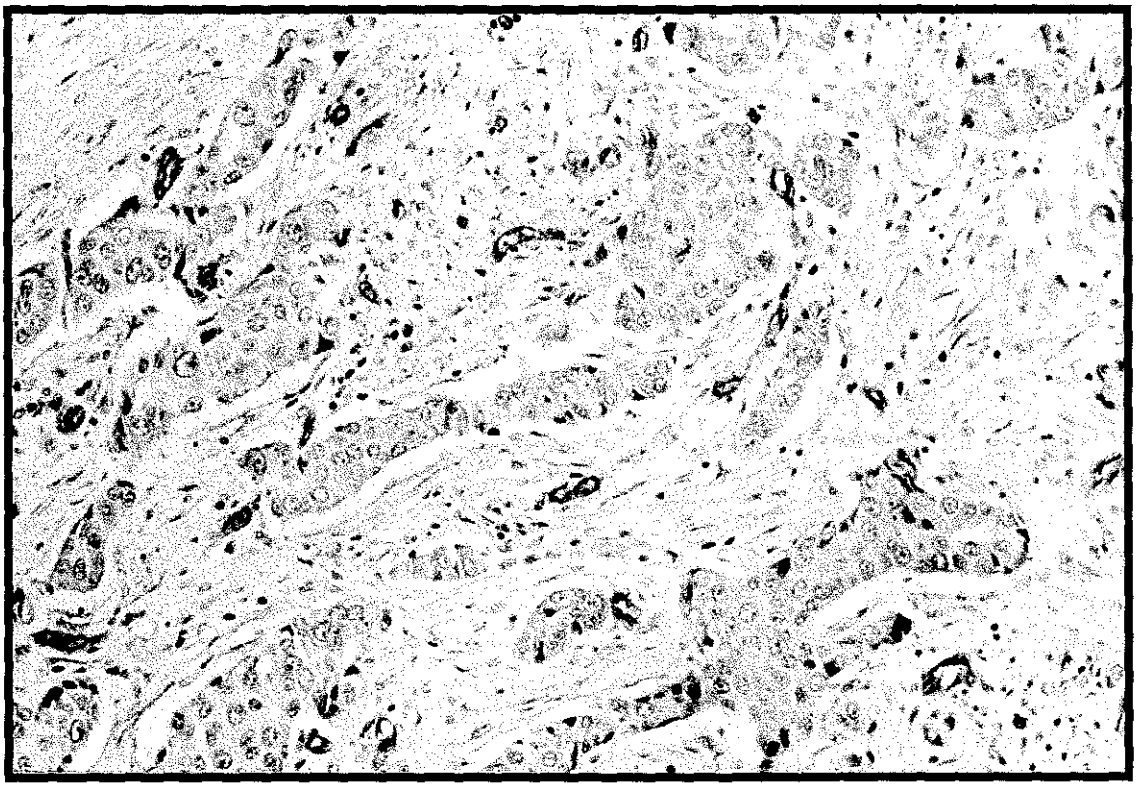
p=0,034		Met.ER		Total
		(-)	(+)	
PR	low	14	15	29
	high	6	22	28
Total		20	37	57
p>0,05		Met.PR		Total
		(-)	(+)	
ER	low	12	23	35
	high	5	17	22
Total		17	40	57

TABLO-48

MK ve MLD 'lerinde CD31 ve CD34 antikorları ile yapılan immünohistokimyasal boyama ile saptanan MDY bulguları Tablo-49'da sunulmuştur (Resim-17,18).



Resim-17-) MLD: CD34 – apokrin karsinom. x200



Resim-18-) MK: CD34 – invaziv duktal karsinom. x200

CD31 antikoru ile MK olgularında hs alanda ortalama 29,7 damar sayılırken MLD'lerinde ortalama 37,5 damar sayıldı. 5 alanda yapılan sayımda MK larda ortalama 21,7, MLD'lerinde ortalama 28,7 damar sayıldı. CD34 antikoru ile yapılan sayımlarda MK 'larda hs alanda ortalama 36,9 damar, 5 alanda ortalama 27,3 damar sayılırken, MLD lerinde hs alanda 48,6 damar, 5 alanda ise ortalama 37 damar sayıldı. CD34 ile CD31 e oranla genellikle daha fazla damar sayımı yapıldı. Yine MLD lerinde MK olgularından daha fazla damar sayıldı. Fakat NMK, MK ve MLD 'lerinden oluşan genel grup içerisinde hem CD31 hem de CD34 ile saptanan mikrodamar yoğunluğunun çalışma kapsamındaki parametrelerle gösterdiği ilişki istatistiksel olarak anlamsızdı ($p>0,05$).

	N	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Deviation	Medyan
CD31 hot spot	57	12	79	29,77	12,53	28
net CD31 hot spot	57	9	77	37,54	14,91	3
CD31 5 alan	57	9,2	47,4	21,789	8,436	20,20
met CD31 5 alan	57	8	56,4	28,765	1154	26,4
CD34 HOT	57	16	73	36,93	13,10	33
ıet CD34 hot spot	57	19	118	48,61	21,73	45
CD34 5 alan	57	12	51	27,347	8,716	25,4
Met CD34 5 alan	57	14	104	37,509	19,646	32

TABLO-49

MK grubunda hot spot ve 5 alan yöntemleriyle CD31 ile saptanan mikrodamar yoğunluğunun, MLD'lerindeki mikrodamar yoğunluğu ile istatiksel olarak anlamlı bir korelasyon gösterdiği saptandı (Tablo-50,51).

Correlation	N	Sig.
CD31.hs & met CD31 hot spot	57	0,001
CD31. 5 alan & met CD31. 5 alan	57	0,000
CD34.hs & met CD34 hot spot	57	P>0,05
CD34. 5 alan & met CD34. 5 alan	57	P>0,05

TABLO-50

p=0,001		**Met.CD31 hs**		p=0,000		**Met.CD31 5alan**	
		low	high			low	high
CD31 hs	low	11	17	**CD31 5alan**	low	9	19
	high	6	23		high	3	26

p=0,001		**Met.CD34 hs**		p=0,000		**Met.CD34 5alan**	
		low	high			low	high
CD34 hs	low	10	24	**CD34 5alan**	low	7	19
	high	9	14		high	10	21

TABLO-51

MK ve MLD'lerinde çalışma verilerinin her iki grupta birbirleriyle korelasyonunu gösteren tablo aşağıdadır

		Correlation	Sig.
VEGF.% alan & met VEGF.% alan	57	,642	,000
VEGF şiddet & met VEGF şiddet	57	,641	,000
CD31.hs & met CD31 hot spot	57	,417	,001
CD31 5 alan & met CD31 5 alan	57	,467	,000
CD34.hs & met CD34 hot spot	57	,133	,325
CD34 5 alan & met CD34 5 alan	57	94	,486
ER.% alan & met.er % alan	57	,659	,000
er şiddet & met er şiddet	57	,733	,000
PR.% alan & met PR.% alan	57	,597	,000
PR şiddet & met PR şiddet	57	,677	,000

TABLO-52

Çalışmamızda metastatik lenf düğümlerinde ER, PR, VEGF immünreaktivitesi ve CD31 ile saptanan mikrodamar yoğunluğunun primer tümör ile kuvvetli bir korelasyon gösterdiğini saptadık ($p<0,05$).

TARTIŞMA

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, etyolojisi, yapısı, seyri ve tedavisi henüz çözümlenmemiş bir konudur.

Tedavi yönlenimleri, hastalığın daha iyi tanınmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle, tümör yapısının ortaya konulmasını amaçlayan çalışmalarda, histopatolojik yaklaşım boyutları gün geçtikçe genişlemektedir.

Meme kanserinde prognozu belirleyen bir çok parametrenin önemi vurgulanmaktadır. Hedef ise sistemik adjuvan tedavi uygulanmaksızın memeyi korumaya yönelik uygun şekilde tedavi edilebilecek hastaları seçebilmek ve bu grubun dışında kalan hastalarda da, en iyi sonucu verebilecek lokal-bölgesel kontrol ve sistemik tedavi şeklinin belirlenebilmesidir. Bu hedefe yönelik olarak en çok irdelenmiş parametreler; yaş, siklik hormonal durum, aksiller lenf düğümü durumu, primer tümörün lokalizasyonu, multisantrisite, bilateralite, tümör çapı, tümör sınırlarının özelliği, nekroz, histolojik tip, mikroskopik grade, lokal lenfositik doku yanıtı, tümör hücre kinetiği, elastozis, steroid hormon reseptörleri, deri ve meme başı invazyonu, lenfatik-kan damarı-perinöral invazyon, stromal fibrozis, tümör supresör genleri ve anjiogenezisdir.[102]

Hastalığın sistemik kontrolü için adjuvan olarak eklenen kemoterapiye veya endokrin tedaviye yanıt verecek olguların seçimi, tedavi sistemlerinin morbidite-mortalite riskini minimalize edebilmek ve rasyonel sonuçlara ulaşabilmek açısından önemli ilk noktadır. Günümüzde bu amaca yönelik olarak, daha objektif parametre arayışları halen üzerinde yoğun olarak çalışılan konulardan biridir.

Uzun yıllar, rasyonel bir tedavi şekli belirlemek ve yaşam süresi tahmini için yapılan objektif kriter saptama çalışmaları göstermektedir ki, tüm parametreler birlikte değerlendirildiğinde, tek tek taşıdıkları değer artmaktadır.

Bu çalışmada geniş bir seride, primer meme karsinomları ve metastatik lenf düğümlerinde endotelyal hücre belirteçlerinden CD31 ve CD34 ile immünohistokimyasal olarak boyanan vasküler alanların, küçük damar sayımı yöntemi ile değerlendirilmesi, belirlenen mikrodamar yoğunluğunun; anjiogenik faktörlerden $VEGF_{121}$ ve prognostik faktörlerden östrojen reseptör, progesteron reseptör, anti-metastatik genlerden nm23 ekspresyonu ve tümörün histolojik tipi, nükleer grade, histolojik grade ve tümör çapı ile ilişkisi araştırıldı.

Çalışmamızda tedavi şeklinin belirlenmesinde önem taşıyan prognostik parametreleri tüm varyasyonlarda irdeleyerek, aralarındaki ilişkinin gücünü ve yönünü saptadık.

Primer meme kanserli hastada yaş ve menopoz durumunun prognoza etkisi tartışmalıdır. Genç hastalarda klinik seyrin daha kötü [3,54,77], daha iyi [77] veya yaş ile klinik seyir arasında ilişki olmadığını ileri süren yayınlar mevcuttur.

Genç hastalarda meme kanserinin seyrini inceleyen çalışmalarda,[3,77] 35 yaş altındaki meme kanserli kadınlarda prognozun daha kötü olduğu sonucuna varılmıştır. Nixon ve ark. yaşlanma ile grade III histoloji, yaygın intraduktal komponent, lenfatik invazyon, nekroz, mononükleer hücre infiltrasyonu gibi kötü prognostik faktörlere rastlanma oranının azaldığını

bildirmişlerdir.[77] Albain ve ark. da benzer şekilde genç yaştaki hastalarda lenf düğümü metastazı, tümör çapı, hormon reseptör negatifliği, p53 ve S-fazı fraksiyonunda artış saptamışlardır.[3] Bulgular meme kanserinin gençlerde farklı bir hastalık olduğunu düşündürmektedir.

Meme kanseri riski ile menopoz yaşı arasında da bir ilişki saptanmış, 45 yaşından önce menopoza giren kadınlarda meme kanseri riski, 55 yaşından sonra bu döneme giren kadınların yarısı kadar olduğu bildirilmiştir.[102]

Literatürde, ER ve PR'ünün yaş ile direkt bir ilgisi gösterilemediği ancak artan yaş ile ER pozitifliğinin arttığı, bununda kısmen PR içinde geçerli olduğu bildirilmektedir.[30,33] Ayrıca postmenopozal olgularda ER pozitifliğinin ve azalan östrojen miktarına bağlanan, PR negatifliğinin daha sık olduğu bildirilmektedir.[57]

Bizim çalışmamızda 98 olguluk genel grupta (MK+NMK) yaş ortalaması 52,1 (ortanca=51) olup olguların en küçüğü 30 en büyüğü 80 yaşındadır. NMK çalışma grubu için yaş ortalaması 46 olup, en küçüğü 30, en büyüğü 76 yaşındadır. MK çalışma grubunda yaş ortalaması 50 olup, en küçüğü 30, en büyüğü 80 yaşındadır. Yaş frekans dağılımında (Tablo-4) 5 ve 6.onyıl 63 olgu ile en sık frekansı oluşturmuştur.

Olguların %51'i 50 yaş üzerindedir(tablo-5). Genel grup içerisinde İDK olgularının 25tanesi (%48,1) 50 yaş altında iken, 27 olgu (%51,9) 50 yaş üzerindedir. Yapılan istatistiksel analizde yaş ile grade, tümör tipi, lenf düğümü metastazı ve çalışma grubumuzdaki diğer parametreler ilişkisiz olarak bulunmuştur. Yaş ile ER arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptamamıza rağmen,[30,33] PR ile anlamlı bir ilişkinin olmadığı görülmüştür. Yaş ile ilgili çalışmalardaki çelişkilerin çalışmaya

alınan hasta sayısının azlığı, hasta seçimindeki ve yaş gruplandırmalarındaki farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Meme kanseri prognozunda tümör lokalizasyonunun önemi hakkında görüşler homojen olmamakla birlikte, bu parametrenin tümör çapı ve lenf düğümü tutulumu kadar önemli olmadığı sonucu çıkarılabilmektedir. Urban, santral ve medial lokalizasyonda, diğer lokalizasyonlara göre prognozun daha kötü olduğunu bildirmiştir . Berkson ve ark.'nın 9646 olguluk serisinde medial lokalizasyonda 5 yıllık yaşam oranı %70,7 iken, lateral lokalizasyonda bu oranın %84,7 oduğu görülmektedir [8] Lateral lokalizasyonun iyi bir prognoz göstergesi olduğuna dair birçok yayın olmasına karşın, Fisher ve ark.'nın 1665 olguluk serisinde tümör lokalizasyonunun tek başına yaşam süresini etkilemediği bildirilmiştir [37] lokalizasyonun prognostik önemi olmadığı yönünde benzer görüşler vardır.[1]

Bizim çalışmamızda 41 NMK olgusunun 23 tanesi sağ memede, 18 tanesi sol memede izlenmiştir. MK olgularının 29 sağ meme, 28 sol memededir. Genel grup içerisinde 52 olguda (%53,1) tümör sağ memededir

Her iki grup içerisinde de tümör sıklıkla üst dış kadran (%64,9) yerleşimli olup yapılan istatistiksel analizde NMK ve MK olgularında tümör taraf ve kadranla ilişkili bulunmamıştır ($p>0,05$).

Meme kanserlerinde lenf düğümü metastazı negatif hastalık alt grubunda en güçlü ve tutarlı prognoz belirleyici tümör büyüklüğüdür. Tümör büyüdükçe hastalık nüksünün arttığı ve klinik seyrin kötüleştiği birçok çalışmada gösterilmiştir.[2,22,36,61,86] McGuire ve Clark lenf düğümü negatif hastaların %50 'sinde tümör büyüklüğünün ve histolojik alt tip kullanılarak tedavi kararı verilebileceğini ileri sürmüşlerdir.[71]

Çalışmamızda NMK çalışma grubunda 21olguda (%53,8) tümör çapı 2cm yada altında iken, MK olgularının 18 tanesinde (%34,6) tümör çapı <2cm' dir. NMK grubunda tümör çapı <2cm olan 21 olgudan 4 tanesinde (%10,3) çap 1cm'nin altındadır. NMK grubunda en küçük tümör çapı 0,8cm, en büyük tümör çapı 7cm olup, 41 olguluk grup içinde ortalama çap 2,5cm'dir. MK grubunda ise en küçük 1cm, en büyük 7,5 cm olup ortalama tümör çapı 3cm' dir. MK olgularının %65,4 'ünde, NMK olgularının %46,2 'sinde tümör çapı 2 cm 'nin üzerindedir. MK grubu içerisinde sadece 2 olguda (%3,8) çap 1cm 'in altındadır. NMK grubu içerisinde 2 olguda MK grubunda ise 5 olguda tümör multisentrik yerleşimlidir. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak çap ile metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p>0,05). Ayrıca lenf düğümü sayısı ile tümör çapı ilişkisini araştırdığımızda aralarında anlamlı bir ilişki saptadık. Tümör çapı arttıkça metastatik lenf düğümü sayısında da artış tespit edildi. 2cm'nin altındaki MK olgularında metastatik lenf düğümü sayısı bu çap üzerindeki olgulardan daha düşük idi. Yapılan istatistiksel analizde bu ilişki anlamlı idi (p=0,035).

Primer tümör çapı ile ER ve PR ilişkisi az irdelenmiş konulardan biridir. Literatürde ER ve PR ile primer tümör çapının bağımsız bir ilişkisi olmadığı saptamalarına karşın, [73,84,113] tümör çapı ile ER ve PR seviyeleri arasında anlamlı ve ters bir ilişki saptadığını bildirenlerde vardır. [14,84] Chamnes ve ark. 1989 yılında 385 olguluk lenf düğümü negatif, heterojen histolojik tipli primer meme karsinomlu olgularda, primer tümör çapı ile ER ilgisinin olmadığını bildirmişlerdir. [23]

Bizim çalışmamızda genel grup içerisinde tümör çapı ile ER değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p<0,05). Tümör

çapı <2cm olan 39 olgudan 32' sinde ER reseptörü pozitif ve bunlarında 23 tanesinde ER pozitifliği şiddetli derecede izlenirken, tümör çapı >2cm olan 52 olgudan 37 'sinde ER immünreaktivitesi görülmemiştir. Bulgularımız ER ile çap arasında anlamlı ve ters bir ilişki olduğunu göstermiştir.[14,84] Fakat genel grupta PR pozitifliği ER ile ilişkili olmasında rağmen tümör çapı ile PR arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Prognoz açısından en önemli faktörlerden biride meme kanserinin histolojik tipidir.[1,84,102] En sık rastlanan meme kanseri tipleri invaziv duktal karsinom ve invaziv lobüler karsinomlardır. Birden fazla türde hücre bir arada görüldüğünde prognoz en malign elemana göre tayin edilir. İnvaziv duktal karsinomlı hastalarda aksiller lenf düğümü tutulumu daha sık ve buna bağlı olarakta klinik seyir daha kötüdür.[38]

Bizim çalışmamızda 41 metastazsız primer meme karsinomu olgusunun (NMK) 21 tanesi (%51,2) invaziv duktal karsinom (İDK), 5 tanesi (%12,3) kombine tip (invaziv duktal+invaziv lobuler)(KT), 3 tanesi (%7,3) intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinom (İKBİDK), 3 tanesi (%7,3) nöroendokrin diferansiasyonlu karsinom ve 8 tanesi de diğer tiplerden (%19,5) oluşmaktadır.

57 metastazlı primer meme karsinomu olgusunun (MK) 31tanesi (%54,4) İDK, 11 tanesi (%19,3) kombine tip, 4 tanesi (%7) intraduktal komponenti baskın İDK, 4 tanesi (%7) apokrin karsinom, 2 tanesi (%3,5) invaziv lobüler karsinom ve 8 tanesi (%8) diğer tiplerden oluşmaktadır.

98 olguluk genel grup (NMK+MK) içerisinde 52 olgu (53,1) İDK, 16 olgu (%16,3) KT, 7 olgu (%7,1) İKBİDK' dur. 18 olgu (%23,5) diğer tiplerden oluşmaktadır. 52 invaziv duktal karsinom olgusunun 26'sında tümör çapı 2cm 'nin üzerinde olup, 33 olgu ER pozitiftir ve 31 olgu metastatik olup 19 tanesinde pozitif lenf düğümü sayısı 4 ve üzerindedir.

Bizde çalışmamızda da en sık invaziv duktal karsinomu izledik ancak metastaz sayısının histolojik ve nükleer grade ile doğrudan orantılı olduğunu gösterir bir bulgu elde edemedik. Bunun çalışma grubumuzdaki olguların genelde ileri evre olmasıyla ilişkili olabileceğini düşünüyoruz.

Meme kanserlerinde en önemli prognostik faktörlerden biride aksiller lenf düğümlerinin durumudur.[1,55] Yalnızca lenf düğümü tutulumunun olup olmadığı değil, bunun yanısıra tutulmuş olan lenf düğümlerinin seviyesi (level) [55], tutulum gösteren lenf düğümü sayısı, [34,55,98] lenf düğümü tutulumunun mikro veya makro düzeyde olması,[55] tutulan lenf düğümlerinde çevresel yayılımın olup olmadığı,[55,69,102] ve lenfatiklerde tümör hücrelerinin bulunup bulunmadığı da prognoz açısından önemlidir.[1,15,102] Metastatik lenf düğümleri sayısı ile yaşam süresi arasında ters bir ilişki vardır. 2-3 lenf düğümü pozitif olduğunda 10 yıllık yaşam süresi oranı %38-54 iken, 4 ve daha fazla lenf düğümü pozitif olduğunda bu oran %19'a düşmektedir.[21] Genel olarak aksiller lenf düğümü tutulum seviyeleri arasında yaşam süresi oranı açısından 1 seviyeden 3 seviyeye doğru bir azalmadan bahsedilmektedir. Smith ve ark.'a göre survive oranı, pozitif lenf düğümlerinin aksiller seviye dağılımından çok total sayısı ile ilgili olduğunu belirtmiştir.[98]

Aksiller durumun sağlıklı değerlendirilebilmesi için an az 6 adet lenf düğümünün histopatolojik incelenmesi gerekmektedir.[15] Ayrıca aksiller bölgede 20-35 adet lenf düğümü bulunduğu gözardı edilmemelidir.

Çalışmamızda NMK grubunda ortalama 20 adet reaktif aksiller lenf düğümü diseksiyonu saptandı. En fazla level II' de sonra sırasıyla I ve III 'te izlendi. MK olgularında reaktif lenf düğümleri en fazla level I'den diseke edildi. MK olgularında metastatik lenf düğümü sayısı ile aksiller seviyeyi karşılaştırdığımızda, ortalama 8 lenf düğümünde metastaz

saptandı, bunlarda en fazla level-I ' bölgesinde izlendi. Bulgularımız literatürle uyumludur. Ayrıca pozitif lenf düğümü sayısı çapla ilişkili olarak bulundu ($p<0,05$) (373). Metastatik lenf düğümü sayısı 4 ve üzerinde olan 31 MK olgusunun (%70,4) 19 tanesinde aynı zamanda yüksek VEGF immünreaktivitesi saptanmıştır (medyan >%70). MLD sayısı 4'ün altında olan olgulardan sadece 8'inde yüksek VEGF pozitifliği görülmüştür. Yapılan istatistiksel analizde bu ilişki anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$)

Tümör hücre büyümesini hücre kinetiği dışındaki faktörlerde etkiler. Bunlardan en önemlisi kanlanmadır.[39,40] Solid tümörlerin damarlanmadıkları takdirde 2-3mm^3 'den daha fazla prolifere olamayacağı kanıtlanmıştır.[43] Anjiogenez tümörlerin büyüme ve yayılmasında vazgeçilmez bir rol oynadığı için son yıllarda çalışmaların odak noktası olmuştur. Tümörlerin sonraki herbir yayılımı, tümör hücreleri ile tümörün dolaşıma geçmesi için bir yol sağlayan yeni gelişmiş vasküler kanallar arasındaki etkileşimden kaynaklanır.[76,102]

Tümörlerle ilişkili anjiogenik faktörler, tümör hücrelerinin kendinde ve tümörü infiltre eden yangısal hücrelerde (ör., makrofaj) yapılır. Yeniden damarlanma tümör büyümesi üzerine iki yönlü etki gösterir: perfüzyonla besin maddeleri ve oksijen gelir ve yeni oluşan endotel hücreleri salgıladığı büyüme faktörleri ile tümörün büyümesini uyarır.[76] Tümör büyümesi, metastaz ve progresyonun anjiogenezisle ilişkili olduğu kanıtlanmıştır.[41,42,51,85] VEGF, bilinen anjiogenik faktörler arasında anjiogenik proçesin fizyolojik ve patolojik durumunda başlıca düzenleyici faktördür.[32] Bu molekül, tümör mikrodamarlanmasının permabilitesi üzerine kuvvetli etkisinden dolayı Dworak ve ark. tarafından ilk kez vasküler permabilite faktörü (VPF) olarak isimlendirilmiştir.[76] Daha sonra

Ferrara ve ark. bu faktörün endotelyal hücre proliferasyonu ve anjiogenezisi selektif olarak sitümüle eden mitojenik bir faktör olduğunu göstermiş ve VEGF olarak adlandırmışlardır.[32,76] Sonuç olarak insan neoplazmları VEGF ve VEGF-ilişkili molekül ekspresyonunda heterojen bir yapı göstermektedir.[76] Bu heterojenitenin olması sürpriz değildir, çünkü bu büyüme faktörlerini kontol eden farklı düzenleyici mekanizmalar vardır.

Meme bezinin normal büyüme ve diferansiasyonu birçok steroid hormonlar, peptid hormonlar ve büyüme faktörlerince regüle edilir. Normal büyümenin hormonal regülasyonu malign büyümede olduğu gibi büyük ölçüde otokrin ve parakrin faktörler aracılığıyladır.[89] VEGF mRNA protein ekspresyonu normal insan meme bezinde düşük seviyelerde, primer ve metastatik meme kanserlerinde yüksek seviyede tespit edilmiştir.[9,18,89,105] Buna rağmen meme kanser büyümesinde yada meme bezinin steroid regülasyonunda VEGF'nin muhtemel rolü hakkında çok az şey bilinmektedir.[89] Rat uterusunda ve insan endometrium karsinomu hücrelerinde VEGF ekspresyonunun östrojen ile regüle edildiği birçok çalışmada gösterilmiştir.[89]

Bizim çalışmamızda $VEGF_{121}$ immünboyanması tümör hücrelerinde % alan ve boyanma şiddeti olmak üzere iki grupta değerlendirildi. Ayrıca VEGF alan ve boyanma şiddetinin çarpımı ile VEGF skoru elde edilerek gruplar arası ilişkisi araştırıldı.

52 İDK olgusunun 29'unda yüksek VEGF immünreaktivitesi saptanırken, 9 olguda VEGF boyanması %10 'un altında idi. NMK ve MK gruplarında VEGF skoru birbirleriyle istatistiksel olarak anlamsız bir ilişki gösterirken, metastatik lenf düğümlerinde VEGF skoru MK 'lardan daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermektedir ($p=0,000$). VEGF ortanca değeri ile metastatik lenf düğümü sayısı arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık ($P<0,05$). Pozitif lenf düğümü sayısı 4 ve üzerinde olan tümörlerde yüksek VEGF immünreaktivitesi saptandı (Tablo-28).

$VEGF_{121}$ boyanması nm23 ile ilişkili bulunmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamsızdır. ($p=0,057$) Literatürle uyumlu olarak MK grubunda VEGF immünreaktivitesi ile ER arasında istatistiksel olarak anlamlı ters bir ilişki saptandı ($p<0,05$) (44). VEGF pozitif olan 42 olgunun 19 'unda ER negatif idi. NMK grubunda ise bu ilişki aynı yönde saptandı. ER negatif olan 9 NMK olgusunun 8 tanesinde VEGF düşük derecede boyanma gösterdi (<%70)($p<0,05$).

$VEGF_{121}$ immünreaktivitesi ile CD31 ve CD34 antikorları ile saptanan tümör mikrodamar yoğunluğun arasında (hot spot, 5 alan ve 10 büyük büyütme alanlarında) anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Literatürde VEGF ile ilgili çalışmalarda, immünohistokimyasal, immünoenzimatik, insitu hibridizasyon , nothern ve western blot analizi gibi farklı metodlar kullanılmıştır. Sonuçlardaki farklılıkların çalışma gurupları ve metodolojideki değişikliklerden kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Meme tümör biyolojisi, hormon bağımlılığı bazından hareketle çözümlenmeye çalışılan bir kaostur. Hücrenin malign transformasyonuna neden olan faktörler, genom üzerinde steroid hormon ekspresynunu sağlayan geni amplifiye edebilir, yada supresör geni baskılayabilirler. Her iki durumda da steroid hormonun katettiği intrasellüler siklus mekanizmalar etkilenmiş veya etkilenmemiş olabilir. Tüm bu olaylar otokrin, parakrin veya endokrin sikluslarla süregendir. Çeşitli hipotez ve teoriler ile ortaya konulan bu perspektifte, seks steroidlerinin diferansiasyon kapasitesi ile ilgili bir sonuç olduğu görüşü baskındır.[57]

ER ve PR ilişkisini bağımsız olarak inceleyen yayınlardan en kapsamlı olanı Coffer ve ark tarafından yapılmıştır. Prognoz açısından ER'nün, PR 'ne göre daha sensitif bir parametre olduğunu öne sürenler [108] yanında, hastalıksız yaşam süresi açısından PR pozitifler ile PR negatifler arasındaki belirgin farkın, ER pozitiflerle ER negatifler arasındaki belirgin farktan daha anlamlı olduğunu bildirenler, [103] ve yine cerrahi sonrası adjuvan tedavinin prognostik öneminin kestiriminde, ER ve PR 'un, bağımsız olarak da önemli parametreler olduklarını vurgulayanlar vardır. [24]

Çalışmamızda ER reaktivitesi medyan değere (M±50) göre değerlendirildiğinde nonmetastatik grupta ER pozitifliği daha kuvvetli olarak bulunmuştur. NMK grubunda ER ortanca değer 60, MK grubunda 30, MLD'lerinde 50 dir. Bizde literatürle uyumlu olarak NMK ve MK grubunda ER immünreaktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık ($p<0,05$). Ancak tek olguları tanımlamada bunun diğer parametrelerle birlikte değerlendirilmesinin daha anlamlı olacağını düşünüyoruz.

Genel grupta ER immünreaktivitesi PR ile korelasyon göstermekte olup yapılan istatistiksel analizde birbirleriyle kuvvetli olarak ilişkili bulunmuştur ($p=0,00$). Progesteron pozitifliği genellikle ER pozitifliği ile birlikte olup ER negatif iken PR pozitifliği sadece 6 olguda (%6,1) izlenmiştir. Ancak tek başına PR immünreaktivitesi ile diğer çalışma parametrelerimiz ilişkisiz bulundu. Bu nedenle gerek adjuvan tedaviye yanıtın gerekse prognozun değerlendirilmesinde ER ve PR düzeylerinin, diğer parametrelerle birlikte değerlendirilmesinin daha iyi sonuç vereceğini düşünüyoruz. [14,102]

Genel grup içerisinde ER immünreaktivitesi ile yaş, taraf, kadran, metastaz, tümör tipi, grade, nm23 ve mikrodamar yoğunluğu (CD31 VE CD34 ile yapılan) ilişkisi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0,05$). Gasparini ve ark.'ı ile uyumlu olarak pozitiflik ve medyan değere göre incelendiğimizde ER immünreaktivitesi ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık ($p<0,05$).[47]

Ayrıca daha önce belirttiğimiz gibi MK ve NMK grubunda ER ve $VEGF_{121}$ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptadık. Östrojen bağımlı insan MCF-7 [79] ve androjen-regüle fare S115 [89] meme kanseri hücre dizilerinde yapılan çalışmalarda VEGF mRNA ekspresyonunun, östrojen ve androjenler ile indüklendiği ve bununda yeni kapiller oluşumuna katkıda bulunduğu dolayısıyla tümör büyümesini kolaylaştırdığı belirtilmiş ve meme kanser tedavi planı ve önlemede östrojen ve antiöstrojenlerin VEGF mRNA ekspresyonu üzerine etkilerinin değerlendirilmesi gereken önemli bir özellik olduğu vurgulanmıştır.[89] Çalışma verilerimiz bu savı desteklemektedir.

Genel grup içerisinde (MK+NMK) PR negatif 23 olguda aynı zamanda ER negatif ve 31 olguda düşük ER immünreaktivitesi saptandı. PR pozitifliği ER pozitifliği ve ER yoğunluğu ile korelasyon göstermekteydi ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Çalışmamızda genel grup içerisinde ER-PR ilişkisinin literatür verilerine paralel olarak, güçlü derecede ve pozitif yönlü olduğunu saptadık ($p<0,05$).

Çalışmamızda, MK olgularında ER immünreaktivitesi MLD'lerindeki ER immünreaktivitesi ile kuvvetli bir korelasyon göstermekteydi ($p=0,000$). ER negatif olan 6 MK olgusunun MLD 'lerinde pozitif boyanma izlenirken, ER pozitif olan 6 MK olgusunda ise MLD 'lerinde ER ile immünreaktivite izlenmedi. Yine MK olgularında PR

immünreaktivitesi MLD PR immünreaktivitesi ile pozitiflik ve medyan değerlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kuvvetli bir korelasyon saptandı (p=0,000). Pirimerinde pozitif iken metastatik lenf düğümünde negatif olan sadece 4 olgu vardı. Çalışmamızda, MK ve MLD' de hormon reseptör bulgularının birbirleriyle kuvvetli korelasyonu, metastatik lenf düğümlerindeki immünhistokimyasal bulguların güvenilir olduğunu desteklemesi nedeniyle önemlidir.

Ayrıca herhangi bir sebeple primer tümör örneği alınamayan hastalarda lenf düğümü tutulumunun değerlendirilmesi primer tümörü yansıtabilir ve daha yoğun bir tedavi gerektiren kötü prognozlu grubu tanımlamada yada endokrin tedaviye yanıt verecek olguların seçiminde faydalı olabilir. Bu bulgunun rutinde kullanılabilmesi için daha fazla sayıda çalışmaya gereksinim olduğunu düşünüyoruz.

Kadınlarda meme kanserine bağlı mortalite ve morbiditenin en büyük nedeni uzak metastazlardır.[51] Metastatik eğilimin önceden bilinebilmesi prognoz tayini ve tedavi seçiminde esas rehberdir. Tümör metastazı iyi regüle edilen çok basamaklı bir süreçtir.[51,60] Steeg ve ark.' ları metastatik proçesle yakından ilişkili olan bir gen (nm23) ailesi rapor ettiler [99] ve düşük metastaz potansiyeli ile yüksek nm23 ekspresyonu arasında ters bir korelasyon saptadılar.[68,100] nm23-H1 ve nm23-H2 olmak üzere 2 tane nm23 geni klonlandı. Her iki gende 17. Kromozomun uzun kolunda 21.3 bölgesinde yer alır ve genlerin ürünü nükleosid difosfat (NDP) kinaz A olarak belirlenmiştir.[66,67] nm23' ün biyolojik aktivasyonun moleküler mekanizması henüz bilinmemektedir fakat NDP kinaz aktivitesinden bağımsızdır.[51,67] Yapılan çalışmalarda insan meme karsinomlarında nm23 RNA ve protein ekspresyonu ile tümör metastazı arasında anlamlı bir ters korelasyon olduğu gösterildi [51,] ve azalmış nm23-H1ekspresyon düzeyi ve

lenf düğümü metastazı,[10,52,78,106] tümör grade [6,52] yada sağkalım [6,52] arasında korelasyon olduğu bildirildi.

Biz 98 olguda (NMK+MK) tümör dokusundaki nm23 immünreaktivitesini pozitiflik ve medyan değere göre değerlendirdik ve çalışma grubumuzdaki diğer parametrelerle ilişkisini araştırdık.

Çalışmamızda nm23 immünreaktivitesi; tümör çapı, yaş, menopozal durum, taraf, kadran, metastaz, tümör tipi, grade gibi bilinen prognostik parametrelerle istatistiksel olarak ilişkisiz bulunmuştur. Yine nm23 immünreaktivitesi her iki grupta da; ER, PR ve mikrodamar yoğunluğu ile ilişkisizdir. $VEGF_{121}$ ile ilişki göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamsızdır (p=0,057). Savano ve Kapranos'da çalışmalarında bu korelasyonu saptayamadıklarını bildirdiler.[58,91,92] Steeg ve Freije bu çelişkilerin kullanılan antikorlardaki farklılıklar yanısıra skorlamadaki değişiklerle ilişkili olabileceğini belirttiler.[12,46] Ayrıca Heimann ve arkadaşları yüksek MDS ve yoğun nm23 immünreaktivitesi saptadıkları olgularda belirgin bir hastalıksız sağkalım saptadılar ve metastaz için neovaskülarizasyonun gerekli bir ilk adım olduğunu ancak tek başında metastaz için yeterli olmadığını, mikrodamar yoğunluğu ve nm23 'ün birbirinden bağımsız olaylar olduğunu ve nm23'te mutasyon olmadan metastazın görülme ihtimalinin zayıf olduğunu bildirdiler.[51] Yine bizden farklı olarak tümör çapı ve diferansiasyon ile nm23 arasında ilişki bildirdiler.

Deneysel veriler tümör büyümesinin yeni kapiller damar oluşumuna, yani anjiyogenezise bağımlı olduğunu göstermektedir.[43] Hayvan modelleri metastatik potansiyeli olan tümörde anjiogenenezin ilişkisini göstermekte ve bu durumun insan tümörlerinde de geçerli olduğunu gösteren veriler vardır. Craft ve Harris anjiyogenezis sonuçlan ile klinik seyir arası

korelasyon bildiren çalışmaları toplamışlardır.[28] Devam eden çalışmada daha sonra mikrodamar sayısının lenf düğümü durumu, tümör büyüklüğü, ER durumu, S-fazı fraksiyonu, c-erbB-2 ekspresyonu, Ki67, EGFR ekspresyonu ve Katepsin D ile karşılaştırıldığında hastalıksız ve genel sağkalım açısından bağımsız bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir. Horak ve ark. tümör damar sayımı ile aksiller lenf düğümü tutulumu arasında sıkı bir korelasyon bulmuş, ancak ER durumu, EGFR, c-erbB-2 veya p53 ile ilişki saptamamışlardır.[53]

Kanserle ilgili hayvan modellerinde anjiogenezin derecesinin ve tümörün progresi ve sonucunu belirlediği izlenimi edilmektedir. Ayrıca herhangi bir sebeple lenf düğümü örneği alınmayan hastalarda anjiogenik sayımlar lenf düğümü pozitifliğinin yerini tutabilir ve daha yoğun bir tedavi gerektiren kötü prognozlu bir grubu tanımlayan bir bulgu olabilir. Yine bu sayımlar antianjiogenik ilaç tedavisi için uygun hastaların seçiminde faydalı olabilir.

Bu noktada ihtiyaç duyulan şey damar endotel hücreleri için duyarlı ve özgül işaretleyici bir maddedir.

Yapılan anjiogenezis çalışmaları ile tümör içi mikrodamar yoğunluğunun, meme karsinomları için bağımsız ve anlamlı bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir.[12,47,53,102,110,111,112] Bununla birlikte pekçok rapor anjiogenezisin değerini doğrulamaz ve anjiogenezisin önemini tayin etmede bir takım güçlükler ve problemlere dikkat çeker.[27,49,74,85]

Sonuçlardaki bazı değişiklikler, muhtemelen teknik yaklaşım ve damar işaretleyici olarak kullanılan antikor tipindeki değişiklerden dolayı olabilir. Bu antikorlardan: CD31; 'platelet endothelial cell adhesion molecule-1(PECAM-1)' olarak adlandırılır, kapiller endotelyal hücreler ve neoplazmdan oluşan endotelyal hücre belirtecidir.[45,53,62,81] CD34; 110kDa

ağırlığında endotelyal hücre belirleyicisi olan bir transmembran glikoproteindir.[50,70,75] FVIII; factor VIII-related antigen (von willebrand factor) 270 kDa ağırlığında multimerik bir glikoprotein yapısında endotelyal hücre belirleyicisidir.

Weidner ve ark.'ı Faktör VIII Ag ile değerlendirilen mikrodamar dansitesinin invaziv meme kanserinin metastatik kapasitesi ile korelasyon gösterdiğini bildirdiler.[112] Ne varki Faktör VIII Ag bütün endotel hücrelerinde mevcut değildir ve lenfatik endotel üzerinde de yer alır.[81] Yine bu çalışmada meme kanserindeki diğer prognostik markerler ve onkogenlerin hiçbiri değerlendirilmemiş ve anjiogenezin bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilememiştir.

Biz çalışmamızda tümör anjiogenezinin değerlendirilmesinde en sık kullanılan antikorlardan CD31 ve CD34 kullandık ve vasküler endotel hücrelerini spesifik olarak tespit etmede birbirleriyle korelasyonunu değerlendirdik. Ayrıca CD31 ve CD34 ile immünohistokimyasal olarak boyanan vasküler alanların, küçük damar sayımı yöntemi ile değerlendirerek, belirlenen mikrodamar yoğunluğunun; anjiogenik faktörlerden $VEGF_{121}$ ve prognostik faktörlerden östrojen reseptör, progesteron reseptör, anti-metastatik genlerden nm23 ekspresyonu ve tümörün histolojik tipi, nükleer grade, histolojik grade ve tümör çapı ile ilişkisini araştırdık.

Endotelyal hücreleri saptamak için CD34 ün daha sensitif bir belirteç olduğunu saptadık. Horak ve ark.[53] 'ı ve Toi ve ark.[104] 'ı endotelyal hücreleri saptamada CD31 in F-VIII related antijenden daha sensitif olduğunu saptadılar. Fakat Siitonen ve ark.'ı F-VIIIRag'in çok daha sensitif olduğunu bildirdiler.[95] Bizim çalışmamızla uyumsuz olarak Horak ve ark'ı endotelyal hücrelerin saptanmasında CD31' in CD34 ten çok daha sensitif

olduğunu saptadılar.[53] Gerçi ne kadar çok kesitin karşılaştırıldığı konusunda detay rapor edilmemişti. Bizim çalışmamızda; CD34 ile tüm gruplarda daha fazla damar saymamıza rağmen, CD31 ile CD34 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Boyamalar mikrodamarların sayısı konusunda çeşitlilikler göstermekle beraber CD34 ile CD31 arasındaki korelasyon oldukça kuvvetli idi. Ayrıca CD31 ile yangısal hücrelerin ve bazen bağ dokusunun da boyandığını saptadık.[70] Bu özellik endotelyal hücrelerin boyanmasını maskeleyebilir. Bu nedenle bizde Martin ve ark.'ıyla uyumlu olarak vasküler endotelyal hücrelerin saptanmasında CD34'ün daha sensitif bir marker olduğunu düşünüyoruz.[70]

Bizim çalışmamızda metastaz sayısı ile $VEGF_{121}$ şiddeti arasında ilişki saptandı. Fakat metastatik tümörle primer tümör arasında mikrodamar yoğunluğu açısından böyle bir ilişki saptanmadı. Yüksek vasküler sayım saptanan ancak lenf düğümleri negatif olan hastalar vardı. Lenf düğümü tutulumu olmayan hastalarda vasküler sayımın rolünü incelemek için geniş prospektif bir araştırma gerekmektedir. Ancak bu şekilde yüksek vasküler sayımla bu hastalardaki metastaz riski değerlendirilebilir

Lenf düğümü metastazının lenfatik kanallarla olduğu düşünülse de, bu durumun gelişmesi yine de sistemik metastaza ait bir bulgu olarak kabul edilir. Metastatik potansiyelin oluşumunda anjiogenezide içeren bir yolak söz konusudur,[53,85] vasküler sayımlarla lenf düğümü arasındaki ilişki bu durumla ilgili klinikopatolojik bilgi sağlamaktadır. ER prognozla ilgili olup meme kanserinin olumsuz özellikleri ile ilişkilidir. Son zamanlarda VEGF' ye ek olarak pek çok yeni vasküler büyüme faktörü tanımlanmıştır ve endotele spesifik olanların antagonizması metastazın yönetiminde yeni bir yaklaşım oluşturabilecek gibi görünmektedir.

Muhtemel koordine bir mekanizma ile bu reseptörlerin aktivasyonu yada diferansiasyonun deregülasyonu sonucunda anjiogenik faktörlerin

kontrollü salınımı olabilir. Çalışmamızdaki tümör çapı-ER, ER-VEGF, metastaz sayısı-VEGF arasında saptanan ilişkiler bunu desteklemektedir. Literatürdeki bulgular meme taramalarındaki başarı sebeplerinden birinin kritik sayıda damar oluşumundan önce tümörün saptanması olduğunu göstermektedir. Horak ve ark.'larının yaptığı bir seride 1 cm çaptan küçük tümörlerin ve evte I iyi diferansiye tümörlerin vasküler sayımları normal meme dokusu aralığında olduğu bildirdiler.[53] Bu vaskülarizasyon küçükken saptanan tümörlerdeki düşük metastaz hızını açıklayabilir.[53,94,101] Ancak biz çalışmamızda tümör dokusunda vaküler sayımı normal meme dokusundan belirgin olarak yüksek saptamamıza rağmen, mikrodamar yoğunluğu ile lenf düğümü metastazı arasında anlamlı bir ilişki bulamadık. Metastatik lenf düğümlerindeki vasküler sayımlar da primer tümöründen yüksek olmasında rağmen, aralarındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamsızdı. Çalışmamızda NMK grubunda tümör çapı ortalama 2 cm ve üzerindedir. NMK, MK ve MLD 'lerinde mikrodamar yoğunlukları birbirlerine yakın aralıklarda olup aralarındaki ilişki istatistiksel olarak anlamsızdır. Tümör boyutu arttıkça lenf düğümü tutulumundan bağımsız olarak vasküler sayımında arttığını ancak vaskülarizasyon eşiği aşıldıktan sonra metastaz frekansının zamana bağımlı gelişebileceğini düşünüyoruz.

Meme kanserinde prognozu belirleyen bir çok parametrenin önemi vurgulanmaktadır. Hedef ise sistemik adjuvan tedavi uygulanmaksızın memeyi korumaya yönelik uygun şekilde tedavi edilebilecek hastaları seçebilmek ve bu grubun dışında kalan hastalarda da, en iyi sonucu verebilecek lokal-bölgesel kontrol ve sistemik tedavi şeklinin belirlenebilmesidir. Hastalığın sistemik kontrolü için adjuvan olarak eklenen kemoterapiye veya endokrin tedaviye yanıt verecek olguların

seçimi, tedavi sistemlerinin morbidite-mortalite riskini minimalize edebilmek ve rasyonel sonuçlara ulaşabilmek açısından önemli ilk noktadır.

Amaç malign fenotipi karakterize etmede tedavi ile doğrudan ilişkili güvenilir parametreler bulmaktır. Bu sayede yoğun terapi gereksinimi olan olgular ayırdedilebilir. Hedef tümörlerin fenotip ve genotip özelliklerine göre hastalarda bireysel tedavi uygulamaları olmalıdır.

SONUÇLAR

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı rutin ve immünohistokimya laboratuvarlarında yapılmıştır.

Çalışmaya retrospektif olarak 1997-2001 yılları arasında anabilim dalımıza gelen, primer meme karsinomu nedeniyle opere edilmiş, 98 olguya ait radikal mastektomi ve lenf düğümü diseksiyonu materyalleri dahil edilmiştir. Çalışamamızda, 41 tane metastazsız primer meme karsinomu (NMK) ile 57 tane aksiller lenf düğümü metastazlı primer meme karsinomu (MK) ve bunların metastatik lenf düğümleri (MLD) incelenmiştir.

Çalışmamızda tedavi şeklinin belirlenmesinde önem taşıyan prognostik parametreleri tüm varyasyonlarda irdeleyerek, aralarındaki ilişkinin gücünü ve yönünü saptadık.

Çalışmamızda yapılan istatistiksel analizde yaş ile grade, tümör tipi, lenf düğümü metastazı ve çalışma grubumuzdaki diğer parametreler ilişkisiz olarak bulunmuştur. Yaş ile ER arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptamamıza rağmen , PR ile anlamlı bir ilişkinin olmadığı görülmüştür.

NMK olgularının 23 tanesi sağ memede, 18 tanesi sol memede izlenmiştir. MK olgularının 29 sağ meme, 28 sol memededir. Genel grup içerisinde 52 olguda (%53,1) tümör sağ memededir. Her iki grup içerisinde de tümör sıklıkla üst dış kadran (%64,9) yerleşimli olup yapılan istatistiksel analizde NMK ve MK olgularında tümör taraf ve kadranla ilişkili bulunmamıştır ($p>0,005$).

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak çap ile metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p<0,05$). Ayrıca lenf düğümü sayısı ile tümör çapı ilişkisini araştırdığımızda aralarında anlamlı bir ilişki saptadık. Tümör çapı arttıkça metastatik lenf düğümü sayısında da artış tespit edildi. 2cm'nin altındaki MK olgularında metastatik lenf düğümü sayısı bu çap üzerindeki olgulardan daha düşük idi ($p=0,035$).

Primer tümör çapı ile ER ve PR ilişkisi az irdelenmiş konulardan biridir. Bizim çalışmamızda genel grup içerisinde tümör çapı ile ER pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ters bir ilişki saptanmıştır ($p<0,05$). Tümör çapı <2cm olan 39 olgudan 32' sinde ER reseptörü pozitif ve bunlarında 23 tanesinde ER pozitifliği şiddetli derecede izlenirken, tümör çapı >2cm olan 52 olgudan 37 'sinde ER immünreaktivitesi görülmemiştir. Bulgularımız ER ile çap arasında anlamlı ve ters bir ilişki olduğunu göstermiştir. Fakat genel grupta PR pozitifliği ER ile ilişkili olmasında rağmen tümör çapı ile PR arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda 98 olguluk genel grup (NMK+MK) içerisinde 52 olgu (53,1) invaziv duktal karsinom, 16 olgu (%16,3) kombine tip, 7 olgu (%7,1) intraduktal komponenti baskın invaziv duktal karsinom' dur ve 18 olgu (%23,5) diğer tiplerden oluşmaktadır. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak en sık invaziv duktal karsinomu izledik ancak histolojik ve nükleer grade ile gruplar arası ilişki istatistiksel olarak anlamsızdı.

Meme kanserlerinde en önemli prognostik faktörlerden biride aksiller lenf düğümlerinin durumudur. Çalışmamızda NMK grubunda ortalama 20 adet reaktif aksiller lenf düğümü diseksiyonu saptandı. En

fazla level II' de sonra sırasıyla I ve III 'te izlendi. MK olgularında reaktif lenf düğümleri en fazla level I'den diseke edildi. MK olgularında metastatik lenf düğümü sayısı ile aksiller seviyeyi karşılaştırdığımızda, ortalama 8 lenf düğümünde metastaz saptandı, bunlarda en fazla level-I ' bölgesinde izlendi. Pozitif lenf düğümü sayısı çapla ilişkili olarak bulundu ($p<0,05$). Metastatik lenf düğümü sayısı 4 ve üzerinde olan 31 MK olgusunun (%70,4) 19 tanesinde aynı zamanda yüksek VEGF (>%70) immünreaktivitesi saptanmıştır. MLD sayısı 4'ün altında olan olgulardan sadece 8'inde yüksek VEGF pozitifliği görülmüştür. Yapılan istatistiksel analizde bu ilişki anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$)

Çalışmamızda 52 İDK olgusunun 29'unda yüksek $VEGF_{121}$ immünreaktivitesi saptanırken, 9 olguda VEGF boyanması %10 'un altında idi. NMK ve MK gruplarında VEGF skoru birbirleriyle istatistiksel olarak anlamsız bir ilişki gösterirken, metastatik lenf düğümlerinde VEGF skoru MK 'lardan daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermektedir ($p=0,000$). VEGF ortanca değeri ile metastatik lenf düğümü sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık ($P<0,05$) Pozitif lenf düğümü sayısı >3 olan tümörlerde yüksek VEGF immünreaktivitesi saptandı. VEGF boyanması nm23 ile ilişkili bulunmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamsızdır ($p=0,057$). MK grubunda VEGF immünreaktivitesi ile ER arasında istatistiksel olarak anlamlı ters bir ilişki saptandı ($p<0,05$). VEGF pozitif olan 42 olgunun 19 'unda ER negatif idi. NMK grubunda ise bu ilişki aynı yönde saptandı. ER negatif olan 9 NMK olgusunun 8 tanesinde VEGF düşük derecede boyanma gösterdi (<%70)($p<0,05$). VEGF immünreaktivitesi ile CD31 ve CD34 antikorları ile saptanan tümör mikrodamar yoğunluğun arasında (hot spot, 5 alan ve 10 büyük büyütme alanlarında) anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda ER reaktivitesi medyan değere (M±50)göre değerlendirildiğinde nonmetastatik grupta ER pozitifliği daha kuvvetli olarak bulunmuştur. NMK grubunda ER ortanca değer 60, MK grubunda 30, MLD'lerinde 50 dir. NMK ve MK grubunda ER immünreaktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı zayıf bir ilişki saptadık (p=0,047). Genel grupta ER immünreaktivitesi PR ile korelasyon göstermekte olup yapılan istatistiksel analizde birbirleriyle kuvvetli olarak ilişkili bulunmuştur (p=0,00). Progesteron pozitifliği genellikle ER pozifliği ile birlikte olup ER negatif iken PR pozitifliği sadece 6 olguda(%6,1) izlenmiştir. Ancak tek başına PR immünreaktivitesi ile diğer çalışma parametrelerimiz ilişkisiz bulundu. Genel grup içerisinde ER immünreaktivitesi ile taraf, kadran, metastaz, tümör tipi, grade, nm23 ve mikrodamar yoğunluğu (CD31 VE CD34 ile yapılan) ilişkisi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (p>0,05). Pozitiflik ve medyan değere göre incelendiğimizde ER immünreaktivitesi ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık (p<0,05). Yaş ile ER arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptamamıza rağmen, PR ile anlamlı bir ilişkinin olmadığı görülmüştür.

Ayrıca MK ve NMK grubunda ER ve $VEGF_{121}$ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptadık. Genel grup içerisinde (MK+NMK) PR negatif 23 olguda aynı zamanda ER negatif ve 31 olguda düşük ER immünreaktivitesi saptandı. PR pozitifliği ER pozitifliği ve ER yoğunluğu ile korelasyon göstermekteydi ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,05). Çalışmamızda genel grup içerisinde ER-PR ilişkisinin güçlü derecede ve pozitif yönlü olduğunu saptadık.

Çalışmamızda, MK olgularında ER immünreaktivitesi MLD'lerindeki ER immünreaktivitesi ile kuvvetli bir korelasyon göstermekteydi (p=0,000). Yine MK olgularında PR immünreaktivitesi MLD PR immünreaktivitesi ile pozitiflik ve medyan değerlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kuvvetli bir korelasyon saptandı (p=0,000). Pirimerinde pozitif iken metastatik lenf düğümünde negatif olan sadece 4 olgu vardı.

Çalışmamızda nm23 immünreaktivitesi; tümör çapı, yaş, menopozal durum, taraf, kadran, metastaz, tümör tipi, grade gibi bilinen prognostik parametrelerle istatistiksel olarak ilişkisiz bulunmuştur. Yine nm23 immünreaktivitesi her iki grupta da; ER, PR ve mikrodamar yoğunluğu ile ilişkisizdir. VEGF ile ilişki göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamsızdır (p=0,057).

Çalışmamızda tümör mikrodamar sayısını belirlemede CD31 ve CD34 antikorlarını kullandık ve vasküler endotel hücrelerini spesifik olarak tespit etmede birbirleriyle korelasyonunu değerlendirdik. Ayrıca belirlenen mikrodamar yoğunluğunun; anjiogenik faktörlerden $VEGF_{121}$ ve prognostik faktörlerden östrojen reseptör, progesteron reseptör, anti-metastatik genlerden nm23 ekspresyonu ve tümörün histolojik tipi, nükleer grade, histolojik grade ve tümör çapı ile ilişkisini araştırdık.

Çalışmamızda; CD34 ile tüm gruplarda daha fazla damar saymamıza rağmen, CD31 ile CD34 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Boyamalar mikrodamarların sayısı konusunda çeşitlilikler göstermekle beraber CD34 ile CD31 arasındaki korelasyon oldukça kuvvetli idi. Ayrıca CD31 ile inflamatuar hücrelerin ve bazen bağ dokusunun da boyandığını saptadık.

Bizim çalışmamızda metastaz sayısı ile $VEGF_{121}$ şiddeti arasında ilişki saptandı. Fakat metastatik tümörle primer tümör arasında mikrodamar yoğunluğu açısından böyle bir ilişki saptanmadı. Yüksek vasküler sayım saptanan ancak lenf düğümleri negatif olan hastalar vardı. Çalışmamızda tümör dokusunda vasküler sayımı normal meme dokusundan belirgin olarak yüksek saptamamıza rağmen, mikrodamar yoğunluğu ile lenf düğümü metastazı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Metastatik lenf düğümlerindeki vasküler sayımlar da primer tümöründen yüksek olmasında rağmen, aralarındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamsızdı. NMK, MK ve MLD 'lerinde mikrodamar yoğunlukları birbirlerine yakın aralıklarda olup aralarındaki ilişki istatistiksel olarak anlamsızdır.

ÖZET

Meme kanseri kadınlarda kansere bağlı ölümlerde ilk sırada yeralmaktadır. Meme kanserinde prognozu belirleyen bir çok parametrenin önemi vurgulanmaktadır. Hedef ise sistemik adjuvan tedavi uygulanmaksızın memeyi korumaya yönelik uygun şekilde tedavi edilebilecek hastaları seçebilmek ve bu grubun dışında kalan hastalarda da, en iyi sonucu verebilecek lokal-bölgesel kontrol ve sistemik tedavi şeklinin belirlenebilmesidir.

Tedaviye yanıt verecek olguların seçimi, tedavi sistemlerinin morbidite-mortalite riskini minimalize edebilmek ve rasyonel sonuçlara ulaşabilmek açısından önemlidir. Günümüzde bu amaca yönelik olarak, daha objektif parametre arayışları halen üzerinde yoğun olarak çalışılan konulardan biridir. Anjiogenik sayımlar daha yoğun bir tedavi gerektiren kötü prognozlu grubu tanımlayan bir bulgu olabilir. Yine bu sayımlar antianjiogenik ilaç tedavisi için uygun hastaların seçiminde faydalı olabilir.

Bu çalışmada geniş bir seride, primer meme karsinomları ve metastatik lenf düğümlerinde endotelyal hücre belirteçlerinden CD31 ve CD34 ile immünohistokimyasal olarak boyanan vasküler alanların, küçük damar sayımı yöntemi ile değerlendirilmesi, belirlenen mikrodamar yoğunluğunun; anjiogenik faktörlerden VEGF ve prognostik faktörlerden östrojen reseptör, progesteron reseptör, anti-metastatik genlerden nm23 ekspresyonu ve tümörün histolojik tipi, nükleer grade, histolojik grade ve tümör çapı ile ilişkisi araştırıldı.

Genel gurup içerisinde 52 olguda (%53,1) tümör sağ memede ve her iki gurup içerisinde de sıklıkla üst dış kadran (%64,9) yerleşimlidir.

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak en sık invaziv duktal karsinomu izledik.

Ayrıca lenf düğümü sayısı ile tümör çapı ilişkisini araştırdığımızda aralarında anlamlı bir ilişki saptadık (p=0,035).

Çalışmamızda genel grup içerisinde tümör çapı ile ER pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ters bir ilişki saptanmıştır (p<0,05).

Nonmetastatik karsinom grubunda ortalama 20 adet reaktif aksiller lenf düğümü diseksiyonu saptandı. En fazla level II' de sonra sırasıyla I ve III 'te izlendi.

Metastatik lenf düğümü sayısı ile aksiller seviyeyi karşılaştırdığımızda, ortalama 8 lenf düğümünde metastaz saptandı, bunlarda en fazla level-I ' bölgesinde izlendi.

Metastatik lenf düğümlerinde VEGF skoru metastatik karsinomlardan daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermektedir (p=0,000).

Metastatik karsinom olgularında, VEGF medyan değeri ile metastatik lenf düğümü sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık (P<0,05).

Metastatik karsinom grubunda VEGF immünreaktivitesi ile ER arasında istatistiksel olarak anlamlı ters bir ilişki saptandı (p<0,05). Nonmetastatik karsinom grubunda ise aynı yönde bir ilişki saptandı.

Nonmetastatik ve metastatik karsinomlardan oluşan genel grup içerisinde, VEGF immünreaktivitesi ile CD31 ve CD34 antikorları ile

saptanan tümör mikrodamar yoğunluğun arasında (hot spot, 5 alan ve 10 büyük büyütme alanlarında) anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Nonmetastatik karsinom ile metastatik karsinom arasında ER immünreaktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı zayıf bir ilişki saptadık (p=0,047). Her iki grupta ER immünreaktivitesi PR ile korelasyon göstermekte olup yapılan istatistiksel analizde birbirleriyle kuvvetli olarak ilişkili bulunmuştur (p=0,00).

Genel grupta, pozitiflik ve medyan değere göre incelendiğimizde ER immünreaktivitesi ile tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık (p<0,05).

Ayrıca metastatik karsinom ve nonmetastatik karsinom grubunda ER ve VEGF arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptadık.

Çalışmamızda, metastatik karsinom olgularında ER immünreaktivitesi metastatik lenf düğümlerindeki ER immünreaktivitesi ile kuvvetli bir korelasyon göstermekteydi (p=0,000). Yine metastatik karsinom olgularında PR immünreaktivitesi metastatik lenf düğümleri PR immünreaktivitesi ile pozitiflik ve medyan değerlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı kuvvetli bir korelasyon saptandı (p=0,000). Primerinde pozitif iken metastatik lenf düğümünde negatif olan sadece 4 olgu vardı.

Bizim çalışmamızda metastatik karsinom olgularında metastaz sayısı ile VEGF şiddeti arasında ilişki saptandı. Fakat metastatik tümörle primer tümör arasında mikrodamar yoğunluğu açısından böyle bir ilişki saptanmadı.

NMK, MK ve MLD 'lerinde mikrodamar yoğunlukları birbirlerine yakın aralıklarda olup aralarındaki ilişki istatistiksel olarak anlamsızdır.

KAYNAKLAR

1. Acherman's surgical pathology. Eigth edition. Copyright, 1996 by Mosby Year Book, Inc.

2. Adair F, Berg J, Joubert L Longterm follow up breast cancer patients: the thirty year report,Cancer 33:1145, 1974

3. Albian KS, Allre KC, Clark CM Breast cancer outcome and predictrors of outcome are there age differentials? J Natl Cancer Inst Monogr 16:35,1994.

4. Andersen J, Thorpe SM, King WL, et al: The prognostic value of immunohistochemical estrogen receptor analysis in paraffin embedded and frozen sections versus that of steroid binding assays. Eur J Cancer 26:442,1990

5. Axelsson K, Ljung BM, Moore DH 2nd, Thor AD, Chew KL, Edgerton SM, Smith HS, Mayall BH. Tumor angiogenesis as a prognostic assay for invasive ductal breast carcinoma J Natl Cancer Inst. 1995 Jul 5;87(13):997-1008.

6. Barnes R, Masood S, Barker E, Rosengard AM, Coggin DL, Crowell T, King CR, Porter-Jordan K, Wargotz ES, Liotta LA, et al. Low nm23 protein expression in infiltrating ductal breast carcinomas correlates with reduced patient survival. Am J Pathol. 1991 Aug;139(2):245-50.

7. Berger U, Wilson P, Thethi S, et al: Comparidon of an immunocytochemical assay for proggesterone receptor with a biochemical methed of measurement and immunocytochemical examination of the relationship between progesterone and estrogen receptors. Cancer Rec 49:5176,1989

8. Berkson Js, Harrington SW, Clagett OT, et al. Relationship of estrogen receptor status to survival in breast cancer. Lancet 2:283-287

9. Berse B, Brown LF, Van de Water L, Dvorak HF, Senger DR. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. Mol Biol Cell. 1992 Feb;3(2):211-20.

10. Bevilacqua G, Sobel ME, Liotta LA, Steeg PS. Association of low nm23 RNA levels in human primary infiltrating ductal breast carcinomas with lymph node involvement and other histopathological indicators of high metastatic potential. Cancer Res. 1989 Sep 15;49(18):5185-90.

11. Blood CH, Zetter BR. Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. Biochim Biophys Acta. 1990 Jun 1;1032(1):89-118.

12. Bosari S, Lee AK, DeLellis RA, Wiley BD, Heatley GJ, Silverman ML. Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. Hum Pathol. 1992 Jul;23(7):755-61.

13. Bozcuk H, Uslu G, Peştereli E, Samur M, Ozdoğan M, Karaveli Ş. Predictors of distant metastasis at presentation in breast cancer; a study also evaluating accociations among biological indicators. Breast cancer research and treatment 2001(10):2075-01

14. Bredar B, Graf D, Padovan R et al Ertogen and progesterone receptors as prognostic factors in breast cancer. 45-52,1988

15. Breast. Manual for staging cancer. Am joint commitee on cancer. 1988,pp:145-159.

16. Breier G, Albrecht U, Sterrer S, Risau W. Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation. Development. 1992 Feb;114(2):521-32.

17. Breier G. Angiogenesis in embryonic development--a review. Placenta. 2000 Mar-Apr;21 Suppl A:S11-5. Review.

18. Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF, Senger DR, Connolly JL, Schnitt SJ. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. Hum Pathol. 1995 Jan;26(1):86-91.

19. Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Dvorak HF, Senger DR. Increased expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in kidney and bladder carcinomas. Am J Pathol. 1993 Nov;143(5):1255-62.

20. Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. Cancer Res. 1993 Oct 1;53(19):4727-35.

21. Carbone PP : Options in breast cancer theraphy. Hosp pract. 1:53-55,1981.

22. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. Cancer. 1989 Jan 1;63(1):181-7.

23. Chamness GL. Estrogen inducible heat shock protein hsp 27 predicts recurrence in noce negative breast cancer Proc Am Assoc. Cancer Res 30:252-257,1989.

24. Chevallier B, heintzman F, Mosseri V, et al. Prognostic value of estogen and progesterone receptors in operable breast cancer. Cancer 62:2517-2524,1988

25. Clark GM, McGuire WL. Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. Semin onc ol 15:20,1988

26. Connolly DT, Heuvelman DM, Nelson R, Olander JV, Eppley BL, Delfino JJ, Siegel NR, Leimgruber RM, Feder J. Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. J Clin Invest. 1989 Nov;84(5):1470-8.

27. Costello P, McCann A, Carney DN, Dervan PA. Prognostic significance of microvessel density in lymph node negative breast carcinoma. Hum Pathol. 1995 Nov;26(11):1181-4.

28. Craft PS, Harris AL, Clinical prognostic significance of tumor angiogenesis. Ann oncol 5:305,1994.

29. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. Am J Pathol. 1995 May; 146(5):1029-39.

30. Fernö M, Borg A, Johanson U. Estrogen and progesterone Receptor anlyses in more than 4000 human breast cancer samples. Acta Oncolohica 29(2):129-135, 1990.

31. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, Powell-Braxton L, Hillan KJ, Moore MW. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. Nature. 1996 Apr 4;380(6573):439-42.

32. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocr Rev. 1997 Feb;18(1):4-25.

33. Figusch AJ, Putten JV, Blankenstein MA. The prognostic value and relationships of patient charactreistics estrogen vand progestin receptors and site of relapse in primary breast cancer. Cancer 61:758-768,1988.

34. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, Redmond CK, Fisher ER, Cruz AB, Foster R, Gardner B, Lerner H, Margolese R, et al. Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update. Cancer. 1983 Nov 1;52(9):1551-7.

35. Fisher B, Costantino J, Redmond C, Poisson R, Bowman D, Couture J, Dimitrov NV, Wolmark N, Wickerham DL, Fisher ER, et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors.

36. Fisher B, Slack NH, Bross ID. Cancer of the breast: size of neoplasm and prognosis. Cancer. 1969 Nov;24(5):1071-80.

37. Fisher B, wolmark N, Redmond C. Et al. Findings from NSABP protocol no:B-04. Cancer 48:1863-1870, 1981

38. Fisher ER, Gregoriao RM, Fisher B, et al. The pathology of invasive breast cancer. Cancer 36:1,1975.

39. Folkman J. Tumor angiogenesis. *Cancer Res* 1985;43:175-203

40. Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol* 1992 Apr;3(2):65-71

41. Folkman J. Tumor angiogenesis. The Molecular Basis of Cancer , pp. 206-224.

42. Folkman J. Clinical appliecation of research on angiogenesis N. Engl. J. Med., 333:1757-1763, 1995.

43. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J Natl Cancer Inst. 1990 Jan 3;82(1):4-6. No abstract available.

44. Fox SB, Gatter KC, Harris AL Tumour angiogenesis. J Pathol. 1996 Jul;179(3):232-7.

45. Fox SB, Leek RD, Smith K, Hollyer J, Greenall M, Harris AL. Tumor angiogenesis in node –negative breast carcinomas relationship with epidermal growth factor receptor, estrogen receptor, and survival. Breast Cancer Res Treat 1994;29:106-16

46. Freije JMP, MacDonald NJ, Steeg PS, et al. Differantial gene expression in tumor metastasis: nm23 Curr. Top. Microbiol. İmmunol. 213:215-232,1996.

47. Gasparini G, Weidner N, Bevilacqua P, Maluta S, Dalla Palma P, Caffo O, Barbareschi M, Boracchi P, Marubini E, Pozza F. Tumor microvessel density, p53 expression, tumor size, and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant prognostic markers in node-negative breast carcinoma. J Clin Oncol. 1994 Mar;12(3):454-66.

48. Gasparini G. Prognostic value of vascular endothelial growth factor in breast cancer. Oncologist. 2000;5 Suppl 1:37-44.)

49. Goulding H, Abdul Rashid NF, Robertson JF, Bell JA, Elston CW, Blamey RW, Ellis IO. Assessment of angiogenesis in breast carcinoma: an important factor in prognosis? Hum Pathol. 1995 Nov;26(11):1196-200.

50. Hansen S, Grabau DA, Rose C, Bak M, Sorensen FB Angiogenesis in breast cancer: a comparative study of the observer variability of methods

for determining microvessel density. *Lab Invest* 1998 Dec;78(12):1563-73

51. Heimann R, Ferguson DJ, Hellman S. The relationship between nm23, angiogenesis, and the metastatic proclivity of node-negative breast cancer. Cancer Res. 1998 Jul 1;58(13):2766-71.

52. Hennessy C, Henry JA, May FE, Westley BR, Angus B, Lennard TW. Expression of the antimetastatic gene nm23 in human breast cancer: an association with good prognosis. J Natl Cancer Inst. 1991 Feb 20;83(4):281-5.

53. Horak ER, Leek R, Klenk N, LeJeune S, Smith K, Stuart N, Greenall M, Stepniewska K, Harris AL. Angiogenesis, assessed by platelet/endothelial cell adhesion molecule antibodies, as indicator of node metastases and survival in breast cancer. Lancet. 1992 Nov 7;340(8828):1120-4.

54. Host H, Lund E. Age as a prognostic factor in breast cancer. Cancer. 1986 Jun 1;57(11):2217-21.

55. Hurter RVP. The influence of pathologic factors on breast cancer management. Cancer 46: 961-976,1980.

56. Jackson MR, Carney EW, Lye SJ, Ritchie JW. Localization of two angiogenic growth factors (PDECGF and VEGF) in human placentae throughout gestation. Placenta. 1994 Jun;15(4):341-53.

57. Jiang SY, JordanVC. Growth regulation of estrogen reseptor-negative breast cancer cells transtected with complementary ANAs for estrogen reseptor. Journal of National Cancer Instute. 84(8):580-591,1992.

58. Kapranos N, karaiossifidi H, et al. Nm23 expression in breast ductal carcinomas: a ten year follow up in a uniform group of node negative breast cancer patients. Anticancer res. 16:3987-3990,1996.

59. Kinsel LB, Szabo E, Greene GL, et al: Immunocytochemical analysis of estrogen receptors as a predictor of prognosis in breast cancer patients: comparison with quantitative biochemical methods. Cancer Res 49:1052,1989

60. Kohn EC, Liotta LA. Invasion and metastasis: new approaches to an old problem. Oncology (Huntingt). 1993 Apr;7(4):47-52; discussion 52, 57, 60-2.

61. Koscielny D, Tubiana M, Le M et al. Breast cancer : relationship between the size of the primary tumor and the probability of metastatic dissemination. Br j Cancer 49:709,1984

62. Kuzu I, Bicknell R, Harris AL, Jones M, Gatter KC, Mason CY. Heterogeneity of vascular andothelial cells with relevance to diagnosis of vascular tumors. J Clin Pathol 1992;45:143-8

63. Landgren E, Schiller P, Cao Y, Claesson-Welsh L. Placenta growth factor stimulates MAP kinase and mitogenicity but not phospholipase C-gamma and migration of endothelial cells expressing Flt . Oncogene. 1998 Jan 22;16(3):359-67.

64. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1998. CA Cancer J Clin. 1998 Jan-Feb;48(1):6-29.

65. Leone A, Flatow U, VanHoutte K, et al. A serine phosphorylation of nm23, and not its nucleoside diphosphate kinase activity, correlates with suppression of tumor metastatic potential. J Biol Chem 34:25780-25789,1993.

66. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevebseb WG. Cancer metastasis and angigenesis: an imbalance of positive and negative regulation. Cell 1991;64:327-336

67. MacDonald NJ, De la Rosa A, Benedict MA, Freije JM, Krutsch H, Steeg PS. A serine phosphorylation of Nm23, and not its nucleoside diphosphate kinase activity, correlates with suppression of tumor metastatic potential. J Biol Chem. 1993 Dec 5;268(34):25780-9.

68. MacDonald NJ, de la Rosa A, Steeg PS. The potential roles of nm23 in cancer metastasis and cellular differentiation. Eur J Cancer. 1995 Jul-Aug;31A(7-8):1096-100. Review.

69. Mambo NC, Gallager HS, Carcinoma of the breast. The prognostic significance of extranodal extension of axillary disase. Cancer 39:2280-2285,1977.

70. Martin L, Green B, Renshaw C, Lowe D, Rudland P, Leinster SJ, Winstanley J Examining the technique of angiogenesis assessment in invasive breast cancer. *Br J Cancer* 1997;76(8):1046-54

71. McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer. N Engl J Med. 1992 Jun 25;326(26):1756-61.

72. Mittra I, MacRae KD. A meta-analysis of reported correlations between prognostic factors in breast cancer: does axillary lymph node metastasis represent biology or chronology? Eur J Cancer 1991;27(12):1574-83

73. Montgomery ACV, Mc Clelland RA, Skilton RA. Risk factors and clinical data related to estrogen receptor status in women preseting with breast cancer. Br J Surg. 72:629-633,1985

74 Morphopoulos G, Pearson M, Ryder WD, Howell A, Harris M. Tumour angiogenesis as a prognostic marker in infiltrating lobular carcinoma of the breast. J Pathol. 1996 Sep;180(1):44-9.

75 Nakamura G, Arita S, Tanaka K, Hioki K, Tsubura A, Shikata Correlation between microvessel density and tumor cell proliferation with clinical factors in breast carcinomas. *Oncol Rep* 1999 Sep-Oct;6(5):1023-7

76 Nicosia RF. What is the role of vascular endothelial growth factor-related molecules in tumor angiogenesis? Am J Pathol. 1998 Jul;153(1):11-6.

77 Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, Connolly JL, Schnitt S, Abner A, Recht A, Vicini F, Harris JR. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. J Clin Oncol. 1994 May;12(5):888-94.

78 Okubo T, Inokuma S, Takeda S, Itoyama S, Kinoshita K, Sugawara I. Expression of nm23-H1 gene product in thyroid, ovary, and breast cancers. Cell Biophys. 1995 Jun;26(3):205-13.

79 Osborne CK, Hobbs K, Trent JM. Biological differences among MCF-7 human breast cancer cell lines from different laboratories. Breast Cancer Res Treat. 1987;9(2):111-21.

80 Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1997. CA Cancer J Clin. 1997 Jan-Feb;47(1):5-27. No abstract available

81 Parums DV,Cordel JL, Micklem K, Heryet AR, Gatter KC, Mason DY. JC 70: anew monoclonal antibody that detects vascular endothelium associated antigen on routinely processed tissue sections. J Clin Pathol 1990;43;572-7.

82 Paweletz N, Knierim M Tumor-related angiogenesis. Crit Rev Oncol Hematol. 1989;9(3):197-242.

83. Ravdin PM, De Laurentiis M, Vendely T, Clark GM. Prediction of axillary lymph node status in breast cancer patients by use of prognostic indicators. J Natl Cancer Inst. 1994 Dec 7;86(23):1771-5.

84. Reiner A, Rainer G, Spona J, et al. Histopathologic characterization of human breast cancer in correlation with wstrogen receptor status. A comparison of immunosytochemical and biochemical analysis. Cancer 61:1149-1154,1988

85. Robins pathologic basis of disease, sixth edition. Copyright, 1999 by W.B. Saunders Company.

86. Rosen P, Groshen S, Siago P, et al. Long term follow-up stage I and Stage II breast carsinoma. J Clin Oncol 7:335,1989

87. Rosengard MA, Krutzsch HC, Shearn A, et al. Nm23/awd protein in tumor metastasis and aberrant drosphila development. Nature (lond) 342:177-180,1989.

88. Royds JA, Stephenson TJ, Rees RC, Shorthouse AJ, Silcocks PB. Nm23 protein expression in ductal in situ and invasive human breast carcinoma J Natl Cancer Inst. 1993 May 5;85(9):727-31.

89. Ruohola JK, Valve EM, Karkkainen MJ, Joukov V, Alitalo K, Harkonen PL. Vascular endothelial growth factors are differentially regulated by steroid hormones and antiestrogens in breast cancer cells. Mol Cell Endocrinol. 1999 Mar 25;149(1-2):29-40.

90. Salven P, Lymboussaki A, Heikkila P, Jaaskela-Saari H, Enholm B, Aase K, von Euler G, Eriksson U, Alitalo K, Joensuu H. Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C are expressed in human tumors. Am J Pathol. 1998 Jul;153(1):103-8.

91. Sastre-Garau X, Lacomge ML, Jouve M, et al. Nucleoside diphosphate kinase/nm23 expression in breast cancer: lack of correlation with lymph node metastasis. Int J Cancer 50:533-538,1992

92. Sawan A, Lascu I, Veron M, et al. NDP-K/nm23 expression in human breast cancer in relation to relapse survival and other prognostic factors: an Immunohistochemical study. J Pathol. 172:27-34,1994

93. Senger DR, Van de Water L, Brown LF, Nagy JA, Yeo KT, Yeo TK, Berse B, Jackman RW, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology. Cancer Metastasis Rev. 1993 Sep;12(3-4):303-24. Review

94. Schimedt JG, Natural history of breast cancer. Lancet 1992; 810

95. Sitonen SM, Haapasalo Hk, Rantala IS,et al. Comparison of different immunohistological methods in the assesment of angiogenesis: lack of prognostic value in a group of 77 selected node negative breast carcinomas. Mod Pathol. 7:745-752.

96. Smith JA, Gamez-Araujo J,Gallager HS, et al: Carcinoma of thebreast. Analysis of total lymph node involvement versus level of metastases. Cancer 39:527-532

97. Stahl JA, Leone A., et al. Identification of a second nm23 gene, nm23-H2. Cancer Res., 51:445-449,1992.

98. Steeg P, Bevilacqua G, Kopper L, et al: Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. J Natl Cancer Inst 80:200,1988.

99. Steeg PS, Cohn KH, Leone A. Tumor metastasis and nm23: current concepts. Cancer Cells. 1991 Jul;3(7):257-62.

100. Steeg PS, de la Rosa A, Flatow U, MacDonald NJ, Benedict M, Leone A. Nm23 and breast cancer metastasis. Breast Cancer Res Treat. 1993;25(2):175-87.

101. Tabar L, Fagerberg G, Day NE, et al: Breast cancer treatment and natural history: new insights from results of screening. Lancet 1992; 339:412-14

102. Tavassoli Fattaneh A. Pathology of the breast. Second edition, copyright, 1992 Appleton&Lange

103. Thorpe SM, Rose C, et al. Prognostic value of steroid hormone receptors. Cancer Res. 47:6126-6133,1987

104. Toi M, Kashitani J, Tomigana K. Tumor angiogenesis is an independent prognostic indicator of primary breast carcinoma. Int J Cancer 55:371-374.

105. Toi M, Kondo S, Suzuki H, Yamamoto Y, Inada K, Imazawa T, Taniguchi T, Tominaga T. Quantitative analysis of vascular endothelial growth factor in primary breast cancer. Cancer 1996 Mar 15;77(6):1101-6.

106. Tokunaga Y, Urano T, Furukawa K, Kondo H, Kanematsu T, Shiku H. Reduced expression of nm23-H1, but not of nm23-H2, is concordant with the frequency of lymph-node metastasis of human breast cancer. Int J Cancer. 1993 Aug 19;55(1):66-71.

107. Vaisman N, Gospodarowicz D, Neufeld G. Characterization of the receptors for vascular endothelial growth factor. J Biol Chem. 1990 Nov 15;265(32):19461-6.

108. Vollenwider ZL, Barrelet L, et al. The redictive value of estrogen and progesterone receptors concentrations on the clinical behavior of breast cancer in women. Cancer 57:1171-1180,1986.

109 Waltenberger J, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Shibuya M, Heldin CH Different signal transduction properties of KDR and Flt1, two receptors for vascular endothelial growth factor. J Biol Chem. 1994 Oct 28;269(43):26988-95.

110. Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred EN, Moore DH, Meli S, Gasparini G. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma.

111. Weidner N, Folkman J. Tumoral vascularity as a prognostic factor in cancer. Important Adv Oncol. 1996;:167-90.

112. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma. N Engl J Med. 1991 Jan 3;324(1):1-8.

113. Wong SY, Kernohan NB, Walker F. Breast cancers with extremely high estrogen receptor protein status. Histopahol 16:125-132,1990

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ