

T.C.

GENEL KURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI SERVİS ŐEFLİĐİ

**MEME KANSERİNDE CD44
EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK
ÖNEMİ VE DİĞER
PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

108511

UZMANLIK TEZİ

108511

Dr.Savaş SERDAR
TBP.YZB.

İSTANBUL – 2000

ÖNSÖZ

“Meme kanserinde CD44 Ekspresyonunun Prognostik Önemi ve Diğer Prognostik Faktörlerle İlişkisi” konulu uzmanlık tezi GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları Servis Şefliğinin gün ve 4000-97-96/ 503 sayılı emri ile verilmiş ve çalışılmaya başlanmıştır.

Uzmanlık Öğrenciliği eğitimim süresince yetişmemde büyük katkıları ve emekleri olan, bilgi ve deneyimlerimden her zaman yararlandığım, her aşamada yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm çok değerli hocalarım Prof.Dr. Mehmet DANACI'ya, Prof.Dr. Necdet ÜSKENT'e, Prof. Dr. M. Yaşar TULBEK'e, Prof. Dr. Hayati TOR'a saygılarımı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Eğitim rotasyonlarım sırasında ve birlikte çalıştığım süre içinde bilgi ve tecrübeleri ile eğitimime olan değerli katkılarından dolayı Doç.Dr.Mustafa YAYLACI'ya, Doç.Dr.Levent DEMİRTÜRK'e, Doç.Dr.A.Kemal GÜRBÜZ'e, Doç.Dr.M.Emin ÖNDE'ye, Doç.Dr.Gökhan KANDEMİR'e, Doç.Dr.B.Sıtkı CEBECİ'ye, Yrd.Doç.Dr. Mesut BAŞAK'a Yrd.Doç.Dr.Rıfki EVRENKAYA'ya, Yrd.Doç.Dr.Zeki ÇANKIR'a, Yrd.Doç.Dr. Yaşar KÜÇÜKARDALI'ya, Yrd.Doç.Dr. Cihan TOP'a, Yrd.Doç.Dr. Selim NALBANT'a, teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanmasında bana yol gösterip, bilgi ve deneyimlerini aktarıp, yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr.Necdet ÜSKENT, Doç .Dr. Mustafa YAYLACI, Doç.Dr.Ahmet ÖZTÜRK, Doç.Dr.Gökhan KANDEMİR ve Uzm.Dr. Orhan TÜRKEN'e ayrıca teşekkürlerimi sunarım. Tezimin gerçekleşmesinde yardımlarını esirgemeyen Uzm.Dr.Mehmet SAR'a, biyolog Selda URAZ'a istatistik uzmanı Emire BOR'a ve uzmanlık eğitimim süresince paylaşımda bulunduğumuz tüm hekim arkadaşlarım ve personelimize teşekkürlerimi borç bilirim.

Yaşamım boyunca sevgi ve şefkatlerini benden esirgemeyen anne ve babama, canımdan çok sevdiğim kardeşime ve sevgisi, sabrı tükenmek bilmeden her an yanımda bana destek olan sevgili eşime sonsuz minnet ve şükranlarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr.Savaş SERDAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
1. RİSK FAKTÖRLERİ	3
2. HİSTOPATOLOJİK TİPLERİ	5
3. KLİNİK EVRELEME	6
4. PROGNOSTİK FAKTÖRLER	7
III. GEREÇ VE YÖNTEM	18
IV. BULGULAR	23
V. TARTIŞMA VE SONUÇ	42
VI. ÖZET	47
VII. İNGİLİZCE ÖZET	48
VIII. KAYNAKLAR	49

GİRİŞ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, her yıl yaklaşık 570.000 yeni olgu ile karşılaşılmaktadır. Kadın kanserleri içinde %18' lik orana sahip olan önemli bir sağlık problemidir. Kadınlarda en çok görülen malign tümör olup tüm kadın kanserleri içinde en yüksek mortalite nedenidir (8).

Meme kanseri doğal seyri çok değişken olan, farklı klinik seyirler gösteren bir hastalıktır. Bu nedenle karşı karşıya kalınacak farklı durumların önceden öngörülebilmesi tanı ve tedavide temel gerekliliktir. Hangi tedavi planının, hangi birleşim ve sırayla, özellikle hangi hastaya uygulanacağı, yanıtlanması gereken sorulardır. Bu soruları yanıtlamadan önce hastalığın nüks olasılığı, iyi ve kötü seyir gösterebilecek alt gruplar belirlenmelidir.

Tanı sırasında var olup, tedavi yapılmadığı durumda hastalık ve genel sağkalım ile ilişkili bulunan her türlü ölçüm prognostik faktör olarak adlandırılmaktadır. Halen kullanılan prognostik faktörler; Histolojik tip, tümör büyüklüğü, aksiller lenf nod tutulumu, nükleer ve histolojik grad, proliferasyon ölçümleri, östrojen ve progesteron reseptörleridir. Bu standart prognostik faktörler meme kanserli hastalarda her zaman yeterli olmazlar. Meme kanserinin anatomik evresinden bağımsız olarak intrinsek aktiviteyi gösteren ek belirteçlere gereksinim vardır. Bu amaçla son yıllarda pS2, p53, nm23, PCNA, C-erbB-2/Her2 neu, ferritin gibi çok sayıda yeni faktörler üzerinde çalışılmaktadır (3,25,62,96).

Kanser nedenli çoğu ölüm, uzak organlara metastaz ve standart tedavilere direnç nedeniyle olmaktadır. Primer tümörün cerrahi olarak çıkartılması sırasında metastatik birikimlerin iyi bir şekilde saptanamaması, hastayı değişik organlarda oluşabilecek nüksten koruyamayacaktır. Standart kanser tedavisi ile tümörün farklı organlardan ya da aynı organın değişik bölgelerinden tamamen sağaltımı, hemen hemen imkansız gibi gözükmektedir. Bu düşüncelerle son yıllarda, metastatik hastalık ve tümör invazyonunun moleküler mekanizmasını hedef alan çalışmalar yoğunlaşmıştır.

CD44 hücre yüzey transmembran glikoproteinleri ailesinin üyesi olan bir adhezyon molekülüdür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı kanser türlerinde olduğu gibi, meme kanserinde de metastatik potansiyel ve tümör progresyonu ile ilişkili olduğu görüşü ileri sürülmüştür. Meme kanserlilerde yapılan bazı çalışmalarda ekspresyonundaki artışın aksiller lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz ile ilişkili olduğu görüşü desteklenmiştir. CD44'ün metastatik potansiyelinden yalnızca bazı alt gruplarının sorumlu olduğu görüşü tartışmalıdır (41,87,101).

Bu çalışmada GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Onkoloji Servisinde takip ve tedavisi yapılan meme kanserli 49 hastanın hastalısız sağkalım süreleri, rekürrens ve genel sağkalım oranları değerlendirilmiş, mastektomi materyallerindeki tümör dokusunda **CD44 seviyesi** saptanarak, bu düzeylerde diğer prognostik faktörler ile olan ilişkileri incelenmiş, prognostik önem ve sağkalım üzerine etkileri araştırılmıştır.



GENEL BİLGİLER

Meme kanseri tüm dünyada önemli bir sağlık problemidir. Kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olan meme kanserinin görülme sıklığı 1973 yılından bu yana ABD’ de yılda %1,8, dünyanın çeşitli ülkelerinde %1-2 oranında bir artış göstermektedir. Meme kanseri tüm kadın kanserleri içinde en yüksek mortalite nedenidir. Kansere bağlı ölümlerde akciğer kanseri ve kolorektal kanserlerden sonra üçüncü sırayı almaktadır (8).

Meme kanserinin nedeni bilinmemektedir. Genetik, çevresel, hormonal, biyolojik ve psikolojik etkenlerin meme kanseri oluşumunda rol oynadığı kabul edilmektedir. Hayvan modellerinde yapılan bazı çalışmalarda, iyonizan radyasyonun, bazı kimyasal maddelerin ve virüslerin kansere neden olabildiği kanıtlanmıştır. İnsanlarda da bu ajanların kromozomal mutasyonlara yol açarak kanser oluşumuyla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (100).

MEME KANSERİNDE RİSK FAKTÖRLERİ:

Yaş ve menapozal durum: Meme kanserinde yaş en önemli bağımsız risk faktörüdür. İnsidansı yaşla artmaktadır. Menapoz öncesi nadirdir. Hastalık genellikle post menapozal dönemde görülmektedir.

Aile hikayesi: Meme kanserinin %9 oranda kalıtsal özellik taşıdığı, 30 yaşından önce ortaya çıkan olgularda, kalıtsallık oranının %25’e yükseldiği belirtilmektedir. Birinci derece akrabalarında meme kanseri olanlarda risk iki kat daha fazladır (53). Akrabada meme kanseri oluşumu ne kadar erken yaşta görülmüşse risk o kadar artar. Aile hikayesi olanlarda BRCA 1 ve BRCA 2 adlı gen mutasyonunun, kalıtsal özellik taşıyan meme kanserlerinin % 90’ından sorumlu olduğu tespit edilmiştir (37).

Menarş yaşı: Menarş yaşının düşük olması olumsuz risk faktörüdür (34,75). Menarştaki her geciken yıla karşılık meme kanseri riskinde yılda % 20 azalma olmaktadır (34).

İlk doğum yaşı: Meme kanseri riski ilk doğum yaşı 30 veya üzeri olanlarda, ilk doğum yaşı 18 ve 19 olanlara oranla 4-5 kat artmaktadır (21). Doğurmayan kadınlar en riskli gruptur.

Uzun süreli oral kontraseptif kullanımı: Uzun süre oral kontraseptif kullanımı hastalık riskini arttırmaktadır (78,79,80). Bu risk 8 yıldan uzun kullanımda 1,7 , 10 yıldan uzun süre kullananlarda 4,1 oranında artış göstermektedir. 35 yaşın altında oral kontraseptif kullanımı meme kanseri riskini arttırmaktadır. Östrojen replasman tedavisi, meme kanseri riskini küçük oranda artırır (86). Progesteron da tek başına meme kanseri riskini artırır (54).

Beslenme: Hayvan deneylerinde yağdan zengin diyetle beslenmenin meme tümörüne yol açtığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda yağın kendisinden çok, et ve süt ürünleri gibi yüksek oranda yağ içeren besin maddeleri kullanımı ile meme kanseri arasında ilişki saptanmıştır (59). Alkol alımının, özellikle 30 yaşın altında alınması ile meme kanseri arasında kuvvetli bir ilişki saptanmıştır (105).

Benign meme hastalığı: Proliferatif meme hastalığı tanısı konulan hastalarda atipi olsun ya da olmasın ilk on yıl içinde meme kanseri oluşma riski yüksektir (27). Biopside herhangi bir proliferatif epitelial değişikliğin varlığı meme kanseri riskini 1,9 kat , atipik hiperplazi varlığı meme kanseri riskini 4 kat arttırmaktadır (28,74). Proliferatif değişikliğin bulunmadığı lezyonlarda risk artışı yoktur.

Meme kanseri tanısı konduktan sonra cerrahi tedavi uygulananlarda, kalan meme dokusunda risk, her yıl için % 0,5-1' dir. Meme kanseri oluşan bir kadında yaşamı boyunca tekrar meme kanseri oluşma riski yaklaşık % 25-30 'dur.

Ağır fiziksel aktivite: Ağır fiziksel aktivitenin menarş yaşını geciktirerek meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir. 40 yaş altında günde 4 saat ya da daha fazla egzersiz yapan kadınlarda kanser riskinin, yapmayan kadınlara göre %60 daha az olduğu bildirilmiştir (7).

Çevresel etkenler: Elektromanyetik alanlar, iyonize radyasyona maruz kalma çevresel risk faktörlerini oluşturmaktadır (22,71).

MEME KANSERİNİN HİSTOPATOLOJİK TİPLERİ:

En yaygın olarak kullanılmakta olan sınıflandırma, Dünya Sağlık Örgütü'nün Meme Tümörleri Sınıflamasıdır. Bu sınıflama tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo-I: Meme kanserinin Histopatolojik Sınıflandırılması (63).

A- Noninvasif Karsinomlar

1. İntraduktal Karsinomlar
2. Lobuler Karsinoma İnsitu

B- İnvazif Karsinomlar

1. İnvazif Duktal Karsinoma
2. İntraduktal Komponenti Belirgin İnvazif Duktal Karsinoma
3. İnvazif Lobuler Karsinoma
4. Müsinöz Karsinoma
5. Meduller Karsinoma
6. Papiller Karsinoma
7. Tübüler Karsinoma
8. Adenoid Kist Karsinoma
9. Sekretuar Karsinoma
10. Apokrin Gland Karsinoma
11. Metaplazi İle Birlikte Olan Karsinomalar
 - a. Squamoz Tip
 - b. Spindle Hücre Tip
 - c. Osseöz ve Kartilajinöz Tip
 - d. Miks Tip
 - e. Diğerleri

C- Memenin Paget Hastalığı

MEME KANSERİNDE KLİNİK EVRELEME:

Meme kanserli hastalarda ilk bulgu, %70 oranda memede bir kitlenin varlığıdır. Bu kitle çoğu kez ağrısız olup, hasta tarafından tesadüfen saptanır. Hastaların % 8-10' unda ise bu kitle ağrılıdır ve ağrı nedeniyle yapılan başvuruda ortaya çıkar.

Hastaların % 10'unda ilk belirti meme başı akıntısıdır. Tüm vakaların % 4'ünde, kanser inflamasyon bulguları ile ortaya çıkar. Seyrek olarak aksiller lenf bezi tutulumu ya da metastazlara ait belirtiler ilk klinik bulgu olarak ortaya çıkabilir (3).

Hastaların doktora başvurdukları anda, hastalıklarının yaygınlıkları birbirinden farklılık gösterir. Evreleme, hastaları, hastalıklarının yaygınlık derecesine göre gruplara ayırma işlemidir. Evreleme, gerekli tedavinin yapılmasında, prognozun belirlenmesinde ve uygulanan farklı tedavi yöntemlerinin karşılaştırılmasında gereklidir.

Klasik evreleme için TNM sistemi kullanılmaktadır. Buna göre primer tümör T, aksiller lenf bezi yayılımını N, Metastazı ise M temsil etmektedir (63).

Bu verilere göre evre grupları Tablo- II ve III 'de belirtilmiştir.

Tablo- II: Meme Kanserinde TNM Sınıflaması (63).

Primer Tümör: T

Tx : Primer tümör değerlendirilemeyebilir

To : Primer tümör bulgusu yok.

Tis : Tümör bulgusu olmayan paget hastalığı, insitu tümör.

T1 : Tümör 2 cm'den daha küçük.

T1a: Tümör 0.5 cm veya daha küçük.

T1b: Tümör 0.5 cm'den daha büyük fakat 1 cm'yi aşmamış.

T1c: Tümör 1 cm'den büyük fakat 2 cm'yi aşmamış.

T2 : Tümör 2 cm'den büyük fakat 5 cm'yi aşmamış.

T3 : Tümör 5cm'yi aşmış.

T4 : Tümörün boyutu ne olursa olsun deri ya da toraks duvarını aşmış.

T4a: Toraks duvarına ulaşmış.

T4b: Meme derisinde ödem (Peau d'orange dahil), ülserasyon, tümörlü memede yandaş deri lezyonları

T4c: T4a+T4

T4d: İnflamatuvar kanser

- . Paget hastalığında kitle varsa T'yi kitlenin büyüklüğü tayin eder .
- . T ölçümünde tümörün en büyük boyutu dikkate alınır.

Bölgesel Lenf Bezleri : N

Nx : Bölgesel lenf bezleri değerlendirilemeyebilir.

No : Bölgesel lenf metastazı yoktur.

N1 : Aynı taraf koltuk altında bir ya da daha fazla mobil lenf bezinde metastaz.

N2 : Aynı taraf koltuk altında bir ya da daha fazla mobil lenf bezinde metastaz; fakat bu lenf bezleri birbirlerine ya da etraf dokuya yapışık.

N3 : Tümörün bulunduğu taraftaki mamma interna lenf bezi grubuna metastaz.

Uzak Metastazlar : M

Mx : Uzak metastazların varlığı değerlendirilemeyebilir.

Mo : Uzak metastaz yok.

M1 : Uzak metastaz mevcut.

- . Supraklavikuler lenf bezlerindeki metastazlar uzak metastaz olarak değerlendirilir.

Tablo - III : TNM ' ye Göre Evreleme (63)

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre 1	T1	No	M0
Evre II A	T0	NI	M0
	T1	NI	M0
	T2	N0	M0
Evre II B	T2	NI	M0
	T3	N0	M0
Evre III A	T0	N2	M0
	T ₁	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	NI	M0
	T3	N2	M0
Evre III B	T4	Herhangi N	M0
	Herhangi T	N3	M0
Evre 4	Herhangi T	Herhangi N	M1

- İnflamatuvar Kanserler Evre III B olarak kabul edilir.
- Aynı memede aynı anda birden fazla tümör varsa, T için en büyüğünün boyutu alınır.
- Her iki memede aynı zamanda tümör varsa , her meme ayrı ayrı evrelenir.
- Deri başı ya da meme başı retraksiyonu olup olmayışı durumu değiştirmez.

MEME KANSERİNDE PROGNOSTİK FAKTÖRLER:

Meme kanseri, tanı konduktan sonra farklı klinik seyirler gösteren bir hastalıktır. Cerrahi tedavi sonrası hangi tedavilerin, hangi hastaya uygulanacağı yanıtlanması gereken en önemli sorulardır. Hastalığın nüks riskini hesaplamak, kötü seyirli alt grupları belirleyebilmek, verilecek tedaviye karar vermek için bazı biyolojik belirteçlere ihtiyaç

vardır. Bu sayede prognozu çok iyi olup sistemik tedaviden fayda görmeyecek ya da prognozu çok kötü olup agresif tedaviye ihtiyaç duyacak hasta gruplarını belirlemek mümkün olmaktadır.

Tanı konulduğu anda var olup, adjuvan tedavi yapılmadan hastaliksız ve genel sağkalım ile ilişkili bulunan her türlü parametre **prognostik faktör** (15) olarak adlandırılır.

Meme kanserinde kullanılan standart prognostik faktörler şunlardır:

1. Tümör büyüklüğü
2. Aksiller lenf nodu tutulumu
3. Histolojik alt tip
4. Nükleer ve histolojik grad
5. Östrojen ve progesteron reseptör durumu
6. Proliferasyon ölçümleri

Histolojik Tip: Karsinoma insitu ve pür intraduktal kanserlerde prognozun daha iyi olduğu bildirilmektedir (2,48). En sık rastlanan meme kanseri invaziv duktal karsinoma (%47-75) ve invaziv lobüler karsinomadır (1-21). İnvaziv duktal karsinomalarda aksiller lenf nod tutulumunun daha sık olduğu ve % 6'sında on yıl içinde diğer memede kanser geliştiği bildirilmiştir (48). Bu nedenle prognozu daha kötüdür. Meme kanserlerinin küçük bir bölümünü oluşturan meduller, tübüler, pür müsinöz, adenoid kistik karsinomalarda prognozun daha iyi olduğu kabul edilmektedir (2,23,48,77).

Aksiller Lenf Nod Tutulumu: Aksiller lenf nod tutulumu, meme kanserli hastalarda bilinen en güçlü prognostik faktördür. Klinik olarak tespit edilen meme kanserli hastalarda % 50 oranında aksiller lenf nod tutulumu saptanır. Bir çok çalışmada hastalar nod negatif, 1-3 nod pozitif ve 4' den fazla nod pozitif olarak gruplara ayrılmakla birlikte, tutulan nod sayısı ile klinik seyir arasında doğrudan ilişki olduğu bildirilmiştir (33). 24.740 hastalık bir çalışmada (NCI Surveillance, Epidemiology and Results) tümör boyutu, aksiller lenf nod tutulumu ve beş yıllık sağ kalm incelenmiş, primer tümör boyutu arttıkça aksiller lenf nod tutulumunun arttığı saptanmıştır (11). Lenf nodu tutulumunun tümör büyüklüğü ile ilişkili, ancak steroid resptörleri ve proliferasyon ölçümleri gibi biyolojik işaretleyicilerden

bağımsızdır. Bu nedenle tümörün sadece kronolojik yaşını gösterdiği iddia edildiği gibi (81), 10' un üzerinde aksiller lenf nod invazyonunu sistemik yayılım olarak değerlendirenler de vardır.

Tümör Büyüklüğü: Nod negatif hastalık grubunda en güçlü ve tutarlı prognoz belirleyici tümör büyüklüğüdür. Tümör büyüdükçe hastalık nüksünün arttığı ve klinik seyrin kötüleştiği gösterilmiştir (1,72,83,92,93).

Nükleer ve Histolojik Grad: Prognostik önemi bir çok çalışmada gösterilmiştir. En sık kullanılan gradlama sistemi Scarff-Bloom-Richardson (SBR) ve Fisher'in nükleer gradlama sistemidir. Gradlamadaki sorun yorumun kişiden kişiye değişebileceğidir (18).

Östrojen ve Progesteron Reseptör Durumu: Steroid reseptör durumu uzun yıllardır meme kanserinin tedavi kararlarını vermede kullanılmaktadır. Erken evre meme kanserinde östrojen reseptörünün (ER) erken nüks açısından bağımsız prognostik önem taşıdığı bildirilmektedir (69). Tümörlerin yaklaşık %60'ı östrojen ve progesteron reseptörleri (PgR) yönünden pozitifdir. Yapılan çalışmalarda ER pozitif hastalarda, hastalısız sağkalımın ER negatif hastalara göre daha uzun olduğu gösterilmiş olup, hastalısız sağkalım avantajı 5 yılda % 10 olarak ortaya çıkmaktadır (15). Nod negatif hastalarda PgR ölçümünün sağkalım üzerine etkili olduğu bilinmektedir. ER hastalısız sağkalım için prediktif değer taşımakta olup, PgR ise muhtemel hastalığın nüksü durumunda endokrin tedaviye daha iyi yanıt göstergesi olduğundan, genel sağkalımla ilişkili bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda primer tümörlerde ER pozitifliğinin metastaz yerine göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bu Er negatif tümörlerin daha fazla metastaz eğiliminde olduğu olasılığını düşündürmektedir (14).

Proliferasyon Ölçümleri: Proliferasyon indeksi meme kanserinin gelişiminde önemlidir. Bu nedenle, araştırmalar, hücre siklusunun çeşitli fazlarında yer alan ve tümör hücresinin proliferasyon yeteneğini yansıtabilecek bazı ölçümler geliştirmiştir (Tablo- IV) .

Tablo- IV: Proliferasyon Ölçümleri (63)

Marker	G0	G1	S	G2	M
Mitotik indeks	-	-	-	-	+
Timidin işaretleme	-	-	+	+	+
S-Faz fraksiyonu	-	-	+	-	-
Ki 67/MIBI	-	-/+	+	+	+
Mitozin	-	-	-	-/+	+
Histonlar (H2,H3)	-	-	+	-/+	-
Topoizomeraz II	-	-	-/+	+	+
DNA Polimerazlar	-	-/+	+	+	-/+
Siklinler (PCNA,A,D,E)	-	-/+	+	-/+	-/+

Histolojik gradlama sistemlerinin çoğunda mitotik indeks (Mİ) önemli yer alır.Yapılan çalışmalarda yüksek Mİ ' li hastalarda nüks-ölüm açısından göreceli olarak riskin yüksek olduğu bildirimiştir (16).

Timidin işaretleme indeksi; tümör dokusunun işaretlenmiş timidin ile inkübe edilmesinden sonra otoradyografik olarak işaretlenmiş nükleusların sayımıyla tespit edilir. Tanı sırasında hastalığın yaygınlığı, aksiller tutulum ve tümör büyüğünden bağımsız olup, steroid reseptörleri ile ters orantılıdır.

Akım sitometrisi ve S-Faz reaksiyonu; ploidi ve hücre siklusu komponentleri oluşturma tekniğine dayanır. Bu yolla DNA histogramı oluşturulur. S-Faz reaksiyonunda sentez yapan veya replikasyon fazındaki hücreler belirlenir. Yüksek S-Faz reaksiyonu ile diğer kötü prognostik faktörler arasında korelasyon tespit edilmiştir (26).

Ki 67 ; proliferen hücrelerdeki nükleer antikora karşı oluşmuş monoklonal antikordur. Tümör büyüğü, histolojik grad, vasküler invazyon, aksiller lenf nod tutulumu ile doğrudan, steroid reseptör durumu ile ters ilişkili olduğu gösterilmiştir (108).

Prolifere hücre nükleer antijeni ; Prolifere olan hücrelerde hücre siklusu boyunca bulunan bir DNA polimerazla ilişkili bir nükleer proteindir. Prognostik öneminin zayıf olduğu bildirilmiştir (35).

Standart faktörlere ek olarak prognostik önemi belirten diğer faktörler şunlardır:

Tümör Supresyon Genleri: Meme kanserinde rol oynayan başlıca tümör supresyon genleri, BRCA I, p53 ve retinablastoma genidir.

p53 tümör supresyon geni; 17p13 kromozomunda yerleşmiştir. Hücre siklusunu düzenleyen 53 kilodalton (Kd.) ağırlığında bir nükleer fosfoprotein kodlar. Bu DNA'ya bağlanan protein transkripsiyon aktivatörü olarak hücre bölünmesini G₁/S sınırında durdurur (96). Mutasyonlar sonucu yapısal değişiklik oluşarak, işlevi olmayan ancak yapısal olarak stabil nükleer protein üretimi olur (103). p53 ekspresyonunda artışın DNA ploidi, proliferasyon ölçümleri, steroid reseptörleri ve nükleer grad ile yakından ilişkili olduğu halde (62), aksiller lenf nod tutulumu ve menapoz durumundan bağımsız, tümör büyüklüğü ile zayıf ilişkili olduğu gösterilmiştir. Nod negatif hastalarda p53'ün prognostik önemi, kullanılan antikorların farklı olmasına rağmen tüm çalışmalarda gösterilmiştir.

Nm 23 geninin değişik metastatik yeteneği olan melanoma hastalarında mutasyona uğradığı görülmüştür. Primer meme kanserli hastalarda ekspresyonu ile uzun hastalıklı ve genel sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (19,55).

Tümör Anjiogenezi: Yapılan çalışmalarda tümör büyümesinin anjiogeneze bağlı olduğunu gösterilmiştir (36). Birbirine bağımlı ve ardışık olayları kapsayan anjiogenezin prognostik değeri, meme kanseri de dahil olmak üzere solid tümörlerde kanıtlanmıştır. Yeni damar oluşumu, Faktör VIII-ilişkili antijene karşı oluşmuş monoklonal antikor ve CD31 adhezyon molekülünü tanıyan monoklonal antikorlarla boyanarak saptanabilir. Yapılan çalışmalarda mikrodamar yoğunluğunun hem nod negatif, hem pozitif hastalarda hastalıklı ve genel sağkalım için önemli bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (66,56,84). Nod negatif hastalarda yapılan bir çalışmada mikrodamar yoğunluğu hastalıklı sağkalım açısından en güçlü prognostik belirleyici olarak tanımlanmıştır (42).

Tümör İnvazyon Ve Metastazı: Tümör invazyon ve metastazı, kanser hastalarında tedavideki yetersizliğin başlıca nedenidir. Kanser nedenli çoğu ölüm, ne yazık ki konvansiyonel tedavilere direnç gösteren, uzak organlara metastaz nedeni ile olmaktadır. Hastaların yaklaşık % 60'ında tanı sırasında metastaza ait klinik bulgular ya da mikroskopik metastaz bulunmaktadır. Bu nedenle son yıllarda metastatik hastalığa yönelik daha etkili tedaviler için çalışmalar artmıştır. Bu çalışmalar kendisine, tümör invazyon ve metastazının düzenlenmesinde rol oynayan moleküler mekanizmaları hedef almıştır.

Metastaz tümör hücrelerinin, primer neoplazmdan uzak sekonder bölgelere yayılması ve orada çoğalması olarak tanımlanabilir (90). Bu olay tesadüfi olmayan, oldukça seçici, bir dizi ardışık ve birbirine bağlı olaylar basamağını gerektirir (90). Bu basamaklar tümör hücrelerinin primer tümörden ayrılması, kendisini çevreleyen dokuya invazyonu, kan dolaşımını içine girmesi, hedef organdaki kapiller yatak içinde implante olması, hedef organda damar dışına çıkması ve sonunda yerleştiği bölgede çoğalmasıdır (31).

Tümörün diğer dokulara invazyon ve metastazında adhezyon molekülleri, büyüme faktörleri ve proteolitik enzimler rol oynamaktadır.

Katepsin D: Glikoprotein yapısındadır. Proteolitik etkisiyle bazal membranı eriterek tümör invazyonunda rol oynar. İnsülin II reseptörünü uyararak büyüme faktörü gibi davranır. Yapılan bir çalışmada, kanser hücresinde boyanmalarının prognozla ilişkili olmamakla beraber, stromal elemanlarda boyanmalarının daha kısa sağkalımla ilişkili olduğu bildirilmiştir (91).

Ekstrasellüler Matriks (ECM) Yıkıcı Enzimler (Matriks Metalloproteinazlar-MMP-): Tümör metastaz ve angiogenez sürecindeki önemli bir basamak olan ekstrasellüler matriks yıkımında rol oynarlar (12). Matriks metalloproteazları transmembran proteazlarındandır (43). En az 16 üyesi tanımlanmıştır. Proteolitik aktivite kazanabilmeleri için gerekli olan ve çinko iyonu bağlayan metal bağlayıcı bölümleri bulunur. En iyi bilinen metalloproteazlar; Tip 4 kollajenaz (gelatinaz), intersitisyel kollajenaz, stromelisin1-2 ve PUMP-1' dir.

MMP'ların aktiviteleri fizyolojik koşullarda “ Doku Metalloprotez İnhibitörleri (TIMPs) ” tarafından kontrol edilirler (43). Ekstrasellüler matriksin yıkımı MMP'lar ve TIMP' leri arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanır (43). Matriks metalloproteinaz inhibitörlerini kullanarak, matriks yıkımının önlenmesi, tümör metastaz ve anjiogenezine karşı kesin bir tedavi yaklaşımı olacaktır (109) . Bu yolla bazı matriks metalloproteinaz inhibitörleri üzerinde klinik çalışmalar devam etmektedir (99).

Büyüme Faktörleri: Büyüme faktörleri anjiyogenezin indüksiyonundan sorumlu moleküller arasındadır. Bu moleküller tümör hücreleri ve yerli endotelial hücreler, epitel hücreleri, mezotelial hücreler ve lökositler tarafından salınan; fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) (39,68), interlökin-8 (IL-8), anjiotropin, endotel büyüme faktörü (EGF) (38), platelet kaynaklı endotel büyüme faktörü (PD-EGF) ve transforme edici büyüme faktörü alfa'dır (TGF α) (32).

ADHEZYON MOLEKÜLLERİ:

E-Cadherin (Epitelial Cadherin): E-Cadherin, “Cadherin” ailesi içinde yer alan, hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein yapıda, kalsiyuma bağımlı hücre adhezyon molekülleridir (51). Üç tip cadherin tanımlanmıştır; E, N, P Cadherin'ler (51). E-Cadherin hücre içi ve hücre dışı bölümleri bulunana bir transmembran proteindir (10). Hücrelerin birbirlerine yapışmasını sağlayarak birarada tutar. Böylelikle tümör hücrelerinin bir diğerinden ve primer tümörden ayrılmasını önler (10). E-Cadherin ve ona bağlı stoplazma içindeki alfa, beta ve gama cateninlerle birlikte intersellüler adhezyon kompleksi oluşturular (30). Bu oluşum hücre iskeleti ve hücre membranı arasında bir köprü oluşmasını sağlar. Bunun için Ca⁺⁺ iyonu gereklidir (13,30).

Yapılan çok sayıda çalışmada, E-Cadherinin tümör invazyon ve metastazındaki baskılayıcı rolü ortaya konmuştur (10,29,6,64). İnvitro çalışmalarda yüksek E-Cadherin ekspresyonu, daha düşük tümör invazyonu göstermiştir (57,64,46). Yine pek çok hayvan çalışmasında da E-Cadherinin tümör invazyonundaki baskılayıcı rolü gösterilmiştir.

Son araştırmalar, 5 cadherin geninin (CDH3, 5, 8, 11, 13, 15) 16. kromozomun uzun kolunda lokalize olduğunu göstermiştir (73). E-Cadherin ekspresyonundaki azalmanın nedeni olarak, E-Cadherin genindeki somatik mutasyon ne srlmştir (64,29).

Yapılan bir çalışmada, plazmidler aracılığı ile transfeksiyon ile kodlanan E-Cadherin spesifik RNA ile tümör hücresinin yayılımından korunma mümkün olabilmiiştir. Deneysel hayvan (köpek) alışmasında anti E-Cadherin antikoru tedavisi ile tümörün invazyon kapasitesinde artış kazanıldığı gösterilmiştir. Bazı ilaçların tümör E-Cadherin ekspresyonunu modifiye edebileceği yönünde çalışmalar sürmektedir (104).

Meme kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda; intraduktal karsinomlu hastalarda, E-Cadherin ekspresyonundaki azalmanın invazyonluk özelliği ile ilişkili olduğu (95), bir diğer çalışmada meme kanseri progresyonu ile ilişkili olduğu ileri srlmştir. E-Cadherin ekspresyonundaki azalmanın kanser differansiasyonu ile ilişkili olduğu (4), hastalısız sağkalım ve total sağkalım sresindeki azalma ile ilişkili olduğu öne sürülmüş (84), aksiller lenf nod tutulumu ve uzak organ metastazı ile birlikteliği gösterilmiştir (84). E-Cadherin ekspresyonunun primer intraduktal meme kanserinde önemli bir potansiyel prognostik faktör olabileceği ileri srlmştir (95).

Laminin Reseptörleri: Lamininler tüm bazal membran boyunca bulunan çok fonksiyonlu makromoleküllerdir (4). Trimerik glikoprotein yapısında olup bu yapı alfa, beta ve gama zincirlerinden oluşur (88). Bunların alt grubu olarak beş alfa,  beta, iki gama polipeptid zinciri ve ayrıca onbir laminin varyantı olduğu ortaya çıkarılmıştır (44). Lamininler, epitelial yapının gelişmesi ve stabilizasyonunda önemli fonksiyon grrleri. Parankimal ve intersitisyel dokular arasında birleştirici rol oynarlar, komşu hücrelere mekanik yapı iskelesi görevi görerek destek sağlarlar. Hücre yüzey bileşenleri ve büyüme faktörleri aracılığıyla iletişim sağlayarak, hücresel fonksiyonları tetikler ve kontrol ederler (70).

Laminin molekülü 75 nm uzunluğunda bir uzun kol ve 35 nm uzunluğunda  kısa koldan oluşur (70). Uzun kol genetik olarak farklı olan üç polipeptid zincirinin yaptığı halka yapısından oluşur (106). Uzun kol yedili tekrarlar yapan alfa helikal sarmal protein yapısındadır (70).  kısa kol, alfa, beta ve gama subnitlerini oluşturup, NH₂ terminali

bulunan globüler yapıda üç polipeptid zincirinden oluşur (106). Bu globüler yapılar, NH₂ terminali içinde bulunan büyüme faktörü benzeri yapılarla bölümlere ayrılır (70).

Lamininler normal hücre fonksiyonları yanında, tümör invazyon ve metastazını da içeren patolojik olaylarda da rol oynar (5). Laminin reseptörleri laminin molekülüne kısa kollarda bulunan beta zincirinden bağlanırlar (5). Laminin reseptörlerinin invaziv tümör hücrelerinin yüzeyinde arttığı ve dağıldığı gösterilmiştir (5). Yapılan bir çalışmada 67-kD laminin reseptörünün, memenin invaziv karsinomları, in situ duktal ve lobüler karsinomları ve şiddetli hiperplazilerinde eksprese edilirken normal meme dokusunda eksprese edilmediği gösterilmiştir (106). Yine yapılan bir çalışmada da, laminin reseptörü bağlayan fragmanlar kullanılarak akciğer kanserinin hematojen yolla yayılımının inhibe edildiği ileri sürülmüştür. (60).

CD44: CD44 çok fonksiyonlu hücre adhezyon molekülüdür. Hücreler arası iletişimde ve hücre – ekstrasellüler matriks arası iletişimde rol oynar (5). CD44 molekülü, hücre trafiği, lenfosit fonksiyonları, hematopoezis, inflamasyon, yara iyileşmesi, embriyonel gelişme ve apoptozis gibi pek çok biyolojik süreçte rol oynar (50,52,102). CD44 ayrıca tümör patolojisini de etkileyerek, tümör hücresi farklılaşmasında, invazyon ve metastazında rol oynar (5).

CD44 molekülünün genomik yapısını 20 ekson belirler (50,52,82,102,9,32,24). İlk 5 ve son 5 ekson sabit olup, arada kalan bölümde yer alan 10 ekson değişebilir özellik göstermektedir (9,24,50,82,102). En küçük CD44 molekülü 85-95 kD ağırlığında olup standart CD44 olarak adlandırılır (CD44s). CD44s başlıca lenfohematopoetik hücrelerce eksprese edildiği için hematopoetik CD44 (CD44_H) olarak da isimlendirilir (85,89). CD44 tek zincirli bir molekülden oluşur (82). Bu molekül; distal ekstrasellüler bölüm (ligand bağlayan alanı içerir), membran-proksimal bölüm, transmembran bölüm ve stoplazmik uzantıdan oluşur (82). Moleküller düzen, membran-poksimal parça dışında kendi arasında birbirine benzerlik gösterir (82).

Çok sayıda CD44 isoformu, CD44 genindeki pre-mRNA'nın transkripsiyonu sürecindeki değişim ile ya da geniş bir posttranslasyonel değişim sonucu oluşur. Bu süreç sonunda oluşan V6 eksonunun, ratlarla yapılan deneysel çalışmalarda oluşturulan tümöral

sistemlerde metastatik potansiyel taşıdığı gösterilmiştir (47,94). İnsanlarda yapılan çalışmalarda V6 eksonu, non-hodgkin lenfomada ve kolonik adenokarsinomada kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (107,98). Renal hücreli karsinomada V6 eksonunun prognostik önemi tartışmalıdır (101). Endometrial ve üreterial kanserlerde V6 eksonu ekspresyonunun düşüklüğü görülmüştür. Skuamoz hücreli karsinomada yapılan çalışmada, normal hücrelerle karşılaştırıldığında ekspresyonunun değişmediği görülmüştür (41,87).

Meme kanserinde CD44 ekspresyonundaki düzensizliğin, tümör gradı (65,39), lenf nod tutulumu (76) ve östrojen reseptör durumu (58) gibi kötü prognostik faktörlerle arasında korelasyon olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. CD44V6 isoformu gibi varyant isoformlar, son dönemde meme kanserinde de tanımlanmasına rağmen (45), CD 44V6 nın kesin prognostik önemi belirlenememiştir. Son dönemde yapılan ve başlangıç aşamasındaki çalışmalar, CD44 ün meme kanseri gelişimini etkilediğini göstermektedir (61).



GEREÇ ve YÖNTEM

KABUL KRİTERLERİ

Çalışmaya ; 1994 – 2000 yılları arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesinde histopatolojik olarak invaziv duktal karsinoma tanısı konmuş, cerrahi tedavi sonrası onkoloji kliniğince takip edilen ve tedavileri yapılan 49 meme kanserli hasta alınmıştır. Meme kanseri rekürrensi dışında başka sebeplerden ölen ve tedavi sırasında sekonder kanser gelişen hastalar çalışmaya alınmamıştır. Hastalara ait takip bilgileri Temmuz 2000 'e dek olan süreyi içermektedir.

YÖNTEM

Hastalar tanı konduğu andaki yaş, menapoz durumu, primer tümör büyüklüğü, aksiller lenf nod tutulumu, evre, östrojen – progesteron reseptör durumu, nükleer grad durumlarına göre gruplandırılmıştır. Evreleme TNM sınıflanmasına göre yapılmıştır. Olgulara ait tümör dokusunu yoğun olarak içeren parafinize bloklara arşivden ulaşılmıştır. Tümör dokularındaki CD44 seviyeleri, ayrı ayrı boyanma yoğunluğu ve yaygınlığına göre derecelendirilmiştir. Hastaların yaşları iki ayrı kategorik değişkene (>35 , ≤ 35) göre belirlenmiştir. Takipler sonucunda, elde edilen bilgiler ışığında tüm hastalarda hastaliksız ve genel sağkalım oranları belirlenmiştir. Tümör boyutlarının değerlendirilmesi sırasında T_1 (≤ 2 cm), T_2 (2-5 cm arası), T_3 (>5 cm) ve T_4 (tümör boyutu ne olursa olsun cilt veya toraks duvarı invazyonu ya da inflamatuvar kanser varlığı) olmak üzere dört değişken ele alınmıştır. Lenf nodu durumu değerlendirilmesi sırasında, nod negatif, nod 1-3 pozitif , nod 4-10 pozitif ve nod ≥ 10 olmak üzere dört değişken kullanılmıştır. Ayrıca hastaliksız ve genel sağkalım durumlarına göre tümör dokusunda CD44 düzeylerinin standart prognostik parametrelere ek olarak prognostik önemi araştırılmıştır.

İZLEM

Hastaliksız sağkalım mastektomi anı ile nüks arasındaki süre olarak hesaplanmıştır. Hastaların izlem süresi 7 ay ile 74 ay arasında olup, ortalama izlem süresi 33.4 aydır.

HİSTOPATOLOJİK ÇALIşMALAR

Arşivden elde edilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak etüvde 37 °C'de 24 saat bekletilerek ksilen ile deparafinize edildikten sonra hazırlanan preparatlara antijen retrieval uygulanmıştır. Primer antikor olarak CD44 monoklonal antikorunu (Novocastra) oda sıcaklığında 60 dakika uygulanmış, bir kez yıkandıktan sonra ikinci kez oda sıcaklığında 30 dakika uygulanmış ve daha sonra tekrar yıkanmıştır. Hazırlanan lamlara LAB-VISION kit kullanılarak immünohistokimya boyaması uygulanmıştır. Preparatlara karşıt boya olarak haemotoxylin uygulandıktan sonra ışık mikroskopunda inceleme yapılmıştır.

Aynı olgulara ait östrojen reseptör durumu progesteron reseptör durumu, aksiller lenf nod tutulumu, nükleer grad patoloji raporlarından elde edilmiştir. Nükleer gradlama Fisher yöntemine göre yapılmıştır.

ER, PgR durumunu belirlemek için anti-ER MoAb (Bio Genex Laboratories, San Ramon, Ca, USA), anti- PgR MoAb (Bio Genex Laboratories, San Ramon, Ca,USA) kullanılmıştır.

Tümör doku CD44 seviyesi için skora ışık mikroskopunda incelenen preparatların boyanma yoğunluğuna ve yaygınlığına göre yapılmıştır.

Skor 0 : Boyanma olmayan alanlar

Skor I : Hücre sayısının % 5'inden azındaki hücrelerde boyanma olması

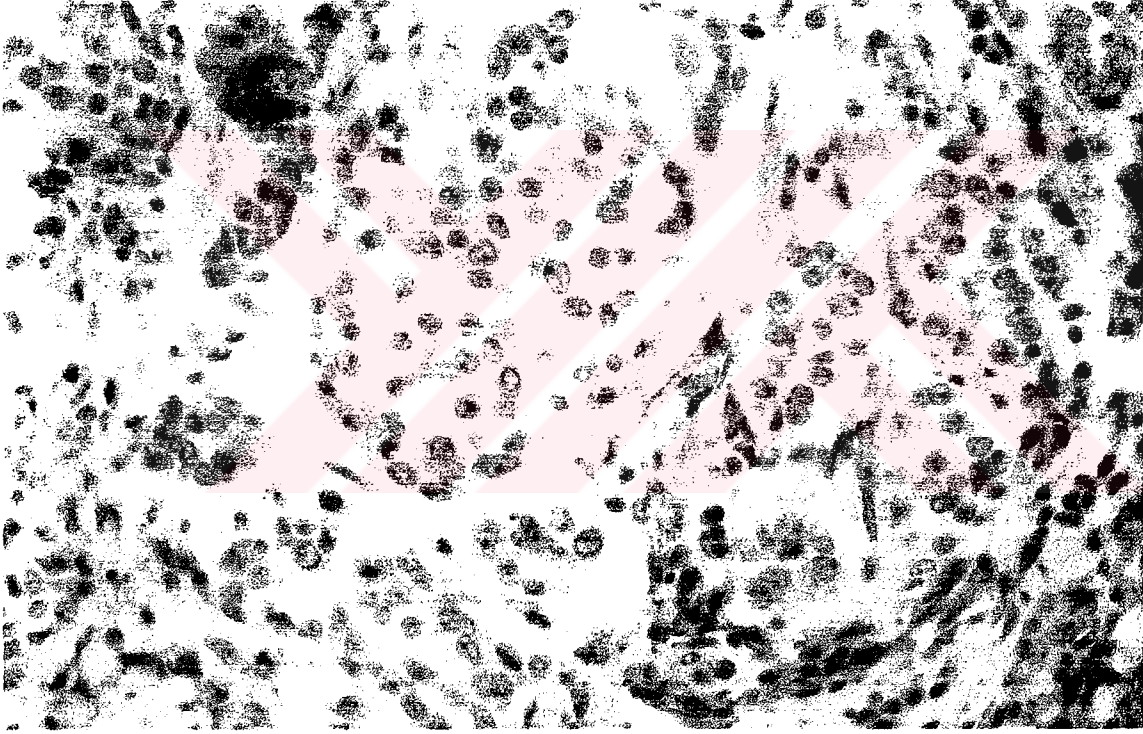
Skor II : Hücre sayısının % 5- 75'indeki hücrelerde boyanma olması

Skor III : Hücre sayısının % 75'inin üstündeki hücrelerde boyanma olması

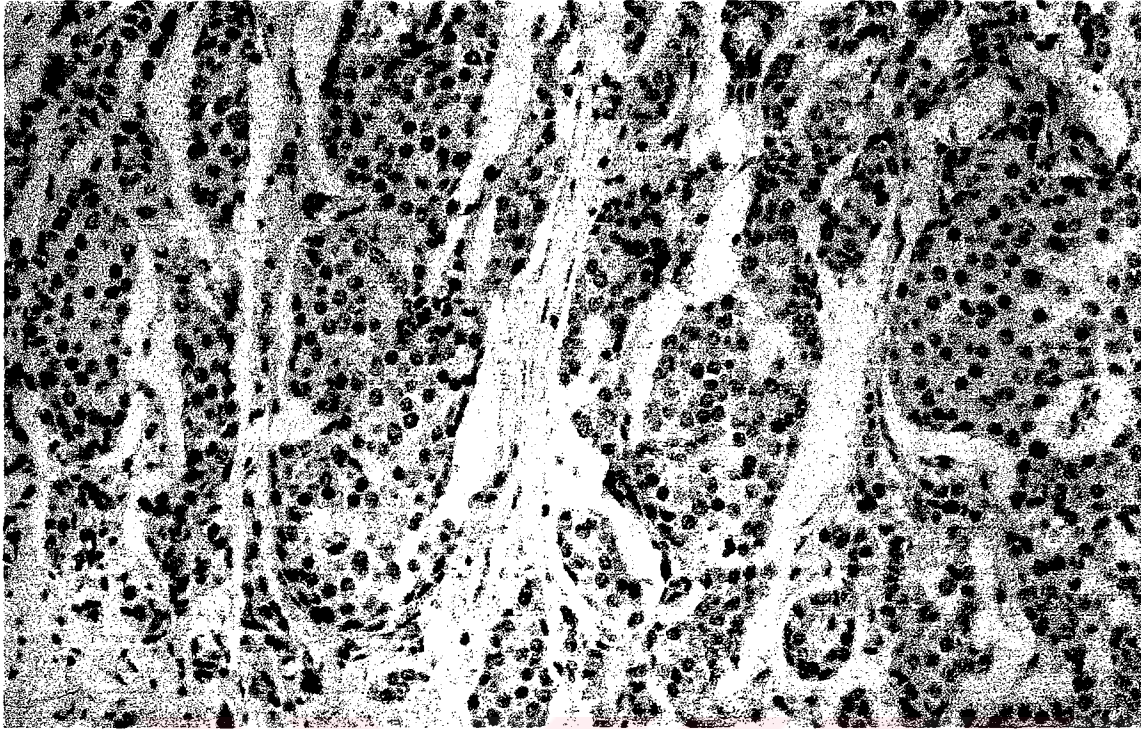
ER ve PgR durumu; sonuçların iki düzeyli olacak şekilde (0 : Negatif, 1 : Pozitif) değerlendirilerek rapor edilmiştir.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

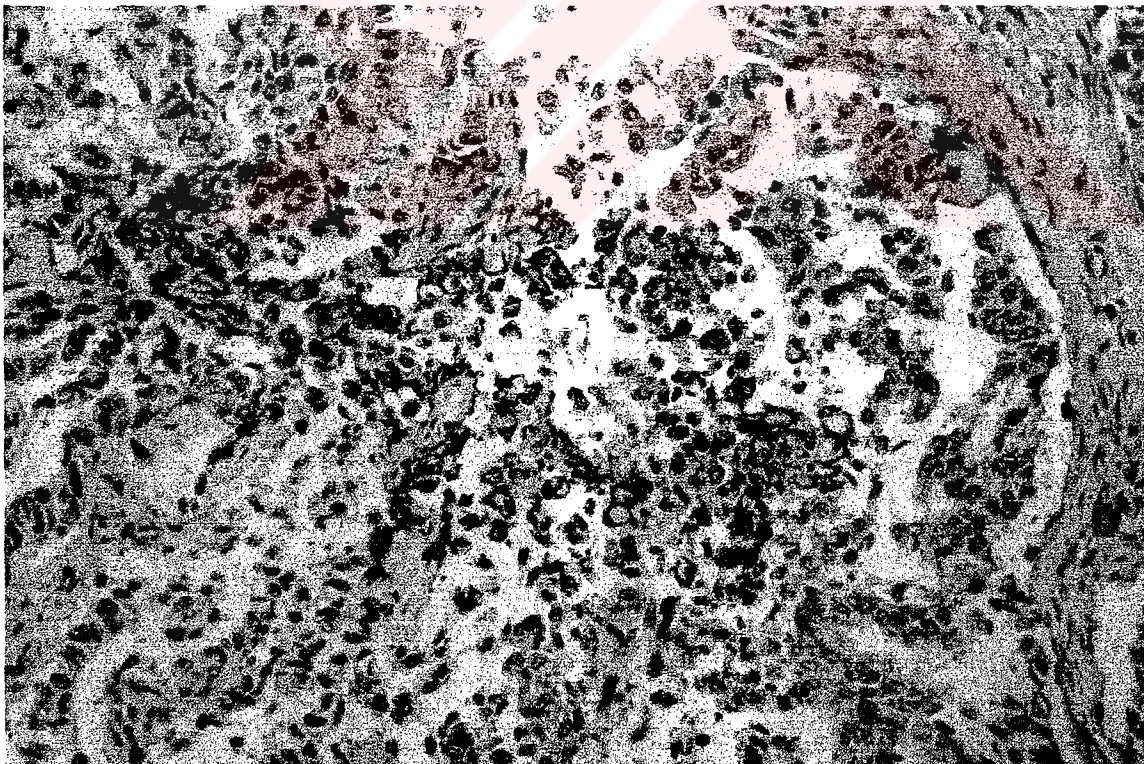
İstatistiksel anlamlılık testleri ve uygun analiz yöntemleri ile ilgili değişkenlerin özelliğine uygun olarak " Statistical Package For Social Sciences (SPSS) For Windows" programı ile yapılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkiler için Spearman Korelasyon Testi kullanılmış, hastalısız ve genel sağkalım eğrileri Kaplan-Meier yöntemi ile elde edilmiştir. Prognostik faktörler arasındaki ilişkiler için X^2 (Ki kare) testi kullanılmıştır.



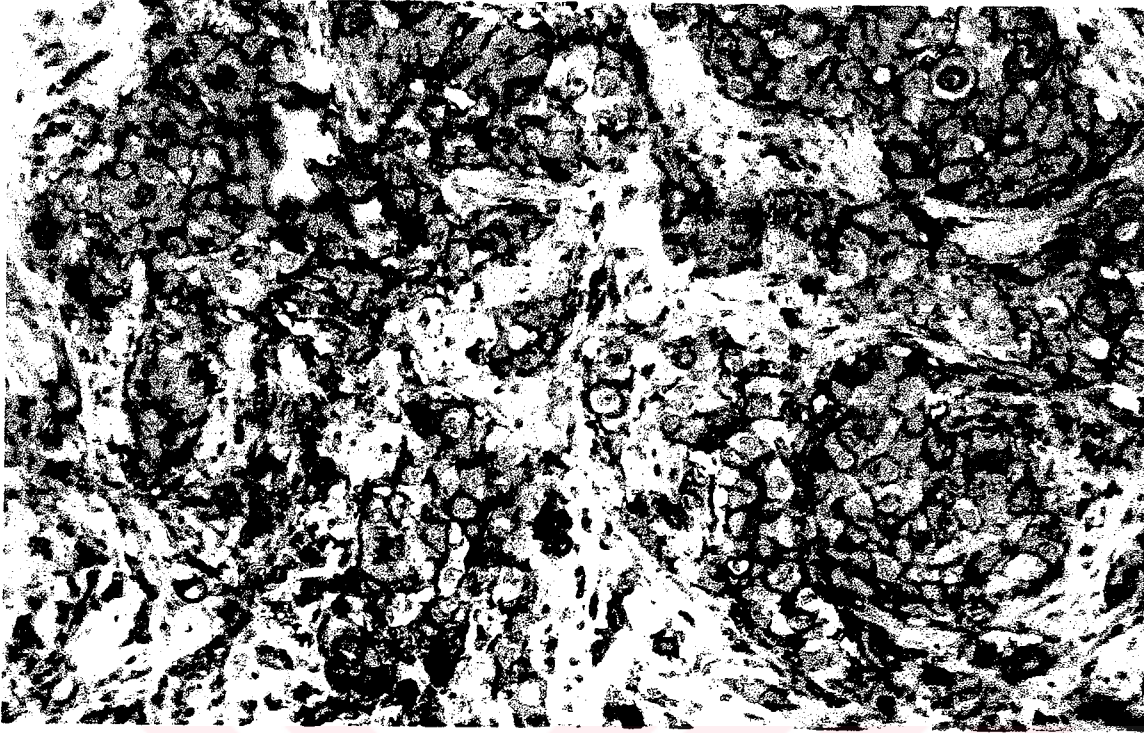
Resim 1: Skor 0 (Monoklonal CD44. x 400)



Resim 2: Skor I (Monoklonal CD44, x 200)



Resim 3: Skor II (Monoklonal CD44, x 200)



Resim 4: Skor III (Monoklonal CD44, x 200)

BULGULAR

49 meme kanserli olgu çalışmaya alınmıştır. Çalışmalara alınan hastalara ait tanı konduğu andaki bulgular aşağıdaki gibidir :

Ortalama yaş 54.8 , ortanca yaş 54.5 , en düşük yaş 30 ve en yüksek yaş 71 olarak saptanmıştır.

Hastalardan 2 tanesinin yaşı 35'in altındadır. Hastalardan 20'si premenapozal (% 41.6), 28'si postmenapozal (% 58.3) olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada 1 tane erkek hasta mevcuttur.

Primer tümör büyüklüğüne göre 13 hasta T₁ (% 26.5), 29 hasta T₂ (% 59.1), 7 hasta T₃ (% 14.2) olarak değerlendirilmiştir. T₄ hasta saptanmamıştır.

Aksiller lenf nod tutulumu 13 hastada negatiftir (% 26.5). Nod tutulumu olan 36 hasta (% 73.4) tutulan nod sayısına göre gruplandırıldığında; 1-3 nod tutulumu olan 15 hasta (% 30.6), 4-9 nod tutulumu olan 14 hasta (% 28.5) , ≥ 10 nod tutulumu olan 7 hasta (% 14.2) olarak saptanmıştır.

Bu bulgular ışığında evreleme şöyle gerçekleşmiştir:

5 hasta (% 10.2) Evre I , 16 hasta (% 32.6) Evre IIA, 17 hasta (% 34.6) Evre IIB ve 11 hasta (% 22.4) Evre IIIA olarak saptanmıştır. Evre IV hasta saptanmamıştır.

Nükleer gradlama Fisher yöntemine göre yapılmış, hastaların 27'si (% 55.1) grad II, 22'si grad III (% 44.8) olarak saptanmıştır. Grad I hasta saptanmamıştır.

Tüm hastaların ER durumu incelenmiştir. 21 hastada ER negatif (% 42.8) , 28 hastada (% 57.1) ER pozitif olarak saptanmıştır.

PgR durumu ise ; 20 hasta (% 40.8) PgR negatif , 29 hasta (% 59.1) PgR pozitif olarak saptanmıştır.

Elde edilen tümör doku CD44 düzeyi incelendiğinde skorlamaya göre 8 olgu (% 16.3) skor 0, 16 olgu (% 32.6) skor I, 12 olgu (% 24.4) skor II , 13 olgu (% 26.5) skor III olarak değerlendirilmiştir.

Hastalara ait genel özellikler Tablo – V'de toplu olarak görülmektedir.

Tablo – V : Genel Özellikler

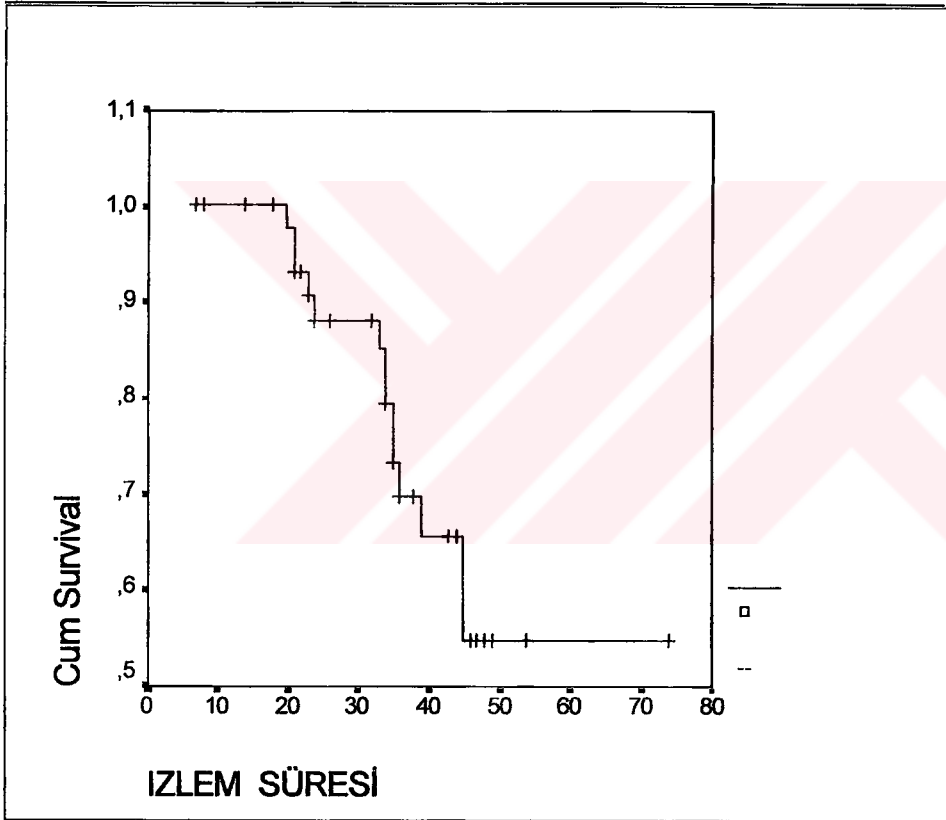
ÖZELLİKLER	SAYI	%
Toplam Hasta Sayısı (*)	49	
Yaş (Yıl)		
Minimum	30	
Maksimum	71	
Median	54.8	
Menapoz Durumu		
Premenapozal	20	41.6
Postmenapozal	28	58.3
Tümör Boyutu		
T ₁ ≤ 2 cm	13	27.0
T ₂ (2 – 5 cm)	29	59.1
T ₃ (> 5 cm)	7	14.2
Aksiller Lenf Nod Durumu		
Negatif	13	26.5
Pozitif	36	73.4
1-3	15	30.6
4-9	14	28.5
≥10	7	14.2
Evre		
I	5	10.2
IIA	16	32.6
IIB	17	34.6
IIIA	11	22.4
ER Durumu		
Pozitif	28	57.1
Negatif	21	42.8

(*) Çalışmadaki Hastalardan biri erkektir.

ÖZELLİKLER	SAYI	%
PgR Durumu		
Pozitif	29	59.1
Negatif	20	40.8
Nükleer Grad		
Grad I	0	0
Grad II	27	55.1
Grad III	22	44.8
Tümör Doku CD44 Düzeyi		
Skor 0	8	16.3
Skor I	16	32.6
Skor II	12	24.4
Skor III	13	26.5

SAĞ KALIM ANALİZLERİ

Çalışmaya alınan 49 meme kanserli hastanın takipleri sırasında 14'ü ölmüştür. Ölen hastalara ait ortalama yaş 58.8, ortalama izlem süreleri 37 aydır. Tüm hastalara ait kümülatif sağkalım % 71.5 olarak bulunmuştur. Halen yaşayan 35 hastanın takipleri sırasında 4'ünde lokal nüks , 7'sinde metastaz gözlenmiştir. Bu hastalara ait ortalama yaş 58.4 dır. Ortalama nüks süreleri 21.6 ay olarak hesaplanmıştır. En sık metastaz yeri ise 5 olgu ile kemiktir. Şekil II de tüm hastalara ait hastaliksız sağ kalım eğrisi görülmektedir (Şekil I).



Şekil I: Tüm Hastaların Hastaliksız Sağkalım Eğrisi

TÜMÖR DOKU CD44 DÜZEYİNİN STANDART PROGNOSTİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

Hasta yaşına göre tümör doku CD44 düzeylerini gösteren tablo (Tablo- VI) aşağıdadır.

Tablo- VI : Yaş ile Doku CD44 Düzeyi Arasındaki İlişki

PARAMETRE	BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞINA GÖRE DOKU CD44 DÜZEYLERİ				r
	SKOR 0	SKOR 1	SKOR 2	SKOR 3	
Yaş					0,244
≤35	0	2	0	0	p>0,05
>35	8	14	12	13	

Aradaki ilişkiler incelendiğinde yaş ile tümör doku CD44 boyama yoğunluğu ve yaygınlığı arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (r : 0,244).

Menapoz durumu ; premenapozal ve postmenapozal olmak üzere iki değişkene göre incelenmiştir. Hastalara ait menopoz durumuna göre tümör doku CD44 boyama yoğunluğu ve yaygınlığını gösteren tablo (Tablo- VII) incelendiğinde menopoz ve doku CD44 düzeyi arasında negatif yönlü anlamlı ilişki olduğu görülmektedir.

Tablo-VII : Menapoz Durumu ile Doku CD44 Düzeyi Arasındaki İlişki

PARAMETRE	BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞINA GÖRE CD44 DÜZEYLERİ				r
	SKOR 0	SKOR 1	SKOR 2	SKOR 3	
Menapoz Durumu					-0,428
Postmenapozal	4	4	8	12	p<0,05
Premenapozal	4	12	4	1	

Tümör boyutuna göre doku CD44 düzeylerini gösteren tablo (tablo- VIII) aşağıdaki gibidir.

Tablo- VIII : Tümör Boyutu ile Doku CD44 Düzeyi Arasındaki İlişki

PARAMETRE	BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞINA GÖRE DOKU CD44 DÜZEYLERİ				r
	SKOR 0	SKOR 1	SKOR 2	SKOR 3	
Tümör Boyutu					0,109 p>0,05
T ₁ (≤2 cm)	3	5	2	3	
T ₂ (2-5 cm)	5	9	10	5	
T ₃ (>5 cm)	0	2	0	5	
T ₄ (*)	0	0	0	0	

(*) :Tümör boyutu önemli olmaksızın inflamatuvar kanser veya cilt ya da toraks duvarında invazyon varlığı.

Bu bulgulara göre tümör boyutu ile doku CD44 boyanma yoğunluğu arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (r : 0.109).

Aksiller lenf nod tutulumuna göre doku CD44 seviyesini gösteren tablo ise aşağıdaki gibidir (tablo- IX).

Tablo-IX: Aksiller Lenf Nod Durumu ile Doku CD44 Düzeyi Arasındaki İlişki

PARAMETRE	BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞINA GÖRE DOKU CD44 DÜZEYLERİ				r
	SKOR 0	SKOR 1	SKOR 2	SKOR 3	
Aksiller Lenf Nod Durumu					0,30 p<0,05
Negatif	7	3	0	5	
Pozitif					
1-3	0	8	3	4	
4-9	0	1	7	6	
≥10	1	4	2	0	

Skor 3 CD44 boyama yoğunluğuna sahip hastaların % 66'sında cerrahi anında aksiller lenf nod tutulumu pozitifdir. Lenf nod negatif hastaların % 46.6'inin skor 0 boyanma

özelliği gösterdiği görölmüştür. Aksiller lenf nod tutulumu ile tümör doku CD44 düzeyi arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur (r: 0.30).

Tüm hastalarda ER ve PgR durumu incelenmiş olup doku CD44 düzeyi ile ER (r= -0,247) ve PgR durumu arasındaki (r: 0,090) ilişkiler anlamlı bulunmamıştır (tablo- X).

Tablo- X: ER ve PgR Durumu ile Doku CD44 Düzeyi Arasındaki İlişki

PARAMETRE	BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞINA GÖRE DOKU CD44 DÜZEYLERİ				r
	SKOR 0	SKOR I	SKOR II	SKOR III	
ER Durumu					-0,247 p>0,05
Negatif	3	4	6	8	
Pozitif	5	12	6	5	
PgR Durumu					0,090 p>0,05
Negatif	5	7	4	5	
Pozitif	3	9	8	8	

Nükleer gradlama Fisher yöntemine göre yapılmış olup, nükleer grad ile tümör doku CD44 boyanma yoğunluğu arasında ilişki saptanmamıştır (tablo- XI).

Tablo- XI : Nükleer Grad ile Doku CD44 Arasındaki İlişki

PARAMETRE	BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞINA GÖRE DOKU CD44 DÜZEYLERİ				r
	SKOR 0	SKOR I	SKOR II	SKOR III	
Nükleer Grad					0,113 p>0,05
Grad I	0	0	0	0	
Grad II	6	8	5	7	
Grad III	2	8	7	6	

Tablo-XII' de görüldüğü gibi hastalığın evresi ile tümör doku CD44 seviyesi arasında da pozitif yönlü anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

Tablo-XII : Hastalığın Evresi ile Doku CD44 Düzeyi Arasındaki İlişki

PARAMETRE	BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞINA GÖRE DOKU CD44 DÜZEYLERİ				r
	SKOR 0	SKOR I	SKOR II	SKOR III	
Evre					
1	3	1	0	1	0,404
2A	4	6	2	4	p<0,05
2B	1	7	8	1	
3A	0	2	2	7	
3B	0	0	0	0	
4	0	0	0	0	

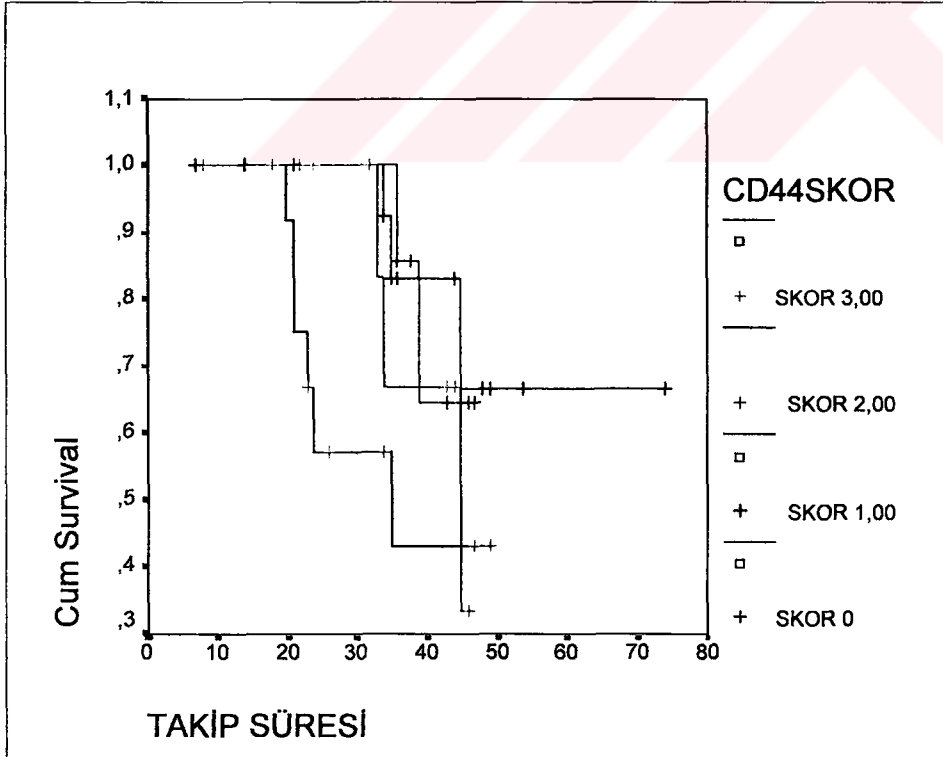
TÜMÖR DOKU CD44 DÜZEYİNİN HASTALIKSIZ SAĞKALIM İLE İLİŞKİSİ

Çalışmaya alınan 49 hastanın 14'ü takipler sırasında ölmüş, 4'ünde lokal nüks, 7'sinde metastaz gözlenmiştir. Tümör doku CD44 düzeyine göre nükseden hasta dağılımı Tablo- XIII'deki gibidir.

Tablo-XIII: Tümör Doku CD44 Düzeyine Göre Hasta Dağılımı ve Nüks Oranları

CD44 DÜZEYİ	HASTA SAYISI	NÜKS EDEN	HASTALIKSIZ YÜZDE
SKOR 0	8	3	63
SKOR 1	16	3	81
SKOR 2	12	11	8
SKOR 3	13	8	62
TOPLAM	49	25	48.9

Şekil II'de de görüleceği üzere tüm hasta grubunda hastaliksız sağkalım ile doku CD44 boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p: 0,001).



Şekil II:Doku CD44 Düzeyine Göre Hastaliksız Sağkalım Eğrisi

Aşağıda tümör doku CD44 boyanma yoğunluğuna ve yaygınlığına göre hasta dağılımı ve doku CD44 düzeyi ile standart prognostik faktörler arasındaki ilişkilerin incelendiği tablo toplu olarak korelasyon katsayıları ile birlikte görülmektedir (Tablo- XIV).

Tablo-XIV :Doku CD44 Düzeyi ile Diğer Prognostik Parametreler Arasındaki İlişkiler

PARAMETRE	BOYANMA YOĞUNLUĞU VE YAYGINLIĞINA GÖRE DOKU CD44 DÜZEYLERİ				r
	SKOR 0	SKOR I	SKOR II	SKOR III	
Yaş					r: -0,072
≤35	0	2	0	0	p>0,05
>35	8	14	12	13	
Menapoz Durumu					r: 0,419
Postmenapozal	4	4	8	12	p<0,01
Premenapozal	4	12	4	1	
Tümör Boyutu					r: 0,185
T ₁ (≤ 2 cm)	3	5	2	3	p>0,05
T ₂ (2- 5 cm)	5	9	10	5	
T ₃ (> 5 cm)	0	2	0	5	
T ₄ (*)	0	0	0	0	
Aksiller Lenf Nod					r: 0,293
Negatif	7	3	0	3	p<0,05
Pozitif					
1-3	0	8	3	4	
4-9	0	1	7	6	
≥10	1	4	2	0	
ER Durumu					r: -0,247
Negatif	3	4	6	8	p>0,05
Pozitif	5	12	6	5	
PgR Durumu					r: 0,090
Negatif	5	7	4	5	p>0,05
Pozitif	3	9	8	8	
Nükleer Grad					r: 0,113
Grad I	0	0	0	0	p>0,05
Grad II	6	8	5	7	
Grad III	2	8	7	6	
Evre					r: 0,404
1	3	1	0	1	p<0,01
2A	4	6	2	4	
2B	1	7	8	1	
3A	0	2	2	7	
3B	0	0	0	0	
4	0	0	0	0	

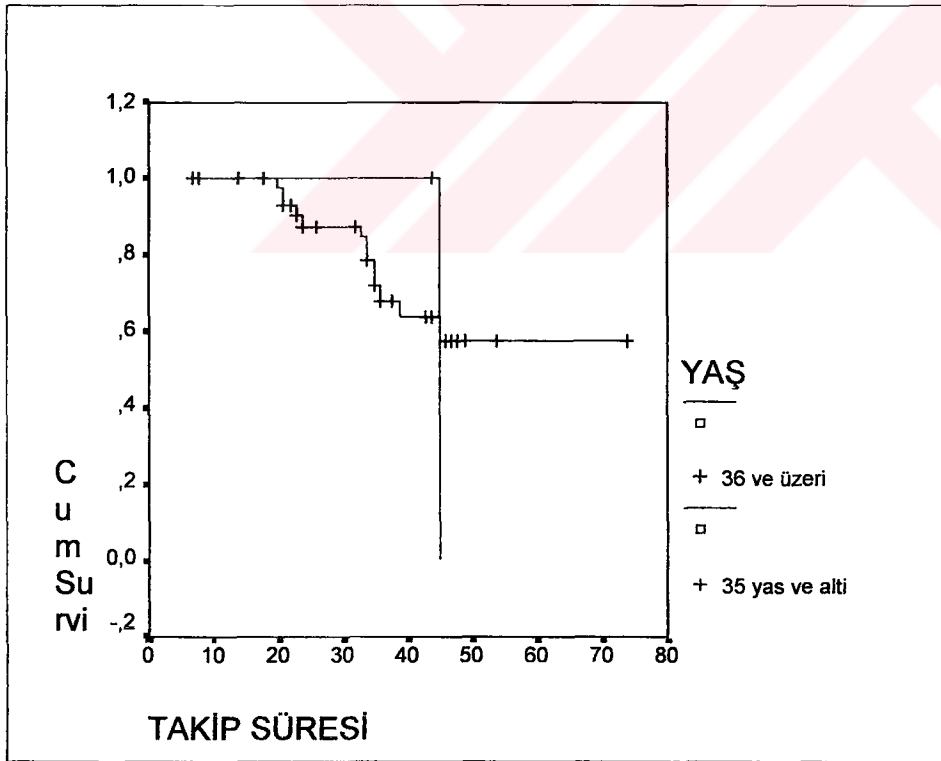
STANDART PROGNOSTİK PARAMETRELERE GÖRE HASTALIKSIZ SAĞKALIM ANALİZLERİ

YAŞ: Tanı anında 35 yaş altında bulunan olgularda nüks gözlenmezken 35 yaş üzerinde bulunan 47 olgudan 25'inde nüks olup, 14 olgu yaşamını yitirmiştir (Tablo- XV).

Tablo-XV : Yaş Durumuna Göre Hastaların Dağılımı ve Nüks Oranları

YAŞ DURUMU	HASTA SAYISI	NÜKS EDEN	HASTALIKSIZ YÜZDE
≤35	2	0	100
>35	47	25	47
TOPLAM	49	25	48.9

Yaş ile hastalıksız yaşam arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0,05$).



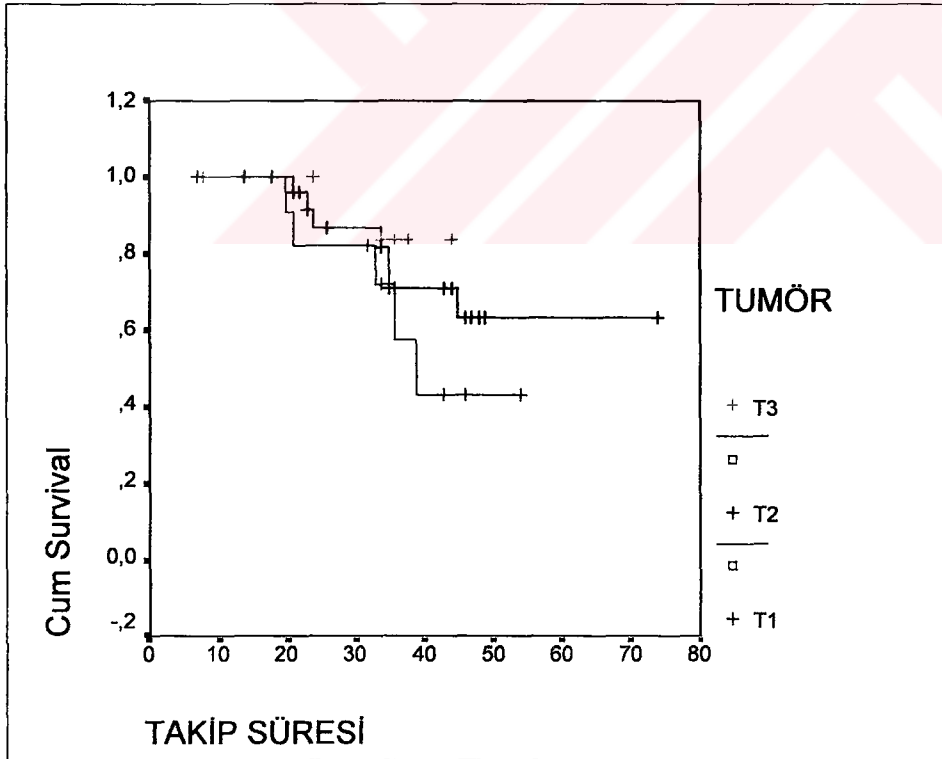
Şekil- IV: Yaş Durumuna Göre Hastalıksız Sağ Kalım Eğrisi

TÜMÖR BOYUTU: Tümör boyutu 2 cm ve altındaki 13 hastadan 7'sinde (% 53.8) nüks gözlenirken, T₃ grubunda bulunan 7 hastadan 3'ünde (%42.8) nüks gözlenmiş, bu hastaların 6'sı hayatını kaybetmiştir (Tablo- XVI).

Tablo-XVI: Tümör Boyutuna Göre Hasta Dağılımı ve Nüks Oranları

TÜMÖR BOYUTU	HASTA SAYISI	NÜKS EDEN	HASTALIKSIZ YÜZDE
T ₁	13	7	46
T ₂	29	15	51
T ₃	7	3	57
T ₄	0	0	0
TOPLAM	49	25	48.9

Şekil V'de görüleceği üzere tümör boyutu ile hastaliksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır (p:0,890).



Şekil-V : Tümör Boyutuna Göre Hastaliksız Sağkalım Eğrisi

AKSİLLER LENF NOD DURUMU : Cerrahi anında aksiller lenf nod negatif 13 hastanın 7'si rekürrensiz yaşıyorken 10 ve üzerinde lenfatik invazyon mevcut olan 7 hastanın 5'inde rekürrens görülmüştür (Tablo- XVII).

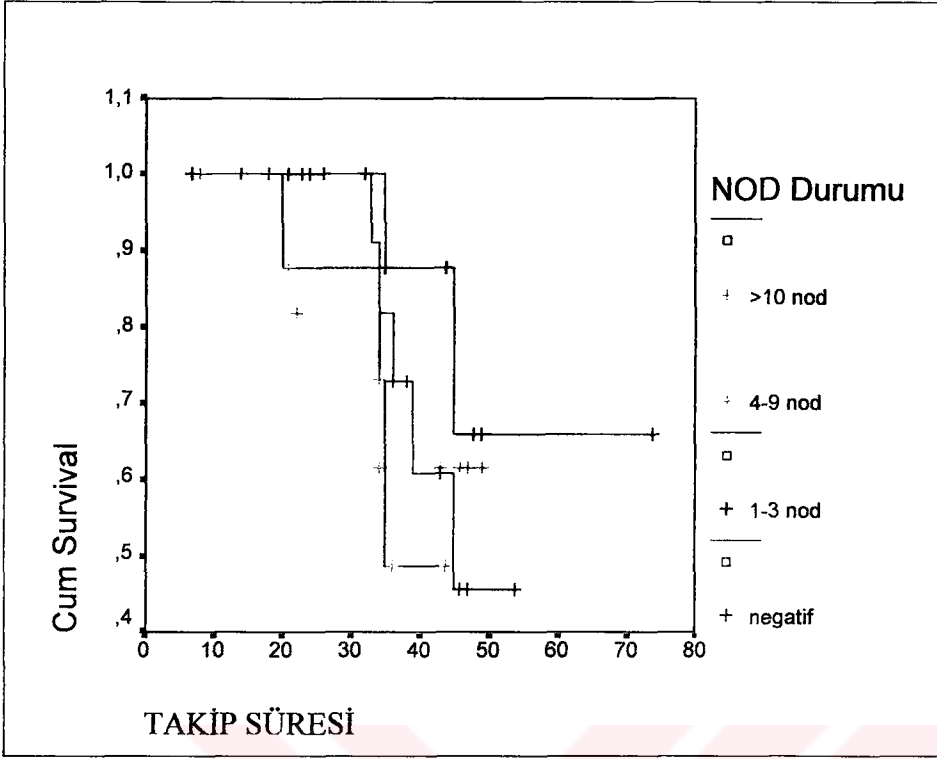
Tablo-XVII: Aksiller Lenf Nod Durumuna Göre Hasta Dağılımı ve Nüks Oranları

AKSİLLER DURUM	HASTA SAYISI	NÜKS EDEN	HASTALIKSIZ YÜZDE
NEGATİF	13	6	53.8
1-3 NOD POZİTİF	15	7	53.3
4-9 NOD POZİTİF	14	8	42.8
≥10 NOD POZİTİF	7	5	28.5
TOPLAM	49	25	48.9

Tümör boyutu ile aksiller lenf nod tutulumu arasındaki korelasyon (r: 0,351; p<0,05) anlamlı bulunmuştur (Tablo- XVIII).

Tablo- XVIII : Tümör Boyutu ile Aksiller İnvazyon Arasındaki İlişki

TÜMÖR BOYUTU	AKSİLLER NOD DURUMU		TUTULAN NOD SAYISI %			İNVAZYON SIKLIĞI
	NEGATİF	POZİTİF	N ₁	N ₂	N ₃	
T ₁	5	8	8(%100)	0(%0)	0 (%0)	%61.5
T ₂	8	21	17(%80)	4(%19)	0 (%0)	%72
T ₃	0	7	4(%57.1)	3(%42.8)	0 (%0)	%100
T ₄	0	0	0	0	0	0



Şekil-VI: Lenf Nod Durumuna Göre Hastaliksız Sağkalım Eğrisi

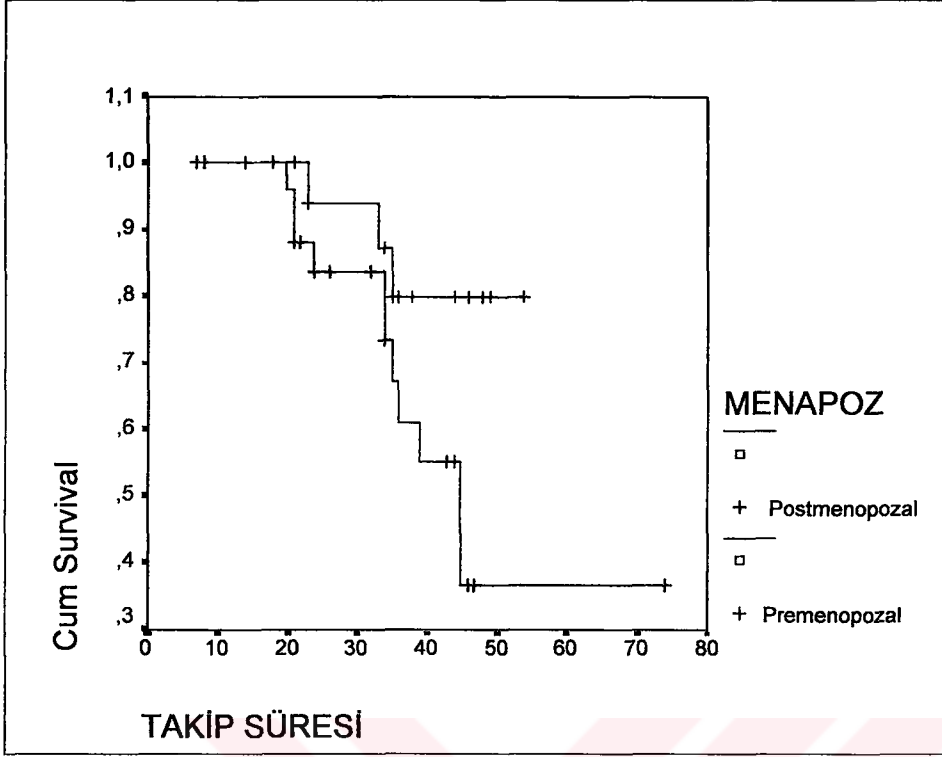
Ölen 14 hastanın cerrahi anında 9'unda (%64.2) aksiller lenf nod invazyonu mevcuttur.

MENAPOZ DURUMU: Menapoz durumuna göre hasta dağılımı ve nüks yüzdeleri Tablo- XIX'daki gibidir.

Tablo-XIX: Menapoz Durumuna Göre Hasta Dağılımı

MENAPOZ DURUMU	HASTA SAYISI	NÜKS EDEN	NÜKS YÜZDESİ
PREMENAPOZAL	20	7	35
POSTMENAPOZAL	28	18	64.2

Şekil- VII incelendiğinde hastaliksız sağkalım ile menopoz durumu arasında anlamlı bir ilişki mevcut değildir (p: 0,072).



Şekil-VII : Menapoz Durumuna Göre Hastaliksız Sağkalım Eğrisi

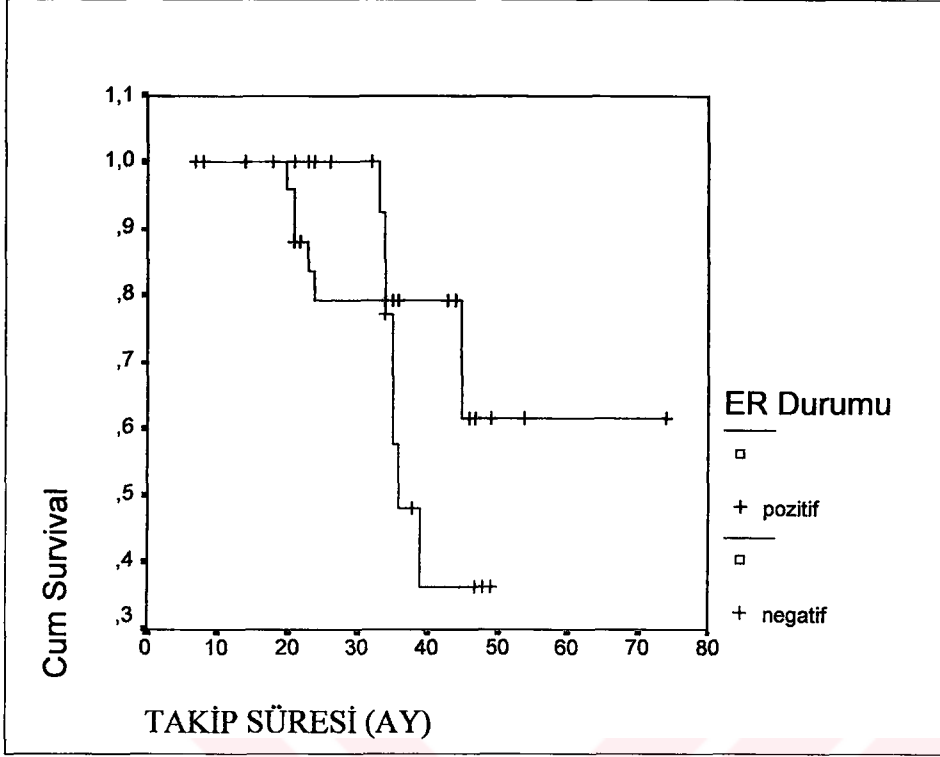
ER ve PgR DURUMU: ER negatif 21 hastadan 16'sı nüks ederken, ER pozitif 28 hastadan sadece 9'u nüks etmiştir (Tablo-XX).

Tablo-XX: ER Durumuna Göre Hasta Dağılımı ve Nüks Oranları

ER DURUMU	HASTA SAYISI	NÜKS EDEN	HASTALIKSIZ YÜZDE
NEGATİF	21	16	23.9
POZİTİF	28	9	67
TOPLAM	49	25	48.9

Takipler boyunca yaşamlarını yitiren 14 hastadan 8'inde (% 57.1) ER negatif bulunmuştur.

ER pozitifliği önemli ölçüde rekürrensiz yaşamla (p: 0,001) ilişkili olarak saptanmıştır (Şekil-VIII).

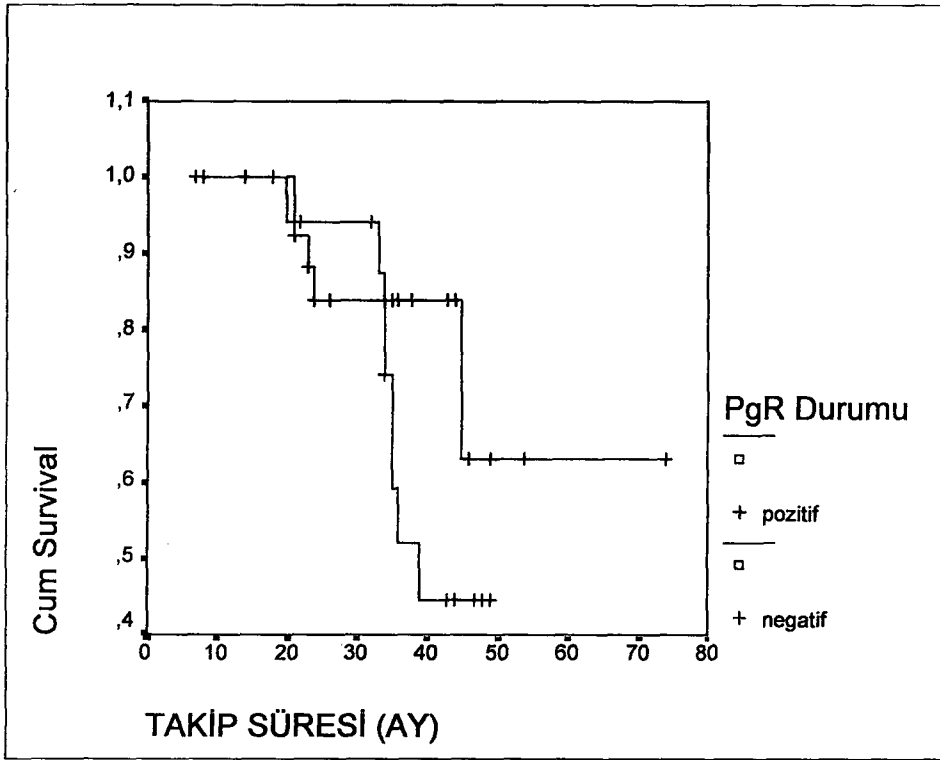


Şekil-VIII: ER Durumuna Göre Hastalüksız Sağkalım Eğrisi ().

Tablo-XXI: PgR Durumuna Göre Hasta Dağılımı ve Nüks Oranları

PgR DURUMU	HASTA SAYISI	NÜKS EDEN	HASTALIKSIZ YÜZDE
NEGATİF	20	12	40
POZİTİF	29	13	55.1

Takipler sırasında ölen 14 hastadan 8'i PgR negatiftir. Hastalüksız yaşam ile PgR durumu arasındaki ilişki ($p:0,177$) anlamsız bulunmuştur (Şekil-IX).



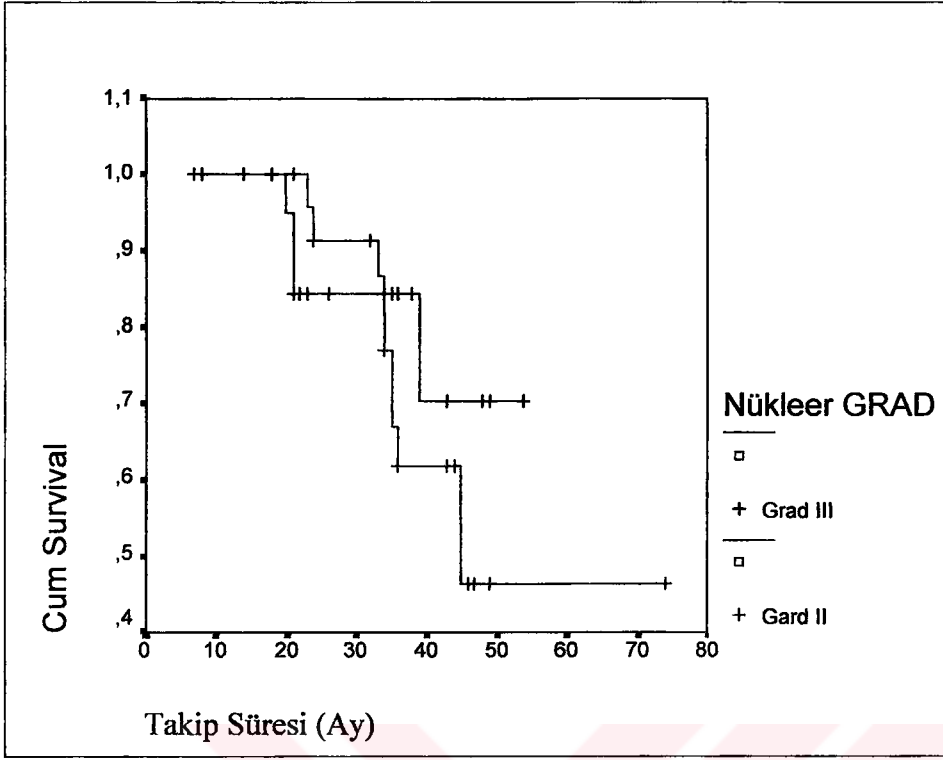
Şekil-IX: PgR Durumuna Göre Hastalüksız Sağkalım Eğrisi

NÜKLEER GRAD : Çalışmaya alınan 49 hasta içinde grad I hasta bulunmazken, grad II 27 hastanın 14'ünde, grad III 22 hastanın 11'inde nüks gözlenmiştir (Tablo-XXII).

Tablo-XXII: Nükleer Grad Durumuna Göre Hasta Dağılımı ve Nüks Oranları

NÜKLEER GRAD	HASTA SAYISI	NÜKS EDEN	HASTALIKSIZ YÜZDE
GRAD I	0	0	0
GRADII	27	14	48.1
GRAD III	22	11	50
TOPLAM	49	25	48.9

Nükleer grad ile hastalüksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki ($p:0,897$) bulunamamıştır.(Şekil-X).



Şekil-X: Nükleer Grad'a Göre Hastalısız Sağkalım Eğrisi

Tüm hasta grubunda tümör doku CD44 boyanma yoğunluğu ve yaygınlığının ve standart prognostik parametrelerin hastalısız yaşam ile olan ilişkileri tablo-XXIII'de toplu olarak görülmektedir.

Tablo-XXIII: Doku CD44 Düzeyi ve Prognostik Faktörlere Göre Hastalısız Sağkalım

PARAMETRE	HASTA SAYISI	NÜKS EDENLER	NÜKS ETMEYENLER
Yaş			
≤35	2	0	2
>35	47	25	22
Menapoz Durumu			
Postmenapozal	28	18	10
Premenapozal	20	7	13
Tümör Boyutu			
T ₁ (≤2cm)	13	7	6
T ₂ (2-5 cm)	29	15	14
T ₃ (>5cm)	7	3	4
T ₄ (*)	0	0	0
Aksiller Lenf Nod Durumu			
Negatif	13	6	7
Pozitif			
1-3	15	7	8
4-9	14	8	6
≥10	7	5	2
ER Durumu			
Negatif	21	16	5
Pozitif	28	9	19
PgR Durumu			
Negatif	20	12	8
Pozitif	29	13	16
Nükleer Grad			
Grad I	0	0	0
Grad II	27	14	13
Grad III	22	11	11
CD 44			
Skor 0	8	3	63
Skor I	16	3	81
Skor II	12	11	8
Skor III	13	8	62

STANDART PROGNOSTİK PARAMETRELERİN BİRBİRLERİYLE OLAN İLİŞKİLERİ

1. Çalışmamızda meme kanseri için standart olarak kabul edilmiş olan prognostik parametrelerin birbirleriyle olan ilişkileri incelendiğinde, tümör boyutu, aksiller lenf nod tutulumu, ER reseptör pozitifliği hastalığın evresi, nüks yüzdesi ve genel sağkalım oranı arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur.

2. Aksiller invazyon arttıkça nüks yüzdesi artmakta, genel sağkalım anlamlı ölçüde azalmaktadır.

3. ER pozitifliği ile hastalıksız yaşam yüzdesi ve genel sağkalım arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur.

4. PgR pozitifliği ile hastalıksız yaşam yüzdesi ve genel sağkalım arasındaki istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanamamıştır.

5. Nükleer grad ile hiçbir prognostik parametre, nüks yüzdeleri ve genel sağkalım arasında ilişki saptanamamıştır.

6. Menapoz durumu ile sadece tanı yaşı arasında kuvvetli bir ilişki bulunmuş, diğer standart prognostik parametreler ile arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Meme kanseri doğal seyri farklı klinik özellikler gösterebilen bir hastalıktır. Hastalığın seyrinde ortaya çıkabilecek farklı durumların önceden bilinebilmesi, takip ve tedavi için temel gerekliliktir.

Tümör boyutu, aksiller lenf nod durumu ve tutulan lenf nod sayısı ile klinik seyir arasında doğrudan ilişkinin varlığı, primer meme kanserli hastalarda tümör boyutu ve aksiller lenf nod durumunu, bilinen en güçlü prognostik faktörler haline getirmiştir. Fisher ve arkadaşları, aksiller lenf nod tutulumunun prognoz ile yüksek korelasyon gösterdiğini hatta prognozun doğrudan doğruya tutulmuş lenf nod sayısı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (33). Ancak nod negatif hastalarda da klinik seyrin değişken olması yeni prognostik faktör arayışlarına neden olmuştur.

Tümör invazyon ve metastazının, kanser hastalarında tedavideki başarısızlığın başlıca nedeni olması son yıllarda dikkatleri bu konu üzerinde yoğunlaştırmıştır. Bu çalışmalar ışığında, tümörün diğer dokulara invazyon ve metastazında önemli rol oynayan adhezyon moleküllerinden olan CD44 molekülü ilgi odağı olmuştur.

CD44 ekspresyonundaki artışın, özellikle CD44 V6 varyantının ratlarla oluşturulan deneysel ortamlardaki tümöral sistemlerle metastatik potansiyel taşıdığı gösterilmiştir (47,94). İnsanlarda yapılan çalışmalarda CD44 V6'nın nonhodgkin lenfoma ve kolonik adenokarsinomda kötü prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır (107,98). Ancak CD44 V6'nın renal hücreli karsinomda yapılan bir çalışmada (101) ve endometrial, üreterial ve skuamoz hücreli kanserde yapılan çalışmalarda prognostik önemi şüpheli olarak karşılanmıştır (41, 87).

Meme kanserinde ise CD44 ekspresyonundaki düzensizliğin, tümör gradı (65, 39), aksiller lenf nod tutulumu (76) ve östrojen reseptör durumu (58) gibi kötü prognostik faktörlerle ilişkili olduğu daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bununla beraber meme kanserinde son dönemlerde CD44 üzerindeki çalışmalar halen başlangıç aşamasında sayılır.

Yapılan bazı immünohistokimyasal çalışmalar CD44'ün normal meme epitel dokusunda eksprese edilmediğini göstermiştir (17,20,60,97). Başka bir çalışmada ise normal meme epitelinde CD44s , CD44 V6 ve V9'un bulunabileceği gösterilmiştir. Friedrich ve arkadaşları CD44 V6'nın duktal ve duktular epitel hücrelerde bulunabileceği gibi , CD44s'in fibroblast, endotelial hücreler ve lenfositler gibi stromal elementlerde de bulunabileceğini göstermiştir (39, 40).

Lida ve Bourguignon normal meme dokusunun aksine metastatik meme kanserinde yüksek düzeyde CD44 mevcut olduğunu göstermişlerdir (60). Kaufmann ve arkadaşları invaziv duktal kanserli hastaların %70-80'inde CD44s ve V6'nın pozitif olduğunu göstermişlerdir(67).

Friedrichs ve arkadaşları 1995 yılında , CD44s ve CD44 V9'un tümör büyüklüğü ve histolojik grad ile korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (39).

1995 yılında Kauffman ve arkadaşları, CD44 V6 pozitif meme kanserli hastaların, CD44 V6 negatif olgulara göre daha kısa yaşam süresi olduğunu ifade etmiştir (67). Ancak Friedrichs ve arkadaşları, duktal meme kanserli hastalar arasında, aslında CD44 pozitif tümör ekspresyonunun (cut off %50), daha yüksek mortalite ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir (39,40).

Joensuu ve arkadaşları 1993 yılında , CD44 pozitifliğinin kötü histopatolojik grad, yüksek mitotik indeks, negatif östrojen reseptör durumu gibi agresif faktörlerle ilişkili olduğunu bildirmiştir (65).

E.Özer ve T.Canda tarafından 1997 yılında yapılan bir çalışmada invaziv meme kanserli erken evre ve grad I 35 hastanın tümör dokuları incelenmiş , aksiller lenf nod tutulumu pozitif ve negatif olgular karşılaştırılmıştır. Tümör dokusunun CD44 ile boyanması nod negatif olguların %22'sinde pozitif olarak gözlenirken, nod pozitif olguların % 65'inde boyanma pozitif olarak saptanmıştır. Aynı korelasyon laminin boyanma pozitifliğinde gözlenmemiştir (84).

Sunulan çalışma, tümör doku CD44 düzeyinin standart prognostik parametreler ile olan ilişkilerini incelemek ve prognostik öneminin olup olmadığını araştırmak amacıyla başlatılmıştır. Çalışma 49 olguyu içermektedir. Hastalara ait mastektomi materyallerinden tümör dokusu içeren parafinize bloklara arşivden ulaşılarak yeniden inceleme yapılmıştır.

Tümör boyutu ile CD44 düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde T₃ grubunu oluşturan 7 olgudan 5'ünün skor 0, ikisinin skor 2, boyanma yoğunluk ve yaygınlığı gösterdiği görülmüştür. Diğer tümör boyutlarında yapılan incelemelerde de CD44 düzeyi ile tümör boyutu arasında ilişki saptanmamıştır.

Sunulan çalışmada, aksiller lenf nod invazyonu ile CD44 düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde lenf nod negatif hastaların %87.5'inin skor 0 boyanma özelliği gösterdiği görülmüştür. Bu oran nod pozitif hastalarda % 3.0 olarak saptanmıştır. Dolayısıyla bu sonuç CD44 düzeyi ile aksiller lenf nod tutulumu arasında korelasyon olduğunu düşündürmektedir.

Joensuu ve arkadaşları negatif östrojen reseptör durumu ile CD44 ekspresyonu arasında korelasyon saptamışken, sunulan çalışmada ER negatif ve pozitif olgularda CD44 boyanma yoğunluğu ve yaygınlığında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bu sonuç Bankfalvi ve arkadaşlarının 1997'de yaptığı 152 hastalık çalışmanın sonuçları ile uyumludur (5). Çalışmamızda yine PgR negatif ve pozitif olguların CD44 boyanma yoğunluk ve yaygınlığıyla farklılık görülmemiş, bu sonuçla Bankfalvi'nin çalışması ile (5) uyumlu görülmüştür.

Literatürde Joensuu ve arkadaşları CD44 ekspresyonunun kötü histolojik grad ile uyumlu bulmuşken, Bankfalvi ve arkadaşları CD44 ve histolojik grad arasındaki ilişkinin önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda CD44 boyanma yoğunluk ve yaygınlığı ile nükleer grad arasında anlamlı bir korelasyon saptanamamıştır.

Literatürde bugüne dek menapoz durumu ile doku CD44 düzeyini karşılaştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmazken çalışmamızda bulgularımız menapoz durumu ile tümör

doku CD44 boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı arasında negatif yönde bir ilişkinin bulunduğunu düşündürmektedir.

Sağkalım ve doku CD44 düzeyi üzerine yapılmış çalışma sayısının çok olmamasına rağmen, Kauffman ve arkadaşları CD44 V6 pozitif meme kanserli hastaların, negatiflere göre daha kısa sağkalım süresi olduklarını bildirmiş (67), Friedrichs ve arkadaşları CD44 pozitif tümör ekspresyonunun daha yüksek mortalite ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Bankfalvi'nin çalışmasında (5), CD44 V6 ile daha kısa sağkalım ve hastalısız süre ile ilişki saptanmışken, aynı ilişki CD44 V3, V4, V7 ve V9'da saptanmamıştır. Sunulan çalışmada ise CD44'ün skor 3 boyanma yoğunluk ve yaygınlığı gösteren hasta grubunda 13 hastadan 8'inde nüks görülürken, bu oran skor 0 boyanma yoğunluğu gösteren 8 olgudan 3'ünde nüks görülmesiyle azaldığı saptanmıştır.

Çalışmamızda CD44 boyanma ve yaygınlığı ile takiplerdeki ölüm sıklığı ve hastalısız sağkalım arasında korelasyon saptanmıştır.

Literatürde primer tümör büyüklüğü ile uzak metastaz arasında sıkı bir ilişkinin varlığı gösterilmişken (72, 83, 93), çalışmamızda da tümör boyutu ile aksiller invazyon arasında bir korelasyon saptanmıştır. Aksiller lenf nod invazyonu ile nüks arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Tutulan aksiller lenf nod sayısı 10'un üzerinde olan hastaların % 71,4'ünde rekürrens gözlenmiştir.

Knight ve arkadaşları, erken evre meme kanserinde ER'nin erken nüks açısından bağımsız prognostik önem taşıdığını (69), Clark ve arkadaşları, ER pozitif hastalarda hastalısız sağkalımın ER negatif hastalara göre daha uzun olduğunu bildirmişlerdir (15). Çalışmamızda yaşamını yitiren 14 hastanın yarısında ER negatiftir. ER negatif hastaların %76.1'inde nüks gözlenmiştir. Çalışmamızda ER durumu ile hastalısız sağkalım ve genel sağkalım yüzdeleri arasında korelasyonun varlığı, sonucun bu konudaki klasik bilgilerle uyumlu olduğunu düşündürmektedir.

Sunulan çalışmada yaş ile hastalısız ve genel sağkalım arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Bununla beraber literatürde hasta yaşının bazı çalışmalarda

önemli prognostik belirleyici olduğu belirtilirken , bazı çalışmalarda tümör boyutu ve aksiller nod tutulumu göz önüne alındığında önemi olmadığı bildirilmiştir (59).

Sonuç olarak CD44 ekspresyonunun meme kanserinde hastalısız ve genel sağkalımı etkilediği, diğer standart prognostik faktörlerden aksiller lenf nod tutulumu ve uzak metastaz ve menapoz durumu ile ilişkili olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz prognostik faktörlere ait bilgilerin çoğu retrospektif çalışmalardan alınmıştır. Çalışmamızda olgu sayısı az ve izlem süreleri kısadır. Ayrıca hastalarımıza uygulanan tedavi protokolleri standart değildir. Çok daha fazla sayıda hasta içeren, izlem süresi uzun, takip bilgilerinin tam, kullanılan yöntemlerin standart olduğu çok merkezli çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.



ÖZET

Meme Kanserinde Doku CD44 Düzeyinin Standart Prognostik Parametrelerle Korelasyonu ve Prognostik Önemi

Meme kanserinde nüks riskini hesaplamak, tedavi yaklaşımlarını planlamakta yarar sağlayacaktır. Bu amaçla hastalığın anatomik evresinden bağımsız yeni prognostik faktörlere ihtiyaç olacaktır. Tümör invazyon ve metastazının, kanser hastalarında tedavideki başarısızlığın başlıca nedeni olması çalışmaları bu konu üzerinde yoğunlaştırmıştır. İnvazyon ve metastazda önemli rol oynayan adhezyon moleküllerinden CD44 düzeyi çalışmamızda incelenmiştir.

Çalışmamızda cerrahi tedavi sonrası takip ve tedavi edilen Evre IIA, IIB ve IIIA 49 meme kanserli hastada inceleme yapıldı. Hastaların mastektomi materyallerinden elde edilmiş tümör dokuları incelendi. Doku CD44 düzeyi için monoklonal antikorlar kullanıldı. Skorişlama ışık mikroskopunda boyama yoğunluk ve yaygınlığına göre yapıldı. Prognostik parametreler arasındaki ilişkiyi saptamak için Spearman Korelasyon Testi, sağkalım analizleri için Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı.

Elde edilen sonuçlara göre tümör boyutu, ER ve PgR durumu, yaş, nükleer grad ile CD44 boyanma yoğunluk ve yaygınlığı arasında ilişki saptanmamış doku CD44 düzeyi ile aksiller lenf nod tutulumu, menopoz durumu ve hastalığın nüks yüzdesi arasında korelasyon saptanmıştır. Tümör boyutu ve aksiller lenf nod tutulumu arasında korelasyon gözlenirken, aksiller lenf nod tutulumu ile hastalığın nüks yüzdesi artmakta, sağkalım yüzdesinin azalmakta olduğu görülmüştür. Hastaliksız ve genel sağkalım oranları ile ER durumu arasında kuvvetli bir ilişki saptanmışken, PgR durumu arasında bir ilişki saptanmamıştır. ER pozitifliği önemli derecede rekürrensiz yaşamla ilişkili saptanmıştır.

CD44 ekspresyonu ile aksiller lenf nod tutulumu ve rekürrens sıklığı arasında saptanan korelasyon, CD44'ün invazyon ve metastaz için önemli bir prognostik faktör olduğunu düşündürmektedir. Ancak bu konuda çok daha fazla sayıda hasta içeren, izlem süresi uzun, kullanılan yöntem ve tedavilerin standardize edildiği, çok değişkenli istatistiksel analizlerin yapıldığı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

SUMMARY

The Prognostic Importance of Tissue CD44 Levels And Their Correlations With Standart Prognostic Factors in Breast Cancer

In the cases with breast carcinoma, the prediction of the relapse risk at the time of diagnosis will be useful in order to plan therapeutic modalities. Therefore, there will be a need for new prognostic factors independent from anatomic stage. In the breast cancer cases tumor invasion and metastasis are main factors that fail the treatment. Thus, investigations are focused on these topics. In this study, CD44 adhesion molecule levels which play an important role on invasion and metastasis are investigated.

Totally 49 breast carcinoma patients with stage I, IIA, IIB, IIIA are investigated after surgical treatment. The tumor tissue specimens of mastectomised patients were examined. Monoclonal antibodies were used for tissue CD44 analysis. Scoring was performed on light microscopy according to extensiveness and dye-density of CD44. Spearman correlation test and Kaplan-Meier methods were used to analyze the relations among the prognostic parameters and survival rates.

In respect of our data; There were no correlations between tissue CD44 level and tumor size, ER status, PgR status, age and nuclear grade. There was a statistically important correlation between CD44 levels and axillary node invasion, menopause status and relapse prevalence. As the tumor grows, axillary node prevalence and relapse rate increase and overall survival rate decreases significantly. There was positive correlation between ER status and disease free and overall survival rates. ER status positivity related with recurrence-free life strongly.

In conclusion, CD44 levels and axillary node involvement frequency correlates well with recurrence. We may suppose CD44 expression may be an important prognostic factor for tumor invasion and metastasis. Yet, more multicentric and multivariate statistical analyses including long-term followup, adequate patient population must be performed from this respect.

KAYNAKLAR

1. Adair, F. , Berg, J. , Joubert, J. : Long Term Follow up Breast Cancer Patients : The Thirty Year Report . Cancer, 33: 1145, 1974.
2. Alican, F.: Meme Kanseri, İstanbul, Güneş Kitabevi,1981, 3-16.
3. Andrulis, I.L., Bull, S.B., Blackstein, M.E., Sutherland, D., Mak, C., Sidlofsky, S., Pritzker, K.P.H., Hartwick, R.W.: *neu/erb* B-2 Amplification Identifies a Poor Prognosis Group of Women With Node-Negative Breast Cancer.J.Clin. Oncol.,4:1340-1349, 1998.
4. Aumailley, M.,Smyth, N.: The Role of Laminins in Basement Membran Function. J. Anat., 193: 1-21, 1998.
5. Bankfalvi, A., Terpe, H-J.,Breukelmann, D., Bier, B., Rempe, G.,Pschadka, G., Krech, R.& Boecker, W.: Gains and Losses of CD Expression During Breast Carcinogenesis and Tumor Progression.Histopathology., 33:107-116, 1998.
6. Bankfalvi, A., Terpe, H-J.,Breukelmann, D.,Brier, B., Rempe, D.,Pschadka, G., Krech, R., Lelle, R.J., Boecker, W.: Immunophenotypic and Prognostic Analysis of E-Cadherin and Beta-Catenin Expression During Breast Carcinogenesis and Tumor Progression a Comparative Study With CD44. Histopatholog England .,34: 25-34, 1999.
7. Bernstein, L.,Henderson, B.E., Hanisch, R.: Physical Exercise Activity Reduces The Risk of Breast Cancer in Young Women . Jour N Cl.,86: 1403- 1407, 1994.
8. Boring, C.C., Squires, T.S., Tong, T.: Cancer Statistics 1993. C.A.Cancer J. Clin., 43: 4-26, 1993.
9. Brown, T.A.,Bouchard, T., St.John, T., Wayner, E.,Carter, W.G.: Journal of Cell Biology, 113: 207-221,1991.
10. Bukholm, I.K., Nesland, J.M.,Karesen, R., Jacobsen, U.: E-Cadherin and Alpha -, Beta- and Gamma-Catenin Protein Expression in Relation To Metastasis in Human Breast Carcinoma. J.Pathology (England).,185: 262-266, 1998.

11. Carter, C., Allen, C., Henson, C.: Relation of Tumor Size, Lymph Node Status and Survival in 24.740 Breast Cancer Cases. *Cancer*, 63: 181, 1989.
12. Chambers, A.F., Matrisan, L.M.: Changing Views of The Role of Matrix Metalloproteinases in Metastasis. *J.Natl Cancer Inst.*, 89: 1260-1270, 1997.
13. Charlier, C., Bruyneel, E., Lechanteur, C., Bracke, M., Moreel, M, Castronovo, V. : Enhancement of Tamoxifen - Induced E-Cadherin Function by Ca²⁺ Channel Antagonists in Human Breast Cancer. MCF 7/6 Cells. *Eur.J. Pharmacol (Netherlands)*., 317: 413-416, 1996.
14. Clark, G.M., Mc Guire, W.L.: Steroid Receptors and Other Prognostic Factors in Primary Breast Cancer. *Semin Oncol.*, 15:20, 1988.
15. Clark, G.M.: Prognostic and Predictive Factors. In: Harris, J.R.L., Popman, M.E., Morrow, M., Hellman, S., eds. *Diseases of The Breast* Lippincott Raven, Philadelphia, New York 1996, 461.
16. Clayton, F.: Patologic Correlates of Survival in 378 Lymph Node Negative Infiltrating Ductal Breast Carcinomas: Mitotic Count Is Best Single Predictor. *Cancer*, 681: 309, 1991.
17. Cooper, D.L., Dougherty, G.J., Harn, H.J., Jackson, S., Baptist, E.W., Byers, J., Datta, A., Phillips, G., Isola, N.R., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 182: 569-578, 1990.
18. Costesso, G., Mouriessse, H., Friedman, S.: The Importance of Histologic Grade in Longterm Prognosis of Breast Cancer : A Study of 1010 Patient, Uniformly Treated at The Institut Gustave-Roussy. *J. Clin. Oncol.*, 5:1378, 1987.
19. Cropp, C.S., Lidereau, R., Leone, A.: NMEI Protein Expression and Loss of Heterozygosity Mutations in Primary Breast Tumors. *J. Natl Cancer Inst.*, 86: 1167, 1994.
20. Dall, P., Herder, K., Sinn, H. P., Skroch-Angel, P., Adolf, G., Kaufmann, M., Herrlich, P., Punta, H. : *Int. J. Cancer.*, 60: 471-477, 1995.
21. Darendeliler, E. : Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi. *Meme Kanseri; Biyoloji, Tanı, Evreleme, Tedavi. 3.Baskı. (Derleyen). Topuz, E. İstanbul. İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü Yayınları* 1997, 16-39.

22. Demers, F. A., Thomas, D.B., Rosenblatt, C.: Occupational Exposure to Electromagnetic Fields and Breast Cancer in Men. *A J Epidemiol*, 134: 340-342, 1991.
23. Dixon, M. J., Page, L. D., Anderson, J. T., Lee, D., Elton, A. R., Stewart, J.H., Forrest, M. P. A.: Long Term Survivors After Breast Cancer. *Br J Surg*, 72 : 445-448, 1985.
24. Dougherty, G. J., Lansdorp, P. M., Cooper, D. L., Humphries, R. K.: *Exp. Medicine*, 174: 1-5, 1991.
25. Drydale, J. W.: Ferritin As A Tumor Marker. *Jour of Clin Immunoassay*, 7: 234-240, 1983 (Abstr).
26. Dressler, L. G., Eudey, L., Gray, L.: Prognostic Potential of DNA Flow Cytometry Measurement in Nod Negative Breast Cancer Patient: Preliminary Anallsis of An Intergroup Study. *J. Natl. Cancer.*,11: 167, 1992.
27. Dupont, W., Page, D.: Relative Risk of Breast Cancer Varies with Time Since Diagnosis of Atypical Hyperplasia. *Hum Pathol*, 20: 723-725, 1989.
28. Dupont, W., Page, D.: Risk Factors for Breast Cancer in Women with Proliferative Breast Disease. *N Eng J Med*, 312: 146-151, 1985.
29. Efstathiou, J. A., Liu, D., Wheeler, J. M., Kim, H. C., Beck, N. E., Ilyas, M., Karayiannakis, A. J., Mortensen, N. J., Kmrot, W., Playfort, R. J., Pignatelli, M., Bodmer, W. F.: Mutated Epitelial Cadherin is Associated with Increased Tumorigenicity and Loss of Adhesion And of Responsiveness to The Motogenic Trefoil Factor 2 in Colon Carcinoma Cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 2316-2321, 1999.
30. El-Bahrawy, M. A., Pignatelli, M.: E-Cadherin And Catenins: Molecules with Versatile Roles in Normal And Neoplastic Epithelial Cell Biology. *Microsc Res Tech (USA)*., 43: 224-232, 1998.
31. Fidler, I. J.: Critical Factors in The Biology of Human Cancer Metastasis. Twenty-Eighth G. H. A. Clowes Memorial Award Lecture. *Cancer Res.*, 50: 6130-6138, 1990.
32. Fidler, I. J., Bielenberg, D., Slaton, J., Xu, L., Dinney, C., Dong, Z.: *American Society of Clinical Oncology.*, 1092-9118: 4-12, 2000.

33. Fisher, B., Bauer, M., Wickerman, D. L.: Relation of Number of Positive Axillary Lymph Nodes to The Prognosis of Patients with Primary Breast Cancer: An NSABP Update Cancer.,52: 1551, 1983.
34. Fisher, E. R., Gregorio, R. M., Fisher, B.: The Pathology of Invasive Breast Cancer. Cancer, 36: 1, 1975.
35. Foekens, J. A., Rio, M. C.: Sequin, P.: Prediction of Relapse And Survival in Breast Cancer by pS2 Protein Status. Cancer Res.,50: 3832, 1990.
36. Folkman, J.: What is The Evidence That Tumors are Angiogenesis Dependent ? J Natl Cancer Inst.,82: 4, 1990.
37. Ford, D., Easton, D. F., Bishop, D. T.: Risks of Cancer in BRCA 1 Mutation Carriers. Lancet, 343: 692-695, 1995.
38. Fox, S. B., Smith, K., Hollyer, J.: The Epidermal Growth Factor Receptor As a Prognostic Marcer: Results of 370 Patients and Review of 3009 Patients. Breast Cancer Res Treat, 29: 41, 1994.
39. Friedrichs, K., Franke, F., Lisboa, B. W.: CD44 Isoforms Correlate with Cellular Differentiation But Not with Prognosis in Human Breast Cancer. Cancer Research, 55: 5424-5433, 1995.
40. Friedrichs, K., Kögler, G., Franke, F., Terpe, J. J., Arit, J., Regidor, P. A., Günthert, U.: Lancet, 345: 1237, 1995.
41. Fujita, N., Yaegashi, N., Ide, Y.: Expression CD44 in Normal Versus Tumor Endometrial Tissues: Possible Implications of Reduced Expression of CD44 in Lymph-Vascular Space Involvement of Cancer Cells. Cancer Research, 54: 3922-3924, 1994.
42. Gasparini, G., Weidner, N., Bevilacqua, P.: Tumor Microvessel Density, p53 Expression, Tumor Size and Peritumoral Lymphatic Vessel Invasion are Relavant Prognostic Markers in Node Negative Breast Carcinoma. J Clin Oncol., 12: 454, 1994.
43. Giavazzi, R., Taraboletti, G.: New Targets for Cancer Treatment: Matrix. New Targets for Cancer Treatment, 61-63,1999.

44. Gu, Y., Sorokin, L., Durbeej, M., Hjalt, T., Jonsson, J. I., Ekblom, M.: *Blood (USA)*, 93: 2533-2542, 1999.
45. Guriec, N., Marcellin, L., Gairard, B.: CD44 Exon 6 Expression As a Possible Early Prognostic Factor in Primary Node Negative Breast Carcinoma. *Clin. Exp. Metastasis*, 14: 434-439, 1996.
46. Gupta, S. K., Douglas – Jones, A. G., Jasani, B., Morgan, J. M., Pignatelli, M., Mansel, R. E.: E-Cadherin Expression in Duct. Carcinoma in Situ of The Breast. *Virchows Arch (Germany)*, 430: 23-28, 1997.
47. Günthert, U., Hoffmann, M., Rudy, W.: A New Variant of Glycoprotein CD44 Confers Metastatic Potential to Rat Carcinoma Cells. *Cell*, 65: 13-24, 1991.
48. Haagensen, C. D.: *The Microscopical Classification of Breast Carcinoma. Disease of The Breast. Third Edition*, Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, HongKong, 1986..
49. Hadjimichael, O., Boyle, C., Meigs, J.: Abortion Before First Live Birth and Risk of Breast Cancer. *Brit J Cancer*, 53: 281-284, 1986.
50. Haynes, B. F., Liao, H. X., Patton, K. L.: The Transmembrane Hyaluronate Receptor (CD44): Multiple Functions, Multiple Forms, *Cancer Cells*, 3: 347-350, 1991.
51. Hazan, R. B., Kang, L., Whodey, B. P., Borgen, P. I.: N-Cadherin Promotes Adhesion Between Invasive Breast Cancer Cells and The Stroma. *Cell Adhes Commun (Switzerland)*, 4: 399-411, 1997.
52. He, Q., Lesley, J., Hyman, R., Ishihara, K., Kincade, P. W.: *Journal of Cell Biology*, 119: 1711- 1719, 1992.
53. Henderson, I. C.: Risk Factor for Breast Cancer Development. *Cancer*, 71: 2127-2140, 1993.
54. Henderson, I. C.: What Can A Woman Do About Her Risk of Dying of Breast Cancer? *Curr Probl Cancer*, 14: 165-230, 1990.
55. Hennessy, C., Henry, J. A., May, F. E.: Expression of The Antimetastatic Gene nm23 in Human Breast Cancer: an Association with Good Prognosis. *J Natl Cancer Inst*, 83: 281, 1991.

56. Hillen, H. F., Hak, L. E., Joosten – Achjanie, S. R., Arends, J. W.: Microvessel Density in Unknown Primary Tumors. *Int. J. Cancer*, 74: 81-85, 1997.
57. Hiraguri, S., Godfrey, T., Nakamura, H., Graff, J., Collins, C., Shayesteh, L., Doggett, N., Johnson, K., Wheelock, M., Herman, J., Baylin, S., Pinkel, D., Gray, J.: Mechanisms of Inactivation of E-Cadherin in Breast Cancer Cell Lines. *Cancer Res (USA)*, 58: 1972-1977, 1998.
58. Hole, A. K., Belkiri, A., Snell, L.S., Watson, P. H.: CD44 Variant Expression And Estrogen Receptor Status in Breast Cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 43: 165-173, 1997.
59. Howe, G., Hirohata, T., Hislop, T. G.: Dietary Factors and Risk of Breast Cancer: Combined Analysis of 12 Case-Control Studies. *J. N. C. I.*, 82: 561-568, 1990.
60. Iida, N., Bourguignon, L. Y. W.: *Journal of Cell Physiology*, 162: 127-133, 1995
61. Iida, N., Bourguignon, L. Y. : Coexpression of CD44 Variant (c 10/ex 14) and CD44 in Human Mammary Epithelial Cells Promotes Tumorigenesis. *J. Cell Physiol.*, 171: 152-160, 1997.
62. Isola, J., Visaroki, T., Holli, K.: Association of Overexpression of Tumor Suppressor Protein p53 with Rapid Cell Proliferation and Poor Prognosis in Node Negative Breast Cancer Patients. *J Natl. Cancer. Inst.*, 84: 1109, 1992.
63. İnanç, S.: Meme Kanserinin Doğal Seyri ve Prognostik Faktörler. Meme Kanseri: Biyoloji, Tanı, Evreleme, Tedavi 3. Baskı (Derleyen) Topuz, E. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları 1997, 72-101.
64. Ji, X., Woodard, A. S., Rimm, D.L., Fearon, E. R.: Transcriptional Defects Underlie Loss of E-Cadherin Expression in Breast Cancer. *Ceil Growth Differ (USA)*, 8: 773-778, 1997.
65. Joensuu, H., Klemi, P. J., Toikkanen, S., Jalkanen, S.: Glycoprotein CD44 Expression and Its Association with Survival in Breast Cancer. *American Journal of Pathology*, 143: 867-874, 1993.

66. Karaiossifidi, H., Kouri, E., Arvaniti, H., Sfikas, S., Vasilaros, S.: Tumor Angiogenesis in Node-Negative Breast Cancer: Relationship with Relapse Free Survival. *Anticancer Res (Greece)*, 16: 4001-4002, 1996.
67. Kaufmann, M., Herder, K. H., Sinn, H. P., Von Minckwitz, G., Ponta, H., Herrlich, P.: *Lancet*, 346: 502,1995
68. Klijn, J. G. M., Berns, P. M. J., Schmitz, P. I. M.: Epidermal Growth Factor Receptor (EGF-R) in Clinical Breast Cancer: Update 1993. *Endocr Rev*, 1: 171, 1993.
69. Knight, W. A., Livinston, R. B., Gregory, E. J.: Estrogen Receptor as an Independent Prognostic Factor For Early Recurrence in Breast Cancer. *Cancer Res*, 37: 4669, 1997.
70. Koch, M., Olson, P. F., Albus, A., Jin, W., Hunter, D. D., Brunker, W. J., Burgeson, R. E., Champlaud, M. F.: Characterization and Expression of The Laminin Gamma 3 Chain: A Novel, Non Basement Membrane Associated, Laminin Chain. *Journal of Cell Biology (USA)*,145: 605-618, 1999.
71. Kolar, J., Bek, V., Vrabeck, R.: Hypoplasia of the Growing Breast After Contact X-ray Therapy for Cutaneous Angiomas. *Arch Dermatol*, 96: 427-429, 1967.
72. Koscielny, S., Tubiana, M., Le, M.: Breast Cancer: Relationship Between the Size of the Primary Tumor and the Probability of Metastatic Dissemination. *Br J Cancer*, 49: 709, 1984.
73. Kremmidiotis, G., Baker, E., Crawford, J., Eyre, H. J., Nahmias, J., Callen, D. F.: Localization of Human Cadherin Genes to Chromosome Regions Exhibiting Cancer Related Loss of Heterozygosity. *Genomics (USA)*, 49: 467-471, 1998.
74. London, S. J., Connoly, J. L., Schnitt, S. J.: A Prospective Study of Benign Breast Disease and Risk of Breast Cancer. *JAMA*, 267: 941-944, 1992.
75. Mac Mahon, B., Cole, P., Brown, J.: Etiology of Human Breast Cancer. A review. *J Natl Cancer Inst*, 50: 21-42, 1973.
76. Matsumara, X., Tarin, D.: Significance of CD44 Gene Products For Cancer Diagnosis and Disease Evaluation. *Lancet* , 340: 1053-1058, 1992.

77. Mc Divitt, W. R., Stewart, W. F., Berg, W. J.: Tumors of the Breast. Atlas of Tumor Pathology, 2th. Series, Fascicle 2, Firminger Iharlan, Washington, DC Armed Forces Institute of Pathology, 1968,18-101.
78. Mc Pherson, K., Vessey, M., Neil, A.: Early Oral Contraceptive Use and Breast Cancer. *Br J Cancer*,56:653-660, 1987.
79. Meirik, O., Lund, E., Adami, H.:Oral Contraceptive Use and Breast Cancer in Young Women. *Lancet*, 2: 650-653, 1986.
80. Miller, D., Rosenberg, I., Kaufmann, D.: Breast Cancer Before Age 45 and Oral Contraceptive Use. *Am J Epidemiol*, 129: 260-280, 1989.
81. Mitra, I., Macrae, K. D.: A Meta Analysis of Reported Correlations Between Prognostic Factors in Breast Cancer: Does Axillary Lymph Node Metastasis Represent Biology or Chronology? *Eur J Cancer*, 27: 1574, 1991.
82. Naor, D., Sionov, R. V., Ish-Shalom, D.: CD44: Structure, Function and Association with the Malignant Process. *Advance in Cancer Research*, 71: 241-319, 1997.
83. Nemoto, T., Natarajan, N., Bedwani, R.: Breast Cancer in the Medial Half: Results of the 1978: National Survey of the American College of Surgeons. *Cancer*, 51: 1333, 1983.
84. Ozer, E., Canda, T., Kurtodlu, B.: The Rde of Angiogenesis, Laminin and CD44 Expression in Metastatic Behavior of Early Stage Low-Grade Invasive Breast Carcinomas. *Cancer Letters*,121:119-123,1997.
85. Pals, S. T., Horst, E., Ossekoppele, G. J., Figdor, C. C., Scheper, R. J., Meijer, C. J.: *Blood* 73: 885-888, 1989.
86. Persson, I., Yuen, J., Berkgvis, L.: Combined Estrogen-Progesteron Replacement and Breast Cancer Risk. *Lancet*, 340: 1044, 1992.
87. Piffko, J., Bankfalvi, A., Klauke, K.: Unaltered Strong Immunohistochemical Expression of CD44-V6 and V5 Isoforms During Development and Progression of Oral Squamous Cell Carcinomas. *J. Oral Pathol. Med.*, 25: 502-506, 1996.

88. Ponce, M. L., Nomizu, M., Delgado, M. C., Kuratomi, Y., Hoffman, M. P., Powell, S., Yamada, Y., Kleinman, H. K. Malindo, K. M.: Identification of Endothelial Cell Binding Sites on the Laminin Gamma 1 Chain. *Circ Res. (USA)*, 84: 688- 694, 1999.
89. Quackenbush, E. J., Vera, S., Greaves, A., Letartre, M.: *Mol. Immunology*, 27: 947-955, 1990.
90. Radinsky, R.: Growth Factor and Receptors in Cancer Metastasis. *American Society of Clinical Oncology*, 1092-9188: 23-30, 2000.
91. Ravdin, P. M.: Evaluation of Cathepsin D as a Prognostic Factor in Breast Cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 24: 219, 1993.
92. Rosen, P., Groshen, S., Siago, P.: A Long Term Follow Up Stage 1 and Stage 2 Breast Carcinoma. *J Clin Oncol*, 7: 335, 1989.
93. Schottenfeld, D., Nash, A., Robbins, G.: Ten Year Results of the Treatment of Primary Operable Breast Carcinoma. *Cancer*, 38: 1001, 1976.
94. Seiter, S., Arch, R., Reber, S.: Prevention of Tumour Metastasis Formation by Anti-Variant CD44. *J. Exp. Medicine*, 177: 443-455, 1993
95. Siitonen, S. M., Kononen, J. T., Helin, H. J., Rantala, I. S., Holli, K. A., Isola, J. J.: Reduced E-Cadherin Expression in Associated with Invasiveness and Unfavorable Prognosis in Breast Cancer. *American Journal of Clinical Pathology*, 105: 394-402, 1996.
96. Silvestrini, R., Benini, E., Daidone, M.G.: p53 as an Independent Prognostic Marker in Lymph Node Negative Breast Cancer Patients. *J. Natl. Cancer Inst.*, 85: 965, 1993.
97. Sinn, H. P., Heider, K. H., Skroch-Angel, P., Von Minckwitz, G., Kaufmann, M., Herrlich, P., Ponta, H.: *Breast Cancer Res. Treat.*, 36: 307-313, 1995.
98. Stauder, R., Eisterer, W., Thaler, J., Günthert, U.: CD44 Variant Isoforms in Non-Hodgkin's Lymphoma: A New Independent Prognostic Factor. *Blood*, 10: 2885-2899, 1995.
99. Tamargo, R. J., Bok, R. A., Brem, H.: Angiogenesis Inhibition by Minocycline. *Cancer Res.* 51: 672-675, 1991.

100. Tannock, I. F., Hill, R. P.(Eds): The Basic Science of Oncology. 2nd Ed. New York, Mc Graw-Hill, 1992.
101. Terpe, H. J., Störkel, S., Zimmer, U.: Expression of CD44 Isoforms in Renal Cell Tumors:Positive Correlation to Tumor Progression. American Journal of Pathology, 148:453-463, 1996.
102. Thomas, L., Byers, H. R., Vink, J., Stamenkovic, I.: CD44H Regulates Tumor Cell Migration on Hyaluronate-Coated Substrates. Journal of Cell Biology, 118: 971-977, 1992.
103. Thor, A. D., Moore, D. H.,Edgerton, S. M.: Accumulation of p53 Tumor Suppressor Gene Protein: An Independent Marker of Prognosis in Breast Cancer. J. Natl. Cancer Inst., 84: 845, 1992.
104. Üskent, N.: Molecular Mechanism of Cancer Invasion Inclusive Angiogenesis. Basic Course in Medical Oncology, ESMO Belek Antalya, 12-15 April 2000.
105. Van den Brant, P. A., Goldbohm, P. A., Mittendorf, R.: A Cohort Study on Alcohol Consumption and Breast Cancer.Am. J. Epidemiol, 139: 274, 1994.
106. Viacava, P., Naccorato, A. G., Collechi, P., Menard, S., Castronovo, V., Bevilacqua, G.: The Spectrum of 67-kD Laminin Receptor Expression in Breast Carcinoma Progression Journal of Pathology (England), 182: 36-44, 1997.
107. Wielega, V. J. M., Heider, K. H., Offerhaus, J. A.: Expression of CD44 Variant Proteins in Human Colorectal Cancer is Related to Tumor Progression. Cancer Research, 53: 4754-4756, 1993.
108. Wintzer, H. O., Ziffel, I., Schulte-Monting, J.: Ki-67 Immunostaining in Human Breast Tumors and Its Relationship to Prognosis. Cancer, 67: 421, 1991.
109. Wojtowicz-Praga, S. M., Dickson, R. B., Hawkins, M. J.: Matrix Metalloproteinase Inhibitors. Invest New Drugs., 15: 61-75, 1997.