

T.C.
Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Patoloji Laboratuvarı

Klinik Şef Vekili
Doç. Dr. Fügen Vardar Aker

**YAYGIN İNSİTU DUKTAL KARSİNOMLU İNVAZİV
DUKTAL KARSİNOMLAR İLE İNSİTU DUKTAL
KARSİNOMSUZ İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMLARIN
NORMAL MEME EPİTELİNDE ÖSTROJEN RESEPTÖR-
EKSPRESYONUNUN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Taşkın ERKİNÜRESİN
Patoloji
Tıpta Uzmanlık Tezi

İstanbul
2009

T.C.
Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Patoloji Laboratuvarı

Klinik Şef Vekili
Doç. Dr. Fügen Vardar Aker

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Fügen Vardar Aker

**YAYGIN İNSİTU DUKTAL KARSİNOMLU İNVAZİV
DUKTAL KARSİNOMLAR İLE İNSİTU DUKTAL
KARSİNOMSUZ İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMLARIN
NORMAL MEME EPİTELİNDE ÖSTROJEN RESEPTÖR-
EKSPRESYONUNUN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Taşkın ERKİNÜRESİN
Patoloji
Tıpta Uzmanlık Tezi

İstanbul
2009

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitim süresince Patoloji bilimini öğrenmemde bilgi ve deneyimlerini aktararak yol gösteren, yönetimi altında düzenli bir ortamda çalıştığım klinik şef vekilimiz ve tez danışman hocam Doç. Dr. Fügen Vardar Aker'e tezime katkılarından dolayı çok teşekkür ederim. Tezimin grupları arasındaki çeşitli parametreler arasındaki karşılaştırmaları istatistiksel olarak hesaplayan Sayın Rana Konyalıoğlu'na, ayrıca tezimin oluşumunda özellikle immunhistokimya inceleme aşamasındaki katkılarından dolayı teknisyenlerimiz Naciye Erdoğan ve Kader Bahayi'ye de teşekkürlerimi sunmak isterim.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1.MEME EMBRİYOGENEZİ VE İNFANTİL MEME GELİŞİMİ:	5
2.2. HİSTOLOJİ.....	7
2.2.a. Adolesan Memesi.....	7
2.2.b. Menstruel Siklusta Meme	8
2.2.c. Erişkin Memesi.....	8
2.3. MEME KARSİNOMU	9
2.3.a. Etiyoloji ve Patogenez.....	9
2.3.b. Herediter Meme Kanseri.....	12
2.3.c. Sporadik Meme Kanseri.....	13
2.3.d. Karsinogenez Mekanizmaları.....	14
2.4. İN SİTU DUKTAL KARSİNOM (DCIS) VE İNVAZİV DUKTAL KARSİNOM	21
2.5. ÖSTROJEN RESEPTÖRÜ.....	23
4. MATERYAL VE METOD	26
5. BULGULAR.....	28
6. TARTIŞMA	40
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
8. KAYNAKLAR	45

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADH	: Atipik Duktal Hiperplazi
AF	: Aktivasyon Parçası
DCIS	: İn Situ Duktal Karsinom
DNA	: Deoksiribo Nukleik Asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
EGF-R	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ER	: Östrojen Reseptörü
ER Pt. NMD	: Peritümöral Normal Meme Dokusunda Östrojen Reseptörü
ER-	: Östrojen Reseptörü Negatif
ER+	: Östrojen Reseptörü Pozitif
IDC	: İnvaziv Duktal Karsinom
IGF	: İnsulin Büyüme Faktörü
IGFBP	: İnsulin Büyüme Faktörü Bağlayan Protein
ILC	: İnvaziv Lobuler Karsinom
kDa	: Kilo Dalton
KW	: Kruskal Wallis
LCIS	: İn Situ Lobuler Karsinom
LOH	: Heterozigositenin Kaybı
MW	: Mann-Whitney-U
pN	: Bölgesel Lenf Nodu Durumu
PR	: Progesteron Reseptörü
RNA	: Ribo Nukleik Asit
SHBG	: Seks Homonu Bağlayan Globulin
TGF	: Transforming Büyüme Faktörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Meme kanseri dünyada kanserle ilişkili ölümlerin en sık sebebidir (1). Bu nedenle meme karsinogenezini açıklamak için günümüze kadar birçok araştırma yapılmıştır. Birçok araştırmacı meme karsinogenezinin çok adımlı bir süreç olduğuna inanmaktadır (2). Bununla birlikte meme karsinogenezinin etyolojik mekanizmaları tamamiyle anlaşılamamıştır.

Histolojik olarak normal meme epitel, epitel hücrelerinin % 4-15 kadarında östrojen reseptörü- ER- eksprese etmektedirler (3, 4, 5). Hatta son zamanlarda yapılan bir çalışmada insan meme glandının yaklaşık olarak % 7'sinin ER- pozitif (ER+) hücrelerden oluştuğunu ve stromal hücrelerin ER- negatif (ER-) oldukları rapor edilmektedir (6).

Puberte, gebelik, laktasyon, menapoz ve menstruel siklus esnasında memede görülen fizyolojik değişikliklerin hepsi kan östrodiolünün miktarlarıyla ilişkilidirler (7, 8, 9, 10). Ayrıca östrojen gebelikte (11) ve menstruel siklus (3) esnasında memede nonkanseroz epitelyal proliferasyon ile de ilişkilidir. ER- erken meme lezyonlarının meme kanserine ilerlemesinde anahtar bir rol oynamaktadır (12).

ER- aynı zamanda meme kanseri için kabul edilen bir prognostik ve öngörü faktörüdür (13). Bunların dışında meme gland epitelinden kaynaklanan malign neoplazmların % 50'sinden fazlası da ER+'tır (14). Östrodiolün hem ER- bağımlı hem de genotoksik ER- bağımsız etkileri ile meme kanseri oluşumuna yol açtığı da rapor edilmiştir (15).

Günümüzde postmenapozal benign meme parenkimine olan etkileri tam olarak anlaşılamadığı için hormon replasman tedavilerinin uygulanması da hala tartışmalıdır (16). Meme kanseri tedavisinde antiöstrojenler östrojen seviyelerini azaltarak ve östrojen reseptörlerine yarışmalı agonist olarak bağlanarak etki etmektedirler (17, 18). Ayrıca farklı ırk ve etnik gruptan kadınlar arasında biyolojik özellikler, histoloji ve hormon durumundaki değişikliklere rağmen ER- durumu tedaviye yanıtı belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır (19, 20, 21, 22). Fakat birçok meme

tümörü endokrin tedaviye cevap vermemekte veya direnç geliştirmektedir (23). Bunun sebebi olarak ER+ tümör hücrelerinin eninde sonunda endokrin tedaviye ve östrojene duyarsız tümör kitlesine dönüşmesi gösterilmektedir (24). Kırık östrojen varyantlarının varlığı da östrojen durumu ve endokrin tedaviye cevap arasındaki tutarsızlıkların nedenini kısmen açıklamaktadır (25).

Ayrıca östrojenin meme kanserinin epidemiyolojik risk faktörlerinin birçoğu ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (26, 27, 28). Geçmişte ER- durumunun hastalığın farklı evrelerinin bir göstergesi olup olmadığını veya ER+ tümörlerin etyolojik olarak ER- tümörlerden farklı olup olmadığını değerlendirmek için birçok araştırma da yapılmıştır (29, 30, 31). Yapılan bir çalışmada ise gen ekspresyon paternleri ER+ ve ER- meme kanserlerinin farklı kök hücrelerden gelişebileceklerini akla getirmekte olup ER- meme kanserlerinin östrojenden bağımsız olarak geliştiklerini düşündürmektedir (32, 33). Bu da meme karsinogenezine yeni bir sayfa açmaktadır.

Bütün bu bilgiler ve ilaveten geçmiş elli yılda yapılan araştırmalar reproduktif hormonların özellikle östrojen ve östrojen hormon reseptörlerinin meme karsinogenezinde önemli rolleri olduğunu açığa çıkarmışlardır (34, 35, 36).

İnvaziv duktal karsinom (IDC)'lar meme karsinomlarının % 75-80'ini oluşturan malign meme tümörlerinin en önemli grubudur (37, 38). IDC'lar bazen yaygın olarak duktal karsinoma in situ (DCIS) ile birlikte olurlarken bazen de çok az veya hiç eşlik eden DCIS içermezler. İnvaziv karsinomun içinde veya çevresinde neoplazmin en az % 25'ini oluşturan bir DCIS varsa buna yaygın DCIS içeren IDC denir.

IDC'lar DCIS ile birlikte olduğunda hem IDC hem de DCIS komponentlerinin histolojik dereceleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (39). Bu bilgi bize tümörün önemli bir prognostik özelliğini kazandırmaktadır; yani preinvaziv evrede tümörün klinik davranışını DCIS'nun derecesine bakarak tahmin edebilme özelliği. Yani high grade DCIS'dan high grade IDC, low grade DCIS'dan low grade IDC gelişeceği bilebilme özelliği. Genetik çalışmalarda aynı tümörün hem invaziv hem de DCIS komponentinde heterozigositenin kaybının (LOH) benzer paternlerinin görülmesi de bu hipotezi daha da desteklemektedir (40).

Silverberg ve Chilate (41) yaptıkları araştırmada tümördeki DCIS komponenti yaygın olduğunda daha az lenf nodu metastazı ve daha iyi bir prognoza eğilim olduğunu gördüler. Ayrıca primer tümörün içinde ve çevresinde DCIS'nun yaygınlığı lumpektomi ve radyoterapiden sonra memede rekürrens riski ile ilişkili görülmektedir (42). Bu özellik mastektomi veya meme koruyucu cerrahi ile tedavi edilmiş kadınlarda sistemik rekürrens riski ile ilişkili görülmemektedir (43, 44). Komedo DCIS veya yaygın DCIS'ya sahip kadınlarda lumpektomi ve radyasyon tedavisinden sonra rekürrens memede daha sık meydana gelmektedir (40). Yaygın DCIS komponentine bağlanan artmış lokal rekürrens riski belki de büyük olasılıkla memede geride kalmış veya cerrahi sınırdan geçen karsinomun sonucudur. Cerrahi sınırları negatif olan hastalarda yaygın DCIS varlığı meme koruyucu tedaviden sonra memede lokal rekürrens için riskte artışa neden olmamaktadır (45, 46).

Jing ve arkadaşları (47) yaygın DCIS içeren IDC'ların biyolojik karakteristiklerini araştırmışlardır. Yaygın DCIS komponenti genellikle c-erbB-2 için invaziv tümör ile aynı ekspresyon paterni göstermekteydi. c-erbB-2'nin overekspresyonu yaygın DCIS'lu vakalarda daha yaygındı ve yaygın DCIS'lu IDC'larda lenfatik tümör embolisi ve venöz invazyon anlamlı derecede daha sıktı.

Yukarıdaki bu araştırmalarda yaygın DCIS içeren IDC ile az ya da hiç DCIS içermeyen DCIS'lar arasında çeşitli farklar tespit edilmiştir. Bizde bu araştırmalara istinaden bu iki grup arasında ER- ekspresyonlarının farklı olacağını düşünmekteyiz. Bu nedenle bu iki grubu karşılaştırmak istedik.

Meme dokusu ER- konsantrasyonları karsinomla ilişkili proliferatif değişiklikler gösteren epitelde daha yüksek olarak bulunmuştur (48, 49). Ayrıca Smith ve arkadaşları (50) tarafından tümör ve tümöre komşu benign doku arasında ER- seviyeleri için pozitif bir ilişki rapor edilmiştir. Fakat invaziv meme karsinomuna komşu normal meme epitelinde ER- 'nın ekspresyon paternini ve sıklığını araştıran bir kaç rapor vardır (51, 52).

Meme tümörü ve komşu normal doku arasındaki ER- 'nın değişik ekspresyonlarını anlatan yukarıdaki raporlardan esinlenerek bu çalışmada biz Türk

toplumunda memenin yaygın DCIS içeren (% 30 ve daha fazla oranda, Grup I) ve DCIS içermeyen (% 5 ve daha az oranda, Grup II) IDC’larda karsinom çevresi normal meme epitelindeki ER- ekspresyon seviyelerini karşılaştırmak için bu çalışmayı planladık. Ayrıca yaş, menapoz durumu, tümör çapı, tümör odağı sayısı, Nottingham histolojik grade, karsinomda ER- , progesteron reseptörü (PR) ve c-erb-B2 durumu, lenf nodu metastazı durumu gibi parametreler ile de her iki grubun ilişkilerini ve tüm toplumdaki ilişkilerini de araştırmayı plandık. Bizim amacımız memenin Grup I ile Grup II arasında karsinom çevresi normal meme epiteli ile karsinomdaki ER- durumu arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Lineer karsinogenez modelinde östrojen ve dolayısıyla ER- arttıkça atipik duktal hiperplazi (ADH)’den başlayan DCIS’ya ve sonunda IDC’a kadar giden bir süreç mevcuttur. Biz de bu karsinogenez modellerinin hipotezlerine katkıda bulunmak için böyle bir çalışma yapmayı düşündük.

Hipotezimiz Grup I olgularda karsinom çevresi meme dokusunda artmış bir ER- oranı olacağını ve Grup II olgularda ise normal ER- oranı olacağını iddia etmektedir. Eğer bu gerçekten böyle ise lineer karsinogenez modelinin ER- ile ilişkili olduğunu, direkt gelişen IDC’ların ise ER- dışındaki etyolojik faktörlerle ilişkili olduğunu söyleyebileceğiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.MEME EMBRİYOGENEZİ VE İNFANTİL MEME GELİŞİMİ:

Meme glandları 5 haftalık fetusun ventral yüzeyinde görülen aksilladan uyluğun üst medyal bölgesine kadar uzanan ilk epidermis kalınlaşmaları olan meme kabartıları veya süt hatlarından gelişirler. İnsanlarda meme kabartılarının çoğu daha fazla gelişmez ve fetal gelişim esnasında görünmezler. Gebeliğin 15. haftasında göğüs duvarında meme gelişim alanında meme tomurcuğu olarak bir epitelyal sap çevresinde mezenkimal kondansasyon meydana gelir. Mezenkimalin içine epitel kordonlarının girmesiyle her biri meme glandındaki bir lobu oluşturacak olan bir grup solid epitelyal kolonlar meydana gelir. Fetal epiderminin papiller tabakası bu büyüyen epitelyal kordonları örter ve papiller tabaka sonunda lobülleri oluşturan her bir duktusu ve dallarını çevreleyen vaskularize fibröz dokuya dönüşür (47).

Fetal memede meme tomurcuğunu oluşturan epitelyal hücreler gelişen memede östrojenin büyüme etkilerini düzenleyen bir diferensiyasyon faktörü ve mitojen olan transforming büyüme faktörü- β (TGF- β)'yı eksprese ederler (53). Meme tomurcuğunu çevreleyen stromal doku hücre matriks etkileşimini düzenleyen bir protein olan transforming büyüme faktörü- 1 (TGF- 1)'den zengindir. Bir bazal membran proteini olan kollajen tip IV meme tomurcuğundaki bazal hücre tabakası hücrelerinin çevresinde dağılmıştır. Fetal gelişimin erken evresinde Ki- 67 immunoreaktivitesi ile ölçülen proliferatif aktivite epitelyal ve stromal hücrelerden oluşan meme tomurcuğunun boyun bölgesinde en yüksektir. Fetal memenin gelişimi meme duktusları ve lobuler tomurcuklarda aktinin ve keratin 14, 18 ve 19'un farklı ekspresyonları ile karakterizedir (54).

Miyoepitelyal hücrelerin gebeliğin 23. ve 28. haftaları arasında bazal hücrelerden kaynaklandıkları görülür (55). Miyoepitelyal hücreler metalloproteinazlar ve büyüme faktörlerine ilaveten laminin, tip IV kollajen ve fibronektin gibi bazal membran bileşenlerinin sentezi ile meme glandının dallanmasında önemli bir rol oynarlar (56).

Retiküler dermisten kaynaklanan daha az selüler ve daha çok kollajenize stroma deriye meme parenkimini bağlayan suspensuar Cooper ligamentlerini oluşturmak için lobları ve lobların alt bölümlerininin etrafını çevrelemek için meme içine uzanır (55).

Kollajenöz stroma içinde mezenkimin yağa diferensiyasyonu 20. ve 32. gebelik haftaları arasında meydana gelir. Gebeliğin son 2 ayında dallanan lobuloalveoler glanduler yapıların gelişimini takiben epitelyal kordonların kanalizasyonu meydana gelir. Meme piti laktiferöz duktusların epidermise boşaldığı yerlerde epidermisin bir çöküntüsüdür. Doğumda meme başı meme pitinin evaginasyonu ile meydana gelmiştir (47).

Fetal meme glandı oluşumunun en erken evreleri steroid hormonlara bağlı değil gibi görünürken 15. haftadan sonra meme yapısının esas gelişimi büyük ölçüde testosteron etkisi altındadır. Gebeliğin son haftalarında fetal meme maternal ve plasental steroid hormonlara ve sekretuar aktiviteyi indükleyen prolaktine cevap verir. Bu doğumdan sonra meme tomurcuğunun büyümesi ve kolostrum sekresyonu ile kendini gösterir. Sekretuar aktivite infantın kanında maternal hormonların kaybolması nedeniyle doğumdan sonra 1 veya 2 ay içinde tipik olarak durur. Bundan sonra progresif alveoler diferensiyasyon olmadan kısmen dallanan laktiferöz duktuslardan meydana gelen gland küçülmesine ve inaktif bir duruma geçmesine rağmen lobüler yapılar sebat edebilir (47).

Apoptozu inhibe eden Bcl- 2 proteini fetal memede en yüksek olarak ifade edilir. Bcl- 2 büyüyen meme tomurcuğunun bazal epitelinde ve çevre stromada bulunur (94). Bcl- 2 reaktivitesi doğumdan kısa bir süre kaybolur ve normal erişkin memesinin epitelinde bulunmaz. Bcl-2'nin upregülasyonunu düşündüren bu bulgular onun apoptozdaki inhibitör etkisi ile fetal memenin morfogenezine katkıda bulunur (47).

Meme doğumda tam gelişmemiş, reproduktif dönemde siklik değişikliklere uğrayan ve menapozdan çok önce involusyona uğrayan tek organdır.

2.2. HİSTOLOJİ

Memeli sınıfı yenidoğanının immunolojik korunmasını ve beslenmesini sağlayan modifiye olmuş deri eklerinin evrimi ile dikkati çekmektedir. İnsanlarda göğüs duvarının üst kısmında pektoral kasın üzerinde bir çift meme glandı bulunur. Meme özelleşmiş epitel ve stromadan oluşur. Meme başından 6-10 ana duktus sistemi köken alır. Deriyi örten çok katlı yassı epitel duktuslarda da devam eder ve sonra birdenbire iki sıralı küboidal epitele dönüşür. Genellikle duktus açıklığında küçük bir keratin tıkaç bulunur. Çevre areola derisi pigmentedir ve düz kas ile desteklenmiştir. Büyük duktusların birbirini izleyen dallanmaları ile sonunda terminal duktal lobüller üniteye ulaşılır. Erişkin kadınlarda terminal duktus bir lobülü oluşturmak için küçük asinüslerden üzümlü salkımı şeklinde bir kümeye tomurcuklanır. Her duktal sistem tipik olarak memenin 1/4'ünden fazlasını işgal eder ve sistemler geniş ölçüde bir diğeri ile örtüşürler. Bazı kadınlarda duktuslar göğüs duvarının subkutan dokusuna ve aksillaya yayılırlar (57).

Normal memede duktus ve lobüller iki tip hücre ile döşelidir. Miyofilamentler içeren kasılan hücrelerin (miyoepitelyal hücreler) alçak, yassı aralıklı bir tabakası bazal membran üzerinde bulunur. Bu hücreler laktasyon sırasında süt ejeksiyonuna yardım ederler ve bazal membran ile lobülün normal yapısının ve fonksiyonunun korunmasında önemli role sahiptirler (58). Epitelyal hücrelerin ikinci bir tabakası lümenleri döşer. Terminal duktus ve lobülü döşeyen luminal hücreler süt üretirken büyük duktus sistemindekiler ise süt üretmezler. Lüminal ve miyoepitelyal hücreler terminal duktustaki kök hücreden köken alırlar (59).

Meme stromasının büyük bir bölümü yağ dokusu ile karışık yoğun fibröz bir bağ dokusundan oluşur (interlobüler stroma). Lobüller ise memeye spesifik hormona duyarlı, ince, miksomatöz, seyrek lenfosit içeren bir stroma ile çevrilidirler (intralobüler stroma) (57).

2.2.a. Adolesan Memesi

Kadında ve erkekte prepubertal meme büyük duktus sisteminin minimal lobül oluşumu gösteren terminal duktuslardaki sonlanmalarından meydana gelir. Kadında

menarşın başlamasıyla terminal duktuslar lobülleri meydana getirir ve interlobuler stromanın hacmi artar (57). Yağ dokusu azdır ve bu nedenle meme radyodens görünür. Her menstruel siklusta endometriyumun büyümesi ve küçülmesi gibi meme de büyür ve küçülür (60). Adolesan kadın meme gelişimi pubertede siklik östrojen ve progesteron salgılanmasının başlamasıyla meydana gelir. Kalınlaşmış bir epiteli olan uzamış duktusların gelişimi östrojenlere bağlıdır. Östrojene bağımlı hormonal olarak uyarılabilen periduktal stromanın diferensiyasyonu da bu zamanda meydana gelir (57).

2.2.b. Menstruel Siklusta Meme

Menstrüel siklusun ilk yarısında yani foliküler fazda lobüller dinlenmededir. Ovulasyondan sonra östrojen ve yükselen progesteron düzeyleri ile hücre proliferasyonu artar ve böylece her lobüldeki asinüslerin sayısı da artar. Epitel hücrelerinde vakuolizasyon ve intralobüler stromada belirgin ödem oluşur. Östrojen ve progesteronun birlikte uyarıcı etkisi siklusun premenstrüel fazında kadınlarda memelerde dolgunluk hissine yol açar. Menstruasyon olduğunda östrojen ve progesteron düzeylerinin düşüşünü epitelyal hücrelerin apoptozu, stromal ödemin kaybı ve lobülün boyutunda azalma izler (57).

2.2.c. Erişkin Memesi

Üçüncü dekadattan sonra ve menapozdan önce lobüller ve özelleşmiş stroma involusiyona başlar. İlerlemiş yaşta erkek memesine benzer olarak sadece duktuslar kalacak şekilde lobüller tamamen kaybolabilir. Ancak birçok kadında surrenal kökenli veya yağ dokusu depolarından kaynaklanan yeterli östrojenik uyarı ile kadın memesini erkek memesinden ayıran lobüler kalıntılar korunur. Genç kadın memesindeki radyodens fibröz interlobüler stroma yerini radyolusen yağ dokusuna bırakır (57).

2.3. MEME KARSİNOMU

2.3.a. Etyoloji ve Patogenezi

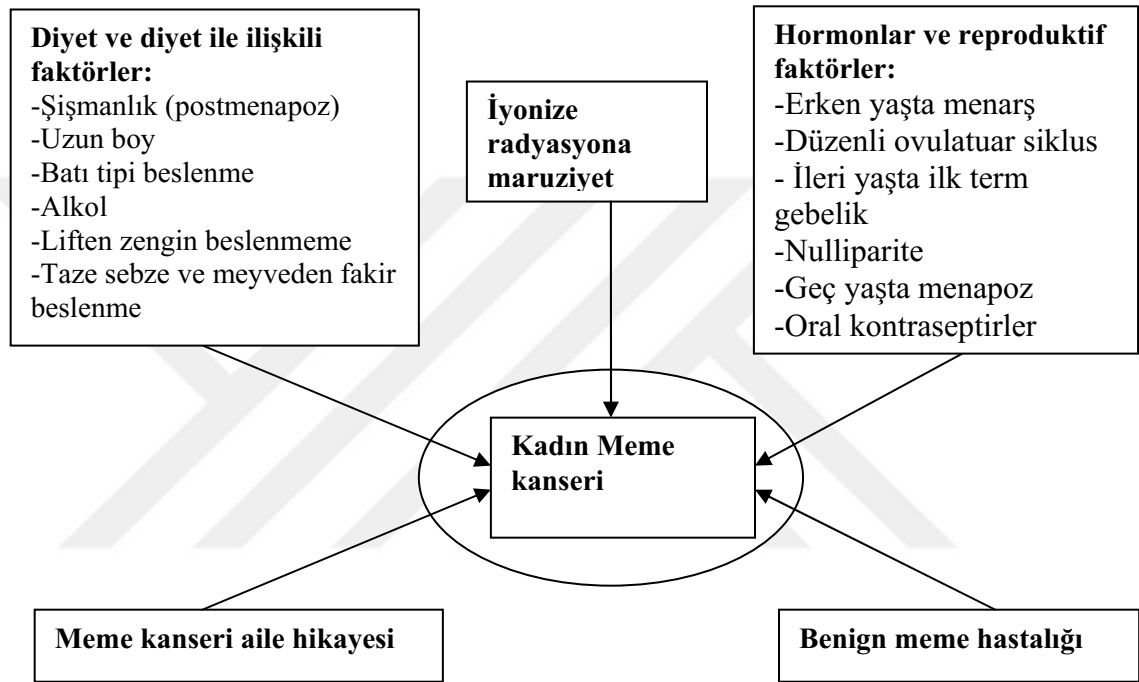
Meme kanserinin etyolojisi multifatöryeldir ve diyet ile birlikte reproduktif faktörler ile ilişkili hormonal dengesizlikleri içerir (Şekil 1).

Epidemiyolojik bilgiler meme kanserinin fizik aktivitenin yokluğu ile birlikte hayvansal yağ ve proteinlerden zengin yüksek kalorili bir beslenme ile karakterize batı tipi yaşam tarzına sahip zengin toplumun bir hastalığı olduğunu açıkça göstermektedir. Uzun bir süre bu yaşam tarzına sahip bölgeler (Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve Avustralya) yılda her 100000 kişide 70-90 yeni vaka sıklığında bir platoya ulaşmışlardır. Günümüzde daha yeni yeni endüstrileşen ve zenginleşen ülkelerde de sıklık ve mortalitede belirgin bir artış görülmüştür. Meme kanserine ilaveten batı tipi yaşam tarzı prostat, kolon/rektum ve endometriyum kanserleri için de yüksek risk taşımaktadır. Bütün bunların dışında meme kanserinin gelişiminde spesifik çevresel maruziyetler (radyasyon, alkol ve ekzojen hormonlar gibi) de tespit edilmiştir ama bunlar düşük bir risk taşımaktadırlar. Meme kanseri diğer neoplazmlardan daha fazla ailesel kümelenme göstermektedir. Büyük oranda artmış meme kanseri riskine sahip iki penetran gen (BRCA1 ve 2) tespit edilmiştir (61).

Meme kanseri gelişimi ile östrojen arasında bir ilişkinin ilk kanıtı İngiliz fizikçi Beatson tarafından ilerlemiş meme kanseri olan premenopozal kadınlarda overlerin çıkarılmasının meme kanserinde bir gerilemeye neden olduğunu keşfetmesiyle 1896 da bulundu. Kısa bir süre sona 1900'da Stanley Boyd yaptığı çalışmasında ooferektomi yapılan meme kanserli hastaların 1/3'ünde meme kanserinin gerilediğini rapor etti (18). Meme kanserinin daha çok erken yaşta menarş, nullipar, ilk term doğumunu geç yaşta yapan ve geç yaşta menapoz olan kadınlarda görülmesi de meme kanserinin oluşumunda endojen östrojen etkisini göstermektedir (62).

Ekzojen hormonlar (oral kontraseptifler ve menapozal replasman tedavisi) meme kanseri ile ilişkili olarak da değerlendirilmişlerdir (61). Kombine oral kontraseptiflerin kullanımı ile meme kanseri riskinde hafif bir artış meydana gelirken (63), sadece progesteron içeren parenteral kontraseptifler istatistiksel olarak anlamlı bir

risk oluşturmazlar (64). Uzun süreli postmenapozal östrojen replasman tedavisi de meme kanseri riskinde hafif bir artışa neden olduğu bildirilmektedir (65). Bazı çalışmalarda ise tek başına uzun süreli östrojen replasman tedavisi ile östrojen-progesteronun kombine kullanımı arasında meme kanseri riski açısından anlamlı bir fark görülmemiştir (66).



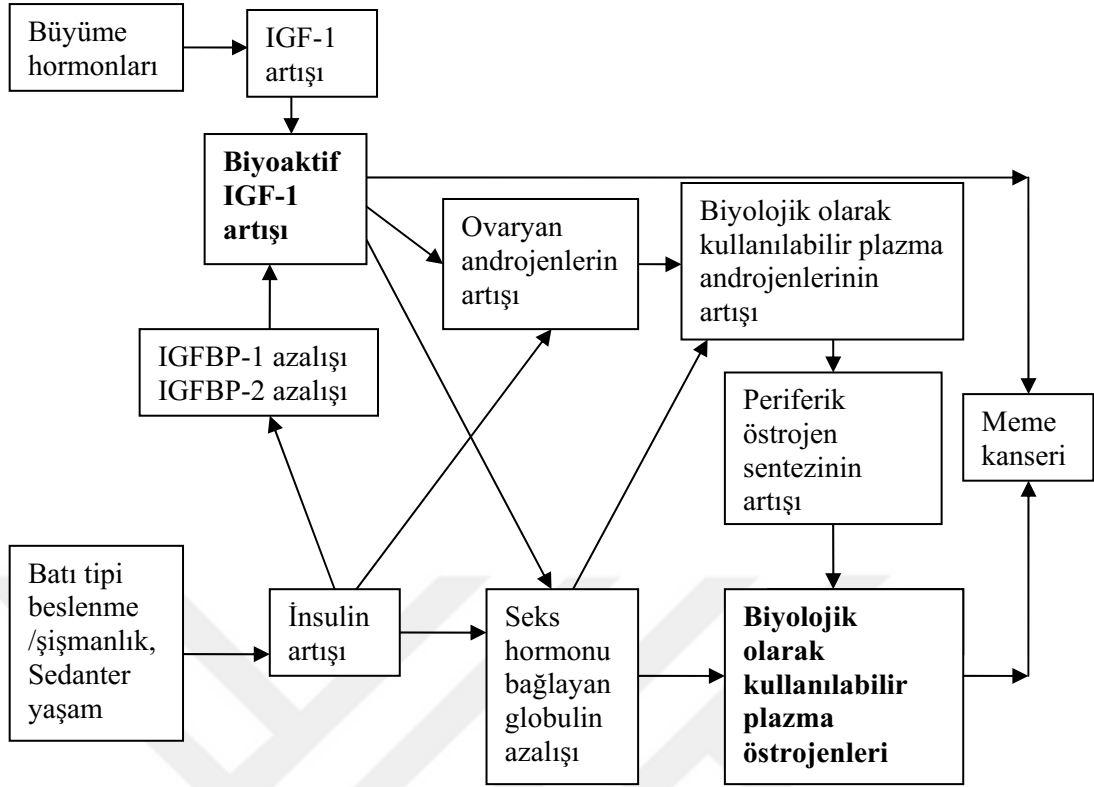
Şekil 1: Meme kanserinin gelişiminde etyolojik faktörler.

Bu etyolojik faktörlerin içindeki endojen hormonlar bölümünü biraz daha ayrıntılı incelemek gerekir. Buna göre; seks steroidlerinin (androjenler, östrojenler ve progesteronlar) meme tümörlerinin gelişiminde önemli bir rolü olduğu görülmektedir. Meme dokusunun östrojene maruziyetine bağlı meme kanseri riski olması koşuluyla östrojen fazlalığı hipotezi meme kanserinde en önemli hipotezdir. Bu durumda in vitro çalışmalarda artmış meme hücresi proliferasyonu ve apoptozun inhibisyonunu göstermektedir. Aynı zamanda hayvan deneyleri hayvanlara östrojen verildiğinde tümör gelişiminin arttığını göstermektedir. Meme kanseri riski testosteronun ve androstenedionun yükselmiş seviyeleri, azalmış seks hormonu

bağlayan globulin (SHBG) seviyeleri ve artmış östron, östrodiol, SHBG'e bağlanmamış biyolojik olarak kullanılabilir östrodiol seviyeleri olan postmenopozal kadınlarda daha yüksek bulunmuştur (61).

İkinci önemli teori östrojen artı progestogen hipotezidir (67, 68). Yalnız endojen östrojenlere maruz kalanlarla karşılaştırıldığında meme kanseri riski progestogenlerle birlikte östrojenlerin yükselmiş plazma ve doku seviyeleri olan kadınlarda daha fazla arttığı gösterilmiştir. Bu teori foliküler fazla karşılaştırıldığında menstrüel siklusun luteal fazında da artmış olan meme epitel hücrelerinin proliferasyonu ile paralellik göstermektedir (61). Buna karşın, birkaç çalışmada ise premenapozal kadınlarda androjenler, östrojenler ve progesteron seviyeleri ile meme kanseri riski arasında herhangi bir açık ilişki gösterilememiştir (67, 69, 70, 71, 72).

Aşırı kilo ve fizik aktivite yokluğunun metabolik bir sonucu insulin direncidir (61). Yükselen insulin seviyeleri overlerde ve/veya adrenallerde seks steroidlerinin (özellikle androjenlerin) artmış sentezini ve SHBG'in azalmış hepatik sentezini başlatabilir (73). Özellikle postmenapozal kadınlarda yükselmiş plazma androjenleri yağ dokusunda artmış östrojen oluşumuna ve sonuçta artmış östron ve östrodiol seviyelerine neden olur (61). Kronik hiperinsulinemi hipotezi postmenapozal kadınlarda düşük plazma SHBG ve yüksek androjen ve östrojen seviyeleri ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi açıklayabilir (73). İnsulin büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve IGF-bağlayan proteinler (IGFBP) anlamlı risk göstergesi olarak görülmektedirler (74, 75). (Şekil 2)



Şekil 2: İnsulin, IGF- 1, biyolojik olarak kullanılabilir seks steroidleri ve meme kanseri.

2.3.b. Herediter Meme Kanseri

Meme kanserli kadınların % 13'ünde birinci derecede akrabalarında meme kanseri öyküsü bildirilmektedir. Ancak kadınların % 1'inde yüksek penetran germ-line mutasyonu düşündürülen çok sayıda etkilenen akraba öyküsü vardır. Familyal kanserlerin % 25 kadarı (veya tüm meme kanserlerinin % 3'ü) iki adet yüksek penetran otozomal dominant gen ile ilişkilidir; BRCA1 ve BRCA2.

Birden fazla etkilenen birinci derecede akraba varsa, kişiler menapozdan önce etkilenmişse ve/veya çok sayıda kanserleri varsa, erkek meme kanseri olgusu varsa veya aile bireylerinde over kanseri de varsa bu genlerdeki mutasyonla birlikte olan meme kanseri olasılığı artar.

Kadın taşıyıcılarda meme kanseri riski % 60-85'tir ve tanı konulduğunda ortalama yaş bu mutasyonları olmayanlara göre 20 yaş daha gençtir.

Mutant BRCA 1 over karsinomu gelişme riskini de % 20- 40 gibi yüksek oranda artırır. BRCA 2 over karsinomu için daha az risk taşır (% 10- 20), fakat erkek meme kanseri ile daha sık ilişki gösterir. BRCA 1 ve BRCA 2 taşıyıcıları az oranda kolon, prostat ve pankreas gibi diğer kanserlere de eğilimlidirler.

BRCA 1 ve BRCA 2 sekans homolojisi göstermeseler de benzer yollar ile çalışırlar, aynı multiprotein kompleksi ile etkileşirler. Her ikisi de tümör supresör gen olarak çalışır. Böylece bu genlerin fonksiyonlarının kaybı malignite riski oluşturur. Her ikisinin de anahtar fonksiyonu hücre siklusunu durdurarak genomu hasardan korumak ve tam olarak anlaşılmamış kompleks bir yolla DNA hasarı onarımını başlatmaktır.

Bu fonksiyonların kaybının neden spesifik olarak memeyi etkilediği belirsizdir. Meme epitelinin aralıklı proliferasyonu (kolon ve deri gibi diğer sürekli proliferen epitellerin tersine) genetik hasarın kümelenmesi ile bu organı daha hassas kılmaktadır ve büyük olasılıkla diğer hücrelerde DNA onarımı için memede bulunmayan mekanizmalar da vardır. BRCA 2 değil ama BRCA 1 östrojen reseptörü ile etkileşir ve X kromozomu inaktivasyonunu etkiler; bu iki özellik cinse spesifik riskle bağlantılı olabilir. İlginç olarak erkek meme kanserleri sadece BRCA 2 mutasyonları taşıyan ailelerde belirgin olarak artar (57).

2.3.c. Sporadik Meme Kanseri

Sporadik meme kanserinde temel risk faktörleri hormon maruziyeti ile ilişkili durumları kapsamaktadır (cinsiyet, menarş ve menapoz yaşı, reproduktif öykü, emzirme ve ekzojen östrojenler v.b.). Bu kanserlerin çoğu postmenapozal kadınlarda gelişir ve östrojen reseptörlerini daha fazla eksprese ederler. Meme kanseri gelişiminde östrojenin en az iki rolü vardır; östrojen metabolitleri mutasyonlara neden olabilir veya DNA hasarı yaratan serbest radikaller oluşabilir. Hormonal etkileri ile östrojenler, kanserler gibi premalign lezyonların da proliferasyonuna yol açarlar. Ancak şüphesiz başka mekanizmalar da rol oynamaktadır. Çünkü belli sayıda meme karsinomunda östrojen reseptörü negatiftir veya meme karsinomu yüksek östrojen maruziyeti olmayan kadınlarda da oluşmaktadır (57).

2.3.d. Karsinogenez Mekanizmaları

Meme karsinomlarındaki gibi proliferatif ve atipik meme hastalıklarında da histolojik görünümün geniş yelpazede olması bu lezyonlar içinde yer alan yüzlerce biyolojik değişikliğin göstergesidir ve karsinogenezde kompleks ve farklı yolların olduğuna işaret eder. Gerçekten her bir meme kanserinde tek bir genetik veya fonksiyonel değişiklik bulunmaz (57).

Genel bir karsinogenez modelinde normal bir hücre malign olmak için genetik instabiliteyi de içeren yedi adet yeni yeti kazanmalıdır (76, 77). Herediter karsinomda bu değişikliklerin biri veya daha fazlası germ-line mutasyonların kalıtımı ile zaten başlangıçta o bireyde yer almaktadır. Yeni yetilerin her biri genlerin birinde bir değişiklik ile kazanılabilir. Örneğin ER, EGF-R, RAS ve HER2/neu'daki değişiklikler büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlik ile sonuçlanabilir. Diğer yandan bir hücresel değişiklik (örn. hücre siklus kontrolünde, DNA onarımında ve apoptozda önemli rolü olan p53 gibi bir gendeki bir değişiklik gibi) bu yetilerden birden fazlasını oluşturabilir (57).

Bu 7 yeni yeti hemen tüm malignilerin gelişimindeki temel basamaklar olup, meme karsinomunda şu şekilde özetlenebilir:

1-Çoğalma sinyallerinde kendi kendine yeterlilik: Tümörler genellikle onkogen aktivasyonu sonucu dış uyarı olmadan çoğalma kapasitesine sahiptirler.

2-Çoğalmayı inhibe eden sinyallere duyarsızlık: Tümörler siklin bağımlı kinazların direkt inhibitörleri ve TGF- gibi normal hücrelerin proliferasyonunu inhibe eden moleküllere cevap vermeyebilirler.

3-Apoptozdan kurtulma: Tümörler p53'ün inaktivasyonu ve diğer değişikliklerin bir sonucu olarak programlanmış hücre ölümüne karşı koyabilirler.

4-DNA tamirinde defektler: Tümörler düzensiz hücresel proliferasyon ve karsinojenler tarafından hasara uğramış DNA'yı tamir etmekte yetersiz olabilirler.

5-Sınırsız kopyalama gücü: Tümör hücreleri telomer uzunluğu ve fonksiyonunun devamlılığı ile ilişkili olarak sınırsız çoğalma kapasitesine sahiptirler.

6-Sürekli devam eden angiyojeniz: Tümörler en önemlisi vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) olan çeşitli faktörlerin uyarısıyla oluşan bir kan akımı

olmadan büyüyemezler.

7-İnvazyon ve metastaz yapma kabiliyeti: Tümör metastazları kanser ölümlerinin çoğunun sebebidir ve çevre dokudan kaynaklanan sinyallerle veya hücre içindeki süreçlere bağlıdır. (Şekil 3)

Memede en düşük kanser riski ile ilişkili morfolojik değişiklikler artmış epitel hücre sayısı olan lezyonlardır (proliferatif değişiklikler). Bu erken değişikliklerin büyümeyi inhibe eden sinyallerden ve apoptozdan kurtulma ile büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterliliğin oluşması ile ilişkili olduğunu düşünülmektedir (57). Bu erken dönemde bile hormon reseptörlerinin anormal ekspresyonu ve hormon reseptör pozitivitesi ile birlikte anormal proliferasyon vardır (78).

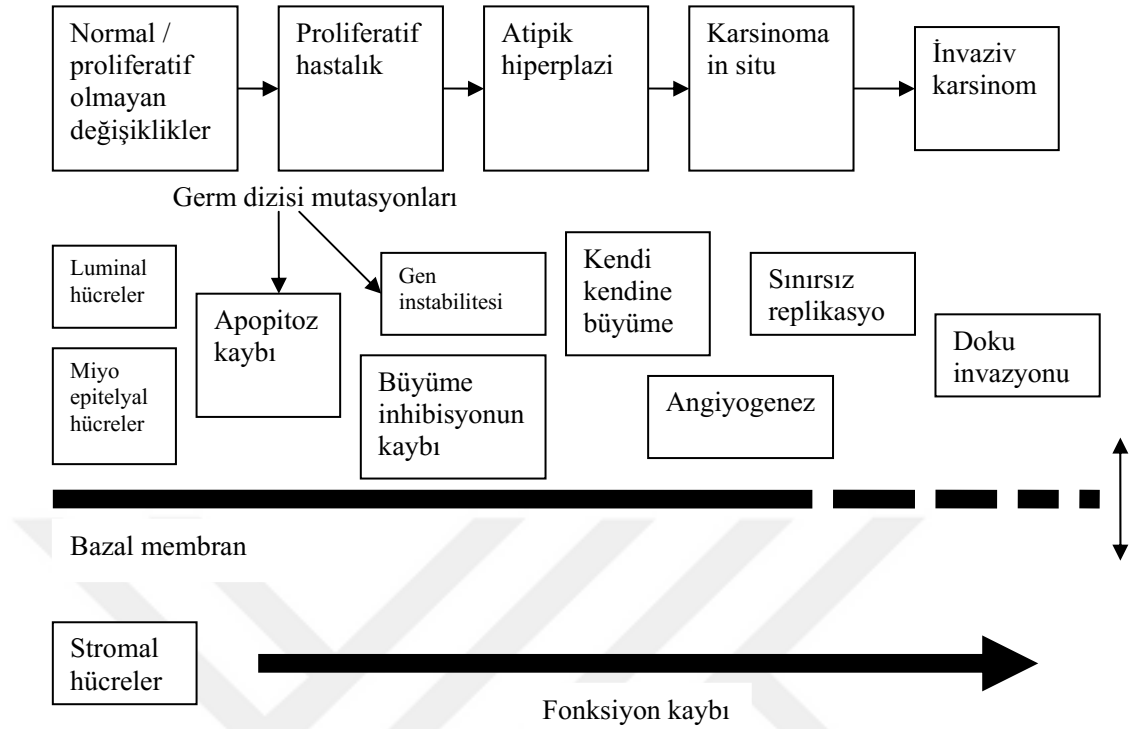
Heterozigositenin kaybı (LOH) şeklindeki genetik karasızlık proliferatif değişikliklerde nadiren saptanmaktadır ve bu değişiklikler daha geç dönemde görülür. Atipik hiperplazide daha sık bulunmaya başlar ve karsinoma insitu'da ise daima bulunur. Belirgin anöploidi sadece yüksek dereceli DCIS ve bazı invaziv karsinomlarda görülür. Sınırsız replikasyon DCIS'nun klonal hücre topluluklarının memede bir duktal sistemi tamamen doldurması ile kendini gösterir. Bazı DCIS'larda bazı duktuslarda bazal membranı kuşatan artmış anjiyogenez belirgindir. Bu malign hücrelerden direkt uyarıyla veya stromal hücrelerde sekonder uyarısıyla, veya miyoepitel hücreleri tarafından anjiyogenez inhibisyonunun ortadan kaldırılmasıyla meydana gelebilir (57).

Karsinomların biyolojik ve morfolojik özellikleri genellikle in situ evrede oluşur. Çoğu olguda in situ lezyon hemen tamamıyla eşlik eden invaziv karsinoma benzer. Örneğin lobüler karsinomlar LCIS, iyi diferensiye karsinomlar düşük dereceli DCIS ve az diferensiye karsinomlar yüksek dereceli DCIS ile birlikte. Rekürren karsinomlar genellikle orijinal karsinoma benzer görünümündedir. Meme karsinomları genellikle dediferensiye veya zamanla daha az diferensiye olmazlar (57).

Normal memenin fonksiyonu ve yapısı luminal, miyoepitel ve stromal hücreler arasındaki kompleks etkileşimleri sayesinde korunur (57). Puberte ve gebelikte yeni

duktal dallanma noktaları ve lobüllerin normal oluşumuna izin veren fizyolojik fonksiyonların aynısı (bazal membranın ortadan kaldırılması, artmış proliferasyon, büyüme inhibisyonundan kurtulma, anjiyogenez, ve stromanın invazyonu) karsinogenez sırasında anormal epitel hücreleri, stromal hücreler veya her ikisi tarafından da kullanılabilir (79). Yukarıda anlatılan değişiklikler luminal hücrelerde (veya daha az sıklıkla miyoepitel hücrelerinde) birikirken normal hücrelerel etkileşimlerin ve doku yapısının kaybı ile sonuçlanan bu diğer hücre tiplerinde anormal sinyal yolları ile veya mutasyon veya epigenetik değişiklikler (örn. DNA metilasyonu) nedeniyle luminal hücrelerdeki paralel değişiklikler de oluşur (80). Bu normal fonksiyonların kaybı yaşlanma ile de oluşur ve ilerlemiş yaşlarda bu kayıp artmış meme kanseri riskine katkıda bulunabilir (57).

Karsinogenezin en son basamağı duktuslarda ve lobüllerde bazal membran ile sınırlı karsinomun (karsinoma in situ) invaziv karsinoma geçişi olup çok az anlaşılmıştır. İnvazyon için gerekli spesifik gen fonksiyonlarını tanımlamak zordur (81). Bu geçişin öncelikle miyoepitel ve stromal hücrelerin anormal fonksiyonları nedeniyle bazal membran ve doku bütünlüğünün kaybından meydana gelmesi malign hücrelerin bazal membranı aşarak stromaya invaze olma yeteneği kazanmalarından daha olasıdır (57) (Şekil 3).



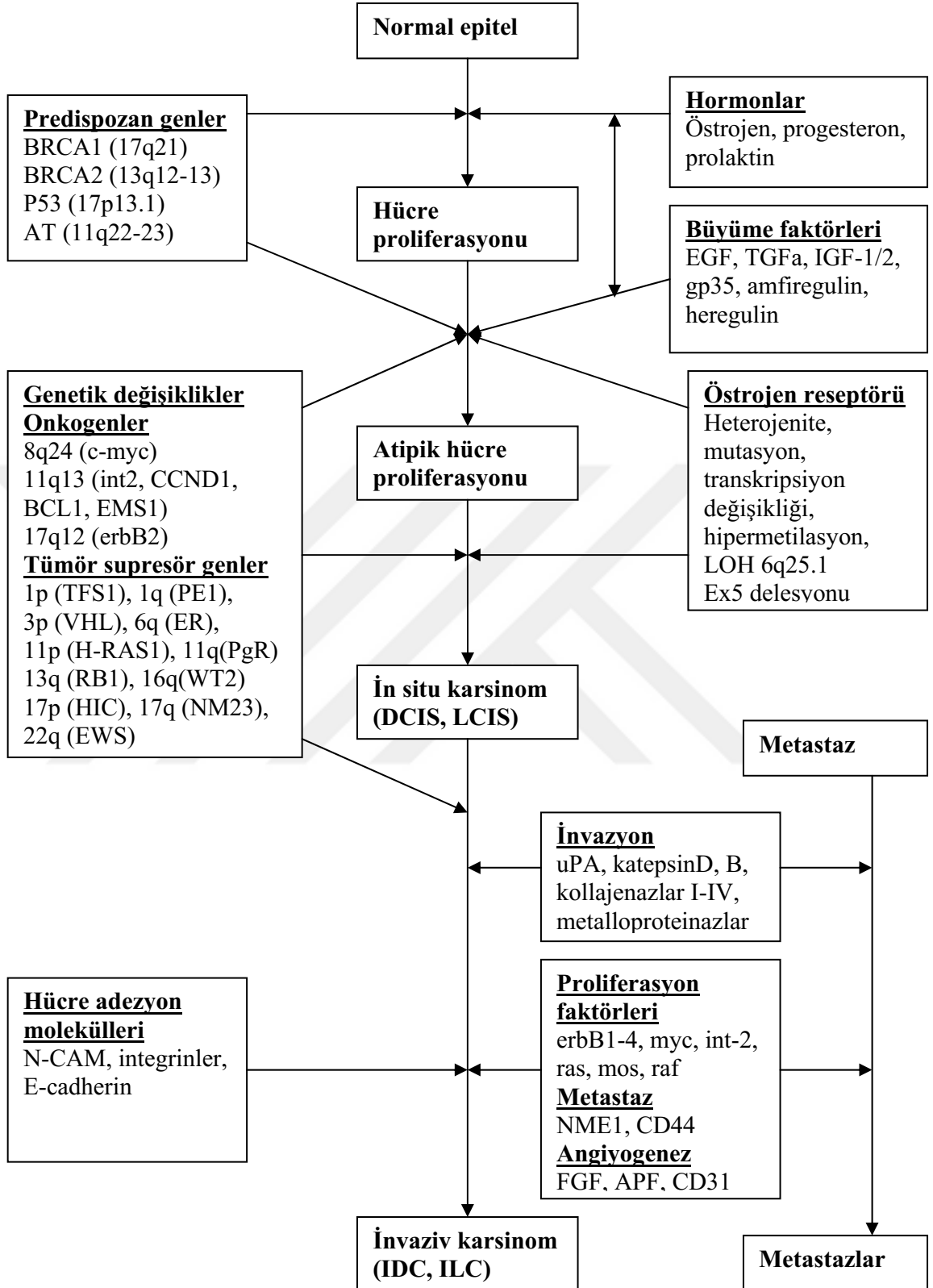
Şekil 3: Normal memede meme kanserinin karsinogenez mekanizmalarına göre luminal hücreler, miyoepitelyal hücreler, bazal membran ve stomal hücrelerdeki değişiklikler ile biyolojik fonksiyonlardaki 7 değişiklik.

ER ve PR memede hem duktal hem de lobuler epitelde dağılmışlardır (82, 83, 84). Mitojen olarak östrojenlerin fonksiyonu menstruel siklusun ikinci yarısında progesteron tarafından önlenen bir etkidir ve anatomik topografiye bağlıdır (85). Meme kanserinin erkeklerde ve nonöstrojenize kadınlarda nadir olması hormona bağımlı bir hastalık olduğunu gösterir. Hastalığın gelişiminde ve ilerlemesinde ana faktörler östrojenlerin primer etkileridir (86). Yaklaşık olarak bütün meme kanserlerinin % 60-75'i ER ve % 55-70'i PR eksprese eder (87, 88). Bu iki reseptörün varlığı ve konsantrasyonu yalnız tedavi kararının güçlü bir klinik indeksi olmayıp aynı zamanda bir prognoz ve sağ kalım göstergesidir (89, 90). Meme kanseri hormon bağımlıdan hormon bağımsıza doğru bir ilerleme gösterir (91) (ER+ tümörlerin % 20-30'unda endokrin tedaviye direnç gelişir [92] ve primer meme kanserinin % 25-40'ında baştan direnç mevcuttur). Hormon bağımsız veya anti-hormon direnci ile ilişkili birçok olası mekanizma öne sürülmüştür (93- 101).

Bunlar; (a) primer hücre heterojenitesi nedeniyle ER- hücre topluluğunun aşırı çoğalması veya ER ekspresyonun kaybı, (b) hormon bağlanan alanda nokta mutasyonu (ER ekson 5 delesyonu veya ucunun kesilmesi, ekson duplikasyonu veya yeni insersiyon, veya ER lokusunun kaybı [kromozom bölgesi 6q25.1'in heterojenitesinin kaybı]) oluşmuş ER nedeniyle ER'ünün fonksiyon kaybı (veya ER varyantlarının oluşumu) (c) farklı bağlanma kapasiteleri olan ER ve PR'lerinin değişik tiplerini içerir. Ayrıca değişmiş postreseptör yolların (diğer transkripsiyon faktörü ve koaktivatör/adaptör değişiklikleri [örneğin kromatin faktörleri, nukleer matriks alıcı proteinleri, sitozin/guaninden zengin alanın 5' bölgesinin metilasyonu (CpG adaları)] içeren) veya östrojen hedef genlerinin ve ligand bağımsız ER aktivasyonu araştırmaları dikkat çekicidir. Son zamanlarda steroid hormon reseptör yolları ve büyüme faktörleri arasında sinyal seviyesinde olası kooperatif etkilerde odaklanan büyük bir ilgi oluşmuştur. Polipeptid büyüme faktörleri ve/veya reseptörlerinin artmış ekspresyonu (TGf α , EGF, Her-2/neu) ve büyümeyi inhibe eden peptidlerin azalmış ekspresyonlarının hormon bağımsız büyümede etkili olan olası mekanizmalar olduğu bilinmektedir ama şimdi EGF, IGF-1 ve heregulin tarafından mitojen aktive eden protein kinaz yoluyla ER'nün fosforilasyon durumunda östrojen bağımsız aktivasyonun kanıtı vardır (95, 98). Ayrıca hormon bağımsız mekanizmalarla (örneğin onkogen aktivasyonu [myc, int-2, erbB2] veya tümör genleri ve hormonlar arasındaki etkileşim ile tümör supresör gen inaktivasyonu [p53, BRCA1, MST1]) veya 17 beta steroid dehidrojenaz (örneğin progesteron bağlanan veya kromozomal kayıp bölgesi 17q21'in yokluğu nedeniyle enzimin aktivite/ekspresyonunda azalma/kayıp gibi) tarafından tümör büyümesi uyarılabilir. Moleküler genetik değişikliklerin büyük bir kısmı hem onkogen hem de tümör supresör genlerin her ikisinde tutulduğu tümörlerde görülür. Gerçekten tümörlerin yaklaşık % 50'sinin hormon manipülasyonuna cevap vermesi dikkat çekicidir. Bu da meme kanserini etkileyen en önemli faktörün hormon olduğunu gösteriyor ve diğer moleküler faktörlerin çoğu birbirine bağımlıdır. Farklı onkogenler veya tümör supresör genleri arasındakiler gibi steroid hormonlar/hormon reseptörleri ve onkogenler/tümör supresör genleri arasında birbirine bağımlılıklar meme kanserinin çok basamaklı karsinogenezine ipucu olacak gibi görünmektedir. Örneğin EGF reseptörü ve Her-2/neu'nun aşırı ekspresyonu steroid hormon durumu

ile zıt olarak ilişkilidir (87, 102-113). EGF meme kanser hücrelerinde HER-2/neu protein ekspresyonunu azaltır ama bir postranslasyonel protein modifikasyonunu düşündüren mRNA seviyesinde etki etmez (113). EGF HER-2/neu reseptörüne bağlanmaz ama HER-2/neu reseptörünün transaktivasyonu HER-2/neu'nun reseptörüne EGF'ün bağlanması yoluyla meydana geliyor gibi görünmektedir. EGF HER-2/neu'nun takip eden internalizasyonu ve degradasyonu ile EGF reseptörü ve HER-2/neu'nun heterodimerizasyonunu başlatır. Östrojen antiöstrojenler tarafından önlenebilen bir etki olan ER+ hücrelerde HER-2/neu proteinini azaltır (113-115). Benzer bulgular tümör supresör genler, BRCA 1 (116), ve TP53 (117, 118, 119) için de gösterilmiştir. Endojen (pre/postmenopozal) veya ekzojen (oral kontraseptifler, hormon replasman tedavisi) steroid hormonların varyasyonları onkogenler/tümör supresör genlerin ekspresyonunu her ikisi de çok kompleks mekanizmalar olan promotor aktivitenin değişiklikleri yoluyla yalnız direkt olarak değil meme kanser hücrelerinin değişik proliferatif durumu ile de indirekt olarak etkileyebilir (Şekil 4).

Bu meme karsinogenezinin daha ayrıntılı tüm etkenleri ve genetik değişiklikleri içeren modeli de şekil 4'te görülmektedir. Burada östrojen normal epitelde hücre proliferasyonuna neden olurken, östrojen reseptörünün ise atipik hücre proliferasyonuna ve in situ karsinoma farklı yollardan neden olması dikkat çekicidir.



Şekil 4: Meme kanserinde çok adımlı karsinogenez modeli

Karsinomların DNA, RNA ve proteinlerindeki değişikliklerin binlercesini gösteren yeni teknikler invaziv meme karsinomlarının tüm biyolojik farklılıklarının ilk bulgularını sağlamaktadırlar (120, 121, 122, 123). Sürpriz olmayan bir şekilde ER+ ve ER- farklı gruplara ayrılmışlardır. Yüzlerce gen ER tarafından transkripsiyonel kontrol altında olabilir ve bu karsinomlarda artmış transkripsiyon gösteren yaygın genlerin bir takımı ile gösterilebilmektedir (57). Aslında ER+ tümörlerde bazı genlerin ekspresyonu östrojeni bloke eden ajanlara cevabın ve tümörün davranışının öngörülmesinde östrojen reseptörüne göre daha belirleyici olabilir. Bu paterni göstermeyen ER+ karsinomlar daha çok ER- karsinomların profillerine benzeyen gen ekspresyon profillerine sahiptirler. ER+ karsinomlarda normal luminal hücrelerin karakteristiği olduğu düşünülen ve muhtemelen bu karsinomlarda görülen iyi diferensiyasyonla ilişkili olan luminal tip genler olarak adlandırılan genlerin transkripsiyonunun arttığı görülmektedir. ER- tümörler ise 2 ana gruba ayrılırlar. Birinci grup olan bazal benzeri karsinomlar miyoepitelyal diferensiyasyonu düşündüren özelliklere (örneğin bazal keratinler, p-kaderin ve laminin ekspresyonu) sahiptirler. BRCA1 karsinomlar bu gruptadırlar. İkinci bir ER- grup da HER2/neu'nun amplifikasyonu ile karakterizedir. İlave subgruplar da tespit edilmiştir (57).

2.4. İN SİTU DUKTAL KARSİNOM (DCIS) VE İNVAZİV DUKTAL KARSİNOM

Karsinoma in situ ilk olarak etkilenen boşlukların duktus ve lobüle benzerliği temeline dayanarak duktal veya lobuler olarak sınıflandırılmıştır. İnvaziv duktal veya lobüler karsinomlar in situ komponentin karakteristiği ile ilişkili olarak isimlendirilirdi. Her ne kadar bu tanımlayıcı terim hala kullanılsa da tüm karsinomların terminal duktal lobüler üniteden kaynaklandığı düşünülmektedir. Duktal veya lobüler terimleri ise bu gün artık köken aldığı hücre tipi veya bölgesini belirtmemektedir.

DCIS duktus ve lobüllerde bazal membranla sınırlandırılmış hücrelerin malign topluluğundan ibarettir. Sayıca azalmalarına karşın miyoepitelyal hücreler korunur. DCIS klonal bir proliferasyondur ve genellikle yalnızca bir tek duktus sistemini içerir. Yine de hücreler lobül veya duktusun tamamına yayılır ve memenin bir

bölümünü tutar. DCIS lobülü tuttuğu zaman asinüslerin sıklıkla yapıları bozulur, genişler ve küçük duktusların görünümünü alırlar (57).

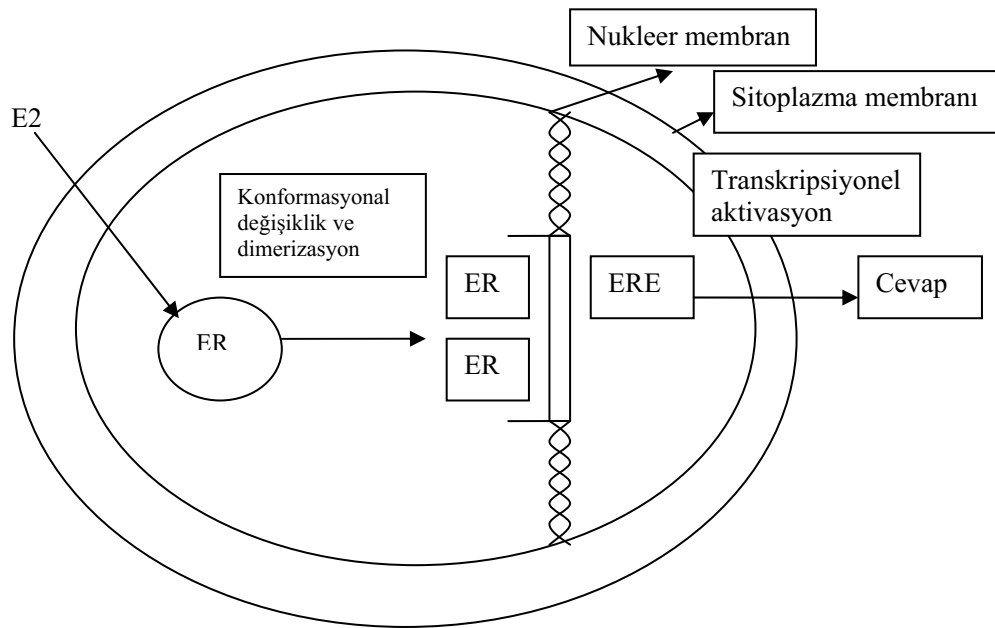
IDC'lar belirli bir oranda DCIS komponenti içerebilirler veya bazen hiç DCIS içermeyebilirler. Tümörün içinde ve/veya çevresinde belirgin bir DCIS komponenti içeren IDC'lar yaygın in situ komponentli bir IDC olarak yorumlanırlar. Tümörde yaygın DCIS varlığı multisentrik karsinom ve tümör sınırının ötesinde de DCIS'ya sahip olma eğilimi ile birliktedir (124). Yaygın DCIS ile birlikte olan invaziv tümörlerde daha iyi bir prognoz ve azalmış bir nodal metastaz sıklığı dikkati çekmektedir (125, 126). Daha güncel bir araştırmada yaygın in situ komponentli IDC invaziv karsinom alanının % 25 veya daha fazlasının DCIS'dan oluştuğu bir invaziv tümör olarak tanımlanır ve DCIS invaziv karsinom alanının çevresinde ve/veya invaziv karsinomun içinde de oluşabilir. Yaygın DCIS komponentinin tespiti optimal terapötik yaklaşıma karar vermede klinisyenlere prognostik olarak yardımcı olduğu görülmektedir. Bu bulgu yetersiz tedavi ve lokal rekürrens yüksek oranları (% 25'e kadar) nedeniyle koruyucu tedaviye (radyoterapi ile birlikte lumpektomi) bir kontrendikasyon olarak görülmektedir (42). Aynı grup bir sonraki çalışmasında cerrahi sınırların durumunu ve sınırlarla lokal rekürrensin ilişkisini hem yaygın in situ komponentli hem de yaygın in situ komponenti olmayan tümörlerde incelemiştir (127). Negatif cerrahi sınırları olan hastalar yaygın in situ komponenti olan veya olmayan tümörlerin her ikisinde de düşük bir lokal rekürrens oranına sahip olarak bulunmuştur. Yine invaziv karsinom için meme biyopsisi yapılan kadınlarda prospektif bir çalışmada yaygın in situ komponentin varlığıyla birlikte klinik risk faktörleri, patolojik özellikler, hormon reseptör durumu, serum tümör markerları, proliferatif indeksler, ploidi, onkoprotein ekspresyonunda farklılık bulunmamıştır (130).

İlginç olarak; öncesinde, aynı anda veya sonrasında in situ karsinomu olan invaziv karsinomlu hastalar in situ karsinomla birlikte olmayanlar veya memenin başka bir yerinde invaziv karsinomla birlikte olanlardan muhtemelen anlamlı olarak daha iyi bir sağ kalıma sahip oldukları ileri sürülmektedir. Bu durum birçok meme karsinomu tarafından paylaşılan immunojenlere karşı hücre aracılı immunité ile ilişkili in situ karsinom olasılığına bağlanmaktadır (128).

aminoasitten oluşmaktadır ve 54,2 kDa ağırlığındadır. ER- genellikle yaygın bir biçimde ER olarak adlandırılır. Bu her iki ER fonksiyonel olarak homologturlar. Örneğin ER- 'da olduğu gibi ER- 'da mitojen aktive eden protein kinaz yoluyla fosforilasyonu aktive edebilir (Kato ve arkadaşları, 1995; Bunone ve arkadaşları, 1996).

Östrojenler hücrelerin sitoplazma membranından diffüze olarak ER'üne bağlanır (Rao, 1981). Östrojenlerin ER üzerinden moleküler ve biyokimyasal onlarca etki mekanizması mevcut olup, son zamanlarda tespit edilen mekanizmalardan biri de bir mitojen aktive eden protein kinazın östrojenlerin ER'ünün AF-1 (aktivasyon parçası-1) bölümünün aktivasyonu sonucunda Ser 118'de ER'ünün fosforilasyonuna neden olmasıdır (Kato ve arkadaşları, 1995).

Östrodiol nukleusta yerleşmiş olan ER aracılığıyla etkisini gösterir. Östrojen önce ER'üne bağlanır, ısı şok proteinleri disosiye olur ve konformasyonda bir değişiklik ve homodimerizasyon meydana gelir. Homodimerize olmuş ER östrojen aktive eden genlerin promotor bölgelerinde yerleşmiş olan östrojen cevap elemanları (ERE'ler) ile etkileşir. ERE'ler bir genin arttırılmış transkripsiyon gücü ile fonksiyon görürler. Bu olaylar hücrede östrojenik bir cevabı başlatır (18) (Şekil 6).



Şekil 6: Östrodiolün etki mekanizması

ER ve PR'leri epitelyal hücrelerin nukleuslarında yerleşmişlerdir. Duktal hücrelerden çok lobüler hücrelerin büyük bir kısmında normal meme dokusunda epitelyal hücrelerin yaklaşık % 7'sinin nukleusunda ER için immunoreaktivite mevcuttur. Normal meme epiteli ER- 'nin minimal bir ekspresyonu ile birlikte ER- 'yı eksprese eder. Hiperplastik lezyonlar ve preinvaziv meme tümörleri de ER- 'nın azalmış ve ER- 'nın artmış bir ekspresyonunu gösterirler. Lobüllerde reseptör negatif nukleuslarla çevrilmiş olarak ER pozitif hücreler tipik olarak tek tek dağılmışlardır. Artan yaş ile pozitif hücrelerin değişik büyüklükteki bitişik parçalar halinde olma eğilimi arasında anlamlı bir ilişki olduğu Shoker ve arkadaşları (129) tarafından rapor edilmiştir. Östrojen reseptörü pozitif hücrelerdeki artış menapozdan sonra stabilleşir. Ayrıca menstruel siklusa baktığımızda proliferatif fazda (3- 7. günlerde) ER pozitivitesi en yüksek seviyede iken, PR pozitivitesi foliküler fazda (8- 14. günlerde) en yüksektir.

4. MATERYAL VE METOD

Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi patoloji laboratuvarında 2006–2009 yılları arasında incelenen meme mastektomi piyeslerinden seçilen toplam 80 IDC olgusu değerlendirildi. Bunların 42’si yaygın DCIS’lu (% 30- 100 oranında) IDC (grup I) ve 38’i ise DCIS’suz (% 5 ve daha az oranda) IDC (grup II) olgularıydı. Olgular, yapılan immunohistokimyasal inceleme sonuçları, patoloji raporları ve telefon edilerek yapılan sorgulamalardan elde edilen bilgiler ışığında retrospektif olarak değerlendirildi.

Örnekler: 1 Ocak 2006 ile 1 Haziran 2009 tarihleri arasında Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde mastektomi veya meme koruyucu cerrahi tedavi yapılan WHO sınıflamasına göre yaygın (% 30 ve üzeri) DCIS’lu invaziv duktal karsinomlu 42 kadın hasta ile rutin standart örneklemede (tümör dokusundan ortalama 3 örnekleme yapılmıştır) DCIS içermeyen invaziv duktal karsinomlu 38 kadın hasta olmak üzere toplam 80 kadın hastanın patolojik piyeslerinden elde edilen parafin bloklardır.

İmmunohistokimya: Örnekler 24-48 saat içinde % 10’luk nötral tamponlu formolde fikse edildi ve parafine gömüldü. Her vakada yeterli bir tümör ve tümör etrafında normal meme dokusu içeren bir blok seçildi. Dako envision+kit (dakocyotmation, Glostrup, Denmark) üreticinin talimatlarına göre manuel olarak kullanıldı. Preparatlar ksilende deparafinize edildi ve etanol/su karışımı serilerinde kademeli olarak rehidrate edildi. Antijen retrival işlemi 40 dakika süreyle “target retrieval solution high PH (Dakocyotmation)”da 95- 99 C’de bir su banyosuda ısıtılan preparatlara uygulandı. 20 dakikalık soğutmadan sonra kesitler oda sıcaklığında 5 dakika % 3’lük hidrojen peroksit’e maruz bırakıldıktan sonra 30 dakika primer antikor ile muamele edildi. Monoklonal fare anti-human ER- (clone 1d5; dakocyotmation) antikor 1/50 dilusyonda kullanıldı.

İmmunohistokimyanın değerlendirilmesi: Karsinom için ER- pozitivitesi boyanmanın yoğunluğuna bakılmaksızın kanser hücrelerinin % 10’undan fazla bir nukleer boyanma ile tanımlandı (9) (Resim 1). Normal meme epiteli için nukleer

boyanma gösteren hücrelerin varlığı sayı ve yoğunluğuna bakılarak 4 grup halinde sınıflandırıldı: 0-Hiç: Hiçbir hücrede boyanma görülmedi, 1-Tek: Bir veya iki pozitif hücre; 2-Dağınık: Negatif hücreler ile çevrili dağınık bir şekilde bulunan pozitif hücreler; 3-Bitişik: Her biri diğeri ile temas eden 10 veya daha fazla pozitif hücre.

İstatistiksel Değerlendirme: Bu çalışmada istatistiksel analizler NCSS 2007 paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra çoklu grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi alt grup karşılaştırmalarında Dunn's çoklu karşılaştırma testi, ikili grupların karşılaştırmasında Mann-Whitney-U testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında Ki-kare testi kullanılmıştır. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

5. BULGULAR

Grup I’de 42 olgu, grup II’de 38 olgu mevcuttu. Bu vakaların yaşları 27 ile 84 arasında (ortalama yaş: 55,88) dağılmışlardı. Grup I olgularında ortalama yaş $52,45 \pm 13,31$, Grup II olgularında $59,68 \pm 14,83$ olup, olgu gruplarının yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamalı bir farklılık gözlenmiştir (MW=564, $p=0,025$). Buna göre; Grup I olgularının yaş ortalamaları, Grup II olguların yaş ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,025$) (Tablo 1).

Tablo 1. Grup I ve II olgularının yaşlarının aritmetik ortalamaları

	Grup I	Grup II	MW	p
Yaş	52,45±13,31	59,68±14,83	564	0,025

Her iki grup olgularının arasında metastatik lenf nodu sayısı ortalamaları ve lenf nodu tutulum evresi açısından istatistiksel olarak anlamalı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 2. ve 3.)

Tablo 2. Grup I ve II olgularının metastatik lenf nodu sayılarının aritmetik ortalamaları

	Grup I	Grup II	MW	p
Metastatik Lenf Nodu Sayısı	5,83±6,96	5,56±4,55	149	0,690

Tablo 3. Grup I ve II olgularının metastatik lenf nodu sayısının WHO pN sınıflamasına göre dağılımı

		Grup I		Grup II		
pN	pN0	24	%58,5	20	%52,6	
	pN1	10	%24,4	8	%21,1	
	pN2	4	%9,8	6	%15,8	$\chi^2:1,01$
	pN3	3	%7,3	4	%10,5	$p=0,797$

Her iki grup olgularının arasında tümör çapları ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (MW=626, p=0,098). Bu sonuca rağmen, genel olarak bakıldığında grup I olgularında daha küçük tümör çapı dikkat çekicidir (Tablo 4).

Tablo 4. Grup I ve II olgularının tümör çaplarının aritmetik ortalamaları

	Grup I	Grup II	MW	p
Tümör çapı (cm)	1,97±1,49	3,01±3,09	626	0,098

Her iki grup olgularının arasında Nottingham histolojik skor ortalaması (tubul oluşumu skoru + nukleer pleomorfizm skoru + mitoz sayısı skoru) ve Nottingham histolojik grade dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p=0,346) (Tablo 5, 6).

Tablo 5. Grup I ve II olgularının Nottingham histolojik skorlarının aritmetik ortalamaları

	Grup I	Grup II	MW	P
Toplam Nottingham Histolojik Skor	6,48±1,23	6,74±1,39	703	0,346

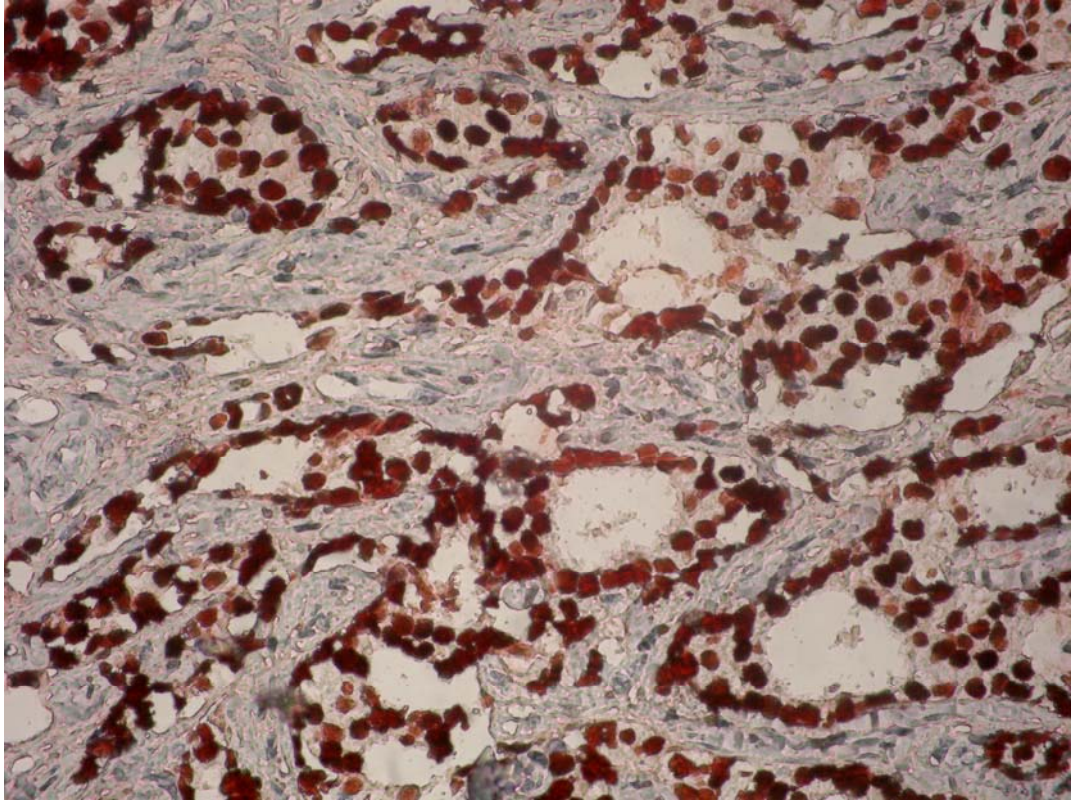
Tablo 6. Grup I ve II olgularının Nottingham histolojik grade dağılımları

		Grup I		Grup II		
Nottingham Histolojik Grade	Grade 1	8	%19,0	6	%15,8	
	Grade 2	22	%52,4	21	%55,3	$\chi^2:0,153$
	Grade 3	12	%28,6	11	%28,9	p=0,926

Her iki grup olgularının arasında ER- 'nın karsinomda pozitivite ve negativite dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,362) (Tablo 7). Şekil 1'de karsinomda ER- 'nın pozitivitesi görülmektedir.

Tablo 7. Grup I ve II olgularının ER- 'nın karsinomdaki ekspresyonlarının dağılımları

		Grup I		Grup II		
ER- Karsinomda	Negatif	17	%42,5	12	%32,4	$\chi^2:0,83$
	Pozitif	23	%57,5	25	%67,6	$p=0,362$



Resim 1: Karsinomda ER pozitifliği

Her iki grup olgularının arasında PR'nin karsinomda pozitivite ve negativite dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,242$) (Tablo 8).

Tablo 8. Grup I ve II olgularının PR'nin karsinomdaki ekspresyonlarının dağılımları

		Grup I		Grup II		
PR Karsinomda	Negatif	15	%37,5	9	%25,0	$\chi^2:1,37$
	Pozitif	25	%62,5	27	%75,0	$p=0,242$

Her iki grup olgularının arasında c-erb-B2'nin karsinomda pozitivite ve negativite dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,092$) (Tablo 9).

Tablo 9. Grup I ve II olgularının c-erb-B2'nin karsinomdaki ekspresyonlarının dağılımları

		Grup I		Grup II		
c-erb-B2 Karsinomda	Negatif	28	%70,0	31	%86,1	$\chi^2:2,83$
	Pozitif	12	%30,0	5	%13,9	$p=0,092$

Her iki grup olgularının arasında tümör odağı sayısı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,438$). (Tablo 10).

Tablo 10. Grup I ve II olgularının unifokalite ve multifokalite dağılımları

		Grup I		Grup II		
Tümör Odağı Sayısı	Unifokal	30	%71,4	30	%78,9	$\chi^2:0,602$
	Multifokal	12	%28,6	8	%21,1	$p=0,438$

Her iki grup olgularının menapoz durumu dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiş olup, grup I olguların çoğu premenopozal dönemdedir ($p=0,002$) (Tablo 11).

Tablo 11. Grup I ve II olgularının premenopoz/postmenopoz durumundaki dağılımları

		Grup I		Grup II		
Menapoz Durumu	Premenapoz	23	%54,8	8	%21,1	$\chi^2:9,55$
	Postmenapoz	19	%45,2	30	%78,9	$p=0,002$

Tüm IDC'larda ER- 'nin karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterninin dağılımı ile olgu yaşlarının aritmetik ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,110$) (Tablo 12). Buna rağmen, normal meme dokusunda ER- 'nin ekspresyonu arttıkça olguların yaş ortalamaları artmaktadır. Özellikle ekspresyonun gözlenmediği olgularda yaş

ortalaması 45,5 iken, kuvvetli ekspresyon gösteren olguların yaş ortalaması 60,11'dir.

Tablo 12. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterninin dağılımı ile olgu yaşlarının aritmetik ortalmaları

	ER Pt. NMD 0	ER Pt. NMD 1	ER Pt. NMD 2	ER Pt. NMD 3	KW	p
Yaş	45,5±15,35	56±12,66	55,92±14,28	60,11±14,71	6,02	0,110

Tüm IDC'larda ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterninin dağılımı ile metastatik lenf nodu sayısı aritmetik ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (**p=0,041**). Ancak Dunn's çoklu karşılaştırma testi yapıldığında ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterni 1 grubunun metastatik lenf nodu sayısı aritmetik ortalaması, patern 2 ve 3 gruplarının aritmetik ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş (**p=0,034, p=0,046**), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 13 ve 14). Buna göre, çevre meme dokusunda görece yüksek yoğunlukta ekspresyon gösteren olgularda (patern 2 ve patern 3 olguları) metastatik lenf nodu ortalaması çok daha düşüktür

Tablo 13. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterninin dağılımı ile metastatik lenf nodu sayısı aritmetik ortalamaları arasındaki ilişki

	ER Pt. NMD 0	ER Pt. NMD 1	ER Pt. NMD 2	ER Pt. NMD 3	KW	p
Metastatik Lenf Nodu Sayısı	6±0,01	11,14±9,53	4,19±3,1	4,36±4,74	6,48	0,041

Tablo 14. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterninin dağılımı ile metastatik lenf nodu sayısı aritmetik ortalamaları arasındaki ilişki

Dunn's Çoklu Karşılaştırma Testi	Metastatik Lenf Nodu Sayısı
ER Pt. NMD 0 / ER Pt. NMD 1	0,631
ER Pt. NMD 0 / ER Pt. NMD 2	0,969
ER Pt. NMD 0 / ER Pt. NMD 3	0,978
ER Pt. NMD 1 / ER Pt. NMD 2	0,034
ER Pt. NMD 1 / ER Pt. NMD 3	0,046
ER Pt. NMD 2 / ER Pt. NMD 3	0,998

Tüm IDC'larda ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri dağılımları ile Nottingham histolojik grade toplam skor aritmetik ortalamaları ve Nottingham histolojik grade dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,487$) ($p:0.553$) (Tablo 15 ve 16)

Tablo 15. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri dağılımları ile Nottingham histolojik grade toplam skor aritmetik ortalamaları arasındaki ilişki

	ER Pt. NMD 0	ER Pt. NMD 1	ER Pt. NMD 2	ER Pt. NMD 3	KW	p
Nottingham histolojik grade toplam skor aritmetik ortalamaları	7,12±1,25	6,29±1,53	6,47±1,21	6,89±1,29	2,44	0,487

Tablo 16. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri dağılımları ile Nottingham histolojik grade dağılımları arasındaki ilişki

		ER Pt. NMD 0		ER Pt. NMD 1		ER Pt. NMD 2		ER Pt. NMD 3		
Nottingham Histolojik Grade	Grade 1	0	%0,0	5	%29,4	6	%16,7	3	%15,8	
	Grade 2	6	%75,0	7	%41,2	21	%58,3	9	%47,4	$\chi^2:4,93$
	Grade 3	2	%25,0	5	%29,4	9	%25,0	7	%36,8	p=0,553

Tüm IDC'larda ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri dağılımları ile tümör çapının aritmetik ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,492) (Tablo 17).

Tablo 17. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri dağılımları ile tümör çapının aritmetik ortalamaları arasındaki ilişki

	ER Pt. NMD 0	ER Pt. NMD 1	ER Pt. NMD 2	ER Pt. NMD 3	KW	p
Tümör Çapı	2,69±1,72	2±1,9	2,08±1,24	3,5±4,11	2,40	0,492

Tüm IDC'larda ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri gruplarının metastatik lenf nodu durumu dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,398) (Tablo18).

Tablo 18. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri gruplarının metastatik lenf nodu durumu dağılımları arasındaki ilişki

		ER Pt. NMD 0		ER Pt. NMD 1		ER Pt. NMD 2		ER Pt. NMD 3		
Metastatik lenf nodu durumu (pN)	pN0	6	%75,0	10	%58,8	20	%57,1	8	%42,1	
	pN1	0	%0,0	2	%11,8	9	%25,7	7	%36,8	
	pN2	2	%25,0	2	%11,8	4	%11,4	2	%10,5	$\chi^2:9,44$
	pN3	0	%0,0	3	%17,6	2	%5,7	2	%10,5	p=0,398

Tüm IDC’larda ER- ’nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 gruplarının karsinomdaki ER- ’nın negativitesi ve pozitivitesinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p=0,002$). ER- ’nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterni 0 grubunda karsinomda da ER- ’nın pozitivitesi gözlenmemiştir. (Tablo 19). Bu 8 olgu irdelendiğinde; 8 olgunun 5’i (% 62,5) grup I’de ve 3’ü (% 37,5) ise grup II’de yer almaktadır. Ayrıca bu olguların 7’si (% 87,5) premenopoz ve 1’i (% 12,5) postmenopozal dönemdedir. Yine 7 olguda C-erb-B2 negatiftir.

Tablo 19. ER- ’nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 gruplarının karsinomdaki ER- ’nın negativitesi ve pozitivitesinin dağılımları arasındaki ilişki

		ER Pt. NMD 0		ER Pt. NMD 1		ER Pt. NMD 2		ER Pt. NMD 3		
ER Karsinomda	Negatif	8	%100,0	5	%29,4	10	%30,3	6	%31,6	$\chi^2:14,7$
	Pozitif	0	%0,0	12	%70,6	23	%69,7	13	%68,4	$p=0,002$

Tüm IDC’larda ER- ’nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 gruplarının karsinomdaki PR negativitesi ve pozitivitesinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,239$) (Tablo 20).

Tablo 20. ER- ’nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 gruplarının karsinomdaki PR negativitesi ve pozitivitesinin dağılımları arasındaki ilişki

		ER Pt. NMD 0		ER Pt. NMD 1		ER Pt. NMD 2		ER Pt. NMD 3		
PR Karsinomda	Negatif	5	%62,5	5	%33,3	9	%26,5	5	%26,3	$\chi^2:4,21$
	Pozitif	3	%37,5	10	%66,7	25	%73,5	14	%73,7	$p=0,239$

Tüm IDC'larda ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 gruplarının karsinomdaki C-erb-B2 negativitesi ve pozitivitesinin dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,550$) (Tablo 21).

Tablo 21. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 gruplarının karsinomdaki c-erb-B2 negativitesi ve pozitivitesinin dağılımları arasındaki ilişki

		ER Pt. NMD 0		ER Pt. NMD 1		ER Pt. NMD 2		ER Pt. NMD 3		
c-erb-B2 Karsinomda	Negatif	7	%87,5	13	%86,7	26	%76,5	13	%68,4	$\chi^2:2,1$
	Pozitif	1	%12,5	2	%13,3	8	%23,5	6	%31,6	$p=0,550$

Tüm IDC'larda ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 gruplarının tümör odağı sayısı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,638$) (Tablo 22).

Tablo 22. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 gruplarının tümör unifokalite ve multifokalite dağılımları arasındaki ilişki

		ER Pt. NMD 0		ER Pt. NMD 1		ER Pt. NMD 2		ER Pt. NMD 3		
Tümör Odağı sayısı	Unifokal	5	%62,5	13	%76,5	26	%72,2	16	%84,2	$\chi^2:1,69$
	Multifokal	3	%37,5	4	%23,5	10	%27,8	3	%15,8	$p=0,638$

Tüm IDC'larda ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 grubunun menapoz durumu dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p=0,018$). ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterni 0 grubunda postmenapoz varlığı ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterni 1, 2 ve 3 gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,018$).

Başka bir deyişle, ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterni 1, 2, 3 gruplarının çoğunluğu postmenopozal dönemdeki olgulardan oluşmaktadır (Tablo 23).

Tablo 23. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternleri 0, 1, 2, 3 grubunun menapoz durumu dağılımları arasındaki ilişki

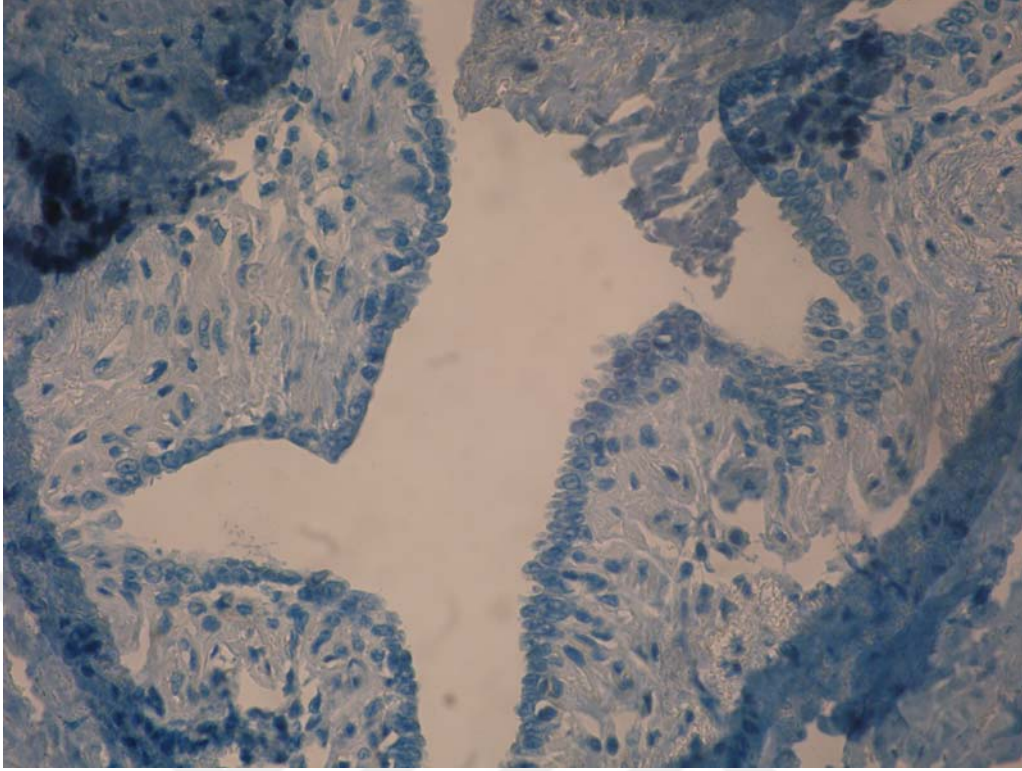
		ER Pt. NMD 0		ER Pt. NMD 1		ER Pt. NMD 2		ER Pt. NMD 3		
Menapoz Durumu	Premenapoz	7	%87,5	4	%23,5	14	%38,9	6	%31,6	$\chi^2:10$
	Postmenapoz	1	%12,5	13	%76,5	22	%61,1	13	%68,4	p=0,018

Son olarak; ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterninin dağılımı açısından grup I ve grup II arasındaki ilişkiye bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,400) (Tablo 24). Ancak sadece ekspresyon paterni 3 olarak skorlanan olguların sayısı grup I'de (%31) grup II'ye göre (%15,8) yaklaşık 2 kat fazla gözükmemektedir. Diğer ekspresyon paterleri açısından ise anlamlı bir fark görülmemiştir.

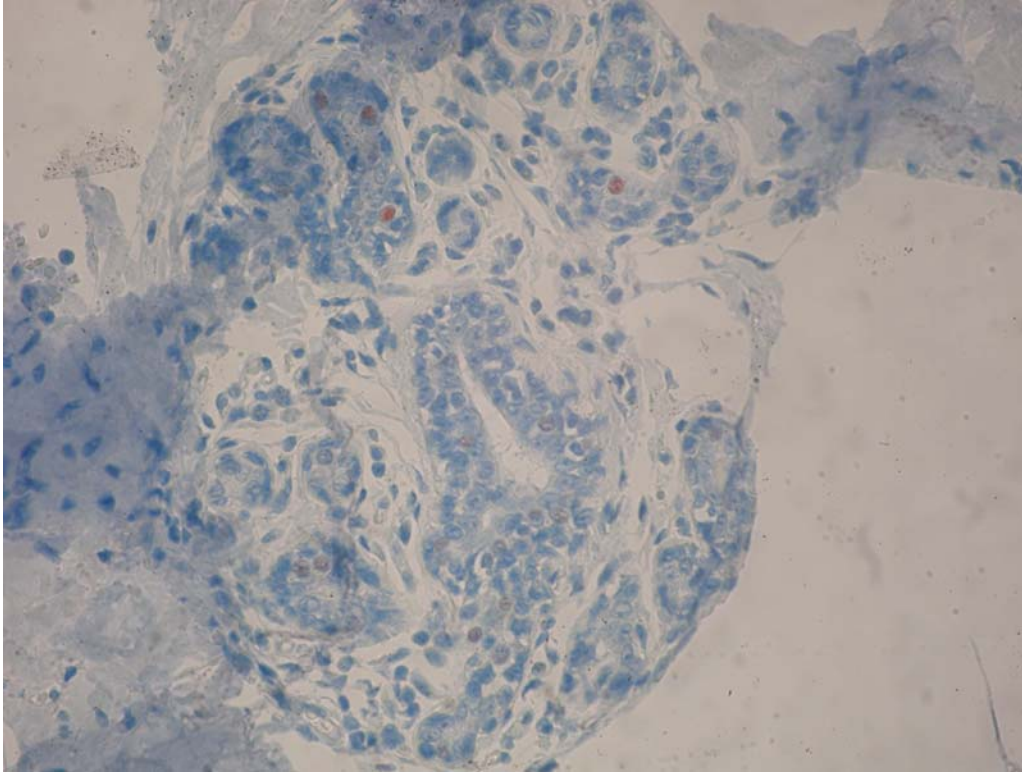
Tablo 24. ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paternlerinin dağılımları.

		Grup I		Grup II		
ER- 'nın Karsinom Çevresi Normal Meme Epitelindeki Ekspresyon Paternleri	0	3	%7,1	5	%13,2	
	1	8	%19,0	9	%23,7	
	2	18	%42,9	18	%47,4	$\chi^2:2,94$
	3	13	%31,0	6	%15,8	p=0,400

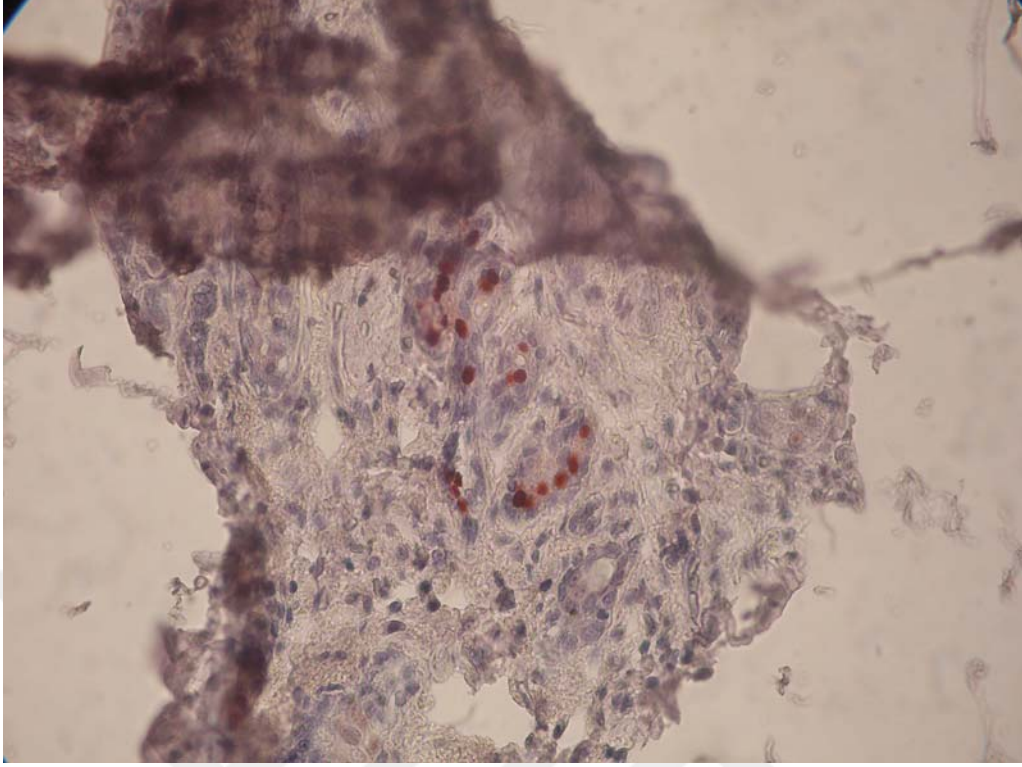
Resim 2-5'te ER- 'nın karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterni 0, 1, 2, 3'e birer örnek görülmektedir.



Resim 2: ER- 'nın Karsinom Çevresi Normal Meme Epitelindeki Ekspresyon Paterni 0



Resim 3: ER- 'nın Karsinom Çevresi Normal Meme Epitelindeki Ekspresyon Paterni 1



Resim 4: ER- 'nın Karsinom Çevresi Normal Meme Epitelindeki Ekspresyon Paterni 2



Resim 5: ER- 'nın Karsinom Çevresi Normal Meme Epitelindeki Ekspresyon Paterni 3

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada meme karsinomlarında önemi çok iyi bilinen ancak oluşturduğu etkinin mekanizması tam açıklığa kavuşmamış olan ER'nün tümör çevresi meme dokusundaki düzeyini araştırmayı planladık. Bu amaçla karsinogenetik olarak farklı bir mekanizmaya sahip olabileceğini düşündüğümüz iki grup arasında ER açısından bir farklılık olup olmadığını araştırmak istedik. Seçtiğimiz gruplardan biri karsinom çevresinde ya da içinde yaygın (% 30- 100) DCIS içeren IDC'lar (Grup I) ve diğeri karsinom çevresinde ya da içerisinde DCIS içermeyen ya da çok düşük oranda içeren (% 5 veya daha az) IDC'lardı (Grup II). Öncelikle bu iki grup arasında çeşitli klinik ve histopatolojik verileri karşılaştırarak bu parametrelere göre bir farklılık olup olmadığını araştırdık.

Bizim araştırmamızda Grup I olgularında ortalama yaş 52,45 ($\pm 13,31$), Grup II olgularında ise 59,68 ($\pm 14,83$)'di. Bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Yaş dağılımına paralel olarak Grup I'de olguların yaklaşık %54,8'i premenapozal dönemde iken, Grup II'de bu oran % 21,1'e inmekteydi. Bir başka deyişle Grup I olguların çoğu premenopozal dönemdeydi. Bu her iki bulgu, yani olguların yaş ortalaması ve premenopozal dönemde olup olmadıkları konusundaki veriler birbirine paralel görünmektedir. Ancak araştırılan diğer değişkenler, ki bunlar lenf nodu metastazı, tümör çapı, multifokalite, histolojik skor, invaziv tümördeki PR ve c-erb-B2 pozitifliği gibi parametrelerdir, açısından bu iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Literatüre bakıldığında içinde yaygın in situ duktal karsinom bulunduran olgulara ait klinik ve patolojik verilerin sunulduğu az sayıda çalışmaya ulaşılmıştır. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Ahmed ve arkadaşları (130) yaptıkları çalışmada; ardışık 100 olguda tümör boyutu, histolojik grade, nodal durum, patolojik evre, S-faz fraksiyonu, Ki 67 ve östrojen ve progesteron reseptörü açısından yaygın in situ duktal karsinom alanları içeren ve içermeyen grup arasında bir farklılık saptamamışlardır. Yine Stuart ve arkadaşlarının (131) çalışmasında yaygın in situ duktal karsinom alanları içeren olgu gruplarında multifokalite ya da diğer parametreler ile direkt korelasyon saptamamışlardır. Ancak araştırmacılar yine de bu iki grup arasında prognostik olarak bir fark bulunduğunu ve bu farklılığın da kendini lokal rekürrens riskinin yüksek olması ile ortaya koyduğunu söylemektedirler. Fisher

ve arkadaşları (132) ise çeşitli parametreler içinde en anlamlı farklılığın primer tümör içinde ya da çevresinde yaygın intraduktal komponent bulunduran olgularda multisentrisite olasılığı ile ilişkili olduğunu ileri sürmektedir.

Bu çalışmanın asıl araştırma konusu olan çevre meme dokusundaki ER'nün durumuna bakıldığında karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterninin dağılımı ile olgu yaşlarının aritmetik ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte normal meme dokusunda ER'nün ekspresyonu arttıkça olguların yaş ortalamalarının artması dikkat çekicidir. Özellikle ekspresyonun gözlenmediği ya da düşük ekspresyon gösterdiği olgularda yaş ortalaması 45, kuvvetli ekspresyon gösteren olguların yaş ortalaması 60' idi. Kumar ve arkadaşları (133) yaptıkları çalışmada meme tümörlerinde tümörde ve tümör çevresi normal meme epitelinde ER seviyeleri enzim immuassay ile ölçülmüş ve yaş ile karşılaştırılmış olup, bizim bulgularımıza paralel olarak tümör ER seviyeleri yaş ile artarken tümör çevresi normal meme epitelindeki ER seviyelerinde farklı yaş gruplarında bir değişiklik görülmemiştir. Barnes ve arkadaşlarının (134) çalışmasında ER pozitif hücrelerin oranının olağan duktal hiperplazide yaşla ilişkili olarak hafifçe arttığını görmüşlerdi. Buna paralel olarak bütün atipik duktal hiperplazi, lobüler karsinoma in situ ve DCIS olgularında lezyonların çoğunda bitişik hücrelerde artmış sayıda pozitif hücreler görülmekteydi. Ancak ER pozitif hücre sayısı ile yaş arasındaki ilişki bu lezyonlarda kaybolmuştu. Bu da bir anlamda ER ekspresyonunun veya reseptör eksprese eden hücrelerin proliferasyonunun otonomisini göstermektedir. Bu hipotez; siklinler ve diğer hücre siklus proteinlerinin anormal ekspresyonunu başlatan ADH evresinde ER pozitif hücre sayısının veya reseptör ekspresyonunun düzenleniminin bozulmasına dayanmaktadır. Bu bulgular bizim araştırmamızda IDC çevresi normal meme epitelindeki ER'nün ekspresyon paternleri ile yaş arasında anlamlı bir ilişki çıkmamasını açıklayabilecek bir hipotezdir (10). Woolcott ve arkadaşları (135) yayınladıkları bir araştırmada bizim bulgularımıza paralel olarak; tanısal amaçlı yapılan meme eksizyonel biyopsileri kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Meme kanserli olguların grupları ile kontrol grubunda nonneoplastik dokudaki ER seviyeleri ile yaş arasında anlamlı bir ilişki varken, vaka grubunda ER seviyeleri ile yaş arasında bir ilişki tespit edemediler. Bir başka çalışmada ise bizim bulgularımıza paralel olarak, ER pozitif kadınların

ortalama yaşının ER negatif olanlarınkinden daha yüksek olduğunu tespit edilmişti. Tüm toplumda ER pozitifliği ve yaş arasında anlamlı bir pozitif ilişki ile birlikte, ER pozitifliğinin premenapozal dönemdeki kadınlardan çok postmenapozal kadınlarda olma yönünde bir eğilim vardı (49). Rochman ve arkadaşları (136) ve Ellinidi ve arkadaşlarının (137) bulguları birbirine paralel olup, bizim bulgularımıza büyük benzerlik göstermekte ve primer meme kanserlerinde hastaların yaşı ile ER pozitif tümörlerin artan insidansı arasında pozitif bir ilişki olduğunu söylemektedirler.

Çevre meme dokusu ve tümör içindeki ER durumu ile gruplar arasındaki farklılığa bakıldığında Schorr ve arkadaşları (138) 2009 yılında yayınlanan araştırmalarında saf DCIS ile DCIS'lu IDC'lar arasında ER ve PR ekspresyonları açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunduğunu ve bu nedenle iki grubun patogenetik açıdan farklı gruplar olduğunu söylemektedir. Bur ve arkadaşları (139) çalışmasında ise invaziv komponent içermeyen DCIS olgularında ER pozitifliği invaziv komponent içeren DCIS olgularından ya çok düşük ya da hiç yok olarak bulunmuştur. Aynı zamanda bu iki grup arasında olguların post ya da premenopozal dönemde olması açısından da bir fark saptamamışlardır.

En anlamlı ilişki ise DCIS'nun tipi ve nukleer grade'i ile ER arasındaki ilişki olarak görünmektedir. Benzer şekilde Ottesenin (140) çalışmasında DCIS'lı ya da DCIS'sız invaziv karsinomlarda DNA ploidi, P53 ve c-erb-B2 ekspresyonu açısından bir anlamlı fark saptanmamıştır. Bu çalışmada invaziv tümör içinde DCIS komponentinin olup olmamasından çok DCIS'ın nukleer grade'i bu iki grup arasında bir farklılık oluşturmaktadır. Başka bir deyişle high grade DCIS olgularında ER pozitifliği düşüktür ve genellikle eşlik eden invaziv tümör de high grade morfolojie sahiptir. Bizim çalışmamızda her iki grup arasında ER'nün karsinomda pozitivite ve negativite dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Benzer şekilde Xuefeng ve arkadaşlarının (141) çalışmasında da bu iki grup arasında bir farklılık saptamamışlardır. Burada da pozitif ilişki DCIS ve DCIS'ya eşlik eden invaziv komponent arasındaki ilişki olup, hem in situ hem invaziv komponent aynı pozitiflik ve negatiflik oranına sahiptir. Tek ve önemli farklılık ise in situ komponentinde ER'nün boyanma yoğunluğu ve yaygınlığının invaziv komponentten daha fazla olmasıdır. Yazarlara göre ER DCIS'nun oluşumunda ana bir rol

oynamamakta, ancak DCIS'nun ana tümör kitlesi dışında gelişmesinde bazı etkiler oluşturmaktadır.

Bununla birlikte bizim çalışmamızda IDC'larda ER'nün karsinom çevresi normal meme epitelindeki ekspresyon paterni ile (0, 1, 2, 3 grupları) karsinomdaki ER'nin negativitesi ve pozitivitesi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu çalışmada ekspresyon paterni 0 grubunda karsinomda da ER'nün pozitivitesi gözlenmemiştir. Bu 8 olgu irdelendiğinde 5'i (% 62,5) grup I'de ve 3'ü (% 37,5) ise grup II'de yer almaktadır. Görüldüğü gibi bu 8 olgu içinde çoğunluk grup I tümörlerdir. Böylesi bir durumun nedeni bu olgulardaki DCIS'nun tipi ile ilişkilimidir sorusu bu çalışmada araştırılmamıştır. Yine bu olguların 7'si (% 87,5) premenopoz ve 1'i (% 12,5) postmenopozal dönemdedir. Yine 7 olguda c-erb-B2 negatiftir. Özetle karsinom çevresi normal meme epitelinde ER'nün pozitifliği % 90 (80 vakanın 72'si) olguda saptanmıştır. Bizim çalışmamıza benzer şekilde çevre meme dokusundaki ER durumu ile tümördeki ER durumunu karşılaştıran Umekita ve arkadaşları (142) bu oranı % 99 (220 vakanın 217'si) olarak bildirmekte ve immunhistokimyasal olarak reseptör tayini için çevre meme dokusunun iyi bir pozitif kontrol alanı olarak kullanılabileceğini belirtmektedirler.

Bizim hipotezimiz; yaygın DCIS komponenti içeren tümörler ile bu komponenti içermeyen tümörlerin biyolojik karakteristikleri farklı mıdır ve bu farklılık acaba çevre meme dokusunun içerdiği ER konsantrasyon düzeyi ile ilişkilimidir idi. Bir başka deyişle; yaygın DCIS olguları meme tümörlerinin oluşumu ve gelişiminde major bir rol oynadığı düşünülen ER'nün etkisiyle lineer bir karsinoetik akış şemasını takip ederek invaziv karsinoma mı ilerlemektedir ya da tam tersine DCIS içermeyen ya da çok düşük oranlarda DCIS içeren tümörlerin ER'ünden bağımsız başka karsinogenetik mekanizmalar ile horizontal bir modele uyarak de novo bir gelişim mi göstermektedir? Bu çalışmamızın sonucuna göre; çevre meme dokusundaki ER düzeyi tümör içinde yaygın DCIS içeren grup ile içermeyen arasında bir farklılık oluşturma yönünde bir etkisinin olmadığı yönündedir. Bu farklılık belki de meme karsinogenezinde etkili olan ER dışı faktörlerin etkisine bağlı olabilir.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

ER- 'nin dayanıklı bir monoklonal antikörünün ortaya çıkışından beri formolde fikse edilmiş ve parafine gömülmüş meme kanseri dokusundaki ER- 'nin ekspresyonu birçok raporda araştırılmıştır. Aksine normal meme epitelinde ER- 'nin ekspresyonuna odaklanan raporlar sınırlı sayıdadır (4, 5, 51, 52, 57, 129, 133, 143-145). Premenopozal kadınlarda ER- pozitif hücrelerinin oranı menstruel siklusun fazına bağlı olarak % 4 ile % 20 arasındadır. Bu hücreler tek tek dağılmışlardır ve ER- negatif hücreler ile çevrilidirler (3, 4, 129, 145). Artan yaşla birlikte ER- pozitif hücrelerin sayısı da artmaktadır (10, 11). Biz de araştırmamızda daha çok karsinom çevresi normal meme epitelinde ER- ekspresyon oranlarını yaygın (%30-100) DCIS'lu IDC'lar ve DCIS'suz (% 5 ve daha az) IDC'larda karşılaştırmak için araştırdık. Bulgularımızın sonucunda yaygın (%30-100) DCIS'lu IDC'ların daha çok premenapozal ve DCIS'suz (% 5 ve daha az) IDC'ların ise postmenapozal hastalarda oluştuğunu tespit ettik. Bu sonuçlara bakıldığında biz yaygın (%30-100) DCIS'lu IDC'lar ile DCIS'suz (% 5 ve daha az) IDC'lar arasında karsinom ve karsinom çevresi normal meme epitelinde ER- 'nin ekspresyonu açısından anlamlı ilişkiler bulamadık ancak yaş, özellikle menapoz durumundaki farklar dikkat çekicidir. Günümüze kadar memede meme karsinomu çevresi östrojen reseptörü ekspresyonunu araştıran çalışmalar sınırlı sayıdadır ve bu çalışmalar genellikle tüm meme karsinomları arasında karsinom çevresi ve karsinomda ER ekspresyonlarını ya da DCIS'lu IDC'larla saf DCIS'lar arasında ER ekspresyonlarını karşılaştırmışlardır. Biz ise yaygın (%30- 100) DCIS'lu IDC'lar ile DCIS'suz (% 5 ve daha az) IDC'lar arasında ER- ekspresyonlarını belki de ilk kez araştıran bir çalışmayı yürüttük. Bütün bu bulguların ışığında yaygın (%30- 100) DCIS'lu IDC'lar ile DCIS'suz (% 5 ve daha az) IDC'lar arasında küçük de olsa bazı farklılıklar bulduk bu da bizi hala bu grupların farklı etyolojilere sahip olabileceğinden kesin olarak uzaklaştırabilmiş değil. Bu nedenle yaygın (%30-100) DCIS'lu IDC'lar ile DCIS'suz (% 0) IDC'lar üzerinde bizim başlattığımız bu ilk araştırmanın yeni araştırmalarla devam etmesi gerektiğini düşünüyoruz.

8. KAYNAKLAR

1. Lacey JV, Jr, Devesa SS, Brinton LA: Recent trends in breast cancer incidence and mortality. *Environ Mol Mutagen* 2002; 39: 82–88.
2. Easton D: Breast cancer – not just whether but when? *Nat Genet* 26: 390–391, 2000
3. Williams G, Anderson E, Howell A, Watson R, Coyne J, Roberts SA and Potten CS: Oral contraceptive (OCP) use increases proliferation and decreases estrogen receptor content of epithelial cells in the normal human breast. *Int J Cancer* 48: 206-210, 1991.
4. Peterson OW, Hoyer PE and Van Deurs B: Frequency and distribution of estrogen receptor-positive cells in normal, nonlactating human breast tissue. *Cancer Res* 47: 5748-5751, 1987.
5. Clarke RB, Howell A, Potten CS and Anderson E: Dissociation between steroid receptor expression and cell proliferation in the human breast. *Cancer Res* 57: 4987-4991, 1997.
6. O. W. Petersen, P. E. Hoyer, and B. Van Deurs. Frequency and distribution of estrogen receptor-positive cells in normal, nonlactating human breast tissue. *Cancer Research* 47, 5748-5751, November 1, 1987
7. Ganong, W. F. Review of medical physiology, ed. 8, pp. 334- 338. Los Altos, ca: Lange medical publications, 1977.
8. Silva, J. S. Georgiade, G. S. , Dilley, W.G., Mccarty, K. S. , SR. , Wells, S. A. , and Mccarty, K. S. , Jr. : Menstrual cycle-dependent variations of breast cyst fluid proteins and sex hormone receptors in the normal human breast. *Cancer (phila.)*, 51: 1297-1302, 1983.
9. Vogel, P. M., Georgiade, N. G., Fetter, B. F., Vogel, S., and Mccarty, K. S., Jr. The correlation of histologic changes in the human breast with the menstrual cycle. *Am. J. Pathol.* , 104: 23-34, 1981.
10. Drife, J. O. Breast development in puberty. *Ann. Ny Acad. Sci.*, 464: 58-65, 1986.

11. Anderson TJ, Battersby S: The involvement of estrogen in the development and function of the normal breast: histological evidence. *Proc R Soc Edinb* 95b: 23-32, 1989.
12. Petersen OW, Hoyer PE, van Deurs B: Frequency and distribution of estrogen receptor-positive cells in normal, nonlactating human breast tissue. *Cancer Res* 1987;47: 5748–5751.
13. Henderson IC, Patek AJ: The relationship between prognostic and predictive factors in the management of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 52: 261–288, 1998
14. Osborne, C. K., Yochmowitz, M. G., Knight, W. A., ILL, and McGuire, W.L. The value of estrogen and progesterone receptors in the treatment of breast cancer. *Cancer (phila.)*, 46: 2884-2888, 1980.
15. Santen R. Cavalieri E. Rogan E. Russo J. Guttenplan J. Ingle J. Yue W.: Estrogen mediation of breast tumor formation involves estrogen receptor-dependent, as well as independent, genotoxic effects. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1155: 132-40, 2009 Feb.
16. Hulley SB, Grady D. The WHI estrogen-alone trial: do things look any better? *Jama*. 2004;291:1769–1771. Press, 2000.
17. Osborne CK: Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 1998;339:1609–1618.
18. MacGregor JJ, Jordan VC: Basic guide to the mechanisms of antiestrogen action. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 151-196.
19. Pegoraro RJ, Karnan V, Nirmul D, et al.: Estrogen and progesterone receptors in breast cancer among women of different racial groups. *Cancer Res* 1986; 46: 2117-2120.
20. Gapstur SM, Dupuis J, Gann P, et al.: Hormone receptor status of breast tumors in black, Hispanic, and non-Hispanic white women. An analysis of 13,239 cases. *Cancer* 1996;77: 1465–1471.
21. Li CI, Malone KE, Daling JR: Differences in breast cancer hormone receptor status and histology by race and ethnicity among women 50 years of age and older. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11: 601–607.

22. Locker GY: Hormonal therapy of breast cancer. *Cancer Treat Rev* 1998;24: 221–240.
23. Ali S, Coombes RC: Endocrine-responsive breast cancer and strategies for combating resistance. *Nat Rev Cancer* 2002;2: 101–112.
24. Moolgavkar SH, Day NE, Stevens RG: Two-stage model for carcinogenesis: Epidemiology of breast cancer in females. *J Natl Cancer Inst* 1980; 65: 559–569.
25. Huang A, Leygue E, Dotzlaw H, et al.: Influence of estrogen receptor variants on the determination of ER status in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 58: 219–225.
26. Kelsey JL, Gammon MD and John EM: Reproductive and hormonal risk factors: reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 15: 36-47, 1993
27. Dupont WD, Page DL. Breast cancer risk associated with proliferative disease, age at first birth, and a family history of breast cancer. *Am J Epidemiol.* 1987;125:769–779.
28. Parl F. Estrogens, estrogen receptor, and breast cancer. Amsterdam: IOS
29. Clark GM, Osborne CK, McGuire WL: Correlations between estrogen receptor, progesterone receptor, and patient characteristics in human breast cancer. *J Clin Oncol.* 1984; 2: 1102–1109.
30. Cooper JA, Rohan TE, Cant EL, et al.: Risk factors for breast cancer by oestrogen receptor status: A population-based casecontrol study. *Br J Cancer* 1989; 59: 119–125.
31. Thorpe SM: Estrogen and progesterone receptor determinations in breast cancer. Technology, biology and clinical significance. *Acta Oncol* 1988; 27: 1–19.
32. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, Van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D: Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406: 747–752, 2000
33. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, Van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Eystein Lonning P, Borresen-Dale AL : Gene expression patterns

- of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep 11;98(19): 10869-74.
34. Kirschner MA: The role of hormones in the etiology of human breast cancer. *Cancer* 1977;39:2716S–2726S.
 35. Robertson JF: Oestrogen receptor: A stable phenotype in breast cancer. *Br J Cancer* 1996;73: 5–12.
 36. Wooster R, Weber BL: Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003;348:2339–2347.
 37. Rosen PP. The pathological classification of human mammary carcinoma: Past, present and future. *Ann Clin Lab Sci* 1979;9:144-156.
 38. Tulinius H, Bjarnason O, Sigvaldason H, et al. Tumours in Iceland, 10. Malignant tumours of the female breast. A histological classification, laterality, survival and epidemiological considerations. *APMIS* 1988; 96:229-238.
 39. Gupta SK, DOuglas-Jones AG, Fenn N, et al. The clinical behavior of breast carcinoma is probably determined at the preinvasive stage (ductal carcinoma in situ). *Cancer* 1997;80: 1740-1745.
 40. Rosen Breast Pathology, 12. Chapter, Invasive duct carcinoma: assesment of prognosis, morphologic prognostic markers, and tumor growth rate, page: 358-395.
 41. Silverberg SG, Chilate AR. Assessment of significance of proportions of intraductal and infiltrating tumor growth in ductal carcinoma of the breast. *Cancer* 1978;32: 830-837.
 42. Schnitt SJ, Connolly JL, Harris JR, Hellman S, Cohen RB. Pathologic predictors of early local recurrence in Stage I and II breast cancer treated by primary radiation therapy. *Cancer*. 1984 Mar 1;53(5): 1049-57.
 43. Rosen PP, Kinne DW, Lesser M, Hellman S. Are prognostic factors for local control of breast cancer treated by primary radiotherapy significant for patients treated by mastectomy? *Cancer*. 1986 Apr 1;57(7): 1415-20.
 44. Joura EA, Löscher A, Kainz C, Sam C, Joura EM, Gitsch G, Dadak C, Breitenecker G. Infiltrating ductal carcinoma of the breast: extensive intraductal component has no impact on lymph node involvement and survival. *Anticancer Res*. 1995 Sep-Oct;15(5B): 2285-6.

45. Hurd TC, Sneige N, Allen PK, Strom EA, McNeese MD, Babiera GV, Singletary SE. Impact of extensive intraductal component on recurrence and survival in patients with stage I or II breast cancer treated with breast conservation therapy. *Ann Surg Oncol*. 1997 Mar;4(2): 119-24.
46. Schnitt SJ, Abner A, Gelman R, Connolly JL, Recht A, Duda RB, Eberlein TJ, Mayzel K, Silver B, Harris JR. The relationship between microscopic margins of resection and the risk of local recurrence in patients with breast cancer treated with breast-conserving surgery and radiation therapy. *Cancer*. 1994 Sep 15;74(6): 1746-51.
47. Rosen Breast Pathology, 1. Chapter, anatomy and physiological morphology, page: 1-22.
48. Giani C, D'Amore E, Delarue JC, et al.: Estrogen and progesterone receptors in benign breast tumors and lesions: Relationship with histological and cytological features. *Int J Cancer* 1986;37: 7–10.
49. Khan SA, Rogers MA, Khurana KK, et al.: Estrogen receptor expression in benign breast epithelium and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 1998;90: 37–42.
50. Smith FB, Puerto CD, Sagerman P: Relationship of estrogen and progesterone receptor protein levels in carcinomatous and adjacent non-neoplastic epithelium of the breast: A histopathologic and image cytometric study. *Breast Cancer Res Treat* 2001;65: 241–247.
51. King TA, Gemignani ML, Li W, Gail DD, Panageas KS, Bogomolny, Arroyo C, Olvera N, Robson ME, Offit K, Borgen PI and Boyd J: Increased progesterone receptor expression in benign epithelium of BRCA-related breast cancers. *Cancer Res* 64: 5051- 5053, 2004.
52. Gobbi H, Dupont WD, Parl FF, Schuyler PA, Plummer WD, Olson SJ ve Page DL: Breast cancer risk associated with estrogen receptor expression in epithelial hyperplasia lacking atypia and adjacent lobular units. *Int J Cancer* 113: 857-859, 2005.
53. Osin PP, Anbazhagan R, Bartkova J, Nathan B, Gusterson BA. Breast development gives insights into breast disease. *Histopathology*. 1998 Sep;33(3): 275-83.

54. Anbazhagan R, Osin PP, Bartkova J, Nathan B, Lane EB, Gusterson BA. The development of epithelial phenotypes in the human fetal and infant breast. *J Pathol.* 1998 Feb;184(2): 197-206.
55. Ham AW, Cormak DH, The breast, histology. 8th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1979: 866-874.
56. Adriance MC, Inman JL, Petersen OW, Bissell MJ. Myoepithelial cells: good fences make good neighbors. *Breast Cancer Res.* 2005;7(5): 190- 7. Epub 2005 Jul 12.
57. Vinay Kumar, MBBS, MD, FRCPATH, Abul K. Abbas, MBBS, Nelson Fausto, MD, Robbins and Cotran Pathologic Basic of Disease, Seventh Edition, Chapter 23: The Breast, : 1119-1154, 2005.
58. Lakhani SR, O'Hare MJ. The mammary myoepithelial cell--Cinderella or ugly sister? *Breast Cancer Res.* 2001;3(1):1-4. Epub 2000 Nov 2. Review.
59. Böcker W, Moll R, Poremba C, Holland R, Van Diest PJ, Dervan P, Bürger H, Wai D, Ina Diallo R, Brandt B, Herbst H, Schmidt A, Lerch MM, Buchwallow IB. Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. *Lab Invest.* 2002 Jun;82(6): 737-46.
60. Longacre TA, Bartow SA. A correlative morphologic study of human breast and endometrium in the menstrual cycle. *Am J Surg Pathol.* 1986 Jun;10(6): 382-93.
61. Fattaneh A. Tavassoli, Peter Devilee. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. World Health Organization Classification of Tumours. 2003; Chapter 1, Tumours of Breast: 9-112
62. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev.* 1993;15(1): 36-47.
63. International agency for research on cancer (1999) . Oral contraceptives combined. In: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans vol. 72 hormonal contraception and post-menopausal hormonal therapy. IARC Pres: Lyon pp. 49-338.
64. International agency for research on cancer (1999) . Hormonal contraceptives, progestogens only. In: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic

risks to humans vol. 72 hormonal contraception and post-menopausal hormonal therapy. IARC Pres: Lyon pp. 339-397.

65. International Agency for Research on Cancer (1999) . Post-menopausal oestrogen therapy . In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol. 72 Hormonal Contraception and Post-menopausal Hormonal Therapy. IARC Pres: Lyon pp. 399-530.
66. International Agency for Research on Cancer (1999) . Post-menopausal oestrogen-progestogen therapy. In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol. 72 Hormonal Contraception and Post-menopausal Hormonal Therapy. IARC Pres: Lyon pp. 531-628.
67. Bernstein L, Ross RK, (1993). Endogenous hormones and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 15: 48-65.
68. Key TJ, (1999). Serum oestradiol and breast cancer risk. *Endocr Relat Cancer* 6: 175-180.
69. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Bush TL, Longcope C, Gordon GB, Comstock GW (1994). A prospective study of endogenous hormones and breast cancer. *Cancer detect Prev* 18: 79-85.
70. Rosenberg CR, Pasternack BS, Shore RE, Koenig KL, Toniolo PG (1994). Premenopausal estradiol levels and the risk of breast cancer: a new method of controlling for day of the menstrual cycle. *Am J Epidemiol* 140: 518-25.
71. Secreto G, Zumoff B (1994). Abnormal production of androgens in women with breast cancer. *Anticancer Res* 14: 2113-2117.
72. Thomas HV, Key TJ, Allen DS, Moore JV, Dowsett M, Fentiman IS, Wang DY (1997). A prospective study of endogenous serum hormone concentrations and breast cancer risk premenopausal women on the island of Guernsey *Br J Cancer* 75: 1075-1079.
73. Kaaks R (1996). Nutrition, hormones, and breast cancer: is insulin the missing link? *Cancer Causes Control* 7: 605-625.
74. Hankinson Se, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Michaud DS, Deroo B, Rosner B, Speizer FE, Pollak M (1998). Circulating concentrations of insulin-like growth factor- 1 and risk of breast cancer. *Lancet* 351: 1393-1396.

75. Kaaks R, Lundin E, Manjer J, Rinaldi S, Biessy C, Soderberg S, Lenner P, Janzon L, Riboli E, Berglund G, Hallmans G (2002). A prospective study of IGF-I, IGF-binding proteins and breast cancer risk, in northern and southern Sweden. *Cancer Causes Control* 13: 307-316.
76. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1): 57- 70.
77. Hahn WC, Weinberg RA. Rules for making human tumor cells. *N Engl J Med*. 2002 Nov 14;347(20): 1593-603.
78. Iqbal M, Davies MP, Shoker BS, Jarvis C, Sibson DR, Sloane JP. Subgroups of non-atypical hyperplasia of breast defined by proliferation of oestrogen receptor-positive cells. *J Pathol*. 2001 Mar;193(3): 333-8.
79. Wiseman BS, Werb Z. Stromal effects on mammary gland development and breast cancer. *Science*. 2002 May 10;296(5570): 1046-9.
80. Tlsty TD, Hein PW. Know thy neighbor: stromal cells can contribute oncogenic signals. *Curr Opin Genet Dev*. 2001 Feb;11(1): 54-9.
81. Porter D, Lahti-Domenici J, Keshaviah A, Bae YK, Argani P, Marks J, Richardson A, Cooper A, Strausberg R, Riggins GJ, Schnitt S, Gabrielson E, Gelman R, Polyak K. Molecular markers in ductal carcinoma in situ of the breast. *Mol Cancer Res*. 2003 Mar;1(5): 362-75.
82. Key TJA, Pike MC (1988) The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Eur J Cancer* 24: 29–43
83. Russo J, Russo IH (1993) Developmental pattern of human breast and susceptibility to carcinogenesis. *Eur J Cancer Prev* 2 [Suppl 3]:85–100
84. Smith DF, Toft DO (1993) Steroid hormone receptors and their associated proteins. *Mol Endocrinol* 7: 4–11
85. Osborne MP (1996) Breast development and anatomy. In: Haris JR, Lippman ME, Morrow M, Hellman S (eds) *Diseases of the breast*. Lippincott-Raven, Philadelphia
86. Lupulescu A (1993) Estrogen use and cancer risk: a review. *Exp Clin Endocrinol* 101:204–214
87. Pertschuk LP, Kim DS, Nayer K, Feldman JG, Eisenberg KB, Carter AC, Rong ZT, Thelmo WL, Fleisher J, Greene GL (1990) Immunocytochemical estrogen

- and progesterin receptor assays in breast cancer with monoclonal antibodies. *Cancer* 66: 1663–1670
88. Ozzello L, DeRosa C, Habif DV, Greene GL (1991) An immunohistochemical evaluation of progesterone receptor in frozen sections, paraffin sections, and cytologic imprints of breast carcinomas. *Cancer* 67: 455–462
 89. Mansour EG, Ravdin PM, Dressler L (1994) Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer* 74: 381–400
 90. McGuire WL, Clark GM (1992) Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 326:1756–1761
 91. Murphy LC (1995) Mechanisms associated with the progression of breast cancer from hormone dependence to independence. *Pezoller Foundation J* 6–16
 92. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (1992) Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy. *Lancet* 339:1–15
 93. Fuqua SAW, Chamness GC, McGuire WL (1993) Estrogen receptor mutations in breast cancer. *J Cell Biochem* 51: 135–139
 94. Halachmi S, Marden E, Martin G, MacKay H, Abbondanza C, Brown M (1994) Estrogen receptor-associated proteins: possible mediators of hormone-induced transcription. *Science* 264:1455–1458
 95. Fujimoto N, Katzenellenbogen BS (1994) Alteration in the agonist/antagonist balance of antiestrogens by activation of protein kinase A signaling pathways in breast cancer cells: antiestrogen-selectivity and promotor-dependence. *Mol Endocrinol* 8: 296–304
 96. Lahooti H, White R, Danielian PS, Parker MG (1994) Characterization of ligand-dependent phosphorylation of the estrogen receptor. *Mol Endocrinol* 8: 182–188
 97. Katzenellenbogen BS, Montano MM, Le Goff P, Schodin DJ, Kraus WL, Bhardwaj B, Fujimoto N (1995) Antiestrogens: mechanisms and actions in target cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 53: 55–64
 98. Schuchard M, Landers JP, Sandhu NP, Spelsberg TC (1993) Steroid hormone regulation of nuclear proto-oncogenes. *Endocrine Rev* 14: 659–668

99. Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, Kitamoto T, Uchiyama S, Sasaki H, Masushige S, Gotoh Y, Nishida E, Kawashima H, Metzger D, Chambon P (1995) Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science* 270:1491–1494
100. Ferguson AT, Lapidus RG, Baylin SB, Davidson NE (1995) Demethylation of the estrogen receptor gene in estrogen-receptor-negative breast cancer cells can reactivate estrogen receptor gene expression. *Cancer Res* 55: 2279–2283
101. Iwase H, Greenman JM, Barnes DM, Bobrow L, Hodgson S, Mathew CG (1995) Loss of heterozygosity of the oestrogen receptor gene in breast cancer. *Br J Cancer* 71: 448–450
102. Somerville JE, Clarke LA, Biggart JD (1992) c-erbB- 2 overexpression and histological type of in situ and invasive breast carcinoma. *J Clin Pathol* 45: 16–20
103. Porter PL, Garcia R, Moe R, Corwin DJ, Gown AM (1991) CerbB- 2 oncogene protein in in situ and invasive lobular breast neoplasia. *Cancer* 68: 331–334
104. Allred DC, Clark GM, Tandon AK, Molina R, Tormey DC, Osborne CK, Gilchrist KW, Mansour EG, Abeloff M, Eudey L, McGuire WL (1992) Her-2/neu in node-negative breast cancer: prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma. *J Clin Oncology* 10: 599–605
105. Barnes DM, Bartkova J, Campjohn RS, Gullick WJ, Smith PJ, Millis RR (1992) Overexpression of the c-erbB- 2 oncoprotein: why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is this of prognostic significance? *Eur J Cancer* 28: 644–648
106. Gusterson BA, Machin LG, Gullick WJ, Gibbs NM, Powles TJ, Elliott C, Ashley S, Monaghan P, Harrison S (1988) cerbB2 expression in benign and malignant breast disease. *Br J Cancer* 58: 453–457
107. Schimmelpennig H, Erikson ET, Falkmer UG, Azavedo E, Svane G, Auer GU (1992) Expression of the c-erbB- 2 protooncogene product and nuclear DNA content in benign and malignant human breast parenchyma. *Virchows Arch A Pathol Anat* 420:433–440
108. Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, Hirota T, Tsugane S, Watanabe S, Terada M, Yamamoto H (1990) Correlation between histologic grade of malignancy

- and copy number of the c-erbB- 2 gene in breast carcinoma. *Cancer* 65: 1794–1800
109. Ramachandra S, Machin L, Ashley S, Monaghan P, Gusterson BA (1990) Immunohistochemical distribution of c-erbB2 in in situ breast carcinoma – a detailed morphological analysis. *J Pathology* 161:7–14
 110. Murphy DS, McHardy P, Coutts J, Mallon EA, George WD, Kaye SB, Brown R, Keith WN (1995) Interphase cytogenetic analysis of erbB2 and topoII alpha co-amplification in invasive breast cancer and polysomy of chromosome 17 in ductal carcinoma in situ. *Int J Cancer* 64: 18–26
 111. An HX, Niederacher D, Beckmann MW, Göhring UJ, Scharl A, Picard F, van Roeyen CRC, Schnürch HG, Bender HG (1995) ERBB2 gene amplification detected by fluorescent differential polymerase chain reaction in paraffin-embedded breast carcinoma tissues. *Int J Cancer* 64: 291–297
 112. Beckmann MW, Niederacher D, Massenkeil G, Tutschek B, Beckmann A, Schenko G, Schnürch HG, Bender HG (1996) Expression analyses of EGF-R and Her-2/neu: no advantage of prediction of recurrence or survival in breast cancer patients. *Oncology* 53: 441–447
 113. De Bortoli M, Dati C, Antoniotti S, Maggiora P, Sapei ML (1992) Hormonal regulation of c-erbB- 2 oncogene expression in breast cancer cells. *J Steroid Biochem Molec Biol* 43:21–25
 114. Dati C, Antoniotti S, Taverna D, Perroteau I, De Bortoli M (1990) Inhibition of c-erbB- 2 oncogene expression by estrogens in human breast cancer cells. *Oncogene* 5: 1001–1006
 115. Taverna D, Antoniotti S, Maggiora P, Dati C, De Bortoli M, Hynes NE (1994) erbB- 2 expression in estrogen-receptor-positive breast-tumor cells is regulated by growth-modulatory reagents. *Int J Cancer* 56: 522–528
 116. Gudas JM, Nguyen H, Li T, Cowan KH (1995) Hormone-dependent regulation of BRCA1 in human cancer cells. *Cancer Res* 55: 4561–4564
 117. Deng G, Chen LC, Schott DR, Thor A, Bhargava V, Ljung BM, Chew K, Smith HS (1994) Loss of heterozygosity and p53 gene mutations in breast cancer. *Cancer Res* 54: 499–505

118. Wales MM, Biel MA, Deiry WE, Nelkin BD, Issa JP, Cavenee WK, Kuerbitz SJ, Baylin SB (1995) p53 activates expression of HIC- 1, a new candidate tumour suppressor gene on 17p13.3. *Nature Med* 1: 570–577
119. Chang F, Syrjänen S, Tervahauta A, Syrjänen K (1993) tumourigenesis associated with the p53 tumour suppressor gene. *Br J Cancer* 68: 651–661
120. Hedenfalk I, Duggan D, Chen Y, Radmacher M, Bittner M, Simon R, Meltzer P, Gusterson B, Esteller M, Kallioniemi OP, Wilfond B, Borg A, Trent J, Raffeld M, Yakhini Z, Ben-Dor A, Dougherty E, Kononen J, Bubendorf L, Fehrle W, Pittaluga S, Gruvberger S, Loman N, Johannsson O, Olsson H, Sauter G. Gene-expression profiles in hereditary breast cancer. *N Engl J Med.* 2001 Feb 22;344(8): 539-48.
121. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schreiber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature.* 2002 Jan 31;415(6871): 530-6.
122. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Eystein Lønning P, Børresen-Dale AL. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Sep 11;98(19): 10869-74.
123. West M, Blanchette C, Dressman H, Huang E, Ishida S, Spang R, Zuzan H, Olson JA Jr, Marks JR, Nevins JR. Predicting the clinical status of human breast cancer by using gene expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Sep 25;98(20): 11462-7. Epub 2001 Sep 18.
124. Fattaneh A. Tavassoli. Pathology of the breast second edition. Infiltrating carcinoma: common and familiar special types. Page: 401-480
125. Matsukuma A, Enjoji M, Toyoshima S. Ductal carcinoma of the breast. An analysis of proportions of intraductal and invasive components. *Pathol Res Pract.* 1991 Jan;187(1): 62-7.

126. Silverberg SG, Chitale AR. Assessment of significance of proportions of intraductal and infiltrating tumor growth in ductal carcinoma of the breast. *Cancer*. 1973 Oct;32(4): 830-7.
127. Gage I, Schnitt SJ, Nixon AJ, Silver B, Recht A, Troyan SL, Eberlein T, Love SM, Gelman R, Harris JR, Connolly JL. Pathologic margin involvement and the risk of recurrence in patients treated with breast-conserving therapy. *Cancer*. 1996 Nov 1;78(9): 1921-8.
128. Black MM, Zachrau RE, Hankey BF, Feuer EJ. Prognostic significance of in situ carcinoma associated with invasive breast carcinoma. A natural experiment in cancer immunology? *Cancer*. 1996 Aug 15;78(4): 778-88.
129. Shoker BS, Jarvis C, Sibson DR, Walker C and Sloane JP: Oestrogen receptor expression in the normal and pre-cancerous breast. *J Pathol* 188; 237- 244, 1999.
130. Ahmed S, Tartter PI, Brower ST, Weiss SE, Brusco C, Bossolt K, Bleiweiss I J, et al. Comparison of invasive cancers with and without extensive intraductal component. *Breast Dis* 1996; 8: 1-6.
131. Stuart j. Schnitt. MD, James L. Connolly, MD. Jay R. Harris, MD. T Samuel Hellman, MD, T and Richard B. Cohen, MD. Pathologic predictors of early local recurrence in stage I and II breast cancer treated by primary radiation therapy *Cancer* 53: 1049-1057, 1984.
132. Fisher ER, Gregorio R, Redmond C, Vellios F, Sommers SC, Fisher B. Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast project. (protocol no. 4): 1. Observations concerning the multicentricity of mammary cancer. *Cancer* 1975; 35: 247-254.
133. Kumar VL. Srivastava A. Singhal R. Kumar V. : Immunoreactive estrogen receptor in breast tumor and adjacent tissue: Association with clinicopathological characteristics in indian population. *Journal of Surgical Oncology*. 89(4): 251-5, 2005 Mar 15.
134. Barnes R, Masood S. Potential value of hormone receptor assay in carcinoma in situ of breast. *Am J Clin Pathol*. 1990 Nov;94(5):533-7

135. Woolcott CG, SenGupta SK, Hanna WM, Aronson KJ. : Estrogen and progesterone receptor levels in nonneoplastic breast epithelium of breast cancer cases versus benign breast biopsy controls. *BMC Cancer*. 2008 May 8;8: 130.
136. Rochman, H. Conniff, E S. Kuk-Nagle, K T.: Age and incidence of estrogen receptor positive breast tumors. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 15(2): 106-8, 1985 Mar-Apr.
137. Ellinidi, V N. Anikseeva, N V. Goncharova, O A. Krasnozhon, D A. Fedorov, K A.: Immunohistochemical investigation of estrogen and progesterone receptors in breast tumors. *Voprosy Onkologii*. 50(2): 234-6, 2004
138. Schorr MC, Pedrini JL, Savaris RF, Zettler CG.: Are the Pure In Situ Breast Ductal Carcinomas and Those Associated With Invasive Carcinoma the Same? *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2009 Jun 29.
139. Bur ME, Zimarowski MJ, Schnitt SJ, Baker S, Lew REstrogen receptor immunohistochemistry in carcinoma in situ of the breast. *Cancer*. 1992 Mar 1;69(5):1174-81.
140. Ottesen GL. Carcinoma in situ of the female breast. A clinico-pathological, immunohistological, and DNA ploidy study. *APMIS Suppl*. 2003;(108):1-67. Review.
141. Jing X, Kakudo K, Murakami M, Nakamura Y, Nakamura M, Yokoi T, Oura S, Sakurai T. Extensive intraductal component (EIC) and estrogen receptor (ER) status in breast cancer. *Pathol Int*. 1998 Jun;48(6):440-7.
142. Umekita Y, Souda M, Ohi Y, Rai Y, Sagara Y, Sagara Y, Yoshida H. : Expression of estrogen receptor alpha and progesterone receptor in normal human breast epithelium. *In Vivo*. 2007 May-Jun;21(3): 535-9.
143. Shoker BS, Jarvis C, Clarke RB, Anderson E, Hewlett J, Davies MPA, Sibson DR, and Sloane JP: Estrogen receptor-positive proliferating cells in the normal and precancerous breast. *Am J Pathol* 155; 1811- 1815, 1999.
144. Khan SA, Yee KA, Kaplan C and Siddiqui F: Estrogen receptor- expression in normal human breast epithelium is consistent over time. *Int J Cancer* 102: 334-337, 2002

145. Ricketts D, Turnbull L, Ryal G, Bakhshi R, Rawson NSB, Gazet J-C, Nolan C and Coombes RC: Estrogen and progesterone receptors in the normal female breast. *Cancer Res* 51: 1817-1822, 1991.

