



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

**TRİPL NEGATİF MEME KANSERLERİNDE LENFATİK VE
KAPİLLER İNVAZYON PATERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. ŞEBNEM YAMAN

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

ANKARA

2010

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

**TRİPL NEGATİF MEME KANSERLERİNDE LENFATİK VE
KAPİLLER İNVAZYON PATERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. ŞEBNEM YAMAN

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. KADRİ ALTUNDAĞ**

ANKARA

2010

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın oluşturulma sürecinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım; her konuda bilimsel desteğini gördüğüm ve tez çalışmamın her aşamasında büyük katkıları bulunan değerli hocam Prof. Dr. Kadri Altundağ’a,

Histopatolojik değerlendirme aşamasında önemli yardım ve katkıları için Patoloji Anabilim Dalından Doç. Dr. Gülnur Güler ve Uzm. Dr. Berrak Gümüşkaya Öcal’a

İstatistiksel değerlendirme konusunda yardım ve katkıları için Doç. Dr. Sercan Aksoy’a,

Tüm Onkoloji Bilim Dalı çalışanlarına;

Uzmanlık eğitimim sürecinde deneyim ve bilgilerini paylaşan İç Hastalıkları Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma,

Her konuda benden desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Şebnem Yaman

Ankara 2010

ÖZET

Yaman Ş.,Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,Tripl Negatif Meme Kanserlerinde Lenfatik ve Kapiller İnvazyon Paterninin Değerlendirilmesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi. Ankara, 2010

Tripl Negatif Meme Kanseri, tüm meme kanseri vakalarının %15-20 sini oluşturmaktadır. Tripl Negatif Meme Kanseri, bazal hücreli karsinom olarak adlandırılan ve meme duktuslarının bazal tabakasından geliştiği düşünülen tümörlere morfolojik ve biyolojik olarak benzerlik göstermektedir. Çalışmalarda bazal hücreli kanserlerin diğer sporadik meme kanserlerinin aksine daha az lenf nodu metastazı yapma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda; Tripl negatif meme kanserlerindeki kapiller ve lenfatik invazyon paterninin değerlendirilmesini amaçlanmıştır. 39 tripl negatif meme kanserli hastanın patoloji preparatları değerlendirildi. İmmunohistokimyasal olarak:CD34 (Endotel hücre marker) ve D2-40 (Podoplanin; Lenfatik endotel spesifik membran proteini) ile boyama yapıldı. 39 hastanın 15'inde (%38.5) CD 34 ile pozitif boyanma yani vasküler invazyon saptandı. 14 hastada (%35.9) kapiller invazyon ;3 hastada(%7.7) lenfatik invazyon ve 2 hastada (%5.1) hem lenfatik hem kapiller invazyon saptandı Kapiller invazyon, lenfatik invazyon, vasküler invazyon varlığı ile tümör gradı, menapoz durumu,TNM evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Bizim çalışmamızda; kapiller invazyon paterni tripl negatif meme kanserli hastalarda lenfatik invazyondan daha sık saptanmıştır. Bu bulgu; tripl negatif meme kanserlerinin lenf nodu metastazından daha fazla hematogen yolla uzak metastaz yapmasının bir nedeni olabilir.

Anahtar Kelimeler:Tripl negatif,lenfatik invazyon,kapiller invazyon

ABSTRACT

Yaman Ş., Lymphatic and Capillary Invasion Patterns in Triple Negative Breast Cancer Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine , Thesis in Internal Medicine.

Triple Negative Breast Cancer (TNBC) comprises of about 15-20% of all breast cancer cases. Many studies have detected less lymph node metastasis in TNBC than sporadic breast cancers. In this study, we studied capillary and lymphatic invasion in tumors of TNBC patients. Two experienced pathologists blinded to clinical data evaluated capillary and lymphatic invasion patterns in 39 TNBC patients' tumor samples. Tumor samples were immunohistochemically stained with CD34 (Endothelial Cell Marker) and D2-40 (Podoplanin, a membrane protein, specific for lymphatic endothelium). The CD34 positive samples were categorized into two groups depending on their reaction with D2-40: lymphatic (D2-40 positive) and capillary (D2-40 negative) invasion. We have detected vascular invasion in 15 out of 39 samples (%38.5) with CD34. Among those, capillary invasion was found in 14 (%35.9) and lymphatic invasion in 3 (%7.7) and both in 2 (%5.1) tumors. We did not find any significant correlations among capillary invasion, lymphatic invasion, vascular invasion, tumor grad, menopause status, history of cancer, and TNM. Capillary invasion is more commonly observed than lymphatic invasion in TNBC patients. This finding provides an explanation for more hematogenous metastasis (spreading) and less lymph node metastasis seen in TNBC patients.

Key Words: Triple negative breast cancer, Lymphatic Invasion, Capillary Invasion

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER.....	ix
TABLolar	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1.1 Meme Kanseri Hakkında Genel Bilgiler	4
2.1.2 Meme kanserlerinde etyoloji ve risk faktörleri	4
2.1.2.1. Aile öyküsü ve genetik.....	4
2.1.2.2. Reprodüktif yaşam tarzı.....	5
2.1.2.3. Endojen hormonlar.....	5
2.1.2.4. Vücut ağırlığı	5
2.1.2.5. Yaş-cinsiyet-sosyoekonomik düzey-etnik köken	6
2.1.3 Meme kanserlerinde sınıflandırma	6
2.1.4 Meme kanserlerinde evreleme	7
2.1.5. Meme kanserlerinde prognostik faktörler	10
2.1.5.1 Aksiller metastaz varlığı	10
2.1.5.2 Tümör boyutu.....	10
2.1.5.3 Histolojik grad	12
2.1.5.4 Histolojik Alt Grup	12
2.1.5.5 Lenfovasküler invazyon varlığı	13
2.1.5.6 Yaş	13
2.1.5.7 Etnik özellikler.....	13
2.1.5.8 Hormon reseptörleri durumu.....	13
2.1.5.9 HER2 (Epidermal büyüme faktörü reseptörü-2, c-erb-B2) ekspresyonu	14

2.1.5.10 Proliferasyon hızı	14
2.1.5.11 Plazminojen aktivatör sistem	17
2.1.6 Meme kanseri sınıflamada yeni yaklaşım.....	17
2.1.7 Tripl negatif meme kanserleri	19
2.2 Metastaz Biyolojisi	22
2.2.1 Progresif çoğalma	22
2.2.2 Anjiogenezis	24
2.2.2.1 Anjiogenez Basamakları	26
2.2.2.2 Anjiogenezi indükleyen moleküller VEGF (Vasküler endoteyal büyüme faktörü).....	26
2.2.3 İnvazyon.....	28
2.2.3.1 Lenfatik invazyon	29
2.2.3.2 Kapiller invazyon.....	31
3. HASTALAR	35
4. METOD	36
4.1 İmmünohistokimyasal Yöntem.....	36
4.1.1 İmmünohistokimyasal boyama yöntemi	36
4.1.1.1 CD 34 Monoklonal Antikoru İle Boyanmanın Değerlendirilmesi	37
4.1.1.2 D2-40 (Podoplanin) Monoklonal Antikoru ile Boyanmanın Değerlendirilmesi.....	37
4.1.2 İstatistiksel Analiz.....	38
5. SONUÇLAR	39
5.1 Vasküler İnvazyon Paterninin Değerlendirilmesi	40
5.1.1 Vasküler invazyon saptanan hastaların ve vasküler invazyon saptanmayan hastaların TNM evresine göre değerlendirilmesi.....	41
5.1.2 Vasküler invazyon Saptanan Hastaların Yaş, Menapoz durumu ve Ailede kanser öyküsü ilişkisinin değerlendirilmesi	42
5.1.3 Vasküler İnvazyon Saptanan Hastaların TNM Sınıflaması ve Grad İle İlişkisinin Değerlendirilmesi.....	43
5.2 Lenfatik İnvazyon Paterninin Değerlendirilmesi.....	44

5.2.1	Lenfatik İnvazyon Saptanan Hastalarda Yaş, Menopoz Durumu ve Aile Kanseri Öyküsü İlişkisinin İncelenmesi	45
5.2.2	Lenfatik İnvazyon Gösteren Hastaların T,N,M Evresi ve Grad ile İlişkisinin Değerlendirilmesi.....	46
5.3	Kapiller İnvazyon Paterninin Değerlendirilmesi	47
5.3.1	Kapiller invazyon saptanan hastaların ve kapiller invazyon saptanmayan olguların TNM evresine göre değerlendirilmesi.....	47
5.3.2	Kapiller İnvazyon Saptanan Hastaların Yaş, Menopoz Durumu ve Aile Kanseri Öyküsü ile İlişkisinin Değerlendirilmesi	49
5.3.3	Kapiller İnvazyon Saptanan Hastaların T,N,M Evresi ve Grad ile ilişkisinin değerlendirilmesi.....	49
5.4	Vasküler İnvazyon Saptanan Hastaların Dağılımı	50
	TARTIŞMA	51
	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	55
	KAYNAKLAR	56

ŞEKİLLER

Şekil	Tablo
2.1	Podoplaninin lenfatik yapıların D2-40 boyanması.....30
2.2	Tümör hücrelerinin kapiller damarlara invazyonu.....33
5.1.1	CD 34 monoklonal antikor ile boyanan ve vasküler invazyon saptanması...40
5.1.2	Vasküler invazyon saptanan hastaların TNM evreleri ve olgu sayıları41
5.2.1	D2-40 ile pozitif reaksiyon veren lenfatik yapıda tümör invazyonu.....44
5.3.1	Kapiller invazyon saptanan hastaların ve kapiller invazyon saptanmayan olguların TNM evreleri ve olgu sayısı47

TABLOLAR

Tablo	Tablo
2.1	Meme kanserinde evreleme sistemi8
2.2	Meme kanserinde evreleme.....9
2.3	Tümör çağı ile aksiller lenf nodu tutulumu arasındaki ilişki11
2.4	Tümör boyutu ile meme kanseri prognozu arasındaki ilişki11
5.1.1	Hastaların klinik ve patolojik özellikleri.....39
5.1.2	Vasküler invazyon saptanan hastaların yaş, menopoz durumu ve ailede kansere öyküsü dağılımı.....42
5.1.3	Vasküler invazyon saptanan hastaların TNM sınıflandırması ve grad ile ilişkisinin dağılımı.....43
5.2.1	Lenfatik invazyon saptanan hastalarda yaş, menopoz durumu ve aile öyküsü ilişkisinin dağılımı.....45
5.2.2	Lenfatik invazyon gösteren hastaların T ,N, M evresi ve grad ile ilişkisinin dağılımı.....46
5.3.2	Kapiller invazyon saptanan hastaların yaş, menopoz durumu ve aile kanser öyküsü ile ilişkisinin dağılımı48
5.3.3	Kapiller invazyon saptanan hastaların T,N,M evresi ve grad ile ilişkisinin dağılımı.....49
5.4.1	Kapiller, lenfatik, vasküler invazyon paternlerine göre olguların dağılımı ..50

SİMGELER VE KISALTMALAR

HER2	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü-2
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
BRCA-1	Breast Cancer-1
FISH	Floresan İnsitu Hibridizasyon
AJCC	American Joint Committee on Cancer
FGFR2	Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 2
İHK	İmmunhistokimya
TNM	Tümör, Nod, Metastaz
u-PA	Ürokinaz Plazminojen Aktivatör
EGFR	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
CK	Sitokeratin
ER	Östrojen Reseptör
İL-2	İnterlökin 2
PG	Prostaglandin
Cu	Bakır
HE	Hemotoksilen-Eozin
PCNA	Prolifreasyon Hücre Nükleer Antijeni
PBS	Phosphate Buffered Salin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser olup, kansere bağlı mortalitenin en sık sebebidir. Yılda bir milyondan fazla kadın meme kanseri tanısı almakta ve 400.000 'den fazlası meme kanseri nedeni ile hayatını kaybetmektedir (1). Son yıllarda adjuvan tedavinin öneminin anlaşılması ile mortalitede belirgin azalma saptanmıştır. Ancak adjuvan tedaviden fayda görebilecek grubun belirlenmesinde günümüzde rutin olarak kullanılan aksiller lenf nodu metastaz varlığı,tümör boyutu,tümör gradı ve hormon reseptörü durumu dışında yeni prognostik faktörlere ihtiyaç duyulmaktadır (2,3).

Meme kanseri çeşitli tümör alt gruplarından oluşan heterojen bir kanser türüdür (3). DNA mikroarray profil çalışmaları ile invaziv meme kanserleri dört gruba ayrılmaktadır.Bu gruplar; Luminal-hormon reseptör pozitif tip,normal meme dokusu benzeri, bazal hücreli,HER2 ekspresyonu gösterenler şeklindedir(4).

Meme kanserinde alt gruplar genellikle hormon reseptör ve HER 2 ekspresyonuna göre belirlenir. Hormon duyarlı tümörler (östrojen ve /veya progesteron reseptör pozitifliği) tüm meme kanseri vakalarının %75-80 ini oluşturmaktadır (5). HER2 ekspresyonu ise vakaların % 10-15 saptanmaktadır (5).

Tripl negatif meme kanserleri hormon reseptör (östrojen ve progesteron reseptör negatif) ve HER2 ekspresyonu gözlenmeyen alt gruptur. Tüm meme kanserlerinin %15-20 tripl negatif histolojidedir (5).

Tripl negatif meme kanserleri, hormon duyarlı meme kanserlerine göre farklı biyolojik ve klinik özellikler gösterir. Tripl negatif meme kanseri, premenapozal, genç bayanlarda, Afrikoamerikan ve Latin popülasyonunda, genç obez bayanlarda daha sık görülmektedir (4). Tripl negatif meme kanserlerinde hormon duyarlı meme kanserli hastalara oranla daha yüksek oranda mortalite ve nüks görülmektedir (6,7,8).

Günümüzde tripl negatif meme kanserlerinde prognostik faktörlerle ilgili yeterince veri bulunmamaktadır. Bu tümörler genel olarak yüksek gradlı, santral nekroz içeren ve yüksek proliferasyon indeksine sahip tümörlerdir (6,7). Yapılan bir çalışmada tripl negatif meme kanserlerinde daha sık akciğer ve beyin metastazı rapor edilmiştir (8,9). Günümüzde tripl negatif tümörlerin sporadik tümörlerin tersine lenfatik yayılım yerine hematojen yayılımı daha sıklıkla gösterme eğiliminde olabileceği yönünde bazı hipotezler vardır.

Metastaz sürecinin en önemli aşamalarından biri, konakçı dokunun lenfatik ve vasküler invazyonudur (11,12). Vasküler sistemde canlı kalabilen tümör hücreleri bütün vücuda kolayca yayılıp progresif çoğalmaya devam edebilirler. Bu kontrolsüz çoğalmada; insulin benzeri büyüme faktörleri (IGF-1,IGF-2); bazı konakçı hormon reseptörleri (örneğin östrojen reseptörleri) önemli rol oynar (13,14).

Meme kanserlerinde lenfatik invazyon en sık rastlanan ve prognoz açısından önemli parametrelerdendir (16). Öyleki meme kanserli hastalarda lenf nodu metastazının varlığı cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi seçeneklerinin değerlendirilmesinde major kriterdir(15-16).Yapılan bir çalışmada invaziv meme kanserlerinde genç ve premenapozal hastalarda lenfavasküler invazyon yaşlı ve postmenapozal hastalarda daha sık saptanmış ve sağkalım üzerine olumsuz etkisi gösterilmiştir (17).

Tripl negatif meme kanserleri bazal hücreli karsinom olarak adlandırılan ve meme duktuslarının bazal tabakasından gelişen tümörlere morfolojik ve biyolojik olarak benzerlik göstermektedir. Çalışmalar bazal hücreli kanserlerin diğer sporadik meme kanserlerinin aksine daha az lenf nodu metastazı yapma eğiliminde olduğu göstermiştir (6,7,18). Türkiye’de yapılan bir kohort çalışmada tripl negatif meme kanserlerinde diğer gruplarla karşılaştırıldığında daha az sıklıkta lenf nodu metastazı saptanmıştır (8). Bu veriler ışığında tripl negatif meme kanserlerinin metastaz paterninin kapiller invazyon ile açıklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda 39 tripl negatif meme kanserli hastanın patoloji preparatları kapiller ve lenfatik invazyon paternleri açısından değerlendirilmesi planlanmıştır. Ayrıca lenfatik ve kapiller invazyon paterni ile tümör evresi, ailede kanser öyküsü, yaş, menapoz durumu arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Meme Kanseri

2.1.1 Meme Kanseri Hakkında Genel Bilgiler

Meme kanseri; tüm dünyada kadınlarda en sık rastlanan ve akciğer kanserlerinden sonra kanserle ilişkili mortaliteye neden olan kanser türüdür (1). Kadınlarda ,meme kanseri tüm kanser vakalarının %26' sını;kansere bağlı ölümlerinin %15' ini oluşturmaktadır (19). Rutin tarama yöntemlerinin kullanımında artışla birlikte son yıllarda insidansında artış gözlenmekle birlikte modern tedavi yöntemleri ile mortalite oranında belirgin azalma saptanmaktadır (20).

Ülkemizde sistematik kanser veri tabanı henüz mevcut olmadığı için meme kanseri insidansı hakkında yeterli veri bulunmamaktadır.. Sağlık Bakanlığının son verilerinde bu oran %24.1 ve kadınlarda en sık görülen kanserdir (21,22).

2.1.2 Meme kanserlerinde etyoloji ve risk faktörleri

Meme kanseri etyolojisi günümüzde halen tam olarak bilinmemektedir. Epidemiyolojik olarak tanımlanmış pek çok risk faktörü bulunmaktadır. Meme kanseri etyolojisi mutlifaktoriyel olarak tanımlanmıştır.

2.1.2.1. Aile öyküsü ve genetik

Aile hikayesi, meme kanseri için önemli bir risk faktörüdür. Ailesinde, birinci dereceden yakınında meme kanseri hikâyesi olanlarda risk 1,8 kat artarken,birinci dereceden iki yakınında meme kanseri hikayesi olanlarda risk 2,93 kat artar (23).

Meme kanserlerinin %5-10'unun spesifik herediter mutasyonlarla ilgili olduğu kabul edilmektedir. BRCA-1 ve BRCA-2 tümör supresör gen mutasyonları, herediter meme kanserlerinin % 30-40'ından sorumludur (23).

2.1.2.2. Reprodüktif yaşam tarzı

Meme kanseri riski sıklıkla erken menarj, nulliparite ve/veya geç yaşta ve az sayıda çocuk doğurmuş kadınlarda,infertil bayanlarda, geç yaşta menapoza girmiş kadınlarda daha sık gözlenir (24).

2.1.2.3. Endojen hormonlar

Meme kanseri hormon bağımlı bir hastalıktır. Yapılan hayvan çalışmalarında östrojenin meme dokusunda hücrel proliferasyonu artırdığı ve apoptozu inhibe ettiği gösterilmiştir. MORE (*Multiple Outcomes of Raloksifen Evaluation*) çalışmasında serum östrojen düzeyi yüksek olanlarda (>12 pmol/L) düşük olanlara göre meme kanseri riskinde iki kat artış olduğu rapor edilmiştir (25).

2.1.2.4. Vücut ağırlığı

Yapılan yüzden fazla çalışma vücut ağırlığındaki artışın postmenopozal kadınlarda meme kanseri riskini artırdığını göstermiştir (26). Vücut ağırlığı, reprodüktif, yaşam tarzı risk faktörleri ve fiziksel aktiviteden bağımsız bir risk faktörü olarak belirlenmiştir. (24). Vücut-kitle indeksi 24kg/m^2 'nin üstünde olan postmenapozal kadınlarda meme kanseri görülme riski daha fazladır (27). Postmenopozal obezite, yağdan zengin diyet, sedanter yaşam, aşırı alkol kullanımı meme kanseri riskini arttıran çevresel faktörlerdir (28).

2.1.2.5. Yaş-cinsiyet-sosyoekonomik düzey-etnik köken

Yaş en önemli bağımsız risk faktörlerinden birisidir (4). Yaş ilerledikçe, özellikle de 45-50 yaş sonrası dönemde meme kanseri insidansı artmaktadır. Meme kanseri, kadınlarda erkeklerden 100 kat daha sık görülmektedir. Daha iyi sosyoekonomik şartlara sahip Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa toplumlarında meme kanseri görülme sıklığı iki kat artmıştır (29). Etnik olarak farklı toplulukları barındıran aynı popülasyonda da, meme kanseri görülme insidansı farklılıklar göstermektedir (29). Beyaz ırkta siyah ırka göre meme kanseri daha sık görülmekle birlikte siyah ırkta mortalite daha yüksek bulunmuştur(29).

2.1.3 Meme kanserlerinde sınıflandırma

Meme tümörlerinde günümüzde Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği sınıflandırma kullanılmaktadır (27). Bu sınıflamaya göre meme kanserleri:

1. İn situ karsinom

İn situ duktal karsinom (DCIS)

İn situ lobuler karsinom (LCIS)

2. İnvaziv karsinom

-İnvaziv duktal karsinom (% 70-80)

-İnvaziv lobüler karsinom (% 5-10)

- Tübüler karsinom (% 2)

- İnvaziv kribriform karsinom

- Medülller karsinom (% 1-5)
- Müsinöz (kolloid) karsinom (% 1-2)
- İnvaziv papiller karsinom (% 1)
- İnvaziv mikropapiller karsinom
- Apokrin karsinom
- Sekretuar (juvenil) karsinom
- Adenoid kistik karsinom
- Metaplastik karsinom
- Nöroendokrin karsinom
- İnflamatuar karsinom

olarak sınıflandırılmıştır.

2.1.4 Meme kanserlerinde evreleme

Dünya çapında günümüzde en sık kullanılan evrelendirme sistemi American Joint Committee on Cancer (AJCC)'nin TNM evrelendirme sistemidir (Tablo 2.1 ve 2.2) (30).Bu evrelendirme sisteminde; T:primer tümörü; N: lenf nodu tutulumunu; M:Uzak metastaz durumunu simgelemektedir.

Tablo 2.1 Meme kanserinde evreleme sistemi

Primer tümör Boyutu
Tx:Primer Tümör değerlendirilmedi.
T0: Primer Tümör yok.
Tis:Kasinoma in situ,İntraduktal karsinom, Lobuler karsinoma in situ, meme başının Paget hastalığı
T1: En büyük tümör çapı ≤ 2cm.
T1 mik:En büyük çapı ≤ 0.1 cm. mikroinvazif tümör
T1a:Tümör çapı > 0.1 cm. fakat <0.5 cm.
T1b: Tümör çapı >0.5 cm.fakat <1 cm..
T1c:Tümör çapı >1 cm. fakat <2.0 cm.
T2:Tümör çapı >2 cm. fakat < 5 cm.
T3:Tümör çapı > 5 cm.5
T4:Herhangi bir büyüklükte fakat aşağıda ki özelliklerden herhangi birini taşıyan tümör,
T4a:Pekralis major kası dışına yayılım
T4b:Ödem peau d' orange, cilt ülserasyonu aynı memede cilt ülserasyonları.
T4c:T4a ve T4b'nin birlikteliği.
T4d:İnflamatuvar karsinom
Bölgesel lenf Nodları
Nx:Daha önceden çıkarılan ve değerlendiremeyen tümör.
N0: Bölgesel lenf nodlarına metastaz yok.
N1:hareketli ipsital aksiler lenf nodları metastazı.
N2: Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiler lenf nodu metastazı veya aksiler metastaz olmaksızın klinik veya radyolojik olarak (lenfosintigrafi dışı) görüntülenebilen ipsilateral intramammaryan (İM) nodal metastaz.
N2a: Komşu dokulara yapışık ipsilateral aksiler metastaz
N2b: Aksiller metastaz olmaksızın klinik ve radyolojik olarak görüntülenebilen ipsilateral İM nodal metastaz
N3: Ipsilateral infraklavikular lenf nodu metastazı veya klinik+radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görüntülenebilen ipsilateral İM nodal metastaz+aksiler metastaz veya supraklavikular metastaz
N3a: Ipsilateral infraklavikular lenf nodu metastazı+aksiler metastaz
N3b: klinik+radyolojik (lenfosintigrafi dışı) olarak görüntülenebilen ipsilateral İM nodal metastaz+aksiler metastaz
N3c: Supraklavikular lenf nodu metastazı
Bölgesel lenf nodları (pN)
pNx: Değerlendirilemeyen bölgesel lenf nodları
pN0: bölgesel lenf nodu metastazı yok
pN0 (i-): Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK (-)
pN0 (i+): Bölgesel lenf nodu metastazı yok, İHK (+); ancak tümör infiltrasyon alanı <0,2 mm.
pN0(mol-): Bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR (-)
pN0(mol+): Bölgesel lenf nodu metastazı yok, Rt-PCR (+)
pN1 mi: Mikrometastaz, tümör infiltrasyon alanı>0,2 mm fakat <2,0 mm
pN1: 1-3 aksiller lenf nodunda metastaz ve /veya klinik+radyolojik olarak görüntülenemeyen ancak sentinel biyopside saptanan İM nodunda mikrometastaz
pN1a: 1-3 aksiller lenf nodu metastazı
pN1b: klinik+radyolojik olarak görüntülenemeyen ancak sentinel biyopside saptanan İM nodunda mikrometastaz
pN1c: 1-3 aksiller lenf nodu metastazı ve klinik+radyolojik olarak görüntülenemeyen ancak sentinal biyopside saptanan İM nodunda mikrometastaz
pN2: 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz veya aksiler metastaz olmaksızın İM lenf nodlarında klinik+radyolojik olarak (lenfosintigrafi dışı) olarak görüntülenebilen tutulum
pN2a: 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz, en küçük tümör alanı >2,0 mm
pN2b: aksiler metastaz olmaksızın İM lenf nodlarında klinik+radyolojik olarak (lenfosintigrafi dışı) olarak görüntülenebilen tutulum
pN3: 10 veya daha fazla aksiler lenf nodu metastazı veya infraklavikular lenf nodu metastazı veya klinik+radyolojik olarak (lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin İM lenf nodu metastazı+ en az 1 aksiller lenf nodu metastazı veya sentinal biyopsi ile tanısı konan mikroskobik İM lenf nodu metastazı +3 den fazla aksiller lenf nodu metastazı
pN3a: 10 veya daha fazla aksiler lenf nodu metastazı, en küçük tümör alanı> 2,0 mm veya infraklavikular lenf nodu metastazı
pN3b: klinik+radyolojik olarak (lenfosintigrafi dışı) olarak belirgin İM lenf nodu metastazı + en az 1 aksiler lenf nodu metastazı veya sentinel biyopsi ile tanısı konan mikroskobik İM lenf nodu metastazı +3 den fazla aksiler lenf nodu metastazı
pN3c: supraklavikular lenf nodu metastazı
Uzak metastazlar
Mx: Değerlendirilemeyen uzak metastaz

Tablo 2.2 Meme Kanseriinde Evreleme

Evre	T	N	M
0	T_{is}	N₀	M₀
1	T_{mic}	N₀	M₀
	T₁	N₀	M₀
2A	T₀	N₁	M₀
	T₁	N₁	M₀
	T₂	N₀	M₀
2B	T₂	N₁	M₀
	T₃	N₀	M₀
3A	T₀	N₂	M₀
	T₁	N₂	M₀
	T₂	N₂	M₀
	T₃	N₁	M₀
	T₃	N₂	M₀
3B	T₄	N₀	M₀
	T₄	N₁	M₀
	T₄	N₂	M₀
3C	T₁₋₄	N₃	M₀
4	T₁₋₄	N₀₋₃	M₁

2.1.5.Meme kanserlerinde prognostik faktörler

Meme kanseri kadınlarda kansere bağlı ölümler arasında ikinci sıklıkta yer almaktadır (1). Ancak adjuvan tedavi seçeneklerindeki gelişmelerle mortalitede azalma saptanmaktadır.Hastalığın seyrini prognozunu ve tedavi seçeneklerinin değerlendirilebilmesi için çeşitli belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır (2,3).

2.1.5.1 Aksiller metastaz varlığı

Aksiller lenf nodu tutulumu ;meme kanserleri için dominant prognostik faktördür (31).Hastalıksız yaşam süresi; rekürrens gelişme ihtimali;rekürrens gelişme süresi ve tedavi başarısı tutulan pozitif lenf nodu sayısı ile orantılıdır (32).Aksiller lenf nodu tutulumu negatif hastalarda 10 yıllık sağ kalım ihtimali %65-83; 1-3 lenf nodu pozitif iken %38-54; dört ve üzerinde pozitif lenf nodu varlığında %13-26' lara kadar gerilemektedir (33).

2.1.5.2 Tümör boyutu

Tümör boyutu; lenf nodu tutulumundan sonra en önemli bağımsız prognostik faktördür (34). Primer tümörün çapı; sağkalım ve nodal metastaz insidansı ile doğru korelasyon gösterir (32) (Tablo2-4).Mc Guire ve arkadaşları tarafından nod negatif hastalarda yapılan bir çalışmada; tümör boyutu 1 cm altında olanlarda nüks oranı %1-10;3 cm den büyük tümörlerde %50 nin üzerinde olarak bulunmuştur (35).

Tablo 2.3 Tümör çapı ile aksiller lenf nodu tutulumu arasındaki ilişki

Tümör Çapı (cm)	Lenf tutulumu (%)
0,5 cm. den küçük	20
0,5-0,9	20
1-1,9	33
2-2,9	45
3-3,9	52
4-4,9	60
5 cm.den büyük	70

Tablo 2.4 Tümör boyutu ile meme kanseri prognozu arasındaki ilişki

Tümör boyutu(cm)	5 Yıllık Sağkalım			
	Nod (-)%	Nod (+) %	1-3 (+) %	4< (+) %
0,1-0,5	82-99	52	95	59
0,6-1,0	72-98	54	94	54
1,1-2,0	68-96	39	87	67
2,1-3,0	63-92	39	83	63
3,1-4,0	61-86	33	79	57
4,1-5,0	59-85	26	70	53
>5,0	57-82	21	73	46

2.1.5.3 Histolojik grad

Meme kanserleri;tübül ve/veya gland formasyonu ;nükleer pleomorfizm ;mitotik sayıya göre gradlandırılır (27,36).Günümüzde yaygın olarak kullanılan Nottingham Grad sistemidir. Bu sınıflamaya göre:**Gx**: Tam olarak grad saptanamamış tümörler,**G1**: İyi diferensiye tümörler,**G2**: Orta derece diferensiye tümörler,**G3**: Kötü diferensiye tümörler.Grad 1 tümörler en iyi prognoza sahip tümörler olup; bazı geniş çalışmalarda 2 cm altında ve grad 1 tümörlerde nüks oranının sadece %2 civarında olduğu saptanmıştır (37).6y

2.1.5.4 Histolojik Alt Grup

Günümüzde en sık rastlanan histolojik gruplar; invaziv duktal karsinom ve invaziv lobüler karsinomdur. Histopatolojik alt gruplar prognostik öneme göre 3 grupta toplanabilir (38).

- İyi prognostik grup; müsinöz, tübüler, papiller, sekretuar.
- Orta derecede iyi prognostik grup; medüller, invaziv, lobüler
- Kötü prognostik grup; infiltratif duktal, atipik medüller, metaplastik, taşlı yüzük hücreli, inflamatuvar.

45000 meme kanserli olgunun değerlendirildiği bir çalışmada;tübüler ve müsinöz karsinomlarının sıklıkla daha yaşlı bireylerde gözleendiği,daha az sıklıkta lenf nodu tutulumu yaptıkları, S faz fraksiyonlarının daha düşük oldukları, HER2 ekspresyonu göstermedikleri ve 5 yıllık sağ kalım sürelerinin toplumdaki yaş denk bireylerle farklılık göstermediği saptanmıştır (39).

2.1.5.5 Lenfovasküler invazyon varlığı

Lenfovasküler invazyon varlığı lokal rekürrens ve uzak metastazın önemli belirleyicisidir (32).Lenfovasküler invazyon varlığının gerek hastalıksız sağkalım gerek toplam sağkalım üzerine olumsuz etkileri vardır (40).

2.1.5.6 Yaş

Tanı anındaki hasta yaşı bağımsız bir prognostik faktördür. Genç yaşta tanı alan hastalar ileri yaşta tanı alan hastalara göre daha kötü prognoza sahiptir (41).Yapılan iki çalışmada 35 yaş altı hastalarda meme kanserinin daha kötü prognoz gösterdiği; daha sık hormon reseptör negatifliği;daha sık artmış tümör boyutu ve daha sık nodal tutulum gösterdiği belirtilmiştir (42,43).

2.1.5.7 Etnik özellikler

Hispanik ve zencilerde meme kanseri prognozu daha kötü olarak belirtilmiştir (20). Daha iyi sosyoekonomik şartlara sahip Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa toplumlarında meme kanseri görülme sıklığı iki kat artmıştır (29). Etnik olarak farklı toplulukları barındıran aynı popülasyonda da, meme kanseri görülme insidansı farklılıklar göstermektedir. Beyaz ırk, siyah ırka göre daha yüksek riske sahiptir. Elledge ve arkadaşlarının (44) bir çalışmasında yaklaşık 5000 beyaz, 1000 zenci ve 800 hispanik meme kanserli kadın karşılaştırılmış ve beyaz kadınların daha yaşlı, tümör boyutunun daha küçük, nodal tutulumun daha az olduğu saptanmıştır. Ancak siyah ırkta, daha ileri evrede tanı almaları nedeniyle mortalite oranları daha yüksektir (29).

2.1.5.8 Hormon reseptörleri durumu

Öströjen ve progesteron hormon reseptörleri meme kanserlerinde prediktif önemi olan belirteçlerdir. Her iki hormon reseptörü de hücre içinde yer alan ve steroid yapısında proteinlerdir.Meme karsinomlarının %60-65'i öströjen ve progesteron

reseptörü pozitifdir (46). Günümüzde her iki reseptör durumu tayini immünohistokimyasal yöntemlerle saptanmaktadır. Yaşlı hastalarda genç hastalara oranla daha sık reseptör pozitifliği görülür (46).

Östrojen ve progesteron reseptör pozitif hastalarda tanı sonrası ilk 5 yıl içindeki relaps oranı reseptör negatif hastalara göre %5-10 oranında daha az iken; bu avantaj takip süresinin artması ile azalmaktadır (46,47). Modern kemoterapi yaklaşımları ile son yıllarda reseptör negatif meme kanserlerinin prognozu reseptör pozitif hastalarına yaklaşmıştır (48).

2.1.5.9 HER2 (Epidermal büyüme faktörü reseptörü-2, c-erb-B2) ekspresyonu

HER2 geni 17. kromozom q21' e lokalize ve 185 kD' luk transmembran glikoprotein sentezleyen bir onkogendir. HER2; hücre proliferasyon ve farklılaşma kaskadının çeşitli basamaklarında rol almaktadır. Tirozin kinaz aktivitesi gösteren epidermal büyüme reseptörüne benzer bir protein üretimine rol açmaktadır. Meme kanserlerinin yaklaşık %20-25'inde HER2 ekspresyonu artmıştır (49). HER2 amplifikasyonu FISH analizi ile ölçülmektedir.

HER2 ekspresyonunun artması küçük tümörlerde ve nod negatif tümörlerde faydalı prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir (50,51). Ayrıca HER2 ekspresyonu; tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde de faydalı olmaktadır. Pekçok çalışmada HER2 pozitif tümörlerin antrasiklin içeren kemoterapi rejimlerinden daha çok faydalandığı gösterilmiştir (52). HER2 pozitif tümörlerde hedefe yönelik geliştirilen trastuzumab; lapatinib gibi biyolojik ajanların hastalığa cevabı arttırdığını göstermiştir (45,52).

2.1.5.10 Proliferasyon hızı

Yüksek proliferasyon hızına sahip tümörler daha kötü prognoza sahip tümörlerdir. Meme kanserlerinin proliferasyon hızı çeşitli yöntemlerle değerlendirilebilir:

a. Mitotik indeks,

b. Timidin labeling indeks,

c. Bromodeoksiuridin (BrDu) labeling indeks,

d. İmmunhistokimyasal işaretleyiciler: Ki 67, siklin D, siklin E, topoizomeraaz II, p27, proliferating cell nuclear antigen [PCNA/cyclin] gibi,

e. Flow sitometrik olarak yapılan S faz fraksiyon ölçümü (27,53,54).

- **P53 geni:**

17. kromozom kısa kolunda yer alan ve tümör süpresör bir gendir. Hücre siklusunda G1 fazından S fazına geçişin denetlenmesinde rol almaktadır (36,55). Yapılan bir çok çalışmada meme kanserlerindeki 17 P'nin kaybı ile malign histolojik özellikler arasında yakın ilişki gösterilmiştir. P53 ekspresyonu gösteren meme kanserlerinde yüksek histolojik grad, yüksek proliferasyon indeksi, anöploidi ve hormon reseptörleri negatifliği arasında korelasyon saptanmıştır (56). Meme kanserlerinin %20-25 inde p53 inaktivasyonu saptanmıştır (56).

- **Katepsin D:**

Hücre proliferasyonu ve tümör invazyonunda rol alan lizozomal proteaz bir enzimdir. Günümüzde katepsin D düzeylerindeki artışın prognoz üzerine etkisi konusunda çelişkili sonuçlar mevcuttur (57,58).

- **EGFR (Epidermal büyüme faktör reseptörü)**

EGFR: 170 kD luk transmembran bir glikoproteindir. Sitoplazmik parçası tiroizin kinaz aktivitesi göstermektedir. Birçok karsinomda EGFR gen amplifikasyonun kötü

prognozla ikişkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan pek çok çalışmada EGFR ekspresyonu östrojen negatif tümörlerde östrojen pozitif tümörlere oranla anlamlı ölçüde daha yüksek izlenmiştir (59).

Tüm bu proliferasyon parametreleri üzerinde en çok durulan S fazı farksiyonu ölçümü ve immünohistokimyasal olarak ki67 değerlendirilmesidir (60,61).Yüksek proliferasyon indeksi; düşük tümör gradı, genç yaş, hormon reseptör negatifliği ve HER2 pozitifliği ile kuvvetli proliferasyon gösterir (62).

- **BRCA1 ve BRCA2:**

Son 20 yıllık bir çalışmada meme karsinomlarında BRCA1 ve BRCA2 yatkınlık genleri klonlanmıştır. Bu genler DNA hasarının tamirinde rol oynayan proteinleri kodlar.Bu genlerin eksikliğinde ortaya çıkan DNA hasar birikimleri kansere yol açar.

Meme karsinomlarının %10'unda BRCA gen mutasyonları saptanmıştır. BRCA1 17. kromozomun q21 bölgesinde lokalizedir. BRCA2 geni ise 13.kromozomun q12-13 bölgesindedir (59). BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları taşıyan kadınlarda meme kanseri oluşma riski %40-85 arasında değişmektedir. Meme kanseri hikayesi olan taşıyıcıların kontralateral hastalık riski, yılda %5 kadar yüksektir. BRCA2 mutasyonları taşıyan erkekler de yüksek meme kanseri riski taşımaktadırlar. Her iki gendeki mutasyonlar aynı zamanda yüksek over kanseri riskine de yol açar (59,63).

- **Ki-67:**

G0 fazındaki hücreler hariç tüm hücre sikluslarında nükleusta mevcut olan bir nükleer antijene karşı gelişen monoklonal antikordur. DNA içeriğine bakmaksızın herhangi bir siklus fazında bulunan tüm hücreler G0 fazına girebildiği için, Ki-67 fraksiyon tayini, bir tümörün prolifere olan hücre komponenti ile ilgili en anlamlı bilgileri vermektedir. Nod (-) meme kanserlerinde Ki-67 büyüme fraksiyonu ortalaması

% 13 iken, dörtten az nod (+) tümörlerde bu fraksiyon % 20'dir. Ayrıca hormon reseptör varlığı ile ters orantılı ilişki vardır (64,65).

2.1.5.11 Plazminojen aktivatör sistem

Pekçok çalışmada serum plazminojen aktivatör sisteminin tümör invazyon ve metastazında rol oynadığı gösterilmiştir. 8377 hastalık geniş bir çalışmada ;düşük serum ürokinaz plazminojen aktivatör düzeyi bulunan lenf nodu negatif meme kanserli hastalarda;benzer özellikteki yüksek serum ürokinaz plazminojen aktivatör düzeyi içeren hastalara göre sağkalımda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (66).

2.1.6 Meme kanseri sınıflamada yeni yaklaşım

Meme dokusu meme başından terminal üniterele kadar 2 tip hücreden oluşur:

- 1)Myoepital hücreler: Bazalde ve kontraktilite özelliği gösteren epitel hücreleri
- 2)Luminal Hücreler: İçte ve sekretuar özellik gösteren hücrelerdir.

Meme kanseri; prognostik, morfolojik ve tedavi yanıtı açısından oldukça heterojen bir hastalık grubudur. Günümüzde CK5-CK14-CK17 gibi keratin ekspresyonu gösteren meme kanserlerinin daha kötü prognozlu olduğu ve BRCA1 ile ilişkili oldukları üzerinde durulmaktadır (63). Moleküler çalışmaların gelişmesiyle birlikte meme karsinomlarında gen ekspresyonu profili çıkarılarak yeni moleküler klasifikasyon yapılmıştır (67). 2000 yılında Perou ve arkadaşları tarafından meme karsinomlarının DNA mikroyarray yöntemi ile gen ekspresyonu incelendi.Gen ekspresyonuna göre meme kanserleri dört ana gruba ayrılmıştır(68);

1)Luminal Grup:

- Luminal A
- Luminal B

2)Normal Meme Dokusu Benzeri Grup:

3)HER2 Ekspresyonu Gösteren Grup:

4)Bazal Hücreli Karsinom:

Bu çalışmada;

1)Luminal Grup: Östrojen reseptör sunumu yüksek olan ve diğer gruplara göre artmış luminal hücre markeri içeren grup olarak adlandırılmıştır.

- **Luminal A;** ER ile ilişkili genlerin daha fazla eksprese edildiği gruptur.
- **Luminal B;** Proliferatif genlerin daha fazla eksprese edildiği gruptur.

Özellikle HER2 ekspresyonu artmıştır.

2)Normal Meme Dokusu Benzeri Grup

Düşük miktarda luminal gen ekspresyonu içeren aynı zamanda bazal epitelyal hücre ve adipoz doku hücre genlerini eksprese eden gruptur.

3)HER2 Ekspresyonu Gösteren Grup

HER-2 onkogen ekspresyonu yüksek olan ve östrojen reseptörü negatif olan gruptur.

4) Bazal Hücreli Karsinom

Myoepitelyal marker ekspresyonu düşük ;bazal sitokeratinler (CK5/CK6/CK14/CK17) ekspresyonu yüksek; ER ve HER2 durumu negatif olan grup olarak tanımlanmıştır.

Bazal hücreli benzeri meme karsinomlarını belirlemek için CK5-CK6-ER-HER2-EGFR paneli immunohistokimyasal olarak kullanılabilecek panellerden biridir (69).

Fulford ve arkadaşlarının 443 grad III invaziv duktal karsinomlu olguda yaptığı immunohistokimyasal çalışmada; bazal benzeri tümörlerin farklı biyolojik davranışa sahip olduğu; karaciğer ve kemik metastazlarının az ancak beyin metastazlarının sporadik meme kanserlerine göre daha sık görüldüğü rapor edilmiştir (70).

En son olarak Kapp ve rakadaşları mikroarray yöntemi ile meme karsinomlarını genomik ve moleküler olarak 3 gruba ayırmışlardır (71).

- Östrojen pozitif/HER2 negatif
- Östrojen pozitif/HER2 pozitif
- Östrojen negatif/HER2 negatif

2.1.7 Tripl negatif meme kanserleri

Meme karsinomları arasında östrojen reseptörü; progesteron reseptörü ve HER2 sunumu göstermeyen tümörler ‘Tripl Negatif Meme Kanserleri’(Üçlü Negatif Meme Kanserleri) adlandırılmıştır.

Tüm meme kanseri vakalarının %15-20 sini tripl negatif meme kanserleri oluşturmaktadır (4,72,73). Tripl negatif histoloji premenapozal ;genç bayanlarda; Afroamerikan ve Latin popülasyonunda ve obez bayanlarda daha sık görülmektedir (5,74, 75,76). Tripl negatif meme kanserleri için artmış risk faktörleri:

- Erken yaşta ilk doğumu yapmış olmak; emzirmeme; yüksek parite, doğum kontrol hapı kullanım öyküsü (75,77)
- Erken tanı yaşı (5,7,80)
- Afroamerikan ve Latin ırk (5,7,78,79)
- Düşük sosyoekonomik düzey (5)
- Artmış vücut kitle indeksi (80,81)
- Metabolik sendrom varlığı (82) şeklinde belirtilebilir.

Tripl negatif meme kanserleri; hormon duyarlı meme kanserlerine göre farklı biyolojik ve klinik özellik gösterir. Günümüzde tripl negatif meme kanserlerinde prognostik belirteçlerle ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Tripl negatif meme kanserlerinin %90'ından fazlası invaziv duktal karsinoma histolojisine sahip, yüksek gradlı; santral nekroz zonu içeren ve yüksek proliferasyon indeksine sahip tümörlerdir (6,7,72).

Tripl negatif meme kanserlerinin prognozunun sporadik meme kanseri vakalarından daha kötü olmasının sebepleri arasında hormon duyarlı tedavilere ve HER2'ye karşı hedefe yönelik tedavilerden faydalanamamaları yer almaktadır (83,84). 764 meme kanserli hastanın gen ekspresyon profillerinin araştırıldığı bir çalışmada tripl negatif meme kanserli hastaların diğer meme kanserlerine göre farklı gen ekspresyonlarına sahip olduğu gözlenmiştir (85). Tripl negatif meme kanserli hastaların yaklaşık %85'inde hücre çoğalmasını düzenleyen genlerin artmış ekspresyonu mevcuttur. Tripl negatif meme kanserlerinin %16-%41'i tüm bazal belirteçler bakımından negatiftir (CK5/6, CK17, CK14, EGFR, vimentin, c-kit) (86). Sporadik gelişen tripl negatif meme kanserli olgularda ise her ne kadar BRCA1 somatik mutasyonu izlenmese de BRCA1 geninde fonksiyon bozukluğu olduğu gösterilmiştir (87,88). 177 tripl negatif meme kanserli hastada yapılan kohort bir çalışmada hastaların %11.3'ünde BRCA-1 mutasyonu saptanmıştır (89).

Tripl negatif meme kanserleri bazal hücreli karsinomlara morfolojik ve biyolojik olarak benzerlik göstermektedir. Bazal hücreli tümörler; sporadik meme kanserleriyle karşılaştırıldığında sıklıkla daha yüksek gradlı, daha fazla mitotik indekse sahip, daha sık nekroz alanı içeren ve %85-90 oranında östrojen ve progesteron reseptörü ve cerbB2 bakımından negatif özellik göstermektedirler (68,90,91,92).

Her iki grup tümörler de genç yaşta ortaya çıkmakta, agresif seyir göstermekte ve özellikle visseral organ metastazı yapmakta ve kötü prognostik özellik göstermektedir. Tripl negatif meme kanserlerinin kötü prognoz göstermeleri yüksek grad sahibi olmaları ve günümüzde oldukça önemli olan HER2'ye karşı hedefe yönelik tedavilerden (trastuzumab, lapatinib) ve hormonal tedavilerden faydalanamaması yer almaktadır. Tripl negatif meme kanserlerinde rekürrens sıklıkla ilk 3 yılda; kansere bağlı ölümlerde ilk 5 yılda gözlenmekte ancak 10 yıllık takipte ortalama survey de sporadik meme kanserleriyle fark saptanmamıştır (78,93).

Tripl negatif hastalarda karşılaşılan diğer bir temel sorun da bu hastalardaki BRCA yolağındaki bozukluklar nedeniyle kemoteröpatik ajanlara dirençtir. Son zamanlarda tripl negatif kanserlerin özellikle taksanlı neoadjuvant kemoterapilere ve platin bileşiklerine karşı daha hassas olduğu üzerinde durulmaktadır (94,95). Ayrıca poli ADP-riboz polimeraz inhibitörleri ile yapılan çalışmalar da umut vericidir (96). Diğer yandan tripl negatif tümörlerin yaklaşık yarısında EGFR mutasyonlarına saptanmaktadır (97). Bu nedenle EGFR'ye yönelik ajanların tripl negatif tümörlerde kullanımı ile ilgili çok sayıda çalışma devam etmektedir.

Ayrıca Tripl negatif meme kanserlerinde diğer sporadik meme kanserlerine oranla daha sık akciğer ve beyin metastazları saptanmaktadır (79). Tripl negatif meme kanserlerinin %3,5-14'ünde beyin metastazı ilk saptanan uzak metastaz bölgesi olarak rapor edilmiştir (98,99). Tripl negatif tümörlerin biyolojik davranış biçimleri günümüzde tam olarak anlaşılamamıştır. Tripl negatif meme kanserlerinin tümör davranışlarının anlaşılması için geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.2 Metastaz Biyolojisi

Kanser hastalarında günümüzde mortaliteyi etkileyen en önemli faktör tedavi yöntemlerine direnç gösteren metastaz varlığıdır (100). Metastazların başarılı bir şekilde tedavi edilmesini engelleyen en büyük faktör tümör hücrelerindeki biyolojik heterojenitedir (101). Metastaz oluşmasında önemli olan belli başlı bazı basamakları şu şekilde sıralamak mümkündür (102):

- Progresif çoğalma
- Anjiogenesis(Yeni damar oluşumu)
- İnvazyon
- Hedef organa tutulma
- Hedef organda çoğalma

2.2.1 Progresif çoğalma

Klinik olarak tesbit edilebilecek boyuta ulaşan tümörlerin pek çoğu yaşam sikluslarının önemli bir kısmını tamamlamışlardır (103). Tümörün büyüme hızı hücre oluşumu ve kaybı arasındaki dengesizliğe bağlıdır (104). Onkogenlerin aktivasyonu ve tümör süpresör genlerin inaktivasyonu, hücrelerin kontrolsüz çoğalmasını, kontakt inhibisyonun kaybolması ,invazyon ve metastaz yeteneği kazanmasına yol açar (105). Zaten tümör hücrelerinin yayılabilmesi için kontrolsüz çoğalma tek başına yeterli değildir.

Hücre siklusu, DNA sentezinin gerçekleştiği S evresi, mitoz bölünmenin izlendiği M evresi ve bu iki temel süreç arasında kalan geçici duraklama evreleri olan G1 ve G2 evreleri olmak üzere, başlıca 4 evrede gerçekleşir (103-105). Hücrelerin büyük çoğunluğu G0 olarak adlandırılan istirahat evresindedir. Bu hücreler normalde bölünmeyip ancak uygun bir uyarı geldiğinde hücre döngüsüne girer. (103).

Hücre büyümesi, farklılaşması ve çoğalmasında rolü olan proto-onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar tümör gelişimine, tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar ise hücre siklusunun inhibisyonunu engelleyerek anormal hücre büyümesine neden olur (106). Hücre siklusunda yer alan siklinler ve siklin bağımlı kinazlar, tümör baskılayıcı genler üzerindeki etkileri ile hücreleri büyüme ve çoğalmaya yönelttikleri gibi bazen de hücrelerin ölümüne yol açabilmektedir (107-108).

Tümörün büyüme hızını ifade etmede kullanılan “doubling time (ikilenme zamanı)” tümör hücre sayısının iki katına çıkmasıdır. Solid tümör hücreleri başlangıçta geometrik artışla çoğalırken zaman ilerledikçe büyüme hızı yavaşlar ve bazı durumlarda da ölen ve çoğalan hücrelerin birbirine eşit olduğu bir plato çizerek. Bu büyüme paterni Gombertz eğrisi olarak adlandırılır (109).

Hücre proliferasyonu için gerekli olan sinyal iletim sistemi en başta büyüme faktörü adını verdiğimiz bir dizi polipeptitten oluşur. Bunlardan başlıcaları:

- PDGF(trombosit kökenli büyüme faktörü)
- EGF (epidermal büyüme faktörü)
- CSF (koloni stimulan faktörler)
- TGF alfa,beta (transforme edici büyüme faktörleri alfa ve beta)
- İL-2 (interlökin 2)
- İGF-1 ve 2 dir (insülin benzeri büyüme faktörü) (105)

Büyüme faktörleri, hedef hücrelerdeki spesifik büyüme faktörü reseptörlere bağlanırlar. Bu reseptörler üzerindeki tirozin kinaz enzimler aktifleşir. Aktifleşen tirozin kinazlar ekstrasellüler sinyali bazı mekanizmalarla sitoplazmik proteinlere ve nükleusa aktarırlar. Sinyal iletiminin son safhasında hücre çekirdeğindeki DNA ’dan RNA yapımı ve DNA ’nın replikasyonu uyarılır ve hücre çoğalması aktive olur. Bu sistemde rol alan genlerin herhangi birinde ortaya çıkabilecek aşırı aktivasyon kontrolsüz çoğalma ile sonuçlanabilecektir (105).

Tümör hücrelerinin kontrolsüz çoğalması metastaz yapabilmesi için yeterli değildir. Daha fazla büyümeleri için tümör dokusunun kendisi için anjiogeneze ihtiyacı vardır (110). Kan akımı sağlandıktan sonra, hücre ölüm hızı azalır ve tümör hızla büyür ve kolayca metastaz yapabilirler.

2.2.2 Anjiogenezis

Angiogenezis yeni damar oluşumu ve bu sayede mevcut dokulara matriks desteği sağlanması şeklinde tanımlanabilir (110,111). Fizyolojik angiogenesis; menstrual siklus, iskemik, hamilelik ve yüksek kan basıncı varlığı sonucunda görülmektedir (111,112). Angiogenezis tümör hücrelerinin büyümesi, progresyonu ve metastazında kritik ve çok önemli bir rol oynamaktadır (113,114). Ancak yüksek neovaskülarizasyon gösteren tüm tümörlerde yaygın damar invazyonu ve metastaz gözlenmemektedir. Örneğin bronşial karsinoid tümör yüksek neovaskülarizasyon gösteren bir tümör olmasına rağmen akciğer dışı yayılımı çok nadirdir (115). Tümör angiogenezi tümör hücrelerinden ve stroma hücrelerinden salınan pek çok angiogenetik ve antiangiogenetik faktöre bağlıdır (116,117,118,119).

Anjiogenezi indükleyen moleküller: (116,117,118,119)

•Büyüme faktörleri:

FGF (Fibroblast büyüme faktörü)

IL-8 (interlökin 8)

VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü)

TGF β (Transforming büyüme faktörü)

HGF (Hepatosit büyüme faktörü)

- Lipidler;

PGE1, PGE2

- Küçük moleküller ve iyonlar;

Cu, nikotinamid, ADP

- Enzimler;

Plazminojen aktivatörü

Anjiotensin

- Hormonlar

Östrojen

- Peptidler

Substans P.

Anjigenezisi İnhibe eden moleküller(120,121,122)

- Angiostatin
- Endostatin
- Trombospondin-1 (TSP-1) ve trombospondin-2 (TSP-2)

- Kemokinler (CXCL4, CXCL9, CXCL10 , CXCL1)

2.2.2.1 Anjiogenez Basamakları

Anjiogenez basamakları kabaca aşağıdaki şekilde sıralanabilir (118):

- Anjiogenik faktörlerin salınması
- Vazodilatasyon
- Bazal membran ve ekstrasellüler matriksin proteolizisi
- Lümen oluşumu ve tüp formasyonu
- Maturasyon

2.2.2.2 Anjiogenezi indükleyen moleküller VEGF (Vasküler endoteyal büyüme faktörü)

Vasküler ve endotel regulasyonunda dominant rol oynamaktadır (123). Bilinen altı çeşit VEGF molekülü mevcuttur. VEGFR; tümörlerde artmış angiogenesis ve lenfangiogenesis sağlayarak tümör büyümesi ve proliferasyonunda önemli rol oynamaktadır. VEGF-A; angiogeneizde dominant rol oynamaktadır (123,124,125).

Tümör angiogenizi için önemli bir biyomarker olarak kullanılan mikrodamar dansitesi artmış VEGF düzeyi ile ilişkilidir (126). İnvaziv duktal karsinoma ve insitu duktal karsinom VEGF düzeyleri benign meme hastalıklarındaki VEGF düzeyleri ile karşılaştırıldığında belirgin olarak yüksek saptanmıştır (126). Ayrıca artmış VEGF

ekspresyonunun kemoterapotik ilaçlara; radyoterapiye ve hormon tedavilerine artmış direnç ile ilişkili olduğu saptanmıştır (127).

Linderholm ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 87 tripl negatif meme kanserli hastanın intratümorale VEGF düzeyleri ölçülmüş. Ve tripl negatif meme kanserlerinde ,sporadik meme kanserlerine göre artmış VEGF düzeyi saptanmış. Ayrıca hastalıksız sağkalım süresinde, relaps gelişme süresinde ve genel sağkalım istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmış. VEGF düzeyinin; tümör boyutu, nodal tutulum,histolojik grad, hasta yaşı ve relaps tipi (lokal veya uzak) ile korele olduğu gösterilmiştir (128).

Bevacizumab; VEGF-A ya karşı oluşturulmuş monoklonal insan antikorudur (129). Meme kanserinde Bevacizumabın kullanımı sınırlıdır.Ancak kemoterapotik ajanlarla kombine kullanılmasında prongnozsuz sağkalım ve toplam yanıt oranında istatistiksel anlamlı iyileşmeler görülmüştür (130). Bu etkinin tümör damar formasyonunun azalması, intertisyel basınç azalması gibi mekanizmalara bağlı olduğu düşünölmektedir (130,131).

Burstein ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 34 metastatik meme kanseri hastası siklofosfamid-metatraksat kemoterapisi ve bevacisumab ile tedavi edilmiş (%38 hasta tripl negatif). Takipte % 29 hastada parsiyel yanıt, %41 hastada stabil hastalık saptanmış ve ortalama progresyon 5.5 ay olarak rapor edilmiş.Fakat tripl negatif grubun verileri ayrıca rapor edilmemiştir (132).Trip negatif meme kanserlerinde neoadjuvan bevacizumab kullanımı ile ilgili sınırlı veri bulunmaktadır. Ryan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 51 tripl negatif meme kanserli hasta siplatin +bevacizumab ile tedavi edilmiş ve %86 hastada klinik yanıt rapor edilmiştir (133).

2.2.3 İnvazyon

İnvazyon tümör metastazı için en önemli basamaklardandır. Tümör invazyonu dört basamakta gelişmektedir.

1- Ayrılma: Kanser hücrelerinin primer tümörden ayrılma basamağıdır. E-Cadherinin tümör ayrılma basamağında rol aldığı gösterilmiştir. Meme kanserlerinde E-Cadherinin invazyon ve metastaz potansiyelinin değerlendirilmesi için kullanılabilecek bir biyomarker olduğu belirtilmiştir (134).

2- Tutunma: Tümör hücrelerinin matrikse subendotelyal bazal membrana ve endotel hücrelerine tutunma basamağıdır. İntegrin, Selektin gibi adezyon molekülleri ile ilişkilidir (135). Tümör hücrelerinin reseptörler aracılığıyla bazal membran komponenti olan fibronektin ve laminine bağlanması invazyonda önemlidir (135).

3- Proteoliz: Tümör hücreleri ve tümör hücreleri tarafından indüklenen konak hücreleri (fibroblast, tümörü infiltre eden makrofajlar) tarafından salınan proteolitik enzimler ile ekstraselüler matriks parçalanır. Serin, sistein ve matriks metalloproteinazları (MMP) olmak üzere 3 tip proteinaz var. MMP'ları tümör invazyon, büyümesi ve anjogeneze rol alır (136). Katepsin D (sistein proteinaz) ve ürokinaz-tipinde plazminojen aktivatörü (serin proteinaz) de ekstraselüler matriksin parçalanmasında rol alan proteolitik enzimleridir (61). Meme kanserlerinde yüksek katepsin D seviyesine sahip hastaların prognozuyla ilgili çelişkili sonuçlar olmakla birlikte, çalışmaların çoğunda kötü prognozla ilişkili olduğu bulunmuştur (61,65).

4- Hücre migrasyonu: Tümör hücreleri parçalanmış bazal membran ve matrikste ilerlerler Tümör hücre migrasyonunu etkileyen çeşitli faktörler salınmaktadır. Bunlar:

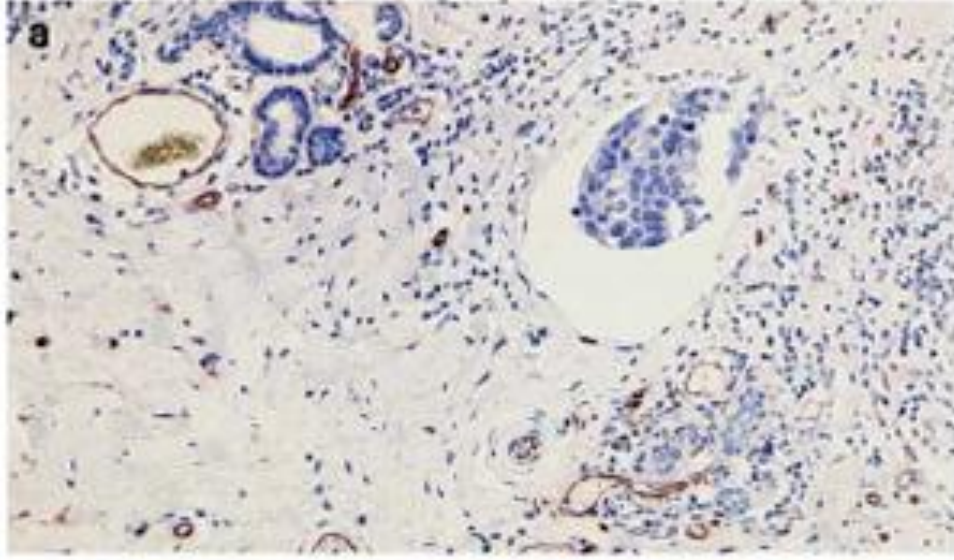
–Tümör hücresi kaynaklı motilite faktörleri (ör: otokrin motilite faktörleri, timozin β 15) (137)

–Matriks komponentlerinin yıkım ürünleri (ör: kollajen, laminin) dir (137).

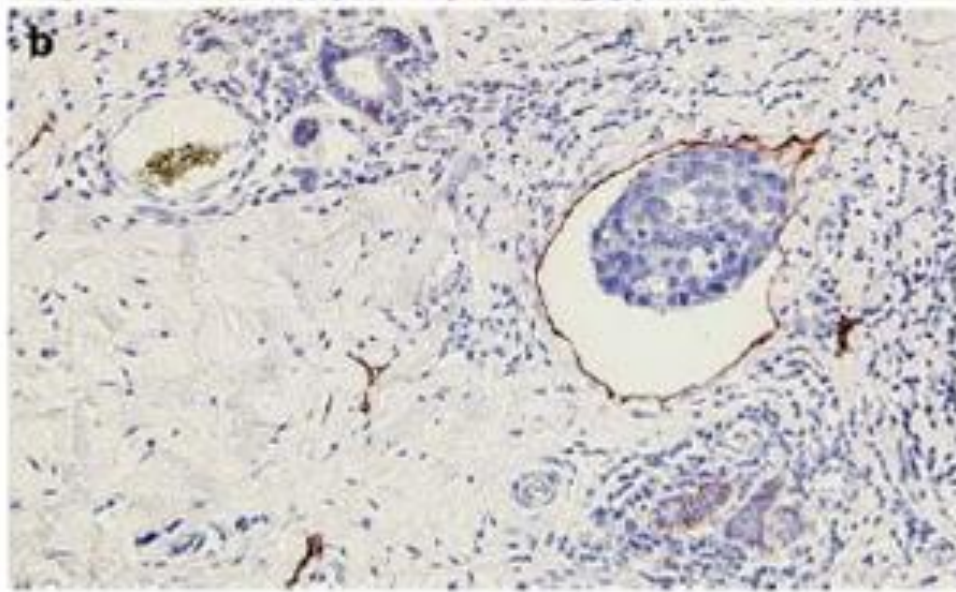
2.2.3.1 Lenfatik invazyon

Tümör hücrelerinin dolaşıma geçmesi ve lenfatik damar invazyonu yapması tümör metastazı için kritik bir basamaktır. Hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım için önemli bir prognostik faktördür (138-139). Lenf nodu metastazı varlığı meme kanseri tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi ve prognoz açısından en önemli prognostik faktördür (140). Lenfovasküler invazyon, meme kanserleri için aksiller lenf nodu metastazı açısından önemli prediktor bir faktördür (141).

Fakat bu kadar önemli bir prognostik belirteç olan lenfovasküler invazyonun değerlendirilmesi için spesifik bir method mevcut değildir. Günümüzde rutin olarak hemotoksilen-eozin boyanması kullanılmaktadır (142,143). Ancak HE ile kapiller ve lenfatik yapıların ayırt edilmesinde problemler yaşanmaktadır (144). İmmunohistokimyasal yöntemlerin gelişmesi ile lenfatik invazyonun değerlendirilmesi için farklı immunohistokimyasal markerlar kullanılmaya başlanmıştır. VEGFR-3 ve Podoplanin ;lenfatik endotele spesifik iki membran proteini (145). Bu proteinlerin Kaposi sarkomu, lenfanjioma, anjiosarkom gibi malignitelerde arttığı saptanmıştır (145,146). Fakat VEGF-3 ün kapiller damarlardan da eksprese edilmesi kullanımını kısıtlamaktadır (147). Podoplaninin lenfatik yapılara özgül olduğu ve lenfanjiogeneze ilişkili olduğu gösterilmiştir (146,147). Şekil 2–3’te lenfatik yapıların D2-40 (podoplanine karşı geliştirilmiş monoklonal antikor) boyanması görülmektedir.(149)



(a)



(b)

Şekil 2.1 a) Panendotelyal marker CD34 ile tüm vasküler yapılar kahverengi boyanmakta ancak lenfatik damarlarda boyanmama olamayabilmekte, **b)** D2-40 direkt olarak podoplanine bağlanmakta ve lenfatik damarları spesifik olarak boyamaktadır (kahverengi boyanma).

Günümüzde meme kanserli hastalarda lenfatik invazyon ile klinikopatolojik faktörleri inceleyen çok az çalışma mevcuttur (148).M. Braun ve arkadaşlarının 247 meme kanserli hasta üzerinde yaptığı bir çalışmada; lenfavasküler invazyon(podoplanin ile değerlendirilmiş) ile genç yaş,artmış tümör boyutu,lenf nodu tutulumu,artmış tümör histolojik grad ve negatif hormon reseptör durumu ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (149). Fakat bu çalışmada HER-2 ekspresyonu ile lenfavasküler invazyon arasında bir korelasyon saptanmamıştır (149).

Shoup ve arkadaşlarının T1 tümörlerde yaptığı bir çalışmada lenfovasküler invazyon,aksiller lenf nodu metastazı ve grad arasında kuvvetli bir korelasyon görülmüştür(150). Aynı şekilde Shoppman ve arkadaşlarının 374 invaziv meme kanserli hastada yaptıkları bir çalışmada lenfavasküler invazyonun hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım için bağımsız bir faktör olduğu belirtilmiştir (17). Ayrıca O Rourke ve arkadaşlarının çalışmasında ise lenfovasküler invazyon lokal rekürrens ile ilişkili olarak saptanmıştır (151).

Tripl negatif meme kanserinde; meme kanseri için bu kadar önemli bir prognostik faktör olan lenfavasküler invazyon paterni hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. Huan Tau ve arkadaşlarının yaptığı 21 tripl negatif meme kanserli olgu ve 70 sporadik meme kanserli olgu lenfanjiogenetik karakteristik özellikleri açısından değerlendirilmiş. İntratümoral lenfovasküler invazyon, peritümöral lenfovasküler invazyon ve iki lenfanjiogenetik faktör (VEGF-D veVEGF-E) düzeyi tripl negatif grupta anlamlı olarak artmış olarak gösterilmiştir (152).

Ancak tripl negatif meme kanserleri ve lenfovasküler invazyon paterninin değerlendirilmesi için daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

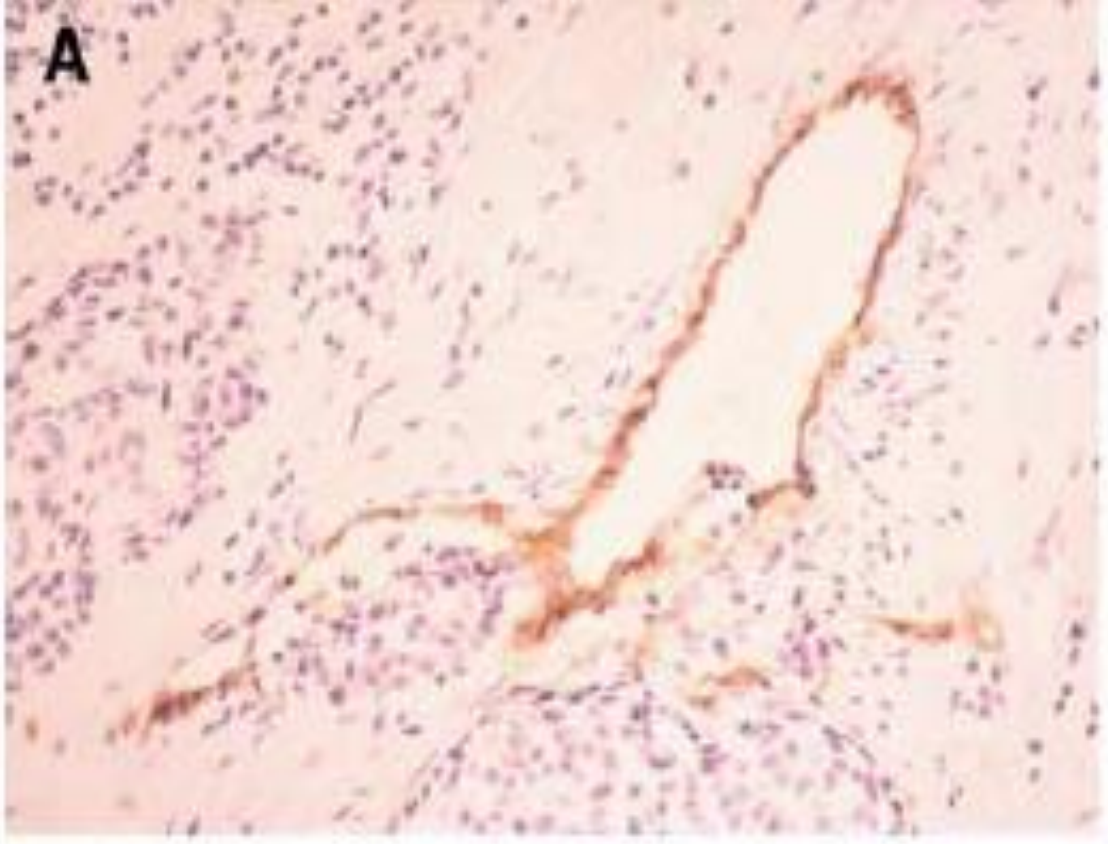
2.2.3.2 Kapiller invazyon

Tümör hücreleri özel reseptörlerle damar endoteline yapışır (153). CD44 reseptörü damar endoteline yapışmadan sorumlu en önemli moleküldür. CD44

pleomorfik bir reseptördür ve hiyaluronan, fibronektin, kollajen, laminin ve muhtemelen diğer ligandlara bağlanır (154). Tümör hücrelerinin en çok tutuldukları yer hücrelerin venöz kana katıldıktan sonra ulaştıkları ilk kapiller yataktır. Pekçok çalışmada lenf nodu tutulumunun meme kanserlerinde hastalığın sağkalımı ve yayılımı açısından en önemli faktör olduğu gösterilmiş olsada bazı araştırmacılar lenf nodu tutulumunun hematojen yayılımı göstermek için yeterli olmadığını belirtmektedir (155,156). Pekçok biyolojik markerin; p53, PCNA, artmış HER2 ekspresyonu; mitoz, apoptoz ve nekrozun tümör proliferasyonu ve hematojen yayılımı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (157,158).

Nod negatif ve nod pozitif meme kanserlerinde angiogenesis gözlenmesinin bağımsız prognostik faktör olarak kabul edilmesine rağmen bazı çalışmalarda da angiogenezin primer meme kanserli hastalarda rekürrens için yeterli olmadığı vasküler invazyonun değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir (159,160).

Kato ve arkadaşlarının 509 meme kanserli hastada yaptığı bir çalışmada ortalama kapiller damar sayısı/ kapiller damar invazyonun (vasküler invazyonun değerlendirilmesinde önemli bir belirteç) hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım üzerine etkili en önemli bağımsız faktör olduğu gösterilmiştir (161). Kato ve arkadaşlarını çalışmasında tümör hücrelerinin kapiller damarlara invazyonu şekil 2-4' gösterilmiştir.



Şekil 2.2 Tümör hücrelerinin kapiller damarlara invazyonu

Aynı şekilde Laurie ve arkadaşlarının yaptığı 148 meme kanserli hastada yaptığı çalışmada vasküler invazyonun önemli bir prognostik faktör olduğunu ve survey üzerine ünivarit analizle ilişkili olduğu saptanmıştır (162).Tripl negatif meme kanserlerinde diğer sporadik meme kanserlerine oranla daha sık akciğer ve beyin metastazları saptanmaktadır (77). Bu metastaz paterninin tripl negatif meme kanserlerinin biyolojik davranışları ile olan ilişkisini gösteren çalışmalar literatürde kısıtlıdır.

3. HASTALAR

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bilim Dalınca takip edilen ve daha önce östrojen, progesteron reseptörleri ve HER-2 durumları değerlendirilmiş hasta kayıtları incelendi. Bu hastalar arasından 39 hasta tripl negatif meme kanserli hasta olarak çalışma grubuna alındı. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bölümünce tekrar hormon reseptör durumları ve HER2 durumları açısından değerlendirildi. Çalışmaya başlamadan önce Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Komisyonundan onay alınmıştır.

Hastaların demografik özellikleri, tümör karakteristikleri, tedavi şemaları ve klinik takipleri kayıt edildi. Tümör evrelemesinde American Joint Committee on Cancer Staging (Greene FL), gradlamada ise Nottingham Gradlama Sistemi kullanıldı. Hastaların yaşı, menapoz durumu, tümör tipi, grad, boyutu, TNM evresi, lenfovasküler invazyon varlığı, lenf nodu metastazı durumu, nüks olup olmadığı, metastaz durumu değerlendirilen parametreler arasındaydı.

4. METOD

4.1 İmmünohistokimyasal Yöntem

39 hastaya ait Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarı arşivinde bulunan H&E ile boyalı preparatlar yeniden incelendi. Her hasta için kanama ve nekroz içermeyen tümörü en iyi temsil eden bloklar seçildi. Bu bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler elde edilip immunohistokimyasal olarak CD34 monoklonal antikoru (NeoMarkers) ve D2-40 monoklonal antikoru (DACO-CYTOMATION KİT)uygulandı. Önerilen şekilde 1/400 oranında dilue edildi. Tümörlerin ER, PR negatifliği ve HER2 ekspresyonunun negatif olduğu konfirme edildi.

4.1.1 İmmunohistokimyasal boyama yöntemi

İmmunohistokimyasal çalışma streptavidin-biotin yöntemiyle yapıldı. İmmunohistokimyasal yöntem ile boyama için formalin fiksasyonlu parafin gömülü bloklardan lamlara 3-4 mikronluk kesitler alındı. Tüm kesitler 75 °C’de 40 dakika bekletildi. 3 kez ksilenden geçirildi, 3. ksilende 15 dakika bekletilerek deparafinize edildi. %99’luk, %96’lık, %70’lik alkolden geçirildi. Son alkolde 5 dakika bekletildi. %3’lük hidrojen peroksit ve etil alkol karışımında 10 dakika bekletilerek blokaj yapıldı. Çeşme suyunda 5 dakika yıkandı. Basınçlı tencerede sitratla 5 dakika bekletilerek antijen retrieval yapıldı. PBS (Phosphate Buffered Saline)’te 5 dakika bekletildi. Superblok damlatılarak 5 dakika beklendi. PBS’te 2 kez 3’er dakika yıkandı. CD34 monoklonal antikoru damlatılarak 1 saat bekletildi. PBS ile 2 kez 3’er dakika yıkandı. Polivalan sekonder antikor ile 10 dk bekletildi. PBS ile 2 kez 3’er dakika yıkandı. Takiben tersiyer antikor ile 10 dk bekletildi. PBS ile 2 kez 3’er dakika yıkandı. DAB (Diaminobenzidine) kromojen damlatıldı. 10 dakika bekletildi. Renk alan camlar çeşme suyunda yıkandı. Hematoksilende 1 dakika bekletildi. Hematoksilen boyalı camlar çeşme suyunda yıkandı. %90’lık alkolden geçirildi. Camlar kurutuldu. Ksilende 15 dakika bekletildi ve kesitler su bazlı bir balsam ile kapatıldı. Aynı hasta preparatlarının

diğer bloklarında işlemler sırası ile tekrır edildi ve D2-40 monoklonal antikor ile boyama yapıldı.1 saat beklitilen bloklar PBS ile 2 kez 3'er dakika yıkandı. Polivalan sekonder antikor ile 10 dk bekletildi. PBS ile 2 kez 3'er dakika yıkandı. Takiben tersiyer antikor ile 10 dk bekletildi. PBS ile 2 kez 3'er dakika yıkandı. DAB (Diaminobenzidine) kromojen damlatıldı. 10 dakika bekletildi. Renk alan camlar çeşme suyunda yıkandı. Hematoksilende 1 dakika bekletildi. Hematoksilen boyalı camlar çeşme suyunda yıkandı. %90'lık alkolden geçirildi. Camlar kurutuldu. Ksilende 15 dakika bekletildi ve kesitler su bazlı bir balsam ile kapatıldı.

4.1.1.1 CD 34 Monoklonal Antikoru İle Boyanmanın Değerlendirilmesi

Boyanma işlemleri tamamlanan ve uygun süre bekletilen blokların tüm kesit alanları dikkatli bir şekilde incelendi. CD34 ile pozitif boyanma gösteren vasküler yapılar tüm kesit alanları taranarak invazyon açısından değerlendirildi. CD34 ile boyanma gösteren ve invazyon saptanan olgular dikkatlice kayıt edildi.

4.1.1.2 D2-40 (Podoplanin) Monoklonal Antikoru ile Boyanmanın Değerlendirilmesi

Boyanma işlemleri tamamlanan ve uygun süre bekletilen blokların tüm kesit alanları dikkatli bir şekilde incelendi. D2-40 monoklonal antikoru ile verdikleri reaksiyona göre vasküler yapılar; lenfatik ve kapiller yapılar olarak değerlendirildi. D2-40 ile pozitif reaksiyon gösteren yapılar lenfatik damarlar; D2-40 ile negatif reaksiyon gösteren yapılar kapiller damarlar olarak değerlendirildi. Tüm alanlar dikkatli bir şekilde incelendi. Lenfatik ve kapiller damarlar tümör invazyonu açısından her alanda tarandı. İnvazyon paternleri kaydedildi.

4.1.2 İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler yaş için ortalama $\pm$ standart sapma olarak sınıflanabilir ve sıralanabilir değişkenler ise olgu sayısı ve (%) olarak gösterildi. Gruplar arasında yaş ortalamaları yönünden farkın önemliliği Student's t testi ile incelendi. Sınıflanabilir değişkenler Süreklilik Düzeltmeli Ki-Kare veya Fisher'in Kesin Sonuçlu Ki-Kare testi ile değerlendirildi. Gruplar arasında sıralanabilir değişkenler yönünden farkın önemliliği Mann Whitney U testiyle araştırıldı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5- SONUÇLAR

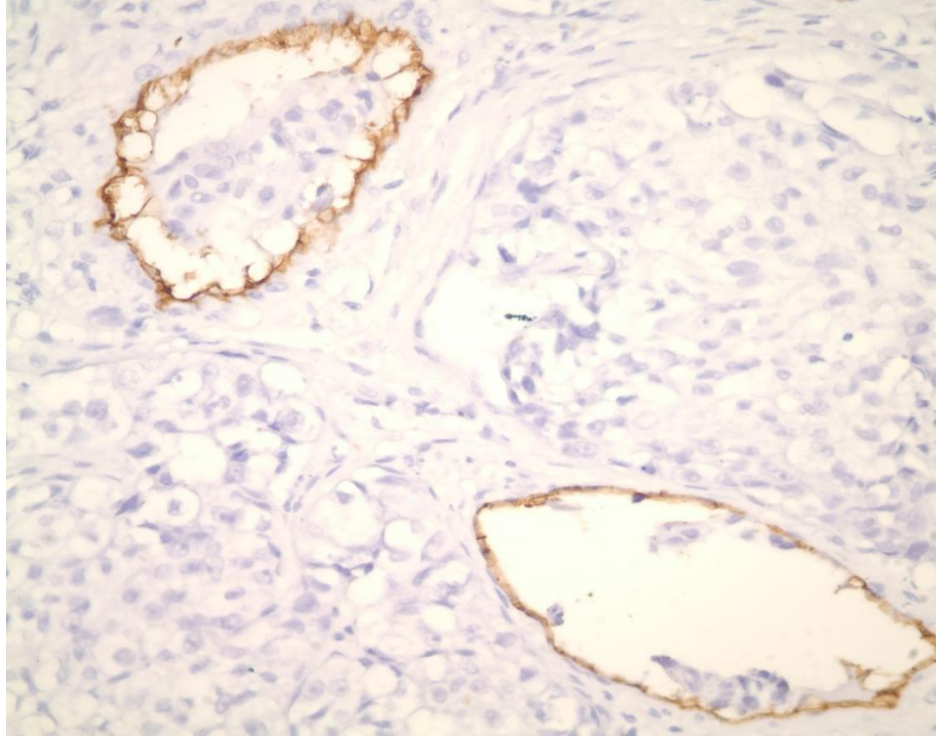
Hastaların genel özellikleri Tablo 5.1.1 de özetlenmiştir. Çalışmaya yaşları 30-81 arasında değişen 39 tripl negatif meme kanserli kadın hasta alındı. Hastaların yaş ortalaması $50,33 \pm 11,66$ olup, 20 hasta (%51,3) premenopozaldi. Hastaların çoğunluğunda invaziv duktal karsinoma saptandı (%80). Hastaların yaklaşık yarısı TNM evreleme sistemine göre Evre 2 hastalığa sahipti. Tanı anında bir hasta (%2,6) metastatik evredeydi. 20 hastada (%51,3) lenf nodu tutulumu saptandı.

Tablo 5.1.1 Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri

ÖZELLİK	HASTA SAYISI (%)
Yaş <50 ≥51	28(%71,7) 11(%28,3)
Menapoz durumu Premenapozal Postmenapozal	20(% 51,3) 19(%48,7)
TNM Evresi Evre 1 Evre 2 Evre 2A Evre 2B Evre 3 Evre 3A Evre 3B Evre 3C Evre 4	6(%15,4) 19(%48,8) 15(%38,5) 4(%10,3) 10(%25,7) 3(%7,7) 1(%2,6) 6(%15,4) 1(%2,6)
Lenf nodu pozitifliği var yok	20(%51,3) 19 (%49,7)
Metastaz durumu Var Yok	1 (%2,6) 38(%97,4)
Grad Grad 1 Grad 2 Grad 3	1(%2,6) 12(%30,8) 26(66,6)

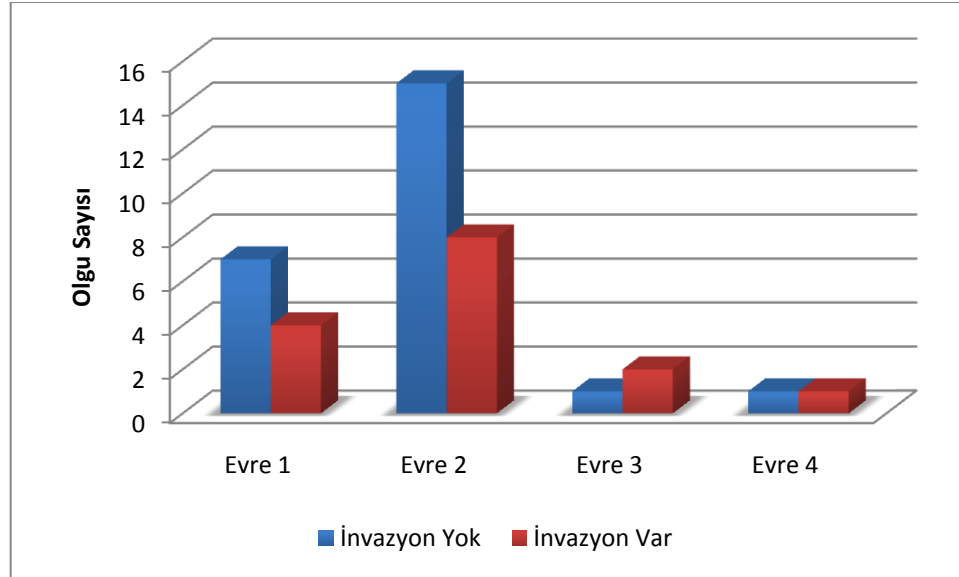
5.1 Vasküler İnvazyon Paterninin Değerlendirilmesi

CD34 monoklonal antikoru ile değerlendirilen 39 hastanın 15' inin (%38.5) patoloji preparatlarında CD 34 ile pozitif reaksiyon veren vasküler yapılarda tümör hücreleri ile invazyon saptandı (Şekil 5.1.1). Vasküler invazyon paterninin evrelere göre dağılımı Şekil 5.1.2 de gösterilmiştir. Evre arttıkça vasküler invazyon oranı da artmaktadır.



Şekil 5.1.1 CD 34 monoklonal antikor ile boyanan ve vasküler invazyon saptanması

5.1.1 Vasküler invazyon saptanan hastaların ve vasküler invazyon saptanmayan hastaların TNM evresine göre değerlendirilmesi



Şekil 5.1.2 Vasküler invazyon saptanan hastaların TNM evreleri

5.1.2 Vasküler invazyon Saptanan Hastaların Yaş, Menapoz durumu ve Ailede kanser öyküsü ilişkisinin değerlendirilmesi

Vasküler invazyon saptanan hastalarda yaş, menopoz durumu ve ailede kanser öyküsü arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 5.1.2).

Tablo 5.1.2 Vasküler infüzyon saptanan hastaların yaş, menopoz durumu ve ailede kanser öyküsü dağılımı

Değişkenler	Vasküler İnvazyon Yok (n=24)	Vasküler İnvazyon Var (n=15)	P
Yaş	49,9±11,2	50,9±12,8	0,803
Menopoz Durumu			
<i>Pre-menopoz</i>	11 (%45,8)	7 (%46,7)	
<i>Peri-/Post-menopoz</i>	13 (%54,2)	8 (%53,3)	
Ailede Kanser Öyküsü	7 (%29,2)	8 (%53,3)	0,242

5.1.3 Vasküler İnvazyon Saptanan Hastaların TNM Sınıflaması ve Grad İle İlişkisinin Değerlendirilmesi

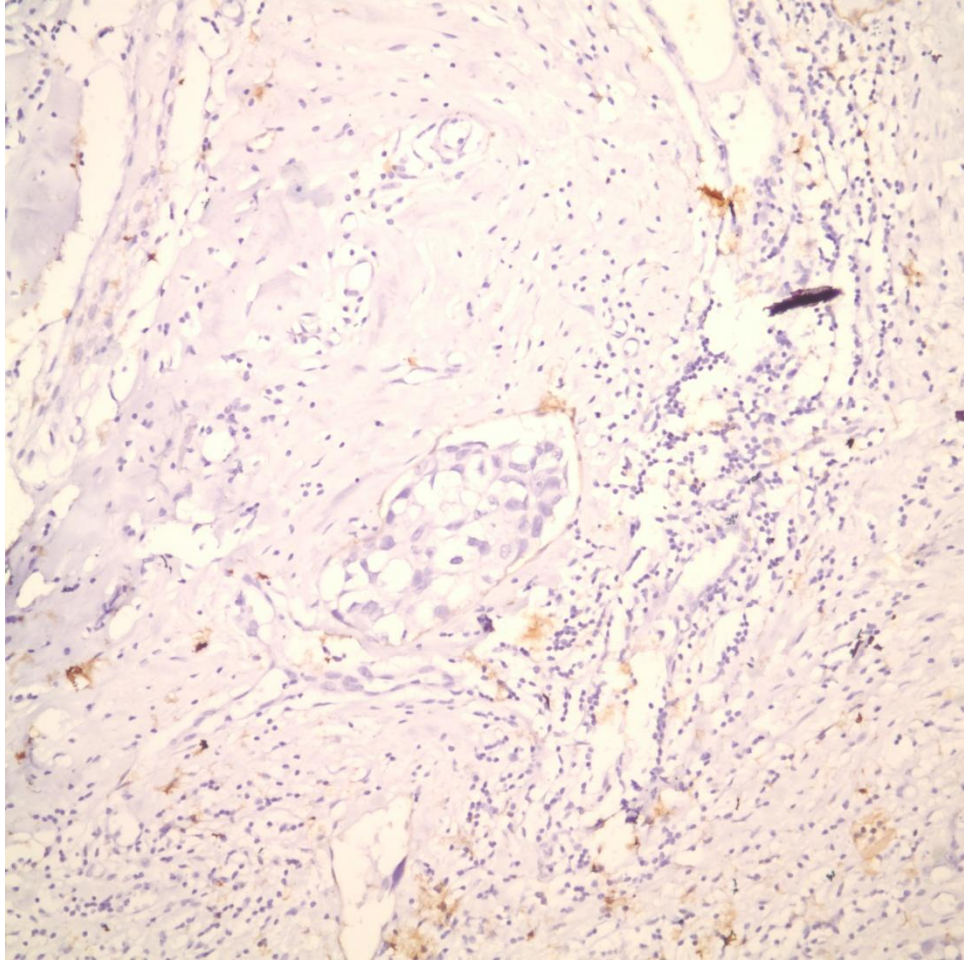
Vasküler invazyon saptanan hastalarda TNM evrelemesi, tümör gradı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 5.1.3).

Tablo 5.1.3 Vasküler invazyon saptanan hastaların TNM sınıflanması ve grad ile ilişkisinin dağılımı

Değişkenler	Vasküler İnvazyon Yok (n=24)	Vasküler İnvazyon Var (n=15)	P
Grad			0,213
<i>Grad 1</i>	1 (%4,2)	0 (%0)	
<i>Grad 2</i>	10 (%41,7)	3 (%20,0)	
<i>Grad 3</i>	13 (%54,1)	12 (%80,0)	
T Evresi			0,598
<i>T 1</i>	7 (%29,1)	4 (%26,7)	
<i>T 2</i>	15 (%62,5)	8 (%53,3)	
<i>T 3</i>	1 (%4,2)	2 (%13,3)	
<i>T 4</i>	1 (%4,2)	1 (%6,7)	
N Evresi			0,680
<i>N 0</i>	13 (%54,1)	7 (%46,7)	
<i>N 1</i>	3 (%12,5)	6 (%40,0)	
<i>N 2</i>	1 (%4,2)	0 (%0)	
<i>N 3</i>	4 (%16,7)	2 (%13,3)	
“x”	3 (%12,5)	0 (%0)	
<i>Metastaz</i>	0 (%0)	1 (%6,7)	-

5.2 Lenfatik İnvazyon Paterninin Değerlendirilmesi

D2-40 monoklonal antikoruna ile pozitif reaksiyon saptanan lenfatik yapılar tümör invazyonları açısından değerlendirildi. Değerlendirilen preparatların 3 (%7.7) ünde lenfatik invazyon saptandı. Şekil-5.2.1 de lenfatik invazyon gösteren tümör hücreleri gösterilmektedir.



Şekil 5.2.1 D2-40 ile pozitif reaksiyon veren lenfatik yapıda tümör invazyonu

5.2.1 Lenfatik İnvazyon Saptanan Hastalarda Yaş, Menopoz Durumu ve Aile Kanser Öyküsü İlişkisinin İncelenmesi

Lenfatik invazyon saptanan hastalarda yaş, menopoz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 5.2.1).

Tablo 5.2.1 Lenfatik İnvazyon saptanan hastalarda yaş, menopoz durumu ve aile öyküsü ilişkisinin dağılımı

Değişkenler	Lenfatik İnvazyon Yok (n=36)	Lenfatik İnvazyon Var (n=3)	P
Yaş	50,9±11,9	49,4±11,6	1,00
Menopoz Durumu			0,519
<i>Pre-menopoz</i>	18 (%50)	2 (%66,7)	
<i>Peri-/Post-menopoz</i>	18 (%50)	1 (%33,3)	
Ailede Kanser Öyküsü	15 (%83,3)	3 (%100)	0.022

5.2.2 Lenfatik İnvazyon Gösteren Hastaların TNM Evresi ve Grad ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

Lenfatik invazyon saptanan hastaların T,N,M evresi ve grad ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 5.2.2).

Tablo 5.2.2 Lenfatik invazyon gösteren hastaların TNM evresi ve grad ile ilişkisinin dağılımı

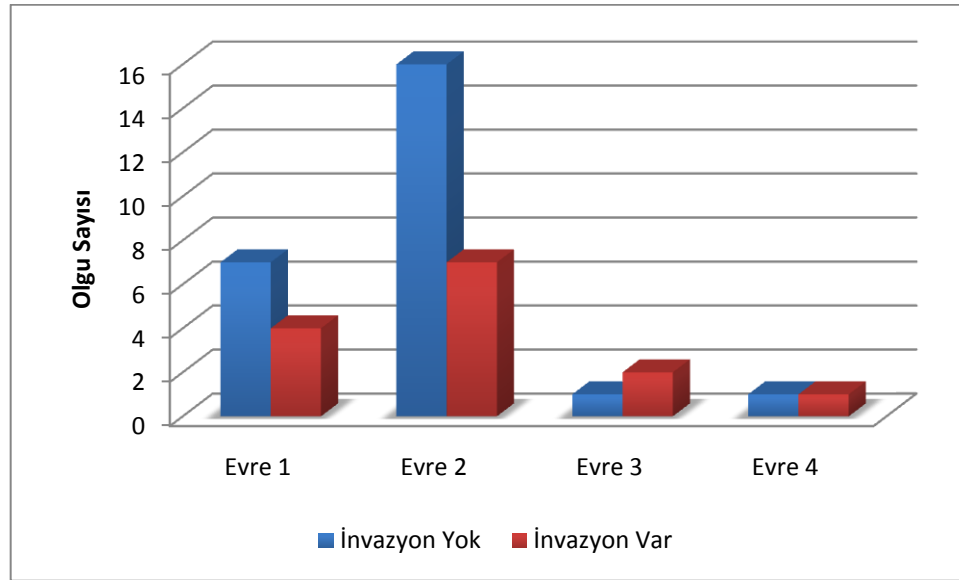
Değişkenler	Lenfatik İnvazyon Yok (n=36)	Lenfatik İnvazyon Var (n=3)	P
T Evresi			0,303
<i>T 1</i>	11(%30.5)	0 (%0)	
<i>T 2</i>	20(%55.5)	2 (%66,7)	
<i>T 3</i>	2 (%5.5)	1(%33,3)	
<i>T4</i>	2 (%5.5)	0 (%0)	
N Evresi			0,354
<i>N 0</i>	19 (%52,8)	1 (%33,3)	
<i>N 1</i>	7 (%19,4)	2(%66,7)	
<i>N 2</i>	1 (%2,8)	0 (%0)	
<i>N 3</i>	6 (%16,6)	0 (%0)	
<i>“x”</i>	3 (%8,4)	0 (%0)	
Metastaz	1(%2.8)	0(%0)	-
Grad			0,224
Grad 1	1 (%2.8)	0 (%0)	
Grad 2	10 (%27.7)	0 (%0)	
Grad 3	22 (%61.1)	2 (%100)	
<i>“x”</i>	3(%8.4)	0(%0)	

5.3 Kapiller İnvazyon Paterninin Değerlendirilmesi

CD34 Monoklonal antikoru ile boyanan vasküler yapılar tümör invazyonu açısından değerlendirildi. Vasküler invazyon saptanan olguların blokları D2-40 ile verdikleri reaksiyona göre lenfatik yapılar invazyon açısından değerlendirildi. D2-40 ile negatif reaksiyon veren vasküler yapılar kapiller damarlar olarak değerlendirildi. Tüm alanlardaki kapiller yapılar tümör invazyonu açısından değerlendirildi. 14 hastada (%35,9) kapiller yapılarda tümör invazyonu saptandı.

5.3.1 Kapiller invazyon saptanan hastaların ve kapiller invazyon saptanmayan olguların TNM evresine göre değerlendirilmesi

Kapiller invazyonun evre ile orantılı arttığı gözlemlendi (Şekil 5.3.1)



Şekil 5.3.1 Kapiller invazyon saptanan hastaların ve kapiller invazyon saptanmayan olguların TNM evreleri

5.3.2 Kapiller İnvazyon Saptanan Hastaların Yaş, Menopoz Durumu ve Aile Kanseri Öyküsü ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

Kapiller invazyon saptanan hastalarda yaş, menopoz durumu ve ailede kanser öyküsü arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 5.3.2).

Tablo 5.3.2 Kapiller invazyon saptanan hastaların yaş, menopoz durumu ve aile kanser öyküsü ile ilişkisinin dağılımı

Değişkenler	Kapiller İnvazyon Yok (n=25)	Kapiller İnvazyon Var (n=14)	P
Yaş	50,9±11,9	49,4±11,6	0,701
Menopoz Durumu			0,979
<i>Pre-menopoz</i>	11 (%44,0)	7 (%50,0)	
<i>Peri-/Post-menopoz</i>	14 (%56,0)	7 (%50,0)	
Ailede Kanseri Öyküsü	8 (%32,0)	7 (%50,0)	0,444

5.3.3 Kapiller İnvazyon Saptanan Hastaların T,N,M Evresi ve Grad ile ilişkisinin değerlendirilmesi

Kapiller invazyon gösteren hastaların T,N,M evresi ve grad ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 5.3.3).

Tablo 5.3.3 Kapiller invazyon saptanan hastaların T,N,M evresi ve grad ile ilişkisinin dağılımı

Değişkenler	Kapiller İnvazyon Yok (n=25)	Kapiller İnvazyon Var (n=14)	P
T Evresi			0,654
<i>T 1</i>	7 (%28,0)	4 (%28,6)	
<i>T 2</i>	16 (%64,0)	7 (%50,0)	
<i>T 3</i>	1 (%4,0)	2 (%14,3)	
<i>T 4</i>	1 (%4,0)	1 (%7,1)	
N Evresi			0,511
<i>N 0</i>	14 (%56,0)	6 (%42,9)	
<i>N 1</i>	3 (%12,0)	6 (%42,9)	
<i>N 2</i>	1 (%4,0)	0 (%0)	
<i>N 3</i>	4 (%16,0)	2 (%14,3)	
<i>“x”</i>	3 (%12,0)	0 (%0)	
Metastaz	0 (%0)	1 (%7,1)	-
Grad			0,287
Grad 1	1 (%4,0)	0 (%0)	
Grad 2	9 (%45,0)	3 (%21,4)	
Grad 3	14 (%51,0)	11 (%78,6)	

5.4 Vasküler İnvazyon Saptanan Hastaların Dağılımı

Değerlendirilen 39 tripl negatif meme kanserli hastanın 15 (%38.5) inde vasküler invazyon saptanmıştır. 14 (%35.9) hastada kapiller invazyon saptanırken; 3(%7.7) hastada lenfatik invazyon saptanmıştır. 2 (%5,1) hastada hem kapiller hem lenfatik invazyon saptanmıştır.

Tablo 5.4.1 Kapiller, Lenfatik ve Vasküler İnvazyon Paternlerine Olguların Dağılımı

Değişkenler	n:39
Kapiller İnvazyon	14 (%35,9)
Lenfatik İnvazyon	3 (%7,7)
Vasküler İnvazyon	15 (%38,5)

TARTIŞMA

Meme kanseri günümüzde kadınlarda en sık görülen kanser olup, kansere bağlı mortalitenin akciğer karsinomlarından sonra en sık sebebidir (1). Meme kanserleri; morfolojik, biyolojik davranış şekili, hormon reseptör düzeyi, tedaviye yanıtlarına göre farklı özellikleri olan, heterojenöz gruplara sahip tümörlerdir. Bu farklılığın sebebi:altta yatan hedef hücre (kanser hücresi) popülasyonundaki farklılık, farklı onkogen aktivasyonu ve/veya tümör süpresor gen fonksiyon kayıplarındaki değişiklik ile açıklanabilir (3).

Meme karsinomlarında yüksek riskli ve düşük riskli grupları belirlemek için kullanılan ve prognostik açıdan önemli olan; histolojik tip, histolojik grad, hormon reseptörü varlığı, HER2 ekspresyonu, tümör boyutu, proliferasyon indeksi, nekroz varlığı, anjiolenfatik invazyon ve aksiller lenf bezi tutulumu gibi pek çok parametre vardır (27). Meme karsinomlarının bu kadar farklı biyolojik ve klinik özellikler göstermesi nedeni ile hem prognoz açısından hem de farklı tedavi seçeneklerinin belirlenmesi açısından daha farklı prognostik faktörlere ihtiyaç vardır.

Meme karsinomları arasında östrojen reseptörü; progestoren reseptörü ve HER2 ekspresyonu göstermeyen tümörler ‘Tripl Negatif Meme Kanserleri’ olarak adlandırılmıştır. Meme kanseri vakalarının %15-20 sini tripl negatif meme kanserleri oluşturmaktadır.(4,72,73). Tripl negatif meme kanserleri; hormon duyarlı meme kanserlerine göre farklı biyolojik ve klinik özellik gösterir. Günümüzde tripl negatif meme kanserlerinde prognostik belirteçlerle ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Tripl negatif meme kanserlerinin %90 ından fazlası invaziv duktal karsinoma histolojisine sahip, yüksek gradlı;santral nekroz zonu içeren ve yüksek proliferasyon indeksine sahip tümörlerdir.(6,7,72).

Ayrıca tripl negatif meme kanserlerinin metastaz paternleri incelendiğinde diğer sporadik meme kanserlerine oranla daha sık akciğer ve beyin metastazları

saptanmaktadır (79). Tripl negatif meme kanserlerinin %3,5-14 ünde beyin metastazı ilk saptanan uzak metastaz bölgesi olarak rapor edilmiştir.(98,99). Tripl negatif meme kanserlerinde metastaz paterninin sporadik meme kanserlerine göre farklı olması farklı invazyon paterni sergilemesi ile açıklanabilir .

Çalışmamızda değerlendirilen 39 tripl negatif meme kanserli hastanın 15(%38.5) inde vasküler invazyon saptanmıştır. 14 (%35.9) hastada kapiller invazyon saptanırken, 3(%7.7) hastada lenfatik invazyon saptanmıştır. 2 (%5,1) hastada hem kapiller hem lenfatik invazyon görülmüştür.

Lenfovasküler invazyon varlığı tüm meme kanserleri için gerek hastalıksız sağkalım gerek genel sağkalım üzerine olumsuz etkileri mevcuttur.(40). Aynı zamanda lokal rekürrens ve uzak metastazın önemli belirleyicisidir (32). Lenfovasküler invazyon meme kanserleri için prognoz ve tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi için en önemli belirteç olan aksiller lenf nodu metastazı açısından önemli prediktor bir faktördür (138,141). Ancak günümüzde meme kanserli hastalarda lenfatik invazyon ile klinikopatolojik faktörleri inceleyen çok az çalışma mevcuttur (148).

Meme kanserleri ve lenfatik invazyonunun değerlendirildiği iki çalışma incelendiğinde; Braun ve arkadaşlarının 247 meme kanserli hasta üzerinde yaptığı bir çalışmada ;lenfovasküler invazyon ile genç yaş, artmış tümör boyutu, lenf nodu tutulumu,artmış tümör histolojik grad ve negatif hormon reseptör durumu ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (149). Shoppman ve arkadaşlarının 374 invaziv meme kanserli hastada yaptıkları bir çalışmada ise lenfavasküler invazyonun hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım için bağımsız bir faktör olduğu belirtilmiştir (17)

Ancak literatürde tripl negatif meme kanserlerinin lenfatik invazyon paterninin değerlendirildiği çok az çalışma bulunmaktadır. Tau ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 21 tripl negatif meme kanserli olgu ve 70 sporadik meme kanserli olgu lenfanjiogenetik karakteristik özellikleri açısından değerlendirilmiştir. İntratümoral

lenfovasküler invazyon, peritümöral lenfovasküler invazyon ve 2 lenfanjiogenetik faktör (VEGF-D ve VEGF-D) düzeyi tripl negatif grupta anlamlı artmış olarak bulunmuştur (152). Bu çalışmada tripl negatif grupta lenfatik invazyon diğer gruba göre daha fazla gösterilmiştir ve bunun tripl negatif meme kanserlerinin agresif biyolojik davranışından sorumlu olabileceği fikri ortaya atılmıştır.

Çalışmamızdaki tripl negatif meme kanserli hastalar literatürle uyumlu olarak daha genç yaşta (yaş ortalaması $50,33 \pm 11,66$) idi. Aynı şekilde literatürle uyumlu olarak hastalarımızın yarısı premenopozal idi. %80 hasta invaziv duktal karsinoma histolojisine sahip idi. Fakat bizim çalışmamızda ilginç olarak kapiller invazyon lenfatik invazyondan fazla saptanmıştır. Bu bulgu uzak metastaz paterninin sporadik meme kanserlerinden farklı olmasının bir nedeni olabilir. Çünkü tripl negatif meme kanseri sporadik meme kanserlerinin aksine daha az kemik metastatazı geliştirirken akciğer ve beyin gibi viseral metastatz yapma eğilimi daha fazladır. Bu durumda tripl negatif kanser hücrelerinin daha çok hematojen yolla yayıldığını desteklemektedir. Tripl negatif kanserlerinde tümör boyutu artmasına rağmen bununla orantılı olarak lenfatik metastazın daha az olması da tripl negatif kanserde metastatik yayılımın daha çok hematojen yolla olabileceğini öngörmektedir. Çalışmamızın limitasyonlarından biri hasta sayısının az olması ve bir diğer ise diğer meme altgruplarında lenfatik ve vasküler paterninin çalışılmamasıdır. Hasta sayısının artırılması ve diğer altgruplarla karşılaştırma yapılması çalışmanın değerini daha da arttıracaktır.

Yapılan pekçok çalışmada lenf nodu tutulumun meme kanserlerinde hastalığın sağkalımı ve yayılımı açısından en önemli faktör olduğu gösterilmiş olsa da bazı araştırmacılar lenf nodu tutulumun hematojen yayılımı göstermek için yeterli olmadığı fikrindedir.(155,156). Bu görüşü destekleyen Kato ve arkadaşlarının 509 meme kanserli hasta üzerinde yaptığı bir çalışmada ortalama kapiller damar sayısı/ kapiller damar invazyonun(vasküler invazyonun değerlendirilmesinde önemli bir belirteç) hastalısız sağkalım ve genel sağkalım üzerine etkili en önemli bağımsız faktör olduğu gösterilmiştir (161).

Günümüzde tripl negatif meme kanserleri ve kapiller invazyon ilişkisini değerlendiren çok az çalışma bulunmaktadır. Linderholm ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 87 tripl negatif meme kanserli hastanın intratümoral VEGF düzeyleri ölçülmüş ve tripl negatif meme kanserlerinde, sporadik meme kanserlerine göre artmış VEGF düzeyi saptanmıştır. Ayrıca hastalıksız sağkalım süresinde, relaps gelişme süresinde ve genel sağkalımda istatistiksel olarak anlamlı azalma bildirilmiştir. VEGF düzeyinin; tümör boyutu, nodal tutulum, histolojik grad, hasta yaşı ve relaps tipi (lokal veya uzak) ile korele olduğu gösterilmiştir (128). Ancak artmış VEGFR düzeyleri sadece kapiller invazyon ile ilişkili değildir. Artmış VEGF düzeyi, hücre büyümesi, progresyonu, angiogenez ve lenfanjiogenez ile de yakından ilişkilidir.

Sonuç olarak çalışmamızda lenfatik ve kapiller invazyon varlığı ile diğer prognostik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Çalışmaya alınan tripl negatif meme kanserli hasta sayımız kısıtlı idi. Ancak literatürde tripl negatif meme kanserleri ve invazyon özelliklerini inceleyen çok az sayıda çalışma olması nedeni ile bu grup meme kanserlerinin biyolojik davranışlarını açıklamak için kapiller invazyonun daha sık saptanması daha sonraki çalışmalara ışık tutabilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmaya yaşları 30-81 arasında değişen 39 tripl negatif meme kanserli kadın hasta alındı. Hastaların yaş ortalaması $50,33 \pm 11,66$ olup, 20 hasta (%51,3) premenopozaldi. Hastaların çoğunluğunda invaziv duktal karsinoma saptandı (%80). Hastaların yaklaşık yarısı TNM evreleme sistemine göre Evre 2 hastalığa sahipti. Tanı anında bir hasta (%2.6) metastatik evredeydi. 20 hastada (%51.3) lenf nodu tutulumu saptandı.

Değerlendirilen 39 tripl negatif meme kanserli hastanın 15 (%38.5) inde vasküler invazyon saptanmıştır. 14 (%35.9) hastada kapiller invazyon saptanırken; 3(%7.7) hastada lenfatik invazyon saptanmıştır. 2 (%5,1) hastada hem kapiller hem lenfatik invazyon saptanmıştır. Kapiller invazyon, lenfatik invazyon, vasküler invazyon varlığı ile tümör grad, menapoz durumu, TNM evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Kapiller invazyonun daha sık görülmesi doğrultusunda tripl negatif meme kanserlerin sporadik meme kanserlerinde daha agresif seyretmesi, uzak metastaz bölgelerinin daha farklı olması ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması için bir faktör olabileceği düşünülebilir. Ancak bu konuda daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızın limitasyonlarından biri hasta sayısının az olması ve bir diğer ise diğer meme altgruplarında lenfatik ve vasküler paterninin çalışılmamasıdır. Hasta sayısının artırılması ve diğer alt gruplarla karşılaştırma yapılması çalışmanın değerini daha da arttıracaktır.

KAYNAKLAR

1. Glass AG, Lacey JV Jr, Carreon JD, et al. Breast cancer incidence, 1980–2006: combined roles of menopausal hormone therapy, screening mammography, and estrogen receptor status. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99:1152–1161.
2. Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98: 10869–10874.
3. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100: 10393–10398.
4. Carey LA ,Perou CM,Livasy CA, et al. Breast cancer subtypes and survival in the Carolina Breast Cancer Study .*JAMA* 2006;295:2492-250.
5. Millikan RC, Newman B, Tse CK et al. Epidemiology of basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 109:123–139.
6. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006; 19:264-271.
7. Haffty BG, Yang Q, Reiss M, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 5652-5657.
8. Aksoy S, Dizdar O, Harputluoglu H, Altundag K. Demographic, clinical, and pathological characteristics of Turkish triple-negative breast cancer patients: single center experience. *Ann Oncol* 2007;18:1904-1906.
9. Tsuda H, Takarabe T, Hasegawa F, et al. Large, central acellular zones indicating myoepithelial tumor differentiation in high-grade invasive ductal carcinomas as markers of predisposition to lung and brain metastases. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 197–202.

10. Burnell MJ, O'Connor EM, Chapman JW, et al. Triple-negative receptor status and prognosis in the NCIC CTG MA.21 adjuvant breast cancer trial (Abstract 550). *J Clin Oncol* 2008; 26
11. Mahadevan V, Hart IR. Metastasis and angiogenesis. *Reviews in Oncology* 1990; 3: 97-103.
12. Blood CH, Zeft BR. Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1990; 1032: 89-118.
13. Liotta LA, Stetler-Stevenson WG, Steeg PS. Cancer invasion and metastasis: Positive and negative regulatory elements. *Cancer Invest* 1991; 19:543-551.
14. Cullen KJ, Allison A, Martive I, et al. Insulin-like growth factor expression in breast cancer epithelium and stroma. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 22: 21-29.
15. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, et al. Microvessels that predict axillary lymph node metastases in patients with breast cancer. *Arch Surg* .2000;135:586-93.
16. Donegan WL. Tumor-related prognostic factors for breast cancer. *CA Cancer J Clin*.1997;47: 28-51.
17. Schoppmann SF, Bayer G, Aumayr K, et al Prognostic value of lymphangiogenesis and lymphovascular invasion in invasive breast cancer. *Ann Surg* 2004; 240:3 06-312.
18. Foulkes WD, Metcalfe K, Hanna W, et al. Disruption of the expected positive correlation between breast tumor size and lymph node status in BRCA1-related breast carcinoma. *Cancer*. 2003; 98:1569-1577.
19. Jermal A, Siegal R, *Cancer İstatisticks Cancer J Clinical* 2007
20. Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper *Breast Cancer Harrison's Principles of Internal Medicine* 17th Ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc. 2008.
21. Burget R, Tuncer İ, Bozdemir N. Türkiye'de kanser sıklığı. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*.1994; 38-39.
22. T.C. Sağlık Bakanlığı, websitesi *Kanser İstatistikleri*,2005, (<http://www.saglik.gov.tr/extras/istatistikler/apk2001/092.htm>).

23. Dickson RB, Lippman ME: Molecular basis of breast cancer, in Molecular Basis of Cancer. Mendelson J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA (eds) Philadelphia, Saunders 2001, pp.313.
24. Wohlfahrt J, Melby M. Age at any birth is associated with breast cancer risk. *Epidemiology* 2004; 12: 68-73.
25. Dupont WD, Page DL, Rogers LW. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med* 1985; 312: 146-151.
26. Howe, HL, Wu, X, Ries, LA. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2003,featuring cancer among U.S. Hispanic/Latino populations. *Cancer* 2006; 107:1711.
27. Tavasolli FA, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of the Breast and Female Genital Organs. Lyon , IARC Press, 2003; 9-113.
28. Stenberg SS. Diagnostic Surgical Pathology, 3rd ed. Vol I Philadelphia, Lippincot Williams and Wilkins,1999; 319-379.
29. Rosen, Paul P. Rosen's Breast Pathology. Third Edition Lippincott Williams & Wilkins (LWW) 2008.105-118
30. Singletary SE, Greene FL, Sobin LH. Classification of isolated tumor cells: clarification of the 6th edition of the American Joint Committee on Cancer Staging Manual. *Cancer* 2003; 98(12): 2740-2741.
31. Henderson IC, Patek AJ. The relationship between prognostic and predictive factors in the management of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.*1998; 52: 261-88.
32. Tavasolli FA. Pathology of the Breast. 2nd edition. Connecticut, Appelton and Lange, 1999
33. Martin D Abelof, James O. Armigate, John E Niederhuber, Michael B Kastan, W. Gillies McKenna. Clinical Oncology 3rd Edition. 2369-2471.,
34. Rosen PP, Groshen S, Kinn DW, Norton, L. Factors influencing prognosis in node-negative breast carcinoma: Analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow-up. *J Clin Oncol* 1993; 11: 2090.

35. McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 1992; 326: 1756-1761.
36. Vogel PM, Georgiade NG, et al. The correlation of histologic changes in human breast with the menstrual cycle. *Am J Pathol* 1981; 104: 23-24.
37. Lundin J, Lundin M, Holli K, et al. Omission of histologic grading from clinical decision making may result in overuse of adjuvant therapies in breast cancer: results from a nationwide study.. *J Clin Oncol* 2001; 19: 28-36.
38. Ingle J N. Prognostic factors in women with node negative breast cancer. In: *ASCO Educational Book*, 1991.108-113
39. Diab SG, Clark GM, Osborne CK, Libby A, Allred DC, Elledge RM. Tumor characteristics and clinical outcome of tubular and mucinous breast carcinomas. *J Clin Oncol.* 1999; 17: 1442-1448.
40. Gann PH, Colilla SA, Gapstur SM, et al. Factors associated with axillary lymph node metastasis from breast carcinoma: descriptive and predictive analyses. *Cancer.* 1999; 86:151151-151119.
41. Filho S.J, Path MRC.Basal like breast cancers: From pathology to mouse models and beyond. Breast Cancer Research Centre, London, UK
42. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol.* 1994;12: 888-894.
43. Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr.* 1994;16:35-42.
44. Elledge RM, Clark GM, Chamness GC, Osborne CK. Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white, Hispanic, and black women in the United States. *J Natl Cancer Inst.* 1994; 86: 705-712
45. Filho S.J, Path MRC.Basal like breast cancers: From pathology to mouse models and beyond. Breast Cancer Research Centre, London, UK
46. Grann VR, Troxel AB, Zoiwalla NJ, Jacobson JS, Hershman D, Neugut AI. Hormone receptor status and survival in a population-based cohort of patients with breast carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 2241-2251.

47. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005; 365: 1687-717.
48. Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, Citron ML, Budman DR, Goldstein LJ, et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA*. 2006; 295:1658-1667.
49. Francis G, Beadlet G, Thomas S, Mengersen K. Evaluation of estrogen and progesterone receptor status in HER-2 positive breast carcinomas and correlation with outcome. *Pathology* (October 2006) 38(5), pp. 391-398
50. Fehm, T, Maimonis, P, Weitz, S. Influence of circulating c-erbB-2 serum protein on response to adjuvant chemotherapy in node-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 43:87.
51. Reed W, Hannisdal E, Boehler PJ, Gundersen S, Host H, Marthin J. The prognostic value of p53 and c-erb B-2 immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 613 patients with a follow-up of 14-30 years. *Cancer*. 2000; 88: 804-813
52. Allred DC, Clark GM, Tandon AK, Molina R, Tormey DC, Osborne CK, et al. HER-2/neu in node-negative breast cancer: prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma. *J Clin Oncol*. 1992; 10:599-605.
53. Malstrom P, Bendahl PO, Boiesen P, Br  nner N, Idvall I, Fern   M; South Sweden Breast Cancer Group. S-phase fraction and urokinase plasminogen activator are better markers for distant recurrences than Nottingham Prognostic Index and histologic grade in a prospective study of premenopausal lymph node-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2001; 19:2010-2019.
54. Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast*. 2008; 17:323-334.

55. Bocker W, Moll R, Poremba C, et al. Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. *Lab Invest.* 2002; 82: 737-746.
56. Barbareschi M, Pecciarini L, Cangi G.M, Macri E. P63, a p53 Homologue, Is a Selective Nuclear Marker of Myoepithelial Cells of The Human Breast. *The American Journal of Surgical Pathology* 25(8): 1054-1060, 2001.
57. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. Cathepsin D and prognosis in breast cancer. *N Engl J Med* 1990; 322:297
58. Foekens JA, Look MP, Bolt-de Vries J, Meijer-van Gelder ME, van Putten WL, Klijn JG. Cathepsin-D in primary breast cancer: prognostic evaluation involving 2810 patients. *Br J Cancer* 1999; 79: 300.
59. Dontu G, El-Ashry D, Wicha MS. Breast cancer, stem/progenitor cells and the estrogen receptor. *Trends Endocrinol Metab.* 2004; 15: 193-197
60. Visscher DW, Zarbo RJ, Greenawald KA, Crissman JD. Prognostic significance of morphological parameters and flow cytometric DNA analysis in carcinoma of the breast. *Pathol Annu.* 1990; 25: 171-210.
61. Hedley DW, Clark GM, Cornelisse CJ, Killander D, Kute T, Merkel D. DNA Cytometry Consensus Conference. Consensus review of the clinical utility of DNA cytometry in carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat.* 1993; 28: 55-59.
62. Mandard AM, Denoux Y, Herlin P, Duigou F, van De Vijver MJ, Clahsen PC, et al. Prognostic value of DNA cytometry in 281 premenopausal patients with lymph node negative breast carcinoma randomized in a control trial: multivariate analysis with Ki-67 index, mitotic count, and microvessel density. *Cancer* 2000; 89: 1748-1757.
63. Pinilla.S.M,Honrado.E,Hardisson D. Caveolin1 expression is associated with a basal like phenotype in sporadic and hereditary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 99: 85-90.

64. Trihia H, Murray S, Price K. Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors--a surrogate marker? *Cancer* 2003; 97: 1321-1331.
65. Weidner N, Moore DH, Vartanian R. Correlation of Ki-67 antigen expression with mitotic figure index and tumor Grade in breast carcinomas using the novel "paraffin"-reactive MIB1 antibody. *Hum Pathol* 1994; 25: 337-342.
66. Look MP, van Putten WL, Duffy MJ, Harbeck N, Christensen IJ, Thomssen C, et al. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94: 116-128.
67. Malzahn K, Mitze M, Thoenes M, Moll R: Biological and prognostic significance of stratified epithelial cytokeratins in infiltrating ductal breast carcinomas. *Virchows Arch* 1998, 433:119-129.
68. Perou CM, Sørli T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000; 406:747-52.
69. Fulford LG, Easton DF, Reis- Filho JS, et al. Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast. *Histopathology* 2006; 49: 22-34.
70. Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K, et al. Basal-like grade III Invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Research* 2007; 9: R4.
71. Kapp AV, Jeffrey SS, Langerød A, Børresen-Dale AL, Han W, Noh DY, et al. Discovery and validation of breast cancer subtypes. *BMC Genomics*. 2006; 11:231.
72. Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol.* 2007; 8: 235-44.
73. Haffty BG, Yang Q, Reiss M, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006; 24: 5652-7.

74. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California Cancer Registry. *Cancer*. 2007;109:1721-28.
75. Dolle JM, Daling JR, White E, et al. Risk Factors for triple negative breast cancer in women under the age of 45 years. *Cancer Epidemiol Markers Prev* 2009;117:1157-66.
76. Nitz U, Gluz O, Herr A, retrospective analysis of WSG AM-01 tandem high dose chemotherapy trial in high risk primary breast cancer (Abstract). *J Clin Oncol* 2009;27
77. Yang XR, Sherman ME, Rimm DL. Differences in risk factors for breast cancer molecular subtypes in population based study. *Cancer Epidemiol Markers Prev* 2007;16:439-43.
78. Tischkowitz M, Brunet JS, Bégin LR. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC cancer* 2007;7:134
79. Lin NU, Vanderplas A, Hugles Me; Clinicopathological features and sites of recurrence according to breast cancer subtypes in The National Comprehensive Cancer Network. *J Clin Onc* 2009;27
80. Kwan ML, Kushi LH, Weltzien E; Epidemiology of breast cancer subtypes in two prospective cohort studies of breast cancer survivors. *Breast Cancer Res*. 2009;11(3): R31
81. Trivers KF, Lund MJ, Porter PL The epidemiology of triple-negative breast cancer, including race. *Cancer Causes Control*. 2009;20:1071-82
82. Maiti B, Kundranda MN, Spiro TP; The association of metabolic syndrome with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27
83. Piccart-Gebhart MJ. Adjuvant trastuzumab therapy for HER2-overexpressing breast cancer: what we know and what we still need to learn *Eur J Cancer*. 2006;42:1715-9.

84. Ignatiadis M, Desmedt C, Sotiriou C. HER-2 as a target for breast cancer therapy. *Clin Cancer Res*. 2009;15:1848-52.
85. Sparano JA, Goldestin LJ. Genotypic characterization of phenotypically defined triple negative breast cancer (Abstract). *J Clin Oncol* 2009 ;27
86. Tan DS, Marchió C, Jones RL ;Triple negative breast cancer: molecular profiling and prognostic impact in adjuvant anthracycline-treated patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;111:27-44.
87. Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers. *Nat Rev Cancer*. 2004; 4:814-9.
88. Turner NC, Reis-Filho JS, Russell AM, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene*. 2007; 26: 2126-32.
89. Kandel MJ, Stadler Z, Masciari S; Prevalence of BRCA1 mutations in triple negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24
90. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004, 10:5367-74.
91. Jones C, Nonni AV, Fulford L, CGH analysis of ductal carcinoma of the breast with basaloid/myoepithelial cell differentiation. *Br J Cancer* 2001; 85:422-7.
92. Tsuda H, Takarabe T, Hasegawa F, Fukutomi T, Hirohashi S: Large, central acellular zones indicating myoepithelial tumor differentiation in high-grade invasive ductal carcinomas as markers of predisposition to lung and brain metastases. *Am J Surg Pathol* 2000; 24:197-202
93. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI ;Triple negative breast cancer :Clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007;109:1721-1728.
94. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:5678-85.
95. Gilmore PM, McCabe N, Quinn JE, BRCA1 interacts with and is required for paclitaxel-induced activation of mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3. *Cancer Res*. 2004; 64: 4148-54.

96. Rottenberg S, Jaspers JE, Kersbergen A, van der Burg E, Nygren AO, Zander SA, High sensitivity of BRCA1-deficient mammary tumors to the PARP inhibitor AZD2281 alone and in combination with platinum drugs Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; 105:17079-84.
97. Reis-Filho JS, Milanezi F, Carvalho S, Simpson PT, Steele D, Savage K, Metaplastic breast carcinomas exhibit EGFR, but not HER2, gene amplification and overexpression: immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization analysis. Breast Cancer Res. 2005;7: 1028-35.
98. Lin NU, Claus E, Sohl J; Sites of distance recurrence and clinical outcomes in patient with metastatic triple negative breast cancer. Cancer 2008; 113:2638-2645
99. Dawood S, Broglio K, Esteva FJ; Survival among women with triple negative breast cancer and brain metastases. Ann Oncol 2009; 20:621-7.
100. Ansieau S, Hinkal G, Thomas C; Early origin of cancer metastases: dissemination and evolution of premalignant cells. Cell Cycle. 2008; 7:3659-63.
101. Nguyen DX and Massague J. Genetic determinants of cancer metastasis. Nat Rev Genet 2007; 8:341-52.
102. İcli F, Akbulut H. Onkolojiye Giriş. İn: ilicin G, Biberoğlu K, Suleymanlar G. İç Hastalıkları; 2005:2007-2009
103. Reed SI. Cell Cycle. İn: DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA; eds. Cancer. 8th Ed. Philadelphia: Lippicott-Williams & Wilkins; 2008:156-187
104. DP, Schnipper LE, Lenhard RE, Osteen RT, Gansler T; Principles of Cancer Biology. Clinical Oncology Atlanta: American Cancer Society; 2001:21-35.
105. Tripathy D, McPhee SJ, Lingappa VR, Ganong WF; Pathophysiology of Disease. 2nd ed. Connecticut: Appleton & Lange; 1997:78-97.
106. Bild AH, Potti A and Nevins JR. Linking oncogenic pathways with therapeutic opportunities. Nat Rev Cancer 2006; 6:735-741.
107. Ohtsubo M, Theodoras AM, Schumacher J. Human cyclin E, a nuclear protein essential for the G1-to-S phase transition. Mol Cell Biol 1995; 15:2612.
108. Dulic V, Lees E, Reed SI. Association of human cyclin E with a periodic G1-S phase protein kinase. Science 1992; 257:1958.

109. Dinçol K. Kemoterapide Temel Prensipler. Aydın A, Karadeniz AN; eds. Klinik Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları; 2000:34-47.
110. Kerbel RS, Ellis LM. Angiogenesis. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA; eds. Cancer. 8th ed. Philadelphia: Lippincott-Williams & Wilkins; 2008:103-116
111. Scappaticci FA. Mechanisms and future directions for angiogenesis-based cancer therapies. *J Clin Oncol*. 2002;20:3906–27.
112. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*. 1995;1:27–31.
113. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*. 1971;285:1182–6.
114. Weidner N, Folkman J. Tumoral vascularity as a prognostic factor in cancer. *Important Adv Oncol*. 1996:167–190.
115. Gould VE, Linnoila RL, Memoli VA, Warren WH ; Neuroendocrine components of the bronchopulmonary tract: hyperplasia, dysplasias, and neoplasms. *Lab Invest* 49: 519–537.
116. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109:227.
117. Bussolino F, Di Renzo MF, Ziche M, Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *J Cell Biol*. 1992;118:119.
118. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem*. 1992;267:10931–10934.
119. Shim WS, Ho IA, Wong PE. Angiopoietin: a TIE(d) balance in tumor angiogenesis. *Mol Cancer Res*. 2007;5:655–665.
120. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*. 1997;88:277–285.

121. Lasagni L, Francalanci M, Annunziato F, An alternatively spliced variant of CXCR3 mediates the inhibition of endothelial cell growth induced by IP-10, Mig, and I-TAC, and acts as functional receptor for platelet factor 4. *J Exp Med.* 2003;197:1537–1549.
122. Lawler J. Demart M ;The functions of thrombospondin-1 and-2. *Curr Opin Cell Biol.* 2000;12:634–640.
123. Bando H. Vascular endothelial growth factor and bevacizumab in breast cancer. *Breast Cancer.* 2007;14:163–173.
124. Grothey A, Ellis LM. Targeting angiogenesis driven by vascular endothelial growth factors using antibody-based therapies. *Cancer J.* 2008;14:170 –177.
125. McMahon G. VEGF receptor signaling in tumor angiogenesis. *Oncologist.* 2000;5(suppl 1):3–10.
126. Toi M, Matsumoto T, Bando H. Vascular endothelial growth factor: its prognostic, predictive, and therapeutic implications. *Lancet Oncol.* 2001;2: 667–673.
127. Foekens JA, Peters HA, Grebenchtchikov N, High tumor levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to systemic therapy in advanced breast cancer. *Cancer Res.* 2001;61:5407–5414.
128. Linderholm BK, Hellborg H, Johansson U, Significantly higher levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2009;20:1639 –1646.
129. Miller KD, Chap LI, Holmes FA, Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:792–799.
130. Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science.* 2005;307:58–62.
131. Shaked Y, Henke E, Roodhart JM, Rapid chemotherapy-induced acute endothelial progenitor cell mobilization: implications for antiangiogenic drugs as chemosensitizing agents. *Cancer Cell.* 2008;14:263–273.

132. Burstein HJ, Spigel D, Kindsvogel K, et al. Metronomic chemotherapy with and without bevacizumab for advanced breast cancer: a randomized phase II study. *Breast Cancer Res Treat.* 2005;92(Suppl 1):Abstr 4.
133. Ryan PD, Tung NM, Isakoff SJ, et al. Neoadjuvant cisplatin and bevacizumab in triple negative breast cancer (TNBC): Safety and efficacy. *J Clin Oncol.* 2009;27(15S):Abstract 551.
134. Janicke, F, Prechtel, A, Thomssen, C. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk, lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:913.
135. Reyes-Reyes ME, George MD, Roberts JD, Akiyama SK. P-selectin activates integrin-mediated colon carcinoma cell adhesion to fibronectin. *Exp Cell Res.* 2006;312:4056-69.
136. Jobim FC, Xavier NL, Uchoa DM, Prevalence of vascular-endothelial growth factor, matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in primary breast cancer. *Med Biol Res.* 2009;42:979-87.
137. Bao L, Loda M, Zetter BR. Thymosin beta15 expression in tumor cell lines with varying metastatic potential. *Clin Exp Metastasis.* 1998;16:227-33.
138. Rosen PP, Groen S, Saigo PE; Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: a study of 644 patients with median follow-up of 18 years. *J Clin Oncol* 1989; 7:1239–51.
139. Kato T, Kameoka S, Kimura T; The combination of angiogenesis and blood vessel invasion as a prognostic indicator in primary breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88:1900–1908.
140. Lauria R, Perrone F, Carlomagno C; The prognostic value of lymphatic and blood vessel invasion in operable breast cancer. *Cancer* 1995;76: 1772–8.
141. Chua B, Ung O, Taylor R; Frequency and predictors of axillary lymph node metastases in invasive breast cancer. *ANZ J Surg* 2001; 71: 723–728

142. Pinder SE, Ellis IO, Galle O; Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion: relationship with recurrence and survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1994; 24:41–47.
143. Van den Eynden GG ;. Distinguishing blood and lymph vessel invasion in breast cancer: a prospective immunohistochemical study. *Br J Cancer* 2006; 94:1643–1649.
144. Obermair A , Rudloski M, Garder K; Microvessel density and vessel invasion survival. *Int J Cancer* 1995; 62:126–131
145. Weninger W ;. Expression of vascular endothelial growth factor receptor-3 and podoplanin suggests a lymphatic endothelial cell origin of Kaposi's sarcoma tumor cells. *Lab Invest* 1999; 79:243–251.
146. Birner P ; Lymphatic microvessel density in epithelial ovarian cancer: its impact on prognosis. *Anticancer Res* 2000; 20(5A):2981–2985.
147. Partanen TA, Alitalo K, Miettinen M (1999) Lack of lymphatic vascular specificity of vascular endothelial growth factor receptor 3 in 185 vascular tumors. *Cancer* 1999; 86: 2406–2412.
148. Tezuka K , Onada N , Takashima T, Prognostic significance of lymphovascular invasion diagnosed by lymphatic endothelium immunostaining in breast cancer patients. *Oncol Rep* 2007; 17:997–1003.
149. Braun M, Flucke U, Debold M, Walgenbach-Bruenagel G. Detection of lymphovascular invasion in early breast cancer by D2-40 (podoplanin): a clinically useful predictor for axillary lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;112:503-511.
150. Shoup M , Malinzak L, Aranha VH; Predictors of axillary lymph node metastases in T1 breast carcinoma. *Am Surg* 1999; 65:748–752
151. O'Rourke S , Galea MH, Morgan M;. Local recurrence after simple mastectomy. *Br J Surg* 1994; 81:386–389.
152. Liu HT, Ma R, Yang QF, Du G, Zhang CJ. Lymphangiogenic characteristics of triple negativity in node-negative breast cancer. *Int J Surg Pathol.* 2009;17: 426-3.

153. Park SY, Gönen M, Kim HJ Cellular and genetic diversity in the progression of in situ human breast carcinomas to an invasive phenotype. *J Clin Invest.* 2010;120:636-44.
154. Buess M, Rajski M, Vogel-Durrer BM. Tumor-endothelial interaction links the CD44(+)/CD24(-) phenotype with poor prognosis in early-stage breast cancer. *Neoplasia.* 2009; 11: 987-2002.
155. Fisher B, Fisher ER. The inter-relationship of hematogenous and lymphatic tumour cell dissemination. *Surg Gynecol Obstet* 1966; 122: 791–8.
156. Menard S, Bufalino R, Rilke F, Cascinelli N, Veronesi U, Colnaghi MI. Prognosis based on primary breast carcinoma instead of pathological nodal status. *Br J Cancer* 1994; 70: 709–12.
157. Thor AD, Moore II DH, Edgerton SM, Accumulation of p53 tumour suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1845-55.
158. Zhang GJ, Kimijima I, Abe R, Apoptotic index correlates to bcl-2 and p53 protein expression, histological grade and prognosis in invasive breast cancers. *Anticancer Res* 1998; 18: 1989–1998
159. Heimann R, Ferguson D, Powers C, Angiogenesis as a predictor of long-term survival for patients with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1764– 1769
160. Van Hoef MEHM, Knox WF, Dhesi SS, Howell A, Schor AM. Assessment of tumour vascularity as a prognostic factor in lymph node-negative invasive breast cancer. *Eur J Cancer* 1993; 29: 1141-5.
161. T Kato, S Kameoka, T Kimura, T Nishikawa The combination of angiogenesis and blood vessel invasion as a prognostic indicator in primary breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88, 1900-8.
162. Lauria R, Perrone F, Carlomagno C et al. The prognostic value of lymphatic and blood vessel invasion in operable breast cancer. *Cancer* 1995; 76: 1772–1778