



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

TRİPLET NEGATİF MEME KANSERLİ HASTALARDA
SİTOKERATİN 5/6, c-MET VE PTEN
EKSPRESYONLARININ PROGNOZ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Uzm. Dr. MEVLÜDE İNANÇ

KAYSERİ-2013



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

TRİPLET NEGATİF MEME KANSERLİ HASTALARDA
SİTOKERATİN 5/6, c-MET VE PTEN
EKSPRESYONLARININ PROGNOZ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Uzm. Dr. MEVLÜDE İNANÇ

Danışman
Prof. Dr. METİN ÖZKAN

KAYSERİ-2013

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
I-EPİDEMİYOLOJİ.....	3
II-MEME KANSERİNDE ETYOLOJİ	3
III-MEME KANSERİNDE EGFR YOLU	6
IV-MEME KANSERİNDE SINIFLAMA.....	8
V-EVRELEME	11
VI-MEME KANSERİNDE PROGNOSTİK FAKTÖRLER.....	12
VII-KANSER ve PTEN ONKOGENİ.....	14
VIII-HGF/C-MET SİNYAL YOLU ve KARSİNOGENEZİS	14
IX-MEME KANSERİNDE TEDAVİ.....	17
MATERYAL VE METOT	19
BULGULAR.....	23
TARTIŞMA	34
SONUÇLAR	45
KAYNAKLAR	46
TEZ ONAY SAYFASI	55

KISALTMALAR

BMK	: Bazal Meme Kanseri
c-Met	: Mesenchymal Epithelial Transition Factor
PTEN	: Phosphatase and Tensin Homolog
CK5/6	: Sitokeratin 5/6
BRCA-1	: Breast Cancer Type 1 Susceptibility Protein
MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinaz
PI3K	: Phosphatidylinositide 3-Kinaz
PDK1	: Pyruvate Dehydrogenase
ÖR	: Östrojen Reseptörü
PR	: Progesteron Reseptörü
LN	: Lenf nodu
HER-2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü-2
İHK	: İmmünohistokimyasal
HSK	: Hastalıksız Sağkalım
GSK	: Genel Sağkalım
SEER	: Amerika Birleşik Devletleri, National Cancer Institute,

Surveillance, Epidemiology, and End Results programı

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Meme kanserinde patolojik sınıflama.....	8
Tablo 2: Meme kanseri moleküler sınıflaması.....	10
Tablo 3: Meme kanseri T evrelemesi.....	11
Tablo 4: Meme kanseri N evrelemesi	11
Tablo 5: Meme kanseri M evrelemesi.....	12
Tablo 6: Meme kanseri TNM evrelemesi	12
Tablo 7: PTEN için skarlama sistemi	21
Tablo 8: c-MET için skarlama sistemi.....	21
Tablo 9: CK5/6 için skarlama sistemi.....	21
Tablo 10: Genel demografik özellikler	24
Tablo 11: Tüm hastalardaki moleküler boyanma özellikleri.....	25
Tablo 12: Nüks bölge özellikleri.....	25
Tablo 13: Nüks hastaların genel demografik özellikleri	25
Tablo 14: Nüks hastalarda bazaloid ve non-bazaloid grubun PTEN ve c-Met ekspresyonunun karşılaştırması.....	26
Tablo 15: Bazaloid ve non-bazaloid gruplarının karşılaştırılması	28
Tablo 16: Nüks üzerine etki eden faktörlerin tek değişkenli analizi..	29
Tablo 17: Nüks üzerine etki eden faktörlerin çok değişkenli analizi.	29
Tablo 18: Ölüm üzerine etki eden faktörlerin tek değişkenli analizi.	29
Tablo 19: Ölüm üzerine etki eden faktörlerin çok değişkenli analizi	30

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: EGFR sinyal ileti yolu.....	6
Şekil 2: HGF reseptörü c-Met'in yapısı ve bölgelerinin gösterimi	15
Şekil 3: c-Met sinyal iletim yolunun özet gösterimi.....	16
Şekil 4: Tüm hastalar için genel sağkalım eğrisi	33
Şekil 5: PTEN ekspresyon durumuna göre genel sağkalım eğrisi.....	33
Şekil 6: CK5/6 ekspresyonuna göre genel sağkalım eğrisi	33
Şekil 7: c-Met ekspresyonuna göre genel sağkalım eğrisi.....	33
Şekil 8: Tüm hastalar için hastalıksız sağkalım eğrisi	33
Şekil 9: PTEN ekspresyonuna göre hastalıksız sağkalım eğrisi	33
Şekil 10: CK5/6 ekspresyonuna göre hastalıksız sağkalım eğrisi	33
Şekil 11: c-Met ekspresyonuna göre hastalıksız sağkalım eğrisi	33

ÖZET

GİRİŞ ve AMAÇ: Meme kanserinin alt grupları içinde en kısa hastalıklı ve genel sağkalım bazaloid ve HER-2 gruplarında gözlenmektedir. CK5/6 ekspresyonu bazaloid grubu belirlemede en önemli belirteçlerden birisidir ve kötü prognozla ilişkilidir. Benzer şekilde bir tümör supresör gen olan PTEN'in kaybı ve c-Met yüksek ekspresyonu meme kanserinde ve diğer birçok kanserde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Amacımız triplet negatif meme kanserli hastalarda CK5/6, PTEN ve c-Met ekspresyonlarının hastalığın prognozu üzerine etkisini belirlemektir.

HASTALAR ve YÖNTEM: Çalışmamıza 97 triplet negatif meme kanseri hastası alındı. Hastaların klinik ve patolojik özellikleri kaydedildi. Parafin bloklardan immunohistokimyasal yöntem ile c-Met, PTEN, CK5/6 ekspresyonları değerlendirildi.

BULGULAR: Hastaların ortalama yaşı 47 yıl (27-79) idi. CK5/6 pozitifliği % 50,5, PTEN kaybı %44,3 ve c-Met yüksek ekspresyonu ise %53,6 oranında saptandı. %42,2 hastada nüks görüldü. Beş santimetre ve üzerinde tümörü olan ve nod pozitif hasta oranı bazaloid grupta daha fazlaydı ve nüks de bu grupta daha fazla oranda görüldü. Ancak PTEN kaybı bazal olmayan grupta daha fazlaydı. c-Met yüksek ekspresyonu bazal olan ve olmayan gruplar için benzerdi. Çok değişkenli analizde PTEN kaybı 2,99 kat (%95 GA 1.407-6.383, $p=0,004$); yüksek c-Met ekspresyonu 2,05 kat (%95 GA 0.963-4.365, $p=0,06$); CK5/6 ekspresyonu 2,99 kat (%95 GA

1.105-5.293, $p=0,02$), metastatik lenf nodu sayısının çok olması 1,11 kat (%95 GA 1.043-1.181, $p=0,001$), tümör boyutundaki artış 1,226 kat (%95 GA 1.036-1.450, $p=0,01$) nüks riski artışına neden olduğu gösterildi. Ölüm riski üzerine etki eden faktörler incelendiğinde PTEN kaybı 2,43 kat (%95 GA 0.975-6.065, $p=0,05$); CK5/6 3,74 kat (%95 GA 1.375-10.20, $p=0,01$) ve N2-3 tümörler nod negatiflere göre 3,63 kat (%95 GA 1.279-10.304, $p=0,01$) risk artışına sebep oldu. PTEN kaybı olanlarda lenfovasküler invazyon daha fazla idi. CK5/6 ekspresyonu ile metastatik lenf nodu sayısı arasında pozitif yönde ilişki saptandı. c-Met yüksek ekspresyonu T1-2 tümörler ve yüksek gradlı tümörlerde daha fazla oranda görüldü.

SONUÇ: Triplet negatif meme kanserli hastalarda klasik belirteçlerden lenf nodu tutulumu ve tümör boyutunun prognostik değeri saptanırken, CK5/6 ekspresyonu, PTEN kaybı ve c-Met yüksek ekspresyonu da nüks ve ölüm riskini belirlemek açısından önemli prognostik belirteçler olarak bulunmuştur. Ayrıca c-Met yüksek ekspresyonu yüksek gradlı ve T1-2 tümörlerde daha fazla oranda bulundu. PTEN kaybı olanlarda lenfovasküler invazyon daha fazla iken, bazaloid tümörler daha fazla lenf nodu metastazı yapma eğilimindeydiler.

ANAHTAR KELİMELE: Triplet negatif meme kanseri, CK5/6, PTEN, c-Met

PROGNOSTIC VALUE OF CYTOKERATIN 5/6, c-MET EXPRESSION and PTEN LOSS in PATIENTS with TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER

BACKGROUND: In subgroups of breast cancer, the shortest disease-free and overall survival was observed in basaloid and HER-2 groups. CK5/6 expression in determining basaloid group is the one of the most important marker and associated with poor prognosis. Similarly, a tumor suppressor gene PTEN loss and high expression of c-Met has been associated with poor prognosis in breast cancer and many other cancers. In this study, we aimed to determine the effect of CK5/6 and c-Met expressions, and PTEN loss on the prognosis of the disease in triple negative breast cancer patients.

PATIENTS and METHODS: 97 patients with pathologically diagnosed with triple-negative breast cancer were enrolled. The clinical and pathological characteristics of the patients were recorded. c-Met, PTEN, CK5/6 expression were evaluated with immunohistochemical method from paraffin blocks.

RESULTS: The median age of patients was 47 years (27-79). CK5/6 positivity was 50.5%, PTEN loss was 44.3%, and high c-Met expression was detected in 53.6%. Relapse was observed in 42.2% patients. Over five cm tumors, node-positive patients were higher in basaloid group and relapse rate was more in this group.

However, loss of PTEN was higher in non-basaloid group. High c-Met expression was similar for the groups with basaloid and non-basaloid. In multivariate analysis, predictors of the recurrence were loss of PTEN (HR = 2.99; 95% CI, 1.407 to 6.383, $p = 0.004$), high c-Met expression (HR = 2.05; 95% CI, 0.963 to 4.366, $p = 0.06$), CK5/6 expression (HR = 2.99; 95% CI, 1.105 to 5.293, $p = 0.02$), increase in the number of metastatic lymph nodes (HR = 1.11; 95% CI, 1.043 to 1.181, $p = 0.001$), and increase in tumor size (HR = 1.226; 95% CI, 1.036 to 1.450, $p = 0.01$). Also PTEN loss (HR = 2.43; 95% CI, 0.975 to 6.065, $p = 0.05$), CK5/6 expression (HR = 3.74; 95% CI, 1.375 to 10.20, $p = 0.01$), and N2-3 tumors compared to negatives (HR = 3.63; 95% CI, 1.279 to 10.304, $p = 0.01$) were associated with death. PTEN loss correlated with those of lymphovascular invasion. There was a correlation between CK5/6 expression and the number of metastatic lymph nodes. Also a correlation was found among highly expressed of c-Met, T1-2 tumors and high grade tumors.

CONCLUSION: The classical markers, which are lymph node involvement and tumor size, were found to be prognostic value; however high c-Met and CK5/6 expressions and PTEN loss were found to be the risk of recurrence and death in patients with triple-negative breast cancer. Also high c-Met the expression was found more frequently in high grade and T1-2 tumors. PTEN loss was seen more frequently in those with lymphovascular invasion; and basaloid tumor characteristics tended to be more metastatic to the lymph nodes.

KEY WORDS: Triple-negative breast cancer, CK5/6, PTEN, c-Met

GİRİŞ ve AMAÇ

Meme kanseri Dünya’da kadınlar arasında en sık görülen kanserdir ve kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %16’ini oluşturmaktadır. Meme kanserinde aynı histopatoloji ve klinik evredeki tümör seyri farklı olabilmektedir. Bu tümörlerde moleküler düzeyde farklılıklar olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu moleküler ve klinik farklılıklar meme kanserinde tedavilerin bireyselleşmesine neden olmaktadır.

İmmunhistokimyasal yöntemlerle meme kanseri dört alt tipe ayrılmaktadır ve bunlardan en kötü prognoza sahip olan bazaloid tip meme kanseridir. Triplet negatif diye adlandırılan ÖR, PR ve HER-2 negatif özellikler gösteren grubun önemli bir kısmı bazaloid özellikler göstermektedir. Tüm meme kanserlerinin %15’i ve triplet negatif grubun da %70’i bazaloid meme kanseridir.

Bazaloid meme kanseri klinik olarak daha erken dönemde nüks etme eğilimindedir ve özellikle beyin metastazı riskinin non–bazaloid tipe göre daha fazla olduğu iddia edilmektedir. Bu bulgular triplet negatif meme kanserli hastalarda moleküler bazı farklılıkların nüks üzerine etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF) reseptörü olan c-Met, bir tirozin kinaz reseptörüdür. c-Met sinyal yolu birçok kanser türünde önemli rol alır. Özellikle kanser hücrelerinin invazif olması ve metastatik karakter kazanmasında oldukça etkilidir. Meme kanseri gibi çeşitli kanserlerde HGF ve c-Met’in over-ekspresyonuna veya c-Met’in konstitütif aktivasyonuna rastlanılmıştır.

PTEN tümör baskılayıcı gendir ve hücrenin büyümesi, yaşamı, çoğalması ve migrasyonu gibi çok sayıda hücresel fonksiyonları denetlemektedir. PTEN geninin somatik delesyon ve/veya mutasyonları bazı tümör tiplerinde oldukça sık görülmektedir.

Çalışmamızda triplet negatif meme kanserli hastalarda bazı biyobelirteçlerin (PTEN, c-Met, CK5/6) sağkalım ve nüks üzerine etkisini ve diğer histopatolojik tümör özellikleriyle ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

I-EPİDEMİYOLOJİ:

Meme kanseri Dünya’da kadınlar arasında en sık görülen kanserdir. Avrupa’da 2007 yılı sonuçlarına göre 89012 meme kanserine bağlı ölüm ve 2012 yılında ise 88101 tahmini ölüm bildirilmiştir. Kadınlar arasında ilk sırada olup kansere bağlı ölümlerin %16’sından sorumlu olduğu bildirilmiştir. Afrika kökenli Amerikalı kadınlarda kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde 2013 yılı için 27060 yeni vaka ve 6080 meme kanserine bağlı ölüm olacağı tahmin edilmektedir (1). Ülkemizde yapılan bir çalışmada da meme kanseri kadınlarda birinci sıklıkta görülmektedir (2). Her 9 kadından biri ömrü boyunca meme kanseri olmaktadır.

II-MEME KANSERİNDE ETYOLOJİ:

Meme kanserinde etiyoloji tam olarak ortaya konamamıştır. Genetik, çevresel, hormonal faktörler suçlanmaktadır.

A-Genetik etkenler

Ailede meme kanseri varlığı, kişide meme kanseri gelişme riskini artırmaktadır. Annesinde ve kız kardeşinde meme kanseri varsa, risk 15 kat artmaktadır. Tüm meme kanserlerinin %5-10 kadarını herediter meme kanserleri oluşturmaktadır. Bu grubun %21-40 kadarından BRCA-1 ve 2 genlerinde oluşan mutasyonlar sorumludur. BRCA-1 tümör supresör genidir, kromozom 17q21’de lokalizedir ve otozomal dominant geçiş göstermektedir. BRCA-2 geni ise 13. kromozomda yerleşmiştir. Germline mutasyon taşıyıcısı olan kadınlarda yaşam boyu meme

kanseri gelişme riski %50-85 iken, over kanseri gelişme olasılığı ise %12-60 olarak bildirilmektedir. BRCA-1 mutasyonuna sahip kadınlarda gelişen meme kanserleri karakteristik olarak erken yaşta görülme özelliğinde olup, genellikle triplet negatif ve kötü diferansiye histopatolojik özellik gösterirler. Prognozları da kötüdür (3). p21 ve p27 siklin/siklin bağımlı kinaz (CDK) kompleksinin inhibitörleridir ve p27 proliferasyon olmayan hücrelerde yüksek seviyededir, seviyesi düştüğünde siklin E düzeyinde artış neticesinde hücreler S fazına girmekte ve sonuçta da hücre mitojenik sinyallerle proliferasyon olmaktadır. Yüksek siklin E ve düşük p27 tümörlerde kötü prognostik değer taşır. Ayrıca bir tümör supresör geni olan p53 mutasyonları meme kanserlerinde %20-50 oranında görülmektedir ve bu mutasyon özellikle Li-Fraumeni sendromu gibi kalıtsal meme kanserlerinde sıkça görülmektedir. Kalıtsal geçişi gösterilen Cowden sendromlarının bir parçası olarak da meme kanseri görülmektedir.

B-Endokrin faktörler

Erken menarş, geç menopoza, az doğum yapma veya doğum yapmama, doğum yaşının ileri olması gibi doğurganlıkla ilişkili özelliklerle meme kanseri arasında ilişki kurulmuştur. Ayrıca, endojen ve ekzojen hormonal etmenler de önemli bir yer tutmaktadır. Östrojen maruziyetinin artışı ile meme kanserinin gelişme oranı artmaktadır. Postmenopozal dönemde ekzojen östrojen yerine koyma amacıyla kullanımıyla bu risk 10 yıl için 1,3 kat olarak bulunmuştur. Genç kadınlarda oral kontraseptif kullanımıyla 10 yılda meme kanseri gelişimi %36 artmaktadır (4).

C-Çevresel faktörler

Vücut ağırlığı, boy, yağdan zengin beslenme, gıdalardaki vitamin miktarı ve içeriği, selenyum, alkol ve sigara kullanımı, kafein, elektro manyetik dalgalar, egzersiz gibi faktörler değerlendirilmiş ve bu konuda yapılan çalışmalar kesin bir sonuç vermemiştir.

D-Memenin benign lezyonları

Özellikle atipik hiperplazi riski artırmaktadır.

E- Radyasyon maruziyeti

Kırk yaşından önce tanı ve tedavi amaçlı iyonize radyasyona maruziyeti ile meme kanseri riskinde artış görülmektedir. Özellikle 10-14 yaş grubu arasında lenfoma tedavisi amacıyla göğüs duvarına radyasyon almak ileri yaşlarda meme kanseri gelişme riskinde artışa neden olmaktadır (5).

F-Diyet ve Çevresel faktörler

Meme kanseri vakalarının %25'inin obez ve sedanter hayat tarzına bağlı olduğu

düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, meme kanser riskinin fiziksel egzersizin az olduğu ancak yüksek kalorili ve proteinlerden zengin olan beslenme şekli ile arttığı gösterilmiştir.

G-Büyüme faktörleri ve reseptörleri

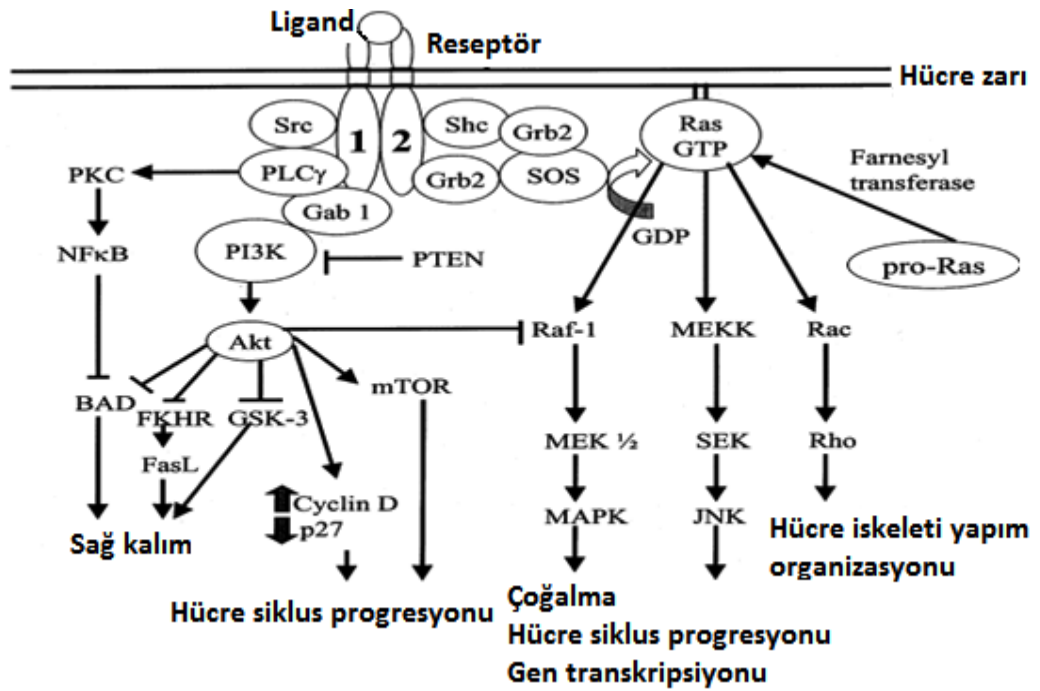
Hücrede kansere yol açan değişimlerin büyüme faktörü sentezinde artış ya da büyümeyi inhibe eden faktörlerin sayısında azalmaya bağlı olduğu iddia edilmiştir. Başlıca büyüme faktör aileleri EGF (Epidermal Growth Factor), TGF (Transforming Growth Factor), IGF-I (Insulin-like Growth Factor-I), IGF-II (Insulin-like Growth Factor-II), PDGF (Platelet Derived Growth Factor) ve FGF (Fibroblast Growth Factor) aileleridir. Bu faktörlerin bağlandığı reseptör ailelerinin en önemlileri HER veya EGFR ailesi olarak bilinen reseptörlerdir. EGFR ailesi hücre membranında monomer olarak bulunan 4 adet reseptörden oluşur. Bunlar HER-1, HER-2/neu, HER-3, HER-4 olarak isimlendirilir. Reseptörlerin hepsi hücre dışında yer alan bir ligand bağlayıcı bölüm lipofilik bir transmembran bölümü ve tirozin kinaz (TK) içeren bir sitoplazmik bölümden (HER-3 hariç) oluşur. Ligand olmayan tek reseptör HER-2'dir (6). Ligandlar bağlandıklarında reseptörler birbirleriyle homo veya heterodimer oluştururlar ve aktive olan reseptörün hücre içinde bulunan bölümündeki TK fosforillenir. Sonuçta nükleustaki transkripsiyon faktörlerine ulaşan bir ileti yolu çalışmaya başlar. Bu sinyal yolları, hücrede eksprese olan reseptörlerin tipi ve sayısının yanı sıra ligandın türü ve sayısına göre çeşitlilik gösterir. Tüm HER molekülleri birbirleriyle de kompleks yapabildiklerinden toplam on kombinasyon oluşabilir. HER-3 hariç hepsinin TK aktivitesi vardır. Ligandsız olan HER-2, gen amplifikasyonuna bağlı olarak hücre membranında fazlaca eksprese edildiğinde kendiliğinden dimerize olup sinyal ileti yolunu uyarabilir. Kanserlerin çoğunda HER-2'ye eşlik eden ikinci reseptör HER-1'dir. HER-1 ekspresyon artışı veya amplifikasyonu ÖR ile ters orantılıdır. HER-1 ekspresyonu invazif duktal karsinomda özellikle nod negatiflerde kötü prognozla ilişkilidir (49). HER-2'nin aksine HER-1'in artışı ortamda ligand yoksa hücrede uyarı yapmaz. HER-2'nin yer aldığı dimer kompleksleri, diğer HER komplekslerine göre daha aktiftir (7). HER-2 pozitif DKİS (duktal karsinoma insutu) hastalarını kapsayan bir pilot çalışmada hastaların üçte ikisinde eş zamanlı HER-3 ekspresyonu saptanmıştır. Asıl etkisini fosfatidil-inozitol-3-kinaz (PIK3) aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir.

Dimerizasyon sonrası reseptörlerin TK'ları fosforillenir ve böylece pek çok enzimin bağlanabileceği bölgeler açığa çıkar. Bunlara bağlanan enzim ve proteinler bir sinyal

ileti zincirini başlatır. İleti en son nükleer transkripsiyon faktörlerine ulaşarak proliferasyon, anjiyogenez ve apoptoz gibi önemli olayları tetikler.

III-MEME KANSERİNDE EGFR YOLU

EGFR tarafından başlatılan en önemli iki yol PI3K ve mitojenlerle aktiflenen protein kinazdır (MAPK). Sitozoldeki çeşitli sinyal ileti yolları EGFR yolunu çeşitli basamaklarda uyarabilir veya engelleyebilir. Sonuçta ilerleyen sinyalin net etkisi hücre içindeki sinyal ileti yolu arasındaki etkileşime bağlıdır. Şekil 1’de EGFR sinyal ileti yolunun kısa özeti sunulmuştur.



Şekil -1: EGFR sinyal ileti yolu

Reseptörlerin hücre içi bölümleri hangi alt ileti yollarının uyarılacağını belirler. Örneğin HER-1 hücre içi kısmında PI3K için bağlanma bölgesi olmadığından diğer EGFR'lere göre daha zayıf PI3K aktivasyonuna yol açar (8). Belli başlı saptanan yollar ve özellikleri aşağıda özetlenmiştir:

a) Ras–Raf–MAPK yolağı: Hücrede büyüme, yapısal organizasyon, farklılaşma ve apoptozisde rol oynarlar. Hücre içi ve dışı sinyallerle uyarılabilirler. Bu basamaktaki bir mutasyonda, sinyal kesilse de kontrolsüz proliferatif uyarılar devam eder. Mutasyona uğramış aktive Ras proteinleri insan kanserlerinin %30'unda saptanmıştır. MAPK yolağı büyüme faktörleri, tümör oluşumunu kolaylaştırıcı

etkenler ve mitojenlerle aktive edilir. Diğer Ras sistem yolakları ise hormonlar, inflamatuvar sitokinler ve çeşitli stres stimülanlarıyla uyarılırlar. Meme kanserinde ÖR+ hastalarda endokrin direncinin gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır (9).

b) PI3K–Akt yolağı: PI3K erbB reseptörü için özellikli bağlanma bölgesi olan ve katalitik subünit içeren bir kinazdır. Malign transformasyonun birçok basamağında etkilidir. Proliferasyon artışı, metastaz, invazyon, anjiyogenez, büyüme ve hücre sağkalımının düzenlenmesinde görev alır. PI3K hücre yüzeyindeki reseptörler (TK aktivitesi olanlar), tirozinle fosforillenmiş proteinler (IRS-insülin regulated substrate) ve Ras proteini tarafından aktive edilir. Sitozolde yer alan Akt, PDK1, PDK2 RAS gibi proteinlerin aktive edilmesinde rol oynar. Aktifleşen Akt, apoptozis (p21, p27, NF-kB, kaspazlar ve BAD) ve siklin D gibi hücre siklusunun progresyonunda görevli proteinlerin fonksiyonlarını düzenler. Akt 2 ve Akt 3 meme kanserinde tesbit edilmiştir (10). PI3K, EGFR sinyal ileti yolunun bir alt yolağı olan Ras-Raf-MAPK ile de ilişkilidir. PI3K hücrede Akt aracılığıyla proliferasyon, büyüme, apoptozis gibi birçok fonksiyonu düzenler.

c) PTEN: (Phosphorylation of the Tumor Suppressor Phosphatase and Tensin Homologue) Tirozin fosfataz olarak bilinen tümör baskılayıcı bir proteindir. PI3K yolağındaki 3-fosfoinozidleri yıkar. Birçok kanser türünde PTEN geninde oluşan mutasyon veya delesyon, PTEN inaktivasyonuna ve PI3K birikimine neden olur; böylece hücrel aktivasyon artar. Cowden Sendromunda, PTEN aktivite kaybı söz konusudur. Hem benign hem de malign tümörler oluşur. Oluşan meme tümörleri daha genç kadınlarda ve bilateral görülme eğilimindedir (11).

d) Fosfolipaz C γ yolağı: Fosfolipaz C γ doğrudan EGFR'ye bağlanıp aktive olmasına neden olur. Ayrıca fosfotidillinositol 4,5-difosfatın hidroliziyle de hücre içi kalsiyum salınımında önemli rol oynayan inositol 1,3,5-trifosfat oluşumunu ve protein kinaz C için kofaktör olan 1,2-diaçilgliserol oluşumunu sağlar. Protein kinaz C aktivasyonu MAPK aktivasyonunu gerçekleştirir (12).

e) STAT proteinleri: Bunlar sinyalin güçlenmesi ve dönüşümünde rol alırlar. Memeli hücrelerinde Stat 1-2-3-4-5a-5b-6 olarak adlandırılan bir aileye sahiptirler. Normal hücrel süreçte embriyonik gelişim, organogenezis, immun fonksiyon, hücre farklılaşması, büyüme ve apoptozisde görevlidirler. Normal koşullarda aktivasyonu geçici ve kısa sürelidir. Stat1, Stat3 ve Stat5 özellikle kanser hücrelerinde aktivasyonu saptanan proteinlerdir. Meme gelişiminde ve karsinogenezisinde Stat3 ve Stat5'in önemli rol oynadığı savunulmaktadır (13).

Aktive olan EGFR anti-apoptotik bir protein olan Bcl-2'nin yapımını artırır. Bcl-2 ise, mitokondri yerleşimli olan ve DNA hasarıyla indüklenen BAX proteinini baskılayarak apoptozisi inhibe eder. MMP (Matriks metalloproteinaz) ve VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü) gibi büyüme faktörlerinin sentezi de EGFR aracılığıyla artar. Birçok kanser türünde, EGFR sinyal ileti yolağıyla ilişkili faktörlerin (ligand, protein, reseptör gibi) normalden fazla bulunduğu veya fonksiyonunun arttığı veya yıkımının azaldığı gösterilmiştir. Bu da hücrelerin proliferasyon, anjiyogenez, invazyon, metastaz potansiyelini artırmaktadır.

Meme kanserinde HER-1 ekspresyon oranı literatürde %14-91 olarak verilmektedir. Bu geniş aralık kullanılan metot farklılığına bağlanmıştır. EGFR artışı gen amplifikasyonundan çok artmış reseptör sentezine bağlıdır. Yapılan çalışmalar özellikle mutant EGFRvIII'ün meme, beyin, akciğer, prostat ve mide kanserlerinde artmış ekspresyonunun gösterildiği, malign olmayan hücrelerde ise EGFRvIII'ün saptanamadığı yönündedir (14).

ÖR negatif meme kanseri hücrelerinde, östrojenin yapacağı büyüme etkisi olmayacağı için EGFR ayrıca önem kazanmaktadır. EGFR ekspresyonu steroid reseptör ekspresyonuyla ters ilişkilidir (15). Hormon reseptör pozitiflere oranla negatiflerde 2 kat daha yüksek EGFR pozitifliği saptanmıştır. EGFR ileti yolunun fazla çalışmasının kötü prognostik bir faktör olduğu, metastatik ve invazif potansiyelin yanı sıra endokrin tedavi dirençle ilişkili olduğu, daha az diferansiye ve daha yüksek gradlı tümör gelişimine neden olduğu bildirilmiştir. Diğer bir ifadeyle, EGFR aktivitesinde artış, hücre siklusunun progresyonu, anjiyogenezin artışı, apoptozisin azalması, tedaviye yanıtın azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (16).

IV-MEME KANSERİNDE SINIFLAMA

Tablo-1: Meme Kanserinde Patolojik Sınıflama

İyi prognostik meme kanserleri	Kötü prognostik meme kanserleri
Tübüler karsinom	İnvazif duktal karsinom
Kribriform karsinom	İnflamatuvar meme karsinomu
Müsinöz karsinom	Taşlı yüzük hücreli karsinom
Papiller karsinom	Karsinosarkom
Adenoid kistik karsinom	Metaplastik karsinom
Düşük dereceli adeno-skuamöz karsinom	
Klasik lobüler karsinom	

Meme kanserinde moleküler sınıflama

Meme duktus epitel hücreleri bazal membrandan stromayla ayrılırlar. Bazal/miyoepitel hücreler heterojen özellik gösterirler. Sitokeratin 5, CK14, CK17, düz kas aktini (SMA), SM miyozin ağır zinciri, kalponin, kaldesmon, kaveolin, laminin, p63, CD10, maspin, 14-3-3 sigma ve S-100 pozitiflerdir. CK5/6 ve CK14 gibi yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) sitokeratinler, bazal tabaka hücrelerinde saptandığı için bazal sitokeratinler olarak bilinmektedirler. Normal meme bazal hücreleri dışında, meme kanserinde %2-18 ve grade 3 benign meme lezyonlarında %25 oranında bu yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratinler saptanmaktadır. Bu nedenle bu meme kanseri grubu bazal/miyoepitelyal fenotip gösteren grup olarak adlandırılır. Bu alt grubun diğer özelliği HR(-) ve HER-2(-) olmasıdır. Stratifiye epitelyum hücrelerinden SMA, miyosin ve nötral endopeptidaz aktivite (CD10) pozitifliği göstermeleriyle ayrılırlar. Luminal epitel hücreler ise karakteristik olarak CK7, CK8, CK18, CK19, MUC1, alfa-6, integrin ve epitelyal hücre adhezyon molekülleri içerirler. Hücre kültüründe miyoepitel ve luminal hücreler uygun koşullarda desteklendiğinde hücrelerin %4'ünün luminal markır CK18'i kaybettiği, %2'sinin ise β 4 integrin, CD10 ve SMA ekspresyon özelliği kazandığı saptanmıştır. Miyoepitel hücreler herhangi bir dönüşüm göstermez (17).

İlk kez 1960'larda Wellings ve ark. yapısal olarak myoepitelyal fenotip özellik gösteren bazaloid alt grubu tanımlamışlardır (18). Çalışmalarda CK5, CK14 ve CK17 eksprese eden tümör hücrelerinin kötü prognoza sahip olduğu ve/veya erken rekürrensle ilişkili olduğu gösterilmiştir (19). CK5/6 pozitif tümörlerin ÖR(-) ve PR(-) özellik gösterdiği ve klinik olarak bunların HER-2(+) tümörlerden farklı bir grup olduğunu ve bunların p53, epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) eksprese ettikleri saptanmıştır (20). CK5/6 ve CK17'nin pozitifliğinin nod negatiflerde tümör boyutu, grad ve ÖR ve HER-2'den bağımsız prediktif faktör olduğu da bildirilmiştir (21).

Grad'ı daha yüksek olan bu tümörler, yüksek mitoz, medullar tümör benzeri yapı, santral nekroz/skar formasyonu, işçi hücre ve skuamoz diferansiyasyon göstermektedir. BMK tanısı için CK5/6, CK14, CK17 veya EGFR pozitifliğinin tanısal yaklaşımda önemini savunan veriler bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda EGFR pozitiflik oranı %50-70 oranında bulunmuştur. Temel kriter olarak CK5/6 ve/veya EGFR'nin pozitifliğinin gerekliliği önerilmektedir (22).

Duktal karsinomlardan farklı bir grup olarak düşünölen metaplastik karsinom, immun fenotipik olarak bazal markır pozitifliğı ve epitelyal veya mezenkimal diferansiasyonla karakterize bir antitedir. Bazaloid tümörlerin bu spektrumun bir parçası olduğı düşünölmektedir.

Meme kanseriyle ilişkili konsorsiyum tarafından bazaloid özelliğın BRCA-1 mutasyonu ile ilişkili olabileceğı bildirilmekte olup, seçilmiş vakalarda BRCA-1 testinin yapılması önerilmektedir. Transkriptomik ve immunhistokimyasal analizlerde BRCA-1 germline mutasyonu ile BMK'nun benzer profil gösterdiği saptanmıştır. Genç yaşta görölen bazaloid/medöller morfolojik ve immunfenotipik özellik ailesel yatkınlık olabileceğı yönünde uyarıcı olmalıdır (23). Bazaloid tümörler, daha genç hastalarda görölmekte ve daha agresif seyretmektedir. BMK klinik olarak daha erken dönemde özellikle ilk 5 yılda nüks etme eğilimindedir. Yapılan çalışmalarda özellikle beyin metastazı riskinin diğer grad 3 non-bazal meme kanseri alt gruplarından daha fazla olduğı bildirilmiştir. İlk 5 yılda nüks gelişmeyen hastalarda prognoz daha iyi olduğuna dair veriler mevcuttur. Bu bulgular, BMK grubu içinde de iyi ve kötü prognostik gruplar olabileceğini düşöndürmektedir.

Moleküler ve immunhistokimyasal sınıflama:

Günümüzde meme kanseri immunhistokimyasal çalışmalarda moleküler olarak 4 grupta incelenmektedir (24). Yapılan çalışmalarda bu grupların prognozunu farklı olduğı gösterilmiştir. Bazaloid ve HER-2(+) grubun en kısa hastalıksız ve genel sağkalıma sahip olduğı, luminal özellik taşıyan tümörlerin ise daha iyi prognoza sahip olduğı bildirilmiştir (22). Bazı çalışmalar luminal B alt grubunun daha yüksek grada sahip olup, daha agresif gidiş gösterdiği bildirilmiştir.

Tablo-2: Meme kanseri moleküler sınıflaması

Grup	Moleküler Sınıflama	İmmunhistokimyasal sınıflama
1	Luminal A	Luminal A (ÖR+ ve HER-2-) ,düşük grad
2	Luminal B	Luminal B (ÖR+ ve HER-2±) yüksek grad
3	HER-2+	HER-2+ (ÖR ve PR-)
4	Basal-like	Basal-like/bazal/bazaloid (ÖR-PR-HER-2-, CK5/6 ve/veya EGFR pozitifliğı)

V-EVRELEME

Evreleme sisteminde tümörleri sınıflamak için kullanılan kriterler, tümör boyutu (T), aksiller lenf nodlarına (N) ve uzak bölgelere yayılımdır (M). Tümör evresi meme kanserli hastalarda tedaviye yön veren önemli bir prognostik faktördür (25).

Primer Tümör (T): Patolojik ve klinik sınıflamalarda primer tümör tanımlaması aynıdır.

Tablo-3: Meme kanseri T evrelemesi

Primer Tümör	Alt grup	Açıklama
TX		Primer tümör saptanamamaktadır
T0		Primer tümör yok
Tis		Karsinoma in situ
T1	Genel	Tümörün en büyük boyutu 2 cm veya daha az
	T1mic	En büyük boyutu 0.1 cm veya daha az olan mikroinvazyon
	T1a	En büyük boyutu 0.1 cm'den büyük olan ancak 0.5 cm'yi geçmeyen tümör
	T1b	En büyük boyutu 0.5 cm'den büyük olan ancak 1 cm'yi geçmeyen tümör
	T1c	En büyük boyutu 1 cm'den büyük olan ancak 2 cm'yi geçmeyen tümör
T2		En büyük boyutu 2 cm'den büyük olan ancak 5 cm'yi geçmeyen tümör
T3		En büyük boyutu 5 cm'den büyük olan tümör
T4	Genel	Herhangi bir boyutta ancak (a) göğüs duvarına veya (b) cilde direkt yayılım
	T4a	Pektoral kasa ulaşmamış göğüs duvarı yayılımı
	T4b	Meme cildinde ödem veya ülserasyon veya aynı memede satellit deri nodülleri
	T4c	T4a ve T4b birlikte
	T4d	İnflamatuar karsinom

Bölgesel Lenf Nodülleri (N) Klinik Sınıflandırma:

Tablo-4: Meme kanseri N evrelemesi

Lenf nodülü	Alt grup	Açıklama
NX		Bölgesel lenf nodları saptanamamaktadır
N0		Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1		İpsilateral lenf nodlarına metastaz (fikse değil)
N2	Genel	Fikse veya gruplaşmış ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz veya klinik olarak belirgin aksiller lenf nodu metastazı olmadığı durumlarda, klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal lenf nodlarında metastaz
	N2a	Fikse ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz
	N2b	Sadece klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmadığında, klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal nodlarda metastaz

N3	Genel	Aksiller lenf nodu tutulumu olsun ya da olmasın ipsilateral infraklavikular lenf nodları metastazı veya klinik olarak belirgin ipsilateral internal mammaryal lenf nodları metastazı ile birlikte klinik olarak belirgin aksiller lenf nodu metastazı; veya aksiler ya da internal mammaryal lenf nodu metastazı olsun ya da olmasın ipsilateral supraklavikular lenf nodlarında metastaz
	N3a	İpsilateral infraklavikular lenf nodlarında metastaz
	N3b	İpsilateral internal mammaryal lenf nodlarında veya aksiller lenf nodlarında metastaz
	N3c	İpsilateral supraklavikular lenf nodlarında metastaz

Uzak metastaz (M):

Tablo-5: Meme kanseri M evrelemesi

Uzak metastaz	Açıklama
MX	Uzak metastaz bulunamıyor
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Evreleme (TNM)

“The American Joint Committee on Cancer” 2010 yılında aşağıdaki sınıflamayı önermiştir (25).

Tablo-6: Meme kanseri TNM evrelemesi

Evre	TNM Sınıfı
Evre 0	Tis N0 M0
Evre I	T1 N0 M0
Evre IIA	T0 N1 M0, T1 N1 M0, T2 N0 M0
Evre IIB	T2 N1M0, T3 N0 M0
Evre IIIA	T0 N2 M0, T1 N2 M0, T2 N2 M0, T3 N1 M0, T3 N2 M0
Evre IIIB	T4, herhangi N M0. Herhangi T N3 M0
Evre IV	T ve N ne olursa olsun M1 içeren tüm hastalar

VI-MEME KANSERİNDE PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Hastalıksız sağkalım (HSK) ve genel sağkalım (GSK) ile ilişkili her türlü parametre prognostik faktör olarak adlandırılır. Prognostik faktörler bir tümörün doğal seyrini önceden belirlemek amacıyla kullanılır.

A-Tümöre Bağlı Özellikler

Aksiller nod tutulumu: Klinik olarak tespit edilebilen meme kanserli hastaların %50'sinde aksiller nod tutulumu saptanır. Aksiller lenf nodlarında metastatik tutulum, primer meme kanserli hastalarda bilinen en güçlü prognostik faktördür.

Birçok klinik çalışmada hastalar nod(-), 1-3 nod(+) ve >4 nod(+) olarak gruplanmakla birlikte, tutulan nod sayısı ile klinik seyir arasında doğrudan ilişki olduğu belirlenmiştir (26).

Tümör büyüklüğü: Nod negatif hastalık alt grubunda en güçlü ve tutarlı prognoz belirleyici tümör büyüklüğüdür. Tümör çapı ve sağkalım arasında ters bir ilişki vardır. Tümör çapı, tutulan aksiller lenf nodu sayısı ile korelasyon göstermekle birlikte bağımsız olarak da önemli prognostik faktördür (27).

Tümör gradı: Nükleer grad, tümörün çekirdek özelliklerini ve atipi derecesini yansıtır. Histolojik grad hücresel ve dokuyla ilişkili kriterlere dayanır. Grad 1 iyi, grad 2 orta ve grad 3 kötü derecede diferansiye olmuş tümörleri tanımlar (28).

Lenfovasküler ve perinöral invazyon: Primer meme tümörünün etrafındaki lenfatiklerin, kan damarlarının ve perinöral dokunun invazyonunun prognostik önemi konusunda da çalışmalar mevcuttur. Meme tümörlerinin üçte birinde lenfatik invazyon mevcuttur. Lenfatik invazyon kötü bir prognostik faktördür. Birçok çalışmada lenfatik invazyon, lenf nodu pozitifliğini arttırıcı bir risk faktörü olarak bildirilmiştir.

Kan damarı invazyonu, 4 veya daha fazla lenf nodu tutulanlarda veya lenfatik invazyon olanlarda daha sık görülür. Perinöral invazyon da çoğunlukla lenfatik invazyonla birlikte bulunur (29).

Östrojen ve progesteron reseptörleri (ÖR ve PR): Uzun yıllardan beri ileri evre meme kanserinde steroid reseptör durumu tedavi kararlarını vermede kullanılmaktadır. Büyük çalışmalarda ÖR pozitif hastalarda hastalıksız sağkalımın ÖR negatif hastalara göre daha uzun olduğu gösterilmiş olup, “San Antonio” ve “National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project” verilerine göre hastalıksız sağkalım avantajı 5 yılda %10’dur. Progesteron reseptörü teorik olarak östrojen uyarılması ile oluştuğu için PR, ÖR işleme yolunun sağlam olduğunun bir göstergesidir. Çok değişkenli analizlerde ÖR veya PR klinik seyirle ilişkili bulunmaktadır. Hem ÖR, hem de PR düzeyleri proliferasyon ölçümleri ile ters ilişkilidir. ÖR düzeyleri yaş ile doğrusal olarak artar; PR düzeyleri ise daha çok menopoz durumu ile ilişkilidir (30).

Proliferasyon ölçümleri: Meme kanserinin gelişiminde büyüme fraksiyonu ya da yüksek proliferasyon yeteneği gösteren mitotik indeks, timidin işaretleme indeksi ve Kİ67 yüksek oranları olumsuz prognostik faktörlerdir. Ek olarak diploid tümörler, anaploid DNA dağılımına sahip tümörlerden daha iyi prognoza sahiptirler (31).

HER-2: HER-2 normal meme epitelyal ve miyoepitelyal dokusunda %15–30 oranında eksprese olur. Diğer prognostik faktörlerden bağımsız ve olumsuz bir prognostik faktördür.

B-Hastaya Ait Özellikler

Yaş, ırk, menopoz durumu gibi hastanın bazı özelliklerinin prognozu etkilediği gösterilmiştir.

VII-KANSER ve PTEN ONKOGENİ

PTEN geni hücre çekirdeği dışında yer alan tümör baskılayıcı gen olup hücrenin büyümesi, yaşamı, çoğalması ve migrasyonu gibi çok sayıda hücresel fonksiyonları denetlemektedir. PTEN geni 10q23 kromozomal bölgede yer almaktadır. Lipid fosfataz etkisi ile fosfoinozimid-3 kinaz/ protein kinaz B (PIP3K/AKT) sinyal yolunun ikincil habercisi olan fosfotidil inositol 3,4,5 trifosfatın (PIP 3) D3 konumundaki fosfatı ayırarak etkide bulunur.

PTEN geninin somatik delesyon ve/veya mutasyonları bazı tümör tiplerinde oldukça sık görülürken, bazı tümör tiplerinde ise daha az sıklıkla görülmektedir. Somatik mutasyonun sık olarak görüldüğü tümörler endometrium kanseri, malign melanom, meme kanseri, yüksek gradlı glioblastom, prostat kanseridir (32).

PTEN, lipid fosfataz ve protein tirozin fosfataz aktiviteli önemli bir tümör supresör geni olup ekstraselüler matriks ve hücre etkileşimlerinin negatif düzenleyicisidir. Meme kanserlerinde PTEN kaybı ile ÖR ve PR ekspresyonunda azalma ve anöploidi ile korele bulunurken, hastaların sağkalım süreleri ile ilişki gözlenmemiştir. İleri evre tümörler ve metastatik hastalıkta PTEN'in biallellik kaybı söz konusudur. Meme kanserli 151 hastayla yapılan bir çalışmada %48 oranında PTEN protein ekspresyonunda kayıp saptanmıştır. Bu çalışmada hastalığa bağlı ölüm, evre, lenf nodu metastazı ve tümör gradı ile PTEN kaybı arasında korelasyon gözlenmiştir. Ayrıca ÖR ve PR kaybı arasında da korelasyon saptanmıştır (33).

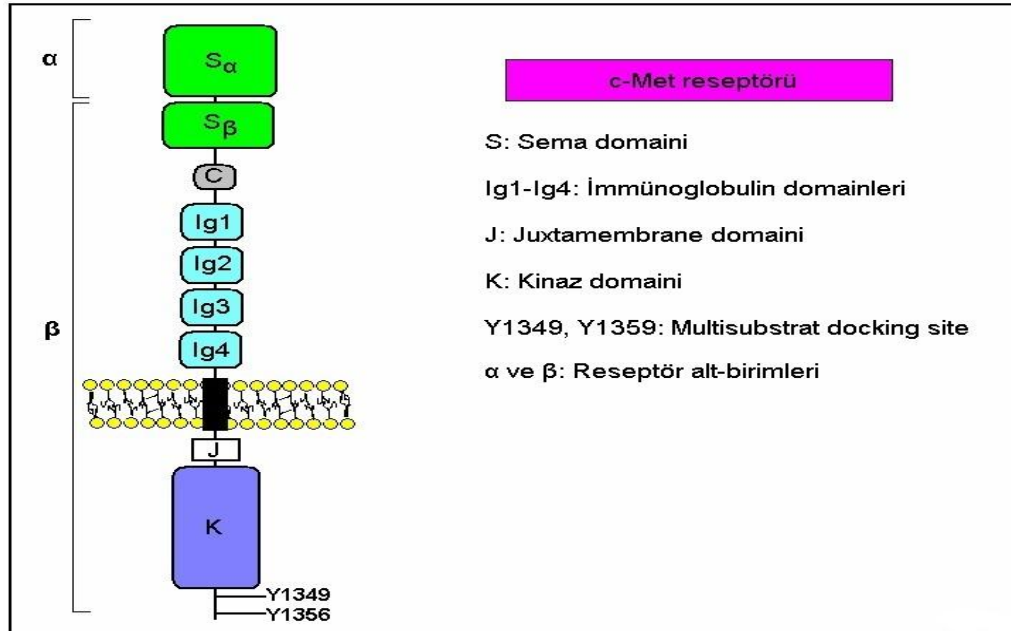
VIII-HGF-C-MET SİNYAL İLETİM YOLU ve KARSİNOGENEZİS:

Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF) reseptörü olan c-Met, bir tirozin kinaz reseptörüdür ve HGF uyarımı ile birlikte çeşitli hücre tiplerinde proliferasyon, migrasyon ve morfolojik değişiklikleri aktive eder. c-Met sinyal yolu ayrıca birçok kanser türünde önemli roller oynar. Özellikle kanser hücrelerinin invazif olması ve metastatik karakter kazanmasında oldukça etkilidir. Çeşitli kanser türlerinde HGF ve

c-Met'in over-ekspresyonuna veya c-Met konstitütif aktivasyonuna rastlanmıştır (34). c-Met sinyal yolunun proliferasyon, adezyon, invazyon, morfogenez gibi birçok biyolojik yanıtları indükleyebilmesinde, farklı sinyal yollarıyla yaptığı karşılıklı haberleşmede önemli rol oynar. Bu karşılıklı haberleşmelerin bir kısmı tanımlanmıştır, ancak özellikle metastaza giden süreçte hangi sinyal yollarının ve moleküllerinin işe karıştığı tam olarak bilinmemektedir.

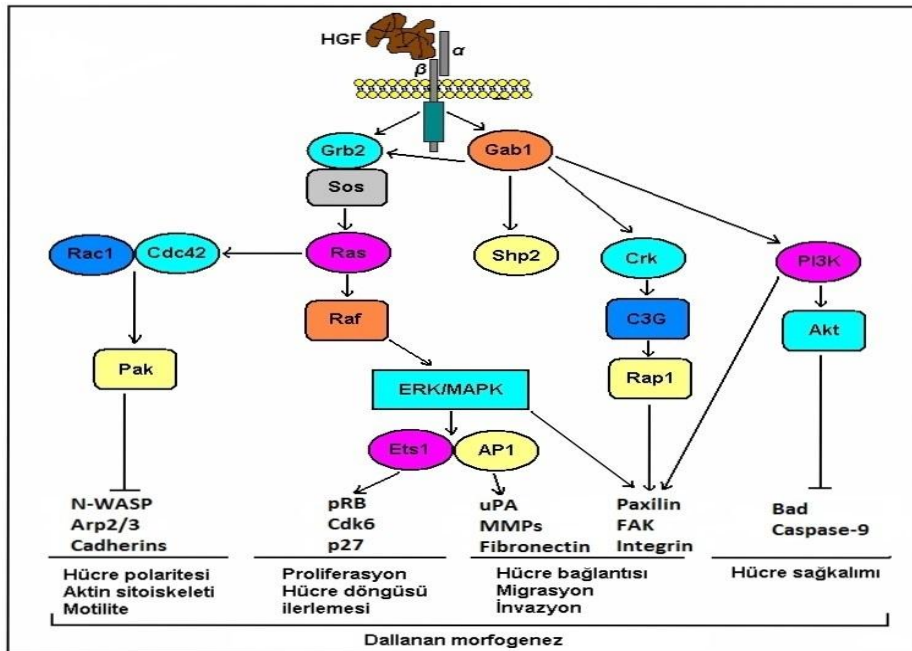
HGF'nin pleotropik etkileri gelişim, organogenez ve doku rejenerasyonu sırasında oldukça önemlidir. Uygunsuz HGF sinyalleri birçok insan kanserlerinde bulunur ve HGF'in proteaz üretimi, hücre disosiasyonu ve motilite programlarını başlatma yeteneği tümör metastazıyla bağlantılı olarak bulunmuştur.

Bir tirozin kinaz reseptörü olan c-Met, tıpkı HGF gibi disülfid bağlı bir heterodimer yapısındadır ve bu heterodimer öncü, tek bir polipeptidin proteolitik yıkımından oluşur (Şekil-2). Heterodimerin α -zinciri ekstrasellüler bölgede bulunur; β -zinciri ise ekstrasellüler bölgenin geri kalanını, transmembran bölgeyi ve intrasellüler kinaz parçasını kapsar. α -zincirinin ve β -zincirinin ilk 212 rezidüsünün (Sema domainleri) ligand bağlanması için gerekli olduğu bulunmuştur. c-Met'in ekstrasellüler bölgesinin geri kalanı ise küçük bir sisteince zengin bölge ve dört immunoglobulin parçası içerir.



Şekil-2: HGF reseptörü c-Met'in yapısı ve bölgelerinin gösterimi.

Erişkinde ise c-Met sinyalleri çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde gösterilmiştir. Örneğin karaciğer, böbrek, kalp gibi dokularda oluşan yaralanmalar sonucunda plazma HGF düzeyleri artar ve HGF ifadesi sadece hasarlı dokuda değil diğer dokularda da yükselir. Bu durum HGF regülasyonunun doku hasarına karşı fizyolojik bir savunma yanıtı olduğunu gösterir. İlginç bir şekilde interlekin-1 ve 6 gibi sitokinler HGF transkripsiyonunu aktive ederler. HGF/SF etkili bir karaciğer mitojenidir, ortalama karaciğer boyutunu ve karaciğer rejenerasyonunu artırır. HGF'nin diğer bir aktivitesi de özellikle kanserde önem taşıyan anjiogenezdır (35). Birçok kanserdeki c-Met aktivasyonu ligand-bağımlı otokrin ya da parakrin mekanizmalarla gerçekleşir. c-Met otokrin aktivasyonu osteosarkomalar ve glioblastoma multiformede, parakrin etki ise meme kanseri, prostat kanseri ve akciğer kanserinde görüldüğüne inanılmaktadır. Ligand-bağımsız aktivasyon ise reseptörün yüksek seviyelerde aktivasyonu ile oluşur. Aktive Ras gibi diğer onkogenler de transkripsiyonel mekanizmalarla c-Met over-ekspresyonunu gerçekleştirebilirler. Kısacası birçok insan kanserinin gelişiminde c-Met ve HGF/SF önemli rol oynarlar, ancak kanser için tek başlarına bir gösterge değildirler (36) Şekil-3'de c-Met/HGF karsinogenezis yolağı gösterilmiştir.



Şekil-3: c-Met sinyal iletim yolunun özet gösterimi. HGF uyarılmasıyla başlayan c-Met sinyal yolunda rol alan önemli moleküller ve bu moleküller aracılığıyla farklı sinyal yollarına giden dallanmalar gösterilmektedir.

IX-MEME KANSERİNDE TEDAVİ

Cerrahi

Meme kanserinin erken evrelerde küratif tedavisi cerrahi rezeksiyondur. En sık kullanılan yöntem modifiye radikal mastektomidir. Son yıllarda meme koruyucu cerrahi gittikçe önem kazanmaktadır. Genel sağ kalım bakımından mastektomi ile meme koruyucu cerrahi ve radyoterapi uygulanan erken evre meme karsinomlu olgular arasında anlamlı bir fark yoktur (37). Metastatik evrede ise yaklaşım palyatiftir. Uzak organ metastazı yapmış meme kanserinde, bugün uygulanan tedavi yaklaşımları ile kür elde etme şansı yoktur.

Radyoterapi

Meme kanserinde radyoterapi lokal kontrolü artırmaktadır. Hem meme koruyucu hem de lokal ileri tümörlere multidisipliner yaklaşımda önemli bir tedavi modalitesidir. Mastektomili hastalarda kemoterapinin tamamlanmasını takiben radyoterapi uygulanması önerilmektedir.

Hormonal Tedavi

Hormon reseptör pozitifliği saptanan hastalarda adjuvan tedavide antiöstrojen ajanlarla ya da östrojen sentezinin engellenmesi ile nüks oranları yüksek oranda azalmakta bununla beraber metastatik hastalıkta da hastalar hormonal tedaviden yüksek oranda yarar görmektedir. Tamoksifen, “Gonadotropin-releasing hormone” analogları, aromataz inhibitörleri, selektif östrojen down regülatörü olan fulvestrant en sık kullanılan ajanlardır. Menopoz öncesi dönemde hormon reseptör pozitif hastalarda tamoksifen ve “Gonadotropin-releasing hormone” analoglarının etkinliği gösterilmiştir. Menopoz sonrası dönemde aromataz inhibitörleri (anastrozol, letrozol, eksamestan) ve tamoksifen kullanılabilir. Postmenopozal hastalarda aromataz inhibitörleri adjuvan tedavide tamoksifenden daha etkin bulunmuştur (38). Selektif östrojen down regülatörü olan fulvestrant hormon reseptörü pozitif postmenopozal metastatik meme kanserli hastalarda 500 mg’ı daha etkin bulunmuştur.

Meme Kanserinde Kemoterapi

Adjuvan kemoterapi: Adjuvan kemoterapide amaç, klinik ve radyolojik olarak saptanamayan mikroskobik hastalığı yok etmektir. Son yıllarda meme kanseri mortalitesindeki azalmada adjuvan tedavilerin gelişimine de bağlıdır. Erken evre meme kanserinde %50 ile %95 arasında 5 yıllık sağ kalım sağlanabilmektedir. Özellikle hormon reseptör negatif meme kanserli hastalar adjuvan kemoterapiden daha fazla fayda görmektedir. Adjuvan kemoterapiden elde edilen fayda lenf nodu

durumundan da etkilenmektedir. Lenf nodu pozitif meme kanserli hastalar adjuvan kemoterapiden daha fazla fayda görmektedir. HER-2 durumu da kemoterapi etkinliğinde rol oynamaktadır. HER-2 pozitif hastalarda antrasiklin temelli adjuvan tedaviler siklofosfamid/metotreksat/flourourasil (CMF) rejiminden daha etkili iken HER-2 negatiflerde de benzer etkinlik gözlenmiştir (39). Triplet negatif alt grupta neoadjuvan ve adjuvan tedavide antrasiklin içeren rejimler etkili bulunmuştur (40). Uluslar arası meme kanser araştırma grubunun (BCIRG) yaptığı 001 çalışmasında antrasikline taksan eklemesi nod pozitif triple negatif meme kanserinde daha etkili olduğu gösterilmiştir (41).

Taksanların (dosetaksel ve paklitaksel) antrasiklin temelli tedavilere eş zamanlı veya ardışık olarak eklenmesi de 5 yıllık yinleme oranında %4-7 oranlarında mutlak azalma sağlamıştır. HER-2 pozitif meme kanserli hastalarda IgG1 yapısında HER-2'ye karşı humanize bir monoklonal antikor olan trastuzumabın adjuvan tedaviye girmesiyle yinleme oranlarında azalma sağlanmıştır (42).

Son yıllarda adjuvan kemoterapiden fayda görecekt hastaları belirlemede kullanılacak gen ekspresyonları üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bunlardan biri olan “Oncotype DX” yönteminde 21 meme kanseri ile ilişkili gen araştırılmaktadır. ÖR+, erken evre (evre1-2) ve nod negatif hastalarda kemoterapi verilmesinin hastaya katkı sağlayıp sağlamayacağı konusunda fikir vermektedir. Sonuçta 0-17 düşük risk, 18-30 orta risk ve ≥ 31 ise yüksek risk grubunu oluşturmaktadır. Yüksek riskli grup kemoterapiden fayda görecekt kesimdir. Parafinli tümör dokusundan bakılabilmesi nedeniyle avantajlıdır. Bir diğer genetik test ise 70 gen analiziyle yapılan “Mammaprint” dir. Bu testin dezavantajı ise taze tümör dokusundan bakılabilmesidir. Gen analizi neticesinde hastalar yüksek ve düşük risk gruplarına ayrılmakta ve yüksek risk grubu için adjuvan kemoterapi önerilmektedir.

Metastatik meme kanseri: Metastatik meme kanseri kemoterapiye en duyarlı kanserlerden biridir. Son yıllarda metastatik meme kanserinin kemoterapisi konusundaki gelişmeler ek olarak lapatinib (HER-2 ve EGFR-1 tirozin kinaz inhibitörü), bevasizumab (vasküler endotelyal büyüme faktörüne karşı antikor) gibi hedefe yönelik tedavi ajanları da kullanıma girmiştir (43).

MATERYAL VE METOT

I. Hastalar ve Metot:

Bu çalışmada 2000-2012 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilmiş triplet negatif meme kanserli nüks eden ve etmeyen 97 hasta alındı. Çalışma öncesi Üniversite Etik Kurulu'nun onayı alındı (No:2012/574). Hasta dosyaları retrospektif olarak incelendi. Yaş, cinsiyet, histopatolojik tanı, tanıdaki tümör boyutu, lenf nodu tutulumu, lenfovasküler invazyon durumu, tümör gradı ve patolojik TNM evrelemeleri, nüks-metastaz bulguları, nüks bölgeleri, cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi hikayeleri, adjuvan basamakta kullanılan kemoterapi rejimleri, takip süreleri ve HSK, GSK verileri değerlendirildi. Hastaların tümör dokusu bulunan parafin bloklarından EÜTF Patoloji Ana Bilim Dalı'nda immunhistokimyasal yöntem ile c-Met, PTEN, CK5/6 boyamaları yapıldı.

II. İmmunhistokimyasal analiz:

İmmunhistokimyasal boyamalar için %10 formalin tespiti uygulanmış olan parafin bloklardan 4 mikronluk boyasız kesitler hazırlanarak etüv içinde 60°C'de bir saat bekletildi. Üç defa 5'er dakikalık ksilol ile deparafinize edildi. Bir dakika absolü alkolde bekletildikten sonra 2 defa olacak şekilde 1'er dakika süre ile %96'lık alkolde bekletildi. Çeşme suyu ile bir dakika ve distile su ile de

bir dakika yıkandıktan sonra 10 dakika mikrodalga cihazında retrieval solüsyonda [Tris Edta Buffer (PH:9) :1/10 dilüe] %50 güç seviyesinde bekletildi. Boyama kapalı kutu içinde nemli ortamda yapıldı. Proteaz K enzimi damlatılarak 10 dakika bekletildi. Sonrasında distile su ile 30 saniye yıkandı. Ardından hidrojen peroksidaz damlatılıp 10 dakika bekletildi. Tekrar distile su ile 30 sn yıkandıktan sonra Fosfat Buffer Salin (PBS, PH:7,4) lama 3 kez sıkılarak 3 dakika bekletildi. Sonrasında Ultra V Blok solusyonu damlatılarak 5 dakika bekletildi. Bir damla poliklonal primer antikor damlatıldı ve 120 dakika bekletildi (CK5/6, PTEN, c-Met). PBS tekrar lama 3 kez sıkılarak 3 dakika bekletildi. Streptavidin enzimi damlatıldı ve 20 dakika bekletildi. PBS tekrar lama 3 kez sıkılarak 3 dakika bekletildi. AEC kromojeni damlatılarak 5 dakika bekletildi. Çeşme suyu ile 30 saniye yıkandıktan sonra hematoksilin içinde 2 dakika tutularak zıt boyanma sağlandı. Çeşme suyunda 1 dakika yıkandıktan sonra distile su ile 30 saniye tekrar yıkandı. Lamlar havada kurutuldu ve Aqueous Mounting Medium damlatılıp lamel ile kapatıldı.

III. Kullanılan Primer Antikorlar ve Kontrol Dokuları

- c-Met primer antikoru [Novus Biyologicals NBP1-49808 Met antibody (SP44) , USA], dilüsyon 1:50.
- PTEN antikoru [DAKO Monoclonal Mouse Anti- Human PTEN Clone 6H2.1 Code: M3627, Denmark] dilüsyon 1:100.
- CK5/6 antikoru ise [DAKO Monoclonal Mouse Anti - Human Cytokeratin 5/6 Clone D5/16 B4 Ready to Use Code IR780,Denmark].

Hastalarda kontrol dokuları PTEN için prostat, CK5/6 için mezotelyoma ve c-Met ise meme dokusunda değerlendirildi.

IV. İmmunohistokimyasal Boyama Skorlama Sistemi

c-Met, PTEN için skorlama nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma yaygınlığına göre yapıldı ve 4 kategoriye ayrıldı. CK5/6 için skorlama sistemi de sitoplazmik boyanma yaygınlığına göre yapıldı ve 4 kategoriye ayrıldı. Tablo 7, 8, 9'da skorlama sistemi gösterilmiştir.

Tablo-7: PTEN için skorlama sistemi

Skor	Hücrelerin boyanma özelliği	Rapor
0	Boyanma olmaması	Negatif
1+	Hücrelerin 1-25'sinde boyanma	Zayıf pozitif
2+	Hücrelerin 26-50'sinde boyanma	Orta pozitif
3+	Hücrelerin 50'sinde fazla boyanma	Kuvvetli pozitif

"cut off" değeri >% 25 (44).

Tablo-8: c-Met için skorlama sistemi

Skor	Hücrelerin boyanma özelliği	Rapor
0	Hücrelerin 1-10'unda boyanma	Negatif
1+	Hücrelerin 11-25'inde boyanma	Zayıf pozitif
2+	Hücrelerin 26-50'sinde boyanma	Orta pozitif
3+	Hücrelerin 50'sinden fazla boyanma	Kuvvetli pozitif

"cut off" değeri >% 25 (45).

Tablo-9: CK5/6 için skorlama sistemi

Skor	Hücrelerin boyanma özelliği	Rapor
0	Hücrelerin 5'inden az boyanma	Negatif
1+	Hücrelerin 5-15'inde boyanma	Zayıf pozitif
2+	Hücrelerin 26-50'sinde boyanma	Orta pozitif
3+	Hücrelerin 50'sinden fazla boyanma	Kuvvetli pozitif

"cut off" değeri $\geq$ %5 (46).

V.İstatistik Analizi

İstatistiksel analizler SPSS 18 paket programı kullanılarak yapıldı. CK5/6'nın c-Met ve PTEN ile karşılaştırılması Ki-kare exact yöntemiyle yapıldı. Yine tümör evresi T, N, evresi, lenf nodunda kapsül dışı yayılım, yaş, aile hikâyesi menopoz

durumu ve lenfovasküler invazyon durumları ile c-Met, PTEN ve CK5/6 ekspresyonları arasındaki ilişkiye Ki-kare testi ile bakıldı. Diğer taraftan grad, tümör boyutu ve metastatik lenf nodu sayısı ile c-Met, PTEN ve CK5/6 ekspresyonları arasındaki ilişki ise Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Tanıdan ilk nükse kadar geçen süre hastalıksız yaşam süresi (hastalıksız sağkalım) ve ölüme kadar geçen süre genel yaşam süresi (genel sağkalım) olarak kabul edildi. Nüks ve ölüm riski üzerine etkili faktörlerin değerlendirilmesi tek değişkenli analiz (Cox regresyon modeli) ile yapıldı. Tek değişkenli analizde anlamlı olan parametreler çok değişkenli analizde (Cox regresyon modeli) tekrar değerlendirildi. Sağkalım süreleri ve oranları Kaplan-Meier yöntemi ile hesaplandı ve Log-rank testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel sonuçlarda, p değeri 0.05 ve küçük olanlar anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya doku tanısı konulan ve İHK boyama ile triplet negatif olduğu gösterilen 97 hasta alındı. Hastaların genel demografik özellikleri Tablo-10'da gösterilmiştir. Hastalardan 2'sinin tanı anında uzak organ metastazı mevcuttu. Yalnızca 1 hasta neoadjuvan kemoterapi almıştı. Hastalardan 12'si (%12,4) CMF, 37'si (%38,1) taksan ve antrasiklin kombine ve 44'ü (%45,4) ise yalnızca antrasiklin içeren adjuvan kemoterapi almıştı. Dört (%4,1) hasta ise adjuvan tedavi almamıştı. Takipte hastaların 39'unda (%40,2) nüks gözlemlendi. Hastaların ortalama yaşı 47 (27-79) yıl idi. CK5/6 pozitif alt grubunda ise 46 (27-79) yıl idi. Ortalama tümör boyutu genel hasta grubunda 3,2 (0,8-12) cm idi. Ortalama metastatik lenf nodu sayısı tüm hastalarda 1 (0-24) iken, bazaloid grupta ise 2 (0-24) idi. Hastaların 49'unda (%50,5) CK5/6 ekspresyonu saptanırken, 43'ünde (%44,3) PTEN kaybı gözlemlendi. c-Met yüksek ekspresyonu ise 52 (%53,6) hastada gözlemlendi (Tablo-11).

Nüks olan hastaların ortalama yaşı 45 yıl (27-77) idi. Hastaların 41'inde (%42,2) nüks gözlemlendi. Bunlardan 4'ünde lokal nüks saptanırken 2'sinde ise tanıda uzak bölge metastazı mevcuttu. Nüks olan hastaların nüks bölge özellikleri ve genel demografik özellikleri Tablo-12 ve 13'de gösterilmiştir.

Nüks olan hastaların CK5/6, PTEN ve c-Met durumları değerlendirildiğinde PTEN kaybı her iki grupta benzerken bazaloid grupta PTEN pozitifliği daha fazlaydı. Nüks olan hastalarda %53,4 oranında PTEN kaybı saptandı. c-Met açısından değerlendirildiğinde her iki grup açısından fark yoktu (Tablo-14).

Tablo-10: Genel demografik özellikler

Karakteristikler		n (%)
Yaş	≤40	23 (23,7)
	>40	74 (76,3)
Menopoz	Premenopoz	49 (50,5)
	Postmenopoz	48 (49,5)
Aile hikâyesi	Var	13 (13,4)
	Yok	84 (86,6)
Vücut kitle indeksi	<30	44 (45,4)
	≥30	53 (54,6)
Diabetes mellitus	Var	13 (13,4)
	Yok	84 (86,6)
Histopatoloji	İDC	83 (85,6)
	Diğer	14 (14,4)
Nüks durumu	Var	41 (42,26)
	Yok	56 (57,73)
Evre	Evre1	9 (9,3)
	Evre2	48 (49,5)
	Evre3	38 (39,2)
	Evre4	2 (2,1)
T	T1	14 (14,4)
	T2	53 (54,6)
	T3	24 (24,7)
	T4	6 (6,2)
N	N0	39 (40,2)
	N1	27 (27,8)
	N2	15 (15,5)
	N3	16 (16,4)
Tümör boyutu	<5cm	65 (67)
	≥5cm	32 (33)
Metastatik Lenf Nodu	<5	72 (74,2)
	≥ 5	25 (25,7)
Ekstra kapsüler yayılım	Var	28 (28,9)
	Yok	67 (69)
	Değerlendirilmeyen	2 (2)
Cerrahi	MRM	71 (73,2)
	MKC	26 (26,8)
Adjuvan Kemoterapi	Var	89 (91,8)
	Yok	8 (8,2)
Adjuvan Radyoterapi	Var	76 (78,4)
	Yok	21 (21,6)
Grad	Grad1	26 (26,8)
	Grad2	30 (30,9)
	Grad3	38 (39,2)
	Değerlendirilmeyen	3 (3,1)
Ki67	+1 (<%14)	33 (34)
	+2 (≥%14)	50 (51,5)
	Değerlendirilmeyen	14 (14,4)
Lenfovasküler İnvazyon	Var	33 (34)
	Yok	62 (63,9)
	Değerlendirilmeyen	2 (2,1)

İDC: İnvazif duktal karsinom; MRM: Modifiye radikal mastektomi; MKC: Meme koruyucu cerrahi

Tablo-11: Tüm hastalardaki moleküler boyanma özellikleri

Karakteristikler		n (%)
CK5/6 ekspresyonu	Var	49 (50,5)
	Yok	48 (49,5)
PTEN kaybı	Yok	54 (55,7)
	Var	43 (44,3)
c-Met ekspresyonu	Var	52 (53,6)
	Yok	45(46,4)

Tablo-12: Nüks bölge özellikleri

Nüks Özellikleri		n (%)
Nüks Bölgesi	Tek organ	20 (48,8)
	Birden fazla organ	21 (51,2)
Bir organda metastaz sayısı	Tek	4 (9,8)
	Birden fazla	37 (90,2)
Nüks lokalizasyonu	Lokal	4 (9,8)
	Karaciğer	6 (14,6)
	Akciğer	9 (22)
	Lenf nodu ve beyin	1 (2,4)
	Kemik	4 (9,7)
	Karaciğer ve kemik	3 (7,3)
	Kemik ve akciğer	7 (17,1)
	Akciğer ve beyin	2 (4,9)
	Akciğer, kemik ve beyin	5 (12,2)
	Beyin (diğer organ metastazlarından bağımsız)	8 (19,5)
Son durum	Yaşıyor	68 (70,1)
	Öldü	29 (29,9)

Tablo-13: Nüks hastaların genel demografik özellikleri

Karakteristikler		n (%)
Yaş	≤40	10 (24,4)
	>40	31 (75,6)
Menopoz	Premenopoz	21 (51,2)
	Postmenopoz	20 (48,8)
Aile hikâyesi	Var	5 (12,2)
	Yok	36 (87,8)
Vücut kitle indeksi	<30	16 (39)
	≥30	25(61)
Diabetes mellitus	Var	5 (12,2)
	Yok	36 (87,8)
Histopatoloji	İDC	37 (90,2)
	Diğer	4 (9,8)
Evre	Evre1	0 (0)
	Evre2	18 (43,9)
	Evre3	21 (51,2)
	Evre4	2 (4,9)

T	T1	1 (2,4)
	T2	21 (51,2)
	T3	13 (31,7)
	T4	6 (14,6)
N	N0	9 (22)
	N1	13 (31,7)
	N2	7 (17,1)
	N3	12 (29,2)
Tümör boyutu	<5cm	20 (48,8)
	≥5cm	21 (51,2)
Metastatik Lenf Nodu	<5	24 (58,5)
	≥ 5	17 (41,4)
Ekstra kapsüler yayılım	Var	15 (36,6)
	Yok	25 (61)
	Değerlendirilmeyen	1(2,4)
Cilt tutulumu	Var	5 (12,2)
	Yok	36 (87,8)
Cerrahi	MRM	36 (87,8)
	MKC	5 (12,1)
Adjuvan Kemoterapi	Var	39 (95,1)
	Yok	2 (4,9)
Adjuvan Radyoterapi	Var	28 (68,3)
	Yok	13 (31,7)
Grad	Grad1	7 (17,1)
	Grad2	17 (41,5)
	Grad3	15 (36,6)
	Değerlendirilmeyen	2 (4,9)
Ki67	+1 (<%14)	8 (19,5)
	+2 (≥%14)	23 (56,1)
	Değerlendirilmeyen	10 (24,4)
Lenfovasküler İnvazyon	Var	19 (46,3)
	Yok	20 (48,8)
	Değerlendirilmeyen	2 (4,9)

Tablo-14:Nüks olan hastalarda bazaloid ve non-bazaloid grubun PTEN ve c-Met ekspresyonunun karşılaştırması

Karakteristikler (n:41)		Non Bazaloid n %	Bazaloid n %	p
PTEN kaybı	Yok	2 (4,8)	17 (41,6)	0.007
	Var	11 (26,8)	11 (26,8)	
c-Met ekspresyonu	Var	7 (17)	15 (36,5)	0.98
	Yok	6 (14,6)	13 (31,7)	

Nüks yönünden değerlendirildiğinde bazal grupta daha fazla nüks gözlendi ($p=0,003$). Tüm hastalardaki lenf nodu pozitiflik oranı %59, bazal olmayan grupta %23 iken bazal olan grupta %36 oranında gözlendi. Her iki grup arasındaki fark

anlamlıydı ($p=0,03$). Bazaloid ve non-bazaloid hasta alt grupları birbiriyle karşılaştırıldığında PTEN kaybı non bazal olan grupta daha fazlaydı. Bazal grup kendi içinde değerlendirildiğinde %34 (49 hastanın 17'sinde) oranında PTEN kaybı gözlemlendi. c-Met yüksek ekspresyonu her iki grup için farklı değildi. Erken evre (1-2) tümör non-bazal grupta fazlayken, ileri evre (3-4) bazal grupta daha fazlaydı, ancak fark anlamlı değildi. T evresi yönünden değerlendirildiğinde T1-2 tümör non-bazal grupta fazla, T3-4 tümör ise bazaloid grupta daha fazla idi, fakat fark anlamlı değildi. Tümör boyutu ≥ 5 cm olan tümörler bazal grupta daha fazlaydı ($p=0,03$). N evresi N1/2/3 yönünden değerlendirildiğinde N3 tümörler bazaloid grupta daha fazlaydı, ancak fark anlamlı değildi. Ortanca metastatik lenf nodu ≥ 5 , Ki-67 $\geq 14(+2)$, metastatik birden fazla bölge, beyin metastazı olan hasta bazaloid grupta daha fazlaydı ancak fark anlamlı değildi. Lenf nodu (LN) ekstra kapsüler yayılımı, cilt tutulumu, grad, lenfovasküler invazyon, menopoz durumu, yaş, aile hikâyesine göre de iki grup arasında fark yoktu (Tablo-15).

Nüks üzerine etkili olan faktörler tek değişkenli analizde değerlendirildiğinde PTEN kaybı, CK5/6 ekspresyonu, ileri hastalık evresi (evre 3-4), nod pozitifliği, LN ekstra kapsüler yayılımı ve lenfovasküler invazyonu olanlar, metastatik LN sayısındaki ve tümör boyutundaki artış ile nüks riski arasında istatistikî olarak anlamlı ilişki bulundu. Ayrıca c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda ve MKC yapılarında nüks riskinde artış gözlenmekle birlikte sınırda anlamlılık saptandı (Tablo-16).

Nüks üzerine etkili olan faktörler çok değişkenli analizde değerlendirildiğinde; PTEN kaybı, CK5/6 pozitifliği, metastatik LN sayısındaki ve tümör boyutundaki artış ile nüks riski arasında anlamlı ilişki saptandı (Tablo-17).

Ölüm üzerine etkili olan faktörler tek değişkenli analizde değerlendirildiğinde; PTEN kaybı, CK5/6 pozitifliği, N evresindeki artış, LN ekstra kapsüler yayılımının olması, yüksek grad, lenfovasküler invazyonun olması ve tümör boyutundaki artış ile ölüm riskinde artış saptandı. c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda ölüm riskinde artış gözlenmekle birlikte anlamlı değildi (Tablo-18).

Tablo-15: Bazaloid ve non-bazaloid hasta gruplarının birbiriyle karşılaştırılması

Karakteristikler		Non Bazaloid n (48) %	Bazaloid n (49) %	p
PTEN kaybı	Yok	22 (22,6)	32 (32,9)	0.054
	Var	26 (26,8)	17 (17,5)	
c-Met ekspresyonu	Var	26 (26,8)	26 (26,8)	0.913
	Yok	22 (22,6)	23 (23,7)	
Evre	Evre1-2	32 (32,9)	25 (25,7)	0.11
	Evre3-4	16 (16,4)	24 (24,7)	
T	T1-T2	37 (38,1)	30 (30,9)	0.09
	T3-T4	11(11,3)	19 (19,5)	
N	N0	25 (25,7)	14 (14,4)	0.07
	N1	12 (12,3)	15 (15,4)	
	N2-N3	11 (11,3)	20 (20,6)	
Tümör boyutu	<5cm	37 (38,1)	28 (28,8)	0.037
	≥5cm	11 (11,3)	21 (21,6)	
Metastatik LN	<5	39 (40,2)	32 (32,9)	0.07
	≥5	9 (9,2)	17 (17,5)	
Ekstra kapsüler yayılım	Var	11 (11,3)	17 (17,5)	0.178
	Yok	36 (37,1)	31 (31,9)	
Cilt tutulumu	Var	1 (1)	4 (4,1)	0.176
	Yok	47 (48,4)	45 (46,3)	
Grad	Grad1	15 (15,4)	11 (11,3)	0.71
	Grad2	15 (15,4)	15 (15,4)	
	Grad3	18 (18,5)	20 (20,6)	
	Değerlendirilmeyen	0	3 (3)	
Ki67	+1 (<% 14)	20 (20,6)	13 (13,4)	0.06
	+2 (≥%14)	20 (20,6)	30 (30,9)	
	Değerlendirilmeyen	8 (8,2)	6 (6,1)	
Lenfovasküler invazyon	Var	16 (16,4)	17 (17,5)	0.88
	Yok	31 (31,9)	31 (31,9)	
	Değerlendirilmeyen	1 (1)	1 (2)	
Yaş	≤40	11 (11,3)	12 (12,3)	0.85
	>40	37 (38,1)	37 (38,1)	
Menopoz	Premenopoz	26 (26,8)	23 (23,7)	0.47
	Postmenopoz	22 (22,6)	26 (26,8)	
Aile hikâyesi	Var	9 (9,2)	4 (4,1)	0.126
	Yok	39 (40,2)	45 (46,3)	
Nüks Durumu	Var	13 (13,4)	28 (28,8)	0.003
	Yok	35 (36)	21 (21,6)	
Beyin metastazı	Var	2 (2)	6 (6,1)	0.14
	Yok	46 (47,4)	43 (44,3)	
Metastaz bölgesi	Tek organ	7 (7,2)	13 (13,4)	0.65
	Birden fazla organ	6 (6,1)	15 (15,4)	

Tablo-16: Nüks üzerine etki eden faktörlerin tek değişkenli analizi

	HR	%95 GA	P
PTEN	2,16	1.091-4.293	0,027
c-Met	1,83	0.914-3.595	0,08
CK5/6	2,47	1.223-5.009	0,012
Histopatoloji (İDC/Diğer)	1,254	0.441-3.568	0,671
Evre (evre1-2/ evre 3-4)	2,027	1.043-3.940	0,037
T evre (T1-2/ T3-4)	1,721	0.871-3.401	0,118
N evre N0			0,004
N1	2,487	1.055-5.862	0,037
N2-3	0,578	0.238-1.404	0,226
Ekstra kapsüler yayılım	2,776	1.325-5.814	0,007
40 yaş	0,829	0.375-1.832	0,643
Menopoz durumu	1,096	0.562-2.135	0,788
Aile hikâvesi	0,959	0.371-2.480	0,932
Cerrahi (MKC/MRM)	0,338	0.103-1.118	0,076
Lenfovasküler invazyon	3,987	1.933-8.226	<0,005
Grad	1,380	0.919-2.071	0,120
Metastatik LN	1,143	1.082-1.207	<0,005
BMI	1,012	0.948-1.081	0,718
Tümör boyutu	1,267	1.087-1.478	0,003

Tablo-17: Nüks üzerine etki eden faktörlerin çok değişkenli analizi

	HR	%95 GA	P
PTEN	2,997	1.407-6.383	0,004
c-Met	2,050	0.963-4.365	0,063
CK5/6	2,419	1.105-5.293	0,027
Metastatik LN	1,110	1.043-1.181	0,001
Tümör boyutu	1,226	1.036-1.450	0,017

Tablo-18: Ölüm üzerine etki eden faktörlerin tek değişkenli analizi

	HR	%95 GA	P
PTEN	1,925	0.909-4.077	0,087
c-Met	1,159	0.549-2.448	0,700
CK5/6	2,698	1.200-6.067	0,016
Histopatoloji (İDC/Diğer)	1,621	0.382-6.877	0,512
Evre (evre1-2/ evre 3-4)	1,695	0.802-3.582	0,167

T evre (T1-2/ T3-4)	1,906	0.905-4.014	0,090
N evre N0			0,015
N1	2,928	1.127-7.603	0,027
N2-3	0,812	0.292-2.264	0,691
Ekstra kapsüler yayılım	2,459	1.085-5.568	0,031
40 yaş	0,854	0.361-2.024	0,720
Menopoz durumu	1,114	0.525-2.363	0,778
Aile hikayesi	0,762	0.229-2.533	0,657
Cerrahi (MKC/MRM)	1,058	0.347-3.224	0,921
Lenfovasküler invazyon	2,553	1.155-5.646	0,021
Grad	1,736	1.050-2.870	0,031
Metastatik LN	1,043	0.982-1.108	0,169
BMI	0,990	0.917-1.069	0,799
Tümör boyutu	1,204	1.006-1.440	0,042

Ölüm üzerine etkili faktörler çok değişkenli analizde değerlendirildiğinde PTEN kaybı olanlar, CK5/6 ekspresyonu olanlar ve N2-3 tümörlerde nod negatiflere göre ölüm riskinde artış saptandı (Tablo-19).

Tablo-19: Ölüm üzerine etki eden faktörlerin çok değişkenli analizi

	HR	%95 GA	P
PTEN	2,43	0.975-6.065	0,05
CK5/6	3,74	1.375-10.200	0,01
N evre N0			0,028
N1	1,254	0.415-3.786	0,688
N2-3	3,63	1.279-10.304	0,015

CK5/6 ile c-Met ve PTEN arasındaki ilişki

CK5/6 ekspresyonu ile c-Met yüksek ekspresyonu arasında ilişki saptanmazken ($p=0,999$), CK5/6 eksprese olan tümörler ile PTEN kaybı olmayanlar arasında sınırda bir korelasyon bulundu ($p=0,067$).

c-Met ile ilişkili faktörlerin değerlendirilmesi

c-Met ile evre (evre 1-2/3-4) karşılaştırıldığında ilişki bulunamadı ($p=0,215$), yine T evresi (T1-2/T3-4) ve c-Met yüksek ekspresyonu açısından değerlendirildiğinde T1-2 tümörlerde daha fazla oranda eksprese olduğu gözlemlendi ($p=0,025$). Benzer şekilde

nod pozitifliği/negatifliğine, LN ekstrakapsüler yayılımı (var/yok), yaş (<40yaş / ≥40 yaş), lenfovasküler invazyon (var/yok), grad (grad1/2/3), tümör boyutu ve metastatik LN sayısı arasında ilişki bulunamadı (sırasıyla p değerleri $p=0,96$, $p=0,331$, $p=0,479$, $p=0,287$, $p=0,202$, $p=0,845$, $p=0,544$). Ancak yüksek gradlı (grad3) olan tümörlerde düşük gradlılara (grad1/2) göre c-Met yüksek ekspresyonu daha fazla görüldü ($p=0,04$). Nod pozitif ve negatif olarak değerlendirildiğinde ise c-Met ekspresyonu açısından farklılık görülmedi ($p=0,8$). Yine Ki-67 yönünden de (+1/+2) fark saptanmadı ($p=0,3$).

PTEN ile ilişkili faktörlerin değerlendirilmesi

PTEN ile metastatik LN sayısı, grad1/2/3 ve yüksek/düşük grada göre Ki-67, tümör boyutu, evre, T evresi, nod negatiflik/pozitiflik durumuna, LN ekstrakapsüler yayılımı, aile hikâyesi, menopoiz durumu, yaşa göre ilişki bulunamazken, PTEN kaybı olanlarda lenfovasküler invazyon daha fazla oranda saptandı ($p=0,05$).

CK5/6 ile ilişkili faktörlerin değerlendirilmesi

Tümör gradı ve tümör boyutu ile CK5/6 arasında ilişki saptanmazken, CK5/6 pozitif olanlarda metastatik LN sayısındaki artış ile pozitif yönde korelasyon saptandı ($p=0,046$). Tanı anındaki evre 1-2 ile evre 3-4 yine T1-2 ile T3-4 karşılaştırıldığında fark saptanmadı. Tanı anındaki N0 /N1/ N2-3 karşılaştırıldığında fark saptanmadı ($p=0,073$). Ekstrakapsüler yayılım, lenfovasküler invazyon, grad durumu, Ki-67, 40 yaşa (altı /üstü) göre, aile hikâyesine göre, menopoiz durumuna göre fark bulunmadı.

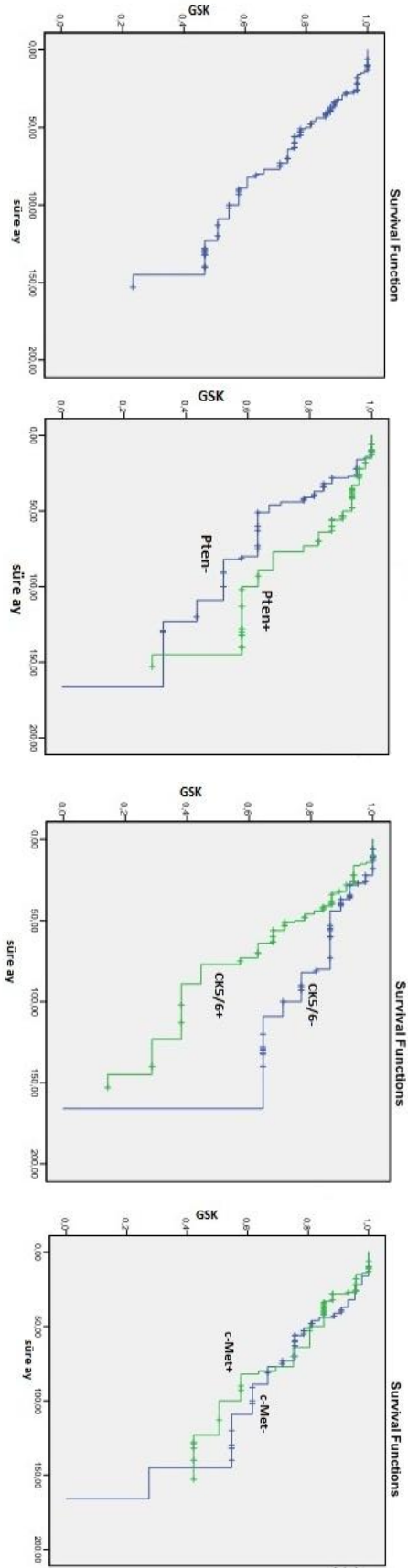
Hastaların CK5/6, PTEN ve c-Met Ekspresyonlarının Genel Sağkalım Üzerine Etkileri

Tüm hastaların ortanca genel sağkalım süresi 123 ± 15 ay (%95 GA 92-153) idi (Şekil-4). PTEN durumuna göre genel sağkalım değerlendirildiğinde PTEN kaybı olanlarda ortanca sağkalım 109 ± 23 ay (%95 GA 63-154) ay iken, PTEN ekspresyonu olanlarda ise 145 ± 32 ay (%95 GA 80-209, $p=0,08$) izlendi (Şekil-5). CK5/6 ekspresyonu olanlarda 78 ± 9 ay (%95 GA 74-81) ay iken, olmayanlarda 158 ± 10 ay (%95 GA 113-153, $p=0,01$) idi (Şekil-6). c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda 123 ± 32 ay (%95 GA 59-186), düşük ekspresyonu olanlarda ise 145 ± 33 ay (%95 GA 79-210, $p=0,6$) idi (Şekil-7). Bazal alt grupta PTEN kaybı olanlarda 46 ± 12 ay (%95 GA 22-69) iken, PTEN ekspresyonu olanlarda 88 ± 8 ay (%95 GA 74-81, $p=0,01$) idi.

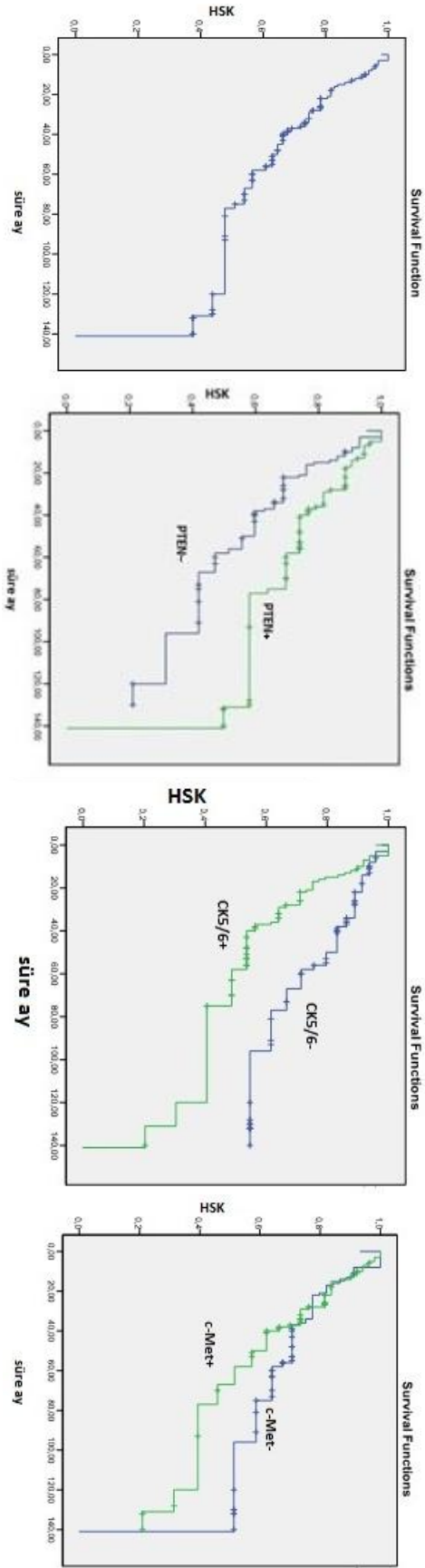
Bazal alt grupta c-Met yüksek ekspresyonu gösterenlerle göstermeyenler arasında genel sağkalım farkı belirlenemedi. c-Met yüksek ekspresyonu olan bazal grup 76 ± 26 ay (%95 GA 23-128) iken, düşük ekspresyon gözlenenlerde ise 78 ± 9 ay (%95 GA 58-97, $p=0,9$) idi.

Hastaların CK5/6, PTEN ve c-Met Ekspresyonlarının Hastalıksız Sağkalım Üzerine Etkileri

Tüm hastaların ortalama hastalıksız sağkalım süresi 77 ± 30 ay (%95 GA 37-154) idi (Şekil-8). PTEN kaybı olanlarda hastalıksız sağkalım 58 ± 10 ay (%95 GA 36-79), PTEN ekspresyonu olanlarda 141 ± 36 ay (%95 GA 68-213, $p=0.02$) idi (Şekil-9). CK5/6 ekspresyonu gözlenenlerde ortalama 75 ± 27 ay (%95 GA 21-128, $p=0.009$) iken, ekspresyon gözlenmeyenlerde ise ortalama hastalıksız sağkalım süresine ulaşamamıştır (Şekil-10). c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda hastalıksız sağkalım 67 ± 15 ay (%95 GA 37-96) iken, düşük ekspresyon gözlenenlerde 141 ± 37 ay (%95 GA 67-214, $p=0.08$) idi (Şekil-11). Bazaloid alt grupta c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda 37 ± 9 ay (%95 GA 19-54) iken, diğer grupta 58 ± 14 ay (%95 GA 28-87, $p=0,2$) idi. Bazaloid grupta PTEN kaybı olanlarda nükse kadar geçen süre 22 ± 12 ay (%95 GA 0-47) iken, PTEN kaybı olmayanlarda ise 58 ± 15 ay (%95 GA 27-88, $p=0,1$) idi.



Şekil 4-7: Genel sağkalım eğrileri (sırasıyla tüm hastalar için, PTEN, CK5/6 ve c-Met ekspresyonlarına göre)



Şekil 8-11: Hastalaksız sağkalım eğrileri (sırasıyla tüm hastalar için, PTEN, CK5/6 ve c-Met ekspresyonlarına göre)

TARTIŞMA

Meme kanseri ileri tanı yöntemleri ve hastalıkla ilişkili bilinçlendirmenin artmış olmasına rağmen kansere bağlı ölümlerde kadınlar arasında birinci sırada yer almaktadır. Takipte hastaların %10-15'inde ilk 2 yıl içinde uzak metastaz görülmektedir. Nüks gelişimi üzerine tanı anındaki hastalık evresi, tümör histolojisi, aksiler lenf nodu metastazı ve tümör biyolojisi gibi bazı prognostik faktörler daha önceleri ortaya konulmuştur. Meme kanserli hastalarda tanı anında yaş ve menopoz durumunun prognoz üzerine etkisi tartışmalıdır. Klinik seyrin genç hastalarda daha iyi olduğunu bildiren yayınların yanı sıra, daha kötü olduğunu (47) veya ilişki olmadığını öne süren çalışmalar da mevcuttur (48). Yaşlanma ile grade 3 histoloji, lenfatik invazyon, yaygın intraduktal komponent, nekroz, mononükleer hücre infiltrasyonu gibi kötü prognostik özelliklerin azaldığını bildirilmiştir (49). Bir çalışmada genç yaş grubunda lenf nodu tutulumu, tümör büyüklüğü, hormon reseptör negatifliği, p-53 anomalileri ve S-faz fraksiyonu gibi parametrelerde artış olduğu saptanırken (50), başka bir çalışmada ise 30 yaş ve altı meme kanserli hastaların genel sağkalımının daha yaşlı kadın hastalarla benzer olduğu gösterilmiştir (51). Henderson ve ark. ise meme kanserinde yaş ve klinik seyrin ilişkili olmadığını bildirmişlerdir (52). Benzer olarak bizim çalışmamızda da yaş ile nüks ve ölüm riski açısından bir ilişki saptanmamıştır.

Bugün için kabul edilen en önemli prognostik faktör lenf nodu tutulumunun olup olmaması ve tutulan lenf nodu sayısıdır (26). Günümüzde kabul edilen görüş, lenf nodu tutulumu olan hastalarda adjuvan kemoterapinin uygulanması yönündedir. Özellikle tutulan lenf nodu sayısının 4'ten fazla olduğu hastalar yüksek riskli olarak

kabul edilmektedir. Lenf nodu tutulumu olmayan hastalar için tedavi uygulama kararını belirlemek amacıyla daha farklı prognostik ve prediktif faktörler araştırılmaktadır. Meme kanserli hastaların %20-30'unda lenf nodu pozitifliği saptanmaktadır. ÖR(-) grupta ise lenf nodu pozitifliği literatürde %46-49 arasında bildirilmektedir (53). Çalışmamıza alınan hastaların %40,2'sinde lenf nodu tutulumu yokken, %58,8'inde lenf nodu pozitifliği. Literatürde bildirilenden daha fazla oranda pozitiflik mevcuttu. Nüks üzerine lenf nodu metastazının etkisi incelendiğinde metastatik lenf nodunda artış ile birlikte nüks riskinde artış saptanırken, benzer şekilde lenf nodu tutulumuyla (N0'a göre N2-3 tümörlerde) ölüm riskinde de artış saptanmıştır. Bu da tümörün agresif davranışının bir göstergesi gibi görülmektedir ve hala önemini koruyan en değerli prognostik belirteçlerden biridir.

Tümör çapı ve tutulan lenf nodu sayısı, birçok çalışmada önemli prognostik gösterge olarak bildirilmiştir. Carter ve ark. SEER programı dahilinde yaptıkları 24740 vakalık çalışmayla, tümör çapının (T) <2 cm ve aksiller lenf nodu tutulumunun olmadığı vakaların 5 yıllık sağkalımının, T >5 cm olup, pozitif aksiller lenf nodu tutulumu olanlara göre daha iyi olduğunu göstermeleri (sırasıyla %96,3 ve %45,5) TNM evrelemesinin temelini atması açısından önemlidir (54). NSABP B-04 çalışmasını yeniden değerlendiren Fisher ve ark., istatistiksel olarak uzun sağkalımla ilişkili bulunan 10 patolojik özellikten sadece 3'ünün (nodal metastaz sayısı, tümör çapı ve meme başı tutulumu) bağımsız prognostik belirleyici olduğunu göstermiştir (55). T1 olarak evrelendirilen 644 hastayla yapılan bir çalışmada hastalar ortalama 18,2 ay takip sonrası değerlendirildi ve büyük tümör çapı, perimenopozal durum, metastatik aksiller lenf nodu sayısı, yüksek grad, lenfatik tümör embolisi, damar invazyonu ve tümör çevresindeki lenfoplasmositer reaksiyon olumsuz klinik-patolojik faktörler olarak bildirmiştir (56).

Fazla hasta sayısı ile yapılan SEER verilerinin değerlendirildiği Grann ve ark. çalışmasında, artan evre, grad ve duktal histoloji ile tümörlerde reseptör negatifliğinin de arttığını bildiren literatür bilgisi bulunmaktadır. Yine bu analizde grad1 olan hastalara göre grad 2 ve 3 olan hastaların mortalite oranı 3 kat fazla olduğu, duktal histolojinin en az %25 daha fazla mortaliteye sahip olduğu bildirilmiştir (57). Putti ve ark. ÖR(-) hastalarda grad 3 oranının %94, Scwan ve ark. da grad 2 oranının %18 ve grad 3 oranının ise %81 olduğunu çalışmalarında göstermişlerdir (53,58). Bizim çalışmamızda %26,8 hasta grad 1, %30,9 grad 2 ve

%39,2 grad 3 idi. Genel hasta grubumuzda yüksek gradlı hasta sayımız diğer çalışmalara göre daha az oranda idi. Çalışmamızın retrospektif olması ve hastaların hastaların ardışık olarak çalışmaya alınmaması bunun nedeni olabilir. Cox regresyon analizinde nüks üzerine tümör gradının etkisi gösterilemezken ölüm riski yönünden tek değişkenli analizde etkisi gösterildi, ancak bu ilişki çok değişkenli analizde saptanamadı. Tümör özelliklerinden nüks üzerine etkili faktörler tek değişkenli analizde değerlendirildiğinde tanıdaki evresinin ileri olması, lenf nodunda ekstra kapsüler yayılım olması, lenfovasküler invazyonun olması, metastatik lenf nodu sayısındaki artış ve tümör boyutundaki artış nüks riskini artırırken, çok değişkenli analizde tümör boyutu ve metastatik lenf nodundaki artış anlamlıydı. Ölüm riski üzerine tümör özellikleri değerlendirildiğinde ise tek değişkenli analizde histopatoloji, evre, T evresi, yaş, menopoz durumu, aile hikâyesi, yapılan cerrahi tipi, metastatik lenf nodu sayısı ve BMI ile ilişki saptanmazken; N evresinde artış, lenf nodu ekstrakapsüler yayılımının olması, lenfovasküler invazyon olması, graddaki artış ve tümör boyutundaki artış ile ölüm riskinde artış gözlemlendi, ancak çok değişkenli analizde bunlardan yalnızca N evresindeki artışın genel sağkalımı azalttığı gösterildi.

Tümör biyolojisiyle ilgili olarak özellikle triplet negatif olarak adlandırılan grubun metastaz potansiyeli yüksek olarak bildirilmiştir (59). Triplet negatif grubun klinik olarak seyrinin kendi içinde de farklı olduğu gözlenmiştir ve bu grup için prognostik belirteç olarak kullanılan lenf nodu durumu ve grad gibi rutin kullanılan parametrelerin günümüzde yetersiz kaldığı düşünülmektedir. Bu nedenle DNA microarray teknolojileri geliştirilmiştir. Yapılan küçük hasta gruplarını kapsayan çalışmalarda, gen profili ile belirlenen alt gruplarda sağkalım ilişkisi araştırılmıştır. Gen ekspresyon yöntemine göre Norway/Stanford %17, van't Veer % 21, West ise % 37 gibi değişen oranlarda bazaloid alt grup bildirmiştir (60). Bu analizlerde meme kanseri luminal A, luminal B, HER-2 pozitif, normal meme, bazaloid olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Bu çalışmalarda en kısa genel sağkalımın bazal ve HER-2 gruplarında olduğu gösterilmiştir (60). Meme kanserini gen ekspresyonuna göre sınıflandıran ve prognozla ilişkisini inceleyen Sotirou ve ark., gen ekspresyon profilini ÖR ile kuvvetli, grad ile orta dereceli ilişkili bulurken, menopoz durumu, nodal durum ve tümör çapı ile ilişkisiz olduğunu bildirdiler (22). Nielsen ve ark. 21 bazaloid meme kanseri gen profilini İHK ile incelemişler ve bu tümörlerin CK5/6 ve/veya EGFR eksprese ettiklerini göstermişlerdir (61). Başka bir çalışmada ise kötü

prognostik sekansları içeren gen profiline sahip olanların iyi prognosis işareti taşıyan gen profili taşıyıcılarına göre metastaz potansiyelinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (62). Yapılan bir çalışmada İHK ve genetik profiline göre değerlendirilmiş tüm popülasyon için bazaloid meme kanseri oranı %20 olarak bildirilmiştir. Triplet negatiflerde ise bazaloid meme kanseri oranı %70 olarak belirtilmiştir (63). Bazaloid meme kanseri en sık premenopozal Afrika kökenli hastalarda (%39) saptanırken, postmenopozal Afrika kökenli hastalarda %14 ve Afrika kökeni olmayan Amerikalı kadınlarda %16 olarak bulunmuştur. Bazaloid meme kanseri premenopozal 261 hastanın %24'ünde, postmenopozal 235 hastanın ise %15'inde saptanmıştır (63). Çalışmamızda, BMK kabul edilen hastaların premenopoz ve postmenopoz hasta oranları birbirine yakın bulunmuştur. Hastaların tamamı değerlendirildiğinde, triplet negatif hastaların %50,5'i bazaloid İHK özelliğine sahipken, bazaloid gruptaki premenopoz hastaların oranı %46,9, postmenopoz hastalar ise %53,1 idi ve aradaki fark anlamlı değildi.

Rutin hastane uygulamalarında gen profil analizlerinin kompleks ve maliyetli olması nedeniyle İHK analizleri devreye girmiştir. Kötü prognosislu olan meme kanserinin bu alt grubunu saptamaya yönelik yapılan tetkiklerden biri olan İHK yöntemi, gen tarama yöntemiyle karşılaştırıldığında %76 sensitivite ve %100 spesifiteye sahiptir (61). İlk kez 1987'de meme kanserinde CK5, CK14 ve CK17 eksprese eden tümör hücrelerinin kötü prognosisa sahip olduğu ve/veya erken rekürrensle ilişkili olduğu bildirilmiştir (64). Sonraki çalışmalar bu veriyi desteklemiştir (21). Korsching ve ark. ayrıca CK5/6 pozitif tümörlerin ÖR(-) ve PR(-) özellik gösterdiği ve klinik olarak bunların HER-2(+) tümörlerden farklı bir grup olduğunu saptamışlardır. Ayrıca bu grubun p53, epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) ve proliferatif indeks eksprese ettikleri gösterilmiştir (65). Yapılan bazı çalışmalar CK5/6 ve CK17 pozitifliğinin nod negatiflerde tümör boyutu, grad ve ÖR ve HER-2'den bağımsız prediktif faktör olduğu iddia edilmektedir (22,61). BMK tanısı için hangi sitokeratinlerin kullanılması gerektiği konusunda tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. CK5/6, CK14, CK17 veya EGFR pozitifliğinin tanısal yaklaşımda önemini savunan veriler bulunmaktadır. Temel kriter olarak CK5/6 ve/veya EGFR'nin pozitifliğinin gerekliliği bir çok yazar tarafından önerilmektedir (66). Bu nedenle de çalışmamızda bazaloid sınıfı belirlemek amacıyla CK5/6 İHK boyaması tercih edildi. CK5/6'nın İHK çalışmalarda literatürde farklı skorlama sistemleri bulunmaktadır ve BMK'de HER-2'de olduğu gibi henüz kesinleşmiş bir

İHK "cut-off" değeri bulunmamaktadır. Tümörün boyanmasında %1-10 gibi değişken aralıkta pozitiflik durumu kabul edilmiştir. Bu nedenle literatürde triplet negatif hastalarda CK5/6 pozitiflik oranı %24-72'lik değişen oranda daha önceleri bildirilmiştir (67). Meme kanseriyle ilişkili ölüm en çok BMK ve HER-2(+) grupta gözlenmiş olup, BMK ve luminal A alt grupların ırksal özelliklerden etkilendiği gösterilmiştir (63). Çalışmamızda triplet negatif meme kanserinde CK5/6 pozitifliği %50,5 olarak saptandı ve CK5/6 pozitiflik oranı literatürde ülkemizden yapılan çalışmalarla benzerdi (68). Bazaloid meme kanserinin literatürde değişen oranlarda bildirilmesi İHK değerlendirmesinde pozitif kabul edilen kesin değer olmamasına ve genetik farklılıklara bağlı olabilir. BMK, daha genç hastalarda görülmekte ve daha agresif seyretmektedir. Fulford ve ark. çalışmasında yaş ortalaması kontrol grubunda 53,9 iken, bazaloid grupta 49,9 olarak saptanmıştır (69). Bizim çalışmamızda ise BMK alt grubunda (CK5/6 pozitif) ortalama yaş 48 yıl (sınırlar, 27-79) iken, non-bazal grupta 46 yıl (sınırlar 28-76) olarak bulundu. İki grup için istatistiksel açıdan fark saptanmadı. Van de Rijn ve ark. çalışmasında sitokeratin 5/6 ve/veya 17 pozitifliği nod negatiflerde prognostik önem taşıırken, Nielsen ve ark. çalışmasında nod pozitiflerde prognostik önemi olduğu vurgulanmıştır (61). CK5/6 pozitif olan meme kanserlerinin kötü prognoza sahip olduğu daha önceleri bildirilmişti ve tümör büyüklüğünden, gradından, ÖR ve HER-2 durumundan bağımsız bir prognostik belirteç olduğu belirtilmişti (61). Benzer şekilde CK5/6'nın lenf nodu evrelemesinden, tümör gradından ve büyüklüğünden bağımsız olarak hastalıklı sağkalım için prognostik belirteç olduğu gösterilmiştir (70). Çalışmamızda BMK'de nod pozitif hasta non-bazal gruba göre daha fazla orandaydı ve fark anlamlıydı. Tutulan lenf nodu sayısı tüm hastalarda ortalama 1 (sınırlar, 0-24) iken BMK grubunda ise 2 (sınırlar, 0-24) olarak saptanmıştır. Ayrıca N2-3 lenf nodu pozitiflik oranı bazal grupta bazal olmayanlara göre daha fazlaydı, ancak istatistikî olarak sınırda bir ilişki belirlendi. Görüldüğü gibi triplet negatif ve BMK hastalarında fazla oranda lenf nodu tutulumu saptanmaktadır. Bu da tümörün kötü prognoza sahip olduğunun bir göstergesidir. Ayrıca çalışmamızda bazaloid olarak nitelendirdiğimiz CK5/6+ olan grupta invazif tümör çapı ≥ 5 cm olan hasta sayısı non-bazal olanlara göre daha fazlaydı ve bazaloid grupta nüks oranı daha fazlaydı sırasıyla ($p=0,03$, $p=0,003$) idi. Bazaloid grupta beyin metastazı, çoklu organ metastazı, ekstra kapsüler yayılım, T3-4 tümör, cilt tutulumu, evre 3-4 tümör ve Ki-67 proliferasyon indeksi "+2" olan hasta daha fazlaydı, ancak istatistikî anlamlılığa

ulaşmadı. Grad ve lenfovasküler invazyon yönünden her iki grup arasında fark bulunamadı. Yaş yönünden değerlendirildiğinde iki grup arasında fark belirlenemedi. Nüks riski bazal grupta daha fazlaydı (HR:2,41 CI% 95 1.105-5.293 $p=0,02$) benzer şekilde ölüm riski bazal grupta daha fazlaydı (HR:3,74 CI% 95 1.375-10.200 $p=0,01$). Hastalıksız sağkalım süresi ve genel sağkalım süresi bazal grupta daha kısaydı (sırasıyla $p=0.009$, $p=0.01$).

Bazaloid belirteçler dışında nüks üzerine etkili faktörler yeni tedavi stratejileri geliştirmek açısından özellikle son yıllarda c-Met/HGF “scattor factor” araştırma konusu olmuştur. Hepatosit büyüme faktörü reseptörü olan c-Met proliferasyon, motilite, invazyon ve metastaza yol açan farklı sinyal yollarını aktive edebilen bir tirozin kinaz reseptörüdür. Bunu da özellikle anjiogenezi tetikleyerek yapmaktadır. Vasküler endotelyal hücrelerin büyümesi ve hareketini artırır, ayrıca üç boyutlu kılcal endotelyal tüplerin oluşumunda ve tümör dokusundaki neovaskülarizasyonda ve VEGF salınımında da rol oynayarak anjiogenezi başlatır. İfade edildiği hücre tipine, hücrenin diferansiasyon durumuna ve bulunduğu mikroçevreye bağlı olarak c-Met bağımlı biyolojik yanıtlar farklı olabilmektedir (71). Ancak birçok kanser tipinde c-Met’in özellikle metastatik karakterle ilişkili olduğu bulunmuştur (72). Meme karsinomu dahil olmak üzere, hepatoselüler, akciğer, kolon ve beyin kanseri gibi birçok kanserde HGF ve c-Met yüksek ekspresyonuna ya da yapısal aktivasyonuna rastlanılmıştır (73). Özellikle metastatik kolorektal kanserli hastalarda kemoterapi cevabının değerlendirilmesinde c-Met’in ligandı olan HGF’nin hastalık progresyonuyla ilişkisi bildirilmiştir (74). Akciğer adenokarsinomunlu hastaların yaklaşık yarısında c-Met ve HGF’nin yüksek ekspresyonu gösterilmiştir. Akciğer kanserlerinde yüksek ekspresyon seviyesiyle tümör büyüme oranında artış, metastaz gelişimi, kötü prognoz ve radyoterapi direnciyle ilişki bulunmuştur (75). Bazaloid meme kanserli hücre kültüründe yapılan bir çalışmada c-Met ve EGFR genlerinin kodlandığı gösterilmiştir (76). Triplet negatif meme kanserli hastalarda c-Met ekspresyonuyla ilgili yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır, özellikle triplet negatif grupta bazal belirteçlerle birlikte c-Met ekspresyon düzeyini araştıran birkaç çalışma mevcuttur. Literatürde c-Met yüksek ekspresyonu triplet negatif hastalarda %14-52 gibi geniş bir aralıkta bildirilmiştir ve nüks üzerine etkisini gösteren çalışmaların yanı sıra ilişkisi belirlenmemiş çalışmalar da bulunmaktadır (77,78). Bizim çalışmamızda Zagouri ve ark. benzer olarak c-Met yüksek ekspresyonunu tüm hastalarda %52, nüks olan

hastalarda ise %53,5 oranında tespit edilmiştir (78). Hastalarımızdaki c-Met ekspresyon düzeylerimiz bazal olan ve olmayan gruplar arasında benzerdi. Gonzalez ve ark. çalışmasına benzer olarak (77), çalışmamızda da nüks açısından değerlendirildiğinde çok değişkenli analizde c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda risk artmış olmakla birlikte istatistikî anlamlılığa ulaşmamıştır (HR:2,050 CI%95 0,96-4,36 $p=0,06$). Ölüm riski yönünden değerlendirildiğinde de c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda risk artmakla birlikte istatistikî olarak anlamlı değildi (HR:1,15 CI %95 0,54-2,44 $p=0,7$). Tüm hastalarda hastalıksız ve genel sağkalım c-Met yüksek ekspresyonu gözlenenlerde daha kısaydı ancak istatistikî olarak anlamlı değildi. Bazal grupta c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda hastalıksız sağkalım daha kısaydı ancak fark anlamlı değildi.

Bazaloid fenotipi olan kötü prognozla seyreden meme kanserlerinde c-Met ve CD146 ilaç geliştirilebilir yolaklardır. CK5/6, kaveolin ve c-kit gibi bazaloid belirteçlerin kötü prognozlu tümörlerde yükseldiği gösterilmiştir. Ayrıca nod negatif metastatik meme kanserli hastalarda c-Met yüksek ekspresyonu nod pozitiflere göre daha fazla oranda bulunmuştur. Bununla birlikte c-Met yüksek ekspresyonu kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (79). Başka bir çalışmada ise nod durumuyla c-Met ekspresyonu arasında ilişki belirlenememiştir (77). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde c-Met yüksek ve düşük ekspresyonu olan gruplar arasında nod pozitiflik ve negatiflik durumu farklı değildi. Daha önce c-Met, kaveolin ve CK5/6 meme kanseri hücre serilerinde bazal hücre fenotipinin komponenti olarak bildirilmiştir (79). c-Met ekspresyonunun değerlendirildiği HER-2 grup, hormon pozitif grup ve triplet negatif grubun dahil edildiği bir çalışmada ise triplet negatif meme kanserli hastalarda hormon pozitif ve HER-2 pozitif hastalara göre fark bulunamamıştır. Ayrıca c-Met ile nod pozitif ve negatiflik durumu arasında ilişki bulunamamışken, tümör boyutu ≥ 2 cm olan tümörlerde daha yüksek ekspresyon saptanmıştır (77). Bizim çalışmamızda ise tümör boyutu ile c-Met yüksek ekspresyonu arasında ilişki bulunamamışken c-Met yüksek ekspresyonu T1-2 tümörlerde daha fazla oranda görülmüştür ($p=0,025$). Aynı çalışmada beş yıllık hastalıksız sağkalım c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda azalmakla birlikte anlamlı bulunamamıştır. Triplet negatif alt grubunda ise c-Met yüksek ekspresyonu ile genel sağkalım açısından fark bulunamamıştır (77). Benzer şekilde çalışmamızda da c-Met ekspresyon durumuyla genel sağkalım arasında anlamlı fark saptanamamakla beraber yüksek ekspresyon gözlenen hastalarda hastalıksız ve genel sağkalım daha kısaydı. c-Met meme

kanserinde ilaç direncinden de sorumlu tutulmuştur. Meme kanseri hücre kültüründe yapılan bir çalışmada EGFR TKI (Gefitinib) direncinden triplet negatif hücrelerde fibroblastlardan salgılanan Met'in ligandı olan HGF'ye bağlı olarak Met' in parakrin aktivasyonu suçlanmaktadır (80). Bir çalışmada yüksek c-Met/HGF seviyeleri meme karsinomunda histolojik grad, kötü prognoz ve hücre proliferatif indeksteki artışla ilişkili bildirilmiştir (81). Çalışmamızda c-Met yüksek ekspresyonuyla tümör boyutu, Ki67, lenfovasküler invazyon, ekstrakapsüler yayılım, evre ve bazaloid belirteç olan CK5/6 arasında ilişki bulunamazken literatüre benzer şekilde c-Met yüksek ekspresyonu yüksek gradlı tümörlerde daha fazla oranda görülmüştür ($p=0,04$) (78). Bu da bize yüksek gradlı tümörlerde c-Met yolağının aktif olabileceğini işaret etmektedir. Özellikle c-Met ekspresyon durumunun lenf nodu metastazıyla ilişkisinin olmaması ve anjiogenik bir faktör olan HGF'nin bu yolağın en önemli aktivatörü olması nedeniyle hematogen metastaz için önemli gibi gözükmektedir.

PTEN 10. kromozomda yer alan tümör supresör gendir. Hücre proliferasyonu ve sağkalımında rol oynayan PI3K yolağının önemli modülatörüdür. Özellikle meme kanseri hücre kültür analizlerinde PTEN'in PI3K'nın down regülasyonu yoluyla hücre siklusunun G1 düzeyinde durmasına ve ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. PTEN disfonksiyonu v-akt murine timoma viral onkogen veya protein kinaz B (AKT) yolunu ve mTOR'u (mammalian target of rapamycin) aktive eder. PTEN kaybı birçok kanserde ve meme kanserinin özellikle triplet negatif grubunda gösterilmiştir (82). Triplet negatiflerde hormonal tedavi ve anti HER-2 tedavi alternatiflerinin olmaması nedeniyle bu hastalarda PTEN disfonksiyonuna bağlı bu yolak aktivasyonları hedef olarak görülmüş ve bununla ilgili ilaç çalışmaları yapılmıştır. PTEN kaybı nüks eden meme kanserli hastaların triplet negatif alt grubunda %66 oranında gözlenirken hormon pozitif ve HER-2 grubunda ise sırasıyla %28, %22 olarak bildirilmiştir (83).

Triplet negatif ve BRCA-1 mutasyon durumuyla PTEN kaybı arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bir çalışmada BRCA-1 ile PTEN kaybı arasında yüksek oranda ilişki belirlenmiştir (84). Başka bir çalışmada da triplet negatiflerde PTEN kaybı %37, CK5/6 pozitifliği ise %66 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada PTEN kaybı familial BRCA-1 mutasyonu olanlarda %25, sporadik BRCA-1 metilasyonu olanlarda ise %39 oranında saptanmıştır (85). Bu da genetik bazı farklılıklara bağlı olarak da PTEN kaybındaki oranların değişebileceğini göstermektedir.

Bilateral meme kanserli hastalarda CK5/6 ekspresyonu ile PTEN kaybı arasında ilişki gösterilememiş ve bazal grupta PTEN kaybı %56 oranında bildirilmiştir (86). Çalışmamızda PTEN kaybı tüm hastalar için %44,3 oranında bulunurken, bazaloid olan hastalar içinde ise bu oran %34 idi. Bununla birlikte çalışmamızda bazaloid olmayan grupta PTEN kaybı daha fazla oranda bulunmuştur. Nüks olan hasta alt grubumuz değerlendirildiğinde %53 oranında PTEN kaybı tespit edilmiştir. Yine nüks olan alt grupta PTEN kaybı olmayanlar bazaloid grupta daha fazla oranda gözlemlendi. Piekarski ve ark. CK5/6 pozitifliğiyle T evrelemesi tümör gradı ve aksiler lenf nodu metastazı arasında da ilişki gösterilememiştir. Bununla birlikte bazaloid grupta lokal ve uzak nüksleri daha fazla oranda gözlemişlerdir. PTEN kaybı ile de aksiler lenf nodu metastazı, HER-2(+3) ekspresyonu ve ÖR negatifliği arasında ilişki saptamışlardır. PTEN kaybıyla kanserin histolojik gradı ve T evresi arasında da ilişki gösterilememişlerdir (86). Çalışmamızda da benzer olarak PTEN kaybıyla diğer klinik ve patolojik veriler arasında ilişki bulunamamışken, lenfovasküler invazyon PTEN kaybı olanlarda daha fazla oranda saptanmıştır. PTEN kaybının uzak metastazla ilişkili olduğu bulunmuş ve klasik prognostik belirteçlerden daha anlamlı olduğu belirtilmiştir (86). PTEN kaybının metastatik HER-2 pozitif meme kanserli hastalarda progresyonsuz sağkalımı ve genel sağkalımı azalttığı gösterilmiştir ve trastuzumab direncinden sorumlu tutulmuştur (87). Bu çalışmada HER-2 negatiflerde PTEN kaybı %64 olarak bildirilmiştir. Meme kanserli hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise PTEN kaybı %48 oranında gösterilmiştir. PTEN kaybının lenf nodu metastazını predikte ettiği gösterilmiş ve hastalığa bağlı ölüme artışa neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca ÖR negatifliğiyle ilişkili bulunurken tümörün evresi, gradı, hastalık rekürrensi ile ve PR negatifliğiyle ilişkisi bulunamamıştır (88). Çalışmamızda ise lenf nodu metastazıyla PTEN ekspresyon düzeyleri arasında ilişki bulunamamıştır. PTEN supresör geninde mutasyon meme kanserinde %5'den daha az oranda görülmektedir, ancak PTEN ekspresyonundaki azalma %30-50 oranında görülmektedir ve bu da kötü prognozla ilişkilidir (89). Düşük PTEN ekspresyon oranları trastuzumab gefitinib ve tamoksifen gibi meme kanseri tedavilerine cevapsızlıkla ilişkilendirilmiştir (90). PTEN kaybının bazaloid meme kanserli hastalardaki insidansını araştıran başka bir çalışmada PTEN seviyelerinin bazaloid grupta luminal tümörlere oranla daha düşük olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PTEN mRNA düşük ekspresyonu da reseptör pozitif gruba oranla reseptör negatif grupta daha fazla oranda saptanmıştır (91). Triplet negatif meme kanserinde PTEN kaybı

farklı oranlarda bildirilmiştir. Aynı hastalarda bazaloid belirteçlerden EGFR ekspresyonu ile PTEN kaybının birlikte değerlendirildiği bir çalışmada sırasıyla %76 ve %74 oranında bulunmuştur (92). Literatürde PTEN kaybının %37-74 (85,92) gibi geniş bir aralıkta bildirilmesi skorlama sisteminde kesin belirtilmiş değer olmaması ve değerlendirme tekniğindeki farklılıklara bağlı olabilir (İHK/ PCR). Triplet negatif meme kanserinde PTEN'nin prognoz üzerine etkisi araştırılmış ve PTEN kaybı olanlarda hastalıksız sağkalım süresinde azalma gözlenirken genel sağkalım üzerine etkisi gösterilememiştir. Ayrıca PTEN kaybı %63 oranında saptanmış ve diğer klinik ve patolojik karakteristiklerle de ilişkisi tespit edilememiştir (93). Çalışmamızda PTEN ekspresyon düzeylerinin triplet negatif meme kanserli hastaların prognozu üzerine etkisi araştırıldığında PTEN kaybı olanlarda olmayanlara göre nüks ve ölüm riskinde artış saptanmıştır (sırasıyla HR: 2,997 CI %95 1.407-6.383, **p=0,004**, HR: 2,43 CI %95 0.975-6.065, **p=0,05**). Ayrıca PTEN kaybı olanlarda hastalıksız sağkalım daha kısaydı. Genel sağkalım da PTEN kaybı olanlarda ekspresyonu olanlara göre daha kısaydı ancak fark anlamlı değildi. Çalışmamızda PTEN kaybı non bazal grupta daha fazla oranda görülürken, bazal alt grupta PTEN kaybı olanlarda ise genel sağkalım daha kısa bulundu ve aradaki fark anlamlıydı. Bazaloid grupta PTEN kaybı olanlarda hastalıksız sağkalım da benzer şekilde daha kısa tespit edildi, fakat aradaki fark anlamlı değildi. PTEN kaybı triplet negatif meme kanserli ve bazaloid meme kanserli hastalar için önemli bir prognostik faktördür ve bu grup hastaların tedavileri için hedef gibi gözükmektedir.

Triplet negatif hastalarda son yıllarda geliştirilen hedefe yönelik tedavi stratejileri: 1) BRCA-1 mutasyonu olanlarda PARP inhibitörleri, 2) PTEN kaybı olanlarda mTOR inhibitörleri, 3) FGFR2 amplifikasyonu olanlarda FGFR inhibitörleri, 4) EGFR amplifikasyonu olanlarda EGFR inhibitörleri, 5) VEGF-A amplifikasyonu olanlarda ise VEGF inhibitörleri kullanımıdır. Triplet negatif hastalarda alt grupları belirlemek ve bireyselleştirilmiş yeni tedavi stratejileri geliştirmek için daha fazla moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, triplet negatif meme kanserli hastalarda klasik prognostik belirteçlerden lenf nodu tutulumu ve tümör boyutunun yanı sıra CK5/6 ekspresyonu, PTEN kaybı ve c-Met yüksek ekspresyonu nüks ve ölüm riskini belirlemek açısından önemli prognostik belirteçlerdir. CK5/6 ekspresyonu lenfatik metastazda önemli gibi gözükürken, c-Met ekspresyonu ile bu ilişki bulunamamıştır. Yüksek

gradlı tümörler c-Met yüksek ekspresyonu gösterirken PTEN kaybı olan tümörlerde de lenfovasküler invazyon daha fazla gözükmemektedir. Triplet negatif meme kanserinde prognozu etkileyen bu faktörler birlikte değerlendirilerek daha etkin tedavi stratejileri geliştirilebilir.

SONUÇLAR

1. Bazaloid belirteçlerden CK5/6 ekspresyonu %50 oranında bulunmuştur. Bazal grupta lenf nodu pozitifliği bazal olmayanlara göre daha fazlaydı. Nüks ve ölüm riski bazaloidlerde daha fazlaydı. Benzer şekilde hastalıksız ve genel sağkalım da bazaloidlerde daha kısaydı. İnvaziv tümör boyutu ≥ 5 cm olan hasta sayısı bazal olmayan gruba göre daha fazlaydı. Menapoz ve yaş yönünden bazal olan ve olmayanlar arasında fark yoktu.
2. PTEN kaybı tüm triplet negatif hastalarda %43 bulunurken, nüks olan hastalarda ise %53 oranında gözlendi. PTEN kaybı ile lenfovasküler invazyon arasında pozitif yönde korelasyon saptanırken, diğer klinik ve patolojik verilerle anlamlı ilişki bulunamamıştır. PTEN kaybı olanlarda nüks ve ölüm riskinde artış saptandı. PTEN kaybı olanlarda hastalıksız ve genel sağkalım daha kısaydı.
3. c-Met yüksek ekspresyonu tüm hastalarda %52 iken, nüks gözlenenlerde ise %53,5 oranında belirlendi. Yüksek gradlı tümörlerde daha fazla oranda c-Met ekspresyonu saptandı. c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda nüks riskinde artış gözlendi, ancak ölüm riski üzerine etkisi belirlenemedi. c-Met yüksek ekspresyonu olanlarda hastalıksız ve genel sağkalım daha kısaydı.

KAYNAKLAR

1. Desantis C, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics for African Americans, 2013. *CA Cancer J Clin.* 2013 May;63(3):151-66.
2. Karaca H, Berk V, İnanç M, ve ark. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji bilim dalı'na 2006–2009 yılları arasında başvuran kanser hastalarının epidemiyolojik değerlendirilmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2011; 20(1):1–8.
3. King MC, Marks JH, Mandell JB. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA-1 and BRCA-2. *Science* 2003;302:643– 646.
4. Pike M, Bernstein L, Spicer D. Exogenous hormones and breast cancer risk. In: Neiderhuber J (Ed). *Current therapy in oncology*. St. Louis, Decker 1993.
5. Bhatia S, Yasui Y, Robison LL, et al. High risk of subsequent neoplasms continues with extended follow-up of childhood Hodgkin's disease: report from the Late Effects Study Group. *J Clin Oncol.* 2003;21:4386-94.
6. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. Signaling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 2001;37(4):3-8.
7. Klapper LN, Glathe S, Vaisman L, et al. The erbB2/HER-2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared coreceptor for multiple stroma derived growth factors. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96:4995-5000.
8. Prenzel N, Fisher OM, Streit S, et al. The epidermal growth factor family as a central element for cellular signal transduction and diversification. *Endocr Relat Cancer* 2001;8:11-31.
9. Stephen RDJ, Lu B, Scott GK, et al. Increased activator protein-1 DNA binding and c-Jun NH2-terminal kinase activity in human breast tumors with acquired tamoxifen resistance. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 251–256.
10. Bellacosa A, de Feo D, Godwin AK, et al. Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas. *Int J Cancer* 1995 ;64(4):280-5.

11. Starink TM, van der Veen JP, Arwert F, et al. The Cowden syndrome: a clinical and genetic study in 21 patients. *Clin Genet*. 1986;29(3):222-33.
12. Patterson RL, van Rossum DB, Nikolaidis N, et al. Phospholipase C-: diverse roles in receptor-mediated calcium signaling. *Trends Biochem Sci* 2005;30:688–97.
13. Bowman T, Garcia R, Turkson J et al. STATs in oncogenesis. *Oncogene* 2000;19:2474–2488.
14. Raymond E, Faivre S, Armand JP. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase as a target for anticancer therapy. *Drugs* 2000;60(1):15-23.
15. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor (EGFR) and its relationship to the estrogen receptor status in 1029 patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2002;71(1):67-75.
16. Yarden RI, Wilson MA, Chrysogelos SA. Estrogen suppression of EGFR expression in breast cancer cells: a possible mechanism to modulate growth. *J Cell Biochem* 2001;81(S36):232–246.
17. Jarasch ED, Nagle RB, Kaufmann M, et al. Differential diagnosis of benign epithelial proliferations and carcinomas of the breast using antibodies to cytokeratins. *Hum Pathol* 1988; 19:276-289.
18. Wellings SR, Roberts P. Electron microscopy of sclerosing adenosis and infiltrating duct carcinoma of the human mammary gland. *J Natl Cancer Inst* 1963;30:269-87.
19. Dairkee SH, Mayall BH, Smith HS, et al. Monoclonal marker that predicts early recurrence of breast cancer. *Lancet* 1987;1:514.
20. Korsching E, Packeisen J, Agelopoulos K, et al. Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis. *Lab Invest* 2002; 82:1525-1533.
21. Van de Rijn M, Perou CM, Tibshirani R, et al. Expression of cytokeratins 17 and 5 identifies a group of breast carcinomas with poor clinical outcome. *Am J Pathol* 2002;161:1991-1996.
22. 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* 2003;100(18):10393-8.

23. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, et al. Prediction of BRCA-1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin Cancer Res* 2005;11(14):5175-80.
24. Wirapati P, Sotiriou C, Kunkel S, Farmer P, et al. Meta-analysis of gene expression profiles in breast cancer: toward a unified understanding of breast cancer subtyping and prognosis signatures. *Breast Cancer Res.* 2008;10(4):R65.
25. Burstein HJ, Haris JR, Morrow M. Malignant tumours of the breast cancer. In: De vita, Hellman S, Rosenberg SA(eds). *Cancer. Principles & Practice of Oncology* (7th ed), Lippincott-Williams &Wilkins, 2011 Publishers, pp.1411-1413.
26. Fisher B, Bauer M, Wickherman DL. Relation of number positive axillary lymph nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer: an NSABP update. *Cancer* 1983;52:1551-8.
27. Seidman JD, Schnaper LA, Aisner SC. Relationship of the size of the invasive component of the primary breast carcinoma to axillary lymph node metastasis. *Cancer* 1995;75:65-71.
28. Bath A, Craig PH, Silverstein MJ. Predictors of axillary lymphnode metastases in patients with T1 breast carcinoma. *Cancer* 1997;79:1918-22.
29. Mansour EG, Rravdin PM, Dressler L. Prognostic factors in early breast cancer. *Cancer* 1994;74:381-400.
30. Clark GM, Osborne CK, McGuire WL. Correlations between estrogen receptor, progesterone receptor and patient characteristics in human breast cancer. *J Clin Oncol* 1984;2:1102-9.
31. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist* 2004;9(6):606-16.
32. Li J., Yen C., Liaw D. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast and prostate cancer. *Science* 1997;275:1943-1947.
33. Depowski P.L, Rosenthal S.I, Ross J.S. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. *Mod Pathol* 2001;14:672-676.
34. Gao CF, Vande Woude GF. HGF/SF-Met signaling in tumor progression. *Cell Researchs*, 15-1:49-51, 2005.

35. Firon M, Shaharabany M, Altstock RT, et al. Dominant negative Met reduces tumorigenicity-metastasis and increases tubule formation in mammary cells. *Oncogene*. 2000 May 11;19(20):238-97.
36. Jiang WG, Martin TA, Parr C, Davies G, et al. Hepatocyte growth factor, its receptor, and their potential value in cancer therapies. *Critical Reviews in Oncology and Hematology*, 53-1:35-69, 2005.
37. Veronesi U. Conservation surgery and irradiation in stages 1 and 2 disease. European experience In: Bland KI, Copeland EM, eds. *The Breast: Comprehensive management of benign and malignant diseases* (2nd ed). W:B Saunders, Philadelphia 1998 pp. 1191-1196.
38. Regan MM, Price KN, Giobbie-Hurder A, et al. International Breast Cancer Study Group and BIG 1-98 Collaborative Group. Interpreting Breast International Group (BIG) 1-98: a randomized, double-blind, phase III trial comparing letrozole and tamoxifen as adjuvant endocrine therapy for postmenopausal women with hormone receptor-positive, early breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2011 May 26;13(3):209.
39. Pritchard Ki, Shepherd LE, O'Malley FP, et al. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. HER-2 and responsiveness of Breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006;354(20):2103-11.
40. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 10;26(8):1275-81.
41. Hugh J, Hanson J, Cheang MC, et al Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial.
42. Gianni L, Dafni U, Gelber RD, et al. Herceptin Adjuvant (HERA) Trial Study Team. Treatment with trastuzumab for 1 year after adjuvant chemotherapy in patients with HER-2-positive early breast cancer: a 4-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2011 Mar;12(3):236-44.
43. Miller K, Wang M, Gralow J, et al. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2007;357(26):2666-76.

44. Razis E, Bobos M, Kotoula V, et al. Evaluation of the association of PIK3CA mutations and PTEN loss with efficacy of trastuzumab therapy in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2011 Jul;128(2):447-56.
45. Kong DS, Song SY, Kim DH, et al. Prognostic significance of c-Met expression in glioblastomas. *Cancer.* 2009 Jan 1;115(1):140-8.
46. Nassar A, Sussman ZM, Lawson D, et al. Inference of the Basal epithelial phenotype in breast carcinoma from differential marker expression, using tissue microarrays in triple negative breast cancer and women younger than 35. *Breast J.* 2012 Sep;18(5):399-405.
47. Langlands AO, Pocock SJ, Kerr GR, Gore SM. Long-term survival of patients with breast cancer: a study of the curability of the disease. *Br Med J.* 1979 Nov 17;2(6200):1247-51.
48. Rutqvist LE, Wallgren A. Influence of age on outcome in breast carcinoma. *Acta Radiol Oncol.* 1983;22(4):289-94.
49. 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 May;12(5):888-94.
50. 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.
51. Anderson BO, Senie RT, Vetto JT, et al. Improved survival in young women with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 1995;2:407-415.
52. Henderson IC, Patek AJ. Are breast cancers in young women qualitatively distinct?. *Lancet.* 1997 May 24;349(9064):1488-9.
53. Putti TC, El-Rehim DM, Rakha EA, et al. Estrogen receptor-negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis. *Mod Pathol.* 2005 Jan;18(1):26-35.
54. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer.* 1989 Jan 1;63(1):181-7.
55. Fisher ER, Costantino J, Fisher B, et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol 4). Discriminants for 15-year survival. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Investigators. *Cancer.* 1993 Mar 15;71(6 Suppl):2141-50.

56. Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, et al. 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 Sep;7(9):1239-51.
57. Grann VR, Troxel AB, Zojwalla NJ, et al. Hormone receptor status and survival in a population-based cohort of patients with breast carcinoma. *Cancer*. 2005 Jun 1;103(11):2241-51.
58. Scawn R, Shousha S. Morphologic spectrum of estrogen receptor-negative breast carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2002 Mar;126(3):325-30.
59. Tseng LM, Hsu NC, Chen SC, et al. Distant metastasis in triple-negative breast cancer. *Neoplasma*. 2013;60(3):290-4.
60. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8418–23.
61. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004 Aug 15;10(16):5367-74.
62. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2002 Dec 19;347(25):1999-2009.
63. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 2006 Jun 7;295(21):2492-502.
64. Dairkee SH, Mayall BH, Smith HS, et al. 87 Feb 28;1(8531):514. Monoclonal marker that predicts early recurrence of breast cancer. *Lancet*. 1987 Feb 28;1(8531):514.
65. Korsching E, Packeisen J, Agelopoulos K, et al. Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis *Lab Invest*. 2002 Nov;82(11):1525-33.
66. Kanapathy Pillai SK, Tay A, Nair S, et al. Triple-negative breast cancer is associated with EGFR, CK5/6 and c-KIT expression in Malaysian women. *BMC Clin Pathol*. 2012 Sep 26;12:18.

67. Ryu DW, Jung MJ, Choi WS, et al. Clinical significance of morphologic characteristics in triple negative breast cancer. *J Korean Surg Soc.* 2011 May;80(5):301-6.
68. Dogu GG, Ozkan M, Ozturk F, et al. Triple-negative breast cancer: immunohistochemical correlation with basaloid markers and prognostic value of survivin. *Med Oncol.* 2010 Mar;27(1):34-9.
69. 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 Res.* 2007;9(1):R4.
70. Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol.* 2004 Jun;203(2):661-71.
71. Birchmeier C, Birchmeier W, Gherardi E, et al. Met, metastasis, motility and more. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003 Dec;4(12):915-25.
72. Firon M, Shaharabany M, Altstock RT, et al. Dominant negative Met reduces tumorigenicity-metastasis and increases tubule formation in mammary cells. *Oncogene.* 2000 May 11;19(20):2386-97.
73. Schoedel KE, Tyner VZ, Kim TH, et al. HGF, MET, and matrix-related proteases in hepatocellular carcinoma, fibrolamellar variant, cirrhotic and normal liver. *Mod Pathol.* 2003 Jan;16(1):14-21.
74. Inanç M, Er O, Karaca H, et al. Prognostic value of tumor growth factor levels during chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Med Oncol.* 2012 Dec;29(5):3119-24.
75. De Bacco F, Luraghi P, Medico E, et al. Induction of MET by ionizing radiation and its role in radioresistance and invasive growth of cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2011 Apr 20;103(8):645-61.
76. Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Monville F, et al. Gene expression profiling of breast cell lines identifies potential new basal markers. *Oncogene.* 2006 Apr 6;25(15):2273-84.
77. Gonzalez-Angulo AM, Chen H, Karuturi MS, et al. Frequency of mesenchymal-epithelial transition factor gene (MET) and the catalytic subunit of phosphoinositide-3-kinase (PIK3CA) copy number elevation and correlation with outcome in patients with early stage breast cancer. *Cancer.* 2013 Jan 1;119(1):7-15.

78. Zagouri F, Bago-Horvath Z, Rössler F, et al. High MET expression is an adverse prognostic factor in patients with triple-negative breast cancer. *Br J Cancer*. 2013 Mar 19;108(5):1100-5.
79. Garcia S, Dalès JP, Charafe-Jauffret E, et al. Poor prognosis in breast carcinomas correlates with increased expression of targetable CD146 and c-Met and with proteomic basal-like phenotype. *Hum Pathol*. 2007 Jun;38(6):830-41.
80. Christensen JG, Burrows J, Salgia R. c-Met as a target for human cancer and characterization of inhibitors for therapeutic intervention. *Cancer Lett*. 2005 Jul 8;225(1):1-26.
81. Edakuni G, Sasatomi E, Satoh T, et al. Expression of the hepatocyte growth factor/c-Met pathway is increased at the cancer front in breast carcinoma. *Pathol Int*. 2001 Mar;51(3):172-8.
82. Saal LH, Holm K, Maurer M, et al. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma. *Cancer Res*. 2005 Apr 1;65(7):2554-9.
83. Gonzalez-Angulo AM, Ferrer-Lozano J, Stemke-Hale K, et al. PI3K pathway mutations and PTEN levels in primary and metastatic breast cancer. *Mol Cancer Ther*. 2011 Jun;10(6):1093-101.
84. Phuah SY, Looi LM, Hassan N, et al. Triple-negative breast cancer and PTEN (phosphatase and tensin homologue) loss are predictors of BRCA-1 germline mutations in women with early-onset and familial breast cancer, but not in women with isolated late-onset breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2012 Nov 2;14(6):R142.
85. Stefansson OA, Jonasson JG, Olafsdottir K, et al. CpG island hypermethylation of BRCA-1 and loss of pRb as co-occurring events in basal/triple-negative breast cancer. *Epigenetics*. 2011 May;6(5):638-49.
86. Piekarski JH, Biernat W. Clinical significance of CK5/6 and PTEN protein expression in patients with bilateral breast carcinoma. *Histopathology*. 2006 Sep;49(3):248-55.
87. Razis E, Bobos M, Kotoula V, et al. Evaluation of the association of PIK3CA mutations and PTEN loss with efficacy of trastuzumab therapy in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 Jul;128(2):447-56.

- 88.** Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. *Mod Pathol.* 2001 Jul;14(7):672-6.
- 89.** Tsutsui S, Inoue H, Yasuda K, et al. Reduced expression of PTEN protein and its prognostic implications in invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncology.* 2005;68(4-6):398-404.
- 90.** Pfeiler G, Horn F, Lattrich C, et al. Apoptotic effects of signal transduction inhibitors on human tumor cells with different PTEN expression. *Oncol Rep.* 2007 Nov;18(5):1305-9.
- 91.** Neto JC, Ikoma MM, Carvalho KC, et al. MGMT and PTEN as potential prognostic markers in breast cancer. *Exp Mol Pathol.* 2012 Feb;92(1):20-6.
- 92.** Martin V, Botta F, Zanellato E, et al. Molecular characterization of EGFR and EGFR-downstream pathways in triple negative breast carcinomas with basal like features. *Histol Histopathol.* 2012 Jun;27(6):785-92.
- 93.** Iqbal J, Thike AA, Cheok PY, et al. Insulin growth factor receptor-1 expression and loss of PTEN protein predict early recurrence in triple-negative breast cancer. *Histopathology.* 2012;61(4):652-659

TC.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Uz. Dr. Mevlüde İnanç'a ait “**Triplet Negatif Meme Kanserli Hastalarda Sitokeratin 5/6, c-Met ve PTEN Ekspresyonlarının Prognoz Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi**” adlı çalışma, jürimiz tarafından Onkoloji Bilim Dalı'nda Tıpta Yan Dal Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:
İmza

Başkan İmza

Üye İmza

Üye İmza

Üye İmza

Üye İmza