

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**MEME KANSERLİ HASTALARDA (İNVASİV
DUKTAL KANSİNOM TANILI) AKSİLLER
LENF NODU TUTULUMU İLE C-ERB B₂
ONKOGENİ ARASINDA İLİŞKİ VAR MI?**

80371

UZMANLIK TEZİ

YÖNLENDİREN: PROF. DR. SELAHATTİN SANAL

Dr. BÜLENT KARABULUT

İZMİR, 1999

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İNDİX

	Sayfa No
Önsöz.....	III
Kısaltmalar.....	IV
Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi.....	1
Meme Kanserinin Biyolojisi.....	11
Giriş.....	25
Materyal-Metod.....	26
Sonuçlar.....	27
Tartışma.....	28
Kaynaklar.....	31

ÖNSÖZ

E.Ü.T.F İç Hastalıkları A.B.D'da 1993 Kasım ayında başladığım asistanlığım süresince bana verdikleri eğitim yanında, manevi desteklerini eksik etmeyen, başta anabilim dalı başkanım Prof.Dr.Gürhun Atabay olmak üzere, tüm öğretim elemanlarına teşekkür ediyorum. Ayrıca bitirme tezimde beni yönlendirip, tecrübe ve teorik bilgilerini benimle paylaşarak yoğun bilimsel destek veren medikal onkoloji bilim dalı başkanı Prof.Dr.Selahattin Sanal'a ve diğer medikal onkoloji öğretim elemanları Prof.Dr.Banu Çiçek Bilkay'a, Doç.Dr.Erdem Göker'e, Ydr.Doç.Dr.Erhan Gökmen', Uzm.Dr.Ulus Ali Şanlı'ya ve Uzm.Dr.Rüçhan Uslu'ya, ayrıca tezimin laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı E.Ü.T.F Patoloji A.B.D öğretim elemanları ve diğer çalışanlarına, bana asistanlığımın her aşamasında olduğu gibi bu çalışmamda da destek veren eşime teşekkür ediyorum.

KISALTMALAR

BCRA.....Breast Cancer Susceptibility Gene (Meme kanserine yatkınlık geni)

DNA.....Deoksiribonükleik asid

EGF.....Epidermal Growth Factor (Epidermal Büyüme Faktörü)

EGFR.....EGF reseptörü

E.....Östrojen

ER.....Östrojen reseptörü

FGF.....Fibroblast Growth Factor (Fibroblast Büyüme Faktörü)

FGFR.....FGF reseptörü

IGF.....İnsülin-like Growth Factor (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü)

IGFR.....IGF reseptörü

MMTV.....Fare Meme Kanseri Virüsü

mRNA.....Mesajcı Ribonükleik asid

OKS.....Oral Kontraseptif

P.....Progesteron

PR.....Progesteron reseptörü

Rb.....Retinoblastom Geni

ÇYDY.....Çevre yumuşak doku yayılımı

LMN.....Lenf nodu metastazı

IDK.....İnvaziv duktal karsinom

TNF.....Tümör nekroz faktör

NK.....Natural Killer (Doğal öldürücü)

MEME KANSERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ VE ETYOLOJİSİ

EPİDEMİYOLOJİ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen tümör olup, Avrupa'da yılda 180 bin, A.B.D'de de yılda 182 bin yeni olgu saptanmaktadır(1,2).

1948-1985 yılları arasında kadınlarda kansere bağlı ölümlerden %80 oranında meme kanseri sorumlu tutulurken, 1985 yılından sonra ilk sırayı akciğer kanseri almıştır (3).

A-GÖRÜLME SIKLIĞI

Meme kanseri görülme sıklığı 1973'ten itibaren A.B.D'de yılda %1.8; dünyanın çeşitli ülkelerinde de %1-2 oranında artış göstermektedir. Dünyada yaklaşık 1 milyon yeni olguya tanı konulmaktadır (1).

Amerikalı bir kadında yaşam süresi boyunca meme kanseri gelişme olasılığı %10, meme kanserinden ölüm olasılığı ise %3 olarak saptanmıştır (4). Hastalık gelişme riski yaş ile doğrudan ilişkili bulunmuştur. Meme kanseri 30 yaşından önce nadir olup, bu yaşı takip eden reproduktif yıllarda hızlı bir tırmanışa geçmekte, menapoz dönemindeki hafif azalmayı takiben de menapoz sonrası yıllarda yavaş eğimle sürekli devam eden bir artış ortaya çıkmaktadır (5).

Meme kanseri sıklığı dünya üzerinde ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir. Amerika'da yılda yüzbinde 80-90 oranında görülürken, Japonya'da ise bu oran yüzbinde 12-15 gibi oldukça düşük oranlarda görülmektedir (5). Avrupa'da ise sıklık kuzey ve batı ülkelerinde, güney ve doğu ülkelerine göre daha yüksek bulunmuştur (6). Dünya ülkeleri arasında izlenen bu insidans farklılığı, menapoz sonrası kadınlarda izlenirken, menapoz öncesi kadınlar arasında bu fark ortadan kalkmaktadır (7).

Benzer şekilde, görülme sıklığındaki büyük farklılıklar, aynı ülkede yaşayan farklı etnik gruplar arasında, siyah-beyaz ırk arasında da izlenmektedir (7,8). Bu da

meme kanser etyolojisinde genetik, sosyokültürel, çevresel etkenler rol oynadığı anlamına gelmektedir. Başka ülkelere göç eden ailelerde yapılan çalışmalarda göç eden kadınlarda meme kanseri sıklığının, birkaç nesil sonra, göç ettikleri ülkenin sıklık düzeylerine ulaştığı gösterilmiştir (9).

B-MORTALİTE

Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %18'i meme kanseri nedeni ile oluşmakta, meme kanserine bağlı ölümler akciğer kanseri ve kolorektal kanserlerden sonra 3. sırayı almaktadır (2,3). Mortalitede de ölüm sıklığı yaşla doğru orantılı biçimde artmaktadır. Kansere bağlı ölümler ile yaş grupları arasındaki ilişki araştırıldığında ise 40-44 yaş arasında meme kanseri ilk sırayı almaktadır (10). Dünyada meme kanserine ilişkin mortalite ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir. Bu oran İngiltere'de en yüksek bulunurken, Japonya ve Tayland'da ise en düşük olarak saptanmıştır (2). Göç eden insanlar arasında zaman içinde oluşan mortalite değişikliği meme kanseri oluşumunda çevresel etkenlerin ve yaşam tarzının önemli faktörler olduğu görüşünü desteklemektedir. Meme kanseri mortalite oranlarında 1973 yılından beri artış olduğu, ancak bu oranın insidans kadar belirgin olmadığı belirlenmiştir (11).

ETYOLOJİ

İnsanlarda meme kanserinin nedeni bilinmemektedir. Genetik, çevresel, hormonal, sosyobiyolojik ve psikolojik etkenlerin oluşumunda rol aldığı kabul edilmekle beraber, meme kanserli kadınların %75-80'i bu riskleri taşımamaktadır. Hayvan çalışmalarda ise bazı kimyasal maddeler, iyonizan radyasyon ve virüslerin meme kanser oluşumunda etken oldukları gösterilmiştir (12).

A-GENETİK ETKENLER, HEREDİTER SENDROMLAR

1-GENETİK ETKENLER

Asya'lı kadınlarla, batı ülkelerindeki kadınlar arasında meme kanseri görülme sıklığı ve mortalitesindeki belirgin farklar meme kanserli kişilerin ailelerinde iki-

üç kat artmış meme kanseri ortaya çıkışı, meme kanseri oluşumunda genetik etkenlerin rol aldığını düşündürmektedir (5,7,13,14,15).

Meme kanserine ailesel yatkınlık ilk olarak 1866'da Broca tarafından kendi eşinin ailesinde dört nesil boyunca 24 kadının 10'unda meme kanseri ortaya çıkışı sonucu ile ileri sürülmüştür (16). Daha sonra Macklin meme kanserli bir kişinin annesinde toplumdaki kadınlara göre meme kanserinin gelişme olasılığının 2 kat, kızkardeşinde ise 2.5 kat fazla olduğunu göstermiştir (17). Daha sonra yapılan çalışmalarda postmenapozal meme kanserli kadınların ailelerinde riskin artmadığı, premenapozal meme kanserli kadınlarda ise bu riskin arttığı belirlenmiştir (17). Eğer meme kanseri bilateral ise, akrabalarda meme kanseri riski 5 kat, bilateral ve premenapozal dönemde ortaya çıkmışsa bu risk 9 kat artmaktadır (17). Tüm bu araştırmalarda, annesi ve kızkardeşinde premenapoz döneminde ortaya çıkan meme kanseri (birinde bilateral) olan bir bayan için meme kanseri gelişme riski %50 olarak belirlenmiştir (17).

Meme kanseri aile öyküsü olan bir kişide, meme kanseri daha erken yaşlarda ortaya çıkmakta olup, hastalık bilateral olma eğilimindedir. Hastalığın erken ortaya çıkma eğilimi, annesinde meme kanseri olan kişilerde daha belirgindir (18).

Tüm bu çalışmalara ve sonuçlarına karşın, artmış ailesel riskin ne kadarının genetik olarak geçmiş etmenlere, ne kadarının da ailesel olarak ortak yaşam tarzına, beslenme alışkanlığına bağlı olduğunu söyleyebilmek bugün için mümkün değildir.

Lynch ve arkadaşlarının yaptığı soyağacı çalışmalarında, gerçek herediter meme kanseri olguları, tüm olguların %8'i olduğu gösterilirken, başka bir çalışmada bu oran sadece %5 olarak bildirilmiştir (19,20).

Son yıllarda ailevi meme kanserleri ile ilişkili çalışmalar yoğunlaştırılmış ve bu konu ile ilişkili genetik çalışmalar yapılmıştır, Bu genlerden ilki BCRA-1 (Breast Cancer Susceptibility gene- meme kanserine yakınlık geni)'dir. Otozomal dominant bir

gen olan BCRA-1 geni, 17. Kromozomun uzun bacağına yerleşmiş olup, mutasyonlar sonrası ailevi meme kanseri etyolojisinde rol oynadığı belirlenmiştir (21). Herediter olmayan grupta ise bu genin rolünün olmadığı gösterilmiştir (21). Yapılan bir çalışmada BCRA-1 geninde mutasyon gelişen bir kadının 70 yıllık yaşam süresi boyunca meme kanserine yakalanma riski %85 olarak belirlenmiştir (22). Bir diğer gen ise BCRA-2 genidir. Bu genin ise erken hastalık gelişiminde ve bilateral hastalık gelişiminde rol aldığı tespit edilmiştir (22). Bu geni taşıyan kadınlarda ise meme kanseri oluşma riski %87 olarak belirlenmiştir. BCRA-2 geninin BCRA-1'den farklı olarak, artmış over kanser riski ile ilişkisi gösterilmemiştir.

Tüm bu genetik çalışmalar yanında, yine de gerek genetik gerekse çevresel etkenlerin rolleri tam aydınlatılabilmiş değildir.

2-HEREDİTER SENDROMLAR

Bazı herediter sendromlarda meme kanseri riskinin arttığı tespit edilmiştir. Bu sendromlar herediter meme-over sendromu, bölgeye spesifik herediter meme kanseri, Li-Fraumeni sendromu, Cowden sendromu ve Muir sendromu olup, ayırıcı tanı ve ailelerin yönlendirilmesi açısından önemlidir.

Herediter meme-over sendromlu kişilerin tamamında mutant BCRA-1 geni gösterilmiştir. Bu kişilerin 70 yıllık yaşamları boyunca %85 oranında meme kanseri geliştiği belirlenmiştir (23).

Bölgeye spesifik meme kanseri, BCRA-2 geni ile yakın ilişkili bulunmuştur. Hastalık premenapozal dönemde ve erken ortaya çıkmakta ve bilateral başlangıç göstermektedir (22). Meme kanseri oluşma riski %90 olarak belirlenen bu kişiler sık taramalarla takip edilmeli ve gereğinde koruyucu cerrahi düşünülmelidir.

Li-Fraumeni sendromu, 1969'da tanımlanmıştır. Otozomal dominant bu sendromda sadece meme kanseri değil değişik malignitelerin eşlik ettiği saptanmıştır (24). Yumuşak doku sarkomları, beyin tümörleri, lösemi, akciğer kanserleri ve adrenal korteks tümörleri gelişebilmektedir.

Cowden sendromu, otozomal dominant kalıtılan nadir bir sendrom olup, multipl mukokütanöz hamartom, tiroid tümörü, memede fibrokistik değişiklikler birarada görülür. %50 meme kanseri riski taşıyan bu bireylere de profilaktik bilateral mastektomi önerilebilmektedir (25).

Muir sendromu, multipl cilt tümörleri ve gastrointestinal sistemin multipl selim ve habis tümörleri ile seyreden otozomal dominant bir sendromdur (26). Bu sendromda, kadınlarda menapoz sonrası meme kanseri oluşma riski oldukça yüksek olarak bulunmuştur.

B-ENDOKRİN ETKENLER

Meme kanseri hormonların kontrolünde olan meme dokusundan çıktığından, meme kanseri oluşumunda hormonların etkisi olduğu düşünülmektedir.

1-REPRODÜKTİF ETKENLER

1-1 Menarş yaşı

Erken menarşın meme kanseri gelişiminde bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (27). Genel olarak menarşın her bir yıl geçikmesi ile meme kanseri riskinin %20 oranında azaldığı kabul edilmektedir. Fakat meme kanseri riski yönünden menstruasyon başlama yaşı yanında ilk düzenli menstruasyon yaşı da önemlidir. Menarşı takiben düzenli menstruasyonun bir yıl içinde başlaması, düzenli menstruasyonu 1 yıldan geç başlayanlara göre riski 2 katına çıkarmaktadır. Bu gözlemler düzenli ovulatuvar siklusun kadınlarda meme kanseri gelişme riskini arttırdığını düşündürmektedir. Düzenli ovulasyon ile kadınların daha çok östrojen ve progesterona sahip olacağı ve bunun da meme kanseri riskinin artmasını açıklayabileceği düşünülmektedir.

1-2 Menapoz yaşı

45 yaşından önce menapoza giren kadınların meme kanseri riski, 55 yaşından sonra menapoza giren kadınlara göre 2 kat daha düşük bulunmuştur. Aktif

menstruasyon dönemi uzunluğu ile meme kanseri riski arasında doğru bir orantı vardır. Bir diğer kanıt bilateral ooforektomili ya da radyoterapi sonrası menapoza giren kadınların daha düşük meme kanseri riskine sahip olmalarıdır.

1-3 İlk hamilelik ve ilk doğum yaşı

Evlenmemiş ve hiç doğum yapmamış kadınların, doğum yapan kadınlara göre 1.4 kat daha fazla meme kanserine yakalanma riski belirlenmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise hamileliğin koruyucu etkisinin, ilk hamilelik yaşı ile korele olduğu gösterilmiştir. Buna göre ilk doğumu 30 yaşından sonra yapan bir kadının meme kanseri riski, 20 yaşından önce doğum yapan kadınlara göre 4 kat daha fazla risk taşıdığı tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada ise, evli ve geç doğum yapan kadınlarda meme kanseri riski, hiç doğum yapmamış kadınlara oranla daha yüksek bulunmuştur. Doğum sayısı ile meme kanseri gelişimi arasında ters orantı saptanmıştır. Her iki doğumda bir, meme kanseri gelişme riski %15 oranında azalmaktadır. Diğer ilginç bir gözlemde, ilk doğum öncesi, ilk 3 ayda yapılan spontan abortus ve düşüğün meme kanseri riskini artırdığıdır. Ancak bunun karşıtı görüşler de bildirilmektedir.

1-4 Laktasyon

Meme kanseri üzerine olan etkisi tam bilinmemektedir. Buna karşın, uzun süren laktasyonun ovulasyonu engellemesi ile koruyucu etkisi olduğu iddia edilmektedir.

2-HORMONLAR

2-1 Östrojenler

Meme kanserinin over fonksiyonları ile yakın ilişkili olması, meme kanserinin östrojenle ilişkili olabileceğini akla getirmiştir. Hayvan deneylerinde, eksojen verilen östradiol ile meme kanser riskinin arttığı, ooforektomi veya anti-östrojenler ile bu riskin azaldığı gösterilmiştir (28). Östrojenler, meme dokusunda normal ve tümöral

hücrelerin büyümesini uyarırlar, ancak bu etki tümöral hücrelerde daha belirgindir. Ayrıca östrojenler tümör hücrelerine direk etki ile mitojenik büyüme faktörü salgılamalarını da sağlarlar. Östrojenin bu etkileri saptandıktan sonra yapılan çalışmalarda, meme kanseri insidansının daha düşük olduğu Asya'lı kadınlarda, bu insidansın daha yüksek olduğu Avrupa'lı kadınlara oranla daha düşük serum östradiol ve idrar östradiol düzeylerine sahip olduğu saptanmıştır (29).

Yine de, östrojen düzeyleri düşük olan postmenapozal kadınlarda meme kanseri görülme sıklığının yüksek olması başka etyolojik faktörlerin etkisini ortaya koymaktadır.

2-2 Androjenler

Androjenler de meme kanseri riskini arttırmaktadır. Postmenapozal kadınlardaki artmış meme kanseri riski, bu yaş grubundaki kadınlarda androjen yükseklikleri ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca kistik hastalıkta uygulanan androjenler ile meme kanseri riskinin artması, meme kanserli premenapozal kadınlarda yüksek androjen ve düşük progesteron düzeylerinin saptanması ve meme kanseri görülme riski düşük olan japon kadınlarda düşük androjen seviyeleri bu görüşü destekleyen verilerdir (30).

2-3 Progesteron

Progesteron,  strojen varlığında meme epitelinin proliferasyonunu uyarmaktadır. Hayvan çalışmalarında progesteronun duktal büyümeyi uyardığı saptanmıştır. Eğer progesteron meme kanseri riskini arttırıyorsa, meme kanserli hastaların ovulatuar sikluslarının daha sık olması gerekmektedir. Siklus farklılıklarının da folliküler dönemdeki süre değişimlerine bağlı olduğu düşünülürse, bu kişilerde bu dönem de daha kısa olmalıdır. Çalışmalarda bu verileri destekler sonuçlar bildirilmiştir. Ancak progesteronun meme kanserine karşı koruyucu etkilerinin de olduğu savunulmaktadır. İlginç bir araştırmada ise klinik olarak progesteron eksikliği saptanan

hastalarda meme kanseri riskinin arttığı saptanmıştır. Tüm bu veriler ışığında progesteronun meme kanserindeki yeri tam aydınlatılamamıştır.

3-EKZOJEN HORMONLAR

Sentetik ve doğal östrojenler hamileliğin önlenmesi veya menapoz sonrası ortaya çıkan değişikliklerin giderilebilmesi amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır. Östrojen ve progesteron içeren oral kontraseptif ilaçların (OKS) meme kanseri oluşumunda etkilerini araştıran pekçok çalışma mevcuttur. Tüm bu çalışmalarda ortaya çıkabilecek tek kesin sonuç OKS' lerin meme kanserine karşı koruyucu etkilerinin olmadığıdır. Bazı çalışmalarda ise OKS' lerin meme kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda da OKS kullanılan her yıl için meme kanseri riski %3.1 arttığı gösterilmiştir (31).

Menapoz sonrası ortaya çıkan değişiklikleri gidermek için östrojenler dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha sonra saptanan endometrium kanseri riskini arttırmaları ile kullanımı nispeten kısıtlanmıştır. Daha sonra ise progesteron ile kombine preparatlar ile bu riskin azalması kullanımının yine artmasına neden olmuştur. Hoover ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada dışardan verilen östrojen preparatlarının meme kanseri riskini %25 oranında arttırdığı gösterilmiştir ve kullanım süresi ile bu riskin daha da arttığı saptanmıştır(32). Yapılan çalışmalarda, kullanılan her bir yıl için meme kanseri riskinin %3.1 oranında arttığı saptanmıştır (31). Endojen ve ekzojen östrojenlerin meme kanseri riski yönünden yapılan çalışmalarda, ekzojen hormonların 2 kat daha fazla risk taşıdığı tespit edilmiştir (33). Sadece östrojen kullanımı ile kombine östrojen ve progesteron kullanımının meme kanseri gelişimi üzerine olan etkileri kıyaslandığında da, özellikle uzun süreli kullanımlarda kombine tedavi alan grupta kanser gelişme relatif riskinin anlamlı olarak daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir (34).

C-ÇEVRESEL ETKENLER

1-BESLENME

Beslenme ve özellikle de yağdan zengin beslenme ile meme kanseri gelişimi arasındaki ilişki uzun zamandan beri bilinmektedir (1). Göçlerle meydana gelen meme kanser insidans değişiklikleri ve bu insidansın ülkeden ülkeye değişmesi sadece genetik faktörler ile meme kanser gelişiminin açıklanamayacağı anlamına gelmektedir.

1-1 Besinlerdeki yağ miktarı

Yapılan çalışmalarda meme kanseri gelişimi ile yağdan zengin beslenme arasında yakın ilişki gösterilmiştir. Hatta bazı araştırmacılar, meme kanser gelişiminden %50 oranında bu faktörü sorumlu tutmuşlardır. Ancak yağlı gıdalarla beslenme-kanser ilişkisini gösteremeyen çalışmalar da sunulmuştur. Yinede genel kanı yağdan zengin beslenmenin bir risk oluşturduğu ve bu nedenle günlük gıdaların %27' sini aşmayacak şekilde yağ alınmasıdır.

1-2 Besinlerdeki lif miktarı

Liften zengin gıdaların, barsaktan, karaciğer yolu ile atılan östrojenin absorpsiyonunu engellediği için meme kanserinden koruyucu etkileri olduğu savunulmuş ve bu teori hayvan deneylerinde de gösterilmiştir. Çelişkili sonuçlara rağmen günümüzde liften zengin gıdalarla beslenmenin koruyucu rolü tam kabul görmemektedir.

1-3 Boy ve vücut ağırlığı

Yapılan çalışmalarda, boy ile meme kanseri arasında az da olsa anlamlı bir ilişki olduğu ve bunun nedeninin de enerji alımına bağlı olduğu gösterilmiştir. Ancak düşük enerjinin meme kanseri gelişimini azaltacağı inancı günümüzde kabul edilmesi güç bir düşüncedir. Vücut ağırlığı ile ilgili yapılan çalışmalarda ise, premenapozal dönemde düşük vücut ağırlığı, postmenapozal dönemde ise yüksek vücut ağırlığı riski artırdığı gösterilmiştir.

2- VİTAMİNLER

2-1 A Vitamini

A vitamini, antioksidan özellikleri nedeni ile, DNA hasarına yol açan serbest oksijen radikallerini nötralize ederek hücrel savunmayı artırabilir. A vitamini hücre farklılaşmasını da sağladığından, malign transformasyonu da engelleyebilir. Meme kanseri ile A vitamini arasında ilişkiyi saptama amaçlı yapılan çalışmalarda, A vitamininin meme kanseri gelişimine karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

2-2 E Vitamini

E vitamininin de A gibi meme kanserine karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir.

2-3 C Vitamini

C vitamini de anti-oksidan özellikleri nedeni ile koruyucu bir vitamindir.

3- SELENYUM

Hücre proliferasyonunu inhibe eden ve anti-oksidan bir enzim olan glutatyon peroksidazın önemli bir komponentidir. Hayvan çalışmalarında yüksek miktarlarda verildiğinde kanser gelişiminde koruyucu etkileri saptanmıştır. Ancak meme kanseri ile ilişkisi tam gösterilememiştir.

4- ALKOL

Alkol alımı ile meme kanser gelişimi korele bulunmuştur. Mekanizma tam olarak tanımlanamamasına rağmen, bazı araştırmalarda, alkolün östrojen düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir.

5- İYONİZAN RADYASYON

İyonizan radyasyonun dokular üzerine olan etkileri erken ve geç şekilde ortaya çıkar. Geç etkiler de kendi arasında somatik geç etkiler ve genetik geç etkiler olarak 2' ye ayrılır. Maturasyonunu tamamlamamış meme dokusu radyasyona çok duyarlı olup, radyasyona maruz kalma sonrası, gelişme bozuklukları ve kanser

gelişebilir. Bu nedenle de çocukluk çağında çeşitli nedenlerle radyoterapi uygulanmışsa 20 yaşından sonra düzenli mammografi incelemeleri yapılmalıdır. Bu kişilerde uzun bir latent dönem sonrası 3.6 kat artmış meme kanseri riski bildirilmektedir. Genel diagnostik radyolojide ise meme kanseri riski %1' in altındadır. 2. Dünya savaşında atom bombası ile radyasyona maruz kalan kişilerde meme kanseri insidansının arttığı saptanmıştır.

6- ELEKTROMAGNETİK ALANLAR

Elektirik işinde çalışan kadınlar üzerinde yapılan araştırmada, bu kadınlarda artmış meme kanseri insidansı saptanmıştır.

7- FİZİKSEL AKTİVİTE

Aşırı fiziksel aktivite ile menarş yaşının gecikmesi, daha sonraki menstruel siklusların düzensizleştiği saptanmış, bunun da meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir.

8-SİGARA

İlk çalışmalarda, östrojen metabolizmasını artırması ve menapoz yaşını erkene alması nedeni ile koruyucu olduğu iddia edilmiş, ancak daha sonraki çalışmalarda herhangi bir etkisi gösterilememiştir.

MEME KANSERİNİN BİYOLOJİSİ

Tümör biyolojisi ve genetiği açısından uygun bir model sistem oluşturan meme kanseri bu sayede giderek artan biçimde araştırılmış, buna paralel olarak da kanser türüne ilişkin bilgilerimiz de bir o kadar artmıştır. Elde edilen bu yeni bilgiler de bu hastalıktan korunma, tanı ve tedavi yaklaşımlarında yeni görüşlere ve sonuçlara yol açmıştır.

Normal meme dokusunun kanser hücresine dönüşmesi çok aşamalı ve karmaşık bir süreçtir. Başlangıçta, normal hücrelerde gerçekleşen ve nükleer ya da sitoplazmik onkogenleri aktive eden, transkripsiyonu düzenleyen mekanizmaları,

sinyal moleküllerini etkileyen, büyüme faktörü ve reseptör etkileşimini bozan ve ya tümör supresör gen aktivitesini baskılayan çeşitli değişiklikler bu hücrelere çoğalma avantajı sağlarlar. Buna paralel olarak ortaya çıkan yeni değişiklikler çok aşamalı meme karsinogenezinde komşu dokulara invaze olabilen, immun denetimden kaçan ve metastaz yapabilen klonlar oluşturur. Bu klonlar normal hücre çoğalmasını düzenleyen doğal sinyallere yanıt verme yeteneğini de kaybederek denetimsiz çoğalmaya başlar.

Meme karsinogenezinin karmaşık özellikleri tümörlerin biyolojik özelliklerine de yansır. Bu özelliklerin bir bölümü hastalığın klinik gidişine ışık tutması açısından tanıda önem taşır. Primer meme tümörlerinin moleküler analizi sayesinde gen amplifikasyonları, delesyonlar gibi değişik genetik anomaliler saptanmış, tümörlerin belirli alt gruplarında görülen bu genetik anomaliler ile klinik parametreler arasında anlamlı ilişkiler gözlenmiştir.

KROMOZOM BOZUKLUKLARI

Meme kanserinde bir çok kromozomal değişiklik saptanmıştır. Bu değişiklikler arasında en başta allel kayıpları gelir. Bu kayıpların baskın olan normal alleli ortadan kaldırarak, tümör baskılayıcı bir gendeki mutasyonun etkisinin ortaya çıkmasına neden olduğu kabul edilmektedir.

Sık görülen bir başka değişiklik de ilgili gen bölgesinin amplifikasyonudur. Bu anomalilerin gözlenme oranı %15-70 arasında değişmektedir. Bunlar içinde en çok ilgi uyandıran 17. kromozom üzerindeki değişikliklerdir. Bu kromozom üzerinde en az 14 ayrı lokus tanımlanmıştır. Meme kanserinde sık görülen başlıca kromozomal bozukluklar tablo 1'de özetlenmiştir.

MEME KANSERİNİN MOLEKÜLER BİYOLOJİ

Tümörlerin özelliklerini incelemek üzere kullanılan model sistemlerin geliştirilmesi oldukça güçtür. Meme kanserinde fare ve sıçan modelleri uzun süreden beri mevcut olmasına karşın bu modellerin yetersiz yönleri vardır. Örneğin fare

tümörleri çoğu kez metastaz yapmamasına karşın MMTV gibi virüsler ile oluşturulan tümörlerde gözlenen ekspresyon artışı insan tümörlerinde görülmez. Üstelik kemirgen ve insan tümörleri farklılıklar gösterir; normal ve malign epitelial hücrelerde de türlere göre farklılıklar vardır. Bu nedenle fare ve sıçan modellerinde tümör antijenlerini belirlemek üzere geliştirilen monoklonal antikorlar insanlarda genel olarak tanı ve tedavi amacı ile kullanılamaz. Bu nedenle in vivo ve in vitro koşullara özgü deneysel sistemlerin geliştirilmesi zorunlu olmuştur. Bu sistemlerde, hücreler, davranışlarının kanser hücreleri ile kıyaslamasıyla gözlenen farkların moleküler temelini, onkogen ve tümör supresör genlerin etkilerini araştırmak amacı ile kültürde çoğaltılır. Bu amaçla en çok ameliyat ile çıkarılan meme dokusundan elde edilen hücreler kullanılır. Lezyonlardan ve normal meme dokusundan elde edilen hücreler kültürde kolaylıkla üretilir. Ancak normal koşullarda epitel hücreleri kültürde uzun süre yaşayamaz. Meme kanserinde araştırmaların en zor yönü primer meme kanserinden kültür yapılmasıdır. Bu şekilde geliştirilmiş bazı hücre soyları (BT 20) mevcut olmakla birlikte, genel olarak kullanılan hücre soyları seröz efüzyonlardan elde edilen metastatik hücrelerden türetilmiştir. Bu hücre soylarının bazıları (MCF7, T47D, ZR75) östrojene tepki gösterdiklerinden östrojen etkisini incelemek amacı ile, bazıları da östrojen reseptörü negatif hücreler olarak kullanılmıştır.

Kanseri anlamak için tümör oluşumu boyunca gelişen olayları o hücrenin doğal ortamı içinde tanımak, aşama aşama tekrarlayabilmek gerekir. Bu amaca yönelik 2 yaklaşım mevcuttur. En çok uygulanan yöntem belirli dokularda ilgili geni eksprese eden transgenik hayvanlar üreterek bunlarla yapılan deneylerdir. Daha az kullanılan, ama daha gerçekçi yaklaşım ise izole edilen hücrelerde kalıtsal değişiklikler oluşturulduktan sonra bu hücrelerden ilgili dokunun "rekonstitüsyonu" dur. Bu yaklaşım meme dahil pek çok dokuya uygulanmıştır.

Tablo1: Meme kanserinde sık görülen kromozom değişiklikleri

Lokus	Kusur	ilgili genler	Görölme sıklığı
1p13-p21	Allel kaybı		%40
1p32	Allel kaybı	p58 kinaz	%40
1q21	Allel kaybı	Polimorfik epitelial müsin	%16-34
3p13-p25	Allel kaybı	erb A, Rb 1, RAR beta	%30-50
	Delesyon		
7q	Allel kaybı	c-met, wnt 2	%40
8q24	Allel kaybı	c-myc	%20-30
	Amplifikasyon		
11q13	Allel kaybı	int-2, bcl-1, EMS-1	%10-20
	Amplifikasyon	Cyclin D1, FGF-4, MEN 1	
11p15	Allel kaybı	Cathepsin D, WT 2, ras	%27
13q12-q24	Allel kaybı	ETS-1, AT	
13q12-q13	Allel kaybı	BRCA-2, Brush 1	%50
17p23	Allel kaybı	p53	%60-70
17q21	Allel kaybı	BRCA1, nm 23, RAR	%24-60
	Amplifikasyon	erbB2, NGFR, RAR	
18q21-q23	Allel kaybı	DCC	%17-70
20q13	Amplifikasyon		%18

Meme epiteli tümör gelişmesindeki aşamaların incelenmesine çok uygundur. Epitel hücrelerine onkogen sokulması sonunda her onkogenin ekspresyonunun kendine özgü bir değişiklik yarattığı, belirli onkogenlerin kalıcı, preneoplastik değişiklikler oluşturdukları görölür. Bu amaçla yapılan klasik çalışmalarda fare meme tümör virüsünün (MMTV) ve kimyasal karsinojenlerin tümör gelişiminden önce karakteristik preneoplastik lezyonlar oluşturdukları gösterilmiş, oluşan lezyonların kullanılan etkene göre de değiştığı belirlenmiştir (35,36).

MMTV biyolojik bir mutajendir. Enfeksiyöz çevriminin bir parçası olarak konak hücrenin genomunda gelişigüzel bölgelere integre olur; böylece virüs genomu insersiyonel mutagenez yolu ile bazı genleri aktive edebilir. Virüsün bu özelliği ondan

belirli mutajenik olayları izlemek amacı ile yararlanmamıza olanak verir. Bu yöntemle virüsle oluşturulan meme tümörlerinde MMTV integrasyon bölgesine komşu birbirinden bağımsız 3 hücresel gen (int-1, int-2, int-3) saptanmıştır. Virus genomunun bu genlerin önüne yerleşmesi ilgili genin aktiveşmesi ile sonuçlanır. Fare deneylerinde ras ve myc genleri de MMTV virüsünün LTR bölgesine eklenerek incelenmiş, iki durumda da hem erkek hem de dişi farelerde meme adeno karsinomu insidansında anlamlı artış saptanmıştır. Bu deneyler aktiveşen onkogenin hücre türüne ve hücre farklılaşmasına göre etki gösterdiğine işaret etmektedir (37).

Fare meme epitelinde incelenen onkogenlerden şimdilik sadece myc ve c-erbB2'nin insan kanserlerinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu genler hakkında fare modellerinden edindiğimiz bilgiler meme kanserinin biyolojisinde önemli yer tutmaktadır. Mutant c-erbB2 ekspresyonu farede komedo-kribriform morfolojiye sahip in situ karsinomların gelişmesine neden olur. İnsan komedo kanserlerinde de c-erb B2 aşırı ekspresyonu gözlenir (38).

Büyüme Faktörleri

Meme kanserinde büyüme faktörlerinin rolü çoğunlukla hücre soylarının kullanıldığı çalışmalarda geniş olarak araştırılmıştır. Meme kanseri hücreleri IGF-2, TGF-alfa, TGF-beta gibi birçok büyüme faktörü salgılayarak bunlara otokrin ve parakrin tepki gösterirler (39). IGF ekspresyonu normal meme dokusu yanında selim ve habis meme tümörlerinde de gözlenir. Selim lezyonlardan izole edilen fibroblastlarda IGF-1, malign lezyonlardan elde edilen fibroblastlarda ise IGF-2 ekspresyonu gözlenmektedir. Bu durum IGF-2' nin karsinogenezde önemli rolü olduğu anlamına gelmektedir (40). Meme kanseri biyopsilerinde TGF-alfa %70 oranında gözlenirken selim lezyonlarında da %30 kadarında saptanır (41). TGF-alfa' nın transformasyonu uyarıcı rolü değişik araştırmalarda gösterilmiştir (42). Meme epitelinde TGF-alfa' ya bağlı proliferasyon artışı meme kanserinin erken aşamalarında önem taşır. Transjenik farelerde de TGF ekspresyonunun karsinojenlere bağılı meme

tümörlerinin gelişiminde progresyon aşamasını hızlandırdığı bilinmektedir. TGF-alfa ile aynı ailede yer alan amfiregulin'in meme epitel hücreleri için otokrin büyüme faktörü olarak görev yaptığı gösterilmiştir (11). Meme epitelinde TGF-beta' nın 3 izoformu da gözlenir. Normal memede çoğalmayı baskılayıcı rol oynayan molekül gebelik ve laktasyonda alveoller çevresinde stromal birikim gösterir. Kanseri dokularda TGF beta ekspresyonunda normal dokulara kıyasla gözlenen farklılıklar ve ekspresyon artışı anormal stromal çoğalmaya işaret eder. TGF beta birikimi hastalığa özgü karakteristik fibröz stroma gelişimi, angiogenez ve immunosupresyon açısından önem taşır. TGF-beta' nın kanser hücrelerinde proteolitik aktiviteyi ve invazyonu uyarak metastaz yeteneğini arttırdığı yolunda bulgular mevcuttur. Yüksek düzeyde TGF-beta ekspresyonu görülen kanserlerde lenf nodu metastazlarının daha çok görülmesi bu düşüncüyü doğrulamaktadır. TGF-beta hücre çoğalmasını uyardığı gibi inhibe de edebilir. Bu konudaki bulgular hücre soylarına göre de farklılıklar göstermektedir. Östrojen reseptörü negatif hücreler yüksek oranda TGF-beta salgılamak, afinitesi yüksek reseptörler sentezler ve düşük konsantrasyonlarda bile hücre çoğalmasını inhibe ederler. TGF-beta' nın kanser ile ilişkisi hakkında henüz somut bir bilgi bulunmamasına karşın, bu faktörün matriks proteinlerinin birikiminde oynadığı rol meme kanserinin patogeneğinde önem taşıyabilir. Kanser hücreleri tarafından salgılanan TGF-beta fibroblastları uyarak tenascin salgılanmasına neden olur. Bu stromal protein ise hücreler arası tutunma yeteneğini azaltır.

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi de meme hücrelerinin gelişiminde ve malign transformasyonda rol oynar. İnsan meme kanserlerinde tüm FGF reseptörleri saptanırken bunların ikisinin de amplifikasyonu bildirilmiştir. FGF-1 ve FGF-2 insanda epitelial hücrelerde saptanmıştır. Meme kanseri hücrelerinde FGF-1' in makrofajlarda yer aldığı, FGF-2' nin ise otokrin büyüme faktörü olarak etki gösterdiği, ancak, iyi prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (43). Meme kanseri hücrelerinde mitojenik aktivite gösteren bu faktör angiogenez ve invazyon açısından önem taşıyan

plazminojen aktivatörünün sentezini uyarır. Fare tümörlerinde metastaz açısından önem taşıyan FGF-4 ise insan tümörlerinde az görülmektedir.

Büyüme Faktörü Reseptörleri

Hücre proliferasyonunu uyaran EGF normal meme epiteli için gerekli bir faktördür. V-erbB proteini ile büyük benzerlik gösteren EGFR hücre dışı ligand bağlanma bölgesi ile hücre içi tirozin kinaz bölgesine sahiptir. Meme kanserinde hastaların %35-45' inde EGFR miktarında artış gözlenmiştir (44). Reseptör artışı östrojen reseptör düzeyi ile ters orantılıdır ve kötü prognoz işareti olarak değerlendirilir. Reseptör miktarının artması gen amplifikasyonuna değil, mRNA ekspresyonu artışına bağlıdır. mRNA düzeyi ile EGFR seviyeleri arasında genellikle uyum görülmesine karşın, mRNA gözlemlendiği halde protein ekspresyonu saptanamayan tümörler de mevcuttur. Bu durum östrojen pozitif tümörlerde gözlenmektedir. Yüksek reseptör düzeyleri gösteren tümörlerde proliferasyon hızı da yüksektir (45).

İnsüline benzeyen büyüme faktörü (IGF) meme hücreleri için güçlü bir in vitro mitojendir. Faktör hücre içi tirozin kinaz aktivitesi gösteren tetramer yapılı reseptörü ile etkileşerek görev yapar. Primer meme kanserinde %50-93 oranında IGFR gözlemlendiği ve molekülün miktarının östrojen ve progesteron reseptörü miktarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Meme kanserinde IGFR geninde amplifikasyon ender görülmekle birlikte, gen amplifikasyonu görülen olgularda sağkalımın belirgin oranda kısa olduğu bildirilmiştir (46). Ancak, IGFR geninin kopya sayısında artış görülen hastaların %73'ünde aynı zamanda int-2 veya myc genlerinde de amplifikasyon gözlemlendiğini unutmamak gerekir.

Onkogenler

Solid tümörler, lösemi ve lenfomalar dahil birçok insan kanserlerinde etkili olduğu düşünülen c-myc protoonkogeni transkripsiyon regülatörü niteliğinde bir çekirdek proteini kodlar (47). Meme kanserinde c-myc geninde amplifikasyon ve yeniden düzenlemeler saptanmıştır (48). c-myc değişiklikleri ile tümörün gradı,

reseptör durumu ya da lenf nodu tutulumu arasında belirgin bir korelasyon gözlenmemesine karşın, gendeki değişikliklerin agresif tümör ya da kötü prognoz ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Ama myc geni amplifikasyonu ile lenf tutulumu, evre, hormon reseptör durumu ve nüks arasında anlamlı ilişki sadece menapoz sonrası hastalarda gösterilmiştir (49). myc genindeki değişikliklerin az diferansiye tümörlerde daha çok gözleendiği yolunda bulgular mevcuttur (50). c-erbB2 geni ekspresyonu artışı yoluyla etkili olurken c-myc geni daha çok yeniden düzenlemeler yoluyla aktifleşir.

Int-2 geni fare meme tümörlerinde MMTV' nün integrasyon bölgesi olarak tanımlanmıştır. Bu genin insandaki karşınının kromozom 11q13 üzerinde yer aldığı saptanmış ve gen izole edildikten sonra meme kanserlerinin %15-20' sinde amplifiye olduğu gözlenmiştir. Meme kanserli hastalarda 55 aylık medyan izleme süresi sonunda int-2 gen amplifikasyonu ile nüks arasında başlangıçta çok anlamlı bir ilişki saptanmış ($p < 0.000002$), ancak aradan 1 yıl geçtikten sonra hastaların bir bölümünde daha ortaya çıkan nüksler hesaba katıldığında anlamlılığın azaldığı saptanmıştır (51). Buna karşılık bir başka çalışmada int-2 geninde amplifikasyon ile hastalığın gidişi arasında bağlantı bulunmadığı sonucuna varılmıştır (52). Yeni çalışmalarda meme kanserlerinde int-2 ile yakından ilişkili başka genlerde de amplifikasyon gösterilmiş, ilk araştırmaların odağı olan int-2 ve hst-1 genlerinin peşinden aynı bölgede yer alan bcl-1 geni tanımlanmıştır (53,54). bcl-1 bazı B hücreli neoplazilerde gözlenen t(11;14) translokasyonlarında 11q13 üzerindeki lokus olarak tanımlanmış, translokasyon sonunda, bu bölgede yer alan bir genin değişikliğe uğradığı kabul edilmiş, ancak genin niteliği yakın zamana kadar aydınlanmamıştır. Kromozom 11q15 üzerinde yer alan paratiroid hormon genini kapsayan bir değişiklik yardımıyla saptanan PRAD-1 onkogeninin tüm translokasyon gözlenen olgularda aşırı eksprese olduğu anlaşıncaya bu genin bcl-1 geni ile identik olduğu düşünülmüştür.

11. kromozomun amplifiye olan bölgesi üzerinde daha başka genler de aranmış ve meme tümörlerinde amplifiye olan EM-1 ve D11S97 genleri de belirlenmiştir.

Neu ya da HER-2 olarak da bilinen c-erbB2 geni ilk kez sıçan nöroglblastomlarında tanımlanmıştır. Gen, 185 kD ağırlığında membran reseptörü niteliğinde bir protein (p185) kodlar, epidermal büyüme faktörü reseptörüne (EGFR) benzer yapıda olan bu proteinin glikoprotein niteliğindeki bir ligand ile etkileştiği gösterilmiştir (55,56). C.erbB2 geninin meme kanserindeki rolü yoğun araştırmalara konu olmuştur. Bunun nedenleri aşağıdaki şekilde özetlenebilir;

- 1- Gen yukarıda belirtildiği gibi EGF ailesinden bir protein kodlamaktadır. EGF'ün ise meme epiteli gelişiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (57).
- 2- c-erbB2 proteinine (p185) karşı geliştirilen antikörlerin sıçan tümörlerinde malign hücre fenotipini normale döndürdükleri bildirilmiştir (58).
- 3- c-erbB2 evrim boyunca değişikliğe uğramadan korunmuş bir genidir. Genin embriyonik gelişme boyunca değişik roller üstlendiği bildirilmiştir (59).
- 4- Başta meme kanseri olmak üzere bir çok değişik tümör tipinde (over, mide, böbrek, kolon v.b) c-erbB2 geninde amplifikasyon görülmektedir (60).

c-erbB2 geninin sıçandaki homoloğu olan neu geni membran bölgesinde gerçekleşen bir nokta mutasyonu ile aktifleşmektedir. Bir tek bazın değişimi (val-glu) ile ortaya çıkan bu mutasyon insan kanserlerinde araştırılmış, ancak benzer bir mutasyona rastlanmamıştır. Bu nedenle insan kanserlerinde aktivasyon nedeninin gende ekspresyon artışı olduğu kabul edilir. Gerçekten, bu genin meme kanseri oluşumu açısından önem taşıyan aşırı ekspresyon ya da gen amplifikasyonları yönünden en tipik örneklerden biridir. c-erbB2 amplifikasyonu ile erken nüks ve kötü prognoz arasında ilişki bulunduğu kabul edilmektedir (61). Meme kanserleri içinde tüm evreler birlikte değerlendirildiğinde c-erbB2 aşırı ekspresyonu %15 dolayında gözlenir. İn situ duktal karsinomlarda bu oran %40-50' lere kadar uzanmaktadır. Buna karşılık diğer

(küçük hücreli, papiller, lobuler, kribriform) in situ kanserlerde aşırı ekspresyon gözlenmez. Bu bulgular invaziv tümörlerin büyük çoğunluğunun ekspresyon artışı gözlenmeyen lezyonlardan, pek azının ise amplifikasyon gösteren in situ lezyonlardan geliştiğine işaret etmektedir. Gen ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmasına karşın farklı laboratuvarlar tarafından bildirilen verilerin doğrudan kıyaslanması mümkün değildir. Zira, çalışmaların önemli bir bölümünde hastalar uzun süreyle izlenmemiştir, bir bölümünde de değerlendirmeye alınan klinik parametrelerde farklılık mevcuttur. Bu yüzden, bu bölümde sadece geniş kapsamlı ve uzun süreyle izlenmiş olguları kapsayan araştırma verileri belirtilecektir. Bu temel çalışmaların ilkinde aksiller lenf nodu pozitif hastalar 2-7 yıl süreyle izlenmiş ve c-erbB2 geninde %40 oranında amplifikasyon saptanmıştır. Amplifikasyon ile birden fazla lenf tutulumu arasında korelasyon saptanmıştır (62). Aynı çalışmada elde edilen veriler izlenmesi yapılamayan 103 hastadan alınan veriler ile birleştirildiğinde c-erbB2 amplifikasyonu ile lenf tutulumu arasında ileri derecede anlamlı ilişki gözlemlendiği ileri sürülmüştür ($p<0.002$). Ancak, farklı karakteristiklere sahip iki hasta grubundan elde edilen verilerin kombine edilmesinin, incelenen parametreler arasında anlamlılığı artırıcı yönde etki edeceği ve abartılı anlamlılık oranları (p değerleri) elde edilmesi ile sonuçlanacağı unutulmamalıdır (63). Buna karşılık, 10-113 ay izlenen hastaları kapsayan dört değişik çalışmada ortalama %10 oranında c-erbB2 amplifikasyonu gözlemlendiği halde amplifikasyon ile lenf nodu tutulumu arasında bağlantı bulunmamış (64), ancak c-erbB2 amplifikasyonu ile kısa sağkalım arasında ileri derecede anlamlı ($p<0.002$) ilişki bildirilmiştir (65). Gene bir başka çalışmada %26 oranında gözlenen amplifikasyonun nükleer grad ile ilişkili olduğu, ancak lenf nodu tutulumu ile bağlantı göstermediği ileri sürülmüştür (66). c-erbB2 aşırı ekspresyonunun kemoterapiye dirençli hasta grubunu simgelediği, ancak doksorubisin içeren yüksek doz kemoterapinin bu direnci kısmen yenebildiği de bildirilmiştir (67). Naturel killer (NK) aktivitesinin meme kanserinde normal hücrelere ve selim tümörlere kıyasla daha yüksek olmasına karşın, c-erbB2

ekspresyonu ile düşük NK aktivitesi arasında anlamlı bağlantı bulunmuş, bu tümörlerin NK hücrelerini inhibe eden bir faktör salgıladıkları iddia edilmiştir. c-erbB2 ekspresyonunun TNF' ye karşı direnç gelişmesine neden olduğu da gösterilmiştir (68). Meme kanserlerinin büyük çoğunluğunda gen amplifikasyonu ile mRNA ve protein aşırı ekspresyonu arasında yüksek uyum gözlenmektedir (69). Ancak bazı tümörlerde amplifikasyon bulunmadığı halde aşırı ekspresyon saptanırken, bazı tümörlerde de amplifikasyon mevcut olduğu halde ekspresyon artışı görülmemektedir. c-erbB2 proteininin meme kanserli hastaların serumlarında da saptandığı ve prognoz hakkında bilgi verebildiği bildirilmiştir (70). c-erbB2 amplifikasyonunun lenf nodu tutulumu hariç, diğer bütün parametrelerden bağımsız ve anlamlı bir risk oluşturduğu kabul edilir (71). Gen kopya sayısında artışın %70 nüks olasılığına işaret ettiği bildirilmiş, lenf nodu tutulumu mevcut olsun veya olmasın gen amplifikasyonu gözlenen hastalara daha intensif kemoterapi uygulanması gerektiği ileri sürülmüştür (72).

Tümör Supresör Genler

Meme kanserinde rol oynayan başlıca tümör supresör genler BCRA-1, p53 ve retinoblastom genleri (Rb) dir. Tümör supresör olarak görev yapan p53 geni hücre siklusunu düzenleyen 53 kD molekül ağırlığında bir nükleer fosfoprotein (TP53) kodlar. Belirli dizileri tanıyarak DNA' ya bağlanan protein transkripsiyon aktivatörü olarak görev yapar ve hücre bölünmesini G1/S sınırında durdurur (73). p53 genini kapsayan allel kayıpları ve mutasyonlar proteinin tümör baskılayıcı etkinliğini ortadan kaldırırken bazı mutasyonlar da proteine onkojenik özellik ve aktiviteler kazandırabilir. Bu mutasyonlar genellikle genin belirli, korunmuş bölgelerinde gerçekleşir ve proteinin yarı ömrünün uzamasıyla sonuçlanır. p53 ekspresyonu memenin selim lezyonlarında gözlenmez. Meme kanserlerinde olguların yaklaşık 1/3' ünde p53 genini kapsayan allel kayıpları saptanmıştır. p53 geninde kusur bulunan tümörlerde kromozom anomalilerine de daha sık rastlandığı bildirilmiştir. p53 geninde saptanan anomaliler ile c-erbB2 amplifikasyonu ve kromozom 17 de gözlenen allel kayıpları arasında anlamlı

ilişki saptanmıştır. Buna karşılık, p53 geninde gerçekleşen allel kayıpları ile TP53 mutasyonları ve ekspresyonu arasında korelasyon gözlenmez. p53 anomalileri ileri histolojik evrede, hormon reseptörü pozitif ve invaziv tip kanserlerde ve bilateral olgularda daha yüksek oranda gözlenmektedir. Bu değişiklikler ile kötü prognoz arasında anlamlı ilişki mevcuttur. p53 anomalilerinin kanserin başlangıç evresi ile mi, yoksa tümör progresyonu ile mi ilişkili olduğu henüz kesin değildir. Gende allel kaybı ve buna eşlik eden c-erbB2 aşırı ekspresyonunun meme kanseri gelişiminde önemli erken olaylar olduğu, buna karşılık p53 geninde mutasyonun bu açıdan önem taşımadığı ileri sürülmüştür. Bazı kanser türlerinde p53 allellerinden bir ya da ikisi birden ortadan kalkar ve fonksiyonel TP53 proteini azalır, bazı kanserlerde ise anlamsız bir mutasyon sonucunda işlevini getiremeyen mutant TP53 ortaya çıkar. Meme kanserinde en sık görülen şekil bir allelde anlamsız mutasyon, diğer allelde ise delesyon gerçekleşmesi sonucunda normal TP53 proteininin ortadan kalkmasıdır. İnsan kanserlerinde TP53 mutasyonlarının görülme oranı %20-40 arasında değişir. Kolon tümörlerinde çok sık gözlenen TP53 mutasyonları meme tümörlerinde oldukça az görülür. Buna karşılık meme kanseri insidansı oldukça düşük olan Japon toplumunda etnik gruplar içinde en yüksek TP53 mutasyonu görülme sıklığı dikkat çekmektedir. Bu mutasyonlar genin korunmuş, merkezi bölgelerinde yer almakla birlikte meme kanserine özgü mutasyonlar tanımlanmamıştır. Diğer kalıtsal kanser türlerinde p53 geninde mutasyon çok sık görülmesine karşın meme kanseri ailelerinde ve bilateral meme kanseri olgularında TP53 mutasyonları çok ender bildirilmiştir. Ancak saptanan bazı p53 mutasyonları ile östrojen reseptör düzeyleri arasında bağlantı dikkat çekmektedir. Buna karşılık meme tümörlerinde alternatif bir mekanizma olarak (wild-type) TP53 proteinin sitoplazmada kümeler oluşturarak biriktiği ve normal işlevini yerine getiremediği ileri sürülmüştür. Meme tümörlerinde %22-58 oranında TP53 aşırı ekspresyonu görülür. Aşırı ekspresyon ileri evre, metastatik yayılım ve düşük progesteron reseptör düzeyleri ile korelasyon göstermektedir. p53 geninde

saptanan bozukluklar anöploidi ve yüksek proliferasyon kapasitesi ile de paralellik gösterdiğinden, aşırı ekspresyona bağlı TP53 birikiminin meme kanserinde bağımsız bir prognostik parametre olduğu ileri sürülmüştür. TP53 aşırı ekspresyonu in situ karsinomlar arasında en çok komedo tip karsinomlarda görülür. İmmunohistokimyasal çalışmalarda in situ ve invaziv kanser hücreleri ya da primer tümör ile metastazlardan elde edilen hücreler arasında TP53 ekspresyonu açısından fark saptanmamıştır. Meme kanserinde anti-TP53 antikorları da gösterilmiştir (74). Proteinin aşırı ekspresyonu görülen hastalarda TP53 antikorlarına daha sık rastlanır. Bu antikorların varlığı tümörün gradı ve ikici primer görülme sıklığı ile anlamlı ilişki göstermektedir.

Retinoblaston geni (Rb) tanımlanan ilk tümör supresör genidir. Gendeki değişiklikler ekspresyon kaybı ya da kusurlu bir protein yapımı ile sonuçlanır. Birçok tümör türünde olduğu gibi meme kanserinde de Rb geninde kusurlar saptanmıştır. İncelenen meme tümörlerinde fonksiyonel Rb proteini bulunmadığı gösterilmiştir. Bulgular Rb geninde gerçekleşen değişiklikleri kanserin progresyonu ile yakın ilişkili olduğunu göstermektedir.

Onkogenler ve karsinogenez:

Hücre genomunda bulunan bazı genler, karsinogenez gelişiminden sorumlu tutulmaktadır. Bu genler normal şartlarda inaktivedir ve proto-onkogen olarak adlandırılmaktadır. Genetik bozukluk durumlarında da bu genler aktive olarak onkogen şekline dönüşürler. Bu genlerin hücre büyüme ve gelişmesinde önemli rolleri saptanmıştır (25). Bu arada bazı onkogenlerin büyüme fakörleri ve bunların reseptörlerini kodladığı da bilinmektedir. Onkogenler tarafından kodlanan proteinler intrasellüler sinyal iletiminde (örn; RAS) veya nükleoproteinler yolu ile sellüler gen ekspresyonlarını artırarak (Örn;c-myc) etki gösterirler. Onkogenlerin hücre genomu içinde zaten var olduğu, bunların bazı faktörler ile aktivasyon gösterip tümörögenezisten sorumlu olduğu bilinmektedir. Onkogenleri aktive eden faktörler;

- 1) İnsertional mutasyonlar
- 2) Nokta mutasyonlar
- 3) Translokasyonlar
- 4) Gen rearrangementleri
- 5) Delesyonlar
- 6) Amplifikasyonlar

Viral onkogenler, proto-onkogen mutasyonlarında dominant rol üstlenmişlerdir. Bunun ilk deneysel kanıtları tavuk eritoblastozis virüsünde bulunan V-erbB geninin, sellüler gende epidermal büyüme faktör (EGF) reseptörlerini kodladığının gösterilmesidir. Sellüler mutasyona uğramış genleri içeren tümör hücrelerinin varlığı da pek çok araştırmada gösterilmiştir. Bu genlerin tümör oluşumunda ve/veya progresyonunda önemli rolleri olduğu bilinmektedir. EGF reseptörlerinin extrasellüler bölümünü aminoterminal ucunda oluşan değişim bazı beyin tümörlerinde saptanmıştır. Bu değişimin, reseptörün hücre içinde yer alan protein kinaz aktivitesini artırdığı ve bunun da hücreyi proliferasyona ittiği saptanmıştır. Yine hücre kültür çalışmalarında da proto-onkogenlerin transformasyon yeteneğinde değişimler gösterilebilmiştir. Özellikle nokta mutasyon, delesyon ve gen rearrangementleri ile bu değişimlerin gerçekleştirildiği bildirilmiştir.

Pek çok tümör hücre kromozomunda heterojen boyamaya yol açan anormal amplifiye DNA sekansları saptanmıştır. Proto-onkogenler sıklıkla bu amplifiye sekanslarda bulunmaktadır. Bu yolla da ekspresyonları daha şiddetli ortaya çıkmaktadır. Gen amplifikasyonunun mekanizması tam aydınlatılamamıştır. Proto-onkogen amplifikasyonları ile tümör hücrelerinin malignensi potansiyellerinin arttığı bilinmektedir. Buna en iyi örnek, c-erbB2' nin meme kanserli hastalarda (c-erbB2 amplifiye bir gendir) yaygın hastalık ve kötü prognoz ile birlikteliğinin gösterilmesidir. Amplifikasyona uğramış proto-onkogenlerin hastalık tekrar riskini de arttırdığı bilinmektedir.

GİRİŞ

Meme kanseri, son yıllarda kadınlarda en sık görülen kanserler arasında gösterilmektedir (1,2). Yine kanserden ölümler de, ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır (3). Meme kanseri oldukça önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Modern tedavilere rağmen tüm meme Ca' lı hastaların 1/2-1/3' ü ölmektedir (75). Bu nedenle koruyucu önlemler önem kazanmaktadır. Bu da meme kanserinin biyolojisinin iyi tanımlanmasına bağlanmaktadır. Yine de diğer kanserlere oranla erken tanı kolaylığı ve farklı tedavi modaliteleri ile onkolojide başarı ile tedavi edilebilen hastalık grubunu oluşturmaktadır. Onkolojik araştırmalar, kanser epidemiyoloji, biyolojisi, etyolojisi, erken tanı yöntemleri, tedavi ve prognostik faktörlerin belirlenmesi amaçlarında yoğunlaşmıştır. Meme kanserinin de pek çok prognostik faktörü tespit edilmiştir (aile anamnezi, bilateralite, östrojen ve progesteron reseptör durumu, p53-tümör supresör gen durumu, c-erbB2 onkogen pozitifliği, histoloji, diferansiyasyonu, proliferatif indexleri ve ki-67, yaş, cinsiyet, evre ve aksiller lenf bezi tutuluğu gibi). C-erbB2 insan meme kanserlerinde sık amplifiye edilen bir gendir. C-erbB2 onkogeni normal hücrelerde tek kopya halinde bulunmaktadır. 17. kromozomda lokalizedir. P185 olarak bilinen glikoproteini kodlamaktadır. P185' in intrasellüler komponenti tirozin kinaz aktivitesi göstermektedir. Ekstrasellüler komponenti ise yapı olarak growth faktör reseptörlerine benzemektedir (76). C-erbB2 over-ekspresyonu invaziv duktal karsinomlu hastalarda %25 olarak izlenmektedir (77).

Bu çalışmada meme kanserinin prognozunu belirlemede en önemli prognostik faktörlerden biri olan aksiller lenf nodu tutuluğu ile c-erbB2 pozitifliği arasında korelasyon olup olmadığı araştırılacaktır.

MATERYAL-METHOD

Çalışmaya, 1997-1998 yılları arasında Ege Ü.T.F Medikal Onkoloji polikliğine başvuran ve invaziv duktal karsinom (IDK) tanısı alan 134 bayan hasta alınmıştır. Çalışmaya alınan tüm hastalara cerrahi endikasyon ile aksiller diseksiyon uygulanmış, tüm patolojik materyaller c-erbB2 pozitifliği yönünden değerlendirilmiştir. Patolojik yöntem olarak immunohistokimyasal (immunperoksidaz-kod:A0485, c-erbB2 oncoprotein, kid: DAKO LSAB(R) 2 kiti-KO675) analiz yapılmıştır. Tüm örnekler aynı patolog tarafından incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar ki-kare analiz yöntemi ile değerlendirmeye alınmıştır.



SONUÇLAR

Çalışmaya alınan 134 bayan hastanın tümü IDK tanılıdır ve yaş ortalamaları 49.9 ± 11.7 olarak belirlenmiştir. 19 hastada (%14) aile anamnezi (8'i birinci derecede akrabalarında) mevcuttu. Hastaların 56'sı (%42) premenapozal, 78'i (%58) postmenapozal dönemdeydi. Hastaların sadece 20'sinde (%15) tümör çapı 2cm altında iken, 97 hastada (%72) tümör çapı 2-5cm, 17 hastada ise (%13) tümör çapı 5cm üzerinde tespit edildi. Hastaların 75'inde (%56) ÇYDY tespit edildi. 55 hastada (%41) p53, 45 hastada (%34) ER, 48 hastada (%36) PR, 86 hastada (%64) ki-67 pozitif bulundu. Hastaların sadece 9'unda (%7) metastaz tespit edildi.

96 hastada (%72) c-erbB2 pozitif bulundu. 98 hastada (%73) tanı anında aksiller lenf nodu tutuluğu saptanırken, bu hastaların 11'inde (%8) GATO, 37' sinde (%28) çevre yumuşak doku yayılımı pozitif olarak bulundu. Aksiller lenf nodu tutulumu ve c-erbB2 arasındaki korelasyon tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2: Aksiller lenf nodu - c-erbB2 ilişkisi

C-erbB2 (+) LNM (+)	C-erbB2 (-) LNM (-)	C-erbB2 (+) LNM (-)	C-erbB2 (-) LNM (+)
76 (%57)*	13 (%10)*	23 (%17)*	23 (%16)*

*P>0.05

Aksiller lenf nodu tutuluğu saptanan hastaların, lenf nodlarının lokal invazyonu ile c-erbB2 arasındaki ilişki tablo 3'de özetlenmiştir.

Tablo 3: Metastatik lenf nodlarının lokal agresivitesi ve c-erbB2 arasındaki ilişki

	C-erbB2 (+)-LNM (+)	C-erbB2 (-)-LNM (+)	Toplam
GATO	10 (%7)*	1 (%0.07)	11 (%8)
ÇYDY	27 (%20)	10 (%7)	37 (%28)

*P<0.05

TARTIŞMA

Aksiller lenf nodu tutuluşunun meme kanserinin en önemli prognostik faktörlerinden biri olduğu artık kabul gören bir görüş olmuştur. Tan ve arkadaşlarının 1997 yılında 202 meme kanser tanılı hasta üzerinde yaptıkları prospektif bir çalışmada lenf nodu pozitif olan hastaların 112 aylık izleminde mortalite oranı %42 olarak saptanırken, lenf nodu negatif olan hastalarda bu oran 168 aylık izlem döneminde sadece %11 olarak belirlenmiştir (78). Buna benzer çalışmalarda alınan benzer sonuçlar ile lenf nodu tutulumunun önemi kabul edilmiştir. Ancak aynı çalışmada, cerrahi olarak aksiller diseksiyon endikasyonu konulan hastaların sadece %18' inde aksiller tutuluş saptanırken, bizim çalışmamızda saptadığımız %73 oranı oldukça düşündürücüdür. Bizim hasta grubumuzun %80' ninin evre 2b ve üzerinde olduğunu tespit ettik ki, bu oran yukarda lenf tutulum oranlarında da görüldüğü gibi oldukça yüksek rakamlar olarak kabul edilmiştir. Lenf nodu tutulumunun bu prognostik önemi yanında yine son yıllarda c-erbB2 onkogen over-ekspresyonunun da prognostik önemi araştırılmıştır. Meme kanserlerinde c-erbB2 pozitiflik oranı %25-45 oranında bildirilirken, bizim çalışma grubumuzda bu oran %72 olarak, yine yüksek bulunmuştur (79). Pek çok çalışmada bu onkogenin gerek lokal nüks, gerekse kısa yaşam süresi yönünden, bağımsız tek faktör olarak ilişkisi gösterilmiştir (77, 80, 81,82,83). Bizim hasta popülasyonumuzda yüksek aksiller lenf nodu tutulumu, yüksek c-erbB2 oranı göz önüne alındığında aralarında bir ilişki var mı sorusu akla gelmektedir. Üstelik, araştırmalarda c-erbB2' nin bağımsız bir negatif prognostik faktör olduğu düşünülürse bu ilişkiyi araştırmanın faydalı olacağı açıktır. Brotheric ve arkadaşlarının 1995 yılında yaptıkları flowsitometrik çalışmada 110 hasta değerlendirilmiş ve c-erbB2-lenf nodu tutulumu arasında ilişki tespit edilememiştir (84). Benzer şekilde 10-113 aylık izlem süreli hastaları kapsayan 4 ayrı çalışmada ortalama %10 oranında c-erbB2 amplifikasyonu bildirilirken, amplifikasyon ile lenf nodu tutulumu arasında bağlantı gösteilememiştir (64). Ancak aynı çalışmada gen amplifikasyonu ile kısa sağkalım

arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Başka bir çalışmada da %28 oranında gen amplifikasyonu bildirilirken lenf nodu tutulumu ile gen amplifikasyonu arasında ilişki gösterilememiştir (66). Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmesine karşın bu sonucun tam aksini iddia eden çalışmalar da sunulmuştur. Bunlar içinde en dikkat çekici olanı Slamon ve arkadaşlarının 1987'de yayınladıkları çalışmadır. Bu çalışmada aksiller lenf nodu pozitif hastalar 2-7 yıl izlenmiş ve c-erbB2 amplifikasyonu %40 olarak bildirilmiştir (62). Amplifikasyon ile birden fazla lenf bezi tutulumu arasında ilişki gösterilmiştir. Aynı çalışmada elde edilen veriler izlenmesi yapılamayan 103 hastadan alınan veriler ile birleştirildiğinde bu ilişkinin çok daha belirgin hale geldiği bildirilmiştir. Ancak, bu çalışma için, hasta karakterleri farklı 2 ayrı grup üzerinden yapıldığı ve bunun da sonuçları etkileyebileceği eleştirileri yoğun olarak yapılmaktadır. Tüm bu veriler göz önüne alındığında lenf nodu tutulumu ile c-erbB2 amplifikasyonu arasında ilişkinin olup olmadığının kesin ortaya konulamadığını kabul etmek gerekir. Daha önce de bahsetmiş olduğumuz c-erbB2 ve lenf nodu tutulumu oranlarındaki farklılıklar genetik farklılıklara işaret edebileceği gibi, özellikle c-erbB2 için yöntem farklılıklarını da göz önüne getirmektedir. Bununla da çelişkili sonuçları açıklamak mümkündür. C-erbB2 pozitifliğinin, immünohistokimyasal yöntemle bakılması değerlendirme açısından hatalı sonuç verebileceğini biliyoruz. Flowsitometrik analizlerle bu analiz daha sağlıklı yapılabilmektedir. Ancak burada üzerinde durulması gereken önemli husus, immünohistokimyasal olarak yapılan değerlendirmelerde yanlış pozitif sonuçlar çok nadir olarak görülmektedir. Yanlış negatif sonuçlar çok daha belirgindir (84). Buradan da bizim hasta popülasyonunda daha yüksek c-erbB2 düzeylerinin olabileceği düşünülmüştür. Ancak bu analiz yöntemi ile bulduğumuz sonuçların 134 hastalık seride sonuçları değiştirmeyeceğini düşünüyoruz. Yine de bu analizlerin hasta sayısı artırılarak yapılmasının gerektiğine inanıyoruz.

Bizim çalışmamızda dikkatimizi çeken başka bir konu da metastatik lenf nodlarının lokal agresifliğinin c-erbB2 ile ilişkili olup olmadığına ilişkin sonuçlarımız

oldu. Lenf nodlarında gato formasyonunun da prognostik önemi olduğunu biliyoruz. Çalışmamızda c-erbB2 pozitifliği ile gato formasyonu arasında istatistik olarak anlamlı bir ilişki saptanırken, lenf düğümlerinden ÇYDY ile c-erbB2 arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Tüm bu veriler ile c-erbB2 onkogeninin, aksiller lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğunu iddia etmek mümkün değildir. Ancak metastatik lenf nodlarında lokal agresiflik ile ilişkili olabileceğini düşünmek mümkündür. Çünkü yukarda belirtilen çalışmalarda c-erbB2' nin yüksek lokal nüks ile birlikteliği, bunun da c-erbB2' nin yüksek grade (histolojik-nükleer) ve anoploidi ile birlikteliği ile açıklanabileceği gösterilmiştir. Yine de bu analizlerin hasta sayılarının artırılması ve standart, homojen hasta grupları ile gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- 1- Parkin DM, Laara E, Muir CS: Estimates of the world wide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Int J Cancer* 41:184-196, 1988.
- 2- Boring CC, Squires TS, Tong T: Cancer statistics 1993. *C.A. Cancer J Clin* 43:4-26, 1993.
- 3- Sinvenberg E, Lubera J: Cancer statistics 1987. *C.A Cancer J Clin* 37:19, 1987.
- 4- Seidman H, Mushinski MH, Gelb SK et all: Probabilities of eventually developping or dying of cancer. United States *C.A Cancer J Clin* 35:36-56, 1985.
- 5- Muir C, Waterhouse J, Mack T et all: Cancer incidence in five continents, vol 5 IARC Scientific Publication No:88. Lyon International Agency for Cancer Research, 1987.
- 6- Veronesi U, Goldhirsch A, Yarnold J: Breast cancer. In Peckham M, Pinedo H, Veronesi U: Oxford Textbook of Oncology, Oxford, Universty Press.
- 7- Seer J: Cancer statistics review 1973-1990. In Miller B, Gloeckler R, Hankey B: Breast. Bethesda, NIH Publication, 1992.
- 8- Freeman HP: Cancer in the socio-economically disadvantage. *C.A Cancer J Clin* 39:267-287, 1987.
- 9- Buell P: Changing incidence of breast cancer in Japanese American women. *JNCI* 51:479-487, 1974.
- 10- National Center of Health statistics: Health, United States, 1991, Hyattsvill MD, Public Health Service. 1992.
- 11- Stanley K, Stjenrsward J, Koraltchouk V: Cancer of stomach, lung and breast. Mortality trends and strategies. *Wolrd Health State Q Rep* 41:107-126, 1988.
- 12- Tannock IF, Hill RP: The basic sicience of oncology. 2nd ed. New york, Mc Graw-Hill, 1992.
- 13- Martynova RP: Studies in the genetics of human neoplasms. Cancer of teh breast based on 201 family histories. *Am L Cancer* 29:530-540, 1937.
- 14- Smither DV: Family histories of 459 patients with cancer of the breast. *Brith J Cancer* 2:163-167, 1948.
- 15- Tulinius H: Familial breast cancer in Iceland. *Int J Cancer* 29:365-371, 1982.
- 16- Lynch HT, Mulcahy GM, Lynch P et all: Genetic factors in breast cancer. A survey. *Pathol Ann.* 11:77-101, 1976.
- 17- Maclin MT: Comparison of the number of breast cancer deaths observed in the relatives of patients and the number expected on the basis of mortality rates. *JNCI* 22:927-940, 1959.
- 18- Anderson DE: Genetic study of breast cancer, identification of a high risk group. *Cancer* 34:1090-1097, 1974.

- 19- Lynch HT, Watson P, Conway TA et al: Clinical genetic features in hereditary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 15:63-75, 1990.
- 20- Eales RA, Stratton MR, Goldgar DE, Easton DF: The genetic of familial breast cancer and their practical implications. *Eur J Cans* 30A:1383-1390, 1993.
- 21- Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D et al: BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science* 266:120-122, 1994.
- 22- Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J et al: Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q. *Science* 265:2088-2090, 1994.
- 23- Lynch HT, Albano WA, Watson P et al: Herediter breast/over cancer syndrome. *Proc ASCO* 13:Abs 27, 1994.
- 24- Li FP, Fraumeni JF: Soft tissue sarcomas, breast cancer and other neoplasms. A family syndrome. *Ann Int medicine* 71:747-752, 1969.
- 25- Brownstein MH, Wolf M et al: Cowden's disease. A cutaneous marker of breast cancer. *Cancer* 41:2393-2398, 1978.
- 26- Muir EG, Yates-Bell AJ, Roth SC et al: Multipl primary carcinomata of the colon, duedonum and larynx associated with keratoacanthoma of the scin. *Br J Surg* 54:191-195, 1967.
- 27- Pike MC, Henderson BE, Casagrande LT et al: Oral controceptives use and early abortion as risk factors for breast cancer in young women. *Br J Cancer* 43:72-76, 1981.
- 28- Dao TL: The rol of ovarian steroid hormones in mammary carsinogenesis. In Pike MC, Siiteri PK, Welsh CV et al: *Hormones and breast cancer* New York, Cold Spring, 1981.
- 29- Macmahon B, Cole P, Brown JB et al: Urine estrogen profiles of Asian and North American Women. *Int J Cancer* 14:161-168, 1974.
- 30- Veronesi O, Pizzocaro G: Breast cancer in women subsequent to cystic disease of breast. *Surg Gyn Obst* 126:529-532, 1968.
- 31- Pike M, Bernstein L, Spicer D: Exogenous hormones and breast cancer risk. In: Neiderhuber J.(Ed) *Current therapy in oncology*. St.Louis,Decker, 1993.
- 32- Hoover R, Gray LA, Cole P et al: Menapausal estrogens and breast cancer. *N Engl J Med* 295:401-406, 1976.
- 33- Grady D, Errnster V: Does postmenopausal hormone therapy cause breast cancer ? *Am J Epidemiol* 134:1396-102, 1991.
- 34- Bergkvist L, Adami H, Persson I et al: The risk of breast cancer after estrogen and estrogen-progestin replacement. *N Engl J Med* 321:293-297, 1989.

- 35- Morris DW, Cardiff RD: Multistep model of mouse mammary tumorigenesis. *Cell* 54:123-129, 1988.
- 36- Medina D: The preneoplastic state in mouse mammary tumorigenesis. *Cell* 54:123-129, 1988.
- 37- Leder A, Pattengale PK, Kuo A et al: Consequences of widespread transgenic mice: Multiple neoplasms and normal development. *Cell* 54:123-129, 1988.
- 38- Gullick WJ, Love SB, Wright C et al: c-erbB2 overexpression in human breast cancer: Correlation with clinical outcome in patients with involved and uninvolved lymph nodes. *Br. J. Cancer* 61:123-129, 1989.
- 39- Osborne CK, Coronado EB, Kitten LJ et al: Insulin-like growth factor I (IGF-I) is a growth factor for human breast cancer acting via the IGF-receptor. *Cell* 54:123-129, 1989.
- 40- Cullen KJ, Smith HS, Hill S et al: Growth factor mRNA expression in benign and malignant lesions. *Cancer Res.* 51:4978-4985, 1991.
- 41- Dickson RB: The molecular basis of breast cancer, in Kurzrock R et al: *Textbook of cancer medicine*, London, Dunitz 241-272, 1995.
- 42- Kenney N, Johnson G, Selvam EP: TGF- α and amphiregulin in human breast cancer: Overexpression in transformed, immortalized 184A1N4 human mammary epithelial cells. *Cell* 54:123-129, 1988.
- 43- Coombes RC, Gomm JJ, Lugmani YA: Acidic and basic FGF in human breast cancer: Overexpression in malignant breast cells. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res. (Abst)* 30:123-129, 1989.
- 44- Rios MA, Macios A, Perez R et al: Receptor for epidermal growth factor (EGF) in human breast cancer: Overexpression in relapsing patients with mammary carcinoma. *Anticancer Res.* 8:123-129, 1988.
- 45- Ro J, North SM, Gallick GE et al: Amplified and overexpressed c-erbB2 gene in uncultured primary human breast carcinoma. *Cancer Res.* 49:123-129, 1989.
- 46- Berns EMJJ, Klijn JGM, Van staveren IL et al: Sporadic amplification of the c-erbB2 gene in breast tumors. *Cancer Res.* 52:1036-1039, 1992.
- 47- Prendergast GC, Ziff EB: A new bind for myc. *Trends Genet.* 8:9-12, 1992.
- 48- Bonilla M, Ramirez M, Lopez-Cueto C et al: In vivo amplification of the c-erbB2 gene in human breast tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* 80:665-671, 1988.
- 49- Cline MJ, Battijona H, Yokota J: Protooncogene abnormalities in human breast cancer: Correlation with anatomic features and clinical course of disease. *J.Clin. Oncol.* 7:123-129, 1989.
- 50- Adnane J, Gaudray P, Simon MP et al: Protooncogene abnormalities in human breast cancer: Correlation with anatomic features and clinical course of disease. *Oncogene* 4:1389-1395, 1989.

- 51- Liderau R, Callahan R, Dickson C et al: Amplification of the int-2 gene in primary human breast cancer tumors. *Oncogene Res.* 2:285-291, 1988.
- 52- Varley JM, Walter IA, Casey G et al: A common alteration to the int-2 protooncogene in DNA from primary breast carcinomas. *Oncogene* 3:87-89, 1987.
- 53- Schuurin E, Verhoeven E, Mooi WJ et al: Identification and cloning of two overexpressed genes. U21B31/PRAD1 and EMS 1 within the amplified chromosome region in human carcinomas. *Oncogene* 7:355-361, 1992.
- 54- Faust JB, Meeker TC: Amplification and expression of the bcl-1 gene in human solid tumor cell lines. *Cancer Res.* 52:2460-2463, 1992.
- 55- Holmes WE, Siwowski MX, Akita RW et al: Identification of heregulin, a specific activator of p185. *Science* 256:1205-1210, 1992.
- 56- Peles E, Bacus SS, Koski RA et al: Isolation of the neu/HER-2 stimulatory ligand: a glycoprotein that induces differentiation of mammary tumor cells. *Cell* 69:205-216, 1992.
- 57- Solomon E, Voss R, Hall V et al: Chromosome 5 allele loss in human colorectal carcinomas. *Nature* 328:616-620, 1987.
- 58- Drebin JA, Link VC, Greene MJ: Monoclonal antibodies specific for the neu oncogene product directly mediate antitumor effects in vivo. *Oncogene* 2:387-394, 1988.
- 59- Schejter ED, Segal D, Glazer L et al: Alternative 5' exons and tissue specific expression of the Drosophila EGF receptor homologue transcripts. *Cell* 46:1091-1094, 1986.
- 60- Yokota J, Yamamoto T, Toyoshima K et al: Amplification of c-erbB2 oncogene in human adenocarcinomas in vivo. *Lancet* 1:765-767, 1986.
- 61- Paik S, Hazan R, Fischer RE et al: Pathologic findings from national surgical breast and bowel project: Prognostic significance of c-erbB2 overexpression in primary breast cancers. *J. Clin. Oncol.* 8:103-112, 1990.
- 62- Slamon DJ, Clark GM, Wang SG et al: Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu gene. *Science* 235:177-182, 1987.
- 63- Ali IU, Campbell G, Lederau R et al: Amplification c-erbB2 and aggressive human breast tumors. *Science* 240:1795-1796, 1988.
- 64- Ali IU, Campbell G, Lederau R et al: Lack of evidence for the prognostic significance of c-erbB2 amplification in human breast carcinoma. *Oncogene Res.* 3:1-8, 1988.
- 65- Varley JM, Swallow JE, Brammar WJ et al: Alterations to either c-erbB2 or c-myc protooncogene in breast carcinomas correlate with poor short-term prognosis. *Oncogene* 1:423-430, 1987.

- 66- Berger MS, Locher GW, Saurer S et al: Correlation of c-erbB2 amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. *Cancer Res.* 8:1238-1243, 1988.
- 67- Muss HB, Thor AD, Berry DA et al: c-erbB2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N. Eng. J. Med.* 330:1260-1266, 1994.
- 68- Wiltshcke C, Tyl E, Speiser P et al: Increased naturel killer cell activity correlates with low or negative expression of the HER-2/neu oncogene in patients with breast cancer. *Cancer* 73:135-139, 1994.
- 69- Perren TJ: c-erbB2 oncogene as a prognostic marker in breast cancer. *Br. J. Cancer* 63:328-332, 1991.
- 70- Kandl H, Seymour L, Bezwoda WR: Soluble c-erbB2 fragment in serum correlates with disease stage and predicts for shortened survival in patients with early stage and advanced breast cancer. *Br. J. Cancer* 70:739-742, 1994.
- 71- Paterson MC, Dietrich KD, Danyluk J et al: Correlation between c-erbB2 amplification and risk of recurrent disease in node negative breast cancer. *Cancer Res.* 51:556-557, 1991.
- 72- Seshadri R, Firgaira FA, Horsfall DJ et al: Clinical significance of HER-2/neu oncogene amplification in primary breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 11:1939-1942, 1993.
- 73- El-Dairy WS, Kern SE, Pietenpol JA et al: Definition of a consensus binding site for p53. *Nat. Genet.* 1:45-49, 1992.
- 74- Davidoff AM, Iglehart JD, Marks JR: Immunoresponse to p53 is dependent on p53/HSP70 complexes in breast tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:3439-3442, 1992.
- 75- Allred DC, O'Connel P, Fuqua SA, Osborne CK: Immunohistochemical studies of early breast cancer evolution. *Breast Cancer Res Treat*, 32:1,13-8, 1994.
- 76- Dawkins HJ, Robbins PD, Smith KLSarna M, Harvey JM, Sernet GF, Papadimitriou JM: What's new breast cancer ? Molecular perspectives of cancer development ant the role of the oncogene c-erbB2 in prognosis and disease. *Pathol Res Pract* 189:10, 1233-52, 1993.
- 77- Barnes DM, Bartkova J, Campjohn RS, Gullick WJ, Smith PJ, Millis RR: Overexpression of the c-erbB2 oncoprotein: why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is tihs of prognostic significance ? *Eur J Cancer* 28:2-3, 644-8, 1992.
- 78- Tan P, Cady B, Wanner M, Worland P, Cukor B, Magi-Galluzzi C, Lavin P, Draetta G, Pagano M, Loda M: The cell cycle inhibitor p27 is an independent prognostic marker in small (T1a,b)invasive breast carcinoma. *Cancer Res*, 57:7, 1259-63, 1997 Apr 1.

- 79- Leal CB, Schmitt FC, Bento MJ, Maia NC, Lopes CS: Ductal carcinoma in situ of the breast. Histologic categorization and its relationship to ploidy and immunohistochemical expression of hormone receptors, p53, and c-erbB2 protein. *Cancer*, 75:8, 2123-31, 1995.
- 80- O'Malley FP, Saad Z, Kerkvliet N, Doig G, Stitt L, Ainsworth P, Hundal H, Chambers AF, Turnbull DI, Bramwell V: The predictive power of semiquantitative immunohistochemical assessment of p53 and c-erbB2 in lymph node-negative breast cancer. *Hum Pathol*, 27:9, 955-63, 1996.
- 81- Perin T, Canzonieri V, Massarut S, Bidoli E, Rossi C, Roncadin M, Carbone A: Immunohistochemical evaluation of multiple biological markers in ductal carcinoma in situ of the breast cancer. *Eur J Cancer*, 32A:7, 1148-55, 1996.
- 82- Lagios MD: Classification of duct carcinoma in situ (DCIS) with a characterization of high grade lesions: defining cohorts for chemoprevention trials. *J Cell Biochem Suppl* 25: 108-11, 1996.
- 83- Rudas M, Neumayer R, Gnant MF, Mittelböck M, Jakesz R, Reiner A: p53 protein expression, cell proliferation and steroid hormone receptors in ductal and lobular in situ carcinomas of the breast. *Eur J Cancer* 33:1, 39-44, 1997.
- 84- Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK, Angus B, Horne CH, Higgs MJ, Lennard TW: The relationship between flow-cytometric and immunohistochemically detected c-erbB2 expression, grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunol Immunother* 41:3, 137-45, 1995.