



SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
OKMEYDANI SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
PATOLOJİ BÖLÜMÜ

**TRİPLE NEGATİF MEME KANSERLERİNDE ALK DURUMUNUN
İMMNHİSTOKİMYASAL VE FISH YÖNTEMLERİ İLE TAYİN
EDİLEREK BU İKİ YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI VE KI67
İNDEKSİ İLE İLİŞKİSİNİN SAPTANMASI**

Dr. Özlem Korkmaz

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Selver zekinci

(UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2017



SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
OKMEYDANI SAĞLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ

PATOLOJİ BÖLÜMÜ

TRİPLE NEGATİF MEME KANSERLERİNDE ALK DURUMUNUN
İMMNHİSTOKİMYASAL VE FISH YÖNTEMLERİ İLE TAYİN
EDİLEREK BU İKİ YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI VE KI67
İNDEKSİ İLE İLİŞKİSİNİN SAPTANMASI

Dr. Özlem Korkmaz

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Selver zekinci

(UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren hocam, tez danışmanım, Doç. Dr. Selver Özekinci'ye, uzmanlık eğitimimdeki katkılarından dolayı sayın hocalarım Uzm. Dr. Deniz Özcan'a ve Doç. Dr. Fetin Rüştü Yıldız'a,

Asistanlık sürem boyunca mesleki gelişimimde emekleri bulunan Uzm. Dr. Çağlar Çakır, Uzm. Dr. İlknur Mansuroğlu, Uzm. Dr. Pınar Özay Nayır, Uzm. Dr. Selma Şengiz Erhan, Uzm. Dr. Servet Şişman, Uzm. Dr. Tamer Aydın, Uzm. Dr. Gülçin Kamalı, Uzm. Dr. Tülay Sayılğan, Uzm. Dr. Rahime Tanrıtanır ve Uzm. Dr. Özben Yalçın'a,

Rotasyon sürem boyunca tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Dilek Yılmazbayhan, Prof. Dr. Pınar Fırat, Doç. Dr. Yasemin Özlük'e ve Adli Tıp Kurumu'ndan Dr. Taner Daş, Yrd. Doç. Dr. Muzaffer Yıldırım, Dr. Ayşe Özgün'e,

Asistanlık sürem boyunca yardımlarını esirgemeyen meslektaşlarım ve dostlarım Uzm. Dr. Şenay Erdoğan Durmuş, Uzm. Dr. Enver Yarıkaya, Uzm. Dr. Funda Emre, Uzm. Dr. Mehmet Özer, Uzm. Dr. Nurhan Erzurumluoğlu, Dr. Aytül Sargan, Dr. Bahar Sarı, Dr. Gizem Ayaz, Dr. Elis Kangal, Dr. Zeynep Betül Erdem, Dr. Sinem Özbey, Dr. Tuğba İpin ve Dr. Damla Karabıyık'a ve tezimin hazırlık aşamasında büyük katkıları olan başta Ayşenur Sanan olmak üzere tüm bölüm personeline,

Tezimin FISH analizinde yardımlarını esirgemeyen Dr. Hakkı Bey ve Candan Hanım'a, Verdiğim her kararda yanımda olan ve desteklerini her zaman hissettiğim aileme,

Her zor anımda sabırla yanımda olan M. Şamil Topçuoğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	<i>i</i>
İÇİNDEKİLER.....	<i>ii</i>
KISALTMALAR.....	<i>iii</i>
TABLO LİSTESİ.....	<i>iv</i>
ŞEKİL LİSTESİ.....	<i>v</i>
ÖZET.....	<i>vi</i>
ABSTRACT.....	<i>vii</i>
I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
NORMAL MEME DOKUSUNUN ÖZELLİKLERİ.....	3
MEMENİN EMBRİYOLOJİSİ.....	3
MEMENİN MAKROSKOPİK ANATOMİSİ.....	4
MEMENİN KANLANMASI VE LENFATİK DRENAJİ.....	4
MEMENİN HİSTOLOJİSİ.....	5
MEME KANSERİ.....	8
MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ VE ETYOLOJİSİ.....	8
MEME KANSERİNDE TANI.....	9
MEME KARSİNOMUNUN SINIFLANDIRILMASI.....	12
MEME KANSERİNDE TEDAVİ.....	17
ALK VE TAYİNİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER.....	18
III. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	22
IV. BULGULAR.....	26
V. TARTIŞMA.....	35
VI. SONUÇLAR.....	41
KAYNAKLAR.....	42
EK 1:ETİK KURUL ONAY BELGESİ	
EK 2: HASTALARIN ÖZELLİKLERİ VE YAPILAN ANALİZLERİN SONUÇLARI	

KISALTMALAR

ABHL (Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma)

ALK (Anaplastik Lenfoma Kinaz)

ASCO/CAP (Amerikan Klinik Onkoloji Derneği ve Amerikan ve Kanada Patologlar Derneği)

DCIS (Duktal Karsinoma İn Situ)

EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)

EML4 (Echinoderm microtubule associated protein-like 4)

ER (Östrojen Reseptörü)

FISH (Floresan İn Situ Hibridizasyon)

HE (Hematoksilen Eozin)

HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2)

İnvaziv duktal karsinom, NOS (İnvaziv duktal karsinom, başka şekilde sınıflandırılmayan)

KHDAK (Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomu)

MKC (Meme Koruyucu Cerrahi)

MRI (Magnetik Rezonans Görüntüleme)

NPM (Nükleoplazmin)

PR (Progesteron Reseptörü)

USG (Ultrasonografi)

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Major steroid ve peptid hormonların memeye etkileri

Tablo 2.2: İnvaziv meme karsinomunun histolojik tipleri

Tablo 2.3: Meme karsinomunun moleküler sınıflandırması

Tablo 4.1: Tanımlayıcı özelliklerin dağılımları

Tablo 4.2: ALK FISH sonucuna göre tanımlayıcı özelliklerin değerlendirilmesi



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: ALK tirozin kinaz reseptörlerinin şematik çizimi ve NMP-ALK sinyal yolağı

Şekil 2.2: ALK reseptör kinaz: füzyon proteinleri

Şekil 3.1: Triple negatif meme kanserinin immünhistokimyasal profili

Şekil 4.1: Tümörlerin histolojik tiplerinin dağılımları

Şekil 4.2: Tümörlerin farklı histolojik tipleri ve histolojik gradel'lerine ait HE kesitler

Şekil 4.3: Tümörlerin farklı Ki67 indekslerine ait Ki67 immünhistokimyasal analiz sonuçları

Şekil 4.4.a, 4.4.b, 4.4.c: Tümörlerin ALK immünhistokimya ve FISH analizi sonuçlarına ait örnekler

Şekil 5.1: Akciğer adenokarsinomlarında ALK tayininde kullanılacak immünhistokimyasal, moleküler ve sitogenetik testler için algoritma

ÖZET

AMAÇ: Tüm meme kanserlerinin yaklaşık olarak %15'ini oluşturan triple negatif meme kanserleri; östrojen reseptörü ve progesterone reseptörü ekspresyon kaybı olan ve human epidermal growth factor receptor 2 gen amplifikasyonu bulunmayan tümörler olarak tanımlanır ve bu nedenle triple negatif meme kanseri olan kadınlar endokrin tedaviden ve trastuzumab tedavisinden faydalanamazlar. Güncel olarak uygulanabilen tek sistemik tedavi seçeneği kemoterapidir. Triple negatif meme kanseri tedavisini geliştirme ve sağ kalımı arttırmada, yeni hedefe yönelik tedavilerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır. ALK durumunun tayininde immünohistokimya ve FISH yöntemleri kullanılarak uygun ve etkin olan yöntem belirlenecek, ALK durumunun bir proliferasyon antijeni olan Ki67 ile ilişkisi saptanacaktır. Bilinen hormonal ve moleküler hedefe yönelik tedavilerden faydalanamayan, triple negatif meme kanseri olan hastaların, alternatif bir tedavi seçeneği olarak anti-ALK tedavisine (örn: crizotinib) aday olabileceklerini araştırmak ve bu bağlamda literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

GEREÇ (OLGULAR) VE YÖNTEMLER: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi-Patoloji Bölümü patoloji rapor arşivi incelenerek, Ocak 2014 ve Aralık 2016 tarihleri arasında, triple negatif meme kanseri tanısı almış, 70 olgu seçildi. ALK protein ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle ALK-p80 Fare Monoklonal Antikoru (klon 5A4, Novocastra, dilüsyon 1:100) uygulanarak, ALK rearanjmanı FISH yöntemi ile 2p23 ALK DNA break apart FISH Probu kullanılarak tayin edildi. ALK durumu sonuçlarının bir proliferasyon antijeni olan Ki67 ile ilişkisi saptandı. Ayrıca ALK durumu ile hastanın yaşı, tümörün histolojik tipi ve histolojik grade'i gibi klinikopatolojik parametrelerin ilişkisi araştırıldı.

BULGULAR: Tüm olguların ALK immünohistokimya sonucu negatif bulundu.

ALK FISH sonuçları %0 ile %44 arasında değişmekte olup ortalama $4,63 \pm 9,15$ 'tir. Olguların %84,3'ünün (n=59) ALK FISH sonucu negatif, %15,7'sinin (n=11) ise pozitif izlendi. ALK FISH sonucuna göre Ki 67 sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı

farklılık saptanmadı. ($p>0,05$).ALK FISH sonucu, hastanın yaşı, tümörün histolojik tipi ve histolojik grade'ine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi.

SONUÇ: Çalışmamızın sonuçlarına göre; ALK gen rearanjmanı triple negatif meme kanserlerinde %15 oranında saptanmadı. Bu nedenle ALK gen rearanjmanı taşıyan triple negatif meme kanserli hastaların anti-ALK tedavisine aday olabileceklerini, bu hastalarda ALK tayini yapılarak anti-ALK tedavisine uygun hastaların seçilmesi gerektiğini ve ALK değişimlerini saptamada immünohistokimyasal yöntemde rutin kullanılacak antikorun özelliklerini belirleyebilmek için yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşündük.

ANAHTAR KELİMELER: ALK, FISH, immünohistokimya, Ki67, triple negatif meme kanseri

ABSTRACT

AIM: Triple negative breast cancer, defined by the lack of estrogen receptor and progesterone receptor expression and the absence of human epidermal growth factor receptor 2 gene amplification, composes of approximately 15% of all breast cancers. Women with triple negative breast cancer do not benefit from endocrine therapy or trastuzumab. Chemotherapy is the only systemic therapy currently available. Identification of new targeted therapy will lead to progress in the therapy of triple negative breast cancer and increase survival rates. With this study, we aim to identify the suitable and effective method in detection of ALK status by immunohistochemistry and FISH and the association of ALK status with Ki67 as a proliferation antigen. This study aims at providing evidence for suggesting anti-ALK (crizotinib) as an alternative therapy for triple negative breast cancer cases which cannot be treated with known hormonal and molecular targeted therapy. The result of this study is expected to be a valuable contribution to the literature.

MATERIALS (CASES) AND METHODS: 70 cases diagnosed with triple negative breast cancer between January 2014 and December 2016 have been selected from the archive of Sağlık Bilimleri University Okmeydanı Education and Research Hospital - Pathology Department. ALK protein expression has been detected by immunohistochemistry using ALK-p80 Mouse Monoclonal Antibody (clone 5A4, Novocastra, dilution 1:100) and ALK gene rearrangement has been detected by FISH using break apart 2p23 ALK DNA FISH Probe. The association of ALK status with Ki67 as a proliferation antigen has been identified. Besides, the association of ALK status with clinicopathological parameters (such as age, histologic type and histologic grade) has also been examined.

RESULTS: In all cases, the result of ALK immunohistochemistry was negative. ALK FISH results ranged from 0% to 44% with a mean of $4.63 \pm 9.15\%$. 84.3% (n = 59) of the cases were negative for ALK FISH and 15.7% (n = 11) were positive. There was no statistically significant difference between Ki 67 outcomes according to ALK FISH results ($p > 0,05$). ALK FISH did not show a statistically significant difference

according to the histologic type and histological grade of the tumor and the age of the patients.

CONCLUSION: According to the results of our study; ALK gene rearrangement was detected in 15% of triple negative breast cancers. Therefore, we think that triple negative breast cancer patients carrying ALK gene rearrangement may be candidates for anti-ALK treatment, that patients should be selected for anti-ALK treatment by conducting ALK test and that new and comprehensive studies are needed to determine the characteristics of routine antibody in detecting ALK changes by immunohistochemistry.

KEY WORDS: ALK, FISH, immunohistochemistry, Ki67, triple negative breast cancer

I.GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri; morfolojik özellikleri, moleküler profilleri, tedaviye yanıt ve klinik gidiş açısından heterojen bir grup hastalıktır. Dünya çapında yıllık 1 milyondan fazla olgu ile en yaygın malign tümördür ve tedavi protokollerindeki gelişmeler ve yeni tedavilerin eklenmesine rağmen kadınlarda karsinoma bağlı ölümlerin başlıca nedenidir (1).

Tüm meme kanserlerinin yaklaşık olarak %15'ini oluşturan triple negatif meme kanserleri; estrogen reseptörü (ER) ve progesterone reseptörü (PR) ekspresyon kaybı olan ve human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) gen amplifikasyonu bulunmayan tümörler olarak tanımlanır ve bu nedenle triple negatif meme kanseri olan kadınlar endokrin tedaviden ve trastuzumab tedavisinden faydalanamazlar. Güncel olarak uygulanabilen tek sistemik tedavi seçeneği kemoterapidir. Bu hastalardaki artmış hastalık progresyon riskini azaltmak için, daha az toksik olan ve bu hasta popülasyonunu hedef alan daha iyi tedavi seçeneklerine ihtiyaç vardır(2).

Meme kanserinin moleküler heterojen bir alt tipi olan triple negatif meme kanserinin, agresif bir klinik seyri vardır ve tedavi için tanımlanmış bir moleküler hedefi bulunmamaktadır (3). Neoadjuvan kemoterapiye klinik yanıt oranı yüksek olsa da, triple negatif meme kanseri olan hastalar diğer meme kanseri subtiplerine kıyasla artmış rekürrens oranı ve kötü prognoza sahiptir. Metastatik triple negatif meme kanseri olan kadınların 5 yıllık sağ kalım oranları %30'dan azdır ve tedavinin ana dayanak noktası olan kemoterapiye rağmen hastaların tamamına yakını hastalık nedeniyle ölür (4). Triple negatif meme kanseri tedavisini geliştirecek ve sağ kalımı arttıracak, daha az toksik olan yeni hedefe yönelik tedavilerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır(5).

Tirozin kinaz reseptörleri hücre proliferasyonunun kontrolünde, hücre sağ kalımında ve normal hücre diferansiasyonunda kritik role sahiptir. Bir transmembran tirozin kinaz reseptörü olan anaplastik lenfoma kinaz (ALK) kromozom 2p23 üzerinde yer alır ve insülin reseptör süperaillesinin bir üyesidir(6).

ALK'nın, ilk olarak bir grup anaplastik büyük hücreli lenfoma (ABHL) hastalarında füzyon partneri olarak nükleoplazmin (NPM) ile kromozomal

rearanjmanı (NPM-ALK), t(2;5) (p23,q35) tanımlanmıştır (7). Füzyon sonucu oluşan kimerik protein (p80) ALK tirozin kinazı esas olarak aktive eder (1).

Bu çalışmada da ALK overekspresyonunun klinik önemi ve sıklığı hakkında daha fazla bilgiye sahip olabilmek için immünohistokimyasal yöntemle ekspresyonu araştırılacak olan protein p80 (ALK)'dir. ALK gen rearanjmanını belirlemek için ise break apart floresan in situ hibridizasyon (FISH) probu ile FISH yöntemi kullanıldı.

Akciğer adenokarsinomlarında ALK tayininde immünohistokimya ve FISH yöntemlerinin birlikte kullanılmasının optimal yöntem olduğu gösterilmiştir (8).

Bir proliferasyon antijeni olan Ki67'nin ekspresyonunun yüksek olduğu meme kanserlerinin kemoterapiye yanıtının daha iyi olduğu ancak kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (9). Bu fenomen triple negatif meme kanserlerindeki paradoksla benzerdir (1). Dolayısıyla bağımsız bir prognostik ve prediktif değeri bulunan, bir proliferasyon antijeni olan Ki67 ile ALK durumu ilişkisi saptanarak bu hastalardaki kötü prognozun nedeni anlaşılmasına çalışılacaktır.

Bilinen hormonal ve moleküler hedefe yönelik tedavilerden faydalanamayan, triple negatif meme kanseri olan hastaların, alternatif bir tedavi seçeneği olarak anti-ALK tedavisine (crizotinib, vb.) aday olabileceklerini kanıtlamak ve bu bağlamda literatüre katkı sağlamak amaçlandı.

Bu çalışmada, triple negatif meme kanseri olan vakalarda ALK protein ekspresyonu immünohistokimyasal yöntem kullanılarak, ALK gen rearanjmanı ise FISH yöntemi kullanılarak tayin edildi ve protein ekspresyonu ile gen rearanjmanı ilişkisi değerlendirildi. Elde edilen verilerin Ki67 indeksi ile ilişkisi araştırıldı. Ayrıca ALK durumu ile hastanın yaşı, tümörün histolojik tipi ve histolojik grade'i gibi klinikopatolojik parametrelerin ilişkisi araştırıldı.

II.GENEL BİLGİLER

NORMAL MEME DOKUSUNUN ÖZELLİKLERİ

Memenin Embriyolojisi

5. gebelik haftasında fetüsün ventral yüzünde ektoderm kalınlaşmasıyla meme glandı oluşmaya başlar. Bu meme hatları (süt çizgileri) aksilladan kasığa kadar uzanır. Pektoral bölgedeki küçük bir alan dışında fetüs büyümeye devam ettikçe bu hattın büyük bir kısmı regrese olur. Regresyonda hata olursa postnatal hayatta süt çizgisi hattının herhangi bir yerinde ektojik meme dokusu veya aksesuar meme olarak sonuçlanır. Ektopi en sık aksilla, intramammarian oyuk ve vulvada görülür.

Meme gelişiminin erken evresi çoğunlukla seks steroid hormonlarından bağımsızdır. 15. haftadan sonra gelişmekte olan meme başlıca etkisi mezenkime olan testosterona karşı geçici bir duyarlılık sergiler. Testosteron etkisindeki mezenkim göğüs duvarında epitelin etrafında kondanse olur ve meme tomurcuğu oluşur. Solid epitelyal kolumnalar mezenkim içinde gelişir ve loblarda veya meme gland segmentlerinde sonlanır.

Fetal papiller dermis gelişen epitelyal kordları örter ve sonunda meme duktuslarının ve lobüllerinin vaskülarize fibröz bağ dokusuyla kuşatılmasına neden olur. Kollajenden zengin retiküler dermis Cooper'ın suspensör ligamanlarını yapmak üzere memenin içine uzanır. Meme parankimini deriye bağlar, memeden pektoral fasyaya uzanır. 20 - 32. haftalarda mezenkim kollajenöz stroma içinde yağ dokusuna farklılaşır. Gebeliğin son sekiz haftası boyunca mezenkimal parakrin etkiyle epitelyal kordlar kanalize olur ve dallanır, lobüloalveoler yapılar oluşur.Laktiferöz duktusların birleşmesiyle meme çukuru (epidermis çöküntüsü) oluşur ve doğuma yakın zamanda öne doğru çıkıntı yaparak meme başı oluşur.

Gestasyonun son birkaç haftasında fetal meme dokusu maternal ve plasental steroid hormonlarına duyarlıdır ve bunun sonucu olarak asiner ünitteki epitelyal hücreler sekretuar aktivite gösterir. Doğumla birlikte maternal ve plasental seks steroidlerinin geri çekilmesiyle prolaktin sekresyonu uyarılır. Aynı zamanda meme tomurcuğunda büyüme olur. Maternal ve plasental seks steroid hormonlarının ve prolaktinin kan seviyelerinin düşmesiyle yaşamın ilk ayında sekretuar aktivite biter,

gland regrese olur ve inaktif hale gelir. Bu dönemden puberteye kadar meme primer olarak laktiferöz duktuslardan ibarettir. Bazı dallanmalar gösterir ancak progresif alveoler diferansiyasyon olmaz, rudimenter lobüler yapılar kalabilir.

Fetal memede görülen başka bir özellik ekstramedüller hemopoezdır. Periduktal stromada yaşamın dördüncü ayına kadar kalabilir (10).

Memenin Makroskopik Anatomisi

Meme, ağırlığı 30 gr ile 1000 gr arasında kişinin vücut tipine bağlı olarak değişen miktarda yağ depolayan bir organdır. Meme pektoralis majör kasının önünde ön göğüs duvarında yer alır ve tipik olarak vertikal aksta ikinciden altıncı kota ve horizontal aksta sternum kenarından orta aksiller çizgiye uzanır. Spence kuyruğu olarak meme dokusu aksillaya da uzanır. Meme lateralde serratus anterior kası, inferiorde eksternal oblik kas ve superior rektus kası kılıfı üzerinde uzanır. Yoğun fibröz doku demetleri olan Cooper asıncı ligamanları deriden pektoral fasyaya uzanır ve memeye destek sağlar. Memenin anatomik olarak iyi tanımlanmış tek sınırı pektoral fasyayla birleştiği derin yüzüdür ancak bu makroskopik sınırlamaya rağmen mikroskopik bez dokusu pektoral fasyaya girebilir ve hatta aşabilir. Bunun klinik önemi total mastektominin bile tüm meme bez dokusunun çıkarılmasıyla son bulmamasıdır (10).

Memenin Kanlanması ve Lenfatik Drenajı

Memeye başlıca arteriyel kanlanmayı internal mammarian arter ve lateral torasik arter sağlar. Torakoakromial, interkostal, subskapular ve torakodorsal arterlerin dalları meme kanlanmasına küçük katkıda bulunurlar.

Memenin venöz drenajı varyasyonlar gösterir fakat büyük oranda arteriyel sistemi takip eder. Süperfisial venöz kompleks lateralden mediale doğru subkutanöz dokuda seyrederek ve internal torasik vene drene olur. Derin venöz drenajda internal torasik venin dalları, aksiller venin dalları ve interkostal venlerin uzantıları olmak üzere üç rota vardır.

Memenin lenfatik drenajı dört rotada olur; kutanöz, aksiller, internal torasik ve posterior interkostal lenfatikler. Kutanöz lenfatik drenaj, süperfisial pleksus (meme derisinin dermisinde) ve derin pleksustan (subareolar alanda meme

duktuslarıyla seyreden) oluşur. Bunlar aynı taraf aksillaya direne olur. Aksilla lenf düğümleri lenfatik drenajın %90'ından fazlasını alır. Lenf drenajının küçük bir kısmı karşılıklı olarak internal torasik ve posterior interkostal lenfatikler aracılığıyla internal meme ve posterior interkostal lenf düğümlerine drene olur. Sentinel lenf nodu nadiren aksilla dışında olabilir (10).

Memenin Histolojisi

Adölesan meme gelişimi kızlarda puberte hamlesiyle östrojen ve progesteronun siklik salınımıyla başlar. Ayrıca çeşitli diğer steroid ve peptid hormonlar da meme gelişiminden sorumludur (Tablo 2.1).

Erişkin kadın memesi terminal duktuli adı da verilen asinide son bulan dallanan duktus ve duktulilerden oluşur. Asini lobülleri oluşturmak üzere bir araya gelir. Bu yapıların düzenlenmesi çiçek açan ağaca benzetilmiştir. Duktus ve duktulilere (dal ve dalcıklar) direne olan lobüller çiçekleri temsil eder ve meme başı yüzeyine açılan toplayıcı duktuslara (gövde) direne olurlar. Meme başında duktuslar laktiferöz sinüsleri oluşturmak üzere genişler. Sinüsler meme başının yüzeyinin altında koni şeklinde torbamsı genişleme olarak son bulurlar.

Meme duktusları ve lobülleri değişen oranda fibröz doku ve yağ dokudan oluşan stromaya gömülüdür. Laktasyonda olmayan memenin büyük kısmını stroma oluşturur ve fibröz doku ve yağ doku oranı yaş ve bireyler arasında farklılık gösterir. Memenin duktolobüler sistemi segmentler veya loblar şeklinde düzenlenmiştir. Segmentler arasında; cerrahi sırasında, makroskopik incelemede veya histolojik incelemede net sınırlar görülmeyebilir. Özellikle duktal karsinoma in-situ olmak üzere memede bazı neoplastik süreçlerin segmental doğası yaygın olarak kabul edilmektedir (hasta lob hipotezi). Bu teori erken meme karsinomunu (duktal karsinoma in-situ) lobar ve çoğu kez tek bir duktal sisteme sınırlı bir hastalık olarak kabul eder (11).

Tablo 2.1: Major steroid ve peptid hormonların memeye etkileri

ESTROJEN Adölesanlarda duktal büyüme ve dallanma için gereklidir. Gebelikte lobüloalveoler büyüme için gereklidir. Progesteron reseptör indüksiyonu için gereklidir. Sekresyon ve laktasyon için gerekli değildir.	İNSÜLİN Duktal-alveoler büyüme artırır. Meme epitelinde protein sentezini artırır. Sekretuar aktiviteden sorumludur (glukokortikoidler ve prolaktinle birlikte)
PROGESTERON Lobüloalveoler diferansiasyon ve büyüme için gereklidir. Normal östrojen bağımlı memede muhtemelen mitojendir. Duktal gelişim ve dallanma için gerekli değildir.	PROLAKTİN Doğumdan sonra epitelyal büyüme uyarır. Laktasyonun başlaması ve sürmesinden sorumludur.
TESTOSTERON Fetal gelişim esnasında meme mezenkimini uyarır. Testosteron duyarlılığının kritik periyodunda meme epitelyumunun mezenkiminde destrüksiyona neden olur.	HUMAN PLESENAL LAKTOJEN Epitelyal büyüme ve diferansiasyon için prolaktinin yerine geçebilir. Gebeliğin ikinci yarısında alveolar büyüme ve laktogenezisi uyarır.
GLUKOKORTİKOSTEROİDLER Maksimal duktal büyüme için gereklidir. Gebelik esnasında lobüloalveoler büyüme artırır.	BÜYÜME HORMONU Adölesanlarda duktal büyüme ve dallanmadan sorumludur. Gebelik boyunca lobüloasiner büyüme katılabilir.
TİROİD HORMONU Prolaktine epitelyal cevabı artırır. Lobuloasiner büyüme artırabilir.	

Duktal-lobüler sistem boyunca hücresel dökeme iki tabakalıdır. İç (lüminal) epitelyal hücre tabakası ve dış (bazal) myoepitelyal hücre tabakasından oluşur.İstirahat halinde meme duktus ve lobüllerinin lüminal epitelyal hücreleri kübik kolumnar şekillidir ve tipik olarak soluk eozinofilik sitoplazmalı ve nispeten uniform oval nükleusludur. Bu epitelyal hücreler sitokeratin 7, 8, 18, 19 dahil çeşitli düşük molekül ağırlıklı keratinleri eksprese eder. Dış myoepitelyal hücre tabakası her zaman mevcut olmasına rağmen değişken belirgindir. Myoepitelyal hücreler görünüşte, basık nükleuslu yassılaştırmış, zar zor ayırt edilen hücrelerdengeniş berrak

sitoplazmalı belirgin epiteloid hücrelere değişir. Bazı vakalarda, myoepitelyal hücreler iğ hücre şekilli ve yoğun, eozinofilik sitoplazmaya sahip düz kas hücrelerini hatırlatan myoid görünümlüdür. Hematoksilin Eozin (HE) boyalı kesitlerde göze çarpmasalar bile myoepitelyal hücreler S-100 proteini, aktin, kalponin, ağır zincir düz kas myozin, p63 ve CD10 dahil çeşitli belirteçler için immünohistokimyasal boyalar kullanılarak kolayca gösterilebilir. Ancak bu belirteçler duyarlılık ve özgüllükte myoepitel için değişkendir. Myoepitelyal hücreler ayrıca yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin 5/6, 14 ve 17'yi de eksprese ederler. Fakat sitokeratin 14 ekspresyonu büyük duktus ve terminal duktusların myoepitelyal hücrelerinde sınırlıdır, intralobüler duktuli ve asini myoepitelyal hücrelerinde eksprese olmaz (10).

Meme duktusları, duktuli ve asinusları tip IV kollajen ve lamininden oluşan bazal lamina çevreler. Bu bazal lamina myoepitelyal hücre tabakası dışında mevcuttur ve meme dukto-lobüler çevreleyen stromadan ayırmaya hizmet eder. Bazal laminanın ötesinde, ekstralobüler duktuslar fibroblast ve kapillerler zonu gösterir. Elastik doku normalde duktuslar etrafında değişik miktarda mevcuttur ve genellikle yaşlı kadınlarda gençlerden daha belirgindir. Normalde tipik olarak terminal duktuslar veya asini etrafında elastik lif görülmez.

Normal lobül değişik sayıda kör sonlanan her biri tipik çift hücre tabakalı asini adı verilen terminal duktulardan oluşur. Lobüler asini değişik sayıda lenfosit, plazma hücresi, makrofaj ve mast hücresiyle gevşek fibrovasküler intralobüler stromayla çevrilidir. Bu özelleşmiş intralobüler stroma, çevreleyen daha yoğun, daha kollajenize, hücreden fakir interlobüler stroma ve stromal yağ dokusundan keskin sınırla ayrılmıştır (11).

Meme başı-areola kompleksi artmış pigmentasyon gösteren ve çok sayıda duysal sinir sonlanması içeren sirküler deri alanıdır. Meme başının tepesi 15-20 ağız içerir ve emzirmeyen memede bu duktus açıklıkları tipik olarak keratin tıkaçlara sahiptir. Areola yüzeyi çok sayıda küçük, yuvarlak yükselti olan Montgomery tümsekçikleri gösterir. Meme başı ve areola keratinize çok katlı skuamöz epitelle örtülüdür ve bu laktiferöz duktusların son kısımlarının içine kısa mesafe uzanır. Meme başı-areola kompleksinin epidermisi nadiren sitolojik benign ve Paget hücreleriyle karıştırılmaması gereken berrak hücreler içerebilir. Bu hücrelerin

bazıları berrak keratinositleri temsil ederken diğerlerinin epidermiste yer alan meme duktus epitelinden (Toker hücreleri) kaynaklandıkları düşünülmektedir. Meme duktal sisteminin meme başı dermisinde mevcut proksimal dallanmaları tipik olarak pilili veya testere dişi gibi dış hatlıdır. Bu duktuslar dairesel ve uzunlamasına düz kas demetlerinden, kollajen ve elastik liflerden zengin bir stroma ile çevrilidir. Meme başı-areola kompleksi areola çevresi haricinde pilosebasöz birimler ve kıllar içermese de dermiste çok sayıda sebaceöz bez vardır. Bu bezlerin bazıları direkt olarak meme başı ve areola yüzeyine açılırken diğerleri laktiferöz duktusa direne olur veya laktiferöz duktus ile ortak ağız paylaşır. Montgomery tümsekçikleri sebaceöz aygıt ve ilgili laktiferöz duktustan oluşan bir birimdir. Gebelik süresince bu tümsekçikler giderek belirginleşir. Meme başı ve areola derisinde apokrin ter bezleri görülebilir (10).

MEME KANSERİ

Meme Kanseri Epidemiyolojisi ve Etyolojisi

Meme karsinomu, dünya çapında yıllık 1.000.000'dan fazla olgu ile en yaygın malign tümördür ve kadınlarda karsinoma bağlı ölümlerin başlıca nedenidir. Birleşik Devletler'de yılda yaklaşık 100.000 yeni olgu tanı almakta ve yaklaşık 30.000 kişi hastalıktan ölmektedir. Sıklık Kuzey Amerika'da ve Kuzey Avrupa'da yüksek (100.000 kadında 91.4 yeni olgu/yıl), Güney Avrupa ve Latin Amerika ülkelerinde orta düzeyde ve birçok Asya ve Afrika ülkesinde düşük düzeydedir.

Meme karsinomunun gelişimi için çeşitli risk faktörleri belirlenmiştir. Bu faktörlerin çoğunun ortak paydası genetik olarak duyarlı zeminde güçlü ve/veya uzun süreli östrojen stimülasyonudur. Risk faktörleri içinde; aile öyküsü, erken menarş, nulliparite, ilk doğum yaşının ileri olması, geç menopoz, ekzojen östrojen kullanımı, kontraseptif ajanlar, meme büyütme ve iyonizan radyasyon sayılabilir. Ayrıca ataksi-telenjiektazi ve Cowden sendromlu hastalar yüksek bir meme karsinomu riskine sahiptir.

Meme kanserlerinin büyük bir kısmı reproduktif yıllar boyunca saptanır. Sıklık eğrisi pubertede yükselmeye başlar, menopozal yaşa kadar yukarı çıkar ve daha sonra düşer. Bununla birlikte meme kanseri çocukluktan yaşlılığa kadar

herhangi bir yaşta gelişebilir. Yaşlılarda görülen karsinomlar, morfolojik ve moleküler zeminde diğerlerinden önemli bir fark göstermez (12).

Meme Kanserinde Tanı

1.Klinik değerlendirme:

Memeanomalileri genellikle fizik muayene, görüntüleme çalışmaları ve şüpheli veya belirlenememiş lezyonların doku örneklemesini içeren 'üçlü değerlendirme' ile incelenir (13).

a.Fizik muayene:

Palpasyon, meme hastalıklarının saptanması ve değerlendirilmesinde gelenekselleşmiş bir yöntemdir. Hekim ve hastanın kendisi tarafından uygulanabilen son derece kullanışlı ve pratik bir teknik olarak kalmaya devam etmektedir. Bununla birlikte duyarlılığı ve özgüllüğü sınırlıdır. Mammografi ile saptanan tümörlerin sadece %60'ı palpe edilebilir. Benign olduğu düşünülen olguların %15'inde ve malign olduğu düşünülen olguların %10'unda bu klinik izlenim hatalıdır (12).

Fizik muayene; memenin dört kadranının palpasyonu, büyümüş lenf nodları için aksillanın palpasyonu, meme cildi, areola, meme başı muayenesi ve meme başı akıntısının incelenmesini içerir (13).

b. Görüntüleme yöntemleri:

Mammografi: 35 yaş üstü kadınlardaki çoğu kitle lezyonları mammografi ile incelenir ve sıklıkla ultrason çalışmaları ile bir arada yapılır. Mammografinin görüntüleme yaklaşımı olarak avantajları; hızlı oluşu, tüm memenin görüntülenebilmesi ve invaziv karsinomun (yoğunluk, yapısal distorsiyon veya asimetri) ve in situ duktal karsinomların (kalsifikasyonlar) yüksek duyarlılıkta belirlenebilmesidir (13). Negatif mammogramın karsinom varlığı ihtimalini dışlamadığı akılda tutulmalıdır, çünkü palpe edilebilir tümörlerin yaklaşık %20'si bu teknikle saptanamaz. Yanlış pozitiflik insidansı %1 civarındadır (12).

Ultrasonografi (USG): USG palpasyon ile ele gelen ve mammografi ile tespit edilen kitlelerin ve yoğunlukların tanımlanmasında destekleyici olabilmektedir. USG özellikle lezyonun kistik veya solid oluşunun belirlenmesinde oldukça kullanışlıdır.

Manyetik rezonans görüntüleme (MRI): MRI ise meme kanserinin belirlenmesinde belli klinik durumlarda kullanılmaktadır. Bu klinik durumlar; yüksek

meme kanseri gelişimi riski, yoğun meme dokusu, meme koruyucu cerrahi (MKC) öncesi meme kanserinin lokal evrelendirilmesi ve aksiller lenf nodlarında metastatik karsinom ile kendini gösteren gizli meme kanserlerinin saptanması olarak sıralanabilir. MRI yüksek duyarlılık gösterse de özgüllüğü düşüktür (13).

2. Meme spesimenleri:

a.Meme biyopsi çeşitleri:

Görüntüleme çalışmaları sonucunda tanımlanamayan veya şüphe uyandıran lezyonların cerrahi patolojide kesin sınıflandırılmasının yapılabilmesi için lezyonun küçük bir parçasının alındığı biyopsi değerlendirilmesine geçilir. Solid lezyonlarda histolojik değerlendirme için genellikle ultrason rehberliğinde yaylı otomatize büyük bir kesici iğne kullanılarak biyopsi yapılır. Bu şekilde gerçekleştirilen biyopsilere ‘tru-cut’ veya ‘kor’ biyopsi denir. Kullanılan iğnenin ölçüsüne bağlı olarak sıklıkla 1-2 cm uzunluğunda ve 1-2 mm kalınlığındadır.

Kalsifikasyon için yapılan biyopsiler, kalsifiye alanın kor biyopsi ile alındığından emin olunması için stereotaktik rehberliğe ihtiyaç duyar. Çoğu stereotaktik biyopsi vakum destekli sistemler ile ilgili bölgenin tam olarak örneklenmesini sağlamak üzere çoklu kor biyopsilerinin alınmasına olanak sağlayan 14, 11 veya 8 ölçüsünde iğneler kullanılarak gerçekleştirilir. 22-25 ölçüsünde iğneler kullanılarak ince iğne aspirasyon tekniği kist incelemesi gibi belirli klinik durumlarda kullanılabilir (13).

Kor iğne biyopsisi, ince iğne aspirasyonuna göre avantajlıdır çünkü belirsiz ve yetersiz örnekleme oranının daha az olması sayesinde benign durumların ayırt edilmesine ve kalsiyum birikiminin lokalize edilmesine olanak sağlar (14).

b.Frozen kesit:

Son yıllarda frozen kesitlerin meme karsinomu tanısında kullanılması azalmıştır. Ayakta tedavi gören hastalarda kesin tedaviden önce alternatifleri en iyi şekilde göz önüne almak için malignite tanısı genellikle ya iğne biyopsisi ya da açık eksizyonel biyopsi ile konulur. Frozen kesitler hala karsinomun sitolojik tanısını doğrulamak veya cerrahi sınırları belirlemek için kullanılır. Operasyon sırasında bazı cerrahlar sadece makroskopik görünüme dayanırken diğerleri sınırların frozen kesit ile değerlendirilmesini ister (14). Operasyon sırasında yapılan sitolojik inceleme

oldukça faydalı olabilir ve bu işlem bazı araştırmacılar tarafından frozen kesit ile beraber (ya da yerine) rutin olarak kullanılmaktadır (12).

c.Açık biyopsi

Açık biyopsi lezyonun sadece bir kısmının örneklendiği (a) insizyonel biyopsi veya koruyucu tedavi için kesin tedavinin bir parçası olarak lezyonu bütün olarak çıkarmak için yapılan (b) eksizyonel biyopsi şeklinde olabilir. Bu nedenle cerrahi sınırların histolojik olarak değerlendirilmesi önemlidir. Eksizyon anında cerrah klip veya farklı uzunlukta sütürler ile numunenin oryantasyonunu sağlamalıdır. Diseksiyondan önce spesimenin yüzeyini mürekkeplemek önemlidir (14). Spesimenin x-ışını görüntülerinin değerlendirilmesi, bir neoplazmın cerrahi sınırlara yakınlığını belirlemek için kullanılmıştır fakat güvenilir değildir (15).

d.Re-eksizyon materyalleri:

MKC adayları olan duktal karsinoma in situ (DCIS) ve invaziv meme kanserli birçok hastada ilk eksizyon materyalinde pozitif veya yakın cerrahi sınırlar nedeniyle ilk tümör yerinin re-eksizyonu yapılır. Eksizyon materyalleri gibi diseksiyondan önce boyanmalıdır. Eksizyon sınırlarının yeterli örneklenmesi özellikle önemlidir.

e.Mastektomi materyalleri:

Meme kanserinin tedavisinde koruyucu tedavinin artan kullanımı daha sınırlı mastektomi materyallerine neden olmaktadır (14). Özellikle aksiller kuyruk bulundurmeyen mastektomi materyalleri patolojik için cerrah tarafından yönlendirilmelidir. Mastektomi materyali kesilmeden önce histolojik kesitlerde tanınmasını kolaylaştırmak için derin cerrahi sınır boyanmalıdır. Mastektomi materyalinde; materyalin ağırlığı, boyutları, derinin, areola ve meme başının boyutları ve tanımları, kesi izi veya skarlar, derin cerrahi sınır bileşimi (fasya veya kas olup olmadığı), aksiller kuyruğun tanımı ve üstteki deri ve derin cerrahi sınırla ilişkisine dikkat ederek ele gelen tümörün boyutu ve yeri gibi özelliklere dikkat edilmelidir.

Histolojik inceleme için örneklemede kesitler makroskopik olarak belirgin tümörü ve/veya biyopsi yerini, derin cerrahi sınırı, üstteki deriyi, meme başını ve makroskopik özellik göstermeyen meme kadranlarından randomize meme dokusunu içermelidir (11).

f.Sentinel lenf nodu biyopsisi:

Geleneksel aksilla diseksiyonuna alternatif olarak sentinel lenf nodlarının eksizyonu artarak kullanılmaktadır ve klinik olarak nod-negatif vakalardaki evreleme sonuçlarının aksilla diseksiyonundakilerle karşılaştırılabilir olduğu gösterilmiştir (16). Sentinel lenf nodu etkilenen memeye boya ve/veya radyoaktif işaretli izleyici enjeksiyonundan sonra cerrah tarafından ayırt edilir ve patoloğa sunulur. Sentinel lenf nodu intraoperatif olarak frozen kesit veya sitolojik (dokunma preparatı) inceleme ile değerlendirilebilir (14). Günümüzde sentinel lenf nodlarının ele alınmasında heterojenite vardır ve küçük metastazları göstermek için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Göz önüne alınması gereken en önemli durum 2 mm'den daha büyük olarak tanımlanan makrometastazların bulunabilmesini garantileyecek şekilde lenf nodlarının başlangıçta 2 mm'den daha büyük olmayan aralıklarla kesildiğinden emin olmaktır (17).

Meme Karsinomunun Sınıflandırılması

1.Meme karsinomunun histolojik tipleri:

Meme karsinomunun histolojik çalışmasında yapılması gereken iki önemli saptama şunlardır: (1) Tümörün myoepitelyal komponent ile sınırlı olması (in situ karsinom) ya da stromayı invaze etmiş olması (invaziv karsinom) ve (2) duktal tip ya da lobüler tip olması. Tümörün duktal veya lobüler kategorisinden birine girmesini belirleyen meme içindeki kesin yerleşiminden ziyade açıkça sitoarkitektürel özellikleri tarafından tanımlanan tümör tipi olmalıdır.

İnvaziv karsinom kategorisine dahilolan tümörler bir in situ komponentin saptanıp saptanmamasından ve bu iki komponentin göreceli oranından bağımsız olarak stromal invazyonun saptanabildiği tüm tümörlerdir. İn situ lezyonlar gibi invaziv tümörlerin çoğu mikst ve intermediyer formların varlığını kabul ederek iki majör kategoriye (duktal tip ve lobüler tip) ayrılır.İnvaziv karsinomun tipi sahip olduğu görünüm göz önünde bulundurularak belirlenmelidir.

İnvaziv meme karsinomunun sınıflandırması uzun bir süre boyunca gelişime uğramıştır ve bunun sonucunda da içine hücre tipi (örn:apokrin karsinom), salgının tipi ve miktarı (örn:müsinöz karsinom), yapısal özellikler (örn:papiller karsinom) ve

yayımla şekli (örn:inflamatuar karsinom) gibi birçok kriter dahil edilmiştir (12) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2: İnvaziv meme karsinomunun histolojik tipleri (18)

İnvaziv meme karsinomu, başka şekilde sınıflandırılmayan (duktal, (NOS))
Mikro-İnvaziv meme karsinomu
İnvaziv meme karsinomu, yaygın intraduktal komponenti bulunan
İnvaziv meme karsinomu, matriks üreten
İnvaziv lobüler karsinom
İnvaziv meme karsinomu, özel bir tipi bulunmayan, lobüler özellikler içeren
İnvaziv lobüler karsinom, pleomorfik tip
İnvaziv lobüler karsinom, alveolar varyant
İnvaziv karsinom, duktal ve lobüler özellikler içeren (“mikst tip karsinom”)
Müsinöz karsinom
İnvaziv meme karsinomu, müsinöz özellikler içeren
Tübüler karsinom
İnvaziv meme karsinomu, tübüler özellikler içeren
İnvaziv meme karsinomu, tübülo-lobüler varyant
İnvaziv kribriform karsinom
İnvaziv meme karsinomu, kribriform özellikler içeren
İnvaziv mikropapiller karsinom
İnvaziv karsinom, mikropapiller özellikler içeren
İnvaziv meme karsinomu,kapsüllü papiller karsinom ile ilişkili
İnvaziv papiller karsinom
İnvaziv solid papiller karsinom
Enkapsüle papiller karsinom
Medüller karsinom
İnvaziv meme karsinomu, medüller özellikler içeren
Metaplastik karsinom
Metaplastik karsinom, skuamöz özellikler içerenwith squamous features
Low grade adenoskuamöz karsinom
Metaplastik karsinom, low grade adenoskuamöz özellikler içeren
Low-grade fibromatozis-benzeri metaplastik karsinom
Metaplastik karsinom, iğsi hücreli tip
Metaplastik karsinom, mikst epitelyal ve mezenkimal tip
İnvaziv karsinom, metaplastik özellikler içeren
Karsinosarkom
Adenoid kistik karsinom
İnvaziv meme karsinomu, apokrin özellikler gösteren
İnvaziv karsinomu, berrak hücreli (glikojenden zengin) özellikler gösteren
İnvaziv meme karsinomu, nöroendokrin özellikler gösteren
İnvaziv karsinom, taşlı yüzük hücreli özellikler gösteren
Sekretuar karsinom
İnvaziv karsinom, tipi ayırt edilemeyen
Neoadjuvan tedavi sonrası rezidü invaziv karsinom içermeyen
Diğerleri

2. Meme karsinomunda histolojik grade'leme

Glandüler (Asiner)/Tübüler Diferansiasyon:

Skor 1 (tümör alanının %75'inden fazlasında glandüler/tübüler yapı)

Skor 2 (tümör alanının %10-%75'inde glandüler/tübüler yapı)

Skor 3 (tümör alanının %10'undan azında glandüler/tübüler yapı)

Nükleer pleomorfizm:

Skor 1 (normal memenin epitelyal hücreleri ile karşılaştırıldığında boyutu hafif artmış, uniform nükleer kromatinli, boyutları hafif değişken küçük nükleuslar)

Skor 2 (veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, şekil boyutları orta derecede değişken normalden büyük hücreler)

Skor 3 (veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, şekil ve boyutlarında belirgin değişkenlik gösteren, sıklıkla çok büyük ve bizar formda hücreler)

Mitotik oran:

Skor1 (≤ 3 mitoz her mm² 'de)

Skor 2 (4-7 mitoz her mm²'de)

Skor 3 (≥ 8 mitoz her mm²'de)

Toplam Grade

Grade 1 (skor 3, 4, veya 5)

Grade 2 (skor 6 veya 7)

Grade 3 (skor 8 veya 9) (18).

3. Meme karsinomunun moleküler sınıflandırılması:

a. Hormon reseptörleri:

Tümör dokusundaki hormon (estrogen ve progesteron) reseptörlerinin varlığının hormon tedavisi ve kemoterapiye yanıt ile iyi korelasyon gösterdiğinin anlaşılması meme karsinomunun tedavisinde gerçekleşen çok önemli bir gelişmedir (19). Estrogen reseptörü durumu meme kanseri tedavisinde şu anda en güçlü öngörücü belirleyici olarak kabul edilmektedir (20). Estrogen ve progesteron reseptörleri yarı-bağımsız değişkenlerdir; progesteron reseptörü, endokrin tedaviye yanıt için estrogen reseptöründen daha zayıf bir öngörücüdür (21).

Bu hormon reseptörlerinin ölçümü immünohistokimyasal yöntem ile yapılır. Hormon reseptörleri ile immünohistokimyasal preparasyonlarda değerlendirilen iki

parametre; boyanan tümör hücre nükleusları sayısı ile boyanmanın yoğunluğudur. Meme kanserlerinin yaklaşık %80'i ER-pozitifdir (12).

Amerikan Klinik Onkoloji Derneği ve Amerikan ve Kanada Patologlar Derneği (ASCO/CAP), son dönemde ortaklaşa olarak meme kanserinde östrojen ve progesteron reseptörlerinin immünohistokimyasal testi için öneriler kılavuzu yayınlamışlardır. Bu kılavuza göre; %1 veya daha yüksek oranda boyanan invaziv kanser hücrelerine sahip tümörler pozitif olarak kabul edilir, diğerleri negatif olarak kabul edilmelidir. Örnekteki normal meme hücreleri internal pozitif kontroller olarak kullanılabilir (22).

b. HER2/neu (c-erbB-2):

Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (ERBB2, eski adıyla HER2/neu, c-erbB-2) 4 membran tirozin kinaz ailesinden biridir. HER2 amplifikasyonu ve HER2 proteini overekspresyonu tümör hücre proliferasyonu ve hayatta kalmasıyla önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur ve birçok ilaç bu yolağı hedef olarak geliştirilmiştir. HER2 tayini rutin prognostik ve prediktif faktör haline gelmiştir (23).

ER ve HER2 sinyal yolları hücre proliferasyonu ve hayatta kalımında çoğu meme kanserinde (%85) dominant rol oynar. Uygun şekilde seçilen hastalarda bu yolların hedef alınması en etkili tedavidir. ER'yi hedef alan endokrin tedavi ve HER2'yi hedef alan trastuzumab tedavisi, hastalığı tamamen yok eder ve mikrometastatik hastalık ortaya çıktığında adjuvant tedavide tama yakın iyileşme sağlar (Rekürrens riskini %50 azaltır).

Son zamanlardaki remisyonlar, geçici de olsa, metastatik hastalığı olan ve ER'yi hedef alan ve sıklıkla kemoterapiyle kombine edilmiş HER2'yi hedef alan terapilerle tedavi edilmişlerde görülür (24).

c. Moleküler genetik ve moleküler sınıflandırma:

İnvaziv meme karsinomunun gelişimi multipl genetik değişimleri gerektirir. Sık görülen moleküler değişimler: (1) Büyüme faktörü reseptörü aşırı ekspresyonu, (2) büyüme faktörü aşırı ekspresyonu, (3) intraselüler sinyalizasyon molekülü değişimleri, (4) hücre siklusu düzenleyici değişimleridir (12).

Meme kanserinin moleküler alt tipleri; lüminal (tip A ve B), HER2 tip ve bazal benzeri tiptir (Tablo:2.3). Meme kanserinin farklı alt tiplerinin kendine özgü karakteristikler sergilemesi nedeniyle farklı tedavi yaklaşımlarından yarar

sağlamaları muhtemeldir. Tümörleri farklı moleküler alt tiplere ayırmak için immünohistokimya (ER, PR, HER2, sitokeratin 5/6, Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), Ki67 antikorlarını içeren bir panel gibi) kullanma çabaları vardır ancak uyumsuzluk nadir değildir ve bu amaç için şu anda yaygın kabul gören bir pozitif immün boyanma tanımı (pozitif hücrelerin yüzdesi ve/veya boyanmanın yoğunluğu gibi) yoktur (12).

Tablo 2.3: Meme karsinomunun moleküler sınıflandırması

	Lüminal A	Lüminal B	HER2	Bazal-benzeri
Klinik özellikler	İnvaziv meme kanserlerinin %50'si	İnvaziv meme kanserlerinin %20'si	İnvaziv meme kanserlerinin %15'i	İnvaziv meme kanserlerinin %15'i
İmmünprofil	ER ve/veya PR (+) HER2 (-) Ki67 <%14	ER ve/veya PR (+) HER2 (-) Ki67 ≥%14	ER (-), PR (-) HER2 (+)	ER (-), PR (-) HER2 (-) Sitokeratin 5/6 ve/veya EGFR (+)
Prognoz	İyi prognoz	Prognoz lüminal A kadar iyi değil	Genellikle kötü prognoz	Genellikle kötü prognoz

Triplenegatif meme tümörleri ER, PR ve HER2'nin her üçü için negatif olan tümörlerdir. Bu özelliklere sahip tümörlerin bazal-benzeri kanser ile önemli ölçüde örtüştüğü söylenebilir. Bununla birlikte triple negatif kanserler bazal-benzeri kanserler ile eş anlamlı değildir. Gen ekspresyon profili bazal-benzeri olarak sınıflandırılmış olguların sadece %77'si triple negatif bir fenotip gösterirken, triple negatif kanserleri olan olguların sadece %72'si bazal-benzeri bir gen ekspresyon profili sergiler. Triple negatif meme kanserleri; morfolojik olarak genellikle yüksek dereceli invaziv duktal karsinom NOS, yüksek anöploidide derecesi ve akciğerlere ve beyine daha yüksek metastaz yapma eğilimi gösteren heterojen bir tümör grubudur (25).

Meme Kanserinde Tedavi

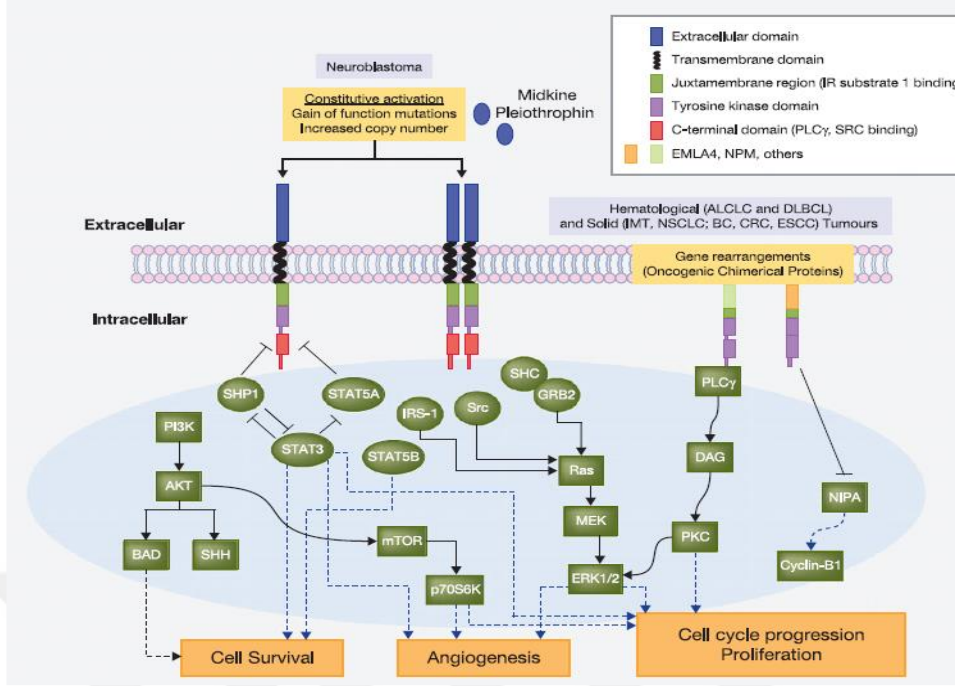
Meme karsinomunun tedavisi içinde, hastalığın tipine ve yaygınlığına bağlı olarak cerrahi, radyasyon tedavisi, hormonal tedavi, kemoterapi ve hedefe yönelik tedavi yer alır (26).

ALK VE TAYİNİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

ALK Biyolojisi

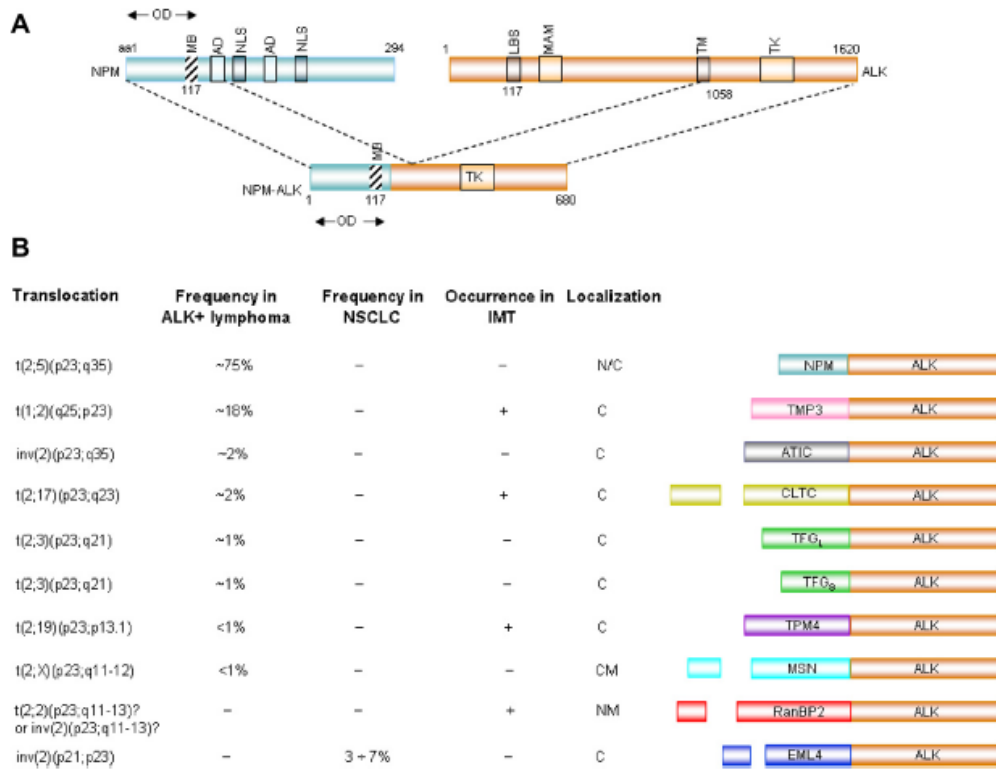
Tirozin kinaz reseptörleri hücre proliferasyonunun kontrolünde, hücre sağ kalımında ve normal hücre diferansiasyonunda kritik role sahiptir. Bir transmembran tirozin kinaz reseptörü olan ALK, kromozom 2p23 üzerinde yer alır ve insülin reseptör süperailisinin bir üyesidir (6). 1620 aminoasitten oluşan ALK'nın bir amino-terminal sinyal peptid içeren ekstraselüler domaini ve insülin reseptör substrat-1'in bağlanma bölgesini içeren bir jukstamembranöz segment ve bir karboksi terminal kinaz domani içeren intraselüler domaini vardır (27) (Şekil 2.1).

ALK'nın, ilk olarak bir grup ABHL hastalarında füzyon partneri olarak NPM ile kromozomal rearanjmanı (NPM-ALK), t(2;5) (p23,q35) tanımlanmıştır (7). Füzyon sonucu oluşan kimerik protein (p80)ALK tirozin kinazı esas olarak aktive eder (28).



Şekil 2.1: ALK tirozin kinaz reseptörünün şematik çizimi ve NPM-ALK sinyal yolağı.

NPM, ALK 'nın en sık füzyon partneridir ancak echinoderm microtubule-associated protein-like4 (EML4) gibi farklı füzyon partnerleri tanımlanmıştır (Şekil: 2.2) (7).



Şekil 2.2: ALK reseptör kinaz: füzyon proteinleri (29).

ALK; ABHL, küçük hücreli-dışı akciğer karsinomu (KHDAK), nöroblastom ve hatta meme kanserleri gibi farklı tümör tiplerinde onkogenezis ile ilişkilidir. ALK'nın anormal füzyonu veya non-füzyon aktivasyon görülebilir. ALK, gelişimde önemli bir rolü bulunan tek bir transmembran domaine sahip bir tirozin kinaz reseptörüdür. Ligand ekstraselüler domaine bağlandığında reseptör dimerizasyona gider ve ardından intraselüler kinaz domaini otofosforilasyona uğrar ve hücre içi sinyal yolları aktive olur (7).

İmmünohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal yöntem, hücre ve doku içinde bulunan bazı enzimlerin ya da makromoleküllerin lokalizasyonlarını incelemeye yardımcı olur. Sistem incelenecek olan bir makromoleküle karşı geliştirilmiş olan bir antikorun ortaya konulmasıdır. Dokuda saptanmaya çalışılan protein antijen, bu proteinin saptanması için yararlanılan protein ise antikordur. Poliklonal ve monoklonal olmak üzere iki antikor kullanılır. Poliklonal antikorlar, bir hayvanı bir antijen ile immunize ederek

üretileen antikorlardır. Bir hayvan cinsinden örneğin bir sıçandan alınan bir antijen başka bir hayvan cinsine (tavşan) enjekte edildiğinde yabancı bir madde olarak algılandığından dolayı B lenfositler tarafından, verilen antijene karşı antikor üretilir. Üretilen bu poliklonal antikorlar kandan izole edilip saflaştırılır. Bu antikor artık sıçan dokularında veya hücrelerindeki proteini bağlayarak işaretleylebilir. Monoklonal antikorlar ise tek bir B lenfosit grubunun ürettiği antikorlardır. Bu hücre klonları tek bir antikor üreten plazma hücrelerinden gelişen bir tümör olan çok yönlü myelomdan gelişir.

İmmunohistokimya için kesitlerin hazırlanması; kesit alma, deparafinizasyon, dehidratasyon ve yıkama basamaklarından oluşur. İmmun boyama; antijen maskesinin kaldırılması, blokaj, primer antikor, sekonder antikor, kromojen, çekirdek boyaması, dehidratasyon, şeffaflandırma ve kapama basamaklarından oluşur (30).

FISH Yöntemi

FISH, nükleik asit sekanslarını flöresan işaretleli problar aracılığı ile saptamaya olanak sağlayan bir yöntemdir. Kromozom anomalilerini veya gen mutasyonlarını saptamada kullanılabilir. Parafin dokulardan yapılacak FISH çalışmasında parafin bloktan pozitif yüklü lamlara 3-5 mikron kalınlığında kesitler alınarak işlem başlar. FISH çalışması; hazırlık prosedürü(pretreatment), prob ekleme, denatürasyon, hibridizasyon, yıkama, dapi ile karşıt boyama ve flöresan inceleme basamaklarından oluşur. Hazırlık prosedürü, deparafinizasyon ve proteaz işleminden oluşur. Ksilol, skipdevax vb. uygulaması ile parafin uzaklaştırılır, kimyasal reaktifler kullanılarak nükleer DNA dizileri açığa çıkarılır. Proteaz uygulaması ile probların nükleus içine girebilmesi için çapraz bağlı doku proteinleri parçalanır. Denatürasyon hibridizasyon basamağında denatürasyon solüsyonu hazırlanıp preparatlar su banyosunda denatüre edilir. Kullanılacak prob çalışma protokolünde belirtilen sıcaklığa uygun olacak şekilde denatüre edildikten sonra lam üzerine damlatılır ve etüvde bekletilir. Prob kalıntılarını uzaklaştırmak ve artefaktif sinyalleri engellemek için yıkama işlemi uygulanır. Nükleus sınırlarını ve kromozomları ayırt etmek için Dapi solüsyonu ile karşıt boyama yapılır. Preparatlar uygun filtre ile flöresan mikroskopta analiz ve değerlendirmeye hazır hale gelir.

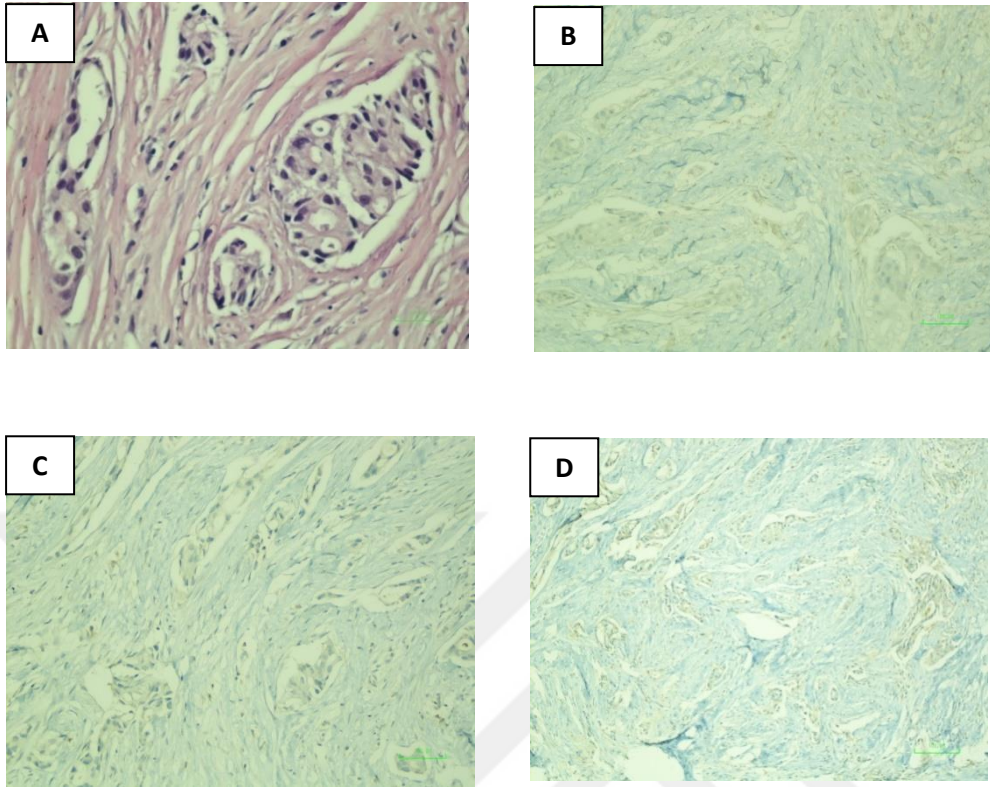
FISH incelemesinde kullanılan proplar belirteç ile işaretli bir nükleik asittir. Hibridizasyonla hücredeki diğer tamamlayıcı karşılığına bağlanır. Her prob spesifik hedefe bağlanır. Lokusa özgü (translokasyonlar, gen bölgerinin saptanması), sentromerik (sayısal değişiklikler), tüm kromozom boyama probları (translokasyon) olarak gruplandırılır. FISH analizinde sentromerik, çift renk-çift füzyon (dualcolor-dualfusion) (lokusspesifik, translokasyon varyasyonları), tek füzyon (singlefusion, ekstrasinyal) (lokus spesifik), kırılma probları (break apart)(loküs spesifik) proplar kullanılır (31).



III. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Mevcut çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul'unun 19.04.2016 tarihli 452 sayılı kararına göre etik açıdan uygun bulunmuştur (Bkz. EK 1)

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü'nün rapor arşivinden Ocak 2014-Aralık 2016 tarihleri arasında laboratuvara gönderilmiş, meme örneklerinde (tru-cut biyopsi, eksizyonel biyopsi, meme koruyucu cerrahi, mastektomi), meme kanseri tanısı almış, 18-85 yaş aralığındaki kadın hastaların patoloji raporları incelendi. Çalışma öncesi yapılan güç analizi sonuçlarına göre pozitif/negatif oranı yaklaşık olarak 1/5 olan ALK'nın immünohistokimyasal ve FISH yöntemleri ile saptanmasında iki yöntem arasındaki %20'lik uyumsuzluğu tespit edebilecek güçte alfa:0.05 ve beta:0.20 hata oranlarında çalışmaya dahil edilmesi gereken vaka sayısı en az 65 vaka olarak hesaplandı. Yeterli doku örneği bulunan (>5mm), pozitif kontrollü immünohistokimyasal yöntem uygulanarak ASCO/CAP kılavuzuna göre estrogen reseptörü negatif (<%1 hücrede nükleer boyanma), progesteron reseptörü negatif (<%1 hücrede nükleer boyanma), HER-2 negatif (Skor 0 ve skor 1) olarak raporlanmış, Ki67 indeksi hesaplanmış olan hastaların tüm immünohistokimya ve HE boyalı preparatları patoloji preparat arşivinden seçilip tekrar incelendi. Boyası solmuş, kırılmış ve deforme olmuş preparatlar değerlendirmeye alınmadı. Bu özelliklere sahip 70 vaka çalışmaya dahil edildi (Şekil: 3.1) (Bkz. EK 2).



Şekil 3.1: Triple negatif meme kanserinin immünohistokimyasal profili A) İnvaziv duktal karsinom, NOS(HE,X400), B) ER ile immünreaktivite (-), C) PR ile immünreaktivite (-), D) HER2: Skor 0

ALK durumunun immünohistokimya ve FISH yöntemleri ile tayini prospektif olup triple negatif meme kanseri tanısı almış olgular değerlendirmeye alınmıştır.

Triple negatif meme kanseri olarak belirlenmiş hastaların invaziv karsinom içeren formalin fikse-parafin blokları patoloji blok arşivinden seçilerek Mikrom HM355S mikrotom kullanılarak 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere pozitif kontrollü immünohistokimyasal yöntemle ALK-p80 Fare Monoklonal Antikoru (klon 5A4; Novocastra; dilüsyon 1:100; retrieval Ph 6.0) ve Ultraview Universal DAB Detection kit, proje yürütücüsü tarafından manuel olarak prosedüre göre uygulandı ve ALK protein ekspresyonu belirlendi. İmmünohistokimyasal analiz için önhazırlık aşamalarında Nüve EN500 etüv kullanıldı. Değerlendirme Olympus BX51 binoküler ışık mikroskopunda yapıldı. Boyanmalar (sitoplazmik granüler); skor 0:Boyanma yok veya seyrek hücrede zayıf boyanma, skor 1:Zayıf veya orta derecede multifokal boyanma, skor 2:Hücrelerin çoğunda güçlü boyanma olarak değerlendirilip skor 1 ve

skor 2 sonuçlar pozitif olarak kabul edilerek ALK protein ekspresyonu araştırıldı. ALK'nın immünohistokimyasal olarak skorlanması, çalışma sorumlusu ve araştırmacı patolog tarafından, birbirlerinden ve FISH sonuçlarından bağımsız olarak yapıldı. Farklı skorlar için preparatlar iki patolog tarafından birlikte değerlendirilerek ortak bir skor belirlendi.

Triple negatif meme kanseri olarak belirlenmiş hastaların invaziv karsinom içeren hazır formalin fikse-parafin bloklarından Mikrom HM355S mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alınarak break apart 2p23 ALK DNA FISH Probu (Mikşish) ve Depamiks Doku FISH deparafinizasyon ve Hazırlık kiti kullanılarak FISH yöntemi uygulandı ve ALK gen rearanjmanı belirlendi. Bu ürün, parafine gömülmüş doku örneklerinden elde edilen kesitlerde hedef gen bölgesi (2p23-ALK) ile ilişkili inversiyonlar, translokasyonlar ve delesyonlar gibi rearanjmanları belirlemek amacıyla ALK gen bölgesinin telomer ucundan başlayıp 2p telomerine doğru (kırmızı) ve ALK gen bölgesi üzerinde (yeşil) yerleşim gösteren BAC DNA'larının farklı renkli florokromlarla işaretlenmesi ile elde edilmiş DNA FISH probudur. FISH çalışması; hazırlık prosedürü (pretreatment), prob ekleme, denatürasyon, hibridizasyon, yıkama ve DAPI ile karşıt boyama basamaklarından oluşmakta olup bu basamakların tamamı araştırmacılar tarafından manuel olarak prosedüre göre uygulandı ve Nüve EN500 etüv kullanıldı. FISH sonuçları değerlendirilirken; normal bir hücrede iki adet kırmızı ve yeşil sinyal füzyon çifti görülür. Kırmızı sinyal ve yeşil sinyalin üst üste olması veya aralarında en fazla 1 sinyal büyüklüğü kadar boşluk olması durumu normal kabul edilir. Bir kromozoma ilişkin sinyaller normalden diğerinde sinyaller arasında daha fazla uzaklık bulunması ilgili kromozom bölgesinde bir rearanjmanın varlığını gösterir. Bu çalışmada her bir vaka için en az 50 tümör hücresi sayılarak değerlendirmeye alındı. Tümör hücrelerinin %15'inden fazlasında bir kırmızı-yeşil sinyal füzyon çifti ile birlikte birbirinden ayrı kırmızı ve yeşil sinyaller (aralarında >1 sinyal çapında mesafe olacak şekilde) veya tek kırmızı sinyal görüldüğünde ALK rearanjmanı olarak değerlendirildi (32). FISH değerlendirmesi çalışma sorumlusu ve araştırmacı patolog tarafından Zeiss AX10 floresan mikroskopu kullanılarak immünohistokimya sonuçları ile karşılaştırılarak yapıldı.

Ki67 proliferasyon indeksi; tümör hücrelerinin nükleusunda granüler boyanma $\leq 5\%$: -, %6-25: +, %26-50:++ ve $>50\%$:+++ olarak gruplandı (9).

Triple negatif meme kanserlerindeki ALK durumu immünohistokimyasal yöntem ve FISH yöntemi ile tayin edilerek bu iki yöntem arasındaki uyum/uyumsuzluk tespit edildi ve ALK sonucunun bir proliferasyon antijeni olan Ki67 ile ilişkisi saptandı.

Ayrıca araştırma sonucunda elde edilen verilerin; hastanın yaşı, tümörün histolojik tipi ve histolojik grade'i gibi klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi saptandı.



IV.BULGULAR

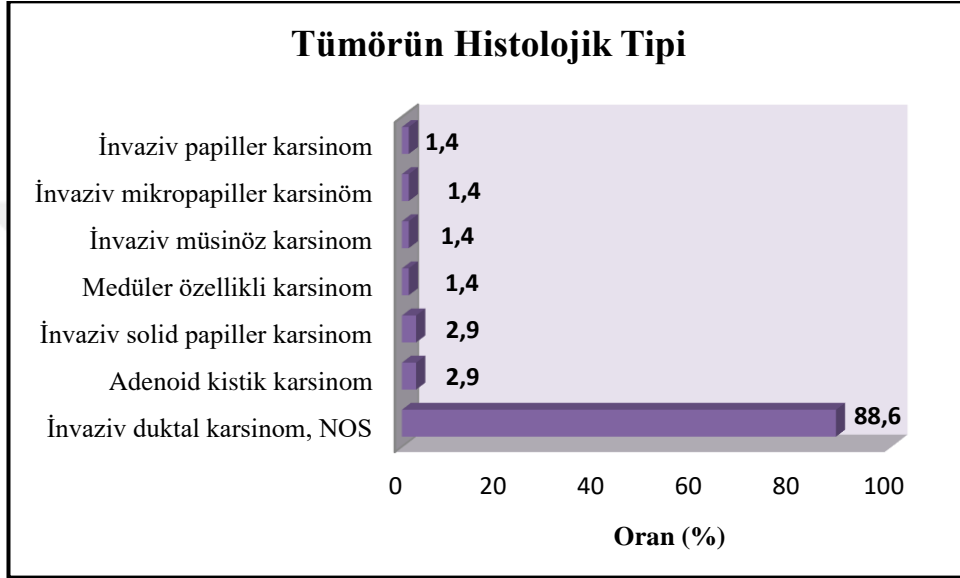
Çalışma, Ocak 2014-Aralık 2016 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü'nde triple negatif meme kanseri olarak belirlenmiş toplam 70 olgu ile gerçekleştirilmiştir. Olguların yaşları 27 ile 78 arasında değişmekte olup, ortalama $50,84 \pm 12,32$ yıldır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımları

Yaş (yıl)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	27-78 (49)
	<i>Ort±Ss</i>	50.84±12.32
Tümörün histolojik tipi; n (%)	İnvaziv duktal karsinom, NOS	62 (88.6)
	Adenoid kistik karsinom	2 (2.9)
	İnvaziv solid papiller karsinom	2 (2.9)
	Medüller özellikli karsinom	1 (1.4)
	İnvaziv müsinöz karsinom	1 (1.4)
	İnvaziv mikropapiller karsinom	1 (1.4)
	İnvaziv papiller karsinom	1 (1.4)
Tümörün histolojik grade'i; n (%)	Grade 1	3 (4.3)
	Grade 2	35 (50.0)
	Grade 3	32 (45.7)
Ki67 indeksi (%)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	2-95 (40)
	<i>Ort±Ss</i>	50.29±31.38
	≤%5	5 (7.1)
	%6-25	17 (24.3)
	%26-50	17 (24.3)
	>%50	31 (44.3)
ALK İHK sonucu; n (%)	Negatif	70 (100)
	Pozitif	0 (0)
ALK FISH sonucu (%)	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	0-44 (0)
	<i>Ort±Ss</i>	4.63±9.15
	Negatif	59 (84.3)
	Pozitif	11 (15.7)

(ALK: Anaplastik Lenfoma Kinaz, İHK: İmmünohistokimya, FISH: Flöresan İn Situ Hibridizasyon)

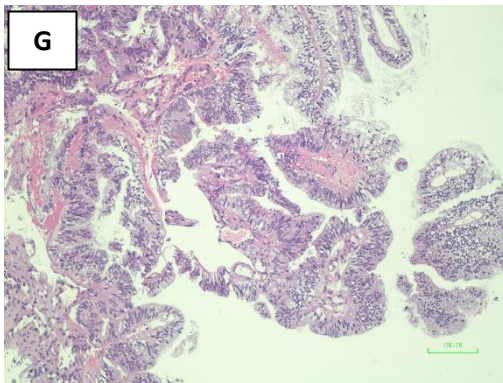
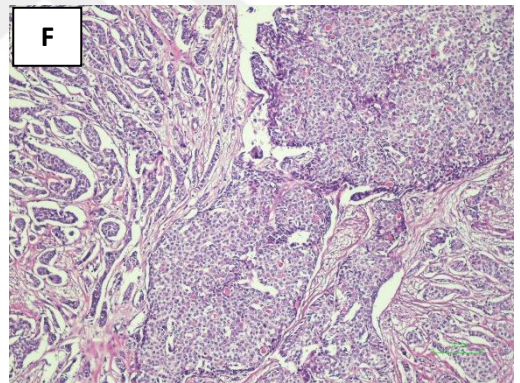
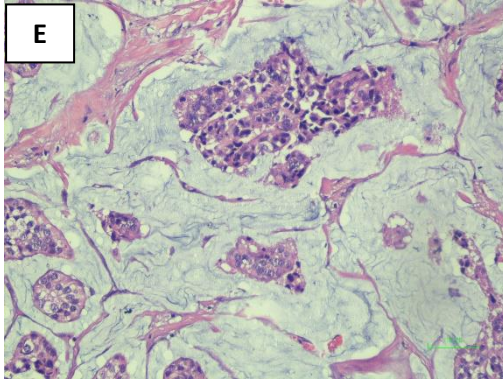
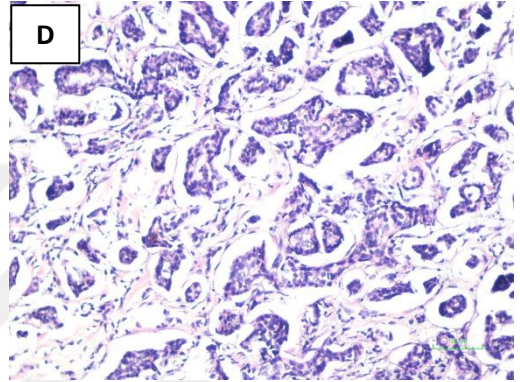
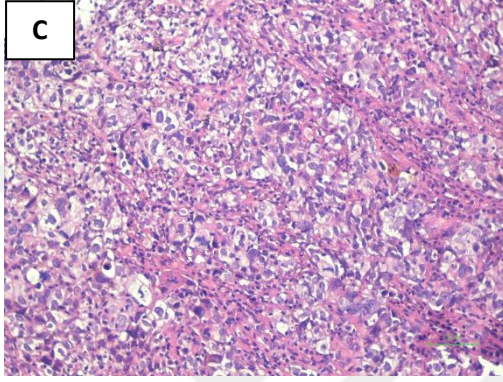
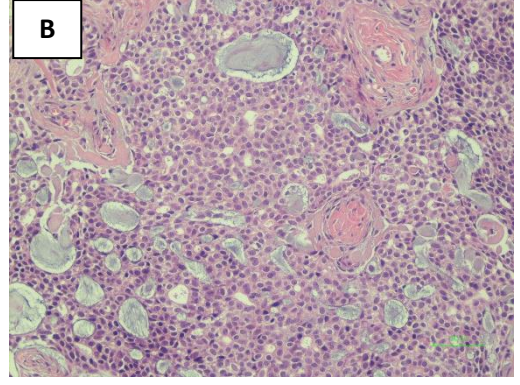
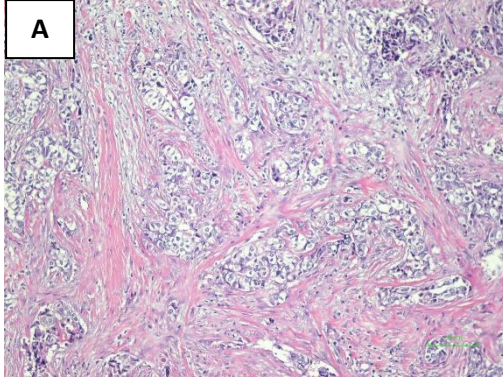
Tümörün histolojik tipleri incelendiğinde; %88,6 (n=62) oranında invaziv duktal karsinom, NOS; %2,9 (n=2) oranında adenoid kistik karsinom; %2,9 (n=2) oranında invaziv solid papiller karsinom; %1,4 (n=1) oranında medüller özellikli karsinom; %1,4 (n=1) oranında invaziv müsinöz karsinom; %1,4 (n=1) oranında invaziv mikropapiller karsinom ve %1,4 (n=1) oranında invaziv papiller karsinom saptanmıştır (Şekil 4.1).



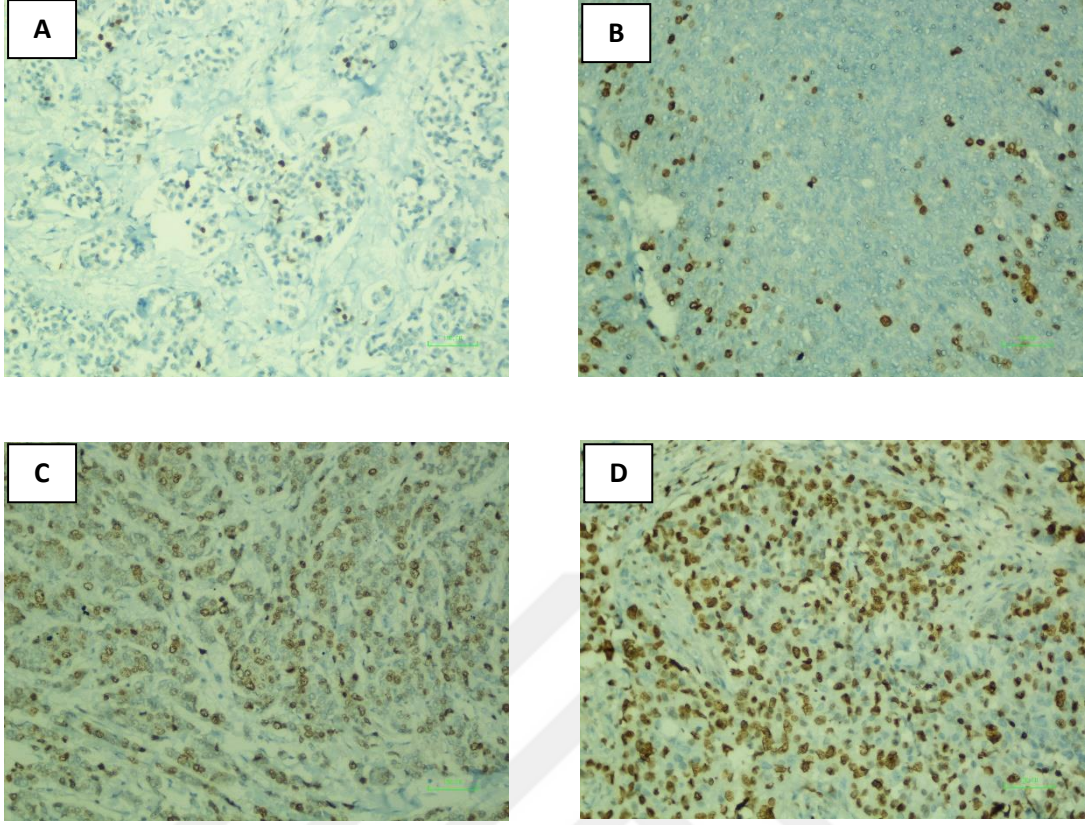
Şekil4.1: Tümörün histolojik tiplerinin dağılımları

Tümör, olguların %4,3'ünde (n=3) grade 1, %50,0'sinde (n=35) grade 2 ve %45,7'sinde (n=32) grade 3 şeklindedir. Bu çalışmadaki farklı histolojik tip ve farklı histolojik grade'lere sahip bazı olgulara ait HE kesitler Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Ki67 proliferasyon indeksleri; tümör hücrelerinin nükleusunda granüler boyanma $\leq 5\%$: -, %6-25: +, %26-50:++ ve $>50\%$:+++ olarak gruplandı. Ki67 indeksleri %2 ile %95 arasında değişmekte olup ortalama $50,29 \pm 31,38$ 'dir. Olguların %7,1'inde (n=5) %5 ve altında, %24,3'ünde (n=17) %6-25 arasında, %24,3'ünde (n=17) %26-50 arasında ve %44,3'ünde (n=31) %50'den daha yüksektir. Bu çalışmadaki farklı Ki67 indekslerine sahip bazı olgulara ait Ki67 immünohistokimyasal analiz sonuçları Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Tümörlerin farklı histolojik tipleri ve histolojik gradelerine ait HE kesitler: A) İnvaziv duktal karsinom, NOS, grade 1 (HE, x100); B) Adenoid kistik karsinom, grade 2 (HE, x200); C) Medüller özellikli karsinom, grade 3 (HE, x200); D) İnvaziv mikropapiller karsinom, grade 2 (HE, x200); E) İnvaziv müsinöz karsinom, grade 2 (HE, x200); F) İnvaziv solid papiller karsinom, grade 2 (HE, x100); G) İnvaziv papiller karsinom, grade 2 (HE, x100).



Şekil 4.3: Tümörlerin farklı Ki67 indekslerine ait Ki67 immünohistokimyasal analiz sonuçları: A) %5, (-); B) %25, (+); C) %40, (++) ; D) %85, (+++)

Tüm olguların ALK immünohistokimya sonucu negatif bulunmuştur.

ALK FISH sonuçları %0 ile %44 arasında değişmekte olup ortalama $4,63 \pm 9,15$ 'tir. Olguların %84,3'ünün (n=59) ALK FISH sonucu negatif, %15,7'sinin (n=11) ise pozitifdir (Tablo4.2).

Tablo 4.2: ALK FISH Sonucuna Göre Tanımlayıcı Özelliklerin Değerlendirilmesi

		ALK FISH (+) (n=11)	ALK FISH (-) (n=59)	
Yaş (yıl)	Min-Mak	37-74 (51)	27-78 (49)	^a 0.859
	(Medyan)			
	Ort±Ss	51.45±10.39	50.73±12.72	
Histolojik Grade; n (%)	Grade 1	1 (9.1)	2 (3.4)	^c 0.428
	Grade 2	6 (54.5)	29 (49.2)	
	Grade 3	4 (36.4)	28 (47.4)	
Ki67 indeksi (%)	Min-Mak	15-95 (40)	2-95 (40)	^b 0.477
	(Medyan)			
	Ort±Ss	55.00±32.71	49.41±31.34	
	≤%5	0 (0)	5 (8.5)	^c 0.764
	%6-25	4 (36.4)	13 (22.0)	
	%26-50	2 (18.2)	15 (25.4)	
>%50	5 (45.4)	26 (44.1)		

^aStudent-t Test ^bMann Whitney U Test ^cFisher Freeman Halton Test

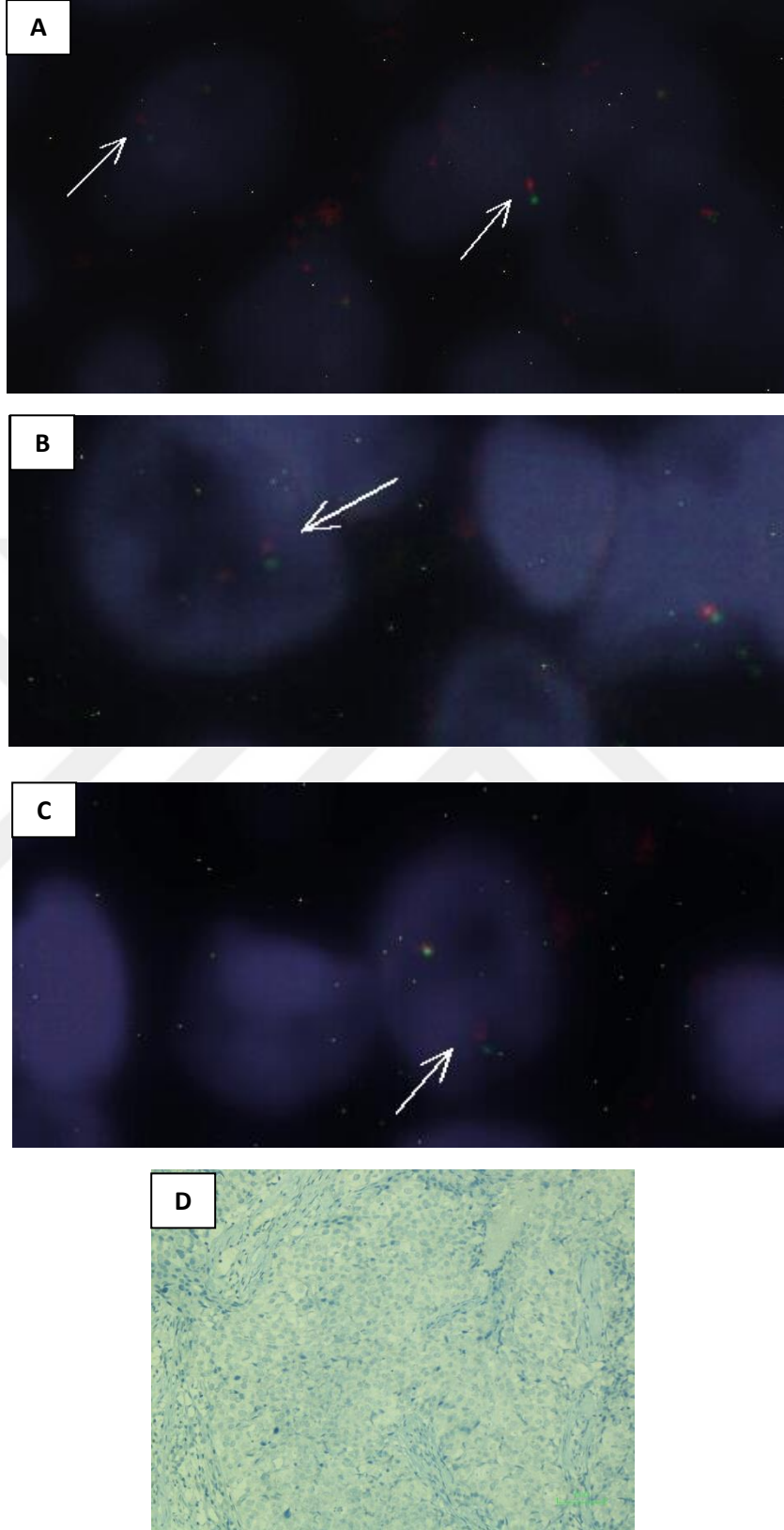
Yaş ortalaması, ALK FISH pozitif grupta 51,45±10,39 yıl; ALK FISH negatif grupta 50,73±12,72 yıldır. ALK FISH sonucuna göre yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

ALK FISH sonucu, tümörün histolojik grade'ine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

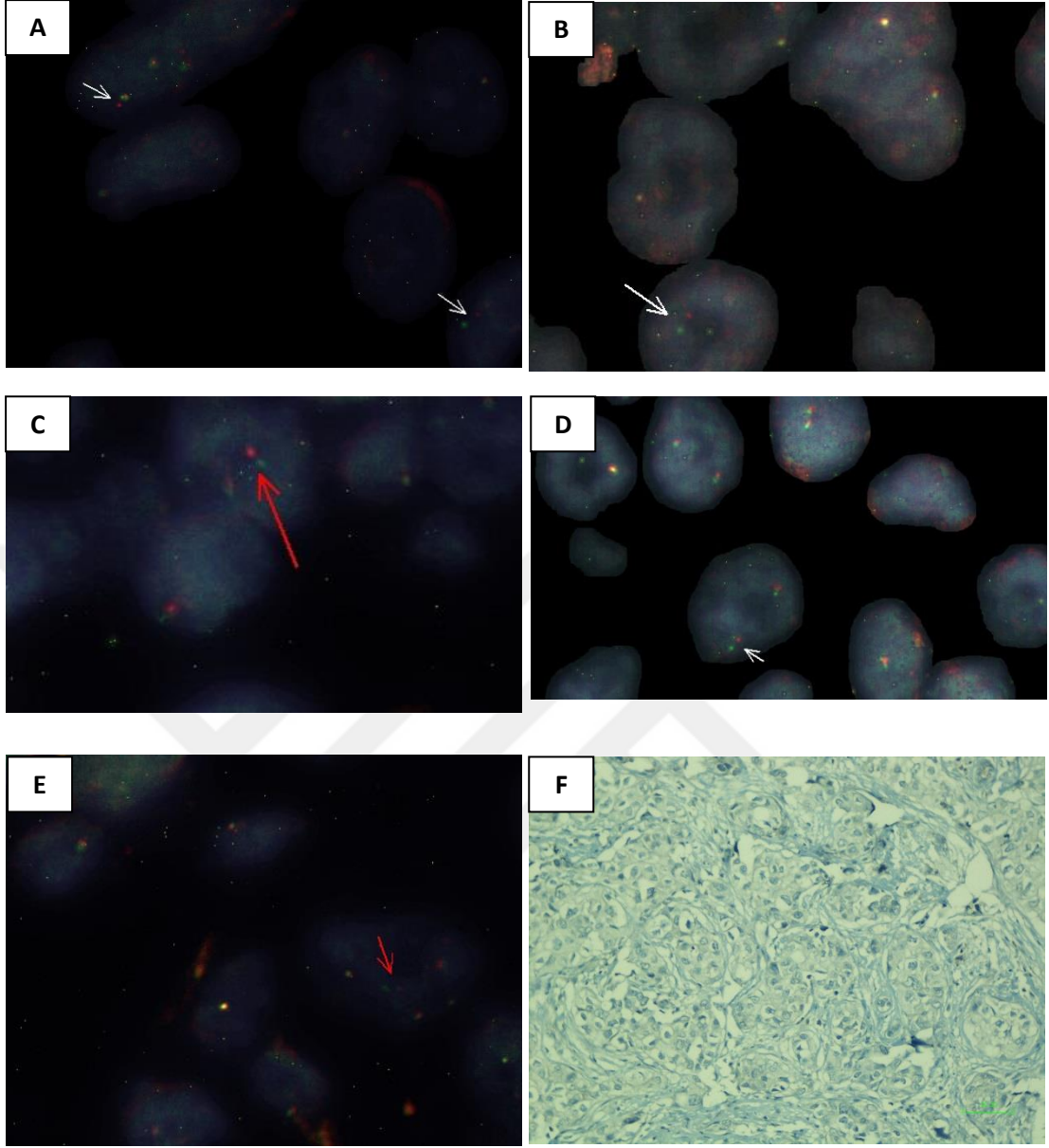
Ki67 indeksi, ALK FISH pozitif grupta ortalama %55,00±32,71; ALK FISH negatif grupta ortalama %49,41±31,34'tür. ALK FISH sonucuna göre Ki67 yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

ALK FISH sonucu, Ki67 sınıflarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

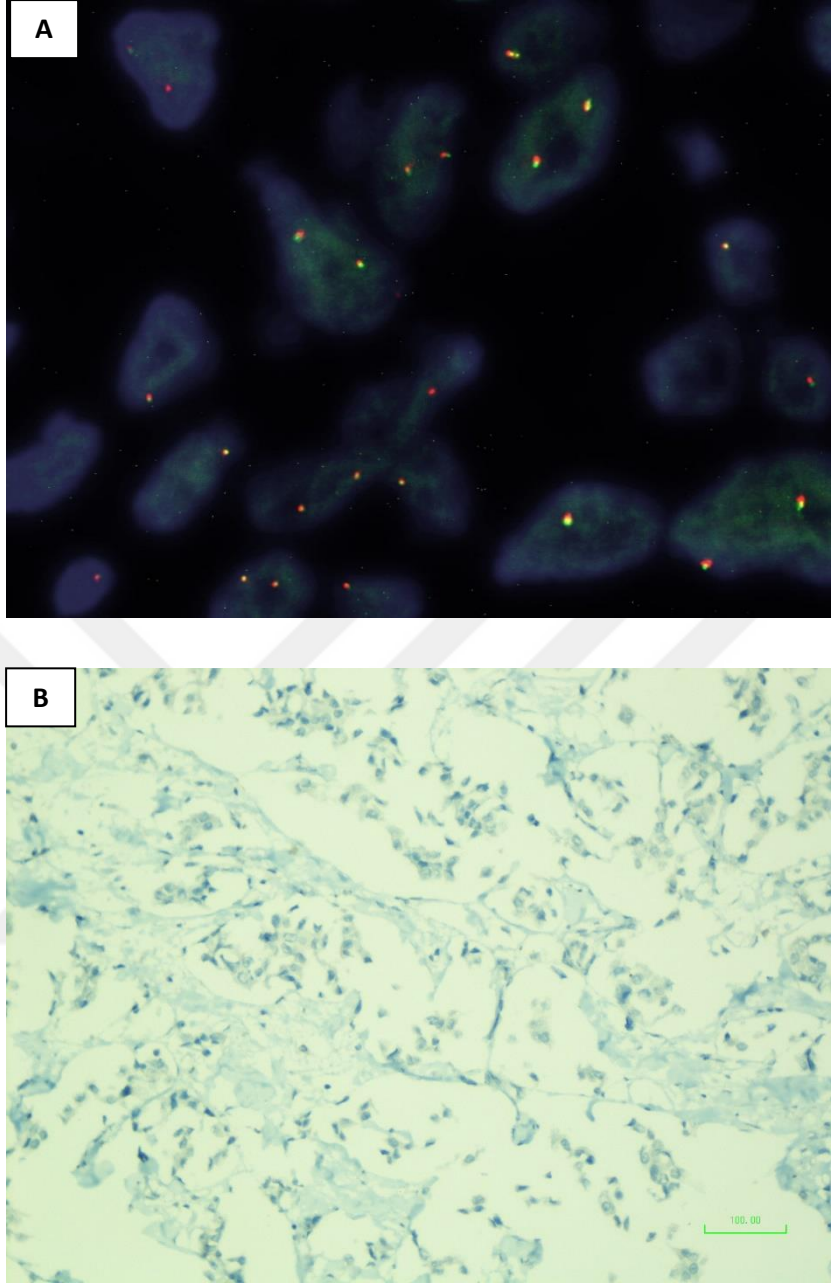
Bu çalışmadaki bazı olgulara ait ALK immünohistokimya ve FISH analizi sonuçlarına ait örnekler Şekil 4.4.a, Şekil 4.4.b ve Şekil 4.4.c'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4.a: Tümörün immünohistokimya ve FISH analizi sonuçlarına ait örnek: A, B, C) FISH sonucu %24, (+); D) İmmünohistokimya sonucu (-)



Şekil 4.4.b: Tümörün immünohistokimya ve FISH analizi sonuçlarına ait örnek: A, B, C, D, E) FISH sonucu %44, (+); F) İmmünohistokimya sonucu (-)



Şekil 4.4.c: Tümörün immünohistokimya ve FISH analizi sonuçlarına ait örnek: A) FISH sonucu %0, (-); B) immünohistokimya sonucu (-)

İstatistiksel İncelemeler

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart Sapma, Medyan, Frekans, Oran, Minimum, Maksimum) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal

dağılım gösteren parametrelerin iki grup karşılaştırmalarında Student t Test, normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup karşılaştırmalarında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher-Freeman-Halton testi kullanıldı. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.



V.TARTIŞMA

Meme kanseri; morfolojik özellikleri, moleküler profilleri, tedaviye yanıt ve klinik gidiş açısından heterojen bir grup hastalıktır. Dünya çapında yıllık 1 milyondan fazla olgu ile en yaygın malign tümördür ve tedavi protokollerindeki gelişmeler ve yeni tedavilerin eklenmesine rağmen kadınlarda karsinoma bağlı ölümlerin başlıca nedenidir (1).

Tüm meme kanserlerinin yaklaşık olarak %15'ini oluşturan triple negatif meme kanserleri; östrojen reseptörü (ER) ve progesterone reseptörü (PR) ekspresyon kaybı olan ve human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) gen amplifikasyonu bulunmayan tümörler olarak tanımlanır ve bu nedenle triple negatif meme kanseri olan kadınlar endokrin tedaviden ve trastuzumab tedavisinden faydalanamazlar. Güncel olarak uygulanabilen tek sistemik tedavi seçeneği kemoterapidir. Bu hastalardaki artmış hastalık progresyon riskini azaltmak için, daha az toksik olan ve bu hasta popülasyonunu hedef alan daha iyi tedavi seçeneklerine ihtiyaç vardır (2).

Bilinen hormonal ve moleküler hedefe yönelik tedavilerden faydalanamayan, triple negatif meme kanseri olan hastaların, alternatif bir tedavi seçeneği olarak anti-ALK tedavisine (crizotinib, vb.) aday olabileceklerini göstermek ve bu bağlamda literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Meme kanserinin moleküler heterojen bir alt tipi olan triple negatif meme kanserinin, agresif bir klinik seyiri vardır ve tedavi için tanımlanmış bir moleküler hedefi bulunmamaktadır (3). Neoadjuvan kemoterapiye klinik yanıt oranı yüksek olsa da, triple negatif meme kanseri olan hastalar diğer meme kanseri subtiplerine kıyasla artmış rekürrens oranı ve kötü prognoza sahiptir. Metastatik triple negatif meme kanseri olan kadınların 5 yıllık sağ kalım oranları %30'dan azdır ve tedavinin ana dayanak noktası olan kemoterapiye rağmen hastaların tamamına yakını hastalık nedeniyle ölür (4). Triple negatif meme kanseri tedavisini geliştirecek ve sağ kalımı arttıracak, daha az toksik olan yeni hedefe yönelik tedavilerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır (5).

Tirozin kinaz reseptörleri hücre proliferasyonunun kontrolünde, hücre sağ kalımında ve normal hücre diferansiasyonunda kritik role sahiptir. Bir transmembran tirozin kinaz reseptörü olan anaplastik lenfoma kinaz (ALK) kromozom 2p23

üzerinde yer alır ve insülin reseptör süperailisinin bir üyesidir (6). ALK'nın, ilk olarak bir grup anaplastik büyük hücreli lenfoma (ALCL) hastalarında füzyon partneri olarak nükleoplazmin ile kromozomal rearanjmanı (NPM-ALK), t(2;5) (p23,q35) tanımlanmıştır (28). Füzyon sonucu oluşan kimerik protein (p80) ALK tirozin kinazı esas olarak aktive eder (1). Bu çalışmada da ALK overekspresyonunun klinik önemi ve sıklığı hakkında daha fazla bilgiye sahip olabilmek için immünohistokimyasal yöntemle ekspresyonu araştırılan protein p80 (ALK)'dir. Bizim çalışmamızda tüm olguların ALK immünohistokimya sonucu negatif bulunmuştur.

İmmünohistokimyasal inceleme, ALK overekspresyonunu saptamak amacıyla kullanılan yöntemdir. Nöral dokular hariç, normal erişkin dokularında ALK ekspresyonu görülmez. Bu nedenle bu proteinin ekspresyonu genetik değişiklikler zemininde artmış ekspresyon gösteren vakaları ayırt etmemizi sağlar. Günümüze kadar yapılmış çalışmalarda, ALK tayininde kullanılan antikolar oldukça çeşitli sonuçlar sergiler (33). Örneğin, ALCL'de ALK proteini tayininde kullanılan antikolar (örn.klon 5A4), translokasyon içeren NSCLC'de iyi sonuçlar vermez. Bu çalışmada da immünohistokimyasal yöntemle tüm vakaların negatif sonuç vermesini kullanılan antikor klonunun bu özelliği açıklamaktadır. Çünkü bu hastalıkta ALK ekspresyonu daha düşüktür. Rodig ve ark. tarafından akciğer adenokarsinomlarında yapılan bir çalışmada vakaların %95'inde FISH ile ALK rearanjmanı saptanırken, immünohistokimyasal yöntemde tiramid amplifikasyonu ile %80, tiramid amplifikasyonu olmadan %40 oranında pozitiflik saptanmıştır (34). ALK rearanjmanı gösteren akciğer adenokarsinomlarında immünohistokimyasal yöntemle ALK tayininde 3 antikorunu kıyaslayan bir çalışmada yeni bir tavşan monoklonal antikorunun (klon D5F3) mükemmel sensitivite (%100) ve spesifite (%99) gösterdiği bulunmuştur (35). Bu antikorun EML4-ALK rearanjmanı gösteren tümörlerde immünohistokimya ve FISH yöntemleri arasında %100 korelasyon gösterdiği düşünülmektedir (33). Triple negatif meme kanserlerindeki ALK füzyonunu saptamada immünohistokimyasal yöntemde rutin kullanılacak antikorun özelliklerini belirleyebilmek için yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Siraj ve ark.'nın (2015) 972 meme kanseri olgusunda yapmış olduğu çalışmada, ALK overekspresyonu tüm vakaların %36'sında, lobüler subtiplerin ise %17.5'inde saptanmıştır. Triple negatif meme kanserlerinde ise ALK

overekspresyonu %47 (69/147) olarak saptanmış olup ($p=0.0034$) non-triple negatif meme kanserlerine kıyasla belirgin bir farklılık göstermiştir. Bu sonuçlara göre ALK sinyal yolağının triple negatif meme kanserlerinde daha sık gözlenebildiği düşünülmüştür. Triple negatif meme kanserleri moleküler bir hedefin yokluğu nedeniyle daha kötü bir prognoza sahip olduğundan ALK overekspresyonun muhtemel bir tedavi hedefi olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca bu çalışmada ALK overekspresyonu, diferansiasyonu kötü ($p=0.0039$) ve Ki67 proliferasyon indeksi yüksek ($p<0.0001$) tümörlerle ilişkili bulunmuştur. FISH yöntemi ile ALK gen amplifikasyonu %11.3 (16/141) olarak bulunmuş olup EML4-ALK füzyonu izlenmemiştir. Bu çalışmada immünohistokimyasal yöntemle primer ALK antikoru (klon D5F3) ve FISH yöntemiyle BAC clone probu/CEP2 sentromerik probu ve break apart prob (Vysis) kullanılmıştır. ALK protein overekspresyonu ALK gen amplifikasyonu ile belirgin ilişkili bulunmuştur ($p=0.0031$). Ancak ALK protein ekspresyonu gen amplifikasyonu ile karşılaştırıldığında baskınlık göstermektedir. Bu farklılığın ALK ekspresyonundaki diğer yollara bağlı olduğu düşünülebilir. Diğer bir sebep ALK overekspresyonuna neden olabilecek diğer translokasyon füzyon partnerleridir (1). Bu çalışmaya benzer şekilde Mehrjardi ve ark.'nın (2013) 100 meme kanserinde yapmış olduğu çalışmada ALK overekspresyonu %47 olarak bulunmuştur (36).

Sachdev ve ark.'nın (2013) 81 triple negatif meme kanserli hastada yaptıkları çalışmada ALK ekspresyonunu %17 (14/81) olarak saptamışlardır. Bu çalışmada ALK ekspresyonunu saptamada qRT-PCR yöntemi kullanılmıştır. 15 vakaya uygulanan ALK break apart FISH probunun (Abott Molecular) kullanıldığı FISH yönteminde pozitiflik saptanmamıştır (3).

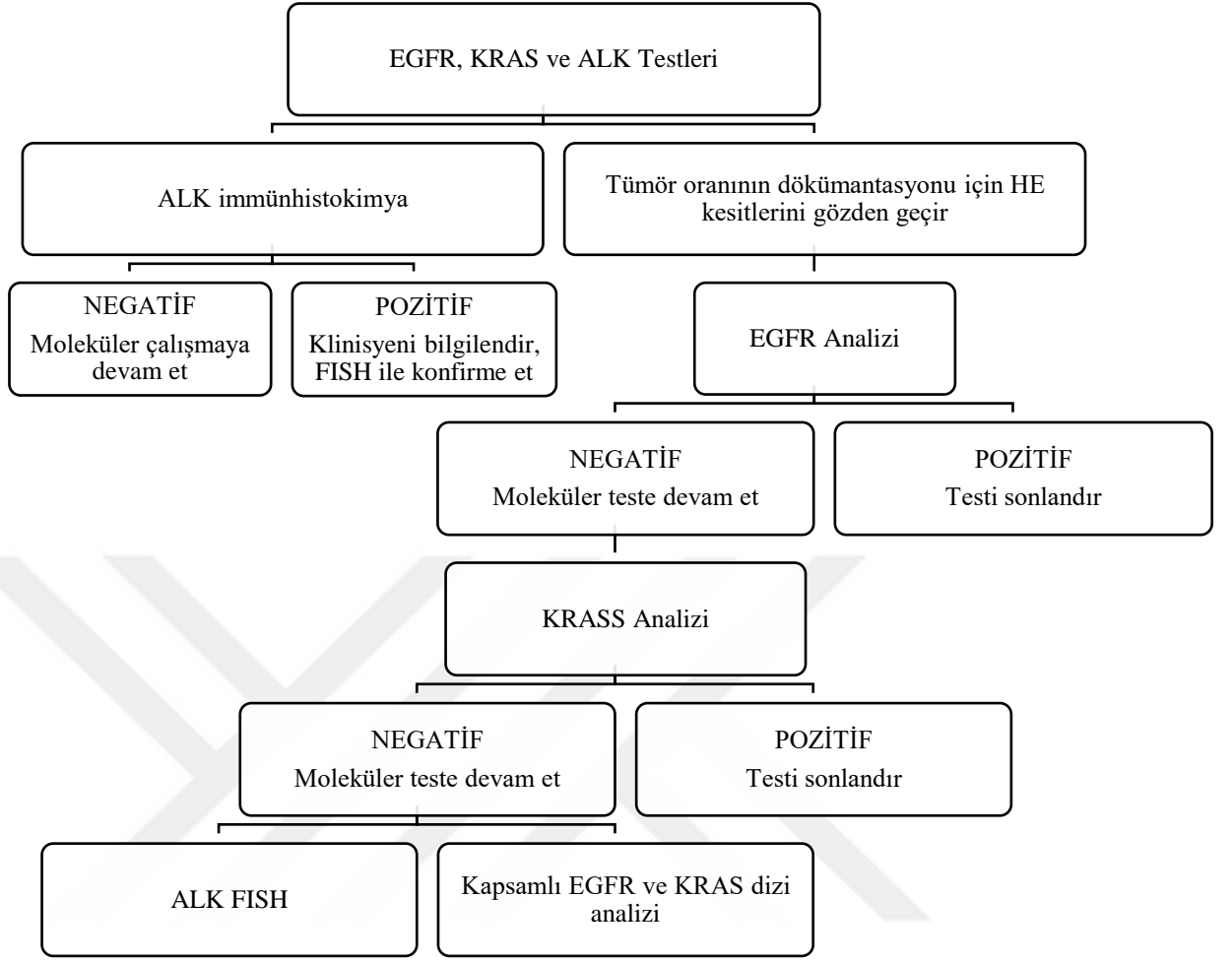
Grob ve ark.'nın (2012) 65 triple negatif meme kanseri olan hastada hedefe yönelik tedavi için EGFR, KRAS ve BRAF mutasyonlarını ve EGFR gen kopya değişiklikleri ile EML4-ALK füzyonunu araştırdıkları çalışmada ALK rearanjmanı saptanmamıştır. Bu çalışmada ALK gen rearanjmanını saptamada Vysis LSI ALK Dual Color Break Apart Rearanjman FISH Probu (Abbott Molecular) kullanılmıştır (2).

Lin ve ark. (2009) meme, kolorektal ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında EML4-ALK füzyonu araştırdıkları bir çalışmada 209 meme kanseri olgusunun 5'inde (%2.5) EML4-ALK füzyonu dökümanete etmişlerdir (37).

Bizim çalışmamızda ALK gen rearanjmanını belirlemek için ise break apart FISH probu ile FISH yöntemi kullanılmıştır ve vakaların %15'inde (11/70) ALK rearanjmanı tespit edilmiştir.

Bu çalışmaların sonuçlarının arasındaki farklılıkların gerçek nedeni bilinmemekle birlikte farklı etnik popülasyonlarda yapılmış olmaları muhtemel bir neden olarak düşünülebilir. Bu bağlamda farklılıkların nedenine yönelik standardize edilmiş bir immünohistokimyasal antikor ve FISH probu kullanılarak ve yine standardize edilmiş bir değerlendirme kriterleri belirlenerek yapılacak kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

ALK gen rearanjmanı akciğer adenokarsinomlarının yaklaşık %5'inde görülür, ALK overekspresyonuna neden olur ve hedefe yönelik inhibitör olan crizotinib'e yanıtta sorumludur. Çoğu vakada ALK EML4 ile füzyon yapar. Kromozom 2 inversiyonlarını ve diğer ALK füzyonlarını saptamada kullanılan FISH yöntemi ALK rearanjmanı bulunan akciğer adenokarsinomlarının tanısında güncel standart yöntemdir ve FDA onaylı ALK inhibitörü crizotinib kullanımı için gereklidir. Ancak pahalı ve zaman alıcıdır ve özel floresan mikroskop ekipmanlarına ve değerlendirme yapacak uzmanlara ihtiyaç vardır. EML4-ALK füzyonu ALK'nın transkripsiyonel upregülasyonu ve protein ekspresyonu ile sonuçlanır. Sholl ve ark.'nın (2013) 830 akciğer adenokarsinomu vakasında yaptığı çalışmada vakaların tamamına ALK dual color break-apart rearanjman probu (Abott Molecular) kullanılarak FISH yöntemi uygulanmıştır ve 25'inde (%3) ALK rearanjmanı saptanmıştır. Bu vakalardan 186'sına (15'i FISH (+), 161'i FISH (-), 10'u FISH (belirsiz)) immünohistokimyasal yöntemle ALK klon 5A4 uygulanmıştır ve vakaların 13'ünde ALK protein ekspresyonu saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ALK tayininde FISH yönteminin özgünlüğü %98.5 olup immünohistokimyasal yöntemin özgünlüğü %93 olarak saptanmıştır. ALK tayininde immünohistokimya ve FISH yöntemlerinin birlikte kullanılmasının optimal yöntem olduğu gösterilmiştir. Akciğer adenokarsinomlarında ALK tayininde kullanılacak immünohistokimyasal, moleküler ve sitogenetik testler için bir algoritma önerilmiştir (Şekil 5.1) (8).



Şekil 5.1: Akciğer adenokarsinomlarında ALK tayininde kullanılacak immünohistokimyasal, moleküler ve sitogenetik testler için algoritma

Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre; ALK gen rearanjmanı triple negatif meme kanserlerinde %15 oranında saptanmıştır. Bu nedenle ALK gen rearanjmanı taşıyan triple negatif meme kanserli hastaların anti-ALK tedavisine aday olabileceklerini ve bu hastalarda ALK tayini yapılarak anti-ALK tedavisine uygun hastaların seçilmesi gerektiğini düşünüyoruz. Hedefe yönelik tedaviye aday olabilecek hastaların seçiminde kullanılmak üzere akciğer adenokarsinomlarında önerilen algoritmaya benzer şekilde patoloğları ve klinisyenleri yönlendirebilecek yaklaşımların belirlenebilmesi için multidisipliner görüşlere ve çalışmalara ihtiyaç vardır.

ALK tayininde uygun immünohistokimyasal antikor klonunu belirleyerek boyanmanın şiddeti ve yoğunluğuyla ilgili standardizasyonun yapılması ve bir algoritma belirlenmesi gerekmektedir. ALK tayininde FISH yöntemi ile immünohistokimyasal yöntemin bir arada kullanılmasının optimum yöntem olduğunu düşünüyoruz. Bu bağlamda geniş hasta gruplarıyla yapılacak yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Triple negatif meme kanserleri oldukça invaziv, kötü prognozlu, endokrin tedaviye yanıtız ve belirli organ metastazları sergileyen tümörlerdir. Günümüze kadar spesifik bir hedefe yönelik tedavi geliştirilememiştir ve dolayısıyla bu tümörler üzerine odaklanan çok sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalardan biri de Li ve ark. (2014) tarafından 24 triple negatif meme kanseri ve 178 non-triple negatif meme kanserinde Ki67 ekspresyonunun araştırıldığı çalışmadır. Ki67, proliferatif hücrelerde saptanan bir nükleer antijendir. Ki67 immünoboyanması hücre siklusu ile ilişkilidir. G1, S, G2 ve M fazlarında eksprese olurken, G0 fazında eksprese olmaz. Ki67, meme kanserlerinde neoadjuvan tedavi sonrası remisyon açısından bir prediktif faktördür. Neoadjuvan kemoterapiyi takiben artmış Ki67 düzeyi kötü prognoz göstergesidir. Bu çalışmada Ki67 overekspresyonunun triple negatif meme kanserlerinde kötü prognoz açısından bir belirleyici olabileceği vurgulanmıştır (9).

Bir proliferasyon markırı olan Ki67'nin erken meme kanserinde bağımsız bir prognostik ve prediktif faktör olduğu kanıtlanmıştır (38). Ki67 ekspresyonu yüksek olan tümörlerin kemoterapiye yanıtının daha iyi olduğu fakat kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (39). Bu fenomendüşük sağ kalım oranları ve neoadjuvan kemoterapiye yanıtı daha yüksek olan triple negatif meme karsinomlarındaki paradoksla benzerdir (40).

Bizim çalışmamızda triple negatif meme kanserlerinde, bağımsız bir prognostik ve prediktif değeri bulunan, bir proliferasyon antijeni olan Ki67 ile ALK durumu ilişkisi saptanmaya çalışılmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Benzer şekilde ALK durumu ile hasta yaşı, tümörün histolojik tipi ve histolojik grade'i arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca ulaşamamıştır. Bu durumun vaka sayısının kısıtlılığı ile ilişkili olduğunu ve daha geniş serilerde yapılacak daha kapsamlı çalışmalar ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

VI. SONUÇLAR

Bu çalışmada triple negatif meme kanserlerinde ALK durumunun immünohistokimyasal ve floresan in situ hibridizasyon yöntemleri ile tayin edilerek bu iki yöntemin karşılaştırılması ve Ki67 indeksi ile ilişkisinin saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre; ALK gen rearanjmanı triple negatif meme kanserlerinde %15 oranında saptanmıştır. Bu nedenle ALK gen rearanjmanı taşıyan triple negatif meme kanserli hastaların anti-ALK tedavisine aday olabileceklerini ve bu hastalarda ALK tayini yapılarak anti-ALK tedavisine uygun hastaların seçilmesi gerektiğini düşünüyoruz.

Bizim çalışmamızda hiçbir vakada immünohistokimyasal yöntemle ALK pozitifliği saptanmamıştır. ALCL'de ALK proteini tayininde kullanılan antikorlar (örn.klon 5A4), translokasyon içeren NSCLC'de iyi sonuçlar vermez. Bu çalışmada da immünohistokimyasal yöntemle tüm vakaların negatif sonuç vermesini kullanılan antikor klonunun bu özelliği açıklamaktadır. Triple negatif meme kanserlerindeki ALK değişimlerini saptamada immünohistokimyasal yöntemde rutin kullanılacak antikorun özelliklerini belirleyebilmek için yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bizim çalışmamızda triple negatif meme kanserlerinde, bağımsız bir prognostik ve prediktif değeri bulunan, bir proliferasyon antijeni olan Ki67 ile ALK durumu ilişkisi saptanmaya çalışılmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Benzer şekilde ALK durumu ile hasta yaşı, tümörün histolojik tipi ve histolojik grade'i arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca ulaşamamıştır. Bu durumun vaka sayısının kısıtlılığı ile ilişkili olduğunu ve daha geniş serilerde yapılacak daha kapsamlı çalışmalar ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Siraj AK, Beg S, Jehan Z, Prabhakaran S, Ahmed M, R Hussain A, et al. ALK alteration is a frequent event in aggressive breast cancers. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2015;17(1):127. Available from: <http://breast-cancer-research.com/content/17/1/127>
2. Grob TJ, Heilenkötter U, Geist S. Rare oncogenic mutations of predictive markers for targeted therapy in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2012;134:561–7.
3. Sachdev JC, Naini P, Arteta-bulos R, Vontela N, Hout DR, Hirsch FR, et al. Anaplastic lymphoma kinase (ALK): A potential oncogenic driver in triple-negative breast cancer ? 2011;312346:312346.
4. Lehmann BDB, Bauer J a J, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy a B, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* [Internet]. 2011;121(7):2750–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21633166>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3127435&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc3127435/>
5. Perou CM. Molecular stratification of Triple negative breast cancer. *The on*. 2010;15(suppl 5):39–48.
6. Barreca A, Lasorsa E, Riera L, Machiorlatti R, Piva R, Ponzoni M, et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. *J Mol Endocrinol*. 2011;47(1).
7. Zhao Z, Verma V, Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: role in cancer and therapy perspective. *Cancer Biol Ther* [Internet]. 2015;4047(November):00–00. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15384047.2015.1095407>
8. Sholl LM, Weremowicz S, Gray SW, Wong K-K, Chirieac LR, Lindeman NI, et al. Combined Use of ALK Immunohistochemistry and FISH for Optimal Detection of ALK-Rearranged Lung Adenocarcinomas. *J Thorac Oncol* [Internet]. 2013;8(3):322–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1556086415327659>

9. Li H, Han X, Liu Y, Liu G, Dong G. Ki67 as a predictor of poor prognosis in patients with triple-negative breast cancer. *Oncol Lett.* 2015;9(1):149–52.
10. Mills SE. *Histology for Pathologists.* 4th ed. Mills SE, editor. Charlottesville: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. 65-81 p.
11. Schnitt SJ, Collins LC. *Biopsy Interpretation of the Breast.* 2nd ed. Boston: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. 1-24 p.
12. Rosai J. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology.* 10th ed. Milan: Mosby Elsevier; 2015. 1659-1770 p.
13. Reisner H. *Pathology: Modern Case Study.* 1th ed. Chapel Hill; 2016. 433-454 p.
14. Mills SE. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology.* 6th ed. Charlottesville: Wolters Kluwer; 2015. 319-385 p.
15. Lee CH, Carter D. Detecting Residual Excisional Biopsy Breast Carcinoma : Comparing Preoperative with Radiographs Tumor After of Impalpable Efficacy of Mammograms of the Biopsy. *Am J Roentgenol.* 1995;(164):81–6.
16. Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, Ann M, Harlow SP, Costantino JP, et al. Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *NIH Public Access.* 2011;11(10):927–33.
17. Weaver DL. Pathology evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer : protocol recommendations and rationale. *Mod Pathol [Internet].* 2010;23(S2):S26–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2010.36>
18. College of American Pathologist. Protocol for the Examination of Specimens From Patients with Invasive Carcinoma of the Breast. *Cap [Internet].* 2016;1–33. Available from: http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2012/BreastInvasive_12protocol_3100.pdf
19. Hammond E, Hayes D. Pathologists' Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Breast Care.* 2010;5(5):185–7.

20. Payne J, Bowen R. Predictive markers in breast cancer – the present. *Histopathology*. 2008;52:82–90.
21. Mohsin SK, Weiss H, Havighurst T, Clark GM, Berardo M, Roanh LD, et al. Progesterone receptor by immunohistochemistry and clinical outcome in breast cancer : a validation study. *Mod Pathol*. 2004;17:1545–54.
22. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Hammond MEH, Allred DC, Valenstein PN. Recommendations for Validating Estrogen and Progesterone Receptor Immunohistochemistry Assays. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134:930–5.
23. Gutierrez C, Schiff R. Biology, Detection, and Clinical Implications. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135:55–62.
24. Untch M, Smith I, Gianni L, Baselga J, Bell R, Jackisch C, et al. Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2005;353:1659–72.
25. Lachapelle J, Foulkes WD. Triple-negative and basal-like breast cancer : implications for oncologists. *Curr Oncol*. 2011;18:161–4.
26. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thu B. Meeting Highlights : Updated International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21(17):3357–65.
27. Yuan Y, Liao Y, Hsueh C, Mirshahidi HR. Novel targeted therapeutics : inhibitors of MDM2 , ALK and PARP. *Mol Cancer Res*. 2011;1–14.
28. Hallberg B, Palmer RH. review The role of the ALK receptor in cancer biology. *Ann Oncol*. 2016;27(Supplement 3).
29. Ardini E, Magnaghi P, Menichincheri M. Anaplastic Lymphoma Kinase : Role in specific tumours , and development of small molecule inhibitors for cancer therapy. *Cancer Lett [Internet]*. 2010;299(2):81–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2010.09.001>
30. Deveci E. İmmunohistokimya teknikleri ve Kullanım Alanları. 2012;
31. Özdemir K. İn situ Hibridizasyon yöntemleri. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknol Derg*. 2015;3:613–21.
32. McMaster ML, Kristinsson SY, Turesson I, Bjorkholm M, Landgren O. Combined Use of ALK Immunohistochemistry and FISH for Optimal Detection of ALK- Rearranged Lung Adenocarcinomas. *Clin Lymphoma*.

- 2010;9(1):19–22.
33. Grande E, Bolós M-V, Arriola E. Targeting oncogenic ALK: a promising strategy for cancer treatment. *Mol Cancer Ther.* 2011;10(4):569–79.
 34. Rodig SJ, Mino-kenudson M, Dacic S, Yeap BY, Shaw A, Barletta JA, et al. Unique Clinicopathologic Features Characterize ALK -Rearranged Lung Adenocarcinoma in the Western Population. *Clin Cancer Res.* 2009;15(16):5216–23.
 35. Mino-kenudson M, Chirieac LR, Law K, Hornick JL, Lindeman N, Mark EJ, et al. A Novel , Highly Sensitive Antibody Allows for the Routine Detection of ALK -Rearranged Lung Adenocarcinomas by Standard Immunohistochemistry. *Clin Cancer Res.* 2010;(13):1561–72.
 36. Mehrjardi AZ, Vaghefi A. EXPRESSION OF ANAPLASTIC LYMPHOMA KINASE PROTEIN IN HUMAN BREAST CANCER. *Iran J Pathol.* 2013;8(1):27–35.
 37. Lin E, Li L, Guan Y, Soriano R, Rivers CS, Mohan S, et al. Exon Array Profiling Detects EML4-ALK Fusion in Breast , Colorectal , and Non – Small Cell Lung Cancers. *Mol Cancer Res.* 2009;20(September):1466–77.
 38. Li F, Wu S, Zhou J, Sun J, Lin Q, Lin H, et al. Prognostic Value of Ki-67 in Breast Cancer Patients with Positive Axillary Lymph Nodes : A Retrospective Cohort Study. 2014;9(2):1–6.
 39. Wang R, Chen S, Jin X, Shao Z. Value of Ki-67 expression in triple- negative breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy with weekly paclitaxel plus carboplatin. *Nat Publ Gr [Internet].* 2016;(May):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep30091>
 40. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: Primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res.* 2007;13(8):2329–34.

EK 1. ETİK KURUL ONAY BELGESİ

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İstanbul İli Beyoğlu Bölgesi Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Doç. Dr. Selver ÖZEKİNCİ
Patoloji Kliniği

Kliniğinizde yürütmeyi planladığınız 'Triple Negatif Meme Kanserlerinde Alk Durumunun İmmünohistokimyasal ve Floresan İn Situ Hibridizasyon Yöntemleri ile Tayin Edilerek bu iki Yöntemin Karşılaştırılması ve Ki-67 İndeksi ile İlişkinin Saptanması' isimli çalışmanız Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 19.04.2016 tarihli toplantısında alınan 452 sayılı kararına göre etik açıdan uygun görülmüştür.
Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Ek: Etik Kurul Karar Formu

EK 2. HASTALARIN ÖZELLİKLERİ VE YAPILAN ANALİZLERİN SONUÇLARI

Hasta no	Hasta yaşı	Tümörün histolojik tipi	Tümörün histolojik grade'i	Ki67 indeksi (-/+ / ++ / +++)(%)	ALK İHK sonucu (-/+)	ALK FISH sonucu (-/+) / (%)
1	55	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %85	-	- / %0
2	45	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %20	-	- / %0
3	75	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %70	-	- / %0
4	47	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %20	-	- / %0
5	45	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %95	-	- / %0
6	40	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %85	-	- / %0
7	44	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %75	-	- / %0
8	52	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %90	-	- / %0
9	53	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	++ / %40	-	+ / %20
10	38	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	++ / %40	-	- / %0
11	33	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %90	-	- / %0
12	39	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	++ / %50	-	- / %0
13	49	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+++ / %90	-	- / %0
14	46	Medüller özellikli karsinom	3	++ / %35	-	- / %0
15	33	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	- / %5	-	- / %0
16	52	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %20	-	- / %0
17	78	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %80	-	- / %0
18	37	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %95	-	+ / %24
19	46	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	++ / %35	-	- / %0
20	41	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	++ / %30	-	- / %0
21	68	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	- / %5	-	- / %0
22	43	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %90	-	- / %2
23	73	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	- / %5	-	- / %2
24	47	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+++ / %80	-	+ / %28
25	69	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %90	-	- / %0
26	39	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %90	-	- / %4
27	42	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %95	-	+ / %16
28	66	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	++ / %30	-	- / %0
29	70	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	- / %2	-	- / %0
30	42	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %15	-	- / %6
31	51	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	++ / %50	-	- / %0
32	63	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %60	-	- / %0
33	53	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %80	-	- / %10
34	40	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+++ / %70	-	- / %0
35	65	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %85	-	- / %0
36	54	Adenoid kistik karsinom	2	+ / %20	-	- / %0
37	32	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+++ / %80	-	- / %0
38	51	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %85	-	+ / %44
39	66	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	++ / %35	-	- / %0
40	51	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %10	-	- / %0
41	45	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %15	-	+ / %20
42	43	Adenoid kistik karsinom	2	+ / %20	-	- / %0
43	31	İnvaziv müsinöz karsinom	2	+ / %10	-	- / %0
44	60	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %20	-	+ / %24
45	49	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	++ / %40	-	- / %6
46	34	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %95	-	- / %0

47	57	İnvaziv mikropapiller karsinom	2	+ / %25	-	- / %0
48	53	İnvaziv duktal karsinom, NOS	1	- / %5	-	- / %0
49	34	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	++ / %40	-	- / %0
50	48	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+++ / %75	-	- / %0
51	58	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %25	-	+ / %18
52	47	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %90	-	- / %0
53	68	İnvaziv solid papiller karsinom	2	+ / %10	-	- / %0
54	43	İnvaziv duktal karsinom, NOS	1	++ / %40	-	+ / %16
55	55	İnvaziv duktal karsinom, NOS	1	++ / %35	-	- / %10
56	56	İnvaziv papiller karsinom	2	+++ / %60	-	- / %0
57	66	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	++ / %30	-	- / %4
58	65	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+ / %10	-	- / %0
59	27	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %95	-	- / %0
60	54	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+++ / %60	-	- / %0
61	74	İnvaziv solid papiller karsinom	2	+ / %25	-	+ / %24
62	32	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+++ / %75	-	- / %8
63	56	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	+++ / %85	-	+ / %26
64	43	İnvaziv duktal karsinom, NOS	2	++ / %35	-	- / %12
65	45	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+ / %8	-	- / %0
66	45	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %80	-	- / %0
67	68	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+++ / %80	-	- / %0
68	70	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	+ / %25	-	- / %0
69	56	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	++ / %50	-	- / %0
70	44	İnvaziv duktal karsinom, NOS	3	++ / %30	-	- / %0

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Özlem Korkmaz

Doğum yeri ve tarihi: Şarkışla - 27.02.1984

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: dr_ozlem005@hotmail.com - 05073378926

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

2013-Halen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı E.A. Hastanesi Patoloji Kliniğinde eğitim görmekteyim.

2003-2010: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

2000-2003: Sivas Fen Lisesi

1997-2000: Sivas Selçuk Anadolu Lisesi

1992-1997: Ülkü İlkokulu

III- Mesleki Deneyimi

Sivas Acil Sağlık Hizmetleri İstasyonu

İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Acil Servis