T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

MEME KANSERİNDE PRAME (PREFERENTIALLY EXPRESSED ANTIGEN OF MELANOMA) EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Kubilay DALCI

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Yalçın KEKEÇ

ADANA-2010

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini şahsımla paylaşan, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri: Prof. Dr. Emin Uğur ERKOÇAK, Prof. Dr. Hüseyin EZİCİ, Prof. Dr. Alper AKINOĞLU, Prof. Dr. Dilaver AĞDEMİR, Prof. Dr. Ali Haydar ALPARSLAN, Prof. Dr. Hüsnü SÖNMEZ, Prof. Dr. Yalçın KEKEÇ, Prof. Dr. Özgür YAĞMUR, Prof. Dr. Haluk DEMİRYÜREK, Prof. Dr. Ömer ALABAZ, Prof. Dr. Orhan DEMİRCAN, Doç. Dr. Cem Kaan PARSAK, Doç. Dr. Gürhan SAKMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında yardımlarını ve desteklerini gördüğüm, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Semra PAYDAŞ'a, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Suzan ZORLUDEMİR'e ve Prof. Dr. Melek ERGİN'e, Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bülent ANTMEN'e, Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Gülşah SEYDAOĞLU'na teşekkür ediyorum.

Çukurova Üniversitesi bilimsel araştırma fonuna (Proje No: TF-2009-LT-47) maddi desteklerinden dolayı teşekkür ediyorum.

Ayrıca genel cerrahi uzmanlık eğitimim süresince arkadaşlık ve aile ortamını paylaştığım çalışmama katkıda bulunan tüm araştırma görevlisi doktor arkadaşlarıma, Genel Cerrahi Anabilim dalı, Ameliyathanede görevli hemşire, teknisyen, personel arkadaşlarıma ve her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen aileme teşekkür ediyorum.

Dr. Kubilay DALCI

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR I
İÇİNDEKİLER II
TABLO LİSTESİ III
ŞEKİL LİSTESİ IV
KISALTMA LİSTESİ V
ÖZET VI
ABSTRACT VII
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Tarihçe 3
2.2. Meme Kanseri 7
2.2.1. Epidemiyoloji 7
2.2.2. Meme Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflaması 8
2.2.3. Meme Kanserinde Evreleme 10
2.2.4. Meme Kanserinde Tedavi 13
2.2.5. Meme Kanserinde Prognostik Faktörler 15
2.3. Preferantially Expressed Antigen Of Melanoma (PRAME) 34
3. GEREÇ ve YÖNTEM 41
3.1.Çalışma Modeli 41
3.2. Hastalar 42
3.3. Meme Tümöründen Taze Doku Alınması 43
3.4. İHK Yöntemle PRAME Çalışma Prosedürü 44
3.5. İHK Yöntemle Çalışılan PRAME'in Değerlendirilmesi 45
3.6. RT-PCR Yöntemiyle PRAME Çalışma Prosedürü 48
3.6.1. Taze Dokudan RNA İzolasyonu 48
3.6.2. Pure Total RNA'dan Komplementer DNA (cDNA) Elde Edilmesi 49
3.7. İstatiksel Analiz 53
4. BULGULAR 54
4.1. İnvaziv Meme Kanseri Olgularında İHK Yöntemle Tespit Edilen PRAME Sonuçlarının Diğer Parametrelerle Karşılaştırılması 57
4.2. Meme Kanseri Olgularında İnsitu Kanser Komponentinde İHK Yöntemle Tespit Edilen PRAME Sonuçlarının Diğer Parametrelerle Karşılaştırılması 65
4.3. Meme Kanseri Olgularında RT-PCR İle Saptanan PRAME Sonuçlarının Diğer Parametrelerle Karşılaştırılması 72
5. TARTIŞMA 79
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 85
7. KAYNAKLAR 87
8. ÖZGEÇMİŞ 101

TABLO LİSTESİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 1. Meme tümörlerinin histopatolojik sınıflaması (WHO 2003 sınıflamasına göre) ..8
Tablo 2. Meme kanserinde yeni sınıflama sistemi (AJCC 2003 sınıflaması) ..11
Tablo 3. Meme kanserinde yeni evreleme sistemi (AJCC 2003 evrelemesi) ..13
Tablo 4. Meme kanserinde prognostik faktörler ..16
Tablo 5. RT - PCR PRAME çalışma aşamaları ..52
Tablo 6. İHK yöntemde invaziv komponentte PRAME ekspresyonu ..54
Tablo 7. İHK yöntemde insitu kompenentte PRAME ekspresyonu ..55
Tablo 8. İHK yöntemle benign meme lezyonlu olgularda PRAME ekspresyonu ..55
Tablo 9. RT-PCR yöntemiyle çalışılan PRAME sonuçları ..56
Tablo 10. İnvaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu ile RT-PCR ile saptanan PRAME değerleri ile demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması ..58
Tablo 11. İnvaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu ile menopozal durum, LVİ, grade, evre, ER, PR, cerbB2 reseptör durumu, RT-PCR ile saptanan PRAME değerlerinin kıyaslanması ..62
Tablo 12. İnvaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu gruplanmış halinin RT-PCR ile saptanan PRAME değerleri, demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması ..63
Tablo 13. İnvaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu gruplanmış şekli ile menopozal durum, grade, evre, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu ve RTPCR PRAME ekspresyonunun kıyaslanması ..65
Tablo 14. Meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME ekspresyonu ile RT-PCR ile saptanan PRAME değerleri, demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması ..66
Tablo 15. Meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME ekspresyonu ile menopozal durum, grade, LVİ, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu, evre, RT-PCR PRAME ekspresyonu değerleri ve invaziv meme kanserinin İHK PRAME ekspresyonunun kıyaslanması ..69
Tablo 16. Meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME ekspresyonu ile RT-PCR ile saptanan PRAME değerleri, demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması ..70
Tablo 17. İnsitu komponentinin İHK PRAME eksperesyonu gruplanmış şekli ile menopozal durum, LVİ, grade, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu, evre, PRAME RT-PCR ekspresyonu ve invaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu gruplanmış şeklinin kıyaslanması ..72
Tablo 18. Meme kanserinde RT-PCR PRAME ekspresyon sonuçları ile demografik, tümöre ait biyolojik verilerin ve RT-PCR PRAME kantitatif değerlerinin kıyaslanması ..73
Tablo 19. Meme kanserinde RT-PCR PRAME ekspresyon sonuçlarının, menopozal durum, grade, evre, LVİ, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu ile kıyaslanması ..74
Tablo 20. Meme kanserinde PRAME RT-PCR sonuçları ile demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması ..75
Tablo 21. Meme kanserinde PRAME RT-PCR ekspresyonunun gruplanmış şekli ile menopozal durum, grade, LVİ, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu, evre ve İHK PRAME ekspresyonu gruplanmış şeklinin kıyaslanması ..78

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 1. Mastektomi materyalinin ön yüz görüntüsü 43
Şekil 2. Mastektomi materyalinde fasyal yüzün cerrahi sınır mürekkebi ile boyanmış görüntüsü..... 44
Şekil 3. Mastektomi materyalinin seri dilimlenmesinden sonra tümörün makroskobik görüntüsü..... 44
Şekil 4. Normal meme dokusun da PRAME boyanması (+) (İHKx40)..... 46
Şekil 5. Fibroadenom da PRAME boyanması (sitoplazmik +++) (İHKx20)..... 47
Şekil 6. İnvaziv duktal karsinom da metastatik lenf nodunun PRAME boyanması (+++) (İHKx40)..... 47
Şekil 7. invaziv duktal karsinom da PRAME boyanması (sitoplazmik ++, nükleer ++) (İHKx40)..... 48

KISALTMA LİSTESİ

β-HCG : Beta – Human Koryonik Gonadotropin
µPA : Plazminojen Aktivatörü
µ/L : Mikro/Litre
ALL : Akut Lenfositik Lösemi
AML : Akut Miyelositik Lösemi
ark. : arkadaşları
cDNA : Komplementer Deoksinükleikasit
cm : santimetre
DNA : Deoksinükleikasit
EGFR : Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
ER : Östrojen Reseptörü
FISH : Floresan İn situ Hibridizasyon
hsp : Isı Şok Proteinleri
İDC : İnvaziv duktal karsinom
İHK : İmmunohistokimyasal
kd : Kilo Dalton
KLL : Kronik Lenfositik Lösemi
KML : Kronik Miyelositik Lösemi
LVİ : Lenfovasküler İnvazyon
MAGE : Melanom Antijen Geni
mm : Milimetre
mRNA : Messenger Ribonükleikasit
nm23 : non-metastatik gen 23
NYESO : New York Özofagus Kanser Geni
p53 : Tümör Protein 53
PAI : Plazminojen Aktivatör İnhibötürü
PCNA : Polifere Olan Hücre Nükleer Antijeni
PM : Postmenopozal
PR : Progesteron Reseptörü
PRAME : Preferentially Expressed Antigen of Melanoma
PRM : Premenopozal
RT-PCR : Reverse Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TLI : Timidin İşaretli İndeks
WT1 : Wilm's Tümör 1 Geni

ÖZET

Amaç: Prospektif çalışmamız Eylül 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Onkoloji Bilimdalı ve Patoloji Anabilim Dalı'nın ortak çalışmaları ile gerçekleştirildi. Çalışmada 54 meme kanserli ve 37 benign meme lezyonlu hasta yer aldı.

Gereç ve Yöntem: Meme kanserli hastalardan alınan kanserli taze dokularda Preferentially Expressed Antigen of Melanoma (PRAME) ekspresyonu ters transkriptaz/polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemiyle çalışıldı. Aynı kanserli örneklerin parafin bloklarında PRAME ekspresyonu İmmünohistokimyasal (İHK) yöntemle belirlendi. Benign meme lezyonlu 37 olguya ait örneklerde İHK yöntemle PRAME'in boyanma paternine bakılırken bunlardan 20 örnekte ve 10 normal meme dokusunda RT-PCR yöntemiyle PRAME ekspresyonu incelendi. İHK ve RT-PCR ile değerlendirilen PRAME ekspresyonu; yaş, menopoz durumu, histolojik tipi, evre, tümör çapı, tümör grade'i, lenfovasküler invazyon (LVİ) durumu, östrojen reseptör (ER)/progesteron reseptör (PR) durumu, cerb-B2 reseptör durumu, aksiler lenf nodu tutulumu gibi bilinen prognostik parametrelerle kıyaslandı.

Bulgular: RT-PCR ile PRAME ekspresyonu meme kanserinde % 50, iyi huylu meme lezyonlarında % 25 oranında saptandı ve normal meme dokusunda PRAME ekspresyonu saptanmadı. İHK yöntemle PRAME ekspresyonu invaziv meme kanserinde % 29,6 (+) boyanma, % 31,5 (++) boyanma, % 3,7 (+++) boyanma saptanırken olguların % 35'inde PRAME saptanmadı. İn-situ komponentte ise % 20,4 (+) boyanma, % 25,9 (++) boyanma saptandı ve olguların % 54'ünde PRAME saptanmadı. Benign meme lezyonlarında % 8 (+) boyanma, % 51,3 (++) boyanma, % 27,7 (+++) boyanma saptandı ve olguların % 13'ünde ekspresyon saptanmadı. PRAME ekspresyonu için RT-PCR sonuçları ile İHK sonuçları ilişkili bulundu.

Sonuç: Sonuç olarak meme kanserinde PRAME gen ekspresyonu yüksek grade ve ER yokluğu gibi kötü prognostik parametrelerle ilişkili bulundu. Olguların uzun süreli takipleri olmadığı için hastalıksız ve toplam sağkalım gibi yaşam parametreleri ile ilişkiyi bilmemekteyiz. Bu çalışmada elde edilen veriler, şimdilik sınırlı olmakla birlikte, PRAME ekspresyonunun kötü risk parametreleri ile ilişkili olmasından dolayı kötü risk belirleyicisi olduğunu telkin etmektedir. PRAME ekspresyonunun saptanmasında gerek taze dokuda RT-PCR gerekse parafinli dokuda İHK yöntemin kullanılabileceği ve bu nedenle uzun süredir takibi yapılan olgulardan PRAME ekspresyonunun saptanması ile diğer prognostik parametrelerle ve bazı tedavilerle ilişki bulunursa prediktif rolunun ortaya çıkarılabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: meme kanseri, PRAME, prognostik faktörler

ABSTRACT

Purpose: This prospective study was carried out together with the general surgery, oncology and pathology clinics of Faculty of Medicine at Çukurova University between September, 2009 and May, 2010. 54 patients with breast carcinoma and 37 patients with benign breast lesion were included in the study.

Matherial and Methods: Preferentially Expressed Antigen Of Melanoma (PRAME) expression in the fresh malignant tissues taken from the patients with breast carcinoma was studied with the method of Reverse Transkriptaz Polimeraz Chain Reaction (RT-PCR). PRAME expression in the paraffine blocks of the same malignant tissues was determined through immunohistochemical (IHC) method. While the PRAME painting patterns of the 37 cases with benign breast lesioning were checked by IHC, PRAME expression of 20 samples taken from those 37 cases and 10 normal breast tissues were examined through RT-PCR method. The PRAME expression which was examined through IHC and RT-PCR methods was compared with some well-known prognostic parameters such as the age, menopozal condition, histological type, the stage, the diameter of the tumor, the grade of the tumor, the lymphovascular invasion condition, estrogen receptor (ER)/progesterone receptor (PR) conditions, the cerb-B2 receptor condition and axilar lymph node involvement.

Results: Through RT-PCR method, PRAME expression was determined as 50% in breast carcinoma and 25% in benign breast lesions. On the other hand, PRAME expression was not determined in normal breast tissues. Through IHC method, PRAME expression was determined as 29.6% (+) stained, 31.5% (++) stained, 3.7% (+++) stained in invasive breast carcinoma, however, no PRAME expression was determined in 35% of the cases. And in-situ component, 20.4 % (+) stained and 25.9% (++) stained were determined but no PRAME was determined in 54% of the cases. 8% (+) stained, 51.3% (++) stained and 27.7% stained (+++) were determined in benign breast lesions and no expression was determined in 13% of the cases. A relationship was found between the PT-PCR and IHC results for PRAME expression.

Conclusion: Consequently, PRAME gene expression and some fatal prognostic parameters such as high grade and the lack of ER were found relevant to each other in breast carcinoma. As these cases are not observed for long-term periods, we do not have any data about the life parameters such as attested and total survivals. The data obtained in this study, in a limited way, suggests that PRAME expression is a determiner of fatal risks as it is found relevant to fatal risk parameters. Since RT-PCR method in fresh tissues and IHC method in tissues with paraffin can be made use of in the determination of PRAME expression, we believe that the determination of PRAME expression from the cases which are observed for long-time periods can reveal its predictive role if a relationship between other prognostic parameters and some treatments.

Key Words: breast cancer, PRAME, prognostic factors

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tüm dünyada Kadınlar arasında kanser olgularının % 28-32'sinden ve kanser ölümlerinin % 17,6'sinden meme kanseri sorumludur.[1,2] Etkin tarama yöntemleri ve gelişen tedavi yöntemleri sonucu meme kanserinden ölüm oranlarında belirgin azalma olmuştur.[3] Meme kanseri oldukça heterojen bir tümöndür. Değişken klinik gidiş sergileyen meme kanseri olgularında çok sayıda prognostik ve prediktif faktör tanımlanmıştır. Tümör çapı, tümör grade'i, aksiler lenf nod tutulumu, östrojen ve progesteron reseptör durumu temel prognostik faktörler olarak saptanmıştır. Son yıllarda LVİ durumu, "Human Epidermal Growth Factor Receptor-2" (HER-2) durumu da önemli prognostik faktörler olarak ortaya konmuştur.[4] Kanser testis antijenleri, tümör immunolojisinde ilgi çeken alanların başında gelmektedir. PRAME kanser testis antijen ailesinin önemli bir üyesi olup son yıllarda araştırmacıların yoğun ilgisini üzerine çekmiştir. Bu gen ilk kez melanomalı olguda bulunması üzerinden 12 yıl geçmesine rağmen sentezlenmesinin önemi halen açık değildir.[5] PRAME melanomalarda (% 97), nöroblastomada (% 93), sarkomlarda (% 80), akciğerin sukuamöz hücreli ve küçük hücreli kanserlerinde (% 70), wilm's tümöründe[6] ve akut lösemilerde (AML M3 % 75, ALL % 64, KML BC % 50 ve AML M2 % 45) bulunmaktadır. Renal hücreli karsinomlarda (% 40),[7] baş ve boyun tümörlerinde (% 29) orta düzeyde bulunmaktadır. Adrenal, over, endometrial dokularda ve birçok normal dokuda da bulunmaktadır.[5,6] PRAME mRNA'sının meme kanserli dokuda % 27 oranında bulunduğu yayınlanmıştır.[5] Başka bir çalışmada ise meme kanserli dokuda % 53, normal meme dokusunda ise % 37 oranında PRAME mRNA'sı bulunmuştur.[8] Meme kanserinde PRAME ekspresyonu ile ilgili bu 2 çalışmada kötü prognoz belirleyicisi olarak saptanmıştır.

Hücre membranı ve sitoplazmasında bulunan PRAME, sitotoksik T-lenfositleri tarafından tanınan immunojenik bir antijen olmasından ötürü bazı malign tümörlerde immunoterapi amaçlı kullanılabileceğini telkin eden bulgular vardır ve önümüzdeki yıllarda tedavi alanına girebileceğine dair veriler giderek artmaktadır.[9]

Bu çalışmanın amacı meme kanserli olgularda RT-PCR ile PRAME mRNA ekspresyonunu kantitatif olarak saptamak, İHK yöntemle de PRAME boyanma paternini belirlemek ve bu iki yöntemi birbiri ile karşılaştırmaktır. Ayrıca PRAME

ekspresyonu ile meme kanserinde bilinen prognostik faktörlerle (ER, PR, cErbB2 reseptörleri, aksiller lenf nodu tutulumu, grade, tümör çapı, evre, LVİ) kıyaslamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Meme kanseri ile ilgili ilk kayıda Milattan önce 3000-2500 yılları arasında Eski Mısır'da Imhotep tarafından yazıldığı tahmin edilen tıbbi bir papirusta rastlanmıştır. Imhotep bir hekim ve mimardır ve muhtemelen basamaklı piramid yapıyı M.Ö. 30. yüzyılda planlayan kişidir. Edwin Smith'in ortaya çıkardığı bu papirusta 9 meme hastası anlatılmaktadır ve bu hastaların hepsi erkektir. Imhotep'in tanımladığı lezyonların bir kısmı travma sonrası infeksiyon olabilir. Ancak 45. olguda kitle oluşturan ve memeyi, göğüs duvarının içine alan "soğuk" bir lezyondan bahsedilmektedir. Imhotep soğuk tümörlerin hiçbir tedaviye cevap vermediğini, ellenmemesi gerektiğini vurgulamaktadır.[10]

Klasik Yunan Periodunda (M.Ö. 460-160), 300 yıl boyunca Hipokrates'in bedenin 4 maddeden (kan, flegm, sarı safra, kara safra) oluştuğu, hipotezi geçerli olmuştur. Bu hipoteze göre hastalık bu 4 madde arasındaki dengenin bozulması ile ortaya çıkmaktadır. Hipotez batı dünyasında tıbbı çok uzun süre etkilemiş ve Galen'in teorilerinin de esasını oluşturmuştur.

Hipokrat kanlı meme başı akıntısı ile gelen meme kanserli bir hastayı tanımlamış ve menopoz ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi belirlemiştir.[10] İskenderiye okulunun yetiştirdiği en önemli cerrah Leonides (M.S. 100), tarihte ilk defa meme kanserini mastektomi ve aksiller küraj ile tedavi eden hekimdir. Koterizasyon ve damar bağlama tekniklerini kullanarak memeyi eksize etmiştir.[11] MS 130'da Bergama'da doğmuş ve İskenderiye'de eğitim görmüş olan Galen'nin Hippocrates'ten etkilenerek ortaya attığı teorilerin, tüm Roma tıbbına ve gelecekte 1500 yıl süre ile Avrupa tıbbına hakim olduğunu görüyoruz. Galen de Hippocrates gibi bedenin 4 ana maddeden oluştuğunu ve meme kanserinin kara safra (melankoli)'nın memede birikmesi ile ortaya çıktığını ileri sürmüştür.

Bu nedenle de memedeki tümör çıkarıldıktan sonra kanamanın durdurulmaması ve böylece kara safranın akması gerektiğini belirterek İskenderiyeli Leonides'ten daha geri bir uygulamayı savunmuştur.[12] Aynı asırda (M.S. 30) Roma'lı Celsus iltihabın dört kardinal belirtisi tanımlamıştır. Ayrıca meme kanserinin 4 evresini; erken kanser, ülsersiz kanser, ülserli kanser, karnabahar şeklinde ülserli kanser şeklinde tanımlamış ve

adeta bugün TNM sınıflamasında T_1, T_2, T_3, T_4 tümörleri tarif etmiştir. Celsus erken kanser dışındaki meme kanserlerine cerrahi uygulanmaması gerektiğini savunmuştur.[10]

Ortaçağ'da Aegina'lı Paul (M.S. 625) ve Milano'lu Lanfranc (M.S. 1250) yazdıkları kitaplarda meme cerrahisi hakkında oldukça geniş bilgiler vermişlerdir. Ancak anlayış yine Galen doğrultusundadır. İspanya'da Yahudi hekim Maimonides, Razi ve İbni Sina'nın kitaplarını tercüme etmiştir. Razi meme kanserinin tüm olarak çıkarılabildiği durumlarda cerrahi tedavi ve alttaki dokuların koterizasyonunu önermiştir. İbni Sina ise Galen okulunun izleyicisidir ve tümör çıkarıldıktan sonra damarların bağlanmaması ve "kara safra"nın akması gerektiğini savunmuştur. İbni Sina'nın "Kanun Fil Tıbb" isimli kitabı asırlar boyunca tek referans kitabı olarak Avrupa'da geçerliliğini korumuştur.[10-12]

Padua okulundan olan Andreas Vesalius kadavra üzerinde çalışarak ilk anatomi kitabını yazmıştır. Meme kanseri için mastektomiyi tavsiye etmiş ve kanamayı durdurmak için koter değil dikişler kullanılmasını önermiştir.[10]

16.yüzyılın başlarında yaşamış olan ve devrinin en büyük cerrahı olarak kabul edilen Ambrose Pare yüzeysel ve küçük tümörlerin sadece eksizyon ile tedavi edilebileceğini ancak büyük tümörlere kurşun plakalar koyarak dolaşımının yavaşlatılması gerektiğini bildirmiştir.

Aksiller lenf nodüllerin memedeki tümör nedeni ile büyüdüğünü fark ederek bunların çıkarılması gerektiğini belirtmiştir. Pulmoner dolaşımı tanımlayan Servetus 1509'da Paris'te büyücülükle suçlanarak yakılmıştır. Servetus aksiller glandlar ile birlikte pektoral kas çıkarılmasını önermiştir. Rönesans döneminde Galen teorileri geçerliliğini yitirmiştir.[10]

1757'de Henri Le Dran'ın meme kanserinin lokal bir hastalık olduğu ve cerrahi yöntemlerle tedavi edilebileceği esasına dayanan tezi yayınlanmıştır. Bu tez Galen'in meme kanserini "humoral" etkenlerle açıklayan tezinin sonu olmuştur.[11,12]

W. Fabry ve J.Schultes 16.yüzyılın sonlarında yazdıkları kitaplarda meme ameliyatının bütün teknik safhalarını detaylı bir şekilde anlatmışlardır. 17. ve 18.yüzyıl Avrupası'nda kanama ve infeksiyonlar nedeni ile meme ameliyatları tehlikeli ve ölümcül kabul edilmiş ancak deneyimli cerrahlar tarafından yapılması önerilmiştir. Bu dönemde memenin ve aksiller lenf nodüllerinin anatomisi ve ilişkisi anlaşılmış ve kanser ameliyatları sırasında çıkarılması kabul görmüştür. Paris'te bu dönemde J. L.

Petit, B. Perilheve R.Wiseman memeyi, aksiller lenf bezlerini ve pektoral kası birlikte çıkaran ve yarayı primer olarak kapatan cerrahlardır.[10-12]

W. S. Halsted Alman cerrahların meme ameliyatlarını yakından incelemiş, Lister'nin antisepsi çalışmalarından etkilenmiş ve 1894'de Baltimor Johns Hopkins hastanesinde oluşturduğu ameliyathanesinde radikal mastektomilerini uygulamıştır. Halsted radikal mastektomi'sinde prensip olarak meme, üzerini örten cilt, majör ve minör pektoral kaslar ve aksiller doku bir bütün olarak çıkarılmakta ve cilt defekti greft ile kapatılmaktadır.

C. D. Haagensen radikal mastektominin hem sadık bir uygulayıcısı ve hem de en ciddi kritikçisi olmuştur. N. Y. Presbyterian hastahanesinde memenin fizik muayenesini standardize etmiş, Colombia klinik sınıflamasını oluşturmuş ve inoperabilite kriterlerini koyarak radikal mastektomi'nin lüzumsuz yere uygulanmasını engellemiştir. Bu çalışmalar TNM sınıflamasının esasını oluşturmuş ve 1954'de International Union Against Cancer ilk TNM sınıflamasını yapmıştır.[10]

Yirminci yüzyılın başında meme kanserinin hem tanısı ve hem de tedavisi konusunda çok büyük devrimler gerçekleştirecek olan iki buluş yapıldı. Bunların birincisi X ışınlarının ve daha sonra radyum'un keşfi, ikincisi ise over hormonları ile meme kanseri arasındaki ilişkinin saptanmasıdır. C. Roentgen 1895'de X ışınlarının dokuya penetre olduğunu ve kanser hücrelerini öldürdüğünü saptadı. 1896'da hem Amerika'da ve hem de Almanya'da meme kanseri olguları X ışınları ile tedavi edilmeye çalışıldı. 1895'de Pierre ve Marie Curie'nin radyumu keşfinden 30 yıl sonra Londra'da G. L. Keynes operabl meme kanserlerini ameliyat öncesi veya sonrası iyonize radyasyon ile tedaviye başladı. A. Schinzinger 1899'da genç hastalar meme kanserinin gidişini yavaşlatmak için ooferektomi yapmayı önermişti. 1896'da G.T. Beatson meme kanserli 3 hastada ooferektomi sonrası tümörlerin gerilediğini bildirmiştir. Bu tarihten sonra birçok ülkede mastektomiye ooferektomi ilave edilmiş ve standart ameliyat haline gelmiştir.[11,12]

1948 Londra'da D. H. Patey ve R. S. Handley, "major pektoral kas tümör tarafından istila edilmedikçe çıkarılmamalı" tezini ortaya atmış ve modifiye radikal mastektomi tekniğini geliştirmiştir.[10]

Mamografi meme kanserinin erken tanısını sağlayan en önemli keşiftir. A. Salomon Almanya'da 1913'de, S. L. Warren Newyork'da ilk Mamografi denemelerini

yapmışlar ancak R. Egan'ın yumuşak doku tekniğini geliştirmesinden sonra yaygın olarak kullanıma girmiştir. Ultrasonografi 1950'li yıllarda, ışın vermeden birçok lezyonun saptanmasını sağlayan bir yöntem olarak kullanılmaya başlanmış, bunu manyetik rezonans görüntülemesi (MRG) ve PET Scan gibi daha sofistike yöntemler izlemiştir.[10,11]

Yirminci yüzyılın ortalarında Danimarka'dan Kaae ve Johansen, Edinburg'dan McWhirter basit mastektomi + aksiller ışınlamayı savunmuşlardır.[10] Clevelandan G.Crile, geniş cerrahi girşimlerin ölüm oranlarını azaltmadığını ileri sürerek sadece tümör ve aksiller lenf bezlerinin çıkarılması esasına dayanan konservatif cerrahiyi savunmuş ve uygulamıştır.[11]

Pittsburg'dan B. Fisher'e göre meme kanseri sistemik bir hastalıktır ve hastalığın nasıl seyredeceği beden ile kanser arasındaki biyolojik savaş sonucu belirlenir. Dolayısıyla yapılacak lokal tedavilerin şekli ve büyüklüğü şifa oranını etkilemez, sistemik tedavilerin uygulanması gerekir.[11] Bu görüş çok sayıda kontrollu randomize çalışma yapılmasını sağlamış ve kemoterapinin önünü açmıştır. Böylece B. Fisher'in "etkili sistemik tedavi" önerisi gerçekleştirilmiştir.[10]

Meme kanseri cerrahisinin yapılan çok sayıda randomize çalışma ile modifiye radikal mastektomi ve meme koruyucu cerrahi ile eşit sonuçlar sağladığının gösterilmesinden sonra aksillanın tedavisi de gözden geçirilmiştir. Guiliano 1994'de meme kanserli hastalarda sentinel lenf nodu biopsisinin sonuçlarını ve tekniğini yayınlamış, bu tarihten sonra pek çok merkez sentinel lenf nodu biopsisi yapmaya başlamıştır.[13]

Yirminci yüzyılın başında yapılan genetik ve moleküler araştırmalar bize meme kanserinin tek tip bir hastalık olmadığını, östrojen ve progesteron reseptörlerinin ve Cerb B-2'nin (+) veya (-) olmasına göre alt gruplarının bulunduğunu gösterdi.[14] Meme tümörünün biyolojik davranışı ve çeşitli kemoterapilere nasıl cevap vereceği bu yeni moleküler sınıflama ile önceden saptanabilir hale gelmiştir.[14,15] Ancak konunun daha iyi aydınlanması için daha pek çok çalışma yapılması gerekmektedir. Özellikle genomik çalışmalar ilerledikçe meme kanserini anlamamız ve hedefe yönelik ilaçlar geliştirmemiz mümkün olacaktır.

2.2. Meme Kanseri

2.2.1. Epidemiyoloji

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanserdir. Geçen 40 yıl boyunca meme kanseri sıklığı özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde sürekli şekilde artmaktadır.

Amerika Birleşik Devletlerinde kadınlardaki bütün kanserlerin % 32'sini meme kanseri oluşturmaktadır.[16] Ülkemizdeki duruma bakıldığında 1991 yılında yapılan bir çalışmada 1985-1990 yılları arasında görülen kanserlerin % 20'sinin meme kanseri olduğu ve 1985-1987 yılları arasında ikinci sıradayken, 1988-1990 yılları arasında birinci sıraya yükseldiği görülmüştür.[17] Meme kanserindeki artış, tarama yöntemlerinin daha sık ve düzenli kullanılmasına bağlı tanı oranındaki artışa ve toplumların ortalama yaşam sürelerinin uzamasıyla hastalığın ileri yaş grubunda daha sık görülmesi ile açıklanmaktadır.[3] Bununla beraber meme kanseri sıklık oranları dünyada coğrafik değişikliler göstermektedir. Mozambik, Gambiya ve Japonya gibi ülkelerde meme kanseri sıklığı en düşük iken Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Kuzey Avrupa ülkelerinde meme kanseri sıklığı en yüksektir. Bu durum, beslenme alışkanlıkları ile birlikte endüstrileşmiş modern yaşamda kadınların mensturasyonun daha erken yaşta başlaması, daha ileri doğum yaşı, oral kontraseptif ve hormon replasman tedavisi, menopoz yaşının gecikmesi, uzamış yaşam beklentisi gibi değişikliklerin etkisinde kalmasına bağlanmaktadır.[18]

Meme kanserine bağlı mortalite Amerika Birleşik Devletleri'nde 1950 ile 1989 yılları arasında aynı oranda kalmıştır. Meme kanserinden ölüm oranı 1990 ile 1999 yılları arasında belirgin şekilde azalmıştır. Bu azalma, erken tanı oranında artma ve tedavilerdeki gelişmelere bağlanmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde meme kanseri, akciğer kanserinden sonra kadınlarda kanser ölümlerinden sorumlu ikinci hastalık olmasına rağmen, 5 yıllık sağ kalım oranı beyaz kadınlarda % 63'den % 89'a, siyah kadınlarda % 46'dan % 79'a yükselmiştir.[42] Sağlık Bakanlığının verilerine göre Türkiye'de 1999 yılında toplam 9919 hastaya kanser tanısı konulmuştur ve kanser insidansı yüz binde 30,38 olarak saptanmıştır. Kanser vakalarının 2390'ı meme kanserli hastalardan oluşmuştur. Tüm kanserli hastaların % 24,1'ini oluşturan meme kanseri kadınlardaki en sık kanser olarak tespit edilmiştir. Türkiye'de meme kanser insidansı 1999 yılında yüz binde 7,32 olarak hesaplanmıştır.[18]

2.2.2. Meme Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflaması

Kadın memesinde her biri meme başından başlayan, giderek daha ince dallara ayrılan ve terminal duktus lobul birimlerini oluşturarak sonlanan 6-10 adet kanallar sistemi bulunur.

Terminal duktus lobul birimleri, tek bir duktusa açılan üzüm salkımı gibi keseciklerden oluşur. Bu kesecikler arasında hormona duyarlı stroma vardır. Her bir kesecik, bazal membran üzerinde miyoepitelyal hücreler ve bunlar üzerinde lümene bakan epitel hücrelerinden oluşur.

Bugün kabul edilen histopatolojik sınıflama, tümör özelliklerine ve kaynak hücrelere göre yapılmaktadır. Meme tümörlerinin % 90'ı invaziv duktal ya da invaziv lobuler karsinomdan oluşur. Duktal tip, meme kanserlerinin % 80'ini oluşturur ve tubuler, mikropapiller, medüller gibi alt tiplere ayrılır. Bununla birlikte duktal karsinomaların % 80'i hiç bir alt tipe uymayan "not otherwise specified-NOS" olarak isimlendirilen tipten oluşur. Lobular karsinomalar meme kanserlerinin % 10-15'ini oluşturur. Duktal karsinomadan farklı olarak duktus yapısı oluşturmazlar.[19] Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2003 Sınıflaması'na göre meme kanserlerinin alt tipleri Tablo 1'de gösterilmiştir.[20]

Tablo 1. Meme tümörlerinin histopatolojik sınıflaması (WHO 2003 sınıflamasına göre)

I.EPİTELYAL TÜMÖRLER
A. <u>İnvaziv meme karsinomları</u>
1. İnvaziv duktal karsinom (İDC)
a- Büyük çoğunluğu hiçbir alt tipe uymayan (not otherwise specified - NOS tip)
b- Diğer alt tipleri
- Mikst tip İDC
- Pleomorfik tip İDC
- Osteoklastik dev hücreli tip İDC
- Koryokarsinomatöz tip İDC
- Melanositik tip İDC
2. İnvaziv lobüler karsinom
3. Tübüler karsinom
4. İnvaziv kribriform karsinom
5. Medüller karsinom
6. Müsinoz karsinom ve belirgin müsin içeren diğer tümörler
a- Müsinöz karsinom
b- Kistadeno karsinom ve kolumnar hücreli müsinöz karsinom
c- Taşlı yüzük hücreli karsinom
7. Nöroendokrin tümörler
a- Solid nöroendokrin karsinom
b- Atipik karsinoid tümör
c- Küçük hücreli / yulaf hücreli karsinom
d- Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
8. İnvaziv papiller karsinom

Tablo 1'in devamı

9. İnvaziv mikropapiller karsinom
10. Apokrin karsinom
11. Metaplastik karsinom
a- Pür epitelyal metaplastik karsinom
b- Skuamöz hücreli karsinom
c- İğsi hücreli metaplastik karsinom
d- Adenosukuamöz karsinom
e- Mukoepidermoid karsinom
f- Mikst epitelyal ve mezenkimal metaplastik karsinom
12. Yağdan zengin karsinom
13. Sekretuar karsinom
14. Onkositik karsinom
15. Adenoid kistik karsinom
16. Asinik hücreli karsinom
17. Glikojenden zengin berrak hücreli karsinom
18. Sebasöz karsinom
19. İnflamatuar karsinom
20. Bilateral meme karsinomu
B. Prekürsör lezyonlar
1. Lobüler neoplazi
a- Lobüler İn situ karsinom
2. İntraduktal proliferatif lezyonlar
a- Basit duktal hiperplazi
b- Flat epitelyal atipi
c- Atipik duktal hiperplazi
d- Duktal İn situ karsinom
3. Mikroinvaziv karsinom
4. İntraduktal papiller neoplaziler
a- Santral papillom
b- Periferal papillom
c- Atipik papillom
d- İntraduktal papiller karsinom
e- İntrakistik papiller karsinom
C. Benign epitelyal lezyonlar
1. Adenozis ve varyantları
a- Sklerozan adenozis
b- Apokrin adenozis
c- Blunt duct adenozis
d- Mikroglandüler adenozis
e- Adenomiyoepitelyal adenozis
2. Radyal skar/kompleks sklerozan lezyon
3. Adenomlar
a- Tübüler adenom
b- Laktasyonel adenom
c- Apokrin adenom
d- Pleomorfik adenom
e- Duktal adenom
II. MEZENKİMAL TÜMÖRLER
1. Hemanjiom
2. Anjiomatozis
3. Hemanjiyo peristom
4. Psödoanjiyomatöz stromal hiperplazi
5. Myofibroblastom
6. Fibromatozis (agresif)
7. İnflamatuar myofibroblastik tümör
8. Lipom
9. Anjiyolipom

Tablo 1'in devamı

10. Granüler hücreli tümör
11. Nörofibrom
12. Schwannom
13. Anjiosarkom
14. Liposarkom
15. Rabdomyosarkom
16. Osteosarkom
17. Leiomyom
18. Leiomyosarkom
III. MİYOEPİTELYAL LEZYONLAR
1. Miyoepiteliyozis
2. Adenomiyoepitelyal adenozis
3. Adenomiyoepiteliyoma
4. Malign miyoepiteliyoma
V. MEME BAŞI TÜMÖRLERİ
1. Meme başı adenomu
2. Siringomatöz adenom
3. Meme başı paget hastalığı
VI. MALİGN LENFOMA
1. Diffüz B-hücreli lenfoma
2. Burkitt lenfoma
3. Ekstranodal malt tipi marjinal zon B-hücreli lenfoma
4. Folliküler lenfoma
VII. METASTATİK TÜMÖRLER
VIII. ERKEK MEMESİNİN TÜMÖRLERİ
1. Jinekomasti
2. Karsinom
a- İnvaziv
b- İn situ

2.2.3. Meme Kanserinde Evreleme

Tümör evreleme sistemleri kişinin kanserinin yayılımı ve ciddiyeti hakkında belli standartlara göre bilgi edinilmesini sağlar. Evreleme, klinik bulgulara göre (klinik evreleme) ya da ameliyatla çıkarılan dokuların histopatolojik durumlarına göre (patolojik evreleme) yapılır. Günümüzde hemen her yerde UICC (*Union international Contre Cancere*) ve AJCC (*American Joint Commitee on Cancer*)'nin biçimlendirdigi TNM sistemi kullanılmaktadır. TNM Evreleme Sistemi'nde tümörleri sınıflamak için kullanılan kriterler; tümör boyutu (T), aksiller lenf nodlarına yayılımı (N) ve uzak bölgelere yayılımdır (M). Daha önceden tanımlanmış kriterlere göre bu üç özellik belirlenip kombine edilerek, tümör için son TNM Evresi hesaplanır. Tümör evresi meme kanserli hastalarda tedaviye yön veren önemli bir prognostik faktördür.[21-25]

Mamografik tekniklerin yaygınlaşması, sentinel lenf nodu disseksiyonu, immunohistokimyasal ve moleküler tanı yöntemlerinin gerçekleştirilmesi invaziv meme kanserlerinin daha erken evrelerde saptanmasına yol açmıştır. Meme kanserinin doğal seyrinde gözlenen değişimler evreleme sisteminde yenilik gereksinimini doğurmuştur.

Amerikan Birleşik Kanser Komitesi'de (AJCC) 1997 yılındaki evrelemeden farklı olarak 2003 yılında meme kanseri evrelemesine yeni düzenlemeler getirmiştir. Meme kanserinin yeni sınıflama ve evreleme sistemi aşağıda Tablo 2 ve Tablo 3'de belirtilmiştir.[26,27]

Tablo 2. Meme kanserinde yeni sınıflama sistemi (AJCC 2003 sınıflaması)

Primer Tümör (T)	
Patolojik ve klinik sınıflamalarda primer tümörün tanımlanması aynıdır. Tümör boyutu ölçümü eğer fizik muayene ile yapıldıysa, sınıflamada ana gruplar (T_1, T_2 veya T_3), mamografik veya patolojik olarak yapıldıysa T1'in alt grupları kullanılabilir.	
TX	Değerlendirilemeyen primer tümör
T0	Primer tümör yok
Tis	Karsinoma İn situ
Tis (DCIS)	Duktal karsinoma İn situ
Tis (LCIS)	Lobüler karsinoma İn situ
Tis (Paget)	Meme başının kitlesiz paget hastalığı (Tümör olan Paget hastalığında sınıflama tümörün boyutuna göre yapılır.)
T1	Tümörün en büyük boyutu 2 cm veya daha az
T1mic	En büyük boyutu 0.1 cm veya daha az olan mikroinvazyon
T1a	En büyük boyutu 0.1 cmden büyük olan ancak 0.5 cmyi geçmeyen tümör
T1b	En büyük boyutu 0.5 cmden büyük olan ancak 1 cmyi geçmeyen tümör
T1c	En büyük boyutu 1 cmden büyük olan ancak 2 cmyi geçmeyen tümör
T2	En büyük boyutu 2 cmden büyük olan ancak 5 cmyi geçmeyen tümör
T3	En büyük boyutu 5 cmden büyük olan tümör
T4	Herhangi bir boyutta ancak (a) göğüs duvarına veya (b) cilde direkt yayılım
T4a	Pektoral kasa ulaşmamış göğüs duvarı yayılımı
T4b	Meme cildinde ödem (peau d'orange da dahil) veya ülserasyon, veya aynı memede satellit deri nodülleri
T4c	T4a ve T4b birlikte
T4d	Enflamatuar karsinom
Bölgesel lenf nodları (N)	
Klinik sınıflama	
NX	Bölgesel lenf nodları saptanamamaktadır (örn. daha önce çıkartılmış)
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	İpsilateral lenf nod (lar)ında metastaz (fikse değil)
N2	Fikse veya gruplaşmış ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz veya aksiller lenf nodu metastazı olmadığı durumlarda klinik olara belirgin* ipsilateral interal mammaryal nodlarında metastaz
N2a	Birbirlerine veya çevre dokulara fikse ipsilateral aksiller lenf nodlarında metastaz
N2b	Sadece klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı olmadığında klinik olarak belirgin* ipsilateral internal mammaryal nodlarda metastaz olduğunda
N3 (ları)	Aksiller lenf nodu tutulumu olsun ya da olmasın ipsilateral infraklavikuler lenf nod metastazı veya klinik olarak belirgin*****ipsilateral internal mammaryal lenf nod (ları) metastazı ile birlikte klinik olarak belirgin***** aksiller lenf nodu metastazı; veya aksiller ya da internal mammaryal lenf nodu metastazı olsun ya da olmasın ipsilateral supraklavikuler lenf nod (ları) metastazı
N3a	İpsilateral infraklavikular lenf nod (lar)ında metastaz
N3b metastaz	İpsilateral internal mammaryal lenf nod (lar)ında veya aksiller lenf nod (lar)ında
N3c	İpsilateral supraklaviküler lenf nod (lar)ında metastaz * Görüntüleme metodları (lenfosintigrafi hariç) veya klinik muayene ile veya patolojik olarak açıkça görülerek saptanma durumunda 'klinik olarak belirgin' terimi kullanılır.

Tablo 2'nin devamı

Patolojik Sınıflama (pN)	
pNX	Değerlendirilemeyen bölgesel lenf nodları
pN0	Histolojik olarak bölgesel lenf nodu metastazı olmayan, izole tümör hücreleri (ITH) için ek inceleme yok
Not	**:** H&E boyası ile verifiye edilebilen ancak sıklıkla sadece İHK (İHK) veya moleküler metodlarla saptanan, 0,2 mm.den daha geniş olmayan tek tümör hücreleri veya küçük hücre kümeleri **'izole tümör hücreleri (ITH)'** olarak tanımlanır. ITH, proliferasyon veya stromal reaksiyon gibi malign aktivite kanıtlarını genellikle göstermez.
pN0 (i-)	Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, negatif İHK
pN0 (i+)	Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, pozitif İHK, 0.2 mm.den geniş İHK kümesi yok
pN0 (mol-)	Histolojik bölgesel lenf nodu metastazı yok, RT-PCR ile negatif moleküler bulgular
pN0 (mol+)	Histolojik bölgesel lenf nodu metastaz› yok, RT-PCR ile pozitif moleküler bulgular
pN1	**1-3 arası aksiller lenf nodlarında,** ve/veya internal mamaryal nodlarda sentinel lenf nodu diseksiyonu ile saptanan mikroskopik hastalıkla birlikte metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil**
pN1mi	Mikrometastaz (0,2 mm'den geniş, 2,0 mm.den geniş değil)
pN1a	1-3 adet aksiller lenf nodunda metastaz
pN1b	Sentinel lenf nodu diseksiyonu ile internal mammaryal nodlarda mikroskopik hastalık olarak saptanan metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil**
pN1c	1-3 adet aksiller lenf nodunda ve internal mammaryal nodlarda sentinel lenf nodu diseksiyonu ile mikroskopik olarak saptanan metastaz, fakat klinik olarak belirgin değil**.
pN2	**4-9 aksiller lenf nodunda metastaz,** veya aksiller lenf nodu metastazı olmadığında internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin* metastaz
pN2a	4-9 aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm.den büyük en az bir tümör odağı)
pN2b	Aksiller lenf nodu metastazı yokken, internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak belirgin* metastaz
pN3	**10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda,** veya infraklaviküler lenf nodlarında, veya 1 ya da daha fazla aksiller lenf nodu pozitif olduğunda klinik olarak belirgin* ipsilateral internal mammaryal lenf nodlarında metastaz; veya internal mammaryal lenf nodlarında klinik olarak negatif mikroskopik metastazla birlikte 3'ten daha fazla aksiler lenf nodunda metastaz; veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz
pN3a	10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastaz (2.0 mm.den büyük en az bir tümör odağı), veya infraklaviküler lenf nodlarına metastaz
pN3b	1 veya daha fazla pozitif aksiller lenf nodu varlığında klinik olarak belirgin* ipsilateral internal mammaryal lenf nodu metastazı; veya sentinel lenf nodu diseksiyonuyla saptanan fakat klinik olarak belirgin olmayan** mikroskopik hastalıkla birlikte 3 veya daha fazla aksiller lenf nodunda veya internal mammaryal lenf nodlarında metastaz.
pN3c	İpsilateral supraklaviküler lenf nodlarında metastaz
	*Görüntüleme metodları (lenfosintigrafi hariç) veya klinik muayene ile saptanan metastazlarda 'klinik olarak belirgin' terimi kullanılır.
	** Görüntüleme metodları (lenfosintigrafi hariç) veya klinik muayene ile saptanamayan metastazlarda 'klinik olarak belirgin olmayan' terimi kullanılır.
Uzak Metastaz (M)	
MX	Uzak metastaz bulunamıyor
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var (Tümörün olduğu tarafta supraklaviküler lenf nodları ve karşı memenin bölgesel lenf nodlarına metastazlar dahil)

Tablo 3. Meme kanserinde yeni evreleme sistemi (AJCC 2003 evrelemesi)

EVRELER	T	N	M
0	T_{is}	N_0	M_0
I	T_{mic}	N_0	M_0
	T_1	N_0	M_0
IIA	T_0	N_1	M_0
	T_1	N_1	M_0
	T_2	N_0	M_0
IIB	T_2	N_1	M_0
	T_3	N_0	M_0
IIIA	T_0	N_2	M_0
	T_1	N_2	M_0
	T_2	N_2	M_0
	T_3	N_1	M_0
	T_3	N_2	M_0
IIIB	T_4	N_0	M_0
	T_4	N_1	M_0
	T_4	N_2	M_0
IIIC	T_{1-4}	N_3	M_0
IV	T_{1-4}	N_{0-3}	M_1

2.2.4. Meme Kanserinde Tedavi

Meme kanserinin primer tedavisi cerrahidir. Meme kanseri cerrahisi uzun zamandır üzerinde tartışılan bir konudur. Halsted'in meme kanseri gelişim teorisinde "meme kanseri tümör hücrelerinin embolizasyonundan çok direkt genislemeyle yayılır" hipotezine dayalı olarak meme kanserinin lokal bir hastalık olduğu düşünülerek "Ne kadar geniş cerrahi yapılırsa kür şansı o kadar artar" kanaatine varılmış ve radikal mastektomi meme kanseri cerrahisinde uygulanan ilk yöntem olmuştur. Bu yöntemle meme kanserinde lokal nüks ve yaşam süresi açısından çok önemli gelişmeler sağlanmıştır.[28] Yapılan çalışmalar çok küçük kanserlerde bile erken metastazlar olabileceğini ve radikal mastektominin evre 1 meme kanseri olan kadınlarda % 20'ye varan nüksü azaltmadığını gösterdi. Bu bulgu meme kanserinin lokal bir hastalık olduğu teorisi ile çelişmekteydi.[29] Radikal mastektominin birçok hastada yetersiz kalması, meme lenfatiklerinin tamamen çıkarılmamasına bağlanmış ve genişletilmiş radikal mastektominin (radikal mastektomiye ilave olarak supraklavikuler, mediastinal, internal mammaryal lenf nodlarıda çıkarılmakta) geliştirilmesine neden olmuştur. Ancak bu ameliyatlardan sonra da yaşam sürelerinde artış görülmemesi üzerine bu ameliyatlar terk edilmiştir. Erken tanı ve geniş cerrahi girişimlere rağmen tedavideki başarı oranının

düşük olması meme kanserinin lokal bir hastalık olduğu teorisini sarsmıştır. Sonuçta Halsted ve diğer radikal mastektomi yapan cerrahların çoğu tek başına cerrahinin meme kanserinin tedavisinde yetersiz kaldığını kabul etmişlerdir. Meme kanserinde cerrahiye yardımcı tedavi yöntemleri gündeme gelmiştir. Bu tedavilerin başında ilk kez Emile Grubbe tarafından uygulanan radyoterapi gelmektedir.[30] Daha sınırlı cerrahi girişimler uygulanmaya başlanmış. Patey ve Dayson modifiye radikal mastektomi tekniğini yayınlamışlardır.[31] Mc Whirter 1948 yılında, mastektomi, aksiller disseksiyon ve radyoterapi uyguladığı hastalarında 5 yıllık sağ kalımın, radikal mastektomi yapılanlardan daha iyi olduğunu göstermiştir.[32]

Yetmişli yıllara yaklaşırken meme kanserinde "Sistemik Hastalık Hipotezi" artık genel bir kabul görmeye başlamış. Fisher ve arkadaşları (ark.) 1966 yaptığı çalışmalarda, Halsted ve onun gibi düşünenlerin aksine meme kanserinin sistemik bir hastalık olduğunu ve lenf nodüllerinin tümör hücrelerinin yayılımı için bir bariyer oluşturmadığını gösterdiler. Artık kozmetik görünümleri daha iyi olan kısıtlı cerrahi rezeksiyonlar, radyoterapi, meme kanserine etkili hormonlar ve sitostatik ilaçların kullanımı düşünülmeye ve denenmeye başlanmıştır.[33,36] 1929 ve 1937'lerde Keynes tarafından başlatılan koruyucu cerrahi (biyopsiden, geniş lokal tümör eksizyonuna veya *segmental mastektomi'*den *quadrantektomi'*ye kadar) ile *definitif radyoterapi'*nin kombinasyonu 1950'lerden itibaren Avrupa'da yayılmaya başlamış[34] ve daha sonra yapılan prospektif randomize klinik çalışmalarda meme koruyucu cerrahi + radyoterapi (RT) ile mastektomi karşılaştırılmış ikisi arasında lokal nüks, yasam süresi ve hastalıksız yasam süresi bakımından anlamlı bir farklılık görülmemiştir. *National Surgical Adjuvant Breast Project (NSABP*)'nin B04 çalışması, palpabl lenf nodu içeren aksillanin diseksiyonu + total mastektominin, radikal mastektomiye eşdeğer olduğunu göstermiştir. *NSABP*'nin B06 çalışması ise; dört cm'den küçük tümörlerde, *lampektomi* ve aksiler disseksiyondan sonra regional radyoterapi ilavesiyle elde edilen sağkalımın, total mastektomi + aksiler disseksiyonla sağlanan sağkalımla eşdeğerde olduğunu ortaya koymustur.[35]

1990'lı yılların başlarında bazı meme kanserlerinin teşhis edildikleri anda sistemik metastaz yapmış olmalarına karsın bazılarının lokal ve/veya bölgesel kalmaya devam ettiklerinin anlaşılmasıyla "Spektrum (Tayf) Hipotezi" ortaya atılmıştır. Böylece meme kanserli her hastaya özel ve multidisipliner bir tedavi yaklaşımı benimsenmeye

başlanmıştır.[36] Giuliano 1994 yılında meme kanserinde sentinel nod biyopsisini yaygın kullanımını sağlayan çalışmaları başlatmıştır. Günümüzde yaygın olarak uygulanmaya başlanan bu teknikle başarı oranı % 90'nın üzerindedir.[37]

Meme kanserinin cerrahisinde günümüzde gelinen nokta, erken evre meme kanserinde modifiye radikal mastektominin yerini meme koruyucu cerrahi almış, yirmi yıldan fazla takip süresi olan çalışmalar sonucunda meme koruyucu cerrahinin mastektomiye eşdeğer sağ kalım sağladığı gösterilmiş, ayrıca sentinel lenf düğümü biopsisinin kullanımı ile birlikte aksiler küraj sayısındaki azalma cerrahinin morbiditesinde azalma ile sonuçlanmıştır. Meme kanserinin tedavisinin cerrahiye ek olarak radyoterapi, kemoterapi ve hormonoterapiyi de içerdiği, hepsinin bir bütün olduğu unutulmamalıdır.

2.2.5. Meme Kanserinde Prognostik Faktörler

Meme kanserinde tanıdan sonraki doğal seyir hastalar arasında farklılıklar göstermektedir. Meme kanseri aynı histolojik tipte, aynı evrede hatta aynı yaş gruplarında olsun hastadan hastaya farklı gelişme biçimleri gösteren bir hastalıktır. Bazı hastalar uzun süreler hastalıksız yaşarken bazılarında çok kısa sürelerde nüksler olmaktadır. Tümör büyüme hızı, invazyon ve metastaz yapma potansiyeli bu farklılıkları oluşturmaktadır. Bu özelliklerin bazı belirleyicilerle ortaya konabilmesi hastaların nüks açısından daha doğru olarak gruplandırılmasını sağlayacaktır.

Günümüzde tümör gelişim özelliklerindeki farklılıkların belirlenmesi açısından hala pek çok bilinmeyen olmasına karşın birçok prognostik faktör hastalarda yüksek riskli grupların seçimi ve tedavinin buna dayanılarak yönlendirilmesi için kullanılmaktadır. Meme kanserinde lokal nüks ve yaşam süresinde etkili olan prognostik faktörleri Tablo 4'de belirtilmiştir.[38]

Tablo 4. Meme kanserinde prognostik faktörler

1. Tümör boyutu 2. Aksiller lenf nodlarının durumu 3. Tümörün histolojik tipi 4. Tümörün diferansiyasyon derecesi (grade) 5. Hastaya ait özellikler (Tanı yaşı, Etnik özellikler) 6. Östrojen ve progesteron reseptörlerinin durumu 7. Proliferasyon ölçümleri (Mitotik indeks, Timidin işaretleme indeksi, S-Faz fraksiyonu, Ki67, Prolifere hücre nükleer antijeni) 8. DNA ploidi indeksi 9. Büyüme faktörü reseptörü veya büyüme regülatörleri (EGF-R...Epidermal büyüme faktörü reseptörü, IGF-R…insülin benzeri büyüme faktör reseptörü, SS-R…somatostatin reseptörü) 10. Onkogenler (Tümör protein53…p53, HER2/neu/c-erbB2, Non-metastatic gen…nm23) 11. Diğer çeşitli faktörler (Katepsin-D, Isı-şok proteinleri, pS2, Laminin reseptörleri, Anjiogenezis, Plazminojen aktivatörleri ve inhibitörleri, Lenfovasküler ve perinöral invazyon, Doku ferritin konsantrasyonu, cAMP bağlı protein, Haptoglobine bağlı protein, NCRC 1, koloni formasyonu-in vitro)

1. Tümör Boyutu

Tümör çapı meme kanserinde nüks riski ve özellikle nod negatif hastalarda adjuvan tedavi seçimi için önemli ve güvenilir bir prognostik faktördür.[39] Tümör çapının klinik, radyolojik ve patolojik ölçümleri arasında büyük çelişkiler saptanabilmektedir. Bu nedenle patolojik ölçümlerin gerçek tümör çapını daha iyi yansıttığı ve esas alınması gerektiği vurgulanmıştır.[40]

Tümör çapı aksiller nod tutulumunu da etkiler. Çap büyüdükçe aksiller tutulumun yanında tutulan nod sayısında da artış söz konusudur. Aksiller tutulum gösteren küçük çaplı tümörlerin prognozu, büyük çaplı olanlara göre daha iyidir. Tüm nodal tutulum kategorilerinde tümör çapı büyüdükçe yaşam süresi kısalmaktadır.[41] Carter ve ark. ile Nemato ve ark. çalışmaları primer tümör boyutu ile aksiller lenf nodu tutulumu ve dolayısıyla yaşam süresi arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir. Tümör boyutu arttıkça aksiller lenf nodu pozitifliği artmakta ve beş yıllık yaşam süresi azalmaktadır.[42,43]

Tümör büyüklüğü ile lokal nüks oranı ve yaşam süresi arasında anlamlı ilişki vardır. Tümör büyüklüğü arttıkça lokal nüks insidansının artığı ve klinik seyrin kötüleştiği gösterilmiştir.[44,45] Memorial Sloan Kettering Kanser Merkezi'nin verilerine göre 1 cm'nin altındaki tümörlerde 20 yıllık gözlemde nüks oranının sadece % 12, bir

NSABP çalışmasında ise nod (-), östrojen reseptörü (ER) (-) tedavi almamış hastalarda nüks oranının % 25 olduğu bildirilmektedir. Bu sonuçlar nüks olasılığının öngörülebilmesi için birçok faktörün birlikte değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

2. Aksiller Lenf Nodlarının Durumu

Günümüzde meme kanserinin prognozunu belirleyen en önemli faktör aksiller lenf gangliyonlarının metastaz içerip içermediği, eğer içeriyorsa tutulan lenf gangliyonlarının sayısıdır.[46] Aksiller lenf gangliyonlarında metastaz yoksa 10 yıllık hastalıksız yaşam süresi % 70-80 arasındadır. Bu oran aksillası pozitif olan hastalarda % 30´lara kadar düşer.[47,48]

Birçok klinik çalışmada aksiller tutuluma göre hastalar:

i. Negatif nod

ii. 1-3 pozitif nod

iii. 4 veya daha fazla pozitif nod gibi gruplara ayrılmıştır.

Araştırmaların hemen tamamında hastalığın seyri ve tutulan nod sayısı arasında direkt bir ilişki saptanmıştır.[49] Başka bir çalışmada ise aksiler metastazı olmayanlarda 10 yıllık hastalıksız sağ kalım % 70 iken bu oran 1-3 nod metastazı olanlarda % 50'ye, 4-10 nod metastazı olanlarda % 35'e, 11-20 nod metastazı olanlarda % 20'ye ve 20'den fazla nod metastazı olanlarda da % 17'ye kadar inmektedir.[50] İnvaziv tümörlerin aksine, in-situ (non-invaziv tümörlerde) aksiler tutulum oranı çok düşüktür (% 2-3). Tutulan nod sayısı arttıkça prognoz kötüleşmekte ve sağ kalım süresi azalmaktadır.

Hastalıksız yaşam süresinin de tutulan nod sayısı ile ilişkisi vardır. Aksilla negatif olan hastalarda 10 yılda nüks oranı % 20 iken, 4 veya daha fazla nod pozitif olanlarda nüks % 71'dir. 13 veya daha fazla sayıda nod pozitifliği nüksü % 87'e çıkarmaktadır.[43] Haagensen ve ark. ile Vallagussa ve ark. internal mammaryan nodların tutulumu ile nüksün daha fazla arttığını, aksiller nodları negatif olan hastalarda 10 yıllık relaps oranı % 27,9, aksiller nodları negatif ve internal mammaryan nodları pozitif olan hastalarda ise % 60 olarak bildirmişlerdir.[51,52] Bu bilgilere dayanarak denilebilir ki tutulan nod sayısı arttıkça tedavide başarısızlık oranı da artmaktadır.

Ayrıca lenf nodu tutulumu tümörün büyüklüğü ile de ilgilidir. Tümör çapı büyüdükçe tutulum riski artar. Nodal tutulumun, tümör reseptör durumu ve

proliferasyon ölçümü gibi biyolojik işaretleyicilerden bağımsız olduğu, dolayısıyla tümörün kronolojik yaşı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.[53] En küçük tümörlerde bile (0,5 cm'den küçük) % 20 tutulum riski olduğu gösterilmiştir.[54] Aksillada yaygın tutulum olan olgularda hastalık nüks olasılığı yüksek olmakla kalmayıp, tutulum göstermeyenlere göre çok daha erken görülmektedir. Çok sayıda nodal tutulum gösteren olguların hastalıksız yaşam süresinin kısalmasının (erken nüks) daha süratli tümör büyümesi veya ameliyatta geride tümör bırakma olasılığındaki fazlalıktan ya da her iki nedenden birden olabileceği gösterilmiştir.[55]

Tümörün meme içindeki lokalizasyonu aksiller tutulum riskini belirleyen bir diğer faktördür. Yapılan çalışmalar sonucunda dış kadran tümörlü hastaların % 43-52'sinde, iç kadran tümörlerinin ise % 35-40'ında aksiller nod tutulumu saptanmıştır.[54-56]

Aksiller disseksiyon materyali, mastektomi yapılan hastalarda meme ile birlikte; meme koruyucu cerrahi yapılanlarda ise aksilla üzerine uygulanan ayrı bir kesi ile çıkarılır.

Pektoralis minör kasının dış yanındaki (Level 1) ve arkasındaki (Level 2) lenf ganglionlarının çıkarılması aksiller disseksiyon için yeterlidir. Bu işlemle 10 tane lenf ganglionunun çıkarılması ve değerlendirilmesi aksilla tutulumu konusunda bize yeterli bilgileri sağlamaktadır.

Aksillada Level 1 düzeyindeki lenf ganglionlarında metastaz yok ise; Level 2 ve Level 3 metastaz olması riski (skip metastaz) çok düşüktür (% 1,3-5). Aksillanın tam disseksiyonu (Level 1, 2, 3 ile birlikte) hastanın sağ kalımını çok fazla etkilememektedir. Bununla birlikte tam disseksiyon yapılan hastalarda birlikte radyoterapi de almış ise kol ödemi riski % 36'ya ulaşmaktadır.

Kesin bir evreleme için her ne kadar aksiller disseksiyon gerekli ise de, gerekmeyen hallerde yapılması morbiditeyi arttırmaktadır.[46] Evreleme için gerekli disseksiyon genişliği nodal tutulumun olup olmadığını saptamak veya tutulan nod sayısını belirlemeye yöneliktir. Bunun için gerekli hallerde Level 1 ve Level 2'de yapılacak disseksiyonun, skip metastaz oranının % 2-3 düşürdüğü ve yeterli prognostik bilgi verebileceği görüşü yaygındır.[57]

Aksiller evrelemede güvenilirlik bakımından en az 10 nod disseke etmenin gerekliliği vurgulanmıştır. Ancak "sentinel nod" biopsi tekniğinin cerrahi pratikte yerini bulmasıyla birlikte aksiller disseksiyon hakkındaki klasik görüşler de değişim eğilimine

girmeye başlamıştır. Bu görüşe göre meme kanser hücreleri anatomik bir sırayla aksiler nodları tutmakta yani genelde önceleri tümör yatağını drene eden 1-3 nod tutulmakta sonra diğerlerine geçmektedir. Bu nedenle sentinel nod pozitif olan olgularda diğerlerinin de pozitif olma olasılığı doğar. Sentinel nodların negatif olması halinde rutin aksiller disseksiyondan vazgeçilebilir.[58]

Histolojik olarak aksillası negatif olgularda sağkalım için en iyi prognostik gösterge tümörün büyüklüğüdür.[39]

3. Tümörün Histolojik Tipi

Meme kanserli hastalarda en sık rastlanan histolojik tip İDC'lerdir. Ne yazık ki İDC'li hastalarda aksiller nod tutulumu daha sık ve buna bağlı olarak klinik seyir en kötüdür.[59]

SEER 'Surveillance, Epidemiology and End Results' programı ile 160000 invaziv meme kanserinde histolojik alttipin etkisi araştırılmıştır. Olguların % 68'i İDC, % 6'sı invaziv lobüler karsinom, % 3'ü medüller, % 2'si musinöz, % 4'ü tubuler, % 0,5'i inflamatuar karsinom bulunmuştur. Beş yıllık sağkalımlar ise bu alttiplere göre sırası ile % 79, % 84, % 82, % 95, % 96 ve % 18'dir.[60] En sık görülen İDC'lerin prognozu diğer alt tiplerden daha kötüdür. İDC'lerin % 30'u başka bir alt tiple birliktedir.[61] İnvaziv lobüler karsinomlarda multifokalite, multisentrisite ve bilateral olma özelliği daha sıktır.

İnvaziv duktal ve lobüler karsinomların prognozları birbirine yakın kabul edilebilir. Tubuler, musinöz ve papiller özellikler gösterenlerin prognozları ise daha iyidir ve bunlarda aksiller lenf bezi tutulumu görülme oranı daha düşüktür.[62,63] Medüller karsinomların prognozunun invaziv duktal ve lobulere göre daha iyi olması tartışmalıdır. Tipik medüller karsinomlar için prognozun daha iyi olduğu, ama atipik olanların invaziv duktal ve lobulerle benzer seyrettiği düşünülmektedir. İnflamatuar karsinom en kötü prognoza sahip olan tiptir.

4. Tümörün Differansiyasyon Derecesi (grade)

'Grade' terimi karsinomlarda differansiyasyon derecesini ifade etmek için kullanılmaktadır. Tümör grade'i patoloji raporunun standart bir parçası olup meme kanseri açısından prognostik önem taşır. Tümör gradelemesi ile ilgili en önemli sorun kişiler arası yorum farkıdır. Bu neden ile tekrarlanabilirlilik özelliği düşük olan

prognostik faktördür. Bazı sistemler sadece nükleer yapıları değerlendirir ve nükleer grade olarak sonuç verir. Bazı sistemlerde ise nükleer yapılar tümör yapısı ile birleştirilerek histolojik grade olarak sonuç bildirilir. Nükleer grade tümörün çekirdek özelliklerini ve atipi derecesini yansıtır. Histolojik grade hücresel ve dokuyla ilişkili kriterlere dayandığı için, nükleer gradeden daha güvenilir bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir; fakat nükleer grade sitolojik örneklerde de değerlendirme şansı vardır. En sık kullanılan gradeleme sistemleri Scarff-Bloom-Richardson (SBR) sınıflaması ve Fisher'in nükleer gradeleme sistemidir; ancak çoğu zaman bunların modifiye şekilleri kullanılmaktadır.

SBR sisteminde differansiyasyon derecesi, pleomorfizm ve mitotik indeks değerlendirilmektedir. Bunlara göre derece 1 iyi differansiye, derece 2 orta derecede differansiye ve derece 3 kötü differansiye tümörü belirtmektedir.[64]

Fisher sisteminde nükleer derecelendirme, tübül veya gland formasyonu değerlendirilmektedir. Nükleer derece nükleus büyüklüğü, şekli, kapsamı, kromatin paterni ve mitoz oranı dikkate alınarak değerlendirilmektedir.[65]

Histolojik differansiyasyon derecesi değerlendirmeleri sadece invazif duktal karsinom için kullanılırken, nükleer derece tüm histolojik tipler için kullanılabilmektedir.

Tümörün indifferansiye olması, nekroz içermesi, nükleer grade'inin yüksek olması, vasküler invazyon veya inflamatuar infiltrasyonun varlığı hem lokal nüksü artırır, hem de genel sağkalımı azaltır.[66]

Tümör diferansiyasyon derecesinin prognostik önemi pek çok çalışmada vurgulanmasına karşın National Cancer Institute'un raporlarında meme kanserlerinin sadece % 25,1'inde differansiyasyon değerlendirmesi yapıldığı anlaşılmaktadır.

5. Hastaya Ait Özellikler

Tanı Yaşı

Tanı yaşının prognoza etkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmaların sonuçları genç hastalarda, bazılarında ise yaşlı hastalarda prognozun daha kötü olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlara karşın yaş ile prognoz arasında bir ilişki olmadığını gösteren çalışmalarda vardır.

Genç hastalarda klinik gidişi dikkatli değerlendiren Nixon ve ark. 35 yaşın altındaki hastalarda prognozun kötü olduğunu, gençlerde kötü prognostik faktörlerden differansiyasyon derecesi 3, geniş intraduktal komponent, LVİ, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonunun daha fazla saptandığını ve bunların oranlarının da yaş ilerledikçe azaldığını belirtmişlerdir.[67] Benzer şekilde gençlerde prognozun daha kötü olduğunu belirleyen Albain ve ark. 30-35 yaştan küçüklerde lenf nodu invazyonunun, büyük tümör boyutunun, östrojen ve progesteron reseptör negatifliğinin, S-faz fraksiyonunun, p53 anomalilerinin daha sık görüldüğünü belirtmişlerdir.[68] Her iki çalışmanın birlikte değerlendirilmesi genç yaşın, nüks ve ölüm oranları artımının ön görüşünü yapan bir faktör olduğunu belirlemektedir. Diğer yandan bu sonuçlar meme kanserlerinin gençlerde ve yaşlılarda farklı biyolojik özellikleri olabileceğini düşündürmektedir.

Etnik Özellikler

Siyah ırktan olanlarda meme kanseri prognozunun daha kötü olduğu gözlenmektedir. Birçok prognostik faktörü siyah ve beyaz kadın hastalarda değerlendiren Elledge ve ark. beyaz kadın hastalarda siyah hastalara göre yaşın daha ileri olduğunu, tümör boyutunun küçük, lenf nodu invazyonunun daha az, steroid reseptör pozitifliğinin daha fazla ve S-faz fraksiyonunun daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Bu faktörler çerçevesinde yapılan analizlerde nod negatif olma durumunda siyah-beyaz hastalar arasında sağkalım, hastalıksız sağkalım oranlarının aynı olduğu, nodül pozitif olma durumunda ise siyah kadınlarda prognozun daha kötü olduğu görülmüştür.[69]

6. Östrojen (ER) ve Progesteron (PR) Reseptörlerinin Durumu

Reseptör, bir hormona özel noktalarda bağlanarak, hormon-reseptör kompleksi oluşturan ve onun bilinen fizyolojik etkilerinden sorumlu; onları düzenleyen, intrasellüler ya da membran proteini niteliğindeki molekül ya da moleküllerdir. ER ve PR; intrasellüler proteinler olup, konsantrasyon değişimine bağlı olarak, dolaşımdan hücre içine alınan, hormon molekülüne seçici olarak bağlanır ve hormon reseptör kompleksini oluştururlar. Aktive olan hormon-reseptör kompleksi, spesifik olarak, nükleus içindeki hormon yanıt elementleri olarak isimlendirilen kısa DNA sekanslarına bağlanır ve fizyolojik hormon aktivitesini sağlayan transkripsiyonu gerçekleştirirler.[70,71]

ER ve PR hücre içinde nükleus ve sitozolde lokalize olduğu gösterilmiştir. Ultrasütrüktürel olarak ise, hormon reseptörlerinin nükleus içinde kromatin serpintileri arasında ya da nükleus membranının yakınında yer aldığı belirlenmiştir.[72]

Meme kanserlerinde, östrojen ve progesteron hormonları mutajenik ve promotor etki yapmaktadır. Östrojen hormonunun mutajenik etkisi reseptörler tarafından düzenlenmektedir. Kültür çalışmalarında da fonksiyonel östrojen reseptörü taşıyan meme kanser hücresinde mutajenik etkisi kanıtlanmıştır.[73]

ER ve PR'nin dokularda varlığını belirlemek için İHK, histokimyasal, biyokimyasal, otoradyografi gibi yöntemler bulunmaktadır. İHK ve biokimyasal yöntemlerin reseptör durumunu saptamada benzer sonuçlar verdiğini ancak İHK yöntemin seçici ve topografik üstünlüğü bulunduğu, prognoz yönünden daha yol gösterici olduğu belirtilmiştir.[74]

İHK yöntemlerde, rutin olarak anti-östradiol antikoru kullanılır. ER ve PR nükleer boyanma yapar. % 30'dan fazla boyanma sınır değer olarak kabul edilir. Bazı ekoller pozitifliği % 5, bazıları da % 10'dan fazla boyanma olarak kabul etmektedir.[74]

Başta meme ve endometrium karsinomu olmak üzere, bir grup neoplastik hastalıkta ER ve PR'nin prognostik önemi belirlenmiştir. ER ve PR pozitif tümörler hormonal sağaltıma yanıt verir ve daha iyi prognoz gösterirler.[75]

ER durumunun prognostik bir faktör olarak değerlendirileceği ilk kez 1977 yılında belirtilmiştir.[76] ER (+) hastalarda ER (-)'lere göre daha uzun bir hastalıksız sağkalım süresi olduğu gözlenmiştir. San Antonio ve NSABP verilerine göre 5 yılda hastalıksız sağkalım avantajı % 10 olarak belirlenmiştir.[77]

Primer meme kanserlerinin ortalama % 55-65'i; meme kanseri metastazlarının yaklaşık % 45-55'i ER pozitiftir.[74] Primer ve metastatik meme kanserlerinin yaklaşık % 45-60'ı PR pozitiftir.[74] ER ve PR pozitifliği postmenopozal (PM) dönemde, premenopozal (PRM) dönemden daha fazladır. Reseptör pozitif tümörler hormonal tedaviye daha iyi cevap vermekte ve daha iyi prognoz göstermektedir. Ancak uzun süreli izlemde nüks ve metastaz açısından reseptör pozitifliğinin öneminin olmadığı gösterilmiştir. Tümörde ER yanısıra PR de pozitif olması hormonal tedaviye cevabı arttırmaktadır. ER ekspresyonu ile meme karsinomunun histolojik tipi ve grade arasında anlamlı bir ilişki vardır. Grade arttıkça ekspresyon azalmaktadır.[74]

Bazı çalışmalarda ER düzeyiyle klinik gidiş arasındaki ilişki açısından farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Çok yüksek ER düzeyi saptanan hastalarda ER (-) hastalara göre daha kötü bir prognoz olduğu, orta derecede yüksek ER (+) olan hastalarda ise uzun hastalıksız sağkalım süreleri saptandığı görülmüştür. Tedavisiz bırakıldığında kötü prognoz gösteren çok yüksek ER pozitifliği olan hastaların hormonal tedaviden en yüksek oranda yararlanan hastalar olduğu belirtilmektedir.[78]

ER, evre 1 ve 2 meme kanserlerinde, sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile ilgili bulunmuş PR'nün ise sağkalım için ER'den daha belirleyici olduğu belirtilmiştir.[74] İn-situ duktal karsinomalarda da nükleer derece arttıkça ER ve PR pozitifliğinin azaldığı saptanmıştır.[79]

ER ve PR, meme kanserlerinde bağımsız prognostik faktördür.

7. Proliferasyon ölçümleri

Meme kanserinde benzer patolojik özelliklere sahip hastalarda farklı klinik davranışların anlaşılabilmesi için değişik biyolojik işaretleyicilerin prognostik önemi araştırılmıştır. Tümör profilerasyon hızı, nüks ya da metastaz riski yüksek olan ve adjuvan tedavi alması gereken (nod negatif) meme kanserli hastaların belirlenmesinde ve erken ya da ileri evre meme kanserli hastaların prognozunun tahmin edilmesinde yardımcı olabilir.

Mitotik İndeks

Mitotik indeks H&E ile boyanmış preparatlarda ışık mikroskopu ile gözlenen mitoz sayısını belirlemektedir. Proliferasyon özelliğini gösteren en basit yöntemdir. Mitotik aktivite genellikle büyük büyütme sahasında mitoz sayısı ile belirlenebilirken, mitoz sayısının tümör hücre sayısına oranlarının değerlendirilmesi de kullanılmaktadır. Böylelikle mikroskop büyük büyütme alanı farklılıkları, tümör sellülarite ve tümör büyüklüğü farklılıkları yorumlamada elimine edilebilmektedir.[80]

Tek değişkenli analizlerde mitotik indeksin klinik gidiş ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Mitotik indeks bazı çalışmalarda çok değişkenli analiz kapsamında değerlendirilmiş ve nüks-ölüm açısından göreceli risk bildirilmiştir.[81] Clayton 10 büyük büyütme alanında 4-5'den daha fazla mitoz saptandığında mortalite riskinin 2,8 kat arttığını göstermiştir. Mitotik indeks diğer histopatolojik özelliklerle birlikte

değerlendirildiğinde daha güçlü bir prognostik faktör olabilmektedir.[82] Örneğin, Nottingham Prognostik İndeksi, Mİ ile tümör boyutu ve lenf nodu durumunu birleştirmektedir ve bu birleşimin prognostik faktör olarak gücünün tek başına herhangi bir öğesinden fazla olduğu gösterilmiştir.[83]

Timidin İşaretleme İndeksi (TLI)

TLI, taze ve canlı tümör dokusunun "tritiated timidin" ile enkübasyonu sonunda sentez fazındaki hücrelerde DNA'ya enkorpore olan timidin miktarının otoradyografi ile ölçümü esasına dayanır. Zaman ve özel eğitilmiş eleman gerektiren güç bir yöntemdir. Tanı sırasında hastalığın yaygınlığı, aksiller tutulum ve tümör büyüklüğünden bağımsız, ancak steroid reseptör düzeyleri ile ters orantılıdır.

Meyer ve ark.[84] 278 primer meme kanserli hastanın yaşam süresi ile TLI arasında önemli bir korelasyon olduğunu ortaya koymuşlardır. Tümör evresi, aksiler lenf nod durumu, ER içeriği veya menopoz durumundan bağımsız olarak relaps ihtimali TLI ile önemli bir şekilde ilişkilidir. Sonuç olarak TLI yüksek hastalarda relaps yüksek iken, TLI düşük olan hastalarda relaps düşük ve yaşam süresi uzundur.

3. ve 4. dekatlarda TLI'nin yüksek olup daha ileri yaşlarda bu oranın düştüğü, özellikle medüller, atipik medüller ve metaplastik tiplerde TLI değerinin artış gösterdiği ortaya konulmuştur.[85]

Yapılan çalışmalarda erken relaps riski pozitif hormon reseptörlü ve yüksek TLI'li hastalarda yüksek, negatif hormon reseptörlü ve düşük TLI'li hastalarda düşük bulunmuştur.[84]

Metastatik durumlarda düşük TLI sahip tümörler, yüksek proliferatif aktiviteli tümörlere nazaran kemoterapiye daha iyi cevap verirler. Dahası kemoterapiye cevap veren yüksek TLI'li hastaların düşük TLI'li hastalara oranla ilerleme hızı daha yüksektir.

TLI, adjuvan ya da neoadjuvan tedavi planı için karar vermede kesin belirleyici bir faktör olduğu gözlemlenmemiştir.

S-Faz Fraksiyonu

DNA akım sitometrisi taze dokuda, frozen materyalinde, biopsi materyalinde, ince iğne aspirasyon materyalinde veya parafin dokuda uygulanabilir. Bu teknikle ploidi ve

hücre siklusu komponentleri hesaplanabilen bir DNA histogramı oluşturulur. Hücre siklusu kompartmanları üç bölümde incelenir. G_0-G_1 fazında normal, bölünmeyen (G_0) ve sessiz (G_1) hücreler bulunur; S-faz fraksiyonunda sentez yapan veya replikasyon fazında hücreler, G_2-M fazında ise sentez sonu fazda veya bölünmekte olan (M) hücreler vardır.

Yüksek S-fazı fraksiyonu ile diğer kötü prognostik faktörler arasında güçlü bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu konuda yayınlanmış 43 çalışmanın gözden geçirildiği bir konsensus toplantısının sonucunda, yöntem standardizasyon eksiklikleri ve suboptimal ölçümlere rağmen, hem lenf nodu (-), hem de lenf nodu (+) hastalarda yüksek S-faz fraksiyonu ile artmış nüks riski ve mortalite arasında güçlü bir ilişki olduğu bildirilmiştir.[86]

Yüksek S-faz fraksiyonlu tümörlerde neoadjuvan tedavinin daha etkin olduğunu belirleyen çalışmalar yanında adjuvan tedaviden alınan sonuçlarla S-faz fraksiyonunun ilişkisinin olmadığını bildiren çalışmalarda vardır.

Clark ve ark. 395 aksillası negatif meme kanseri olgusunda hem ploidi hem de S-faz fraksiyonlarını incelemişlerdir.[87] Bu çalışmada olguların % 68'inde anöploidi saptanmıştır. Beş yıllık takipte nüks olasılığı diploid grupta % 12, anöploid grupta ise % 26 olarak belirlenmiştir. Nüks olasılığı S-faz fraksiyonu düşük olan diploid tümörlerde % 10 iken S-faz fraksiyonu yüksek olan diploid tümörlerde % 29'dur (p=0,007). Sağkalım süreleri ile ilgili olarak da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada anöploid tümörlerde S-faz fraksiyonunun hesaplanması ile ilgili modeller geliştikçe anöploid tümörlerde de düşük ve yüksek S-faz fraksiyonlarına göre nüks ve sağkalım olasılıklarının farklılık göstermesi beklenmektedir.[88]

Ki67

Ki67 sadece prolifere olan hücrelerde (geç G_1, S, M, G_2) bulunan bir nükleer antijene karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikordur. Taze ve donmuş meme dokusunda çalışılabilinir. Ki67 ile boyanma tümör büyüklüğü, histolojik grade, vasküler invazyon ve aksiller nod tutulumu ile doğrudan, steroid reseptör durumu ile ters ilişkilidir.[89]

Tek değişkenli analizlerde yüksek Ki67 boyanması saptanan tümörlerde nüks riskinde artış gösterilmiştir.[90] Ancak prognozu belirlemede etkinliğinin iyi

değerlendirilmesi için daha çok sayıda hasta ile çok değişkenli analizlerin yapıldığı çalışmalara gereksinim vardır.

Prolifere Olan Hücre Nükleer Antijeni (PCNA)

PCNA, prolifere hücrelerde hücre siklusu boyunca bulunan bir DNA polimerazla ilişkili bir nükleer proteindir. Diğer prognostik faktörlerle zayıf bir ilişkisi vardır. Özellikle nod negatif hastalarda klinik gidiş ile belirleyiciliği zayıftır.[91]

8. DNA Ploidi İndeksi

DNA ploidinin prognostik gücü DNA ploidi ile yüksek proliferasyon oranlarının birlikteliği ilkesinden geniş oranda köken almaktadır.

Çoğu meme kanserinde DNA değerlerinin bimodal dağılımı gösterilmiştir. Diploid tümörler, anaploid DNA dağılımına sahip tümörlerden daha iyi prognoza sahiptir. Diploid tümörlerde ER, sıklıkla (+) iken, anaploid tümörlerde negatiftir. Düşük grade'li tümörler diploid, yüksek grade'li tümörler ise anaploiddirler. Yaşlı hastaların hiperdiploid tümörlere sahip olma ihtimali yüksektir. Anaploid tümörlü PRM hastalarda sıklıkla aksiller nod metastazı bulunur. Hastalıksız yaşam süresi diploid tümörlerde daha yüksek anaploidlerde daha düşüktür. Anaploid tümörlerde S-faz fraksiyonu daha yüksektir.[92] Evre I-II anaploid tümörler, diploidlerden iki kat daha fazla rekürrens riski taşırlar.[93]

Keyhani-Rofegha ve ark.[94] 165 nod negatif adenokarsinoma serilerinde beş ve 10 yıllık sağkalım, diploid tümörlerde % 87,8 ve % 73,4 iken, anaploidlerde % 84,1 ve % 75,5 bulunmuştur. Fallenius ve ark.[95] yaptığı çalışmalarda da nod negatif vakalarda hastalıksız sağkalım anaploidlerde % 60 iken, diploid DNA indeksine sahip olanlarda % 90 bulunmuştur.

9. Büyüme Faktörü Reseptörü veya Büyüme Regülatörleri

Memenin epitelyal hücreleri çeşitli hormon ve büyüme faktörleri tarafından etkilenmektedir. Bunların içinde en çok çalışılmış olanlar tirozin kinaz büyüme faktörü reseptörleridir; tirozin kinaz reseptörleri hücre dışı ligand-bağlayıcı yapıları ve hücre içi kinaz yapılarına göre alt gruplara ayrılırlar. Tip 1 büyüme faktörü reseptörleri, memede bulunan ve meme kanseri gelişiminde rol oynayan bazı polipeptidleri içeren epidermal

büyüme faktörü reseptör (EGFR) ailesini içine alır. Bu ailenin üyeleri EGFR (c-erbB-1), Her2/*neu (*c-erbB2), HER-3 (c-erbB-3), HER-4 (c-erbB-4)'tür. HER-3 ve HER-4 yeni keşfedilmiş olup prognostik değeri henüz belirlenmemiştir. Prognostik değeri en fazla incelenmiş büyüme reseptörü HER-2/*neu*'dur.

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR, c-erbB-1)

EGFR 7q21 geni tarafından klonlanan 170-kd'luk bir transmembran glikoproteinidir. Meme miyoepitel hücrelerinde normalde düşük düzeylerde bulunur. Meme kanserlerinin % 35-60'ında EGFR aşırı ekspresyonu vardır. EGFR ile steroid reseptör durumları arasında negatif bir ilişki vardır. ER (-) ve PR (-) tümörlerde EGFR (+)'liği iki kat fazladır. EGFR ile tümör derecesi ve proliferasyon göstergeleri arasında direkt bir ilişki olduğu belirtilmektedir. Diğer yandan yaş, menopoz durumu, histolojik tip, tümör büyüklüğü, aksiller nodül durumuyla da ilişkili olduğunu belirtenlerde vardır.[96]

EGFR ile klinik gidiş arasındaki ilişki konusu tartışmalıdır. Çalışmaların çoğunda tek değişkenli analizlerle EGFR ile hastalıksız sağkalım arasında ilişki bulunmuştur. Bazı çalışmalarda bu ilişkinin lenf nodu durumundan bağımsız olarak geçerli olduğu belirtilmektedir.[97]

EGFR muhtemelen önemli bir prognostik faktördür. Ancak ölçüm yöntemlerinde standardizasyon eksikliği, az sayıda hasta ile kısa süreli takiplerin değerlendirilmesi ve çok değişkenli analizlerin yapılmamış olması EGFR'nin etkinliğinin kesin olarak belirlenmemesine neden olmaktadır.

EGFR'nin hormona yanıt ya da direnç açısından prediktif değeri daha iyi anlaşılmıştır. Birçok çalışmada EGFR salgılayan tümörlerin endokrin tedaviye dirençli olduğu gösterilmiştir. Tersine EGFR (-) ve özellikle aynı zamanda ER (+) tümörlerde hormonal tedaviye yanıt yüksek olmaktadır.[98]

10. Onkogenler

Tümör Protein53 (p53)

17p13 kromozomunda yerleşen p53 tümör supressör geni 53 kd'luk bir fosfoproteini kodlamaktadır. Hücre siklusunda özellikle DNA hasarında hücrenin G1 fazından S fazına geçişin denetlenmesinde görevi vardır. p53 geninde mutasyon

gelişmesi bu fonksiyonun durmasına yol açar.[99,100] Bu gende değişiklik meme kanseri dahil pek çok malign hastalıkta sıklıkla saptanabilmektedir. Mutasyonlar sonucu saptanan protein İHK yöntemlerle saptanabilmektedir.[101]

P53 aşırı ekspresyonu aksiller nodül durumundan, menopozal durumdan bağımsız, tümör çapı ile zayıf olarak ve DNA ploidi, yüksek histolojik grade, yüksek proliferasyon indeksi, ER ve PR yokluğu ve nükleer derece ile yakından ilişkilidir. Meme kanserlerinin % 20-30'unda p53 inaktivasyonu gözlenmiştir.[102-104]

c-erbB2 (Her-2/neu)

c-erbB2 insan meme kanserlerinde sık amplifiye edilen bir gendir. c-erbB2 onkogeni normal hücrelerde tek kopya halinde olup 17q21 kromozomunda lokalizedir. EGF ailesinden p185 isimli bir glikoproteini kodlamaktadır. P185'in intrasellüler komponenti tirozin kinaz aktivitesi göstermektedir. Ekstrasellüler komponenti ise yapı olarak büyüme faktörü reseptörlerine benzemektedir.[105] c-erbB2 aşırı ekspresyonu İDC'li hastalarda % 25 - 45 olarak izlenmektedir.[106] c-erbB2 geninin meme kanserindeki rolü, EGF'nin meme epiteli gelişiminde önemli rol oynaması, c-erbB2 proteinine (p185) karşı geliştirilen antikorların sıçan tümörlerinde malign hücre fenotipini normale dönüştürmesi, c-erbB2 geninin embriyonik gelişme boyunca değişik roller üstlenmesi ve başta meme kanseri olmak üzere bir çok değişik tümör tipinde (over, mide, böbrek, kolon v.b) c-erbB2 geninde amplifikasyon gösterilmesi nedeniyle yoğun olarak araştırılmıştır.[107-110]

c-erbB2 değişikliklerini gösterebilmek için moleküler ve immünhistokimyasal yöntemler kullanılmaktadır ancak bu metodlar tam olarak standardize edilememiş ve hangilerinin daha üstün olduğu konusunda henüz tam olarak fikir birliğine varılamamıştır. FISH (fluresence in situ hybridization), prob (ticari olarak üretilmiş ve baz dizisi bilinen florokrom işaretli DNA parçaları) ile hastaya ait DNA'nın kendi ortamında, kromozom yapısı bozulmadan hibridizasyonu temeline dayanan moleküler sitogenetik bir yöntemdir. İHK yöntemde; İHK olarak parafin bloklardan hazırlanan preparatlar, c-erbB2 spesifik antikor ile muamele edildikten sonra özel kitler kullanılarak tayin edilmektedir. Bu sistem ile c-erbB2 ekspresyonu 0'dan 3'e kadar (0=ekspresyon yok, 1=az ekspresyon, 2=orta ekspresyon, 3=yüksek ekspresyon) belirlenmektedir. FISH tekniği İHK tekniğine nazaran daha kantitatif sonuçlar

sağlamakta, laboratuvarlar arası farklılığı ve subjektifliği ortadan kaldırmakta, ancak oldukça pahalı ve her laboratuvarda yapılamamaktadır. İHK ve FISH yöntemleri % 80 aynı sonuçları vermektedir.[111,112]

c-erbB2 pozitifliği, yüksek histolojik grade, ER ve PR negatif, lenf nodu pozitif ve yüksek proliferasyon oranı gösteren meme kanserlerinde karşımıza çıkmaktadır.[113,114] Brotheric ve ark. 1995 yılında yaptıkları flowsitometrik çalışmada 110 hasta değerlendirilmiş ve c-erbB2 lenf nodu tutulumu arasında ilişki tespit edilememiştir.[115] Benzer şekilde 10-113 aylık izlem süreli hastaları kapsayan 4 ayrı çalışmada % 10-30 arasında değişen oranlarda c-erbB-2 amplifikasyonu bildirilirken, amplifikasyon ile lenf nodu tutulumu arasında bağlantı gösterilememiştir.[116] 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.[117] Tandon ve ark. çalışmasında 728 meme kanseri olgusunda Western blot analizi ile Her-2/neu onkogen proteini incelenmiş ve prognoz ile ilişkisi değerlendirilmiştir.[118] Aksiller lenf bezi tutulumu olmayan 378 olguda bu onkogen proteininin prognostik önemi gösterilememiştir. Aksilla pozitif olgularda ise Her-2/neu proteini yüksek olan hastalarda hastalıksız yaşam ($p<0,0014$) ve sağkalım sürelerinin ($p<0,0001$) protein düzeyi düşük olan olgulara göre daha kısa olduğu saptanmıştır. Tsuda ve ark. histolojik grade ile c-erbB2 gen amplifikasyonunun korelasyonunu incelemişler ve c-erbB2 onkogeninin öneminin histolojik grade'e göre daha az olduğunu ama her ikisinin de tümörün agresif davranışı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.[119] Slamon ve ark.[120] nod (-) hastalarda çok değişkenli analizde Her-2/neu *(*+)'liği ile nüks ($p=0,001$) ve kötü sağkalım ($p=0,02$) arasında anlamlı bağımsız bir ilişki olduğunu göstermişlerdir.

c-erbB2 geninin amplifikasyonuna sahip hastalarda ve metastazı bulunan meme kanserli hastalarda kullanılan ve de ilk oluşturulan biyolojik düzenleyici Trastuzumab (Herceptin)'dir. Bu ilaç c-erbB2 proteinine yüksek bağlanma kapasitesine sahip, insana göre geliştirilmiş rekombinant monoklonal antikordur ve c-erbB2'yi aşırı üreten meme kanser hücrelerinin büyümesini baskılar.[121] Son çalışmalar Her-2/neu ekspresyonunun çeşitli terapötik ajanlara direnç ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bir çalışmada tedavi almayan nod (+) hastalarda klinik seyir ile ilişkisi yokken, adjuvan kemoterapi veya

hormonal tedavi yapılan hastalarda Her-2/neu'nun hastalıksız ve genel sağkalım açısından güçlü prediktif değer taşıdığı gösterilmiştir.[122]

Sonuç olarak; c-erb B2'nin prognostik (tedaviden bağımsız) ve prediktif (tedaviye bağımlı) sonuçlarının önemini ortaya koyabilmek için daha fazla çalışmaya gerek vardır.

Non-metastatic Gen (nm23)

nm23 geni değişik metastatik yeteneği olan melanom hücrelerinin taranması ile bulunmuştur. Tümör metastazları için bir supressor gen olarak etkili olduğu belirtilmektedir. Bu genin ürünü olarak nükleozid difosfat kinaz (NDP) A belirlenmiştir. Özellikle lenf nodu durumu, tümör differansiyasyon derecesi olmak üzere diğer prognostik faktörlerle ilişkisi gösterilememiştir.[123] Çeşitli küçük hasta gruplarıyla yapılan çalışmalarda primer meme kanserinde nm23 mRNA ekspresyonu ile hastalıksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki olduğu kaydedilmiştir.[124] Diğer yandan NDP kinaz aktivitesiyle klinik gidiş arasında anlamlı bir ilişki bulmayan çalışmalarda vardır.

11. Diğer çeşitli faktörler

Katepsin-D

Hormona bağımlı meme kanseri hücre kültürlerinden elde edilen bir glikoprotein olup ilk kez 1979'da tanımlanmıştır. İnsulin II reseptörü yoluyla büyüme faktörü gibi davranan, aynı zamanda lizozomal asidik bir proteaz olan bu enzimin bazal membran, ekstraselüler matriks ve bağ dokusunu parçalayarak kanser hücrelerinin göç ve invazyonunu kolaylaştırdığı ileri sürülmektedir. Ayrıca mitojenik aktivitesinin olduğu da gösterilmiştir. Bu özelliği nedeniyle metastaz ve invazyon açısından önemli potansiyel bir prognostik faktör olarak düşünülmüştür.[125,126]

Memenin malign ve benign duktal proliferatif hastalıklarında katepsin D düzeyi yükselir. Farklı otoantikor kullanılarak yapılan yöntemlerle yapılan çalışmalarda prognostik bir faktör olarak katepsin-D'nin klinik gidişle ilişkisi anlamlı bulunmamıştır. Ancak erken çalışmalar[127] artmış seviyelerin kötü prognozla bağlantılı olduğunu öngörmekte ise de İHK yöntemlerle yapılan değerlendirmelerde de klinik gidişle ilişkisi anlamlı bulunmamıştır.[128]

San Antonio'da sunulan bir çalışmada, 397 meme kanseri olgusunda tümör dokusunda katepsin D seviyeleri ölçülerek prognostik önemi incelenmiştir.[129] Bu araştırmada, aksilla negatif 199 olguda yüksek katepsin D düzeylerinin hem hastalıksız yaşam (p=0,018) hem de sağkalım sürelerini (p=0,009) olumsuz yönde etkilediği saptanmıştır. Katepsin D düzeyi yüksek olan olgularda düşük olan olgulara göre, relatif nüks riski 2,6, relatif ölüm riski ise 3,9 bulunmuştur. Yüksek katepsin D düzeylerinin bu olumsuz etkisi aksilla pozitif olgularda gösterilememiştir.

Isı Şok Proteinleri (hsp)

hsp, ısı, ağır metaller, oksidanlar gibi çevresel ve viral, mikrobik enfeksiyonlar, inflamasyon, iskemi ve antineoplastik ajanlar gibi uyaranlara yanıt olarak oluşur. Çeşitli tiplerin ekpresyonları normal hücre siklusu sırasında hormonlar tarafından düzenlenir. Isı şok proteinleri hsp27, hsp60, hsp70, hsp90, hsp100 gibi farklı molekül ağırlıkları ile tanımlanır.

İlk çalışmalarda hsp27, hsp70 ve hsp90'ın nükse kadar geçen zaman bakımından prognostik bir faktör olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir.[130] Daha sonraki çalışmalarda hsp27 ve hsp90 için bu sonuçlar doğrulanmamış ancak hsp70'in hastalık nüksü açısından prognostik önemi olduğu belirtilmiştir.[131]

Thor ve arkadaşlarının çalışmalarında hsp27 aşırı ekspresyonu ile ER, lenf nodu durumu, tümör büyüklüğü, lenfatlik ve vasküler invazyon arasında sıkı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Tek değişkenli analizlerden farklı olarak çok değişkenli analizlerde prognostik önemi saptanmamıştır.[132]

hsp27'nin özellikle doksorubisin gibi sitotoksik ajanlara karşı hücresel dirençte rol oynadığı belirtilmiştir. hsp güçlü prognostik faktör olmaktan çok, tedaviye yanıtı değerlendirebilen prediktif faktörlerden olabilir.[133]

pS2

pS2 geni ilk kez insan meme kanseri hücre serilerinde östrojen uyarımından sonra saptanmıştır. İşlevi bilinmeyen küçük bir proteindir. Gen 21q kromozomunda klonlanmıştır. pS2 ekpresyonunun ER'nin fonksiyonel durumunu yansıttığı, meme kanserinde prognostik ve prediktif anlamı olabileceği belirtilmektedir.[134] Birçok

çalışmada pS2 konsantrasyonu ile ER ve PR durumu arasında kuvvetli bir ilişki saptanmıştır. Ancak nodül durumu ve tümör büyüklüğü ile ilişkisi bulunamamıştır.[135]

Foekens ve ark. yaptığı ilk çalışma sonuçlarına göre, yüksek düzeyde pS2 ekspresyonu yapan tümörlü hastalarda sağkalım ve hastalıksız sağkalım süreleri daha uzun olmaktadır.[136] Ancak bazı araştırıcılar da özellikle hormon tedavisi alan hastalarda pS2 pozitifliği durumunda sağkalım süresinin arttığını, hastalıksız sağkalım süresinin etkilenmediğini belirtmişlerdir. pS2 ekspresyonunun meme kanseri doğal gelişimiyle ilgili olmadığı ancak nüks ve metastazların agressiviteleri ile ilgili olabileceği belirtilmektedir.[137] pS2 ER ve PR ile birlikte değerlendirildiğinde, primer ve ilerlemiş meme kanserinde hormonal tedavi yanıtı açısından prediktif değer taşıyabilecek bir faktör olabilir.

Laminin Reseptörleri

Laminin reseptörü invazyonda ve kanser hücrelerinin bazal membranı penetre etmelerinde etkin olan 67 kd'luk bir hücre yüzey antijenidir. Laminin reseptörleri ekspresyonunun lenf nodu durumu ve genç yaşla ilişkili, tümör çapı ile zayıf ilişkili olduğu belirtilmektedir.[138] Steroid reseptörleri durumu ve proliferasyon hızı laminin reseptörler ile ilişkili bulunmamıştır. Fakat invitro çalışmalar laminin reseptör ekspresyonunun östrojen ve progestinle etkilenebileceğini göstermiştir.[139]

Laminin reseptör ekspresyonu saptanan hastalarda nüks riskinin % 40 azaldığını bildiren çalışmalar yanında laminin reseptörlerinin sağkalım ve hastalıksız sağkalımla ilişkili olmadığı sonucuna ulaşanlar da vardır.[140] Tersine çok yüksek değerlerin hastalığın kısa sürede lokal-bölgesel yaygınlaşmasıyla ilişkili olduğu da belirtilmektedir. Martignone ve ark. adjuvan tedavi almamış 1160 nod negatif hastanın tümör örneklerinde laminin reseptör ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmada zayıf olmakla birlikte anlamlı bir biçimde nüks ve ölüm oranlarının arttığını bildirmişlerdir.[141]

Anjiogenezis

Deneysel çalışmalar tümör gelişiminin anjiogenezise bağlı olduğunu göstermiştir. Tümör birkaç mm'lik çapa ulaştığında, daha fazla gelişmesi için neovaskülarizasyon gerekmektedir. Araştırmalar tümör içinde mikro damar sayımının uzak metastazlar için anlamlı bilgi vereceğini ileri sürmüştür.[142] Tümöre bağlı neovaskülarizasyon, faktör

VIII ilişkili antijene karşı monoklonal antikor ve adezyon molekülü CD31'i tanıtan monoklonal antikorla boyanmayla saptanabilmektedir.[143]

Tümör içinde 200x büyütme alanında damar sayısıyla uzak metastaz gelişmesi arasında ilişki saptanmıştır. Mikro damar sayısının, lenf nodu durumu, tümör büyüklüğü, ER durumu, S-faz fraksiyonu, c-erB-2 ekspresyonu, Ki67, EGFR ekspresyonu, katepsin D'den bağımsız olarak prognoz tayininde etkin bir faktör olduğu belirtilmektedir. Nodül negatif hastalarda yapılan çalışmalarda mikro damar sayısı hastalıksız sağkalım açısından en güçlü prognostik faktör olarak tanımlanmıştır. Anjiogenezisle ilgili çalışma sonuçları etkin bir prognostik faktör olarak değerlendirilmesi bakımından etkileyicidir. Ancak klinik sonuçları için çok sayıda hasta ile uzun takip sonuçları değerlendirmek gereklidir.[144]

Diğer yandan anjiogenezisle ilgili tedavi yaklaşımları içinde çalışmalar yapılmaktadır. Son yıllarda çeşitli anjiogenetik ajanlar geliştirilmiştir. Bunlar arasında polisulfat glukozaminler, vaskülarizasyonu kontrol eden enzimler, steroid ve ilişkili maddeler, antibiyotikler ve sentetik antibiyotik deriveleri, özel immunoterapatikler vardır. Bunlar tek ajan ya da kombine ajanların kullanıldığı klinik araştırmalarda, özellikle adjuvan tedavide etkileri açısından değerlendirilmektedir.[144]

Plazminojen Aktivatörleri ve İnhibitörleri

Meme kanserlerinde ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA) yoluyla plazminojen aktivasyonu ve bunun tümör hücre invazyonu ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

uPA plazminojenin aktif enzim olan plazmine dönüşümünü sağlayan serin proteazdır. Plazmin tipIV kollajenazı uyararak bazal membran proteinleri ve kollajenin yıkılmasını sağlar.

uPA hücre yüzeyinde reseptörüne bağlanır. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) ve PAI-2 adı verilen iki doğal inhibitör tarafından kontrol edilir. Birçok deneysel çalışmada uAP aktivitesinin inhibisyonunun invazyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. PAI-1 reseptöre bağlı uPA'yı da inhibe etmektedir.

uPA ve PAI-1 meme kanserinde potansiyel bir prognostik faktör olarak değerlendirilmemiştir. Yöntem ve değerlendirmede kullanılan çeşitli yaklaşımlar standart sonuçlara ulaşılmasını engellemektedir.

uPA ile sağkalım, hastalıksız sağkalım açısından anlamlı bir ilişki olduğu tek değişkenli analizlerde gösterilmiştir.[145] Çok değişkenli analizlerin yapıldığı bazı çalışmalarda sağkalım ve hastalıksız sağkalımla uPA arasında güçlü, PAI-1 arasında ise zayıf anlamlılık bildirilmiştir.[146]

700 meme kanserli hastada uPA ve PAI-1 ölçümleri yapan Foekens ve ark. hastaların % 32'sinde uPA'yı ve % 44'ünde PAI-1'i pozitif bulmuşlardır. Nodül negatif ve pozitif hastalarında 48 ay süreyle izleme sonuçlarına göre iki faktöründe sağkalım ve hastalıksız sağkalım açısından prognostik önemi olduğunu gözlemlemişlerdir.[147,148]

Başka bir çalışmada uPA, PAI-1 ve PAI-2'nin nod pozitif hastalarda prognostik önemi yokken nod negatif hastalarda hastalıksız sağkalım açısından prognostik değer taşıdıkları gösterilmiştir. Yüksek PAI-1 kötü klinik gidişle ilgili iken, yüksek PAI-2 uzun sağkalımla ilişkili bulunmuştur.[149]

Lenfovasküler ve Perinöral İnvazyon

Primer meme tümörünün etrafındaki lenfatiklerin, kan damarlarının ve perinöral dokunun invazyonun prognostik önemi konusunda da çalışmalar mevcuttur. Meme tümörlerinin üçte birinde lenfatik invazyon mevcuttur. Lenfatik invazyon kötü bir prognostik faktördür. Birçok çalışmada lenfatik invazyon lenf nodu pozitifliğini arttırıcı bir risk faktörü olarak bildirilmiştir.[150] Dört veya daha fazla lenf nodu pozitif olan olgularda lenfatik invazyon oranı artmaktadır. Fisher ve ark.[151] çalışmalarında lenfatik invazyon ve yüksek histolojik gradlı tümörleri olan olgularda lokal nüksün daha fazla olduğu ve sağkalımlarının daha kötü olduğu göstermişlerdir.

2.3. Preferantially Expressed Antigen Of Melanoma (PRAME)

Genel olarak tümör antijenleri, ekspresyon paternleri ve altta yatan gen mutasyon varlığı baz alınarak değişik gruplar altında incelenebilir. Mutasyonlar, translokasyonlar ve diğer genetik olaylara bağlı malign hücrelerin spesifik ürünleri olabilirler. (örn; lösemideki füzyon proteini BCR/ABL) İkinci olarak, tümör hücreleri normal hücresel bileşenlerinden daha yüksek düzeyde proto-onkogenlerin agresif tiplerini eksprese edebilirler (örn; meme kanserlerinde HER-2/neu amplifikasyonu). Üçüncü olarak, tümör antijenleri içinde testis ve fetal dokular hariç normal dokularda eksprese edilmeyen genlerin tümör hücrelerine sınırlı olduğu görülmektedir. Bunlar kanser testis

antijen ailesidir. MAGE, GAGE/PAGE, BAGE, LAGE/NYESO-1, PRAME kanser testis antijen ailesinin üyeleridir.

PRAME'i kodlayan gen Ikeda ve ark. tarafından rekürrent melanomalı hastada immun sürveyans çalışması esnasında bulunmuştur.[5] PRAME'i kodlayan gen 22.kromozomda (22q11.22) yer alır. 509 aminoasitlik bir proteini kodlar. Fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir.[5] Bu hastada PRAME'in, otolog lenfositler tarafından sitotoksik T-hücre aracılı immun cevabı uyardığı ve tümör immunoterapisi için umut verici olduğu görülmüştür. PRAME ekspresyon prevelansı melanomlarda çok yüksek olup, primer lezyonlarda % 88, melanom metastazlarında % 95 eksprese olmaktadır.[5] Melanomaların farklı evrelerindeki, farklı PRAME ekspresyonu göstermiştir ki, PRAME primer melanomalarda eksprese olmakta ancak normal deri dokusu ve benign melanositik lezyonlarda (nevus veya mole) eksprese olmamaktadır. Bu da PRAME ekspresyonunun melanositik transformasyon esnasında oluştuğunu düşündürmektedir.[152] RT-PCR ile PRAME ekspresyonuna bakıldığında, melanomda (% 97), nöroblastomda (% 93), sarkomlarda (% 80), skuamöz hücreli ve küçük hücreli akciğer kanserinde (% 70), Wilm's tümörü[6] ve bir çok akut lösemide (AML M3 % 75, ALL % 64, KML BC % 50, AML M2 % 45), saptanmıştır. Paydaş ve ark. RT-PCR ile PRAME ekspresyonunu AML'de %30, ALL'de %17, KML'de %34, KLL'de % 33 tespit etmiştir.[167,182] Renal hücreli karsinomda (% 40),[7] baş ve boyun kanserlerinde (% 29), adrenal, over, endometrial dokularda orta dereceli ve birçok normal dokuda düşük dereceli PRAME ekspresyonu belirlenmiştir.[5,6,153,154]

PRAME'in fonksiyonu net olarak tanımlanmasa da; retinoik asit tarafından uyarılan diffferansiyasyon, büyüme arresti ve apoptozisi inhibe ettiği ve retinoik asid reseptör sinyalinin dominant baskılayıcısı olduğu saptanmıştır.[155,156] Geçici aşırı ekspresyonunun hücre kültür serilerinde ve yüksek derecede PRAME ekprese eden iyi prognoza sahip lösemilerde kaspaz bağımsız hücre ölümünü tetiklediği gösterilmiştir.[157] Diğer bir çalışmada, aşırı PRAME eksprese eden lösemik hücrelerin apoptozis ilişkili proteinler için kodlanan genlerin ekpresyonunu azaltarak, lösemik hücrelerin yaşamasına ve çoklu ilaç rezistansı (MDR= multi drug rezistans) oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir.[158]

PRAME'in malign hastalıklardaki prognostik önemi tam olarak belirlenememiştir. PRAME ekspresyonunun çocukluk çağı akut lösemileri ve AML'de iyi prognostik

faktör olduğu bulunmuştur.[9,159,160] Lösemiler içinde en yüksek PRAME ekspresyonu akut lösemilerde saptanmıştır: AML'de % 30-62, ALL'de % 15-65.[161-165] Lenfoma ve kronik lösemilerle ilgili çalışmalar az vaka içermektedir ve PRAME ekspresyonu oldukça değişkendir. KLL'de PRAME ekspresyonu % 0-28 arasında bulunmuştur.[9,158-161, 165-167] Arons ve ark. PRAME'i KLL ve Saçlı hücreli lösemide (HCL) çalışmıştır. Konvansiyonel PCR ile 37 HCL'li hastanın % 8'i ve 22 KLL'li hastanın % 27'sinde PRAME pozitifken, gerçek zamanlı kantitatif PCR (TaqMan) ile neredeyse tüm hastalar ve normal dokularda PRAME ekspresyonu saptanmıştır. HCL ve KLL'nin aşırı PRAME ekspresyonunda farklılık gösterdiği ve normal bazal PRAME ekspresyonunun minimal rezidüel KLL ya da HCL'li hastaları takipte kullanılmasının uygun olmayacağı sonucuna varılmıştır.[168] Lösemilerdeki değişken aşırı PRAME ekspresyonunun sebebi açık değildir. Ancak bu PRAME'in promotor bölgesindeki DNA metilasyon paternine bağlı olabilir.[169] Diğer önemli bir sebep de PRAME ekspresyonunu saptamada ya da seviyesini ölçmede kullanılan metodların bu çeşitliliği yaratmasıdır. Bu amaçla semikantitatif ve kantitatif metodlar kullanılmıştır. Normal periferik kan ve kemik iliği örneklerinde RT-PCR kullanılarak PRAME ekspresyonu saptanmış olsa da, bu bir problem teşkil etmemektedir. Çünkü normal dokularla kıyaslandığında tümör hücrelerinden 3 logaritma daha düşük bir ekpresyon vardır.[168-170] RT-PCR ile kantitatif PRAME ölçümünün lösemilerde minimal rezidüel hastalık takibinde uygun olduğu bulunmuştur.[163,171] Qin ve ark. 204 yeni tanı almış AML hastasının kemik iliği örneklerinde RT-PCR ile WT_1 ve PRAME transkript düzeyine bakmışlar ve 21 hastayı ortalama 11 ay takip etmişlerdir. Kontrol grubu olarak kullandıkları 22 normal kemik iliği örneğinde düşük seviyede WT_1 ve PRAME ekspresyonunu göstermişlerdir. Bütün hastalarda WT_1 % 79,2 ve PRAME % 55,4 bulunmuştur. WT_1 ve PRAME'in takip esnasında dinamik seyrinin, normal seviyenin üstüne çıkmasının veya zamanla yükselmesinin klinik relapsı düşündüreceği saptanmıştır. Bu yüzden, WT_1 ve PRAME'in aynı anda belirlenmesi AML hastalarında minimal rezidüel hastalığı gösteren hassas bir moleküler belirteç özelliği sağlayabilir.[172] Kantitatif flow-sitometrik analiz, kronik lenfoproliferatif hastalıklı kişilerin periferik kanındaki lösemik hücrelerdeki PRAME ekspresyonunu saptamada kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak 30 sağlıklı gönüllünün periferal kanı kullanılmıştır. Kronik lenfoproliferatif hastalığı

olanlarda % 90 PRAME (+) lenfosit saptanırken, normal örneklerin hiçbirinde % 20'den fazla PRAME (+) lenfosit saptanmamıştır.[9]

Oberthuer ve ark. nöroblastomada PRAME çalışmışlardır. RT-PCR ile primer nöroblastomaların % 93'ünde ve ileri evre nöroblastomaların % 100'ünde PRAME ekspresyonu saptamışlardır. PRAME ekspresyonunun nöroblastomada kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır.[173]

Renal hücreli karsinomlarda (RCC) % 40 PRAME ekspresyonu saptanmıştır. Neumann ve ark. RCC'lerde T-hücre aracılı immünoterapatik tedaviyi geliştirmek için, tümör ilişkili antijenler olan RAGE-1, tirozinaz, MAGE-1, MAGE-2, NY-ESO-1, Melan-A/MART-1, glikoprotein (gp) 75, gp100, Beta-katenin, PRAME ve MUM-1'in mRNA ekspresyonunu araştırmışlardır. Çalışmayı 14 RCC hücre dizininde, 37 primer RCC doku spesmeninde, 2 RCC metastazında ve 33 normal renal epitel doku spesmeninde yapmışlardır. RCC hücre dizinlerinde yüksek düzeyde PRAME (10/14), RAGE-1 (7/14) ve gp (4/14) antijenlerinin eksprese olduğu bulunmuştur. Hiçbir RCC hücre dizininde tirozinaz, Melan-A/MART-1, MAGE-1, MAGE-2, NY-ESO-1, gp100, Beta-katenin ve MUM-1 saptanmamıştır. 39 RCC doku örneğinin, 8'inde (% 21) RAGE-1, 15'inde (% 40) PRAME ve 4'ünde (% 11) gp75 mRNA ekspresyonu bulunmuştur.[7]

Over karsinomlarında mortalite oranı yüksek ve halen bilinen prognostik faktörler yetersizdir. Partheen ve ark. prognostik faktör olarak kullanılabilme ihtimali olan 7 potansiyel belirleyicinin gen ve protein ekspresyonlarını araştırdı. 19 over karsinomunda kantitatif RT-PCR kullanılarak CLU, ITGB3, TACC1, MUC5B, CAPG, PRAME ve TROAP analiz edildi. CLU ve ITGB3'ün iyi prognozlu tümörlerde, PRAME ve CAPG'nin kötü prognozlu olanlarda daha fazla eksprese edildiği gösterildi. 43 over karsinomunda ise semi-kantitatif analiz için western blot ile CLU, ITGB3, PRAME ve CAPG'nin protein ekspresyonları çalışıldı. Ek olarak tümör örneklerinde protein ekspresyonunu lokalize etmek için İHK yöntem kullanıldı.[174]

Akciğer kanseri, dünyada kansere bağlı ölümlerin en sık nedenidir. Karsinogenezisteki en erken önemli olaylardan biri, genomik instabilitenin ve mutasyon fenotipinin indüklenmesidir. Bankovic ve ark. PCR yöntemiyle, küçük hücreli olmayan akciğer kanserli 30 hasta ve normal akciğer dokusunda DNA haritasını karşılaştırarak genomik instabiliteyi araştırmışlardır. Sonuç olarak; küçük hücreli olmayan akciğer

kanserinin karsinogenezisinde E2F4, PHACTR3, PRAME ve CDH12'nin önemli role sahip olduğunu yayınlamışlardır.[175]

Figuerido ve ark. baş-boyun kanserlerinde reverse-transkriptaz PCR kullanarak, tümör dokusunda, cerrahi sınırda, varsa tutulan lenf nodlarında MAGE-1, MAGE-4, MAGE-10, MAGE-12, B melanoma, LAGE, NY-ESO-1 ve PRAME antijenlerinin ekspresyonlarını semikantitatif olarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışma, 15'i ağız içinde, 14'ü larinkste, 4'ü farinkste yerleşmiş skuamöz hücre karsinom tanılı yaşları 31-91 arasında (ortalama=56) değişen, 31'erkek ve 2'si kadın 33 hastada yürütülmüştür. Tümörün evresine (T_4 % 100, T_3 % 57, T_1&T_2 % 50) ve sigara alışkanlığına bağlı olarak değişken oranda ekspresyon saptanırken, % 66,6 vakada en az bir antijen ekspresyonu saptanmıştır.[176]

PRAME ve meme kanseri ile ilgili çalışmalar sınırlı olup temel 3 çalışma mevcuttur. Doolan ve ark. 103 meme kanserli olguda qRT-PCR ile PRAME mRNA'sını araştırdılar. Kontrol grubu olarak normal meme dokusunu kullandılar. Tümör dokusunun % 53'ünde ve normal meme dokusunun % 37'sinde PRAME mRNA'sını saptadılar. Tanıdan itibaren PRAME ekspresyonunun tespiti, hastalıksız sağ kalım süresi (P=0,0004) ve toplam yaşam süresi (P=0,0052) açısından kötü prognostik faktör olarak gösterildi. Çok değişkenli analiz sonucunda da, tümör evresi, tümör boyutu ve ER durumu gibi PRAME mRNA ekspresyonununda kısalmış hastalıksız yaşam süresi ve toplam yaşam süresi için bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterildi. Ayrıca adjuvan kemoterapi alan hastalarda PRAME ekspresyonu saptananların, PRAME ekspresyonu saptanmayanlara göre kısa nüks süresine sahip olduğu saptandı (P=0,0291). Sonuç olarak; meme kanserinde PRAME mRNA ekspresyonunun prognostik ve prediktif bir marker olduğunu gösterdiler.[8]

Van't Veer ve ark. genç meme kanseri hastalarında erken uzak metastaz riskiyle ilişkili bir gen ekspresyon profili tanımladılar. Lenf nodu (-) sporadik meme kanserli 78 kadın hasta, gen ekspresyon profillerinde prognostik veri saptamak amaçlı incelendi. Meme kanserinin seyriyle 231 genin ilişkili olduğu saptandı. Bu genlerden biri de PRAME'di. Seri analizler sonucunda 70 gen prognoz sınıflayıcısı olarak belirlendi. PRAME, 231 adet prognoz belirleyicisi genin içerisinde yer almasına rağmen, prognoz sınıflayıcısı 70 genin içerisinde değildi. Prognoz sınıflayıcısı 70 gen hastaların, tanıdan

sonraki 5 yıl içerisinde uzak metastaz gelişip gelişmemesine göre iyi prognozlu ya da kötü prognozlu grup olarak kategorize edilmesini olanak sağladı.[177]

Van de Vijuer ve ark. 70 gen prognostik sınıflayıcısının geçerliliğini araştırma amaçlı 295 meme kanseri tanılı kadın hastanın tümör örneklerini incelediler.[178] Bu hastaların gen ekspresyon profillerinin meme kanserinin seyri konusunda prognostik öneme sahip olduğunu gösterdiler. Prognoz sınıflayıcı genlerin, hastalarda uzak metastaz olasılığı ve hastalık seyrini belirlemede, klinikopatolojik ve NIH& St Gallen kriterlerinden daha geçerli olduğunu saptadılar. Prognoz sınıflayıcı genler, adjuvan kemoterapiden fayda görecek yüksek riskli hasta seçiminde kullanılabilir ve gereksiz kemoterapi alacak, kemoterapinin yan etkilerine maruz kalacak hasta sayısını azaltabilir. Böylece, meme kanserinde kime sistemik adjuvan tedavi verileceğinin belirlenmesinde kullanılabilir.[179] Dahası 70 gen prognostik sınıflayıcısının prognostik gücü, meme kanserinin genetik özelliği ile erken evrede uzak metastaz yapabildiğini göstermiştir, bu metastatik potansiyelin tümorogenesis sonucu kazanıldığı görüşüyle çelişmektedir.[180]

Epping ve ark. Van de Vijuer ve ark. çalışmasındaki 295 meme kanserli hastanın gen ekspresyon verilerini, PRAME ekspresyon düzeyi yönünden çalıştılar. Çalışmaya alınan 295 hasta, tanı yaşı 52 ve altında, apikal aksiller lenf nodları (-), tümör boyutu 5 cm'den küçük, primer invaziv meme kanseriydi. Hastalar modifiye radikal mastektomi veya aksiller disseksiyon içeren meme koruyucu cerrahi ile tedavi edildi, takiben endikasyonu varsa radyoterapi uygulandı. 295 hastadan 151'i lenf nodu (-) (P_{N0}) ve 144'ü lenf nodu (+) (P_{N+}) hastaydı. Tüm hastalar en az 5 yıllık sürede yıllık değerlendirildi. Çoğunluğu lenf nodu (+) olan 110 hasta adjuvan sistemik kemoterapi aldı. PRAME ekspresyonu RT-PCR ile değerlendirildi. PRAME ekspresyonu 98 olguda (% 33) yüksek oranda ve 197 olguda (% 67) düşük oranda saptandı. PRAME ekspresyonuyla, yaş, tümör çapı, pozitif aksiller lenf nodu sayısı, histolojik grade, ER durumu, LVİ karşılaştırıldı. PRAME ile histolojik grade ve ER durumu arasında ilişki bulundu. Yüksek PRAME ekspresyon seviyesiyle kötü differansiye tümör, düşük PRAME ekspresyon seviyesiyle iyi differansiye tümör arasında ilişki bulundu. ER (-) hastalarda yüksek PRAME ekspresyonu varken, ER (+) hastalarda düşük PRAME ekspresyonu saptandı. Lenf nodu durumuyla PRAME arasında bir ilişki saptanmadı. Kemoterapinin etkisine bağlı olarak, kemoterapi alan hastalarda PRAME ekspresyonu

belirgin değildi. PRAME ekspresyonunun kemoterapiye cevabı değerlendirmede faydalı olabileceği belirtildi. Bunun için, ileride yapılacak çalışmalarla kemoterapiye cevapta PRAME'in biyomarker olarak kullanılabilirliği araştırılmalıydı. Sonuç olarak; PRM meme kanserli hastalarda, PRAME'in yüksek ekspresyonuyla artmış oranda uzak metastaz ve kısa süreli sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. PRAME'in yüksek ekspresyonu kötü prognostik faktör olarak gösterilmiştir.[181]

PRAME, moleküler biyologların ve klinisyenlerin, biyolojik özellikleri dolayısıyla ilgisini çekmektedir. Klinisyenler açısından özellikle immünoterapi bakımından önemli bir hedeftir. PRAME'in yapısı detaylı incelenirse bu ilginç genin terapötik potansiyeli açısından yeni kapılar aralanacaktır. En önemli nokta, uygun biyolojik örneklerde en uygun tekniğin kullanılmasıdır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu prospektif çalışma, meme kanseri tanısıyla Eylül 2009- Mayıs 2010 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda tedavi edilen 54 hastada yapıldı.

Çalışmada meme kanserli hastalardan alınan, kanserli taze dokularda RT-PCR yöntemiyle PRAME ekspresyonu araştırıldı. Ayrıca hastaların kanserli doku içeren parafin bloklarında İHK yöntemle, PRAME'in boyanma özellikleri incelendi. Meme kanseri ve PRAME ile ilgili çalışmalarda, PRAME ekspresyonuna RT-PCR ile bakılmış, İHK yöntem kullanılmamıştı. Çalışmada İHK yöntemin meme kanserinde PRAME çalışmak için kullanılabilirliği ve PRAME, meme kanserinde bilinen diğer prognostik faktörlerle kıyaslanarak kötü prognostik faktör müdür? sorusunun cevabı araştırıldı. Kontrol grubu olarak benign meme lezyonu nedeni ile tedavi edilen 20 hastaya ait doku örnekleri ile ve 10 normal meme dokusunda RT-PCR yöntemiyle PRAME ekspresyonu incelendi. Benign meme lezyonlu 37 hastada ise İHK yöntemle PRAME boyanma miktarına bakıldı. PRAME benign meme lezyonu ve normal meme dokusunda da var mıdır? sorusu İHK yöntemle araştırıldı.

İHK olarak boyanan ER ve PR % 10 ve üstü pozitif, % 10'nun altı ise negatif kabul edildi. İHK olarak cerb-B2 reseptörlerinden +++ boyananlar pozitif, +/boyanmayanlar negatif, ++ boyananlara ise FISH yöntemi uygulandı. FISH yöntemiyle ekspresyon saptananlar pozitif, ekspresyon saptanmayanlar ise negatif kabul edildi.

3.1.Çalışma Modeli

Bu çalışma için Ç.Ü.T.F. etik kurulundan 21 Haziran 2009 tarihinde 3341 sayılı etik kurul onayı alındı. Çalışma tek merkezde yürütüldü. Çalışmaya alınan iyi huylu meme lezyonlu ve meme kanserli hastalardan uygun cerrahi tedavi sonrası taze doku alındı. Taze dokulardan RT-PCR yöntemiyle PRAME ekspresyonuna bakıldı ve PRAME kantitatif olarak hesaplandı. Hastaların parafin bloklarından ise İHK yöntemle PRAME çalışıldı. Meme kanserinde PRAME'i saptamak için iki yöntemin birbiriyle kıyaslanması ve PRAME'in meme kanserindeki prognostik yerinin belirlenmesi amaçlandı.

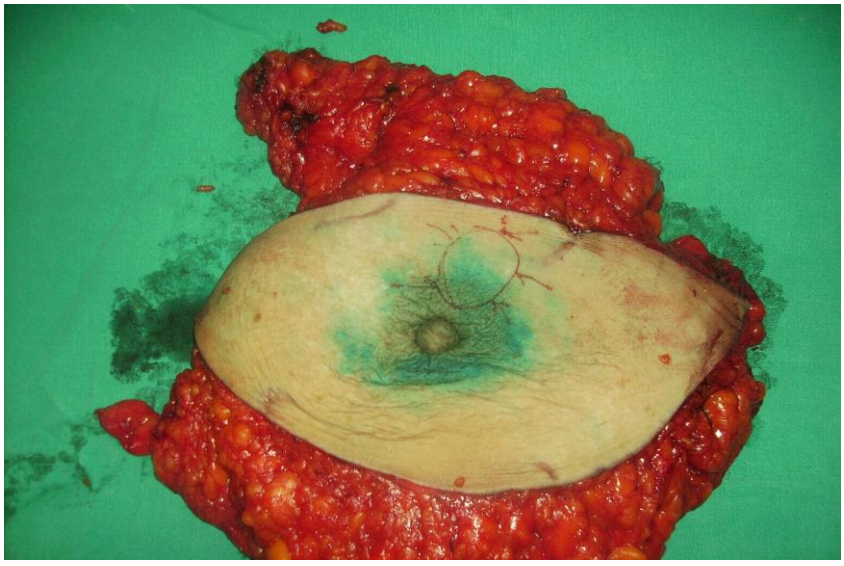
3.2. Hastalar

Çalışma, yaşları 30 ile 69 arasında değişen meme kanseri tanısı almış 54 hastada yapıldı. Çalışmaya alınan hastalara uygulanacak işlem hakkında ayrıntılı bilgi verildi ve onamları alındı. Hastaların yaşı, adresi, şikayeti, risk faktörleri, menopozal durumu, hastalara uygulanan radyolojik tetkikler, tanı yöntemi, uygulanan ameliyat türü, tümörün histolojik tipi, evresi, tümör çapı, grade'i, tümörün LVİ durumu, ER durumu, PR durumu, cerb-B2 reseptör durumu, aksilladan çıkarılan reaksiyoner, metastatik ve total lenf nodu sayısı sonuçlarının yer aldığı hasta kayıt formları hazırlandı ve her hasta için bu form doldurduldu. Hastaların 24'ü PRM, 30'u PM dönemde idi. Tümör yerleşimi 24 hastada sağ memede, 30 hastada ise sol memede idi. 25 hastada üst dış kadranda, 7 hastada üst iç kadranda, 6 hastada alt dış kadranda, 6 hastada alt iç kadranda, 4 hastada retroaerolar ve 6 hastada ise multifokal yerleşimli tümör saptandı. Ameliyat öncesi radyolojik tetkik olarak tüm hastalara her iki memeye yönelik ultrasonografi ve mamografi yaptırılırken, 11 hastaya dinamik meme MRG, 5 hastaya pozitron emisyon tomografi (PET) ve 2 hastaya meme MRG+PET inceleme yapıldı. 36 hastada kesici iğne biyopsisi, 10 hastada eksizyonel biyopsi, 1 hastada insizyonel biyopsi, 5 hastada frozen, ince iğne aspirasyon biyopsisinde atipik malign hücrelerin bulunduğu 2 hastada da frozen ile invaziv kanser tanısı konuldu. 48 hastada İDC, 3 hastada invaziv lobüler karsinom, 1 hastada medüller karsinom, 1 hastada atipik medüller karsinom, 1 hastada duktal insitu karsinom tespit edildi. Tümör 48 hastada unifokal, 6 hastada multifokal idi. 6 hastada aile öyküsü varken, 48 hastada aile öyküsü tespit edilmedi. 1 hastada Tis, 27 hastada T_1, 25 hastada T_2, 1 hastada T_3 tümör vardı. Meme kanserinin yeni sınıflama sistemine göre 1 hasta evre 0, 10 hasta evre 1, 24 hasta evre 2, 17 hasta evre 3, 2 hasta evre 4 olarak sınıflandırıldı. 44 Hastaya modifiye radikal mastektomi, 6 hastaya meme koruyucu cerrahi+aksiler disseksiyon, 2 hastaya meme koruyucu cerrahi+sentinel lenf nodu biyopsisi, evre 4 tümörlü 1 hastaya tuvalet mastektomisi olarak simple mastektomi, evre 0 duktal karsinoma insitu tanısı almış 1 hastayada simple mastektomi+sentinel lenf nodu biyopsisi+doku ekspanderı yerleştirilmesi ameliyat yöntemi olarak uygulandı. Tümör'ün histolojik grade'i 31 hastada grade 2, 23 hastada grade 3 olarak bulundu. LVİ 32 hastada tespit edilirken, 22 hastada tespit edilmedi. ER 36 hastada pozitif, 18 hastada negatif tespit edildi. PR 31 hastada pozitif, 23 hastada negatif tespit edildi. cerb-B2 reseptörü 28 hastada pozitif, 26 hastada negatif tespit

edildi. En fazla çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı 48, en fazla çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 44 olarak bulundu.

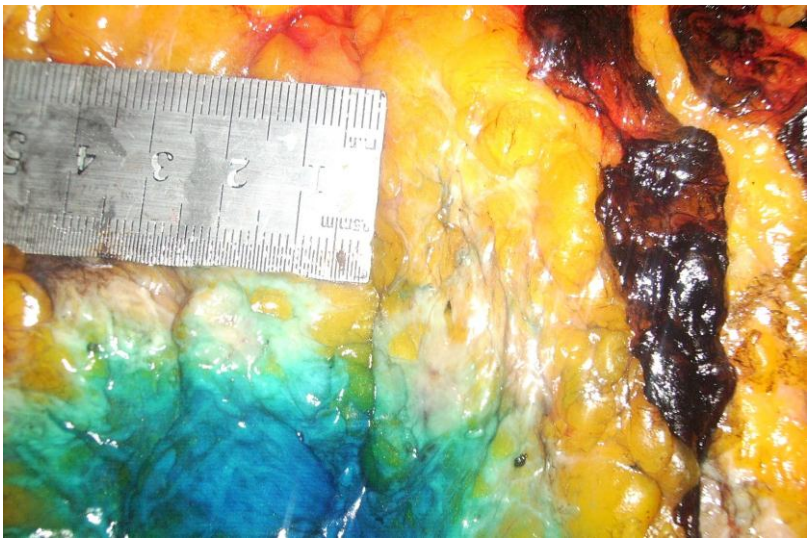
3.3. Meme Tümöründen Taze Doku Alınması

Meme kanserli hastaların hepsi genel anestezi altında ameliyat edildi. Ameliyat parçası formole konulmadan alınarak Ç.Ü.T.F. Patoloji Anabilim Dalı'na götürüldü. Memede kitlenin olduğu bölge ve memenin üst dış kadranı işaretlendi. Patologla beraber pektoral fasia boyandıktan sonra, meme aksilladan başlanarak dilimlendi ve meme dokusu içindeki kanser tanısı almış kitle bulundu. Kitleden yaklaşık yarım santimetrelik doku parçası alındı. Her hastadan ayrı olarak normal meme dokusundan da yarım santimlik doku parçası alındı. İyi huylu meme lezyonu nedeni ile eksizyonel biyopsi işlemi lokal anestezi veya genel anestezi altında yapıldı. Ameliyat parçasının tüm sınırları, patolog tarafından boyandı. Ameliyat parçası dilimlenerek lezyondan ve normal memeden doku parçaları alındı. Alınan bu örnekler -80 derecede saklandı. Bu işlemler ameliyat parçası verildikten sonra bir saat içerisinde yapılarak taze doku saklanacağı ÇÜTF Pediyatrik Hematoloji Laboratuvarına ulaştırıldı. Doku parçalarının üstüne hasta isimleri ve hangi memeden alındıkları yazıldı.



Şekil 1. Mastektomi materyalinin ön yüz görüntüsü

Şekil 2. Mastektomi materyalinde fasyal yüzün cerrahi sınır mürekkebi ile boyanmış görüntüsü



Şekil 3. Mastektomi materyalinin seri dilimlenmesinden sonra tümörün makroskobik görüntüsü

3.4. İHK Yöntemle PRAME Çalışma Prosedürü

1. Dokular kasetlendikten sonra % 10'luk formaldehitte bekletildi. Aynı gün akşam ototeknikon cihazında fiksasyon işlemi tamamlandı. Ertesi gün sabah parafin blok haline getirildi.

2. Parafine gömülü dokulardan 4-5µ kalınlığında kesitler polylysine lam üzerine alındı.

3. Önce 60 derecelik etüv içerisindeki xylol de 10-15 dakika bekletildi. Daha sonra oda ısısındaki xylol, alkol ve saf su serisinden geçirilerek deparafinizasyon işlemi tamamlandı.

4. 0,3 % w/v H_2O_2 in distile suda 5-7 dakika bekletildi.

5. Saf suda yıkandı.

6. Mikrodalga fırında 600W gücünde EDTA buffer solüsyonunda (ph:8) 15 dakika kaynatılarak antijen retriwal işlemi uygulandı. Kapağı açılmadan oda ısısına gelmesi için yaklaşık 45 dakika bekletildi.

7. Saf su ve PBS (Phosphate buffer saline)'den geçirildi. (PBS ph: 7,2-7,4)

8. Daha önceden 1/500 oranında dilüe edilmiş olan PRAME primary antibody (Abcam marka. Rabbit polyclonal to PRAME Cat no: ab 32185) damlatıldı. Yine kapalı ve nemli ortamda oda ısısında 3 saat inkübe edildi.

9. Saf su ve PBS'den geçirildi.

10. Biotin damlatıldı. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

11. Saf su ve PBS'den geçildi.

12. Avidin damlatıldı. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

13. Saf su ve PBS'den geçirildi.

14. AEC damlatıldı.10-20 dakika aralığında preparatlar mikroskop altında kontrol edilerek boyanma gözlendiğinde çeşme suyuna alındı.

15. Saf suda yıkanılarak hemotoksilene alındı. 7-10 dakika bekletilip tekrar çeşme suyunda yaklaşık 10 dakika bekletilerek mavileştirildi.

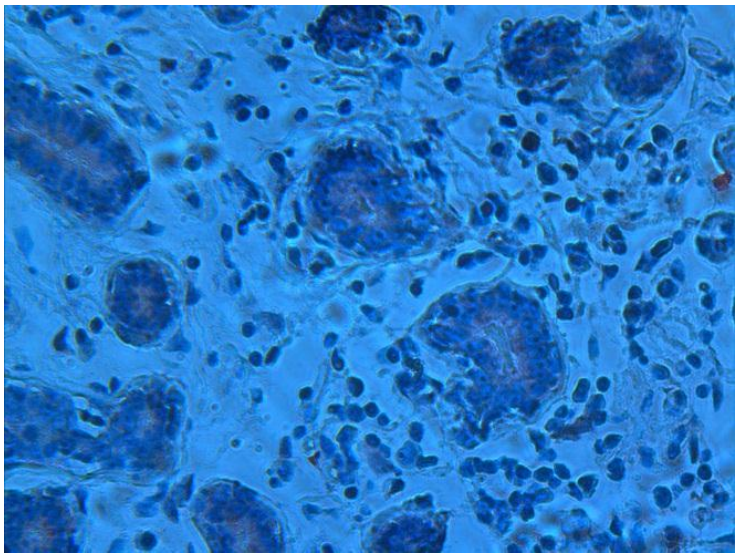
16. Dokunun etrafı kurulanıp su bazlı sıvı kapama maddesi ile kapatıldı.

Kullanılan Universal kit: DAKO North America, Inc Biyotinlated Link Universal, streptavidin HRP (Rabbit, Mouse, goat) Cat no: K 0690

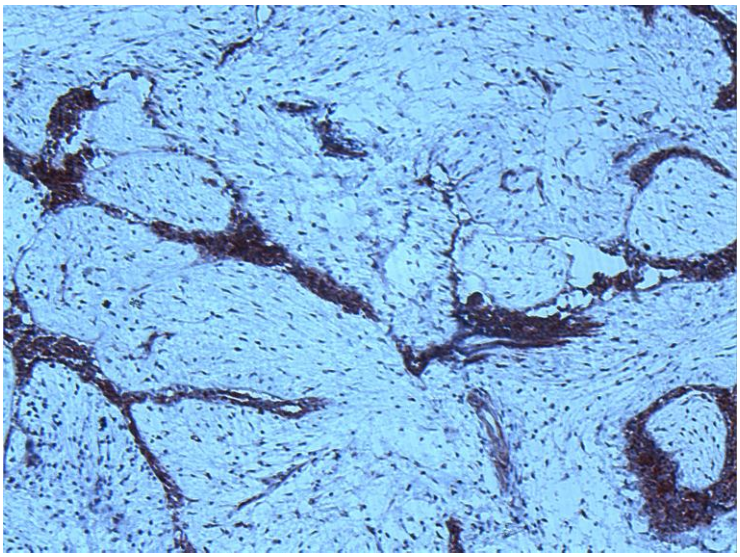
3.5. İHK Yöntemle Çalışılan PRAME'in Değerlendirilmesi

Parafin blok haline getirilen dokular İHK olarak boyandı. Preparatlar Ç.Ü.T.F. Patoloji Anabilim Dalı'ndaki iki patolog tarafından değerlendirildi. İHK olarak 54 meme kanserli ve 37 iyi huylu meme lezyonlu hastanın parafin blokları boyandı ve değerlendirildi. Boyanmanın yoğunluğuna göre +, ++, +++ olarak ve boyanmadı şeklinde değerlendirildi. Boyanmanın sitoplazmik mi yoksa nükleer mi olduğu belirtildi. Meme kanseri preparatlarındaki invaziv kanser komponentinin, insitu kanser komponentinin, normal meme dokusunun boyanma yoğunluğu, boyanma tipi ayrı ayrı belirlendi. İyi huylu meme lezyonu preparatlarınında boyanma yoğunluğu ve tipi belirlendi. İHK yöntemle PRAME çalışılan meme kanserli hastalar, invaziv kanser

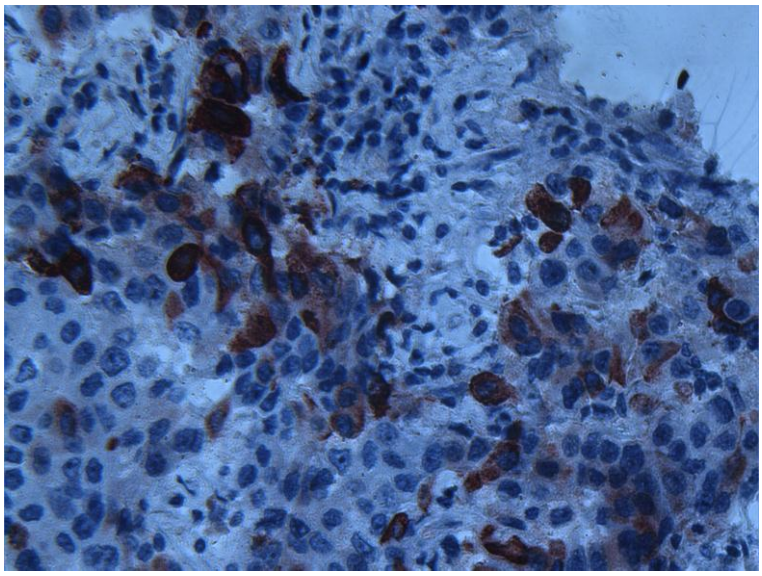
komponenti boyanan ve insitu kanser komponenti boyananlar olarak iki gruba ayrıldı. Bu gruplarda kendi içlerinde boyanma şiddetine göre +, ++,+++ ve boyanmayan olarak gruplandırıldı. Buna göre invaziv kanser komponenti değerlendirildiğinde 19 hastada boyanma saptanmadı, 16 hastada + boyanma, 17 hastada ++ boyanma, 2 hastada +++ boyanma saptandı. İnsitu kanser komponenti değerlendirildiğinde ise 29 olguda boyanma saptanmazken 11 olguda + boyanma, 14 hastada ++ boyanma saptandı. Meme kanserli hastalardan 2 hastada nükleer boyanma, 41 hastada sitoplazmik boyanma, tespit edildi.13 hastada nükleer ve sitoplazmik boyanma saptanmadı. Nükleer boyanma saptanan 2 hastanın insitu komponentlerinde sitoplazmik boyanma da bulundu. 54 hastanın 16'sında normal meme dokusunda da boyanma saptandı. İyi huylu meme lezyonlu 5 hastada boyanma saptanmazken, 3 hastada +, 19 hastada ++, 10 hastada +++ boyanma saptandı.



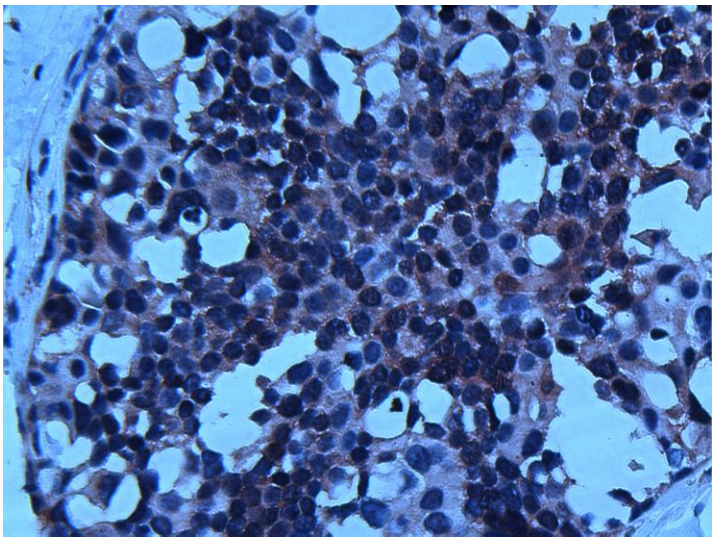
Şekil 4. Normal meme dokusun da PRAME boyanması (+) (İHKx40)



Şekil 5. Fibroadenom da PRAME boyanması (sitoplazmik +++) (İHKx20)



Şekil 6. İnvaziv duktal karsinom da metastatik lenf nodunun PRAME boyanması (+++) (İHKx40)



Şekil 7. invaziv duktal karsinom da PRAME boyanması (sitoplazmik ++, nükleer ++) (İHKx40)

3.6. RT-PCR Yöntemiyle PRAME Çalışma Prosedürü

3.6.1. Taze Dokudan RNA İzolasyonu

DOKUDAN RNA İZOLASYON KİTİ

(Roche High Pure RNA Tissue Kit)

Kitin içeriği:

1. Lysis/binding buffer 25 ml
2. DNase I liyofilize
3. DNase incubation buffer 10 ml
4. Wash buffer I 33 ml üzerine 20 ml absolute etanol eklendi.
5. Wash buffer II 10 ml üzerine 40 ml absolute etanol eklendi.
6. Elution buffer 33 ml
7. Filtreli tüpler 50 adet
8. Collection tüpler 50 adet

DNase I kitinin hazırlanışı, 550 µl elution eklendi. Parçalara bölündükten sonra -15 veya -20 derecede saklandı.

Kullanım prosedürü:

1. Taze alınmış dokular petri kabı içinde bistüri ile iyice parçalandıktan sonra dokular 1,5 ml lik ependorf tüp içerisine alındı. Üzerine 400 µl Lysis/binding buffer

konuldu ve alt üst edildi. Daha sonra üzerine 0,5 ml absolute etanol eklendi ve karıştırıldı.

2. Karışım kitten çıkan filtreli tüpler içine aktarıldı. 13000 xg de 30 s santrifüj yapıldı. Daha sonra filtrenin altındaki tüp boşaltıldı ve tekrar kullanıldı.

3. Filtreli tüplerin üstüne her bir örnek için (90 µl DNase İncubation Buffer + 10 µl DNase working solution) 100 µl DNase solusyonu konuldu ve tüpler 15-25 derecede oda sıcaklığında 15 dakika inkubasyona bırakıldı.

4. İnkubasyondan sonra her tüpe 0,5 ml wash I solusyonu ekledikten sonra 8000xg de 15 sn santrifüj yapıldı.

5. Toplama tüpleri boşaltıldıktan sonra tekrar filtrelerin altına yerleştirildi ve üzerine 0,5 ml wash II solüsyonu eklendi. Tekrar 8000xg de 15 sn santrifüj yapıldı.

6. Toplama tüpleri boşaltıldıktan sonra tekrar filtrelerin altına yerleştirildi ve üzerine 0,3 ml wash II solüsyonu eklendi. Tekrar 13000 xg de 2 dak. santrifüj yapıldı.

7. Bu aşmadan sonra toplama tüpleri atıldı ve yerlerine 1,5 ml steril kapaklı ependorf tüpler yerleştirildi. Her tüpe 0,1 ml elution buffer koyup 8000xg de 1 dak. santrifüj yapıldı. Santrifüjden sonra filtreli tüpler atıldı. İçinde pure total RNA bulunanan ependorf tüplerin kapakları kapatıldı. -80 derecede saklandı.

3.6.2. Pure Total RNA'dan Komplementer DNA (cDNA) Elde Edilmesi

cDNA sentez aşaması

Elde edilen RNA'ları komplamenter DNA'ya çevirmek için Transcriptor First Strand cDNA kiti (roche) kullanıldı. Kitin içeriğini Random primer, su, PCR grade, Transcriptör Reverse Trascriptaz Reaksiyon tamponu, Protector RNAse İnhibitor, Deoxynukleotid karışımı ve Transcriptor Reverse Trascriptaz enzim oluşturmaktadır. Kullanıma başlamadan önce bütün solüsyonlar ve RNA örnekleri buz üzerinde tutularak erimeye bırakıldı.

cDNA sentezi 2 basamaktan oluşturuldu. 1. basamakta hazırlayacağımız karışımın içeriğinde her örnek için 2 µl random primer, 1 µl PCR grade su ve 10 µl RNA örneği kullanıldı. 65^{o}C de 10 dk inkubasyona bırakıldı. İnkubasyondan sonra 2. basamağa geçildi. Bu basamakta hazırlanacak karışımın içeriği; 4 µl transkriptör reverse trascriptaz reaksiyon tamponu, 0,5 µl protector Rnase inhıbıtör, 2 µl deoxynukleotid karışım ve 0,5 µl transkriptör reverse traskriptaz enzimden oluşturuldu. 2. basamakta

hazırladığımız karışım; 10 dakikalık inkubasyondan çıkan karışımın üzerine aktarıldı. Daha sonra karışımın son hali termalcycler da 25 ^{o}C de 10 dakika, 50 ^{o}C de 60 dakika ve 85 ^{o}C de 5 dakika ısı döngülerine maruz bırakıldı. 2. basamaktan sonra cDNA sentezi tamamlanmış oldu. Bu aşamadan sonra cDNA örnekleri -20 de muhafaza edildi.

cDNA PROTOKOL

1 µl H2O
2 µl Random Hekzamer Primer
10 µl RNA

13 µl → 10 dk 65^{0}C'de inkübe edilir.
13µl+7µl=20 µl

4 µl transkriptör reverse trascriptaz (VİAL 2)
0,5 µl protector Rnase inhıbıtör (VİAL 3)
2 µl deoxynukleotid (VİAL 4)
0,5 µl transkriptör reverse traskriptaz (VİAL 1)
7 µl → 10 dk Oda sıcaklığında inkübe edilir
25 ^{o}C de 10 dk
50 ^{o}C de 60 dk
85 ^{o}C de 5 dk

RT-PCR'da cDNA için aşağıdaki Protokol uygulanır.

PRAME için Gerekli Olan Kitler ve cihazlar
Real Time PCR için: Light Cycler FastStart DNA Master Sybergreen kit (roche:3003230)
Plate: örnekler içine pipetlemek için
Foil: plate içine pipetlenen örnekleri örtmek için kullanılan şeffaf yapıştırıcı
Lightcycler 480 II cihazı:

Kitin içeriği:
Kullanılan primerler Ella Biotech firmasında sentezlettirilmiştir.
Forward prime; AF, 50-CCA TGA CAA AGA AGC GAA AA-30
Revers primer: AR, 50-CAT CTG GCC CAG GTA AGG AG-30

PRAME çalışmak için her örnek için hazırlanan karışımın içeriği:

Hazırlanan mix:

Real-time PCR da kulanılacak olan karışımda 2 µl 1x syber green Master Mix, (roche-applied-science) 2 µl PRAME spesifik primerleri ve 6 µl PCR grade su kullanılmıştır. Karışımın final hacmi 20 µl yapılmıştır. Real-Time PCR protokolünün ilk adımı olan DNA polimerazın aktive olması için 95°C'de 10 dk bekletildi. Amplifikasyon için 95°C 5 sn, 68°C 10 sn ve 72°C 0 sn PCR programı kullanıldı. Her

döngü 45 defa tekrarlandı. Soğutma aşamasında 40°C'de 30 sn bekletildi. Kullanılacak Roche LigthCycler 480 II Real-time PCR cihazı kullanıldı. Değerlendirme cihazın absolute deteksiyon programı ile yapıldı.

Bu yöntemler ve kullanılan konsantrasyonlar her bir virüs için optimize edildi. Örnek elde edilen viral RNA'lardan LC Fast Start DNA master Sybergreen (ROCHE) prosedürüne göre Real-Time PCR tekniği kullanılarak araştırıldı. Kalitatif sonuçlar için virüslere uygun primer (forward ve revers) temin edildi.

Real-Time PCR'da tespiti için önce miks hazırlanıldı. Her bir örnek için PCR tüplerine 10 µl örneklerden izole edilen template (örnek DNA'sı) ve üzerine sırayla ROCHE firmasının Sybergreen master karışımından 2 µl (içeriğinde; fast start Taq DNA polimerase, reaksiyon buffer, $MgCl_2$ dNTP miks ve sybergreen), 2 µl forward ve revers primer, 1,6 µl MgCl ve üzerine 5 µl toplam hacim 20 µl olacak şekilde PCR grade su eklenip tamamlandı.

Reaksiyon Miksinin Hazırlanması

	1X (µl)
dH_20	5 µl
MgCl 4 µM	1,6 µl
primer mix 5pmol	2 µl
sybergreen MasterMix	2 µl
	10 µl
cDNA	10 µl

örnekleri cihaza yükleme aşamasında çalışılan örneklerin cihaz tarafından hesaplanabilmesi için çalışılacak örnek grubuyla beraber hazırlanan standart grubu da çalışmaya dahil edildi. Çalışma sonunda seri dilüsyonlar üzerinden oluşturulan standart eğrinin en düşük ve en yüksek standarda göre cihaz PRAME örneklerine kantitatif değer verir.

Tablo 5. RT - PCR PRAME çalışma aşamaları

Parametre	Ayrılma	Amplifikasyon			Melting Curve				Soğutma
Analiz mode	None	Quantification mode			Melting Curve Mode				None
Döngü	1	45			1				1
Target (°C)	95	95	60	72	95		58	95	40
Zaman (hh:mm:ss)	00:10:00	00:00:05	00:00:15	00:00:00	0		00:00:10	0	00.00.30
(°C/s)	4,4	4,4	2,2	4,4	4,4		2,2	0,14	20
Okuma Mode	yok	Yok	Tek okuma	yok	Yok	None	yok	Devamlı oku	yok

Çalışmada kullanılan farklı sıcaklıklar ve bunların neden kullanıldıkları aşağıda verilmiştir.

a. 95°C'de 600 saniye; Amplifikasyondan önce ortamda bulunan bütün cDNA'ların denature edilerek tek iplikli hale gelmesini sağlamak.

b. 95°C'de 10 saniye; Amplifikasyon programının ilk basamağıdır. Primerlerin bağlanmasını sağlamak amacıyla cDNA ların tek iplikli hale gelmesini sağlamaktır.

c. 68°C'de 10 saniye; Kullanılan primerlerdeki G, C, A ve T baz miktarları göz önünde bulundurularak Tm= (G+C)x4+ (A+T)x2 formülü (Tm = melting temperature = erime ısısı) ile ayarlanmıştır ve bu sıcaklıktan 5°C aşağısı kullanılmıştır. Bu programdaki sıcaklık seviyesi; primerlerin, çoğaltılması hedeflenen nükleik asitte bulunan ve primerlere spesifik yerlere bağlanması için gerekli olan sıcaklıktır.

d. 72°C'de 16 saniye; DNA Taq polimeraz enziminin çalışma sıcaklığı olup, **c**'deki programın çalışması ile spesifik bölgelere bağlanan primerlerin uzaması için ayarlanmıştır. Bu sıcaklıkta DNA Taq polimeraz enzimi dNTP'leri kullanarak amplifikasyonu gerçekleştirir.

b, c ve **d**'deki programlar 45 defa çalışacak şekilde ayarlanmıştır.

SybrGreen I bağlantılı fluoresan artısının arzu edilen spesifik DNA'a nedeniyle olup olmadığı ise, amplifikasyon süreci sonrası uygulanan "melting curve" analizi ile yapılır ve üretilen DNA'ların Tm (Temparature of Melting- PCRürünü erime sıcaklığı) dereceleri tespit edilir. Her DNA ürününün uzunluğuna ve içerdiği nükleotid baz türüne, özellikle "Guanine-Cytosine" içeriğine göre, özgün bir Tm'i vardır. Tm analizi sonrası belirlenen sıcaklık ürünün beklenen sıcaklığı ise ürün tam bir biçimde identifiye edilmis olur. Diğer taraftan Tm analizinde, primer-dimer birlesikleri eğer mevcutsa, daha düsük sıcaklıklarda Tm veren ve genisçe PCR ürün pikleri olarak ortaya çıkar.

f. 40°C'de 30 dakika; Melting Curve sonunda soğutma işlemidir.

PRAME'in kantitatif olarak miktarı μ/L cinsinden hesaplandı.

3.7. İstatiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 17.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Gruplar arasında sürekli ölçümlerin karşılaştırılmasında bağımsız gruplarda t testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışma 54 meme kanserli ve 37 iyi huylu meme lezyonlu hasta üzerinde yapıldı. Tüm hastalardan yapılan cerrahi müdahale sonrasında meme lezyonlarından ve normal meme dokusundan olmak üzere taze doku alındı. Hastaların tamamının parafin bloklarına İHK yöntemle PRAME çalışıldı. Meme kanserli hastaların tamamında, iyi huylu meme lezyonlu hastaların 20'sinde ve 10 hastanın da normal meme dokusunda RT-PCR yöntemiyle alınan taze dokularda PRAME ekspresyonuna bakıldı. PRAME ekspresyonu kantitatif olarak tespit edildi. İHK yöntemle PRAME çalışılan meme kanserli hastalar invaziv komponentin ve insitu komponentin boyanma durumuna göre iki gruba ayrıldı. İnvaziv kanserli grupta boyanma durumuna göre, boyanmayan, +, ++, +++ boyanan hastalar olarak gruplandırıldı. İnsutu grupta boyanma durumuna göre boyanmayan, +, ++ boyanan hastalar olarak gruplandırıldı. RT-PCR yöntemiyle PRAME çalışılan hastalar salınım olup olmamasına ve PRAME'in sayısal olarak tespit edilen miktarına göre gruplandırıldı.

Meme kanseri tanısı almış 30 ile 69 yaş arasındaki 54 hastanın parafin bloklarında İHK yöntemle PRAME çalışıldı. İnvaziv kanser komponentinin 19 (% 35,2) hastada boyanmadığı, 16 (% 29,6) hastada (+), 17 (% 31,5) hastada (++), 2 (% 3,7) hastada (+++) boyandığı saptandı. İn situ kanser komponentinin 29 (% 53,7) hastada boyanmadığı, 11 (% 20,4) hastada (+), 14 (% 25,9) hastada (++) boyandığı tespit edildi. İnsutu kanser komponentinde hiç (+++) boyanma saptanmadı (Tablo 6 ve 7).

Tablo 6. İHK yöntemde invaziv komponentte PRAME ekspresyonu

İHK yöntemde İnvaziv komponenti boyanan olgu sayısı	**(-) Boyanmayan**		**(+) Boyanan**		**(++) Boyanan**		**(+++) Boyanan**	
	n	%	n	%	n	%	n	%
	19	35,2	16	29,6	17	31,5	2	3,7

Tablo 7. İHK yöntemde insitu kompenentte PRAME ekspresyonu

İHK yöntemde İnsutu komponenti boyanan olgu sayısı	(-) Boyanmayan		(+) Boyanan		(++) Boyanan	
	n	%	n	%	n	%
	29	53,7	11	20,4	14	25,9

Yaşları 15 ile 62 arasında değişen 37 iyi huylu meme lezyonu tanısı almış hastanın parafin bloklarına İHK yöntemle PRAME çalışıldı. 10 (27,07) hastada (+++), 19 (51,03) hastada (++), 3 (% 8) hastada (+), 5 (% 13) hastada boyanma tespit edilmedi. (Tablo 8) Meme kanserli 16 (% 29,06) hastada normal meme dokusuda da İHK yöntemle PRAME boyanması saptandı.

Tablo 8. İHK yöntemle benign meme lezyonlu olgularda PRAME ekspresyonu

İHK yöntemle boyanan benign meme lezyonlu olgu sayısı	(-) Boyanmayan		(+) Boyanan		(++) Boyanan		(+++) Boyanan	
	n	%	n	%	n	%	n	%
	5	13	3	8	19	51,03	10	27,07

Meme kanserli 54 hasta ve iyi huylu meme lezyonlu 20 hastadan alınan taze dokularda ve 10 hastadan alınan normal meme dokusu örneğinde RT-PCR yöntemiyle PRAME ekspresyonu çalışıldı. Meme kanserli 27 hastada (% 50) PRAME saptandı. İyi huylu meme lezyonlu 5 (% 25) hastada PRAME saptandı. Normal meme dokusunda RT-PCR ile PRAME saptanmadı. Meme kanserli hastalarda PRAME kantitatif olarak 0,02 µ/L ile 2552,80 µ/L arasında bulundu. İyi huylu meme lezyonlarında ise PRAME 0,01 µ/L ile 44,19 µ/L arasında idi (Tablo 9). Hastalar PRAME ekspresyonu olan ve olmayan grup olarak ikiye ayrıldı: PRAME kantitatif değeri 0 – 2 µ/L arasında olanlar PRAME (-) olarak değerlendirildi. Ayrıca hastalar PRAME'in kantitatif değerine göre, 0 - 2 µ/L, 2 – 100 µ/L, 100 – 1000 µ/L ve 1000 µ/L üzeri olmak üzere dört gruba ayrıldı. PRAME miktarı 27 olguda 2 µ/L altında iken 11 olguda 2 – 100 µ/L arasında, 9 olguda 100 – 1000 µ/L arasında ve 7 olguda 1000 µ/L üzerinde idi.

Tablo 9. RT-PCR yöntemiyle çalışılan PRAME sonuçları

	TARGET	REFERANS	TARGET/REFERANS
1M	38	4,42	8,60
2M	0	19,7	0,00
3M	0	44,4	0,00
4M	0	18,2	0,00
5M	41100	16,1	2552,80
6M	19,9	12,7	1,57
7M	0	10,6	0,00
8M	0	1430	0,00
9M	1,74	48,8	0,04
10M	0	363	0,00
11M	307	236	1,30
12M	4310	142	30,35
13M	0	24,4	0,00
14M	15,6	12,7	1,23
15M	0	4,44	0,00
16M	480	230	2,09
17M	0	276	0,00
18M	0	3	0,00
19M	0	0,518	0,00
20M	992	13,8	71,88
21M	6320	3,71	1703,50
22M	11,5	64,5	0,18
23M	0	3,08	0,00
24M	0	2730	0,00
25M	4460	8,99	496,11
26M	20200	8,39	2407,63
27M	12900	9,85	1309,64
28M	5040	11,6	434,48
29M	219	3,27	66,97
30M	15300	14,6	1047,95
31M	4120	32,8	125,61
32M	1,74	13,5	0,13
33M	0	119	0,00
34M	1140	94,1	12,11
35M	9960	7,84	1270,41
36M	10100	1060	9,53
37M	3300	36,1	91,41
38M	0	268	0,00
39M	35300	174	202,87
40M	10700	105	101,90
41M	9330	18	518,33
42M	3410	9,4	362,77
43M	1870	3,29	568,39
44M	918	170	5,40
45M	7250	204	35,54
46M	1,27	2,22	0,57
47M	480	0,383	1253,26

Tablo 9'un devamı

48M	5980	10,2	586,27
49M	40,7	2,74	14,85
50M	0	47,1	0,00
51M	0	2,27	0,00
52M	30,4	2020	0,02
53M	0	1990	0,00
54M	829	1570	0,53
1B	0	3320	0,00
2B	33,8	1020	0,03
3B	0	1960	0,00
4B	0	1490	0,00
5B	0	85,8	0,00
6B	3310	74,9	44,19
7B	0	60800	0,00
8B	5300	5530	0,96
9B	1130	309	3,66
10B	0	19	0,00
11B	9,14	885	0,01
12B	0	1130	0,00
13B	0	4,03	0,00
14B	0	18	0,00
15B	0	40,4	0,00
16B	0	16,6	0,00
17B	0	147	0,00
18B	0	116	0,00
19B	0	9,67	0,00
20B	0	1310	0,00
1N	0	44,5	0,00
2N	0	331	0,00
3N	0	215	0,00
4N	0	129	0,00
5N	0	22,2	0,00
6N	0	11,6	0,00
7N	0	4,05	0,00
8N	0	210	0,00
9N	0	252	0,00
10N	0	2,73	0,00

M: Malign lezyonlu olgular B: Benign lezyonlu olgular N: Normal meme dokusu

4.1. İnvaziv Meme Kanseri Olgularında İHK Yöntemle Tespit Edilen PRAME Sonuçlarının Diğer Parametrelerle Karşılaştırılması

İHK olarak PRAME çalışılan invaziv meme kanserli olgulardan, 19 hastada boyanma saptanmazken, 16 hastada (+), 17 hastada (++) ve 2 hastada (+++) boyanma tespit edildi. Boyanma saptanmayan grubun yaşı 30 ile 60 arasında değişmekte olup ortalaması 48,7±10,4, (+) boyanan grubun yaşı 41 ile 68 arasında değişmekte olup

ortalaması 50,8±8,6, (++) boyanan grubun yaşı 40 ile 69 arasında değişmekte olup ortalaması 52,3±8,1, (+++) boyanan grubun yaşı 43 ile 55 arasında değişmekte olup ortalaması 49,0±8,4 olarak saptandı. Boyanma saptayan grupta tümör çapı 1-6 cm arasında olup ortalama 2,5±1,3 cm, (+) boyanan grupta 1-4 cm arasında olup ortalama 2,0±0,7 cm, (++) boyanan grupta 1-5 cm arasında olup ortalama 2,3±0,8 cm, (+++) boyanan grupta 2 cm olarak tespit edildi. Boyanma saptanmayan grupta çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı 0-48 arasında olup ortalama 14,6±12,2, (+) boyanan grupta 0-61 arasında olup ortalama 24,3±16,0, (++) boyanan grupta 1-53 arasında olup ortalama 17,5±12,1, (+++) boyanan grupta 17-19 arasında olup ortalama 18,0±1,4 olarak tespit edildi. Boyanmayan grupta metastatik lenf nodu sayısı 0-44 arasında olup ortalama 5,8±10,7, (+) boyanan grupta 0-12 arasında olup ortalama 3,3±4,0, (++) boyanan grupta 0-23 arasında olup ortalama 4,2±7,3, (+++) boyanan grupta 0-4 arasında olup ortalama 2,0±2,8 olarak tespit edildi. Boyanmayan grupta RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif değeri 0-202,8 µ/L arasında olup ortalama 22,7±51,7 µ/L, (+) boyanan grupta 0-2558,2 µ/L arasında olup ortalama 606,7±765,6µ/L, (++) boyanan grupta 0-2407,6 µ/L arasında olup ortalama 303,0±637,4 µ/L, (+++) boyanan grupta ise 0µ/L olarak tespit edildi. Yaş (P=0,701), tümör çapı (P=0,5), çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı (P=0,206), çıkarılan metastatik lenf nodu sayısıyla (P=0,765), invaziv kanserde İHK yöntemle tespit edilen PRAME sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmazken, RT-PCR yöntemiyle meme kanserinde kantitatif olarak tespit edilen PRAME(P=0,025) sonuçları arasında anlamlı ilişki saptandı (Tablo 10).

Tablo 10. İnvaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu ile RT-PCR ile saptanan PRAME değerleri ile demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması

İNVAZİV MEME Ca PRAME (İHK)									
	(-)		**(+)**		**(++)**		**(+++)**		
	mean±sd (n=19)	**median (min-max)**	**mean±sd (n=16)**	**median (min-max)**	**mean±sd (n=17)**	**median (min-max)**	**mean±sd (n=2)**	**median (min-max)**	**p**
Yaş	48,7±10,4	49,0 (30,0-69,0)	50,8±8,6	47,0 (41,0-68,0)	52,3±8,1	52,0 (40,0-69,0)	49,0±8,4	49,0 (43,0-55,0)	0,701
Tümör çapı	2,5±1,3	2,5 (1,0-6,0)	2,0±0,7	2,0 (1,0-4,0)	2,3±0,8	2,3 (1,0-5,0)	1,8±0,2	2,0 (2,0-2,0)	0,5
Reaksiyoner lenf nodu sayısı	14,6±12,2	12,0 (0-48,0)	24,3±16,0	24,0 (0-61,0)	17,5±12,1	16,0 (1,0-53,0)	18,0±1,4	18,0 (17,0-19,0)	0,206
Metastatik lenf nodu sayısı	5,8±10,7	1,0 (0-44,0)	3,3±4,0	2,0 (0-12,0)	4,2±7,3	1,0 (0-23,0)	2,0±2,8	2,0 (0-4,0)	0,765
PRAME (RTPCR µ/L)	22,7±51,7	0 (0-202,8)	606,7±765,6	310,8 (0-2552,8)	303,0±637,4	637,4 (0-2407,6)	0±0	0 (0-0)	0,025

İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayanlardan 10 (% 52,6)'u PRM, 9 (47,4)'u PM, (+) boyanma saptananlardan 9 (% 56,3)'u PRM, 7 (43,8)'si PM, (++) boyanma saptananlardan 5 (% 29,4)'i PRM, 12 (% 70,6)'si PM, (+++) boyanma saptanan 2 (% 100) hasta PM dönemde idi. Menopozal durumla (P=0,206), invaziv kanserde İHK olarak PRAME ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 11).

İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayanlardan 15 (% 78,9) hasta grade 2, 4 (% 21,1) hasta grade 3, (+) boyanma saptanan 10 (% 62,5) hasta grade 2, 6 (% 37,5) hasta grade 3, (++) boyanma saptanan 6 (% 35,3) hasta grade 2, 11 (% 64,7) hasta grade 3, (+++) boyanma saptanan 2 (% 100) hasta grade 3 kansere sahipti. Tümör grade'i(P=0,020) ile invaziv kanserde İHK olarak tespit edilen PRAME sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi (Tablo 11).

İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayan 6 (% 31,6) hastada LVİ (LVİ) (-), 13 (% 68,4) hastada ise LVİ (+), (+) boyanma saptanan 8 (% 50) hastada LV (-), 8 (% 50) hastada ise LVİ (+), (++) boyanma saptanan 7 (% 41,2) hastada LVİ (-), 10 (% 58,8) hastada ise LVİ (+), (+++) boyanma saptanan 1 (% 50) hastada LVİ (-), 1 (% 50) hastada ise LVİ (+) saptandı. LVİ(P=0,729) ile İHK olarak invaziv kanserde PRAME sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 11).

İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayan 3 (% 15,8) hastada ER (-),16 (% 84,2) hastada ise ER (+), (+) boyanma saptanan 5 (% 31,3) hastada ER (-), 11 (% 68,8) hastada ise ER (+), (++) boyanma saptanan 9 (% 52,9) hastada ER (-), 8 (% 47,1) hastada ise ER (+), (+++) boyanma saptanan 1 (% 50) hastada ER (-), 1 (% 50) hastada ise ER (+) olarak saptandı. ER durumuyla(P=0,119), İnvaziv kanserde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 11).

İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayan 6 (% 31,6) hastada PR (-), 13 (% 68,4) hastada ise PR (+), (+) boyanma saptanan 7 (% 43,8) hastada PR (-), 9 (% 56,3) hastada ise PR (+), (++) boyanma saptanan 9 (% 52,9) hastada PR (-), 7 (% 47,1) hastada ise PR (+), (+++) boyanma saptanan 1 (% 50) hastada PR (-), 1 (% 50) hastada ise PR (+) olarak saptandı. PR

durumuyla(P=0,628), İnvaziv kanserde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 11).

İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayan 12 (% 63,2) hastada cerb-B2 (-), 7 (% 36,8) hastada ise cerb-B2 (+), (+) boyanma saptanan 7 (% 43,8) hastada cerb-B2 (-), 9 (% 56,3) hastada ise cerb-B2 (+), (++) boyanma saptanan 6 (% 35,3) hastada cerb-B2 (-), 11 (% 64,7) hastada ise cerb-B2 (+), (+++) boyanma saptanan 1 (% 50) hastada Cerb-B2 (-), 1 (% 50) hastada ise cerb-B2 (+) saptandı. cerb-B2 reseptör durumuyla(P=0,397) invaziv kanserde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 11).

PRAME ekspresyonu İHK yöntem ve RT-PCR yöntemi ile kıyaslandığında İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayan 13 (% 68,4) hastada RT-PCR ile PRAME tespit edilemezken, 6 (% 31,6) hastada tespit edildi. İHK yöntemle (+) boyanma saptanan 4 (% 25) hastada RT-PCR ile PRAME eksperesyonu tespit edilemezken, 12 (% 75) hastada tespit edildi. İHK yöntemle (++) boyanma saptanan 8 (% 47,1) hastada RT-PCR ile PRAME tespit edilemezken, 9 (% 52,9) hastada tespit edildi. İHK yöntemle (+++) boyanma saptanan 2 (% 100) hastada ise RT-PCR ile PRAME tespit edilemedi. RT-PCR ile PRAME eksperesyonunun (P=0,035) tespitiyle, invaziv kanserde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edildi (Tablo 11).

Çalışmada evre 0 ve evre 1 birlikte tek grup, evre 2 bir grup, evre 3 ve evre 4 bir grup kabul edilerek 3 gruba ayrıldı. İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayan 5 (% 26,3) hasta evre 0-1 grubunda, 6 (% 31,6) hasta evre 2 grubunda, 8 (% 42,1) hasta evre 3-4 grubunda, (+) boyama saptanan 4 (% 25) hasta evre 0-1 grubunda, 6 (% 37,5) hasta evre 2 grubunda, 6 (% 37,5) hasta evre 3-4 grubunda, (++) boyanma saptanan 1 (% 5,9) hasta evre 0-1, 12 (% 70,6) hasta evre 2 grubunda, 4 (% 23,5) hasta evre 3-4 grubunda, (+++) boyanma saptanan 1 (% 50) hasta evre 0-1 grubunda, 1 (% 50) hastada evre 3-4 grubunda yer aldı. Evre (P=0,2) ile, invaziv kanserde İHK yöntemle çalışılan PRAME arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 11).

İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayan 13 (% 68,4) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif olarak hesaplandığında

0-2μ/L aralığındaki grupta, 4 (% 21,1) hasta 2-100 μ/L aralığındaki grupta, 2 (% 10,5) hasta 100-1000μ/L aralığındaki grupta, (+) boyanma saptanan 4 (% 25) hasta 0-2 μ/L aralığındaki grupta, 3 (% 18,8) hasta 2-100μ/L aralığındaki grupta, 4 (% 25) hasta 100-1000 μ/L aralığındaki grupta, 5 (% 31,3) hasta>1000 μ/L üstündeki grupta, (++) boyanma saptanan 8 (% 47,1) hasta 0-2 μ/L aralığındaki grupta, 4 (% 23,5) hasta 2-100 μ/L aralığındaki grupta, 3 (% 17,6) hasta 100-1000μ/L aralığındaki grupta, 2 (% 11,8) hasta >1000 μ/L üstü grupta, (+++) boyanma saptanan 2 (% 100) hasta 0-2 μ/L aralığındaki grupta yer almaktaydı. RT-PCR ile saptanan PRAME miktarı(P=0,156) ile invaziv kanserde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo 11).

İHK yöntemle PRAME çalışılan invaziv kanserli hastalardan boyanma saptanmayan 13 (% 68,4) hasta İHK olarak meme kanserinin insitu komponentinde boyanma saptanmayan grupta, 6 (% 31,6) hasta insitu komponentin (+) boyanma saptanan grubunda, (+) boyanma saptanan 7 (% 43,8) hasta insitu komponentin boyanma saptanmayan grubunda, 5 (% 31,3) hasta insitu komponentin (+) boyanma saptanan grubunda, 4 (% 25) hasta insitu komponentin (++) boyanma saptanan grubunda, (++) boyanma saptanan 7 (% 41,2) hasta insitu komponentin boyanma saptanmayan grubunda, 10 (% 58,8) hasta insitu komponentin (++) boyanma saptanan grubunda, (+++) boyanma saptanan 2 (% 100) hasta insitu komponentin boyanma saptanmayan grubunda yer aldı (Tablo 11).

Tablo 11. İnvaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu ile menopozal durum, LVİ, grade, evre, ER, PR, cerbB2 reseptör durumu, RT-PCR ile saptanan PRAME değerlerinin kıyaslanması

İNVAZİV MEME CA PRAME (İHK)									
	(-)		(+)		(++)		(+++)		
	n	%	n	%	N	%	N	%	P
Menopoz									
Premenopoz	10	52,6	9	56,3	5	29,4	0	0	0,206
Postmenopoz	9	47,4	7	43,8	12	70,6	2	100	
Grade									
2	15	78,9	10	62,5	6	35,3	0	0	0,020
3	4	21,1	6	37,5	11	64,7	2	100	
Lenfovasküler İnvazyon									
Yok	6	31,6	8	50	7	41,2	1	50	0,729
Var	13	68,4	8	50	10	58,8	1	50	
Östrojen Reseptörü									
(-)	3	15,8	5	31,3	9	52,9	1	50	0,119
(+)	16	84,2	11	68,8	8	47,1	1	50	
Progesteron Reseptörü									
(-)	6	31,6	7	43,8	9	52,9	1	50	0,628
(+)	13	68,4	9	56,3	8	47,1	1	50	
Cerb-B2									
(-)	12	63,2	7	43,8	6	35,3	1	50	0,397
(+)	7	36,8	9	56,3	11	64,7	1	50	
PRAME (RT-PCR)									
(-) (<2 µ/L)	13	68,4	4	25	8	47,1	2	100	0,035
(+) (>2 µ/L)	6	31,6	12	75	9	52,9	0	0	
EVRE									
0-1	5	26,3	4	25	1	5,9	1	50	0,2
2	6	31,6	6	37,5	12	70,6	0	0	
3-4	8	42,1	6	37,5	4	23,5	1	50	
PRAME(RT-PCR µ/L)									
0-2 µ/L	13	68,4	4	25	8	47,1	2	100	0,156
2-100 µ/L	4	21,1	3	18,8	4	23,5	0	0	
100-1000 µ/L	2	10,5	4	25	3	17,6	0	0	
1000 µ/L ve üstü	0	0	5	31,3	2	11,8	0	0	

İnvaziv meme kanserinde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçları boyanmayan (-) ve (+) boyanan ile (++) ve (+++) boyananlar olarak gruplandırıldı. Bu iki grup ile çalışmadaki diğer parametreler tekrar istatistiki olarak analiz edildi. Boyanmayan (-)/(+) boyanan grupta 35, (++)/(+++) boyanan grupta 19 hasta saptandı. (-)/(+) boyanan grubun yaş ortalaması 49,7±9,6 olup 30 ile 69 yaş arasında değişiyordu. (++)/(+++) boyanan grubun yaşı 40 ile 69 yaş arasında olup, yaş ortalaması 52,0±8,0 olarak bulundu. Her iki gruptaki toplam hastaların yaşı ise 30 ile 69 arasında idi ve yaş ortalaması ise 50,5±9,1 idi.

Boyanmayan (-)/(+) boyanan grupta tümör çapı, 1-6 cm arasında ortalaması 2,3±1,0 cm, çıkarılan Reaksiyoner lenf nodu sayısı 0-61 arasında ortalaması 19,1±14,7, metastatik lenf nodu sayısı 0-44 arasında olup ortalaması 4,7±8,3, RT-PCR ile tespit edilen PRAME kantitatif değeri 0-2552,8µ/L arasında ortalaması 289,7±589,2µ/L olarak tespit edildi. (++)/(+++) boyanan grupta tümör çapı, 1-5 cm arasında ortalaması 2,2±0,9 cm, çıkarılan Reaksiyoner lenf nodu sayısı 1-53 arasında ortalaması 17,6±11,4, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0-23 arasında ortalaması 4,0±6,0, RT-PCR ile tespit edilen PRAME kantitatif değeri 0- 2407,7µ/L arasında olup, ortalaması 271,1±608,5µ/L olarak belirlendi. Yaş (P=0,387), tümör çapı (P=0,924), çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı (P=0,695), çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı (P=0,752), RT-PCR ile tespit edilen PRAME kantitatif değerleri (P=0,913) ile invaziv kanserde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 12).

Tablo 12. İnvaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu gruplanmış halinin RT-PCR ile saptanan PRAME değerleri, demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması

INVAZİV MEME Ca PRAME (İHK)							
	(-) ve (+)		(++) ve (+++)		Toplam		
	mean±sd (n=35)	median (min-max)	mean±sd (n=19)	median (min-max)	mean±sd (n=54)	median (min-max)	P
Yaş	49,7±9,6	47,0 (30,0-69,0)	52,0±8,0	52,0 (40,0-69,0)	50,5±9,1	49,5 (30,0-69,0)	0,387
Tümör çapı	2,3±1,0	2,0 (1,0-6,0)	2,2±0,9	2,0 (1,0-5,0)	2,2±1,0	2 (1,0-6,0)	0,924
Reaksiyoner lenf nodu sayısı	19,1±14,7	17,0 (0-61,0)	17,6±11,4	16,0 (1,0-53,0)	18,6±13,5	17,0 (0-61,0)	0,695
Metastatik lenf nodu sayısı	4,7±8,3	2,0 (0-44,0)	4,0±6,0	1,0 (0-23,0)	4,5±7,8	1,0 (0,44,0)	0,752
PRAME(RT-PCR µ/L)	289,7±589,2	9,5 (0-2552,8)	271,1±608,5	0 (0-2407,7)	283,2±590,4	1,0 (0-2552,8)	0,913

İnvaziv kanserde İHK ile çalışılan PRAME sonuçlarından (-)/(+) boyanan grupta 25 (% 71,4) hastanın grade 2, 10 (% 28,6) hastanın grade 3, 9 (% 25,7) hastanın evre 0-1, 12 (% 34,3) hastanın evre 2, 14 (% 40) hastanın evre 3-4, (++)/(+++) boyanan grupta 6 (% 31,6) hastanın grade 2, 13 (% 68,4) hastanın grade 3, 2 (% 10,5) hastanın evre 0-1, 12 (% 63,2) hastanın evre 2, 5 (% 26,3) hastanın evre 3-4 tümörü vardı. Tümörün grade(P=0,005) ile invaziv kanserde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanırken, evre (P=0,113) ile ilişkisi saptanmadı (Tablo 13).

İnvaziv kanserde İHK ile çalışılan PRAME sonuçlarından (-)/(+) boyanan grupta 19 (% 54,39) hasta PRM durumda 16 (% 45,7) hasta PM durumda, 14 (% 40) hastada LVİ (-), 21 (% 60) hastada LVİ (+), 8 (% 22,9) hastada ER (-), 27 (% 77,1) ER (+),13 (% 37,1) hastada PR (-), 22 (% 62,9) hastada PR (+), 19 (% 54,3) hastada cerb-B2 (-), 16 (% 45,7) hastada cerb-B2 (+), 17 (% 48,6) hastada RT-PCR ile PRAME eksperesyonu (-), 18 (% 51,4) hastada RT-PCR ile PRAME eksperesyonu (+), (++)/(+++) boyanan grupta 5 (% 26,3) hasta PRM durumda, 14 (% 73,7) hasta PM durumda, 8 (% 42,1) hastada LVİ (-), 11 (% 57,9) hastada LVİ (+), 10 (% 52,6) hastada ER (-), 9 (% 47,4) hastada ER (+) 10 (% 52,6) hastada PR (-), 9 (% 47,4) hastada PR (+), 7 (% 36,8) hastada cerb-B2 (-), 12 (% 63,2) hastada cerb-B2 (+), 10 (% 52,6) hastada RT-PCR ile PRAME eksperesyonu (-), 9 (% 47,4) hastada RT-PCR ile PRAME eksperesyonu (+) saptandı. PR durumu (P=0,208), cerb-B2 reseptör durumu (P=0,174), LVİ (P=0,553), RT-PCR ile PRAME ekspresyon durumu (P=0,5) ile invaziv meme kanserinde İHK yöntemle çalışılan PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmazken, ER durumu (P=0,029) ve Menopozal durum (P=0,044) arasında ilişki saptandı (Tablo 13).

Tablo 13. İnvaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu gruplanmış şekli ile menopozal durum, grade, evre, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu ve RTPCR PRAME ekspresyonunun kıyaslanması

	INVAZIV MEME Ca PRAME (İHK)						
	(-) ve (+)		**(++) ve (+++)**		**Toplam**		
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**p**
Menopoz							
Premenopoz	19	54,3	5	26,3	24	44,4	0,044
Postmenopoz	16	45,7	14	73,7	30	55,6	
Grade							
2	25	71,4	6	31,6	31	57,4	0,005
3	10	28,6	13	68,4	23	42,6	
Lenfovasküler İnvazyon							
Yok	14	40	8	42,1	22	40,7	0,553
Var	21	60	11	57,9	32	59,3	
Östrojen Reseptörü							
(-)	8	22,9	10	52,6	18	33,3	0,029
(+)	27	77,1	9	47,4	36	66,7	
Progesteron Reseptörü							
(-)	13	37,1	10	52,6	23	42,6	0,208
(+)	22	62,9	9	47,4	31	57,4	
Cerb-B2							
(-)	19	54,3	7	36,8	26	48,1	0,174
(+)	16	45,7	12	63,2	28	51,9	
PRAME(RTPCR)							
(-)(<2 µ/L)	17	48,6	10	52,6	27	50	0,5
(+)(>2 µ/L)	18	51,4	9	47,4	27	50	
Evre							
0-1	9	25,7	2	10,5	11	20,4	
2	12	34,3	12	63,2	24	44,4	0,113
3-4	14	40	5	26,3	19	35,2	

4.2. Meme Kanseri Olgularında İnsitu Kanser Komponentinde İHK Yöntemle Tespit Edilen PRAME Sonuçlarının Diğer Parametrelerle Karşılaştırılması

İnvaziv meme kanserli olguların insitu kanser komponentinde İHK yöntemle PRAME, boyanma şekline göre, boyanmayan (-), (+) ve (++) boyanan olarak üç gruba ayrıldı. 29 olgu içeren boyanmayan (-) grubun yaşı 33 ile 66 arasında olup yaş ortalaması 49,5±8,0, tümör çapı 1 ile 6 cm arasında olup ortalaması 2,4±1,2 cm, Reaksiyoner lenf nodu sayısı 0 ile 38 arasında olup ortalaması 15,5±9,2, metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 44 arasında olup ortalaması 4,6±9,1, RT-PCR ile bulunan PRAME kantitatif değeri 0 µ/L ile 2552,8 µ/L arasında değişip ortalaması 261,2±662,6 µ/L

bulundu. 11 olgu içeren (+) boyanan grubun yaşı 30 ile 69 arasında ortalaması ise 52,5±11,1, tümör çapı 1 ile 3 cm arasında ortalaması ise 1,9±0,6 cm, Reaksiyoner lenf nodu sayısı 0 ile 61 arasında ortalaması ise 23,7±20,6, metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 20 arasında ortalaması ise 5,0±6,9, RT-PCR ile bulunan PRAME kantitatif değeri 0 µ/L ile 1703,5 µ/L arasında ortalaması ise 431,7±633,9 µ/L bulundu. 14 olgu içeren (++) boyanan grubun yaşı 40 ile 69 arasında ortalaması ise 51,0±9,5, tümör çapı 1 ile 3 cm arasında ortalaması ise 2,1±0,7 cm, Reaksiyoner lenf nodu sayısı 0 ile 53 arasında ortalaması ise 20,7±13,8, metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 20 arasında ortalaması ise 3,6±5,6, RT-PCR ile bulunan PRAME kantitatif değeri 0 µ/L ile 1270,4 µ/L arasında ortalaması ise 211,8±375,4 µ/L olarak hesaplandı. Yaş (P=0,640), tümör çapı (P=0,265), reaksiyoner lenf nodu sayısı (P=0,185), metastatik lenf nodu sayısı (P=0,898), meme kanserinde RT-PCR ile hesaplananan PRAME kantitatif sonuçları (P=0,633) ile invaziv meme kanserinin insitu kanser komponentindeki İHK çalışılan PRAME sonuçları arasında, yapılan istatistiksel analizde anlamlı ilişki tespit edilmedi (Tablo 14).

Tablo 14. Meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME ekspresyonu ile RT-PCR ile saptanan PRAME değerleri, demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması

MEME KANSERİNİN İNSUTU CA KOMPONENTİNDE PRAME (İHK)							
	(-)		(+)		(++)		
	mean±sd (n=29)	median (min-max)	mean±sd (n=11)	median (min-max)	mean±sd (n=14)	median (min-max)	p
Yaş	49,5±8,0	50,0 (33,0-66,0)	52,5±11,1	56,0 (30,0-69,0)	51,0±9,5	47,5 (40,0-69,0)	0,640
Tümör çapı	2,4±1,2	2,2 (1,0-6,0)	1,9±0,6	2,0 (1,0-3,0)	2,1±0,7	2,0 (1,0-3,0)	0,265
Reaksiyoner lenf nodu sayısı	15,5±9,2	13,0 (0-38,0)	23,7±20,6	17,0 (0-61,0)	20,7±13,8	19,5 (0-53,0)	0,185
Metastatik lenf nodu sayısı	4,6±9,1	1,0 (0-44,0)	5,0±6,9	2,0 (0-20,0)	3,6±5,6	1,5 (0-20,0)	0,898
PRAME (RTPCR µ/L)	261,2±662,6	2,0 (0-2552,8)	431,7±633,9	0 (0-1703,5)	211,8±375,4	4,3 (0-1270,4)	0,633

Meme kanserinin insitu kanser komponentinde İHK ile çalışılan PRAME sonuçlarından boyanmayan (-) grupta 13 (% 44,8) hasta PRM, 16 (% 55,2) hasta PM, 18 (% 62,1) hastanın tümörü grade 2, 11 (% 37,9) hastanın tümörü grade 3, 11 (% 37,9) hastanın tümöründe LVİ (-), 18 (% 62,1) hastanın tümöründe LVİ (+), 11 (% 37,9) hastanın tümöründe ER (-), 18 (% 62,1) hastanın tümöründe ER (+), 12 (% 41,4)

hastanın tümöründe PR (-), 17 (% 58,6) hastanın tümöründe PR (+), 13 (% 44,8) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 16 (% 55,2) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 14 (% 48,3) hastada RT-PCR ile PRAME (-), 15 (% 51,7) hastada RT-PCR ile PRAME (+), 5 (% 17,2) hastanın tümörü evre 0-1, 13 (% 44,8) hastanın tümörü evre 2, 11 (% 37,9) hastanın tümörü evre 3-4, 13 (% 44,8) hasta invaziv meme kanserinin İHK ile PRAME boyanmayan (-) grubunda, 7 (% 24,1) hasta invaziv meme kanserinin İHK ile PRAME (+) boyanan grubunda, 7 (% 24,1) hasta invaziv meme kanserinin İHK ile PRAME (++) boyanan grubunda, 2 (% 6,9) hasta invaziv meme kanserinin İHK ile PRAME (+++) boyanan grubunda, 14 (% 48,3) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında 0-2 μ/L arasındaki grupta, 8 (% 27,6) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında 2-100 μ/L arasındaki grupta,4 (% 13,8) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında 100-1000 μ/L arasındaki grupta, RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında >1000 μ/L üstündeki grupta bulundu. (+) boyanan grupta 5 (% 45,5) hasta PRM, 6 (% 54,5) hasta PM, 9 (% 81,8) hastanın tümörü grade 2, 2 (% 18,2) hastanın tümörü grade 3, 5 (45,5) hastanın tümöründe LVİ (-), 6 (% 54,5) hastanın tümöründe LVİ (+), 1 (% 9,1) hastanın tümöründe ER (-), 10 (% 90,9) hastanın tümöründe ER (+), 4 (% 36,4) hastanın tümöründe PR (+), 7 (% 63,6) hastanın tümöründe PR (+), 7 (% 63,6) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 4 (% 36,4) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 6 (% 54,5) hastada RT-PCR ile PRAME (-), 5 (% 45,5) hastada RT-PCR ile PRAME (+), 4 (% 36,4) hastanın tümörü evre 0-1, 3 (% 27,3) hastanın tümörü evre 2, 4 (% 36,4) hastanın tümörü evre 3-4, 6 (% 54,5) hasta invaziv meme kanserinin İHK ile PRAME boyanmayan (-) grubunda, 5 (% 45,5) hasta invaziv meme kanserinin İHK ile PRAME (+) boyanan grubunda, 6 (% 54,5) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında 0-2 μ/L arasındaki grupta, 2 (% 18,2) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında 100-1000 μ/L arasındaki grupta, 3 (% 27,3) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında >1000 μ/L arasındaki grupta bulundu. (++) boyanan grupta 6 (% 42,9) hasta PRM, 8 (% 57,1) hasta PM, 4 (% 28,6) hastanın tümörü grade 2, 10 (% 71,4) hastanın tümörü grade 3, 6 (% 42,9) hastanın tümöründe LVİ (-), 8 (% 57,1) hastanın tümöründe LVİ (+), 6 (% 42,9) hastanın tümöründe ER (-), 8 (% 57,1) hastanın tümöründe ER (+), 7 (% 50) hastanın tümöründe PR (-), 8 (% 57,1) hastanın tümöründe PR (+), 6 (% 42,9) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 8 (% 57,1) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 7 (% 50) hastada RT-PCR ile PRAME (-), 7 (% 50)

hastada RT-PCR ile PRAME (+), 2 (% 14,3) hastanın tümörü evre 0-1, 8 (% 57,1) hastanın tümörü evre 2, 4 (% 28,6) hastanın tümörü evre 3-4, 4 (% 28,6) hasta invaziv meme kanserinin İHK ile PRAME (+) boyanan grubunda, 10 (% 71,4) hasta invaziv meme kanserinin İHK ile PRAME (++) boyanan grubunda, 7 (% 50) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında 0-2 μ/L arasındaki grupta, 3 (% 21,4) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında 2-100 μ/L arasındaki grupta, 3 (% 21,4) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında 100-1000 μ/L arasındaki grupta, 1 (% 7,1) hasta RT-PCR ile PRAME kantitatif hesaplandığında >1000 μ/L arasındaki grupta bulundu.

Menopozal durum (P=0,991), tümörün LVİ özelliği (P=0,895), ER durumu (P=0,153), PR durumu (P=0,776), cerb-B2 reseptör durumu (P=0,511), evre (P=0,516), meme kanserinde RT-PCR ile PRAME ekspresyonu (P=0,939), meme kanserinde RT-PCR ile PRAME kantitatif sonuçları (P=0,463) ile invaziv meme kanserinin insitu kanser komponentinde İHK ile saptanan PRAME sonuçları arasında yapılan istatistiksel analizlerde anlamlı ilişki bulunmadı.

Tümörün grade'i (P=0,021) ve invaziv meme kanserinde İHK ile saptanan PRAME sonuçları (P= 0,002) ile invaziv meme kanserinin insitu kanser komponentinde İHK ile çalışılan PRAME sonuçları arasında yapılan istatistiksel analizlerde anlamlı ilişki tespit edildi (Tablo 15).

Tablo 15. Meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME ekspresyonu ile menopozal durum, grade, LVİ, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu, evre, RT-PCR PRAME ekspresyonu değerleri ve invaziv meme kanserinin İHK PRAME ekspresyonunun kıyaslanması

MEME KANSERİNİN İNSUTU CA KOMPONENTİNDE PRAME (İHK)							
	(-)		(+)		(++)		
	n	%	N	%	n	%	P
Menopoz							
Premenopoz	13	44,8	5	45,5	6	42,9	0,991
Postmenopoz	16	55,2	6	54,5	8	57,1	
Grade							
2	18	62,1	9	81,8	4	28,6	0,021
3	11	37,9	2	18,2	10	71,4	
Lenfovasküler İnvazyon							
Yok	11	37,9	5	45,5	6	42,9	0,895
Var	18	62,1	6	54,5	8	57,1	
Östrojen Reseptörü							
(-)	11	37,9	1	9,1	6	42,9	0,153
(+)	18	62,1	10	90,9	8	57,1	
Progesteron Reseptörü							
(-)	12	41,4	4	36,4	7	50	0,776
(+)	17	58,6	7	63,6	7	50	
Cerb-B2							
(-)	13	44,8	7	63,6	6	42,9	0,511
(+)	16	55,2	4	36,4	8	57,1	
PRAME (RTPCR)							
(-) (<2 µ/L)	14	48,3	6	54,5	7	50	0,939
(+) (>2 µ/L)	15	51,7	5	45,5	7	50	
Evre							
0-1	5	17,2	4	36,4	2	14,3	0,516
2	13	44,8	3	27,3	8	57,1	
3-4	11	37,9	4	36,4	4	28,6	
Invaziv meme ca PRAME (İHK)							
(-)	13	44,8	6	54,5	0	0	0,002
(+)	7	24,1	5	45,5	4	28,6	
(++)	7	24,1	0	0	10	71,4	
(+++)	2	6,9	0	0	0	0	
PRAME (RTPCR µ/L)							
0-2 µ/L	14	48,3	6	54,5	7	50	0,463
2-100 µ/L	8	27,6	0	0	3	21,4	
100-1000 µ/L	4	13,8	2	18,2	3	21,4	
1000 µ/L ve üstü	3	10,3	3	27,3	1	7,1	

Meme kanserinin insitu kanser komponentinde İHK ile saptanan PRAME sonuçları boyanmayan (-)/(+) boyanan grup ve (++) boyanan grup olarak iki gruba ayrıldı. İki gruptaki sonuçlar diğer parametrelerle tekrardan istatistiksel olarak analiz edildi. 40 olgu bulunan boyanmayan (-)/(+) boyanan grubun yaşı 30 ile 69 arasında ortalaması ise 50,4±8,0, tümör çapı 1 ile 6 cm arasında ortalaması ise 2,3±1,1 cm, çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı 0 ile 61 arasında ortalaması ise 17,8±13,6, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 44 arasında ortalaması ise 4,8±8,5, RT-PCR

ile saptanan PRAME kantitatif değeri 0 µ/L ile 2558,2 µ/L arasında ortalaması ise 308,1±651,3 µ/L olarak bulundu. 14 olgu bulunan (++) boyanan grubun yaşı 40 ile 69 arasında ortalaması ise 51,0±9,5, tümör çapı 1 ile 3 cm arasında ortalaması ise 2,2±0,8 cm, çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı 0 ile 53 arasında ortalaması ise 20,8±13,8, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 20 arasında ortalaması ise 3,7±5,7, RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif değeri 0 µ/L ile 1270,4 µ/L arasında ortalaması ise 211,9±375,4 µ/L olarak bulundu.

Yaş (P=0,827), tümör çapı (P=0,593), çıkarılan reaksiyoner (P=0,484) ve metastatik lenf nodu sayısı (P=0,653), meme kanserinde RT-PCR ile saptanan PRAME sonuçlarıyla (P=0,604) meme kanserinin insitu kanser komponentindeki İHK PRAME sonuçları arasında istatistiksel anlamlı ilişki tespit edilmedi (Tablo 16).

Tablo 16. Meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME ekspresyonu ile RT-PCR ile saptanan PRAME değerleri, demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması

MEME KANSERİNİN İNSİTU Ca KOMPONENTİNDE PRAME (İHK)					
	(-) ve (+)		(++)		
	mean±sd (n=40)	median (min-max)	mean±sd (n=14)	Median (min-max)	P
Yaş	50,4±8,0	50,0 (30,0-69,0)	51,0±9,5	47,5 (40,0-69,0)	0,827
Tümör çapı	2,3±1,1	2,0 (1,0-6,0)	2,2±0,8	2,2 (1,0-3,0)	0,593
Reaksiyoner Lenf nodu sayısı	17,8±13,6	15,5 (0-61,0)	20,8±13,8	19,5 (0-53,0)	0,484
Metastatik lenf nodu sayısı	4,8±8,5	1,0 (0-44,0)	3,7±5,7	1,5 (0-20,0)	0,653
PRAME (RTPCR µ/L)	308,1±651,3	1,0 (0-2552,8)	211,9±375,4	4,3 (0-1270,4)	0,604

Meme kanserinin insitu kanser komponentinin İHK ile saptanan PRAME sonuçlarından boyanmayan (-)/(+) boyanan grupta 18 (% 45) hasta PRM, 22 (% 55) hasta PM, 27 (% 67,5) hastanın tümörü grade 2, 13 (% 32,5) hastanın tümörü grade 3, 16 (% 40) hastanın tümöründe LVİ (-), 24 (% 60) hastanın tümöründe LVİ (+), 12 (% 30) hastanın tümöründe ER (-), 28 (% 70) hastanın tümöründe ER (+), 16 (% 40) hastanın tümöründe PR (-), 24 (% 60) hastanın tümöründe PR (+), 20 (% 50) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 20 (% 50) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 20 (% 50) hastada RT-PCR ile PRAME (-), 20 (% 50) hastada RT-PCR ile PRAME (+), 9 (% 22,5) hastanın tümörü evre 0-1, 16 (% 40) hastanın tümörü evre 2, 15 (% 37,5) hastanın tümörü evre 3-4, 31 (% 77,5) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME sonuçlarından boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 9 (% 22,5) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME sonuçlarından (++)/(+++) boyanan grubunda bulundu. Meme

kanserinin insitu kanser komponentinin İHK ile saptanan PRAME sonuçlarından (++) boyanan grupta 6 (% 42,9) hasta PRM, 8 (% 57,1) hasta PM, 4 (% 28,6) hastanın tümörü grade 2, 10 (% 71,4) hastanın tümörü grade 3, 6 (% 42,9) hastanın tümöründa LVİ (-), 8 (% 57,1) hastanın tümöründe LVİ (+), 6 (% 42,9) hastanın tümöründe ER (-), 8 (% 57,1) hastanın tümöründe ER (+), 7 (% 50) hastanın tümöründe PR (-), 7 (% 50) hastanın tümöründe PR (+), 6 (% 42,9) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 8 (% 57,1) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 7 (% 50) hastada RT-PCR ile PRAME (-), 7 (% 50) hastada RT-PCR ile PRAME (+), 2 (% 14,3) hastanın tümörü evre 0-1, 8 (% 57,1) hastanın tümörü evre 2, 4 (% 28,6) hastanın tümörü evre 3-4, 4 (% 28,6) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 10 (% 71,4) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME (++)/(+++) boyanan grubunda bulundu.

Meme kanserinin insitu kanser komponentinin İHK PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli ile Menopozal durum (P=0,571), tümörün LVİ özelliği (P=0,547), tümörün ER durumu (P=0,288), PR durumu (P=0,366), cerb-B2 reseptör durumu (P=0,442), evre (P=0,531), meme kanserinde RT-PCR ile saptanan PRAME ekspresyonu (P=0,621) sonuçları arasında istatistiksel anlamlı sonuç saptanmadı.

Meme kanserinin insitu kanser komponentinin İHK PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli ile tümörün grade'i (P=0,013) ve invaziv meme kanserinin İHK PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli (P=0,002) arasında istatistiksel anlamlı ilişki tespit edildi (Tablo 17).

Tablo 17. İnsitu komponentinin İHK PRAME eksperesyonu gruplanmış şekli ile menopozal durum, LVİ, grade, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu, evre, PRAME RT-PCR ekspresyonu ve invaziv meme kanserinde İHK PRAME ekspresyonu gruplanmış şeklinin kıyaslanması

MEME KANSERİNİN İNSUTU Ca KOMPONENTİNDE PRAME (İHK)							
	(-) ve (+)		(++)		Toplam		
	n	%	N	%	n	%	P
Menopoz							
Premenopoz	18	45	6	42,9	24	44,4	0,571
Postmenopoz	22	55	8	57,1	30	55,6	
Grade							
2	27	67,5	4	28,6	31	57,4	0,013
3	13	32,5	10	71,4	23	42,6	
Lenfovasküler İnvazyon							
Yok	16	40	6	42,9	22	40,7	0,547
Var	24	60	8	57,1	32	59,3	
Östrojen Reseptörü							
(-)	12	30	6	42,9	18	33,3	0,288
(+)	28	70	8	57,1	36	66,7	
Progesteron Reseptörü							
(-)	16	40	7	50	23	42,6	0,366
(+)	24	60	7	50	31	57,4	
Cerb-B2							
(-)	20	50	6	42,9	26	48,1	0,442
(+)	20	50	8	57,1	28	51,9	
PRAME (RTPCR)							
(-)(<2 µ/L)	20	50	7	50	27	50	0,621
(+)(>2 µ/L)	20	50	7	50	27	50	
Evre							
0-1	9	22,5	2	14,3	11	20,4	0,531
2	16	40	8	57,1	24	44,4	
3-4	15	37,5	4	28,6	19	35,2	
İnvaziv Ca PRAME (İHK)							
(-) ve (+)	31	77,5	4	28,6	35	64,8	0,002
(++)ve (+++)	9	22,5	10	71,4	19	35,2	

4.3. Meme Kanseri Olgularında RT-PCR İle Saptanan PRAME Sonuçlarının Diğer Parametrelerle Karşılaştırılması

54 meme kanserli olguda RT-PCR kullanılarak PRAME kantitatif olarak değerlendirildi. Olgular PRAME ekspresyonu olan (+) ve olmayan (-) olarak iki gruba ayrıldı. PRAME (-) grupta 27 hasta olup, yaşları 30 ile 69 arasında ortalaması 51,2±8,7, tümör çapı 1 ile 6 cm arasında ortalaması 2,3±1,2 cm, çıkarılan lenf nodu sayısı 0 ile 48 arasında ortalaması 17,1±12,2, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 44 arasında ortalaması 4,1±9,1 olarak bulundu. PRAME (+) grupta ise 27 hasta olup yaşları 33 ile 69 arasında ortalaması 4,1±9,1, tümör çapı 1 ile 5 cm arasında ortalaması 2,2±0,8,

çıkarılan lenf nodu sayısı 0 ile 61 arasında ortalaması 20,1±14,9, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 23 arasında ortalaması 4,8±6,4, RT-PCR ile hesaplanan PRAME kantitatif değeri 2,1-2552,8 µ/L arasında ortalaması 566,3±737,5 µ/L olarak bulundu.

RT-PCR ile PRAME ekspresyonu sonuçlarıyla yaş (P=0,646), tümör çapı (P=0,661), çıkarılan reaksiyoner (P=0,442) ve metastatik lenf nodu sayısı (P=0,745) arasında yapılan istatistiksel analizde anlamlı ilişki bulunmazken, RT-PCR ile hesaplanan PRAME kantitatif değerleri (P=0,0001) arasında anlamlı ilişki bulundu (Tablo 18).

Tablo 18. Meme kanserinde RT-PCR PRAME ekspresyon sonuçları ile demografik, tümöre ait biyolojik verilerin ve RT-PCR PRAME kantitatif değerlerinin kıyaslanması

PRAME (RTPCR)					
	(-)		(+)		
	mean±sd (n=27)	**median (min-max)**	**mean±sd (n=27)**	**median (min-max)**	**p**
Yaş	51,2±8,7	52,0 (30,0-69,0)	50,0±9,5	47,0 (33,0-69,0)	0,646
Tümör çapı	2,3±1,2	2,0 (1,0-6,0)	2,2±0,8	2,0 (1,0-5,0)	0,661
Reaksiyoner lenf nodu sayısı	17,1±12,2	17,0 (0-48,0)	20,1±14,9	16,0 (0-61,0)	0,422
Metastatik lenf nodu sayısı	4,1±9,1	1,0 (0-44,0)	4,8±6,4	2,0 (0-23,0)	0,745
RTPCR (PRAME µ/L)	0±0	0 (0-0)	566,3±737,5	202,8 (2,1-2552,8)	0,0001

RT-PCR ile PRAME sonuçlarından PRAME (-) grupta, 11 (% 40,7) hasta PRM, 16 (% 59,3) hasta PM, 16 (% 59,3) hastanın tümörü grade 2, 11 (% 40,7) hastanın tümörü grade 3, 12 (% 44,4) hastanın tümöründe LVİ (-), 15 (% 55,6) hastanın tümöründe LVİ (+), 7 (% 25,9) hastanın tümöründe ER (-), 20 (% 74,1) hastanın tümöründe ER (+), 12 (% 44,4) hastanın tümöründe PR (-), 15 (% 55,6) hastanın tümöründe PR (+), 11 (% 40,7) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 16 (% 59,3) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 6 (% 22,2) hastanın tümörü evre 0-1, 14 (% 51,9) hastanın tümörü evre 2, 7 (% 25,9) hastanın tümörü evre 3-4 olarak bulundu. PRAME (+) grupta 13 (% 48,1) hasta PRM, 14 (% 51,9) hasta PM, 15 (% 55,6) hastanın tümörü grade 2, 12 (% 44,4) hastanın tümörü grade 3, 10 (% 37) hastanın tümöründe LVİ (-), 17 (% 63) hastanın tümöründe LVİ (+), 11 (% 40,7) hastanın tümöründe ER (-), 16 (% 59,3) hastanın tümöründe ER (+), 11 (% 40,7) hastanın tümöründe PR (-), 16 (% 59,3) hastanın tümöründe PR (+), 15 (% 55,6) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 12 (% 44,4)

hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 5 (% 18,5) hastanın tümörü evre 0-1, 10 (% 37) hastanın tümörü evre 2, 12 (% 44,4) hastanın tümörü evre 3-4 olarak bulundu.

Menopozal durum (P=0,392), tümör grade'i (P=0,5), tümör evresi (P=0,355), tümörün LVİ özelliği (P=0,391), tümörün ER durumu (P=0,193), PR durumu (P=0,5), cerb-B2 reseptör durumu (P=0,207) ile meme kanserinde RT-PCR ile PRAME ekspresyon sonuçları arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 19).

Tablo 19. Meme kanserinde RT-PCR PRAME ekspresyon sonuçlarının, menopozal durum, grade, evre, LVİ, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu ile kıyaslanması

MEME Ca PRAME (RT-PCR)							
	(-)(<2 µ/L)		**(+)(>2 µ/L)**		**Toplam**		
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**p**
Grade							
2	16	59,3	15	55,6	31	57,4	0,5
3	11	40,7	12	44,4	23	42,6	
Lenfovasküler İnvazyon							
Yok	12	44,4	10	37	22	40,7	0,391
Var	15	55,6	17	63	32	59,3	
Östrojen Reseptörü							
(-)	7	25,9	11	40,7	18	33,3	0,193
(+)	20	74,1	16	59,3	36	66,7	
Progesteron Reseptörü							
(-)	12	44,4	11	40,7	23	42,6	0,5
(+)	15	55,6	16	59,3	31	57,4	
Cerb-B2							
(-)	11	40,7	15	55,6	26	48,1	0,207
(+)	16	59,3	12	44,4	28	51,9	
Evre							
0-1	6	22,2	5	18,5	11	20,4	0,355
2	14	51,9	10	37	24	44,4	
3-4	7	25,9	12	44,4	19	35,2	
Menopoz							
Premenopoz	11	40,7	13	48,1	24	44,4	0,392
Postmenopoz	16	59,3	14	51,9	30	55,6	

Meme kanserinde RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif sonuçları 0-2 µ/L, 2-100 µ/L, 100-1000 µ/L, >1000 µ/L üzeri olmak üzere dört gruba ayrıldı. Dört grubun sonuçları diğer parametrelerle istatistiksel olarak analiz edildi. 0-2 µ/L PRAME değerine sahip grupta 27 hasta olup, yaşları 39 ile 69 arasında ortalaması 51,1±8,7, tümör çapı 1 ile 6 cm arasında ortalaması 2,3±1,2 cm, çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı 0 ile 48 arasında ortalaması 17,0±12,2, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 44 arasında ortalaması 4,1±9,1 olarak bulundu. 11 hasta 2-100 µ/L PRAME değerine

sahip grupta olup, yaşları 33 ile 66 arasında ortalaması 49,2±9,8, tümör çapı 1 ile 4 cm arasında ortalaması 2,3±1,0 cm, çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı 6 ile 53 arasında ortalaması 20,7±15,2, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 20 arasında ortalaması 5,0±6,5 olarak bulundu. 100-1000 µ/L değerine sahip PRAME grubunda 9 hasta olup yaşları 39 ile 69 arasında ortalaması 50,7±10,6, tümör çapı 1 ile 5 cm arasında ortalaması 2,1±1,0 cm, çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı 0 ile 29 arasında ortalaması 14,6±11,3, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 14 arasında ortalaması 2,7±4,7 olarak tespit edildi.> 1000 µ/L PRAME değerine sahip grupta 7 hasta olup yaşları 41 ile 62 arasında ortalaması 50,0±8,6, tümör çapı 1 ile 3 cm arasında ortalaması 2,0±0,5, çıkarılan reaksiyoner lenf nodu sayısı 10 ile 61 arasında ortalaması 26,0±17,7, çıkarılan metastatik lenf nodu sayısı 0 ile 23 arasında ortalaması 7,2±8,0 olarak bulundu.

Meme kanserinde RT-PCR ile PRAME kantitatif sonuçlarının gruplanmış şekliyle yaş (P=0,953), tümör çapı (P=0,894), çıkarılan reaksiyoner (P=0,335) ve metastatik (P=0,713) lenf nodu sayısı arasında istatistiksel ilişki saptanmadı (Tablo 20).

Tablo 20. Meme kanserinde PRAME RT-PCR sonuçları ile demografik ve tümöre ait biyolojik verilerin kıyaslanması

MEME Ca PRAME (RT-PCR µ/L)									
	0-2 µ/L		2-100 µ/L		100-1000 µ/L		1000 µ/L ve üstü		
	mean±sd (n=27)	median (min-max)	mean±sd (n=11)	median (min-max)	mean±sd (n=9)	median (min-max)	mean±sd (n=7)	median (min-max)	p
Yaş	51,1±8,7	52,0 (30,0-69,0)	49,2±9,8	47,0 (33,0-66,0)	50,7±10,6	46,0 (39,0-69,0)	50,0±8,6	47,0 (41,0-62,0)	0,953
Tümör çapı	2,3±1,2	2,0 (1,0-6,0)	2,3±1,0	2,3 (1,0-4,0)	2,1±1,0	2,0 (1,0-5,0)	2,0±0,5	2,2 (1,0-3,0)	0,894
Reaksiyoner lenf nodu sayısı	17,0±12,2	17,0 (0-48,0)	20,7±15,2	11,0 (6,0-53,0)	14,6±11,3	13,0 (0-29,0)	26,0±17,7	21,0 (10,0-61,0)	0,335
Metastatik lenf nodu sayısı	4,1±9,1	1,0 (0-44,0)	5,0±6,5	1,0 (0-20,0)	2,7±4,7	0 (0-14,0)	7,2±8,0	5,0 (0-23,0)	0,713

Meme kanserinde RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif sonuçlarından 0-2 µ/L arasında olan grupta 11 (% 40,7) hasta PRM, 16 (% 59,3) hasta PM, 16 (% 59,3) hastanın tümörü grade 2, 11 (% 40,7) hastanın tümörü grade 3, 12 (% 44,4) hastanın tümöründe LVİ (-), 15 (% 55,6) hastanın tümöründe LVİ (+), 7 (% 25,9) hastanın tümöründe ER (-), 20 (% 74) hastanın tümöründe ER (+), 12 (% 44,4) hastanın tümöründe PR (-), 15 (% 55,6) hastanın tümöründe PR (+), 11 (% 40,6) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 16 (% 59,3) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 6 (% 22,2) hastanın tümörü evre 0-1, 14 (% 51,9) hastanın tümörü evre 2, 7 (% 25,9) hastanın

tümörü evre 3-4, 17 (% 63) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 10 (% 37) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME (++)/(+++) boyanan grubunda, 20 (% 74,1) hasta meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 7 (% 25,9) hasta meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME (++) boyanan grubunda yer aldı. Meme kanserinde RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif sonuçlarından 2-100 μ/L arasında olan grupta 5 (% 45,5) hasta PRM, 6 (% 54,5) hasta PM, 5 (% 45,5) hastanın tümörü grade 2, 6 (% 54,5) hastanın tümörü grade 3, 4 (% 36,4) hastanın tümöründe LVİ (-), 7 (% 63,6) hastanın tümöründe LVİ (+), 5 (% 45,5) hastanın tümöründe ER (-), 6 (% 54,5) hastanın tümöründa ER (+), 5 (% 45,5) hastanın tümöründe PR (-), 6 (% 54,5) hastanın tümöründa PR (+), 6 (% 54,5) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 5 (% 45,5) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 1 (% 9,1) hastanın tümörü evre 0-1, 5 (% 45,5) hastanın tümörü evre 2, 5 (% 45,5) hastanın tümörü evre 3-4, 7 (% 63,6) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 4 (% 36,4) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME (++)/(+++) boyanan grubunda, 8 (% 72,7) hasta meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 3 (% 27,3) hasta meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME (++) boyanan grubunda bulundu. Meme kanserinde RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif sonuçlarından 100-1000 μ/L arasında olan grupta 4 (% 44,4) hasta PRM, 5 (% 55,6) hasta PM, 6 (% 66,7) hastanın tümörü grade 2, 3 (% 33,3) hastanın tümörü grade 3, 4 (% 44,4) hastanın tümöründe LVİ (-), 5 (% 55,6) hastanın tümöründe LVİ (+), 4 (% 44,4) hastanın tümöründe ER (-), 5 (% 55,6) hastanın tümöründe ER (+), 4 (% 44,4) hastanın tümöründe PR (-), 5 (% 55,6) hastanın tümöründe PR (+), 5 (% 55,6) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 4 (% 44,4) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 4 (% 44,4) hastanın tümörü evre 0-1, 2 (% 22,2) hastanın tümörü evre 2, 3 (% 33,3) hastanın tümörü evre 3-4, 6 (% 66,7) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 3 (% 33,3) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME (++)/(+++) boyanan grubunda, 6 (% 66,7) hasta meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 3 (% 33,3) hasta meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME (++) boyanan grubunda belirlendi. Meme kanserinde RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif sonuçlarından >1000 μ/L üzerinde olan grupta 4 (% 57,1) hasta PRM, 3 (% 42,9) hasta PM, 4 (57,1) hasta PRM,

3 (% 42,9) hasta PM, 2 (% 28,6) hastanın tümöründe LVİ (-), 5 (% 71,4) hastanın tümöründe LVİ (+), 2 (% 28,6) hastanın tümöründe ER (-), 5 (% 71,4) hastanın tümöründe ER (+), 2 (% 28,6) hastanın tümöründe PR (-), 5 (% 71,4) hastanın tümöründe PR (+), 4 (% 57,1) hastanın tümöründe cerb-B2 (-), 3 (% 42,9) hastanın tümöründe cerb-B2 (+), 3 (% 42,9) hastanın tümörü evre 2, 4 (% 57,1) hastanın tümörü evre 3-4, 5 (% 71,4) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 2 (% 28,6) hasta invaziv meme kanserinin İHK PRAME (++)/(+++) boyanan grubunda, 6 (% 85,7) hasta meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME boyanmayan (-)/(+) boyanan grubunda, 1 (% 14,3) hasta meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME (++) boyanan grubunda bulundu.

Meme kanserinin RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif sonuçlarının gruplanmış şekli ile Menopozal durum (P=0,894), tümör grade'i (P=0,802), tümörün LVİ özelliği (P=0,868), tümörün ER durumu (P=0,581), PR durumu (P=0,885), cerb-B2 reseptör durumu (P=0,753), tümörün evre'si (P=0,237), invaziv meme kanserinin İHK PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli (P=0,978), meme kanserinin insitu komponentinin İHK PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli (P=0,859) arasında yapılan istatistiksel analizde anlamlı ilişki bulunmadı.

11 hastada 2-100 μ/L,9 hastada 100-1000 μ/L, 7 hastada >1000 μ/L üstünde RT-PCR ile PRAME ekspresyonu saptandı. PRAME eksperesyonu ile hesaplanan kantitatif PRAME (P=0,0001) değerleri arasında anlamlı istatistiksel ilişki tespit edildi (Tablo 21).

Tablo 21. Meme kanserinde PRAME RT-PCR ekspresyonunun gruplanmış şekli ile menopozal durum, grade, LVİ, ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu, evre ve İHK PRAME ekspresyonu gruplanmış şeklinin kıyaslanması

MEME Ca PRAME (RT-PCR µ/L)											
	0-2 µ/L		2-100 µ/L		100-1000 µ/L		1000 µ/L ve üstü		Toplam		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	P
Menopoz											
Premenopoz	11	40,7	5	45,5	4	44,4	4	57,1	24	44,4	0,894
Postmenopoz	16	59,3	6	54,5	5	55,6	3	42,9	30	55,6	
Grade											
2	16	59,3	5	45,5	6	66,7	4	57,1	31	57,4	0,802
3	11	40,7	6	54,5	3	33,3	3	42,9	23	42,6	
Lenfovasküler İnvazyon											
Yok	12	44,4	4	36,4	4	44,4	2	28,6	22	40,7	0,868
Var	15	55,6	7	63,6	5	55,6	5	71,4	32	59,3	
Östrojen Reseptörü											
(-)	7	25,9	5	45,5	4	44,4	2	28,6	18	33,3	0,581
(+)	20	74,1	6	54,5	5	55,6	5	71,4	36	66,7	
Progesteron Reseptörü											
(-)	12	44,4	5	45,5	4	44,4	2	28,6	23	42,6	0,885
(+)	15	55,6	6	54,5	5	55,6	5	71,4	31	57,4	
Cerb-B2											
(-)	11	40,7	6	54,5	5	55,6	4	57,1	26	48,1	0,753
(+)	16	59,3	5	45,5	4	44,4	3	42,9	28	51,9	
PRAME (RT-PCR)											
(-)(<2 µ/L)	27	100	0	0	0	0	0	0	27	50	0,0001
(+)(>2 µ/L)	0	0	11	100	9	100	7	100	27	50	
Evre											
0-1	6	22,2	1	9,1	4	44,4	0	0	11	20,4	0,237
2	14	51,9	5	45,5	2	22,2	3	42,9	24	44,4	
3-4	7	25,9	5	45,5	3	33,3	4	57,1	19	35,2	
PRAME (İHK)											
(-)ve (+)	17	63	7	63,6	6	66,7	5	71,4	35	64,8	0,978
(++)ve (+++)	10	37	4	36,4	3	33,3	2	28,6	19	35,2	
İnsutu Ca PRAME (İHK)											
(-)ve (+)	20	74,1	8	72,7	6	66,7	6	85,7	40	74,1	0,859
(++)	7	25,9	3	27,3	3	33,3	1	14,3	14	25,9	

5. TARTIŞMA

Tüm dünyada kadınlar arasında kanser olgularının % 28-32'sinden ve kanser ölümlerinin % 17,6'sinden meme kanseri sorumludur.[1,2] Meme kanseri tanısı beraberinde birçok soruyu da akla getirmektedir. Lokal kontrol için hangi ameliyat seçilmelidir? Adjuvan radyoterapi ve/veya sistemik tedavi hangi hastalarda mutlaka uygulanmalıdır? Meme kanserinde tanıdan sonraki doğal seyir hastalar arasında farklılıklar göstermektedir. Meme kanseri aynı histolojik tipte, aynı evrede hatta aynı yaş gruplarında olsun hastadan hastaya farklı gelişme biçimleri gösteren bir hastalıktır. Bazı hastalar uzun süreler hastalıksız yaşarken bazılarında çok kısa sürelerde nüksler olmaktadır. Tümör büyüme hızı, invazyon ve metastaz yapma potansiyeli temelde bu farklılıkları oluşturmaktadır. Meme kanserinin bu özelliklerinin belirlenebilmesi hastalıksız sağkalım ve toplam yaşam sürelerinin daha doğru ortaya konulmasını ve hastaların doğru olarak gruplandırılmasını sağlayacaktır.

Günümüzde tümör gelişim özelliklerindeki farklılıkların belirlenmesi açısından hala pek çok bilinmeyen olmasına karşın birçok prognostik faktör hastalarda yüksek riskli grupların seçimi ve tedavinin buna dayanılarak yönlendirilmesi için kullanılmaktadır. Bu prognostik faktörler tümörün histolojik tipi, hastaya ait özellikler, aksiller lenf nodlarının durumu, tümörün çapı, tümörün ER, PR, cerb-B2 reseptör durumu, tümörün grade'i, tümörün evresi, tümörün LVİ özelliği, tümörün proliferasyon ve invazyon kapasitesi, tümör supressör genlerdir.[38]

Kanser testis antijenleri, tümör immunolojisinde ilgi çeken alanların başında gelmektedir. PRAME kanser testis antijen ailesinin önemli bir üyesidir. 22. kromozomda (22q11.22) 509 aminoasitten oluşan bir proteini kodlar. Fonksiyonu tam bilinmez. Normal dokularda oldukça düşük ekspresyon rapor edilmiştir. Normal testiste görece daha yüksek oranda eksprese olurken çok daha az seviyede endometriyum, adrenal bezler ve beyinde saptanabilir. Malign melanomalarda (% 97), nöroblastomada (% 93), sarkomlarda (% 80), akciğerin sukuamöz hücreli ve küçük hücreli kanserlerinde (% 70), wilm's tümöründe[6] ve akut lösemilerde (AML M3 % 75, ALL % 64, KML BC % 50 ve AML M2 % 45) bulunmaktadır. Renal hücreli karsinomlarda (% 40),[7] baş ve boyun tümörlerinde (% 29) orta düzeyde ekspresyonu mevcuttur.

Hücre membranı ve sitoplazmasında bulunan PRAME, sitotoksik T-lenfositleri tarafından tanınan immunojenik bir antijen olmasından ötürü bazı malign tümörde immunoterapi amaçlı kullanılabileceğini telkin eden bulgular vardır ve önümüzdeki yıllarda tedavi alanına girebileceğine dair veriler giderek artmaktadır.[9]

Yapılan çalışmaların kısıtlılığı nedeniyle meme kanseri dışındaki tümörlerde PRAME ekspresyonlarının prognostik önemini gözden geçirmek, daha yararlı bir yorum yapabilmek için, yararlı olacaktır. Nöroblastomada PRAME ekspresyonu sık olmaktadır ve ileri evre hastaların genelinde PRAME ekspresyonu görüldüğü bu gösterilmiştir. Oberthuer ve ark. nöroblastomada PRAME ekspresyonuyla yüksek tümör evresi ve tanı yaşı arasında anlamlı ilişki bulmuşlardır. RT-PCR ile PRAME ekspresyonu saptanan bu çalışma prognozu belirlemede PRAME'in önemli olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışma ile PRAME, nöroblastomada immünoterapi için ilgi çekici bir hedef gibi görülmektedir. [173]

Neumann ve ark. primer RCC dokusu ve RCC hücre dizinlerinde değişken sıklıkta RAGE-1, PRAME ve gp75 ekspresyonu bulunmuştur ki, bu da RCC hastalarından bir alt grubun immunoterapati için uygun bir hedef olduğu ve RAGE-1, gp75 ve/veya PRAME antijenlerine karşı RCC olgularının immünoterapiden fayda görebileceğini telkin etmektedir. Ancak, RCC'de T-hücre aracılı immünoterapi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.[7]

Over karsinomlarında bilinen prognostik faktörler yetersizdir. Partheen ve ark. CLU, ITGB3, PRAME ve CAPG'nin evre 3 seröz over adenokarsinomlarında prognostik faktör olarak kullanılabileceğini göstermiştir. PRAME over karsinomlarında kötü prognostik faktör olarak belirlenmiştir. [174]

Bankovic ve ark. küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde PRAME ekspresyonunun kanser gelişim aşamalarında önemli role sahip olduğunu göstermişlerdir.[175]

Figuerido ve ark. baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarının primer lezyonlarında ve bunların metastazlarında değişken oranda tümör spesifik genlerinin eksprese edildiği sonucuna varmışlar ve PRAME ekspresyonu metastatik lenf nodlarında her zaman saptanmıştır. Primer lezyonlarda, iki veya daha yüksek oranda gen ekspresyonuyla, sigara alışkanlığı ve ileri evre tümörlerle PRAME arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.[176]

PRAME mRNA'sının meme kanserli dokuda % 27 oranında bulunduğu yayınlanmıştır.[5] Başka bir çalışmada ise meme kanserli dokuda % 53, normal meme dokusunda ise % 37 oranında PRAME mRNA'sı bulunmuştur.[8] 295 meme kanserli hasta içeren en büyük çalışmada ise meme kanserli dokuların % 33'ünde yüksek düzeyde, % 67 sinde ise düşük düzeyde PRAME ekspresyonu saptanmıştır.[181]

Epping ve ark. ile Doolan ve ark. meme kanseri ve PRAME ekspresyonunun meme kanserindeki prognostik önemi konusunda yaptıkları çalışmalarda PRAME kötü prognostik faktör olarak gösterilmiştir.[8,181] Epping ve ark.[181] 295, Doolan ve ark.[8] ise 103 invaziv meme kanserinde RT-PCR ile PRAME mRNA'sı çalışmıştır. Ayrıca Dolan ve ark. 19 normal meme dokusunda da PRAME mRNA'sını RT-PCR ile çalıştılar.[8] Bizim çalışmamızda 54 invaziv meme kanserinde, 20 iyi huylu meme lezyonunda ve 10 normal meme dokusunda RT-PCR ile PRAME mRNA'sı çalışıldı. Ayrıca 54 invaziv meme kanserli ve 37 iyi huylu meme lezyonununda PRAME İHK olarak çalışıldı. Çalışmamızda yer alan hastaların yaşları 30 ile 69 arasında (ortalaması 52), tümör çapları 1 ile 6 cm arasında (ortalaması 2 cm), 24 (% 44,4) hasta PRM, 30 (% 55,6) hasta PM idi. Tümörün histolojik tipi 48 hastada İDC, 3 hastada invaziv lobüler karsinom, 1 hastada medüller karsinom, 1 hastada atipik medüller karsinom, 1 hastada duktal karsinoma insitu idi. 31 (% 57,4) hasta grade 2, 23 (% 42,6) hasta grade 3 tümöre sahipti. 22 (% 40,7) hastanın tümöründe LVİ (-), 32 (% 59,3) hastanın tümöründe LVİ (+) idi. 36 (% 66,7) hastanın tümöründe ER (+), 18 (% 33,3) hastanın tümöründe ER (-), 31 (% 57,4) hastanın tümöründe PR (+), 23 (% 42,6) hastanın tümöründe PR (-), 28 (% 51,9) hastanın tümöründe cerb-B2 reseptörü (+), 26 (% 48,1) hastanın tümöründe cer-B2 reseptörü (-) olarak saptandı. 33 hastanın aksillasında lenf nodu metastazı varken, 21 hastanın aksillasında lenf nodu yok idi.44 hasta modifiye radikal mastektomi, 6 hasta meme koruyucu cerrahi+ALND, 2 hasta meme koruyucu cerrahi+SLNB, 1 hasta (Duktal karsinoma insitu) meme koruyucu cerrahi + SLNB + doku ekspandır yerleştirilmesi, 1 hasta ise (evre 4) simple mastektomi şeklindeki cerrahi ile tedavi edildi. PRAME'in kantitatif olarak hesaplanan en düşük değeri 2,1 μ/L, en yüksek değeri 2552,8 μ/L idi. Meme kanserinde PRAME ekspresyon durumu ve kantitatif olarak hesaplanan PRAME değerleri ile klinikopatolojik faktörler arasında istatistiksel olarak ilişki saptanmadı. Bizim çalışmamızda PRAME ekspresyonu meme

kanserinde 27 (% 50) hastada, iyi huylu meme lezyonlarında 5 (% 25) hastada tespit edildi. Normal meme dokusunda PRAME ekspresyonu görülmedi. İHK olarak PRAME, invaziv meme kanserinde 19 (% 35,2) hastada boyanma yok, 16 (% 29,6) hastada (+) boyanma, 17 (% 31,5) hastada (++) boyanma, 2 (% 3,7) hastada (+++) boyanma şeklinde saptandı. İnvaziv meme kanserinin insitu komponentinde ise 29 (% 53,7) hastada İHK PRAME boyanması olmazken, 11 (% 20,4) (+) boyanma, 14 (% 25,9) hastada (++) boyanma bulundu.37 iyi huylu meme lezyonundan ise 5 hastada boyanma saptanmazken, 3 hastada (+), 19 hastada (++), 10 hastada (+++) boyanma saptandı. RT-PCR ile tespit edilen PRAME sonuçlarının literatüre yakın olduğu görüldü. İnvaziv meme kanserinde (P=0,020) ve invaziv meme kanserinin insitu komponentinde (P=0,021)İHK olarak bulunan PRAME sonuçlarıyla tümör grade'i arasında anlamlı ilişki tespit edildi. Meme kanserinin diğer klinikopatolojik faktörleri arasında istatistiksel ilişki saptanmadı. İHK PRAME sonuçları kendi aralarında gruplandırılarak tekrar istatistiksel analiz edildi. İnvaziv meme kanserinin İHK PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli ile Menopozal durum (P=0,044), tümör grade'i (P=0,005), ER durumu (P=0,0291) arasında ilişki bulundu. İnvaziv meme kanserinin insitu komponentinin PRAME sonuçlarının gruplanmış şekli ilede tümör grade'i (P=0,013) arasında ilişki bulundu. İHK sonuçlar, Epping ve ark. RT-PCR ile elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermekteydi. Çalışmamızda meme kanserinde PRAME İHK ve RT-PCR olmak üzere iki ayrı yöntemle çalışıldı ki mevcut çalışmalarda böyle bir kıyaslamalı değerlendirme olmadığı için çalışmamız bu konuda faklılık göstermektedir. İnvaziv meme kanserinde İHK olarak tespit edilen PRAME sonuçlarıyla RT-PCR ile saptanan PRAME ekspresyonu (P=0,035) ve RT-PCR ile saptanan PRAME kantitatif değerlerinin gruplanmamış şekli (P=0,025) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi. İnvaziv meme kanserinde İHK olarak tespit edilen PRAME sonuçlarının gruplanmamış ve gruplanmış (P=0,002) şekli ile invaziv meme kanserinin insitu komponentinin PRAME sonuçlarının gruplanmış ve gruplanmamış şekli arasında da istatistiksel anlamlı ilişki bulundu. Bu sonuçlara göre PRAME meme kanserinde İHK yöntemle çalışılabilir mi? sorusunu akla getirmekte. Ancak bunu ileride daha geniş hasta serileri ile yapılacak çalışmalarla doğrulamak gerekmektedir.

Bilinen bütün prognostik parametrelerle PRAME arasında ilişki saptanamamasının, çalışmamızdaki hasta sayısının düşük olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü. Sonuçlar Doolan ve ark.'nın çalışmasıyla benzerlik göstermekteydi.

Epping ve ark. 98 (% 33) hastada PRAME ekspresyonunu yüksek oranda, 197 (% 67) hastada ise PRAME ekspresyonunu düşük oranda tespit ederken, Doolan ve ark. PRAME ekspresyonunu meme kanserinde % 53, normal meme dokusunda ise % 37 oranında buldu.[8,181] Diğer bir çalışma ise meme kanserinde PRAME ekspresyonunu % 27 olarak bildirmektedir.[5] Epping ve ark. 295 invaziv meme kanserli hastada çalıştıkları PRAME ekspresyon sonuçlarını, yaş, tümör çapı, aksillaya lenf nodu metastazı, tümör grade'i, ER durumu, tümörün LVİ özelliği ile istatistiksel analiz ettiler. Sadece tümör grade'i ve ER durumu (P=<0,0001) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptadılar. Yüksek PRAME ekspresyon seviyelerini kötü differansiye tümörlerde, düşük PRAME ekspresyonunu ise iyi differansiye tümörlerde saptadılar (P=0,0005). ER (-) hastalarda yüksek PRAME ekspresyonu, ER (+) hastalarda ise düşük PRAME ekspresyonu saptadılar.[181]

Doolan ve ark. 103 invaziv meme kanserli hastada PRAME ekspresyonu ile yaş (P=0,958), tümör çapı (P=0,726), aksillaya lenfatik metastaz (P=0,109), tümörün grade'i (P=0,556), tümörün histolojik tipi (P=0,955), ER durumunu (P=0,892) karşılaştırdılar. Meme kanserinde klinikopatolojik faktörlerle PRAME ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulmadılar.[8] Bu çalışmada RT-PCR ve İHK olarak bulunan PRAME sonuçları yaş, menopozal durum, tümör çapı, çıkarılan reaksiyoner ve metastatik lenf nodu sayısı, tümör grade'i, tümörün LVİ özelliği, ER durumu, PR durumu, cerb-B2 reseptör durumu, tümörün evre'si ile istatistiksel analiz edildi.

Doolan ve ark. 103 invaziv meme kanserli hastayı ortalama 6 yıllık takipleri sonucunda, PRAME mRNA ekspresyonu olan hastaların hastalıksız yaşam sürelerinin (P=0,0004) ve toplam yaşam sürelerinin (P=0,0052) daha kısa olduğu tespit ettiler.[8] Epping ve ark. 295 invaziv meme kanserli hastayı ortalama 6,7 yıl takip etti ve PRAME ekspresyonu yüksek saptanan hastalarda hastalıksız yaşam süresinin (P=0,0029) ve toplam yaşam süresinin (P=0,0029) daha kısa olduğunu buldular.[181] Bu çalışmalar meme kanserinde PRAME'i diğer klinik ve patolojik faktörlerden bağımsız kötü prognostik faktör olarak belirledi. Doolan ve ark. 103 hastalık serilerinde adjuvan kemoterapi (KT) alan meme kanserli hastalardan PRAME ekspresyonu olanlarda

hastalık nüksünün daha kısa sürede geliştiğini belirlediler.[8] Bu sonuç 98 hasta içeren lösemi ve lenfomalarda yapılan çalışmayla benzerlik göstermekteydi. Lösemi ve lenfomalarda KT sonrası PRAME mRNA salınımı azalırken, PRAME ekspresyonu yüksek bulunan 2 hastada relapsı işaret etmekteydi.[163] Epping ve ark. çalışmasında ise kısa sürede nüks gelişen ve kısa toplam yaşam süresine sahip meme kanserli hasta grubunu, adjuvan KT almayan PRAME ekspresyonu yüksek bulunanlar oluşturmaktaydı. Bu sonuç Doolan ve ark.'nın sonucuyla çelişmekteydi. Epping ve ark. PRAME ekspresyonunun KT'den fayda görecek grubu belirlemede bağımsız bir belirleyici olabileceğini ileri sürdü.[181]

Günümüzdeki çalışmalar ışığında meme kanserinde PRAME ekspresyonunun prognostik önemi yanında, prediktif değerininde olduğu gösterilmiştir. İleride meme kanseri, iyi huylu meme lezyonları ve normal meme dokusu üzerinde yapılacak daha geniş çalışmalarla PRAME'in meme kanserinde rutin olarak çalışılan ve KT tedavisine cevabı belirleyen bir belirleyici olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Meme kanserinde PRAME ekspresyonunun kısa sürede nüks gelişmesi ve kısa toplam sağ kalım ile ilişkili olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur. Meme kanserinde PRAME kötü prognostik faktör olarak suçlanmaktadır.

1. Literatürde meme kanserinde PRAME ekspresyonu % 27 ile % 67 oarnında bildirilmiştir. Çalışmamızda PRAME ekspresyonu RT-PCR ile meme kanserinde % 50, iyi huylu meme lezyonlarında % 25 oranında saptanmış ve normal meme dokusunda PRAME ekspresyonuna saptanmamıştır. İHK PRAME ekspresyonu invaziv meme kanserinde % 29,6 (+) boyanma, % 31,5 (++) boyanma, % 3,7 (+++) boyanma iyi huylu meme lezyonlarıda, % 8 (+) boyanma, % 51,03 (++) boyanma, % 27,07 (+++) boyanma saptanmıştır.

2. Genel olarak meme kanserinde PRAME ekspresyonu RT-PCR ile çalışılmıştır. Biz meme kanserinde PRAME'i İHK ve RT-PCR olmak üzere iki farklı yöntemle çalıştık. İHK yöntemle ve RT-PCR ile saptanan PRAME sonuçları ile istatistiksel anlamlı paralellik saptanmıştır. Bu bulgu PRAME ekspresyonunun saptanmasında parafinli dokularda İHK yöntemle çalışılarak takibi uzun süre yapılmış olgularda geriye dönük PRAME ekspresyonunun prognostik ve varsa prediktif değerini belirlemek mümkün olabilir.

3. Çalışmamızda, meme kanserinde PRAME ekspresyon durumu ve kantitatif olarak hesaplanan PRAME değerleri ile bütün klinikopatolojik faktörler arasında istatistiksel olarak ilişki saptanmadı. İnvaziv meme kanserinde ve invaziv meme kanserinin insitu komponentinde İHK olarak bulunan PRAME sonuçlarıyla tümör grade'i arasında anlamlı ilişki tespit edildi. İnvaziv meme kanserinin İHK PRAME sonuçları ile PM durum, yüksek tümör grade'i, negatif ER durumu arasında ilişki bulundu. İnvaziv meme kanserinin insitu komponentinin PRAME sonuçları ile de tümör grade'i arasında ilişki bulundu. İHK sonuçlar meme kanserinde PRAME'in kötü prognostik faktör olabileceğini işaret etmektedir.

4. Literatürde PRAME ekspresyonu yüksek saptanan meme kanserli hastalarda hastalıksız yaşam süresinin ve toplam yaşam süresinin daha kısa olduğu gösterimiştir. Bu çalışmalarda PRAME meme kanserinde diğer klinik ve patolojik faktörlerden

bağımsız kötü prognostik faktör olarak belirtilmektedir. Yukarıda söz edilen İHK ile geriye dönük çalışmalar bu kounda kısa sürede sonuç verme avantajına sahiptir.

5. Literatürde adjuvan KT alan meme kanserli hastalardan PRAME ekspresyonu olanlarda hastalık nüksünün daha kısa sürede geliştiğini ve /veya kısa toplam yaşam süresine işaret eden çalışmaların olduğu ve bunun özellikle adjuvan KT almayan PRAME ekspresyonu yüksek hastalar olduğunu bildiren çalışmalar vardır. Bu sonuç PRAME ekspresyonunun KT'den fayda görecek hasta grubunu belirlemede bağımsız bir belirleyici olabileceğini göstermektedir. Yapılacak daha geniş hasta grubu içeren ve uzun takip süreli çalışmalarla PRAME'in meme kanserinde rutin olarak çalışılan ve KT'ye yanıtı belirleyen bir prediktif faktör olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

6. Hücre membranı ve sitoplazmasında bulunan PRAME, sitotoksik T-lenfositleri tarafından tanınan immünojenik bir antijen olmasından ötürü bazı malign tümörlerde immunoterapi amaçlı kullanılabileceğini telkin eden bulgular vardır. Önümüzdeki yıllarda tedavi alanına girebileceğine dair veriler giderek artmaktadır. Asıl önemli olan PRAME çalışılmasında en uygun örneğin nasıl alınacağı ve en uygun teknikle nasıl çalışılacağının belirlenmesidir.

7. PRAME ile meme kanseri ve diğer kanser türleri arasındaki ilişkinin ortaya konulabilmesi için daha geniş hasta grubu içeren ve daha uzun takip süresi gerektiren çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the Cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* **2007**; 18:581-92.

2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer Statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* **2007**; 57; 43-66.

3.Ravdin PM, Cronin KA, Howlader N, Berg CD, Chlebowski RT, Feuer EJ. The decrease in breast-cancer incidence in 2003 in the United States. *N Engl J Med* **2007**; 356 (16): 1670-4.

4. Cinieri S, Orlando L, Fedele P, Cusmai A, D'Amico M, Rizzo P. Adjuvant strategies in breast cancer: new prospectives, questions an. d reflections at the end of 2007 St Gailen International Expert Consensus Conference. *Ann Oncol* **2007**; 18 Suppl 6:63-5.

5. Ikeda H, Lethe B, Lehmann F. Characterization of an antigennthat is recognized on a melanoma showing partial HLA loss by CTL expressing an NK inhibitory receptor. Immunity **1997**; 6:199-208.

6. Li CM, Guo M,Borczuk A. Gene expression in Wilm's tumour mimics the earliest committed evre in the metanephric mesenchymal-epithelial transition. *AM J Pathol* **2002**; 160:2181-2190.

7. Neumann E,Engelsberg A, Decker J. Heterogeneous expression of the tumour -associated antigens RAGE-1, PRAME, and glycoprotein 75 in human renal cell carcinoma: candidates for T-cell -based immunotherapies? *Cancer Res* **2006**; 58; 4090-4095

8. Doolan P, Clynes M, Kennedy S, Mehta JP, Crown J, O'Driscoll L. Prevalence and prognostic and predictive relevance of PRAMEin breast cancer. Breast Cancer Res Treat July 12, **2007**.

9. Proto-Siqueira R, Figueiredo-Pontes LL, Panepucci RA. PRAME is a membrane and cytoplasmic protein abberrantly expressed in chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma. *Leuk Res* **2006**; 30; 1333-1339

10. Donegan WL. History of Breast Cancer in Breast Cancer, DJ Winchester, DP Winchester, CA Hudiand L. Norton. Editors. DC Decker Inc. Ontario **2006**, p.1-14.

11. Beenken SW, Wanger FB, Bland K. History of the therapy of breast cancer in The Breast, KI Blandand EM Copeland III. Saunders - Elsevier, St. Louis **2004**; p.3-18.

12. Sanders-Goebel S. Crisis and Controversy: Historical Patterns in Breast Cancer Surgery. CBMH/BCHM8:77-99; **1991.**

13. Guiliano AE, Kirgan DM, Guenter JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomyfor breast cancer. *Ann Surg* 231, 220:391-401, **1994.**

14. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J. Repeated observation of breast tumor subtypes in independentgene expression data sets. *Proc Natl Acad* USA 100:8418-23, **2003**.

15. Habel L, Shak S, Jacobs MK. A population - based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node - negative patients, *Breast Cancer Res* 31; **2006**; May,8 (3):R25.

16. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2008. Atlanta, Ga: American Cancer Society **2008**.

17. Burgut R, Tuncer İ, Bozdemir N. Türkiye'de 16 merkezin kanser verilerinin değerlendirilmesi. In: Tuncer İ, Burgut R, Bozdemir N, Eds. *TUBİTAK ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını* **1994**.

18.Hortobagyi GN, Esserman L, Buchholz TA. Neoplasm of the breast. In: Holland JF, Frei E (Eds.). Cancer medicine. 7th ed. London: BC Decker Inc; **2006**. p. 1584-1643.

19.Yoder BJ, Wilkinson EJ, Massoll NA. Molecular and morphologic distinctions between infiltrating ductal and lobular carcinoma of the breast. *Breast J* **2007**; 13 (2): 172-9.

20. Tavasolli FA, Devilee P. World Health Organition Classification of Tumours. Pathology and Genetics of the Breast and Female Genital Organs. Lyon, *IARC Press* **2003**; 9-113.

21. American Joint Committee on Cancer. Breast. In: Bears OH, Eds. Manual for Staging of Cancer, Philadelphia: Lippincott JB **1992**.

22. Dixon YJ, Greco M. Concensus document on staging for breast cancer. *Breast* **1994;** 3:238.

23. Harris JR. Staging of breast carcinoma. In: Harris JR. Eds. *Breast Diseases***.** Philadelphia: Lippincott Co **1996**.

24. Harris JR, Handerson IC. Natural history and staging of breast cancer. In: Harris JR. Eds. Breast Diseases Philadelphia: Lippincott Co **1991.**

25. Rippon MB, Ryu JK. Invasive breast cancer staging and treatment. In: O'Gradv LF. Eds. Breast Disease Boston: Brown Co **1995.**

26.Connolly JL. Changes and problematic areas in interpretation of the AJCC Cancer Staging Manual, 6th Edition, for breast cancer. Arch Pathol Lab Med **2006** Mar; 130 (3):287-91.

27. Singletary SE, Connolly JL. Breast Cancer Staging: Working With the Sixth Edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *CA Cancer J Clin* **2006**; 56:37-47.

28. Halsted WS. The results of operations fort the cure of the cancer of the breast performed at Johns Hopkins Hospital from June 1889 to January 1894. *Johns Hopkins Hospital Bull* **1894**; 4:497-555

29. Fisher B, Redmont C, Fisher ER. The contribution of recent NSABP clinical trials of primary breast cancer therapy to an understanding of tumor biology an over view of findings. *Cancer* **1980**; 46:1009-1025.

30. Grubbe EH. X- ray treatment: its origin, birth and early history. St. Paul MN: Bruce Publishing **1949**.

31. Patey DH, Oyson WH. The prognosis of carcinoma of the breast in relation to the type of operation performed. *Br J Cancer* **1948**; 2:7-13.

32. Mc Whirter R. The value of simple mastectomy and radiotherapy in the treatment of cancer of the breast. *Br J Radiol* **1948**; 21:599-610.

33. Fisher B, Fisher ER. Transmigration of lymph nodes by tumor cells. *Science* **1966;** 152:1397-1398.

34. Wilson JF. The Breast. In: Cox JD (eds), *Moss' Radiation Oncology.* Mosby-Year Book, Missouri **1994**, pp 355-401.

35. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Bauer M, Wolmark N, Wickerham DL. Ten-year results of a randomized trial comparing radical mastectomy and total mastectomy with or without radiation. *N Engl J Med* **1985**; 312:674-681.

36. Fisher B, Fisher ER. The interrelationship of hemotogenous and lymhatic tumor cell dissemination. *Surg Gynecol Obstet* **1966;** 122:791-798.

37. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, et al. Lymphatic mapping and sentinel lvmphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* **1994;** 220:391-401

38.Henderson IC. Prognostic factors. In: Haris JR, Helman S, Henderson IC, Kine DW, editors. Breast diseases. JB lippincott CO, 2th edition **1991:** 332-46.

39. Joensuu H, Toikanen S, Klemi PJ. DNA index and S phase fraction and their combinations as prognostic factors in operable ductal breast carcinoma. *Cancer* **1990**; 66: 331-40.

40. Crowe JR, JP Gordon NH, Shenk RR, Zolliger Jr. RM, Brumberg DJ and Shuck JM. Primary tumor size. Relevance to Breast Cancer Survival. Arch Surg **1992**; 127: 910-5.

41. Robbins GF, Leis HP Jr, Hutter Rup. A rational approach to and result of women with breast carcinoma. *J Breast* **1997**; 3: 9-13.

42.Carter C, Allen C, Henson D. Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24740 breast cancer cases. *Cancer* **1989**; 63:181-7.

43. Nemoto T,Vana J, Bedwani RN. Managment and survival of female breast cancer. Results of a national surgery by the American College of Surgeons. *Cancer* **1980**; 45:2917-24.

44. Rosen P, Groshen S, Siago P. A long-term follow-up evre I (T1N0M0) and evre II (T1N1M0) breast carcinoma. *J Clin Oncol* **1989**; 7:355-60.

45. Koscielny S, Tubiana M, Le M, Valleron AJ, Mouriesse H, Contesso G, et al. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumor and the probability of metastatic dissemination. *Br J Cancer* **1984**; 49:709-15.

46. Fisher B, Slack NH. Number of lymph nodes examined and prognosis of breast carcinoma. *Surg Gynecol Obstet* **1970**; 131: 79-88.

47. Berg JW, Robbins GF. Factors influencing short and long-term survival of breast cancer patients. *Surg Gynecol Obstet* **1966**; 122: 1311-6.

48. Saez RA, Clark GM, Mc Guire WL. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Surg Oncol* **1989**; 5: 99-102.

49. Fisher B, Boyer M, Wickerham DL et al. Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer: An NSABP update. *Cancer* **1983**; 52:1551-7.

50. Randin PM, De Laurentis M, Vendely T, Clark GH. Prediction of axillary nodal status in breast cancer patients by use of prognostic indicators. *J Natl Cancer Inst* 86:1771, **1994.**

51. Haegensen CD. Treatment of curable carcinoma of the breast. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **1977**; 2:975-80.

52. Valagussa P, Bonadonna G, Veronesi U. Patterns of relapse and survival following radical mastectomy: Analysis of 716 consecutive patients. *Cancer* 41:**1978**; 1170-8.

53. Mittra **I, Mac Rae KD.** A meta-analysis of reported correlations between prognostic factors in breast cancer: Does axillary lymph node metastasis represent biology or chromology? *Sur J Cancer* **1991**; 27: 1524-83.

54. Fisher B, Slack N, Ausman R, Bross ID. Location of breast carcinoma and prognosis. *Surg Gynecol Obstet* **1969**; 129:705-16.

55. Donegan WL. Surgical management. In: Donegan WL, Spratt JS. Cancer of the Breast, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Comp **1995**: 387-89.

56. Fisher B, Slack NH, Bross ID. Cancer of the breast: size of neoplasm and prognosis. *Cancer* **1969**; 24:1071-80.

57. Fisher B, Wolmork N, Bauer M, Redmond G, Gebherdt M. The accuracy of clinical nodal staging and of limited axillary dissection as a determinant of histologic nodal status in carcinoma of the breast. *Surg. Gynecol Obstet* **1981**; 152: 765-72.

58. Albertini JJ, Lyman GH, Cox C. Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in breast cancer patient. *JAMA* **1996**; 276: 1818-22.

59. Fisher ER, Gregorio RM, Fisher B, Redmond C, Vellios F, Sommers SC. The pathology of invasive breast cancer. *Cancer* **1975**; 36:1-85.

60. Berg JW, Hutter RVP. Breast Cancer. *Cancer* **1995**; 75:257-69.

61. Retsky M, Swartzendruber D, Bame P, Wardwell RH. A new paradigm for breast cancer. In: Senn H-J, Gelber R, Goldhirsch A. (Eds.). Adjuvant therapy of breast cancer, vol 4. Berlin, Springer-Verlag **1993**; 127:13-22.

62. Speer J, Petrosky V, Retsky M, Wardwell RH. A stochastic numerical model of breast cancergrowth that simulates clinical data. *Cancer Res* **1984**; 44:4124-30.

63. Holland R, Veling S, Mravunac M, Hendriks JH. Histological multifocality of Tis, T1-2 breast carcinomas. *Cancer* **1985**; 56:979-90.

64. Bloom HJ. Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer, *Br J Cancer II* **1957**; 359-77.

65. Fisher ER, Redmond C, Fisher B. Histologic grading of breast cancer. *Pathol Ann* **1980**; 15:239-51.

66. Epstein AH, Conolly JL, Gelman R. The predictors of distant relapse following conservative surgery and radiotherapy for early breast cancer are similar to those following mastectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **1989**; 17:755-760.

67.Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patient evre I or evre II breast cancer. *J Clin Oncol* 12:888, **1994.**

68.Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differantials? *J Natl Cancer Inst Monogr* 16:35, **1994.**

69. Elledge RM, Clark GM, Chamness GC. Tumor biologic factors and breast cancer prognosis among white, Hispanic and black women in the United states. *J Natl Cancer Inst* 86:705, **1994**.

70. Green S, Chambon P. The oestrogen receptor from perception to mechanism. In: Parker MG. Nuclear hormon receptors. London: *Academic Press* **1991**: 15-38.

71. Klein-Hitpass L, Scharpp M, Wagner J, Ryffel GJ. An oestrogen responsive element derived from the 5. region. Cell **1986**; 46: 1053-61.

72. Concongiv ML, Chambers JT, Joynick JM, Pirro M, Schwartz PE. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. *Am J Clin Pathol* **1989**; 94: 247-54.

73. King WJ, De Sambre ER, Jensen EV, Greene GL. Comparison of immunocytochemical and steroid binding assays for estrogen receptors in human breast tumors. *Cancer Research* **1985**; 45: 293-9.

74. Molino A, Micciolo R, Turazza M, Bonetti F, Piubello Q, Cougnati A, Sperotto L, Recaldin E, Spagnolli P, Mafrin E, Bonetti A, Nortilli R, Tamezzoli A, Pollini GP, Modena S, Cetto GL. Prognostic significance of estrogen receptors in 405 primary breast cancers. *Breast Cancer Res Treat* **1997**; 45: 241-9.

75. Giri DD, Dundas SAC, Nothingam JF, Underwood JCE. Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraductal carcinomas of the breast: An immunohistological study. *Histopathology* **1989**; 574-84.

76. Knight WA, Livinston RB, Gregory FJ. Estrogen receptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer. *Cancer Res* **1977**; 37:4669.

77. Clark GM, McGuire WL. Steroid receptors and other prognostic factors in primary breast cancer. *Semin Oncol* **1988**; 15:20-5.

78. Thorpe SM, Chiristensen IJ, Rasmussen BB. Short recurrence free survival associated with high oestregen reseptor levels in the natural history of postmenaposal, primary breast cancer. *Eur J Cancer* 29:971, **1993**.

79. Jakesz R, Reiner A, Bieglmaier C, Reiner G, Krisch K, Kolb R, Spana J, Schemper M. Tumor histology and steroid receptors in breast carcinoma. *Oncologic* **1981**; 4: 73-8.

80. Baak JPA. Mitosis counting in tumors. Hum Pathol; 21:683, **1990**.

81. Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, Kosma VM, Marin S, Alhava E. Predictive value of morphometric prognostic index in female breast cancer. *Oncology* **1993**; 50:57- 62.

82. Clayton F. Pathologic corralates of survival in 387 lymph nod negative infiltrating ductal breast carcinomas: mitotic count is the best single predictor. *Cancer* 68:1309,**1991**.

83. Galea MH, Blamey RW, Elston CW. The Nothingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **1992**; 22:207.

84. Meyer JS, Friedman MS, McCrade MM. Prediction of early course of breast carcinoma by thymidine labeling. *Cancer* **1983**; 51:1819-86

85. Meyer JS. Cell kinetics of breast and breast tumors. In: WL Donegen, JS Spratt, eds. Cancer of breast. PA: WB Saunders Co**1995**:279-308.

86. Hedley DW, Clar GM, Cornelisse CJ, Killander D, Kute T, Merkel D. Consensus review of the clinical utility of DNA cytometry in carcinoma of the breast. *Cytometry* **1993**; 14:482-5.

87. Clark GM, Dressier LG, Owens MA. Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry. *N Engl J Med* **1989**; 320:627.

88. McGuire WL. Prognostic factors and treatment decisons in axillary node negative breast cancer patients. In: ASCO Educational BOOK, **1991**.

89. Gasparini G, Dal Fior S, Poza F. Correlation of growth fraction by Ki-67 immunohistochemistry with histologic factors and hormone reseptors in operable breast carcinoma. Breast Cancer Res Treat 14:329, **1989**.

90. Gaglia P, Bernardi A, Venesio T. Cell proliferation of breast cancer evaluated by anti-BrdU and anti-Ki-67 antibodies: its prognostic value on short termrecurrences. *Eur J Cancer* 57:882, **1994**.

91. Blanchi S, Paglierani M, Zampi G. Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in lymph nod-negative breast cancer patients *Cancer* 72:120, **1993**.

92. Kallioniemi OP, Blanco G, Alavaikko M. Improving the prognostic value of DNA flow cytometry in breast cancer by combining DNA index and S-phase fraction. *Cancer* **1988**; 62:2183-90.

93. Ellis CN, Frey ES, Burnette JJ. The content of tumor DNA as an indicator of prognosis in patients with T1N0M0 and T2N0M0 carcinoma of the breast. *Surgery* **1989**; 106:133-138.

94. Keyhani-Rofagha S, O' Toole RV, Farrar WB. Is DNA ploidy an indegendent prognostic indicator in infiltrative node-negative breast adenocarcinoma? *Cancer* **1990**; 65:1577-1582.

95. Fallenius AG, Franzen SA, Auer GU. Predictive value of nuclear DNA content in breast cancer in relation to clinical and morphological factors. *Cancer* **1988**; 62:521.

96. Fox SB, Smith K, Hollyer J. The epidermal growth factor as aprognostic marker: results of 370 patients review of 3009 patients. *Breast Cancer Res Treat* 29:41, **1994**.

97. Klijn JGM, Berns PMJJ, Schmitz PIM. The clinical significance of epidermal growth factor receptor in human breast cancer: a review on 5232 patients. Endocr Rev; 13:3, **1992**.

98.Nicholson RI, McClelland RA, Gee JMW. Epidermal growth factor receptor expression in breast cancer: association with response to endocrine theraphy. *Breast Cancer Res Treat* 29:117, **1994**.

99. Vogel PM, Georgiade NG. The correlation of histologic changes in human breast with the menstrual cycle. *Am J Pathol* **1981**; 104:23-24.

100. Bocker W, Moll R, Poremba C. Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept. *Lab Invest* **2002**; 82: 737-746.

101. Holstein M, Sidransky D, Vodelstein B. p53 mutations in human cancers. *Science* 253:49, **1991**.

102. Barbareschi M, Pecciarini L, Cangi G.M, Macri E. P63, a p53 Homologue, Is a Selective Nuclear Marker of Myoepithelial Cells of The Human Breast. The American Journal of Surgical Pathology 25 (8): 1054-1060, **2001**.

103. Allred DC, Clark GM, Elledge R. association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 85:200, **1993**.

104. Silvestrini R, Benini E, Daidone MG. p53 as an independent prognostic marker in lymph node-negative breast cancer patients. *J Nathl Cancer Inst* 85:965, **1993**.

105. DaWkins HJ, Robbins PD, Smith KLSarna M, Harvey JM, Sternet GF, Papadimitriou JM. What's new breast cancer? Moleculer perspectives of cancer development ant the role of the oncogene c-erbB2 in prognosis and disease. *Pathol Res Pract* **1993**; 189:10, 1233-52.

106. Barnes DM, Bartkova J, Camplejohn 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 this of prognostic significance? *EurJ Cancer* **1992**; 28: 2-3, 644-8.

107. Slomon E, Voss R, Hail V. Chromosome 5 allele loss in human colorectal carcinomas. *Nature* **1987**, 328:616-620.

108. Drebin JA, Link VC, Greene MJ. Monoclonal antibodies specific for the neu oncogene product directly mediate antitumor effects in vivo. *Oncogene* **1988**; 2:387-394.

109. Schejter ED, Segal D, Glazer L. Altemative 5' exons and tissue specific expression of the Drosophila EGF receptor homologue transcripts. *Celi* **1986**; 46: 1091-1094.

110. Yokota J, Yamamoto T, Toyoshima K. Amplification of c-erbB2 oncogene in human adenocarcinornas in vivo. *Lancet* **1986**; 1:765-767.

111. Pres MF, Slamon DJ, Flom KJ. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *J Clin Oncol* **2002** Jul 15; 20:3095-105.

112. Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H. Specificity of HarcepTest in determining HER- 2/neu status of breast cancers using the United States Food and Drug Administration approved scoring system. *J Clin Oncol* **1999** Jul; 17: 1983-7.

113. Slamon DJ, Godolphin W, James CA. Studies of the Her-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* **1989**; 244: 707-12.

114. Paik S, Byyant J, Park C. Erb B-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Cancer Inst* **1998**; 90: 1361-70.

115. Brotherick I, Shenton BK, CoWan WK, Angus B, Home 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* **1995**; 41: 3: 137-45.

116. Ali IU, Campbell G, Lederau R. Lack of evidence for the prognostic significance of c-erbB2 amplification in human breast carcinoma. *Oncogene Res* **1988**; 3: 1-8.

117. Berger MS, Locher GW, Saurer S. Correlation of c-erbB2 amplification and protein expression in human breast carcinoma with nodal status and nuclear grading. *Cancer Res* **1988**; 8: 1238-1243.

118. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC. Her-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. *J Clin Oncol* **1989**; 7:1120.

119. Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y. Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of c-erbB2 gene in breast carcinoma. *Cancer* **1990**; 65:1794.

120. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* **1987**; 235:177-82.

121. Francis G, BeadletG, Thomas S, Mengersen K. Evalution of estrogen and progesterone receptor status in HER-2 positive breast carcinomas and correlation with outcome. *Pathology* **2006**; 38:(5), pp. 391-398.

122. Tetu B, Brisson J. Prognostic significance of HER-2/neuoncoprotein expression in nodepositive breast cancer: The influence of the pattern of immunostaining and adjuvant therapy. *Cancer* **1994**; 73:2359-65.

123. Swan A, Lascu I, Veron M. NDP-K/nm23 expression in human breast cancer in relation to relaps, survival and other prognostic faktors: an immunohistochemical study. *J Pathol* **1994**; 172-27.

124. Hennessy C, Henry JA, May FE. Expression of an antimetastatic gene nm23 in human breast cancer: an association with good prognosis. *J Natl Cancer Inst* 83-231, **1991**.

125. Johnson MD, Torri JA, Lippman ME. The role of cathepsin Din the invasiveness of human breast cancer ceels. *Cancer Res* 53:873,**1993**.

126. Ravdiv PM. Evaluation of cathepsin D as a prognostic factor in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 24:219, **1993**.

127. Thorpe SW, Rochefort H, Carcia M. Association between high concentrations of Mr. 5200 Cathepsin D and poor prognosis in primary human breast cancer. *Cancer Res* **1989**; 49:6008-14.

128. Tetu B, Brisson J, Cote C. Clinical significance of cathepsin-D expressin in node-positive breast carcinoma: an immunohistochemical study. *Int J Cancer* **1993**; 53:429.

129. Tandon AK, Clark G M, Chamness G C. Cathepsin D and prognosis in breast cancer. *N Engl J Med* **1990**; 322:297.

130. Tandon AK, Clark CM, Chamness GC. Clinical significance of heatsshock/stres-response proteins in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **1990**; 16:146.

131. Ciocca DR, Tandon AK, Fuqua SAW. Heat shock protein hsp70 with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 85:570,**1993**.

132. Thor A, Benz C, Moore D II. Stress response protein (srp-27) determination in primary human breast carcinomas: clinical, histologic and prognostic corelations. *J Natl Cancer Inst* 83:170, **1991.**

133. Ciocca DR, Fuqua SAW, Lock-Lim S. Response of human breast cancer cells to heat shock and chemotherapeutic drugs. *Cancer Res* 53:3648, **1992**.

134. Predine J, Spyratos F, Prod'homme JF. Enzyme linked immunosorbent assay of pS2 in breast cancers, benign tumors and normal breast tissues. *Cancer* 69:2116, **1992**.

135. Gion M, Mione R, Pappagallo GL. pS2 in breast cancer: alternative and complemantary tool o steroid reseptor status? *Br J Cancer* 68:374, **1993**.

136. Foekens JA, Rio MC, Sequin P. Prediction of relapse and survival in breast cancer patients by pS2 status. *Cancer Res* 50:3832, **1990**.

137. Spyratos F, Andrieu C, Hacene K. pS2 and response to adjuvant hormon therapy in primary breast cancer. *Brit J Cancer* 68:394, **1994**.

138. Daidone MG, Sivestrini R, D'Errico A. Laminin receptors, collagenase IV and prognosis in node-negative breast cancers. *Int J Cancer* 48:529, **1991**.

139. Castronovo V, Taraboletti G, Liotta LA. Modulatin of laminin reseptor expression by estogen and progestins in human breast cancer cell lines. *J Natl Cancer Inst* 81:781, **1989**.

140. Marques LA, Franco ELF, Torloni H. Independent prognostic value of laminin reseptor expression in breast cancer survival. *Cancer Res* 50:1479, **1990**.

141. Martignone S, Menard S, Bufalino R. Prognostic significance of the 67 kd laminin reseptor expression in human breast carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 85; 398, **1993**.

142. Bosari S, Lee AKC, DeLellis RA. Microvessel quantitition and prognosis in invasive breast carcinoma. *Human Pathol* 23:755, **1992**.

143. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis depent? *J Natl Cancer Inst* 82:4, **1990**.

144. Weidner N, Semple J, Welch. Tumor angiogenesis and metastasis: correlation ın invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 324:1,**1991**.

145. Duffy MJ, Reilly D, Weinberg DS. Urokinase plasminogen activator as aprognostic marker in different subgroups of patients with breast cancer. *Cancer* 74:2276, **1994**.

146. Janicke F, Schmitt M, Pache L. Urokinase and its inhibitor PAI-1 are strong and independent prognostic factors in node negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 24:195, **1993**.

147. Foekens JA, Schimitt M, van Putten VLJ. Plasminogen activator inhibitor-1 and prognosis in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 12:1648, **1994**.

148. Foekens JA, Schimitt M, van Putten VLJ. Prognostic value of urokinase type plasminogen activator in 671 primary breast cancer patients. *Cancer Res* 52:6101, **1992**.

149. Bouchet C, Spayratos F, Martin PM. Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitors (PAI-1 and PAI-2) in breast cancers. *Br J Cancer* 69:398, **1994**.

150. Bath A, Craig PH, Silverstein MJ. Predictors of axillary lymphnode metastases in patients with T1 breast carcinoma. *Cancer* **1997**; 79.1918-22.

151. Fischer ER, Sass R, Fisher B. Pathologic findings from National Surgical Adjuvant Breast Project (protochol 6): Relation of local breast recurrence to multicentricity. *Cancer* **1986**; 57:1717-24.

152. Haqq C, Nosrati M, Sudilovsky D. The gene expression signatures of melanoma progression. *Proc Natl Acad Sci USA* **2005**; 102:6092-7.

153. Matsushita M, Yamazaki R, Kawakami Y. Quantitative analysis of PRAME for detection of minimal residual disease in leukaemia. *Methods Mol Med* **2004**; 97:267-275.

154. Oberthuer A, Hero B, Spitz R, Berthold F, Fischer M. The tumour-associated antigen PRAME is universally expressed in high-evre neuroblastoma and associated with poor outcome. *Clin Cancer Res* **2004**; 10:4307-4313

155. Epping MT, Wang L, Edel MJ, Carlee L, Hernandez M, Bernards R. The human tumour antigen PRAME is a dominant repressor of retinoic acid receptor signaling. *Cell* **2005**; 122:835-847

156. Epping MT, Bernards R. A causal role for the human tumour antigen preferentially expressed antigen of melanoma in cancer. *Cancer Res* **2006**; 66:10639-10642

157. Tajeddine N, Gala JL, Louis M. Tumor-associated antigen preferentially expressed antigen of melanoma (PRAME) induces caspaseindependent cell death in vitro and reduces tumorigenicity in vivo. *Cancer Res* **2005**; 65:7348-55.

158. Gollner S, Steinbach D, Schenk T, Gruhn B,Zintl F, Ramsay E. Childhood acute myelogenous leukamia: association between PRAME, apoptosis and MDR- reletad gene expression. *Eur J Cancer* **2006**; 42:2807-14.

159. van Baren N, Brasseur F, Godelaine D. Genes encoding tumor specific antigens are expressed in human myeloma cells. *Blood* **1999**; 94:1156-64.

160. Greiner J, Schmitt M, Li L, Giannopoulos K, Schmitt A. Expression of tumor-associated antigens in acute myeloid leukemia: implications for specific immunotherapeutic approaches. *Blood* **2006**; 108:4109-17.

161. van Baren N, Chambost H, Ferrant A. PRAME, a gene encoding an antigen recognized on a human melanoma by cytolytic T cells, is expressed in acute leukaemia cells. *Br J Haematol* **1998**; 102:1376-9.

162. Greiner J, Ringhoffer M, Simikopinko O, Szmaragowska A, Huebsch S, Maurer U. Simultaneus expression of different immunogenic antigens in acute myeloid leukemia. *Exp Hematol* **2000**; 28:1413-22.

163. Matsushita M, Ikeda H, Kizaki M. Quantitative monitoring of the PRAME gene for the detection of minimal residual disease in leukaemia. *Br J Haematol* **2001**; 112:916-26.

164. Paydas S, Tanriverdi K, Yavuz S, Disel U, Baslamisli F, Burgut R.PRAME mRNA levels in cases with acute leukemia: clinical importance and future prospects. Am J Hematol 2005; 79: 257-261.

165. Steinbach D, Hermann J, Viehmann S, Zintl F, Gruhn B. Clinical implications of PRAME gene expression in childhood acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* **2002**; 133: 118-123.

166. Ismael SJ, Zago MA, Proto-siqueira R, Falcao RP, Souza CA. The expression of PRAME in chronic lymphoproliferative disorders. *Leuk Res* **2003**; 27:393-6.

167. Paydaş S, Tanrıverdi K, Yavuz S, Şeydaoğlu G. PRAME mRNA levels in cases with chronic leukemia: clanical importance and review of the literature. *Leuk Res* **2007**; 31:365-9.

168.Arons E, Suntum T, Marguiles I, Yuan C, Stetler-Stevenson M, Kreitman RJ. PRAME expression in hairy cell leukemia. *Leuk Res* **2008**; 32:1400-6.

169. Lethe B, van der BP, Brasseur F. MAGE-1 expression threshold for the lysis of melanoma cell lines by a specific cytotoxic T lymphocyte. *Melanoma Res* **1997**; 7 (Suppl. 2):S83-8.

170. Matsushita M, Yamazaki R, Ikeda H, Kawakami Y. Preferentially Expressed Antigen of Melanoma (PRAME) in the Development of Diagnostic and Therapeutic Methods for Hematological Malignancies. *Leuk Lymphoma* **2003**; 44:439-44.

171. Tajeddini N, Millard I, Gailly P, Gala JL. Real-time RT-PCR quantification of PRAME gene expression for monitoring minimal residual disease in acute myeloblastic leukemia. *Clin Chem Lab Med* **2006**; 44:548-55.

172.Qin Y, Zhu H, Jiang B, Li J, Lu X, Li L, Ruan G, Lin Y, Chen S, Huang X. Expression patterns of WT1 and PRAME in acute myeloid leukemia patients and their usefulness for monitoring minimal residual disease. *Leuk Res* **2009**; 33 (5):603-4.

173. Oberthuer A, Hero B, Spitz R, Berthold F, Fischer M. The tumor associated antigen PRAME is universally expressed in high-evre neuroblastoma and associated with poor outcome. *Clin Cancer Res* **2004**; 10:4307-13.

174. Partheen K, **Levan K**, **Osterberg L**, **Claesson I**, **Fallenius G**, **Sundfeldt K**, **Horvath G.** Four potential biomarkers as prognostic factors in evre III serous ovarian **adenocarcinomas**. *Int. J. Cancer* **2008**; 123:2130-2137.

175. Bankovic J, Stojsic S, Jovanovic D, Andjelkovic T, Milinkovic V, Ruzdijic Z, Tanic N. Identification of genes associated with non-small-cell lung cancer promotion and progression. *Lung Cancer* **2010**; 67 (2):151-9.

176. Figueiredo DL, Mameda RC, Proto-Siqueria R, Neder L, Silva WA jr, Zago MA. Expression of cancer testis antigens in head and neck squamous cell carcinomas. *Head Neck* **2006**; 28 (7):614-9.

177. van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, PeterseHL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schreiber GJ, KerkhovenRM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* **2002**; 415: 530-536.

178. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, Schreiber GJ, Peterse JL, Roberts C, Marton MJ, Parrish M, Atsma D, Witteveen A, Glas A, Delahaye L, van der Velde T, Bartelink H, Rodenhuis S, Rutgers ET, Friend SH, Bernards R. A gene expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* **2002**; 347: 1999-2009.

179. Buyse M, Loi S, van't Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas AM, d'Assignies MS, Bergh J, Lidereau R, Ellis P, Harris A, Bogaerts J, Therasse P, Floore A, Amakrane M, Piette F, Rutgers E, Sotiriou C, Cardoso F, Piccart MJ. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* **2006**; 98: 1183- 1192.

180. Bernards R, Weinberg RA. A progression puzzle. *Nature* **2002**; 418: 823.

181. Epping MT, Hart AA, Glas AM, Krijgsman O, Bernards R. PRAME expression and clinical outcome of breast cancer**.** *Br J Cancer* **2008**; 99 (3):398-403.

182. Paydaş S, Tanrıverdi K, Yavuz S, Disel U, Başlamışlı F, Burgut R. PRAME mRNA levels in cases with acute leukemia: clinical importance and future prospects. *J. Hematol* 79; 257-261, **2005**.

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	**:** Kubilay DALCI
Doğum Tarihi ve Yeri	**:** 09.03.1978 / Kadirli / OSMANİYE
Medeni Durumu	**:** Evli
Adresi	**:** Yenibaraj Mah. 2 Sok. Üçel Apt. 2/4 Seyhan/ADANA
Telefon	**:** 0322 228 19 32 – 0505 616 71 95
Fax	**:** 0322 338 64 32
e-mail	**:** kubilaydalci@hotmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi	**:** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri	**:** Yoğunoluk Kadirli Sağlık Ocağı Kadirli 2 nolu Sağlık Ocağı
Dernek Üyelikleri	**:** Çukurova Üniversitesi Mezunları Derneği, Türk Ostomi Derneği, Çukurova Cerrahi Derneği
Yabancı Dil (ler)	**:** İngilizce