

**ARAŞTIRMA
MAKALESİ**

Betül Bolat Küçükzeybek¹
Halil Taşkınatan²
Ayşegül Akder Sarı¹
Seyran Yiğit¹
Gülden Ballı³
Demet Etit¹
Ayşe Yazıcı¹
Murat Kemal Atahan³
Dilara Özyiğit Büyüktalancı¹
Ahmet Alacacıoğlu²
Yüksel Küçükzeybek²

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Atatürk Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Tıbbi Patoloji Bölümü,
İzmir

²İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Atatürk Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniği,
İzmir

³İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Atatürk Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği,
İzmir

Yazışma Adresi:

Betül Bolat Küçükzeybek
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Atatürk Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Patoloji Bölümü, İzmir,
Türkiye 35360
Tel: +90 232 2434343
Email: bbkzeybek@yahoo.com

Geliş Tarihi: 03.06.2018
Kabul Tarihi: 28.09.2018
DOI: 10.18521/kt.430081

Konuralp Tıp Dergisi
e-ISSN1309-3878
konuralptipdergi@duzce.edu.tr
konuralptipdergisi@gmail.com
www.konuralptipdergi.duzce.edu.tr

Östrojen-Progesteron Reseptörü Pozitif ve Aksiller Lenf Nodu Negatif Meme Kanseri Tanılı Hastalarda Ki-67 Proliferasyon İndeksi

ÖZET

Amaç: Ki-67 hücre siklusunda G0 fazı dışında eksprese edilen nükleer bir proteindir. Prolifere olan hücreleri gösteren belirteç olarak kullanılmaktadır. Meme kanseri tanılı hastalarda Ki-67 proliferasyon indeksinin kötü klinik sonuçlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü pozitif, HER-2 negatif, aksiller lenf nodu tutulumu bulunmayan meme kanseri tanılı hastalarda Ki-67 proliferasyon indeksinin prognostik öneminin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 2006-2014 yılları arasında tanı konulan ve tıbbi onkoloji kliniğinde izlemi bulunan opere meme kanseri tanılı hastalar çalışmaya dahil edildi. İmmunohistokimyasal olarak nükleer Ki-67 proliferasyon indeksi değerlendirildi. Diğer klinikopatolojik prognostik faktörlerle ilişkisi değerlendirildi.

Bulgular: 162 hasta çalışmaya dahil edildi. Medyan 85 (9-132) aylık izlemde 2 (%1.2) hastada lokal nüks, 7 (%4.3) hastada uzak metastaz saptandı. Sekiz (%4.9) hasta vefat etti. Ki-67 proliferasyon indeksine göre Roc curve analizinde elde edilen %20 değerine göre hastalar iki gruba ayrıldı. Ki-67 proliferasyon indeksi %20'nin altında ve üzerinde olan gruplarda 7 yıllık genel sağkalımlar sırasıyla %97.1 ve %90.9 olarak hesaplandı (p=0.042). Ki-67 proliferasyon indeksinin tümör histolojik derecesi, patolojik tümör boyutu ile pozitif korelasyon, hormon reseptörleri ile negatif korelasyon gösterdiği saptandı.

Sonuç: Proliferasyon meme kanserinde prognoz ve tedavi yanıtını predikte etmek için kullanılan önemli bir göstergedir. Ki-67 proliferasyon indeksi için standart eşik değeri bulunmaması, değerlendirme ve skorlama metodolojisinde standart olmamasına rağmen diğer klinikopatolojik prognostik göstergelerle birlikte prognoz belirlenmesinde kullanılmaktadır

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, Ki-67 Proliferasyon İndeksi, Prognoz

Ki-67 Labeling Index in Patients with Estrogen-Progesterone Positive and Axillary Lymph Node Negative Breast Cancer

ABSTRACT

Objective: Ki67 is a nuclear protein that is expressed in all phases of the cell cycle except for G0. It is used as a marker to detect the proliferating cells. It has been shown that Ki-67 labeling index is associated with poor clinical outcome in patients with breast cancer. In this study, we aimed to evaluate the prognostic significance of Ki-67 labeling index in patients with estrogen receptor and progesterone receptor positive, HER-2 negative and axillary lymph node negative breast cancer.

Methods: Patients diagnosed with breast cancer during 2006-2014, and who were followed up in the medical oncology clinic were included in the study. Immunohistochemically, nuclear Ki-67 proliferation index was evaluated. The relationship with other clinicopathologic prognostic factors was evaluated.

Results: 162 patients were included in the study. In a median 85 (9-132)-months follow-up, local recurrence was detected in 2(1.2%) patients and distant metastasis was detected in 7(4.3%) patients. Eight (4.9%) patients died. Patients were divided into two groups using 20% cut-off value for Ki-67 labelling index, obtained by Roc curve analysis. The 7-year overall survival was 97.1% in the group with Ki-67 labeling index below 20%, while it was 90.9% in the group above the 20% value (p=0.042). Ki-67 labeling index showed positive correlation with tumor histological grade, and pathologic tumor size, and negative correlation with hormone receptors.

Conclusion: Proliferation is an important indicator for predicting prognosis and treatment response in breast cancer. Ki-67 labeling index is used to determine prognosis along with other clinicopathological prognostic factors, although there is no standard cut-off value and no standard of assessment and no standard in scoring methodology.

Keywords: Breast Cancer, Ki-67 Labeling Index, Prognosis

GİRİŞ

Meme kanseri (MK) kadınlarda en sık görülen kanserdir. Ölümüne neden olan kanserler arasında ikinci sırada yer almaktadır (1). MK heterojen bir gruptan oluşmaktadır. İmmunohistokimyasal (İHK) olarak reseptör ekspresyonuna göre sınıflanmaktadır. 2000'li yıllardan sonra MK gen ekspresyon profiline göre de sınıflanmaya başlamıştır. Başlıca Luminal A, Luminal B, Her2 pozitif, bazal benzeri olmak üzere 4 alttıpe ayrılmıştır. Luminal A ve luminal B alttıpte östrojen reseptörü (ÖR) ve progesteron reseptörü (PR) pozitifdir. Alttıpler arasında klinik davranış, sağkalımlar ve tedaviye yanıt açısından da farklılık mevcuttur (2). MK tanılı hastaların adjuvan tedavisinde kemoterapi ve hormonoterapinin etkinliği bilinmektedir (3). Opere MK tanılı hastalarda adjuvan tedavi kararı verilmesinde luminal A ve luminal B alttıpler arasında ayırım yapılması önemlidir. Adjuvan kemoterapi kararı verilmesinde rutin pratikte çeşitli klinikopatolojik prognostik göstergeler kullanılmaktadır. ÖR, PR, insan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (HER-2) ekspresyonları prognostik ve prediktif faktörler olarak kullanılmaktadır (4-6). Tanı sırasındaki tümörün evresi, boyutu ve aksiller lenf nodu tutulumu, tümör histolojik derecesi diğer patolojik prognostik göstergelerdendir. Tümör boyutu, aksiller lenf nodu tutulumu, tümör histolojik derecesi birbirlerinden bağımsız risk faktörleridir (7,8)

MKI-67 olarak da bilinen nükleer Ki-67, MKI67 geni tarafından kodlanan nonhiston nükleer korteks proteinidir. İlk kez 1983 yılında Gerdes ve arkadaşları tarafından Hodgkin lenfoma hücre hattında gösterilmiştir. Hücre siklusunda G1, S, G2 ve M fazlarında eksprese edilirken G0 fazında eksprese edilmemektedir. Bu özelliği proliferasyon gösteren belirteç olarak kullanılmasını sağlamaktadır. İşlevi tam olarak bilinmemesine rağmen hücre bölünmesinde ve RNA sentezinde rol oynadığı düşünülmektedir (9-11). Ki-67 proliferasyon indeksi yani İHK olarak nükleer Ki-67 pozitif hücre oranı, sıklıkla kanserlerin klinik gidişi ile ilişkilidir. Meme kanseri tanılı hastalarda Ki-67 proliferasyon indeksinin kötü klinik sonuçlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (12,13). Aksiller lenf nodu tutulumu bulunan opere MK tanılı hastalarda ve neoadjuvan kemoterapi uygulanan MK tanılı hastalarda kemoterapi yanıtını predikte ettiği gösterilmiştir (14,15).

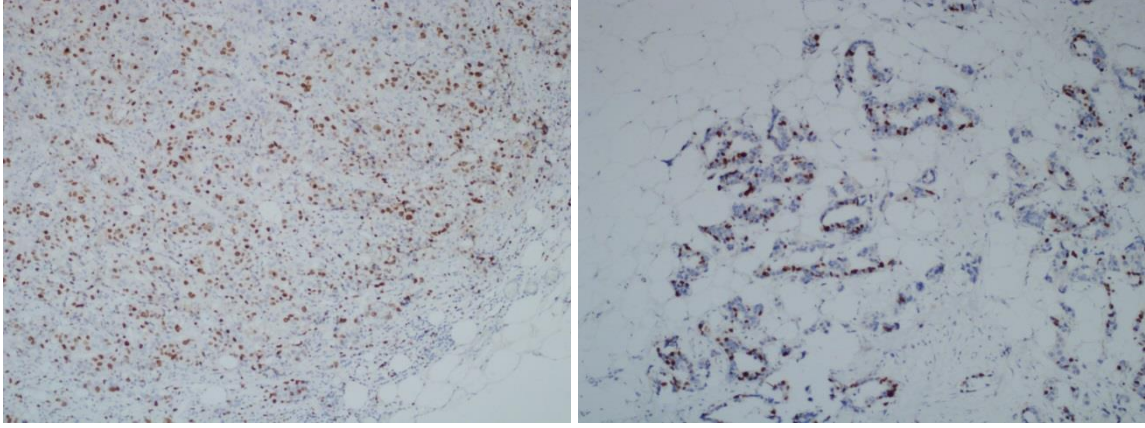
ÖR ve PR ekspresyonu saptanan ve HER2 ekspresyonu saptanmayan aksiller lenf nodu tutulumu bulunmayan opere MK tanılı hastaların prognozları iyi seyretmektedir ve bu hasta grubunda adjuvan tedavi kararı verilirken diğer klinikopatolojik prognostik faktörlerle birlikte Ki-67 proliferasyon indeksi kullanılmaktadır. St Gallen 2011 konsensus raporunda luminalA ve luminalB-Her-2 negatif hasta grubu ayırımı için kullanılan kriterler arasında Ki-67 proliferasyon indeksinin

%14'den fazla ya da düşük olması bulunmaktaydı. 2013 yılında lokal laboratuvar değerlerinin de gözönünde bulundurularak Ki-67 değerinin %20 olarak kullanılması katılımcılar tarafından kabul edildi. 2015 yılında açıklanan konsensus raporunda ise lokal laboratuvar medyan Ki-67 proliferasyon indeksi değerlerinin gözönünde bulundurulması önerildi ve katılımcıların çoğunluğu Ki-67 proliferasyon indeksi eşik değeri olarak %20-29 arasındaki değerleri kabul ettiler (16-18). Bu çalışmada hormon reseptörü pozitif, HER-2 ekspresyonu saptanmayan, aksiller lenf nodu tutulumu bulunmayan opere MK tanılı hastalarda İHK olarak değerlendirilen Ki-67 proliferasyon indeksinin prognostik önemi ve diğer histopatolojik prognostik göstergeler olan tümör histolojik derecesi, tümör boyutu ile ilişkisinin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Hastalar ve doku örnekleri: 2006-2014 yılları arasında Tıbbi Patoloji Laboratuvarında tanı konulan ve Tıbbi Onkoloji Kliniğinde izlemi bulunan ÖR ve PR pozitif, HER-2 ekspresyonu bulunmayan, aksiller lenf nodu tutulumu olmayan opere MK tanılı hastalar çalışmaya dahil edildi. Yerel etik kurul onayı alındı. Demografik veriler ve sağkalım verileri, rekürrens veya metastaz gelişimini içeren klinik ve patolojik veriler hasta dosyalarından temin edildi. Tanı sırasındaki tümör boyutu ve tümör histolojik derece (Nottingham Histolojik Skor) bilgisi tıbbi patoloji raporlarından temin edildi. Hastaların patoloji laboratuvarındaki tümör içeren blokları İHK olarak Ki-67 boyanması için kullanıldı. Hastalısız sağkalım (HSK), tanı tarihinden itibaren nüks/metastaz gelişimine kadar ya da son izlem tarihine kadar geçen süre, genel sağkalım (GSK) tanı tarihinden itibaren herhangi bir nedene bağlı ölüme kadar geçen süre, izlem süresi tanı tarihinden son izlem tarihine kadar geçen süre olarak kabul edildi.

İmmunohistokimyasal yöntem: İHK boyama, formalinde fikse edilmiş parafine gömülü tümör içeren bloklardan 4 mikronluk kesitler alınarak streptavidin-biotin-peroxidase metodu kullanılarak yapıldı. İHK boyama için DAKO otomatik boyama cihazı (DAKO, Santa Clara,CA, ABD) kullanıldı. Kesitler monoclonal mouse anti-human Ki-67 antijen (klon MIB-1, Dako) ile boyandı. Tümör hücrelerinde nükleer boyanma pozitif olarak değerlendirildi ve boyanma yüzdesi belirlendi (Resim 1,2). İHK değerlendirme tümörde boyanmanın homojen olduğu vakalarda rastgele olarak seçilen en az 3 alandaki 1000 hücre X40 objektif büyütme alanında sayılarak boyanma yüzdesi belirlendi. Tümör heterojenitesi bulunması durumunda ise tümörün invaziv kenarındaki hücrelerde boyanma değerlendirildi. Ayrıca hot spots alanların varlığında bu alanlar toplam skora dahil edildi (19).



Resim1-2. Tümör hücrelerinde immunohistokimyasal olarak nükleer Ki-67 pozitifliği (X10)

İstatistiksel analiz: İstatistiksel analizler SPSS paket program versiyon 20 kullanılarak yapıldı. Sağkalım analizleri için Kaplan Meier analizi kullanıldı. Ki-67 ve tümör boyutu için eşik değeri ROC Curve analizi yapılarak elde edildi. Hastalar ROC Curve analizinde elde edilen değerler kullanılarak Ki-67 proliferasyon indeksi ve tümör boyutuna göre iki gruba ayrıldı. Tümörler histolojik derecelerine göre üç gruba ayrıldı. Gruplar arasındaki sağkalım karşılaştırmaları için log rank test kullanıldı. Sağkalımlar tekli analiz ile karşılaştırıldı. Ki-67 proliferasyon indeksinin, tümör boyutu, histolojik derece ve hormon reseptörü (HR) ekspresyonu ile ilişkisi spearman rho korelasyon testi ile değerlendirildi. P değeri $\leq 0,05$ istatistik olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

2006-2014 yılları arasında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarında tanı konulan ve Tıbbi Onkoloji kliniğinde izlemi bulunan HR pozitif, HER-2 ekspresyonu olmayan, aksiller lenf nodu tutulumu olmayan opere MK tanılı 162 hastada tümör histolojik derecesi, tümör boyutu ve İHK olarak Ki-67 proliferasyon indeksi retrospektif olarak değerlendirildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinikopatolojik karakteristikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Hastaların tamamı kadın cinsiyetteydi. Medyan tanı yaşı 51 (29-82) olarak hesaplandı. Otuzüç (%20.4) hastada histolojik derece 1, 112 (%69.1) hastada histolojik derece 2, 17 (%10.5) hastada histolojik derece 3 olarak değerlendirildi. Doksanbeş (%59.9) hasta invaziv duktal karsinom, 27 (%16.7) hasta mikst tipte invaziv meme karsinomu, 19 (%11.7) hasta invaziv lobüler karsinom, 5 (%3.1) hasta invaziv kribriiform karsinom, 4 (%2.5) hasta medüller karsinom, 3 (%1.9) hasta metaplastik karsinom, 3 (%1.9) hasta invaziv papiller karsinom, 2 (%1.2) hasta müsinöz karsinom, 1 (%0.6) hasta apokrin karsinom, 1 (%0.6) hasta tubuler karsinom alttipindeydi. Yüzyirmüç (%75.1) hastaya adjuvan kemoterapi

uygulandı. Otuz dokuz (%24.1) hastaya adjuvan kemoterapi uygulanmadı.

Tablo 1. Hastaların klinikopatolojik özellikleri

Hasta Karakteristikleri	N=162(%)
Medyan Yaş	51(29-82)
Histolojik Altıtip	
İnvaziv Duktal Karsinom	97(59.9)
Mikst Tipte İnvaziv Meme Karsinomu	27(16.7)
İnvaziv Lobüler Karsinom	19(11.7)
İnvaziv Kribriiform Karsinom	5(3.1)
Medüller Karsinom	4(2.5)
Metaplastik Karsinom	3(1.9)
İnvaziv Papiller Karsinom	3(1.9)
Müsinöz Karsinom	2(1.2)
Apokrin Karsinom	1(0.6)
Tubuler Karsinom	1(0.6)
Ki-67 Proliferasyon İndeksi	
\leq %20	129(79.6)
$>$ %20	33(20.4)
Histolojik Derece	
I	33(20.4)
II	112(69.1)
III	17(10.5)
Adjuvan Kemoterapi	
Evet	123(75.1)
Hayır	39(24.1)

Tubuler karsinom, invaziv papiller karsinom, müsinöz karsinom histolojik alttipindeki hastaların tamamına adjuvan kemoterapi uygulanmadı. Adjuvan kemoterapi uygulanmayan diğer histolojik alttıpteki hastaların tamamının patolojik tümör boyutu 2 cm'nin altındaydı. Medyan 85 (9-132) aylık izlemde 2 (%1.2) hastada lokal nüks, 7 (%4.3) hastada uzak metastaz saptandı. Sekiz (%4.9) hasta vefat etti. Roc curve analizine göre Ki-67 için %20 değeri, patolojik tümör boyutu için 2.6 cm değeri hesaplandı. Hastalar hesaplanan değerlere göre, Ki-67 proliferasyon indeksi ve patolojik tümör boyutuna göre iki gruba ayrıldı. Hastalar ayrıca tümör histolojik derecesine göre üç grupta sınıflandı. Grupların sağkalım sonuçları Tablo 2'de özetlenmiştir.

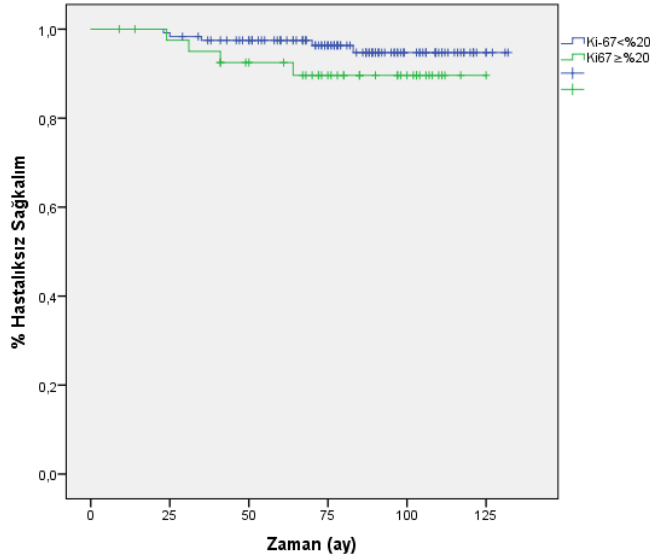
Tablo 2. Hasta alt gruplarının sağ kalımları

Grup	7 yıllık HSK(%)	p	7 yıllık GSK(%)	p
Kİ-67 Proliferasyon İndeksi				
≤%20	94.7	0.18	97.1	0.042*
>%20	89.6		90.9	
Histolojik Derece				
I	100	>0.05	93.8	<0.05*
II	91.3		98.1	
III	93.3		82.4	
Patolojik Tümör Boyutu				
≤2.6 cm	94.2	0.78	97.6	0.039*
>2.6 cm	91.7		91.8	

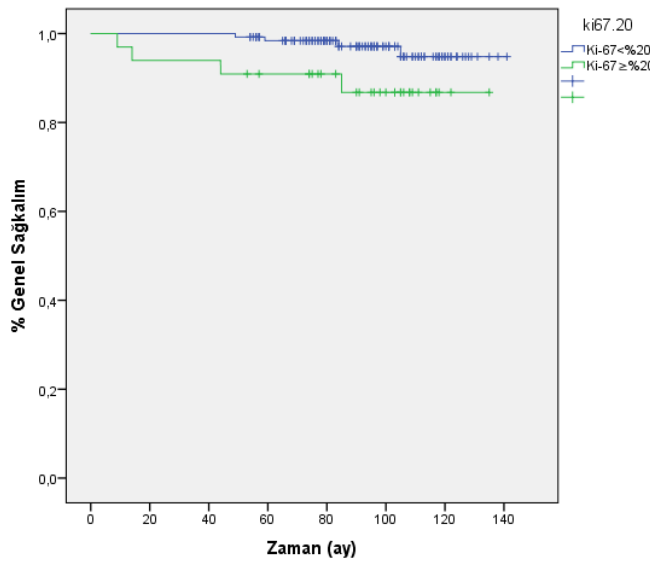
*p<0.05 değeri anlamlı kabul edilmiştir.

ROC curve analizine göre Ki-67 için hesaplanan %20 değerine göre hastalar iki gruba ayrıldığında Ki-67 değeri %20'nin altında ve üzerinde olan grupta 7 yıllık HSK'lar sırasıyla

%94.7 ve %89.6 olarak hesaplandı (Resim3). Ki-67 değeri %20'nin altında ve üzerinde olan grupta 7 yıllık GSK'lar sırasıyla %97.1 ve %90.9 olarak hesaplandı (Resim4).



Resim 3. Hastaliksız Sağkalım Eğrisi (Ki67 <%20 vs Ki67 ≥%20)(p=0.18)



Resim 4. Genel Sağkalım Eğrisi (Ki67 <%20 vs Ki67 ≥%20) (p=0.042)

İki grup arasında HSK açısından istatistiki anlamlı fark saptanmazken (p=0.18), GSK açısından istatistiki anlamlı fark saptandı (p=0.042). Histolojik dereceye göre hastalar üç gruba ayrıldığında histolojik derece 1, 2 ve 3 olan grupta 7 yıllık HSK'lar sırasıyla %100, % 91.3, %93.3 olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiki anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Yedi yıllık GSK'lar histolojik derece 1, 2 ve 3 olan grupta sırasıyla %93.8, %98.1, %82.4 olarak hesaplandı. GSK'lar açısından histolojik derece 1 ve histolojik derece 2 arasında istatistiki anlamlı fark saptanmadı (p=0.084). Histolojik derece 1 ve 3 olan gruplar arasında (p=0.01) ayrıca histolojik derece 2 ve 3 olan gruplar arasında (p=0.021) GSK'lar istatistiki anlamlı farklı saptandı. ROC Curve analizine göre patolojik tümör boyutu için elde edilen değer 2.6 cm altı ve üstü olacak şekilde hastalar iki gruba ayrıldıklarında patolojik tümör boyutu 2.6 cm'den az olan ve 2.6 cm'den fazla olan grupta HSK'lar sırasıyla %94.2 ve %91.7 olarak hesaplandı. İki grup arasındaki 7 yıllık HSK'lar istatistiki anlamlı

farklı değildi (p=0.78). Aynı gruplarda 7 yıllık GSK'lar sırasıyla %97.6 ve %91.8 olarak hesaplandı. İki grup arasındaki fark istatistiki anlamlı bulundu (P=0.039). Hastaların klinikopatolojik prognostik göstergeleri arasında yapılan korelasyon analiz sonuçları Tablo 3'de özetlenmiştir. Korelasyon analizinde tümör histolojik derecesinin HSK, GSK ile istatistiki anlamlı negatif korelasyon gösterdiği (p<0.001), patolojik tümör boyutu ile istatistiki anlama ulaşmayan pozitif korelasyon gösterdiği, hormon reseptörleri ile istatistiki anlama ulaşmayan negatif korelasyon gösterdiği saptandı. Ki-67 proliferasyon indeksi değerlerinin tümör histolojik derecesi ile istatistiki anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği (p<0.001), ÖR (p=0.01) ve PR (p=0.025) ile istatistiki anlamlı negatif korelasyon gösterdiği, HSK ve GSK ile istatistiki anlama ulaşmayan negatif korelasyon gösterdiği saptandı. Patolojik tümör boyutunun GSK (p=0.020) ve HSK (p=0.021) ile istatistiki anlamlı negatif korelasyon gösterdiği saptandı.

Tablo 3. Klinikopatolojik prognostik faktörlerin korelasyon analizleri

		Histolojik derece	Patolojik Tümör Boyutu	ÖR	PR	HSK	GSK
Ki-67 (n=162)	r	0.467	0.101	-0.262	-0.176	-0.077	-0.132
	p	<0.001*	0.201	0.001*	0.025*	0.328	0.095
Histolojik Derece (n=162)	r		0.1	-0.093	-0.138	-0.281	-0.287
	p		0.204	0.204	0.081	<0.001*	<0.001*
Patolojik Tümör Boyutu (n=162)	r			-0.088	-0.077	-0.18	-0.183
	p			0.268	0.331	0.022*	0.02*

*p<0.05 değeri anlamlı kabul edilmiştir.

TARTIŞMA

Çalışmamızda HR pozitif, HER-2 negatif, aksiller lenf nodu tutulumu bulunmayan erken evre opere MK tanılı hastalarda Kİ-67 proliferasyon indeksinin prognostik önemi ve diğer prognostik göstergelerle ilişkisi değerlendirildi. Tümör histolojik derecesi, patolojik tümör boyutunun istatistiki anlamlı, Ki-67 proliferasyon indeksi değerlerinin istatistiki anlama ulaşmayan HSK ve GSK ile negatif korelasyon gösterdiği saptandı. Ki-67 proliferasyon indeksi düşük olan hastaların GSK'larının daha uzun olduğu saptandı. Tümör histolojik derecesi 3 olan hasta grubunun GSK'larının derece 1 ve derece 2 gruba göre daha düşük olduğu, patolojik tümör boyutu düşük olan hastaların GSK'larının daha uzun olduğu saptanmıştır. Özellikle son dönemlerde yapılan çalışmalarda Ki-67 proliferasyon indeksi için standart eşik değeri değeri belirtilmemektedir. Farklı çalışmalarda farklı değerler kabul edilmektedir. St Galen 2011 konsensus raporunda MK luminal-B alttipinin, luminal-A alttipinden ayırımında kullanılan kriterlerden birisi de Ki-67 proliferasyon indeksinin %14'den fazla olması olarak belirtilmiştir. İlerleyen yıllarda 2015 yılında açıklanan raporda ise Ki-67 proliferasyon indeksi için standart bir eşik değeri verilmeyerek yerel

laboratuvarların kendi medyan Ki-67 proliferasyon indeksi sonuçlarına göre değerlendirilmesi önerilmiştir (16,18). Liu ve arkadaşlarının 4512 erken evre HR pozitif MK tanılı hastayı dahil ettikleri metaanalizde Ki-67 proliferasyon indeksi HSK ile ilişkili saptanmıştır (20). 2007 yılında de-Azambuja ve arkadaşlarının 12155 erken evre meme kanseri tanılı hastayı dahil ettikleri metaanalizde Kİ-67 proliferasyon indeksi için herhangi bir eşik değeri kabul edilmeden, metaanalize dahil edilen çalışmalardaki araştırmacıların kabul ettikleri eşik değeri olarak kabul edilmiştir. Metaanaliz sonucunda hem aksiller lenf nodu negatif ve hem de aksiller lenf nodu pozitif hasta gruplarında Ki-67 proliferasyon indeksi HSK ve GSK ile ilişkili saptanmıştır (13). Petrelli ve arkadaşlarının 64196 erken evre meme kanseri tanılı hastayı dahil ettikleri metaanalizde Ki-67 proliferasyon indeksinin %10'dan fazla olması kötü prognoz ile ilişkili saptanmıştır. Hastalar Ki-67 proliferasyon indeksi %25 altında ve üzerinde olanlar olarak iki gruba ayrıldığında ise iki grup arasındaki sağkalım farkının en belirgin olduğu saptanmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksi için %25 eşik değeri kabul edildiğinde HR pozitif

hasta grubunda Ki-67 proliferasyon indeksi düşük olan grubun HSK ve GSK sürelerinin daha uzun olduğu saptanmıştır (21). Tashima ve arkadaşlarının 4329 opere MK tanıli hastada prognostik faktörleri değerlendirdikleri çalışmada çoklu analizde Ki-67 proliferasyon indeksi kötü HSK ve GSK ile ilişkili saptanmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksi için eşik değeri olarak %20 saptanmıştır. Aynı çalışmada çoklu analizde patolojik tümör boyutu da kötü HSK ve GSK ile ilişkili saptanmıştır. (22). Bustreo ve arkadaşlarının 1577 opere ÖR pozitif, HER-2 negatif MK tanıli hastada Ki-67 proliferasyon indeksini değerlendirdikleri çalışmada Ki-67 proliferasyon indeksi <14 , $14-19$ ve ≥ 20 olarak hastalar üç gruba ayrılmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksi %20'den fazla olan grupta HSK ve hastalığa spesifik sağkalım sürelerinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Çalışmanın yapıldığı merkezde Ki-67 proliferasyon indeksi için eşik değeri olarak %20 kabul edildiğinde yüksek riskli hastaları tanımladığı belirtilmiştir (23). Sunduğumuz çalışmamızda yapılan ROC Curve analizi ile Ki-67 proliferasyon indeksi için elde edilen %20 değerine göre hastalar iki gruba ayrıldı. İki grup arasında GSK'lar istatistiksel anlamlı farklı saptandı. Naito ve arkadaşlarının erken evre HR pozitif HER-2 negatif ve %70'inde aksiller lenf nodu tutulumu bulunmayan 606 hastayı değerlendirdikleri çalışmada Ki-67 proliferasyon indeksi ve histolojik derece arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksi %20 üzerinde olan hastaların, tümör histolojik derecesi 3 olan hastaların diğer hasta gruplarına göre kötü prognoza sahip oldukları, histolojik derece 3 ile kombine olarak Ki-67 proliferasyon indeksi %20 üzerinde olan hastaların daha kötü prognoza sahip oldukları gösterilmiştir (24). Sahin ve arkadaşlarının aksiller lenf nodu negatif evre I/II meme kanseri tanıli hastayı değerlendirdikleri çalışmada Ki67 proliferasyon indeksi, histolojik derece, HSK ve GSK ile ilişkili saptanmıştır (25). Viale ve arkadaşları tarafından lenf nodu negatif erken evre meme kanseri tanıli hastalarda kemoendokrin tedavi ile endokrin tedavinin etkinliğinin karşılaştırıldığı iki çalışmanın kombine analizi yapılmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksi için kabul edilen %19 eşik değerine göre değerlendirme yapılmıştır. Analiz sonucunda tümör histolojik derecesinin yüksek oluşu, patolojik tümör boyutu büyüklüğü, ÖR ve PR negatifliği Ki-67 proliferasyon indeksi ile ilişkili saptanmıştır (26). Inwald ve arkadaşlarının 3658 opere MK tanıli hastayı değerlendirdikleri çalışmada Ki-67 proliferasyon indeksinin en belirgin tümör histolojik derecesi ile olmak üzere, diğer histopatolojik prognostik göstergelerle korelasyon gösterdiği saptanmıştır (27). Sunduğumuz çalışmamızda Ki-67 proliferasyon indeksi diğer prognostik göstergeler olan tümör histolojik derecesi, patolojik tümör boyutu ile pozitif korelasyon gösterirken ÖR ve PR ile negatif

korelasyon gösterdiği saptandı. Patolojik tümör boyutu ve tümör histolojik derecesinin de kötü HSK ve GSK ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Penault-Llorca ve arkadaşlarının erken evre ÖR ve lenf nodu pozitif meme kanseri tanıli hastada dosetakselin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada Ki-67 proliferasyon indeksi %20'den fazla olan hasta grubunun düşük olan gruba göre HSK süresinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksinin dosetaksel kemoterapisine yanıtı predikte ettiği gösterilmiştir (28). MKI67 geninin de arasında bulunduğu proliferasyon genleri ve hormonal yanıt ile ilişkili genlerin dahil edildiği gen ekspresyon profili bazlı testler sonucunda aksiller lenf nodu tutulumu bulunmayan HR pozitif opere MK tanıli hastaların, test sonucunda verilen rekürrens skoruna göre adjuvan kemoterapiden fayda görüp görmeyecekleri predikte edilebilmektedir (29). Bu testlerin kullanılmadığı durumlarda patolojik tümör boyutu, tümör histolojik derecesi, Ki-67 proliferasyon indeksi ve HR ekspresyonları hastaların tedavi planında kullanılacak prognostik göstergeler arasında yer almaktadır. Cuzick ve arkadaşlarının 793'ünde aksiller lenf nodu tutulumu bulunmayan 1215 ÖR pozitif opere MK tanıli hastada ÖR, PR, HER-2 ekspresyonu, Ki-67 proliferasyon indeksinin prognostik öneminin değerlendirildiği ve gen ekspresyon profili testi olan OncotypeDx ile karşılaştırdıkları çalışmada immunohistokimyasal olarak ÖR, PR, HER-2 ekspresyonu ve Ki-67 proliferasyon indeksinin bağımsız prognostik faktör olduğu saptanmıştır. RNA bazlı test olan OncotypeDx'e benzer prognostik bilgi sağladıkları gösterilmiştir (30).

Ki-67 değerlendirilmesi için İHK olarak farklı antikorlar kullanılmaktadır. En fazla kullanılan antikor MIB-1 klonudur. Ki-67 proliferasyon indeksinin standart cut-off değeri belirtilememesinin nedenleri arasında laboratuvarlar arasındaki metodoloji ve değerlendirme farklılıkları yer almaktadır. Ki-67 değerlendirilmesindeki standardizasyon için 2011 yılında Meme Kanseri Çalışma Grubunun önerileri açıklanmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksi değerlendirmesindeki farklılıklara preanalitik fazda etkili olan faktörler, fiksasyona kadar geçen süre, kullanılan fiksatif madde, fiksasyon süresi, boyanmamış preparatların saklama koşulları olarak belirtilmektedir. Hangi alandaki hücrelerin Ki-67 değerlendirmesi için sayılacağı ve hücrenin hangi bölümündeki boyanma paterninin pozitiflik olarak kabul edileceği de laboratuvarlar arasındaki farklılıklara neden olabilmektedir. Yalnızca nükleer boyanmanın değerlendirilmesi gerektiği, boyanma homojen ise rastgele olarak seçilen en az 3 X40 objektif büyütme alanındaki hücrelerin sayılması, tümör heterojenitesi bulunması durumunda tümörün biyolojik olarak en aktif alanı olması nedeniyle invaziv kenardaki boyanmanın değerlendirilmesi, açıkça belirgin hot spots alanların bulunması

durumunda bu alanların da toplam skora dahil edilmesi, tercihen 1000 hücre olmak üzere en az 500 hücrede boyanma paterninin değerlendirilmesi önerilmektedir (19). Acs ve arkadaşlarının MIB-1'in de dahil edildiği Ki-67 proliferasyon indeksini belirlemek için kullanılan 5 antikoru değerlendirdikleri çalışmada, kullanılan antikolarla elde edilen Ki-67 proliferasyon indeksi değerlerinin birbirleri ile orta düzeyde uyumlu olmasına rağmen birbirleri arasında istatistiki anlamlı farklılıklar bulunduğu saptanmıştır (31). Focke ve arkadaşlarının 30 farklı laboratuvarında 70 hasta örneğini içeren doku mikroarray örneğini laboratuvarların kendi protokollerine göre İHK olarak Ki-67 antikoları ile boyandıktan sonra merkezi olarak boyanma yüzdesinin tek uzman tarafından değerlendirildiği çalışmada aynı antikoru kullanılmasına rağmen farklı laboratuvarlarda yapılan boyanma sonrasında medyan Ki-67 proliferasyon indekslerinin istatistiki olarak anlamlı farklı olduğu saptanmıştır. Değerlendirme yapılan 70 örneğin %70'inde aynı hasta örneği için en düşük ve en yüksek Ki-67

proliferasyon indeksi oranları arasındaki farkın %25'den fazla olduğu saptanmıştır (32).

SONUÇ

Proliferasyon meme kanserinde prognoz ve tedavi yanıtını predikte etmek için kullanılan önemli bir göstergedir. Çalışmamızda hücre proliferasyon göstergelerinden biri olan Ki-67 proliferasyon indeksi ve diğer klinikopatolojik prognostik göstergeler olan tümör histolojik derecesi, patolojik tümör boyutunun sağkalımlar ile ilişkisi gösterildi. Özellikle gen ekspresyon profili bazlı rekürrens testleri kullanılmadığı durumlarda Ki-67 proliferasyon indeksi için standart eşik değeri bulunmaması, değerlendirme ve skorlama metodolojisinde standart bulunmamasına rağmen diğer klinikopatolojik prognostik göstergelerle birlikte prognoz belirlenmesinde kullanılmaktadır. Tedavi yanıtını predikte etmek için HR pozitif, HER-2 negatif, aksiller lenf nodu tutulumu bulunmayan hastalarda kullanılabilir. Bu konuda daha fazla sayıda hastanın dahil edildiği prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2018. *CA Cancer J Clin.* 2018; 68(1): 7-30.
2. Sorlie T, Perou C, Tibshirani T, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(19):10869-74.
3. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 2005 May 14-20;365(9472):1687-717.
4. Pertschuk LP, Kim DS, Nayer K, et al. Immunocytochemical estrogen and progesterone receptor assays in breast cancer with monoclonal antibodies. Histopathologic, demographic, and biochemical correlations and relationship to endocrine response and survival. *Cancer.* 1990;66(8):1663-70.
5. Purdie CA, Quinlan P, Jordan LB, et al. Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study. *Br J Cancer.* 2014;110(3):565-72.
6. Chia S, Norris B, Speers C, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 overexpression as a prognostic factor in a large tissue microarray series of node-negative breast cancers. *J Clin Oncol.* 2008;26(35):5697-704.
7. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer.* 1989;63(1):181-7.
8. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19(5):403-10.
9. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a Mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31: 13-20.
10. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;133:1710-15.
11. Lopez F, Belloc F, Lacombe F, et al. Modalities of synthesis of Ki67 antigen during the stimulation of lymphocytes. *Cytometry* 1991;12:42-9.
12. Trihia H, Murray S, Price K, et al. Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading system, clinical parameters, and other prognostic factors-a surrogate marker? *Cancer.* 2003;97:1321-31.
13. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer.* 2007;96:1504-13.
14. Criscitiello C, Disalvatore D, De Laurentiis M, et al. High Ki-67 score is indicative of a greater benefit from adjuvant chemotherapy when added to endocrine therapy in luminal B HER2 negative and node-positive breast cancer. *Breast* 2014;23:69-75.
15. Denkert C, Loibl S, Müller BM, et al. Ki67 levels as predictive and prognostic parameters in pretherapeutic breast cancer core biopsies: a translational investigation in the neoadjuvant GeparTrio trial. *Ann Oncol* 2013;24:2786-93.

16. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol.* 2011;22(8):1736-47.
17. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2206-23.
18. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, et al. Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol.* 2015;26(8):1533-46.
19. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst.* 2011 Nov 16;103(22):1656-64.
20. Liu Y, Yin W, Yan T, et al. The clinical significance of Ki-67 as a marker of prognostic value and chemosensitivity prediction in hormone-receptor-positive breast cancer: a meta-analysis of the published literature. *Curr Med Res Opin.* 2013;29(11):1453-61.
21. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, et al. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;153(3):477-91.
22. Tashima R, Nishimura R, Osako T, et al. Evaluation of an Optimal Cut-Off Point for the Ki-67 Index as a Prognostic Factor in Primary Breast Cancer: A Retrospective Study. *PLoS One.* 2015;10(7):e0119565. doi: 10.1371/journal.pone.0119565.
23. Bustreo S, Osella-Abate S, Cassoni P, et al. Optimal Ki67 cut-off for luminal breast cancer prognostic evaluation: a large case series study with a long-term follow-up. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;157(2):363-71.
24. Naito Y, Fujii S, Itoh K, et al. Correlation, comparison, and combined analysis of Ki-67 and histological grade for early luminal breast cancer. *American Society of Clinical Oncology Annual Meeting, Chicago, IL, USA, 2012.*
25. Sahin AA, Ro J, Ro JY, et al. Ki-67 immunostaining in node-negative stage I/II breast carcinoma. Significant correlation with prognosis. *Cancer.* 1991;68(3):549-57.
26. Viale G, Regan MM, Mastropasqua MG, et al. Predictive value of tumor Ki-67 expression in two randomized trials of adjuvant chemoendocrine therapy for node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:207-12.
27. Inwald EC, Klinkhammer-Schalke M, Hofstädter F, et al. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;139(2):539-52.
28. Penault-Llorca F, Andre' F, Sagan C, et al. Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2809-15
29. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24(23):3726-34.
30. Cuzick J, Dowsett M, Pineda S, et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer. *J Clin Oncol.* 2011;29(32):4273-8.
31. Ács B, Kulka J, Kovács KA, et al. Comparison of 5 Ki-67 antibodies regarding reproducibility and capacity to predict prognosis in breast cancer: does the antibody matter? *Hum Pathol.* 2017;65:31-40.
32. Focke CM, Bürger H, van Diest PJ, et al. Interlaboratory variability of Ki67 staining in breast cancer. *Eur J Cancer.* 2017;84:219-227.