

## BALIKESIR MEDICAL JOURNAL

## İnvaziv duktal karsinomlarda bcl 2 ve katepsin D'nin prognostik faktörlerle ilişkisi

*The correlation with prognostic factors of bcl-2 and cathepsin D in invasive ductal carcinomas*Mustafa Kösem<sup>1</sup>, İbrahim Gelincik<sup>2</sup>, İrfan Bayram<sup>3</sup>, Mehmet Çetin Kotan<sup>4</sup>, Ayhan Yıldırım<sup>5</sup>

1- Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji A.D./ Sakarya

2- Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Patoloji A.D./Tekirdağ

3- Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji A.D./ Van

4- Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi A.D./ Van

5- Diyarbakır Kadın Doğum Ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Patoloji Bölümü/ Diyarbakır

## Öz

Giriş: Meme kanserlerinden invaziv duktal karsinom, kadınlarda en sık görülen meme kanseridir. Bu tümörlerde erken tanı ve uygun tedavi yaşam süresini önemli ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle son yıllardaki çalışmaların, meme kanserlerinde prognozu belirleme ve sistemik yayılımı önleme amacıyla hormonal ve kemoterapötik ajanlarla tedavide yoğunlaştığı görülmektedir. Sadece klasik parametrelerin prognozu ve tedaviyi yönlendirmede yeterli olmaması nedeniyle yeni, güvenilir belirleyicilere gerek vardır. Bu nedenle bu çalışmada, memenin invaziv duktal karsinom (İDK)'unda bcl-2 ve katepsin D'nin birbirleriyle ve diğer prognostik faktörlerle olan ilişkisi araştırıldı.

Gereç Ve Yöntem: Mastektomi ve aksiller diseksiyon materyali incelenen ve invaziv duktal karsinom tanısı alan 50 adet olgu çalışmaya alındı. Bunun yanı sıra tümör çevresi lenfatik, kan damarı ve perinöral invazyonun varlığı araştırıldı. Östrojen, progesteron ve c-erbB-2 ile boyanmış olan lamlar tekrar gözden geçirilerek her biri için ayrı ayrı skorlama yapıldı. Ayrıca 50 invaziv duktal karsinom olgusu, bcl-2 ve katepsin D ile immünohistokimyasal olarak boyandı.

Bulgular: Progesteron reseptörü ve düşük NS ile bcl-2 ekspresyonu arasında güçlü pozitif bir ilişki tespit edilirken katepsin D ve diğer prognostik faktörlerle bcl-2 ekspresyonu arasında güçlü pozitif bir ilişki tespit edilmedi. Perinöral invazyon, lenf damarı invazyonu, kan damarı invazyonu ve yüksek NS ile katepsin D ekspresyonu arasında güçlü pozitif bir ilişki gözlenirken diğer prognostik faktörler, c-erbB2, progesteron reseptörü, östrojen reseptörü ile katepsin D ekspresyonu arasında güçlü bir ilişki gözlenmedi.

Sonuç: Bcl-2'nin düşük dereceli, katepsin D'nin ise yüksek dereceli ve invazyon yeteneği kazanmış invaziv duktal karsinom olgularının belirlenmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** invaziv duktal karsinom; bcl-2; katepsin D; İmmunohistokimya.

## Abstract

**Introduction:** Invasive ductal carcinoma which is cancers of the breast is the most common cancer of the breast in women. In this tumors, early diagnosis and appropriate medical treatment is to influence markedly to life span. For this reason, cancers of the breast is occurred intensify at therapy with chemotherapeutic agents and hormonal treatment for the purpose of prevention systemic spread and prognosis determination of works in the last years. Just reliable determinatives are necessary, because of not to be adequate to orientate treatment and prognosis only classic parameters. For this reason, it was evaluated the correlation with each other and other prognostic factors of bcl-2 and cathepsin D in invasive ductal carcinomas of the breast in the present study.

**Materials and methods:** In the present study, it was included 50 cases diagnosed with invasive ductal carcinoma and examined mastectomy and axillary dissection material. Slides stained with estrogen, progesterone and c-erbB-2 were reviewed again and done scoring separately for each slide. Also in the present study it was stained bcl-2 and cathepsin D expression in 50 invasive ductal carcinomas by immunohistochemistry, and evaluated the correlation with other prognostic factors and each other.

**Results:** A strong positive relationship was not detected between bcl-2 expression with other prognostic factors and cathepsin D protein, while a strong positive relationship was detected between bcl-2 expression with low nuclear grade and progesterone receptor' status. A strong correlation was not observed between cathepsin D expression with oestrogen receptor' status and progesterone receptor' status and c-erbB-2 oncogene amplification and other prognostic factors, while a strong correlation was also observed between cathepsin D expression with high nuclear grade and blood vessel invasion and lymph-vessel invasion and perineural invasion.

**Conclusion:** Bcl-2 is thought to be important in determining of invasive ductal carcinoma cases with low grade, while cathepsin D is thought to be important in determining of invasive ductal carcinoma cases with high grade and invasion ability.

**Key words:** Invasive ductal carcinoma, Bcl-2, Cathepsin D, Immunohistochemistry.

Gönderilme Tarihi: 11-9-2018

Kabul Tarihi: 12-11-2018

**Atıf için:** Mustafa Kösem, İbrahim Gelincik, İrfan Bayram, Mehmet Çetin Kotan, Ayhan Yıldırım, İnvaziv duktal karsinomlarda bcl 2 ve katepsin D'nin prognostik faktörlerle ilişkisi, Balıkesir Medical Journal, 2018 2(3);197-179

Sorumlu Yazar: İbrahim Gelincik

Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Patoloji A.D./Tekirdağ

e-mail- ibrahimgelincik4@gmail.com

Cep tel: 0554 293 3948

## GİRİŞ

Meme kanseri dünyada kadınlarda en sık görülen malign tümördür (1, 2). Bir yılda dünyada 1.384.155 yeni vaka ve yaklaşık olarak 459.000 ölüm olduğu tahmin edilmektedir (3). Bazı meme kanserleri klinik olarak son derece agresif seyrederek bazılarında yavaş büyürler ve çok iyi prognoza sahiptirler (4). Meme kanserlerinde fenotipin prognozla ilişkisini saptamak ve hormonal tedaviye nasıl bir cevap alınacağını bilmek için uzun yıllar tümör tipi, çapı, evresi, derecesi, lenf nodu metastazı ve hormon reseptör durumu gibi klasik prognostik parametreler kullanılmıştır. Lakin bu parametreler, prognozun belirlenmesi ve özellikle tedavinin yönlendirilmesinde yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple son yıllarda sistemik yayılımı önlemek amacıyla kullanılan hormon ve ilaç tedavisine yanıtta yol gösterecek ve tümörün prognozunu nasıl olacağını daha iyi tespit edecek yeni biyolojik belirleyicilerin kullanılması araştırmacıların hedefi haline gelmiştir.

Son zamanlarda meme kanserinde prognozun belirlenmesi ve tedavinin yönlendirilmesinde östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), c-erbB-2 onkoproteini ve p53 tümör süpresör geni üzerinde durulmaktadır. Fakat bunlar prognozun belirlenmesi ve tedavinin yönlendirilmesinde yeterli etkinliği tam olarak gösteremediğinden, yeni ilave güvenilir belirleyicilere ihtiyaç vardır. Meme kanserinde kromozomal ve DNA anomalileri sıklıkla görülmesine rağmen, bcl-2 gen ailesi tarafından kontrol edilen apoptoz, karsinogenetik süreçte önemli bir mekanizma olarak görülmektedir. Bcl-2 geni, bu büyük gen ailesinin prototipidir. Bcl-2'nin hem prognozu belirleyecek, hem de hormonal tedaviyi yönlendirecek nitelikte olduğu görülmektedir. Bcl-2 proteini, meme kanserlerinin %60-80'inde eksprese edilmektedir (5). Yapılan çalışmalarda bcl-2 pozitifliğinin düşük NS, histolojik derece ve iyi diferansiye tümörlerle çok güçlü korelasyon gösterdiği saptanmıştır (6). Daha kuvvetli bcl-2 protein ekspresyonu, ER ve PR pozitifliği, düşük nükleer skor (NS) ve mutant p53 yokluğu ve düşük seviyede c-erbB-2 ekspresyonu ile beraberlik gösterir (5).

Katepsin D, meme kanser hücrelerinin çoğu tarafından sekrete edilen ve aşırı eksprese edilen, asidik lizozomal bir proteazdır. 52 kD ağırlığında prekürsör form (prokatepsin D) olarak sentezlenen katepsin D, intrasellüler ortamda 48 kD ve 34+14 kD ağırlığında matür formlara dönüşerek, lizozomlarda depolanır. Katepsin D nin MCF-7 insan meme kanseri hücre kültüründe östrojenin etkisiyle sentezinin ve sekresyonunun arttığı saptanmıştır. İn vitro ortamda meme kanseri hücreleri tarafından salgılanan prokatepsin D'nin ekstrasellüler matriksi parçaladığı gösterilmiş ve daha sonra yapılan çalışmalarla katepsin D'nin bu

etkisini hücrelerin ekstrasellüler matriksi fagosite etmeleriyle oluşan, intrasellüler asidik veziküllerde gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Bunlardan başka katepsin D geninin 11. kromozomun kısa kolunda H-ras onkoproteinine yakın lokalizasyonda bulunduğu ve meme kanseri örneklerinde yüksek sitozolik katepsin D konsantrasyonunun c-myc amplifikasyonu ile paralellik gösterdiği saptanmıştır (7).

Bu bulgulardan yola çıkarak, katepsin D'nin meme kanserinde agresif biyolojik davranışın göstergesi olabileceği düşüncesi doğmuştur. Katepsin D ile yapılan çalışmaların bir kısmında, katepsin D'nin sitozolik konsantrasyonu tümör örneklerinde immün radyometrik (İRK) yöntemlerle belirlenirken, bir kısmında da katepsin D immün reaktivitesi, frozen ya da parafin kesitlerde İHK'sal olarak araştırılmıştır.

Katepsin D'nin aşırı ekspresyonu meme tümörlerinin agresif davranışı ve kısalmış yaşam ile birliktelik gösterir. Buna rağmen, tümör dokusunda katepsin D'nin immünohistokimyasal olarak çalışılmasında, hastalığın seyri ve katepsin D ekspresyonu arasında tutarlı bir ilişki gösterilememiştir (8).

Bu çalışmada, katepsin D ve bcl-2'nin memenin invaziv duktal karsinom (İDK)'unda diğer prognostik faktörlerle ve birbirleriyle olan ilişkileri araştırıldı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

**1. Gereç:** Bu çalışmaya, 2004-2006 yılları arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalında mastektomi ve aksiller diseksiyon materyali incelenen ve invaziv duktal karsinom tanısı alan 50 olgu alındı. Olguların lam arşivinden çıkarılan preparatları, yeniden gözden geçirildi. İmmünohistokimya (İHK)'sal boyama için uygun bloklar saptandı.

**2. Yöntem:** Elli adet olgunun tümör örneklerinin kesitleri ışık mikroskopunda yeniden gözden geçirildi. Tümör diferansiyasyonu, histolojik derece ve NS'ları ile mitoz sayısı Bloom Richardson'a göre ayrı ayrı değerlendirildi. Bunun yanısıra tümör çevresi lenfatik, kan damarı ve perinöral invazyonun varlığı araştırıldı. Tümörün deri ile ilişkisi saptandı. Tümör çapı ve aksiller lenf nodlarının durumu değerlendirildi. Multifokal ve multisentrik tümörlerde, en büyük tümörün çapı ele alındı. Östrojen, progesteron ve c-erbB-2 ile boyanmış olan lamalar tekrar gözden geçirilerek her biri için ayrı ayrı skorlama yapıldı.

Elli adet invaziv duktal karsinom tanısı alan dokulardan en uygun birer blok seçildi. Bu bloklardan İHK'sal olarak bcl-2 ve katepsin D antikorları ile avidin-biotin peroksidaz tekniği kullanılarak boyama yapılarak her bir boya için ayrı ayrı skorlama yapıldı.

**3. İmmünohistokimyasal Boyama:** Bcl-2 ve katepsin D için yapılan immunohistokimyasal boyamada dört mikron kalınlığındaki kesitler ksilende deparafinize edilip, etanol serileri içinde dehidrate edildiler. %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 10 dakika inkübe edildiler. Daha sonra distile su ile yıkanarak 20 dakika, 750 W'da Target Retrieval solüsyonunda (1/10 sulandırılarak), her beş dakikada birer dakika ara verilerek toplam 20 dakika antijen uygulandı. Yirmi dakika oda ısısında bekletildikten sonra distile suda yıkandılar. Phosphate-buffered saline (PBS)'de beş dakika bekletildiler. Kullanıma hazır bcl-2 sıvı bazlı monoklonal(clone bcl-2/100/D5 IgG1) antikor ile ve kullanıma hazır katepsin D Ab-1(clone C5 Mause MAb IgG2b) ile bir saat inkübe edildi. Antikorlar arındırılarak 10 dakika PBS'de bekletildi. Biotin solüsyonunda 15 dakika inkübe edildikten sonra, 10 dakika PBS'de tutuldular. Streptavidin Peroxidase solüsyonunda 15 dakika inkübe edildiler. 10 dakika PBS'de bekletildikten sonra 3 amino-9-etylcarbazole (AEC) kromojende beş dakika bekletildiler. Distile su ile yıkandılar. Kesitler zıt boyama için Mayer's Hematoksilin'de beş dakika tutuldu. Daha sonra akan musluk suyunda yıkanarak Ultramound ile kapatıldılar.

**4. Değerlendirme:** ER, PR, c-erbB-2, bcl-2 ve katepsin D'nin immünreaktivitesinin değerlendirilmesi için standart ışık mikroskopunda x 40 objektif ile pozitifliğin minimum ve maksimum olduğu beşer alan seçilerek, 10 alanda toplam 1000 hücre sayıldı. ER, PR, immünboyanmalarında, tüm nükleer boyanmalar, boyanma şiddetindeki farklılığa bakılmaksızın pozitif kabul edildi. c-erbB-2 için tam membranöz boyanma, bcl-2 pozitifliğinin değerlendirilmesinde sitoplazmik ve membranöz boyanma, katepsin D için ise sitoplazmik boyanma dikkate alındı.

Sonuçlar pozitif hücrelerin yüzdesi olarak ifade edildi. Bcl-2 için Nakopoulou L. ve arkadaşlarının (6) ve katepsin D için Nadji M. ve arkadaşlarının (9) yayınlarda dikkati çeken, yüzdelerine göre skorlama sistemi çalışmamızda tüm immünboyalara uygulandı.

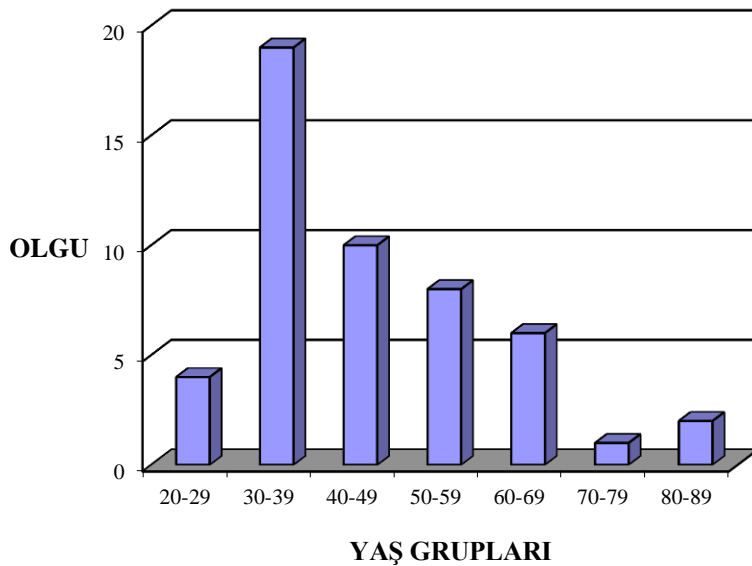
Bu skorlama sistemine göre östrojen, progesteron, c-erb-B2 ve bcl-2 için; %0-9 arasında boyanma gösteren olgular sıfır(yani negatif), %10-29 arasında boyanma gösteren olgular bir pozitif, %30-70 arasında boyanma gösteren olgular iki pozitif, %70< boyanma gösteren olgular üç pozitif olarak, katepsin D için ise pozitif boyanma gösteren hücre oranının yanı sıra, boyanma şiddeti de değerlendirildi. Buna göre %0-33 boyanma gösteren tümörler için bir,

%34-66 boyanma gösteren tümörler için iki, %66'dan daha fazla oranda boyanma gösteren tümörler için üç puan verildi. Ayrıca, boyanmanın şiddetine göre hafif, orta ve şiddetli boyanma gösteren tümörler sırasıyla bir, iki ve üç puanla değerlendirildi. Her iki değerlendirmeden elde edilen puanlar toplanarak katepsin D histoskor (HS)'u elde edildi. Buna göre 0-2 HS'a sahip tümörler düşük katepsin D histoskoru (DKDHS), 3-6 HS'a sahip tümörler yüksek katepsin D histoskoru (YKDHS)'na sahip tümörler olarak kabul edildi.

**5. İstatistiksel Değerlendirme:** Tanımladığımız skorlama sistemine göre olguları kıyaslamak için korelasyon testi uygulandı. Bcl-2, ER, PR ve c-erbB-2'nin kullanıldığı durumlarda, %0-9 boyanma gösteren olgular negatif gruba, %10 ve üzerinde boyanma gösterenler de pozitif gruba alındı. Katepsin D'nin kullanıldığı durumlarda %0-100 boyanma gösteren, yani tüm olgular pozitif olarak değerlendirildi. Uygulanan testlerde istatistiksel olarak p değeri 0,05'den büyük olanlar ( $p>0,05$ ) anlamsız, p değeri 0,05'den küçük olanlar ( $p<0,05$ ) anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

**1. Demografik Bulgular:** Hastalarımızın yaş itibarıyla en küçük olanı 23, en büyük olanı 82 yaşında olup, yaş ortalaması  $44,88\pm 14,15$ 'dir. Hastaların büyük çoğunluğu 4. ve 5. dekatlarda yer almaktadır. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı Şekil 1'de gösterildi.



**Şekil 1:** Olguların yaş gruplarına göre dağılımı.

Çalışılan 50 vakada tümörlerin 23'ü sağ memede, 27'si ise sol memede bulunmakta idi.

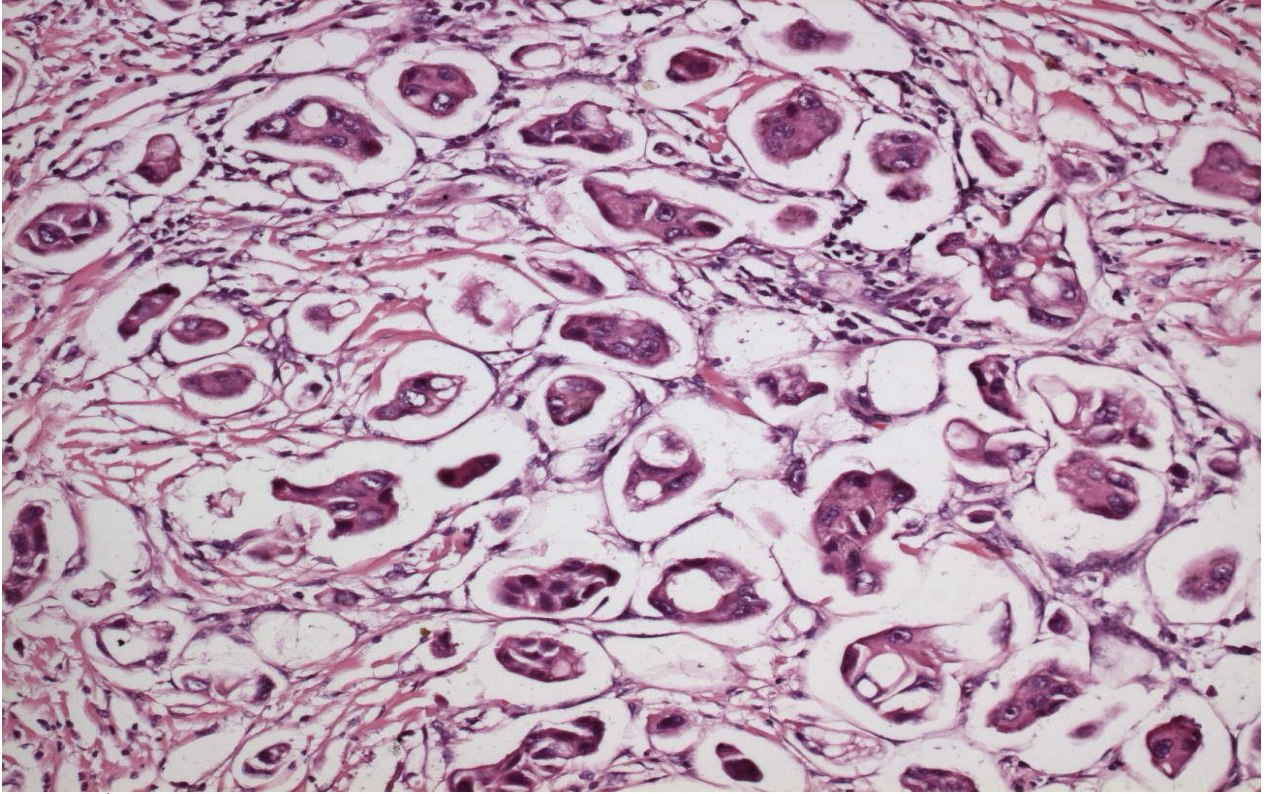
**2. Patolojik Bulgular:** En küçük tümör çapı 0,6 cm, en büyüğü ise 12 cm olup ortalama tümör çapı 3,1 cm olarak saptandı. Olgulara ait patolojik bulgular Tablo 1 de özetlendi.

Patolojik Veriler	Olgu Sayısı	Patolojik Veriler	Olgu Sayısı
<b>Lokalizasyon</b>		<b>Deri Tutulumu</b>	
Sağ Meme	23	(+)	12
Sol Meme	27	(-)	38
<b>Çap</b>		<b>Aksiller Tutulum</b>	
< 2 Cm	16	(+)	20
2-5 Cm	25	(-)	30
> 5 Cm	9	<b>Er</b>	
<b>Histolojik Derece</b>		0 (%0-9)	40
1	12	1 (% 10-29)	7
2	26	2 (%30-70)	1
3	12	3 (>%70)	2
<b>Nükleer Skor</b>		<b>Pr</b>	
1	7	0 (%0-9)	36
2	29	1 (% 10-29)	6
3	14	2 (%30-70)	6
<b>Mitoz</b>		3 (>%70)	2
1	22	<b>C-ErbB-2</b>	
2	14	0 (%0-9)	24
3	14	1 (% 10 29)	10
<b>Kan Damarı İnvazyonu</b>		2 (% 30-70)	6
(+)	21	3 (>%70)	10
(-)	29	<b>Bcl-2</b>	
<b>Lenfatik İnvazyon</b>		0 (%0-9)	35
(+)	27	1 (% 10-29)	10
(-)	23	2 (%30-70)	4
<b>Perinöral İnvazyon</b>		3 (>%70)	1
(+)	12	<b>Katepsin D</b>	
(-)	38	1 (Dkdhs)	24
		2 (Ykdhs)	26

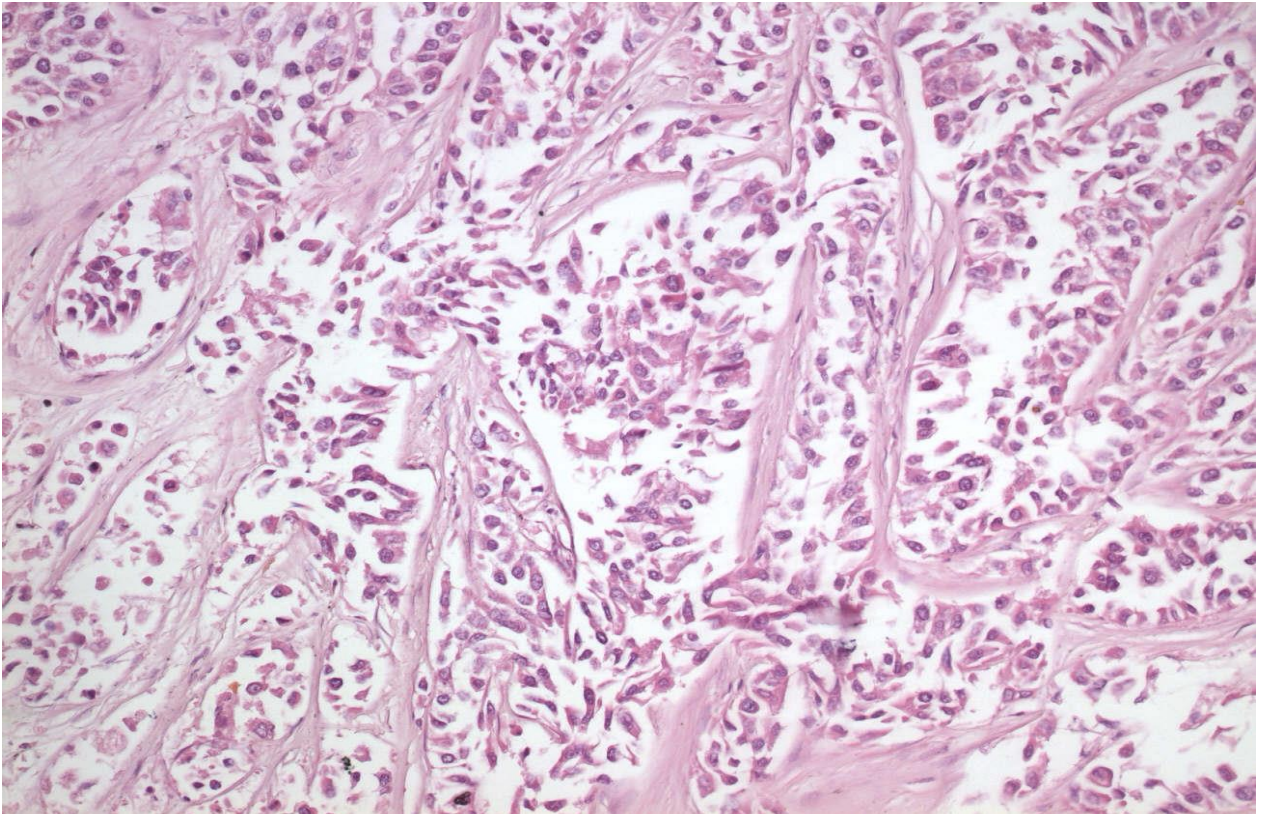
**Tablo 1:** Olguların patolojik özellikleri.

Tümörler histolojik derece (HD) açısından incelendiğinde 12 vaka HD 1 (Resim 1), 26 vaka HD 2 (Resim 2), 12 vaka HD 3 (Resim 3) olarak değerlendirildi.



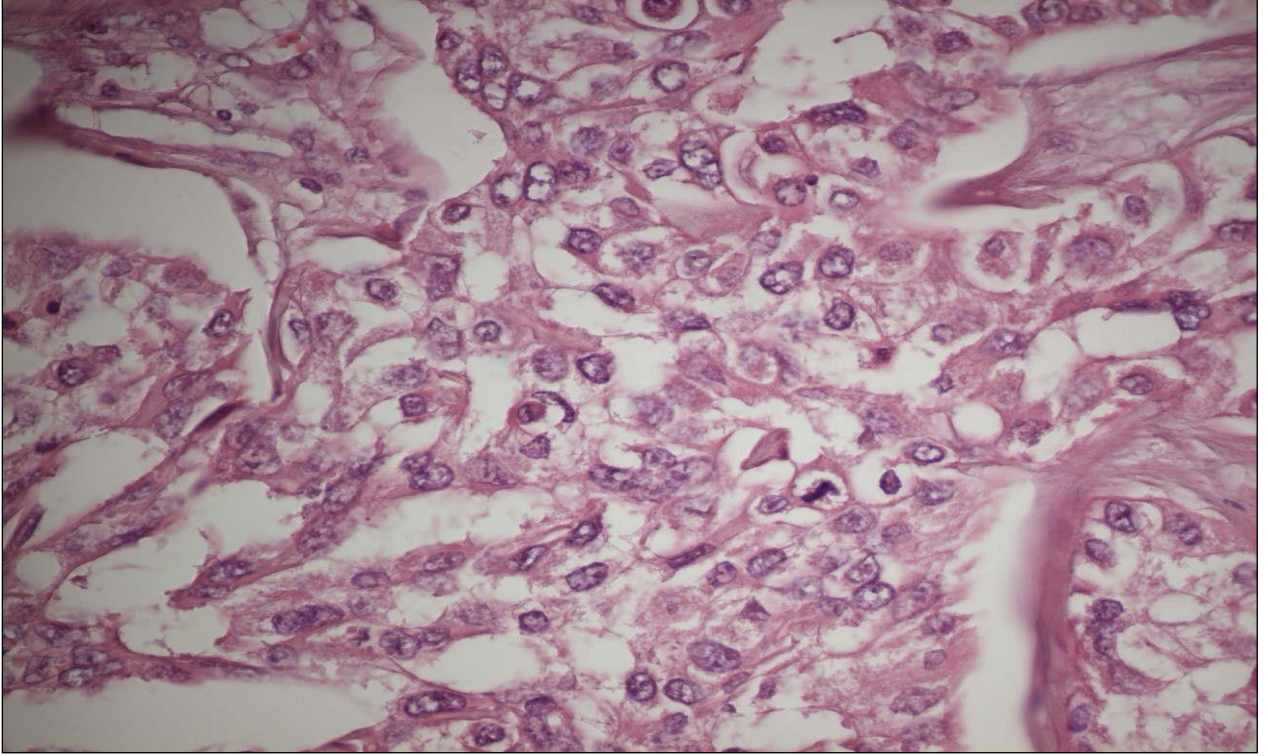


**Resim 1:** İDK'da histolojik derece 1 (HE X 200).



**Resim 2:** İDK'da histolojik derece 2 (HE X 200).





**Resim 3:** İDK'da histolojik derece 3 (HE X 400).

NS açısından incelendiğinde 7 vaka NS 1, 29 vaka NS 2, 14 vaka NS 3 idi.

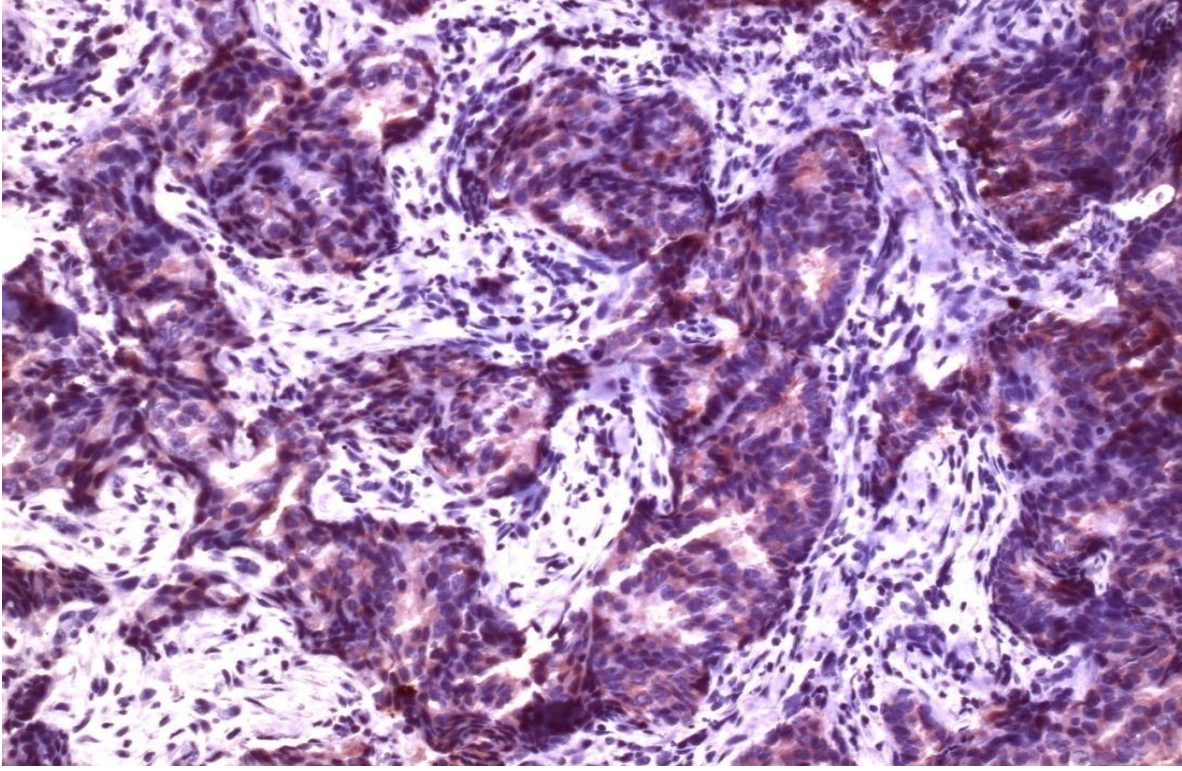
Mitoz açısından incelendiğinde 22 vaka mitoz 1, 14 vaka mitoz 2, 14 vaka mitoz 3 olarak değerlendirildi.

Tümöre komşu alanlarda kan damarı, lenfatik invazyon ve perinöral invazyonun varlığı araştırıldı. Tüm olgular içerisinde 21 olguda kan damarı invazyonu, 27 olguda lenfatik invazyon, 12 olguda ise perinöral invazyon tespit edildi. Olguların 12'sinde deri tutulumu izlendi. Vakaların 20'sinde aksiller lenf nodu metastazı saptanırken, 30'unda metastatik tümör görülmedi.

Steroid hormon reseptörlerinden ER'nün immünohistokimyasal incelemesinde, olguların 40'ında negatiflik, 10'unda pozitiflik, PR'nün immünohistokimyasal incelemesinde olguların 36'sında negatiflik, 14'ünde pozitiflik, membranöz c-erbB-2 immünoreaktivitesinde olguların 24'ünde negatiflik, 26'sında pozitiflik saptandı. Tüm immünohistokimyasal boyanmaları değerlendirirken ER için kullandığımız skorlama sistemine göre, 40 olgu skor 0, yedi olgu skor 1, bir olgu skor 2, iki olgu skor 3 olarak, PR için kullandığımız skorlama sistemine göre 36 olgu skor 0, altı olgu skor 1, altı olgu skor 2, iki olgu skor 3 olarak, membranöz c-erbB-2 immünoreaktivitesinde kullandığımız skorlama sistemine göre 24 olgu skor 0, 10 olgu skor 1, altı olgu skor 2, 10 olgu skor 3 olarak değerlendirildi.



Membranöz ve sitoplazmik bcl-2 immünreaktivitesinde olguların 35'inde negatiflik, 15'inde pozitiflik saptandı. Bcl-2 immünreaktivitesinde kullandığımız skorlama sistemine göre 35 olgu skor 0, 10 olgu skor 1, dört olgu skor 2, bir olgu skor 3 (Resim 4) olarak değerlendirildi.



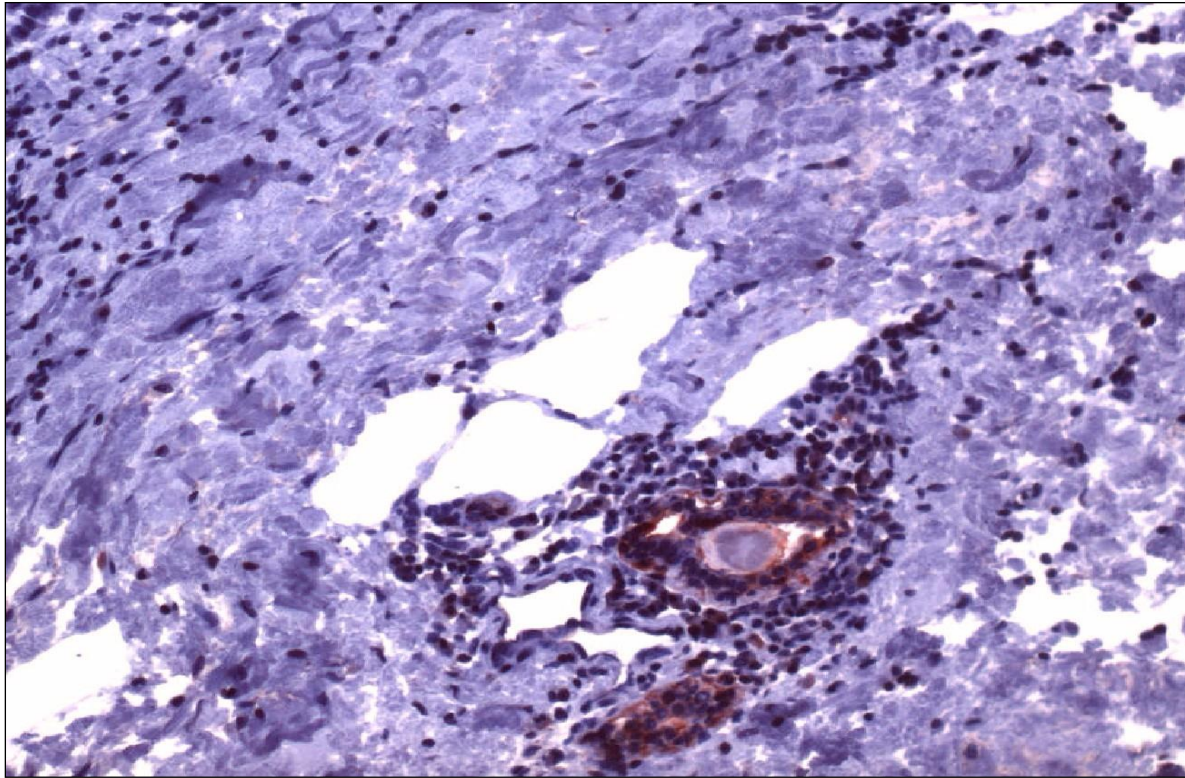
**Resim 4:** İDK'da bcl-2 ile grade III boyanma (İmmünperoksidaz X 200).

Bcl-2 pozitifliği çoğunlukla sitoplazmik, bazı vakalarda membranöz boyanma şeklindeydi. Hemen hemen tüm olgularda tümöre komşu normal meme epitel hücreleri ve periduktal lenfositlerde kuvvetli ve diffüz sitoplazmik boyanma görüldü (Resim 5). Bu da bizim için, boyanın güvenilirliği açısından internal kontrolü sağladı.

<b>Prognostik Parametre</b>	<b>Bcl-2(+)</b>	<b>Bcl-2(-)</b>	
<b>Çap</b>			
< 2 Cm	5	11	
2-5 Cm	9	16	
>5 Cm	2	7	P>0.05
<b>Histolojik Derece</b>			
1	5	7	
2	8	18	
3	3	9	P>0.05
<b>Nükleer Skor</b>			
1	3	4	
2	12	17	
3	1	13	<b>P=0.043</b>
<b>Mitoz</b>			

1	7	15	
2	5	9	
3	4	10	P>0.05
<b>Kan Damarı İnvazyonu</b>			
(+)	7	14	
(-)	9	20	P>0.05
<b>Lenfatik İnvazyon</b>			
(+)	8	19	
(-)	8	15	P>0.05
<b>Perinöral İnvazyon</b>			
(+)	2	10	
(-)	14	24	P>0.05
<b>Deri Tutulumu</b>			
(+)	2	10	
(-)	14	24	P>0.05
<b>Aksiller Tutulum</b>			
(+)	7	13	
(-)	9	21	P>0.05

**Tablo 2:** Bcl-2'nin prognostik parametrelerle karşılaştırılması.



**Resim 5:** Periduktal lenfositlerin bcl-2 ile immünpozitifliği (İmmünperoksidaz X 200).

Bcl-2'nin prognostik parametrelerle karşılaştırılması tablo 2 de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Çap ile bcl-2 arasındaki ilişkiye baktığımızda; <2 cm olan 16 tümörün beşi (%31,2) bcl-2 (+), 11'i (%68,8) bcl-2 (-); 2-5 cm olan 25 tümörün dokuzu (%36) bcl-2 (+), 16'sı (%64) bcl-2 (-)

); >5 cm olan dokuz tümörün ikisi (%22,2) bcl-2 (+), yedisi (%77,8) bcl-2(-) boyanma gösterdi. Sonuçlar istatistiki olarak anlamlı değildi. (p>0.05).

Histolojik derece (HD) 1 olan 12 tümörün beşi (%41,7) bcl-2 (+), yedisi (%58,3) bcl-2(-); HD 2 olan 26 tümörün sekizi (%30,8) bcl-2 (+), 18'i (%69,2) bcl-2 (-); HD 3 olan 12 tümörün üçü (%25) bcl-2 (+), dokuzu (%75) bcl-2 (-) idi. Burada da sonuçlar istatistiki olarak anlamlı değildi (p>0.05).

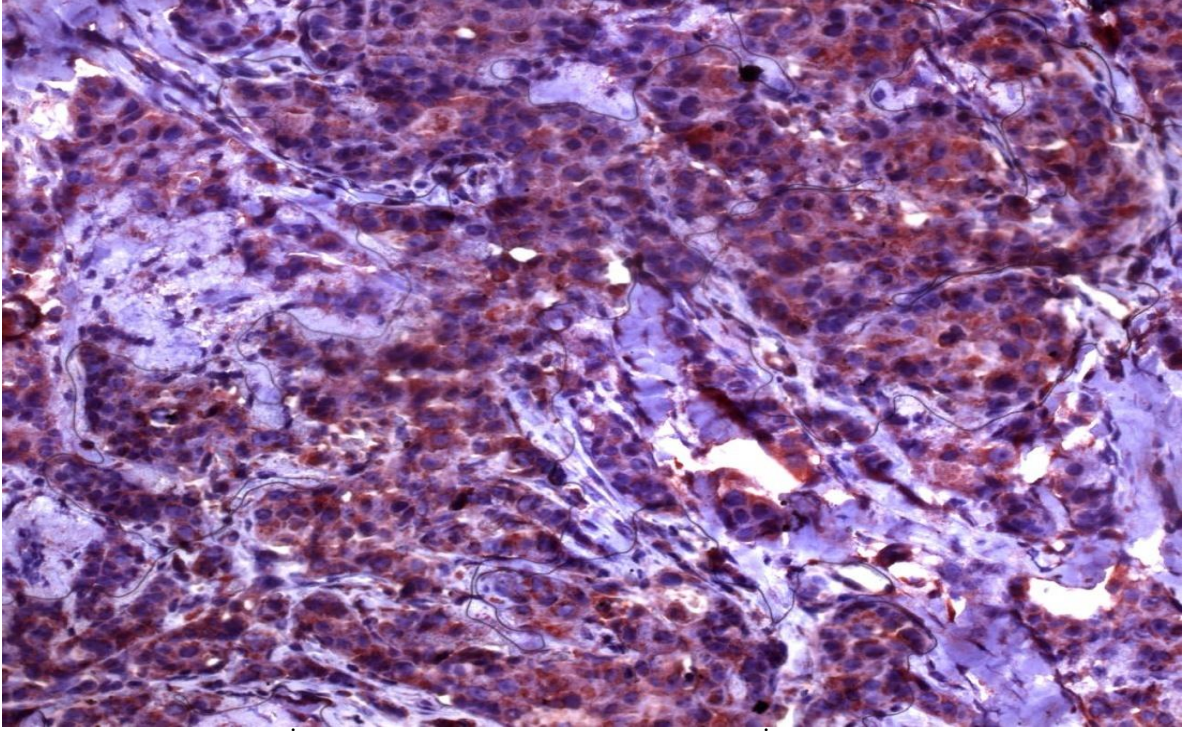
NS ile bcl-2 immünreaktivitesini karşılaştırdığımızda NS 1 olan yedi tümörün üçünün (%42,9) bcl-2 (+), dördünün (%57,1) bcl-2 (-); NS 2 olan 29 tümörün 12'sinin (%41,4) bcl-2 (+), 17'sinin (%58,6) bcl-2 (-); NS 3 olan 14 tümörün birinin (%7,1) bcl-2 (+), 13'ünün (%92,9) bcl-2 (-) olduğu görüldü (**p=0,043**). NS'un düşük olduğu olgularda bcl-2 pozitifliğinin yüksek olması istatistiksel olarak anlamlıydı (P<0,05).

Mitozu 1 puan olan 22 tümörün yedisinin (%31,8) bcl-2 (+), 15'inin (%68,2) bcl-2(-); mitozu 2 puan olan 14 tümörün beşinin (%35,7) bcl-2 (+), dokuzunun (%64,3) bcl-2 (-); mitozu 3 puan olan 14 tümörün dördünün (%28,6) bcl-2 (+), 10'unun (%71,4) bcl-2 (-) olduğu dikkati çekti. Bunların ikisi arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç mevcut değildi.

Kan damarı invazyonu, lenfatik invazyon, perinöral invazyon, deri tutulumu, aksiller lenf nodu metastazı varlığı gibi tümör değişkenleri ile bcl-2 immünreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (P<0,05).

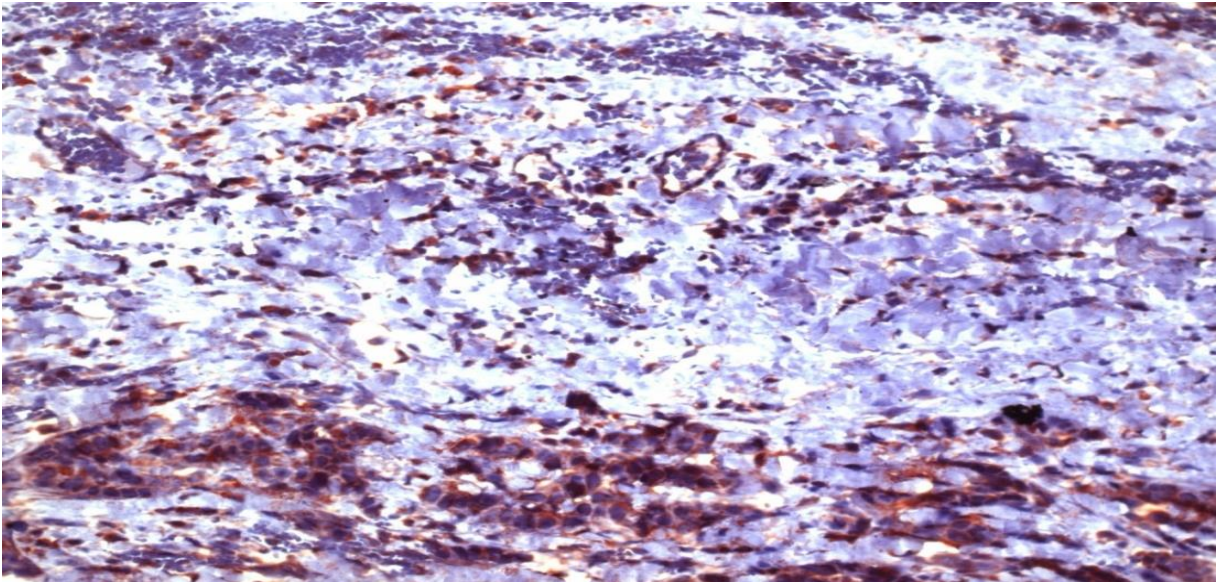
Katepsin D immünreaktivitesi homojen ya da enzimin lizozomal dağılımını yansıtır şekilde, kaba granüler paternde izlendi. Olguların bir kısmında fokal ve zayıf bir boyanma elde edilirken, pozitiflik gösteren tümörlerin çoğunda yaygın ve kuvvetli bir boyanma saptandı (Resim 6).





**Resim 6:** YKDHS'na sahip İDK olgusunda katepsin D immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz X 200).

Katepsin-D tümör hücreleri dışında, sıklıkla makrofajlarda da saptandı ve makrofajlar bu özellikleri ile immünreaktivitenin internal kontrolünü sağlamada yardımcı oldu (Resim 7).



**Resim 7:** İDK'da tümör hücreleri ve stromal makrofajların katepsin D ile immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz X 200).

Katepsin D immünreaktivitesinde skorlarına göre sınıflandırıldığında olguların 26'sı YKDHS'na, 24'ü DKDHS'na sahipti.

Katepsin D'nin prognostik parametrelerle karşılaştırılması tablo 3 de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Prognostik Parametre	Ykdhs	Dkdhs	
<b>Çap</b>			
<2	6	10	
2-5 Cm	11	14	
>5 Cm	7	2	P>0.05
<b>Histolojik Derece</b>			
1	7	5	
2	9	17	
3	8	4	P>0.05
<b>Nükleer Skor</b>			
1	1	6	
2	14	15	
3	9	5	<b>P=0.039</b>
<b>Mitoz</b>			
1	11	11	
2	6	8	
3	7	7	P>0.05
<b>Kan Damarı İnvazyonu</b>			
(+)	14	7	
(-)	10	19	<b>P=0.024</b>
<b>Lenfatik İnvazyon</b>			
(+)	19	8	
(-)	5	18	<b>P=0.0001</b>
<b>Perinöral İnvazyon</b>			
(+)	9	3	
(-)	15	23	<b>P=0.032</b>
<b>Deri Tutulumu</b>			
(+)	8	4	
(-)	16	22	P>0.05
<b>Aksiller Tutulum</b>			
(+)	12	8	
(-)	12	18	P>0.05

**Tablo 3:** Katepsin D'nin prognostik parametrelerle karşılaştırılması.

Çap ile katepsin D arasındaki ilişkiye baktığımızda; <2 cm olan 16 tümörün altısı (%37,5) YKDHS'una, 10'u (%62,5) DKDHS'una; 2-5 cm olan 25 tümörün 11'i (%44) YKDHS'una, 14'ü (%56) DKDHS'una; >5 cm olan dokuz tümörün yedisi (%77,8) YKDHS'una, ikisi (%22,2) DKDHS'una sahipti. Burada istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç mevcut değildi (p>0.05). Histolojik derece (HD) 1 olan 12 tümörün yedisinde (%58,3) YKDHS'u, beşinde (%41,7) DKDHS'u; HD 2 olan 26 tümörün dokuzunda (%34,6) YKDHS'u, 17'sinde (%65,4) DKDHS'u; HD 3 olan 12 tümörün sekizinde (%66,7) YKDHS'u, dördünde (%33,3) DKDHS'u gözlemlendi. Burada da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç mevcut değildi (p>0.05).

NS ile katepsin D immünreaktivitesini karşılaştırdığımızda, NS 1 olan yedi tümörün birinde (%14,3) YKDHS'u, altısında (%85,7) DKDHS'u; NS 2 olan 29 tümörün 14'ünde (%48,3) YKDHS'u, 15'inde (%51,7) DKDHS'u; NS 3 olan 14 tümörün dokuzunda (%64,3) YKDHS'u, beşinde (%35,7) DKDHS'u dikkati çekti (**p=0.039**). NS'un düşük olduğu olgularda katepsin D pozitifliğinin düşük olması, yüksek olduğu olgularda katepsin D pozitifliğinin yüksek olması istatistiksel olarak anlamlıydı (**p<0,05**)

Mitoz sayısı 1 olan 22 tümörün 11'i (%50) YKDHS'u, 11'i (%50) DKDHS'u; mitoz sayısı 2 olan 14 tümörün altısı (%42,9) YKDHS'u, sekizi (%57,1) DKDHS'u; mitoz sayısı 3 olan 14 tümörün yedisi (%50) YKDHS'u, yedisi (%50) DKDHS'u gösterdi. İki arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi ( $p>0.05$ ).

Kan damarı invazyonu ile katepsin D arasındaki ilişkiye baktığımızda; kan damarı invazyonu pozitif olan 21 tümörün 14'ü (%66,7) YKDHS'una, yedisi (%33,3) DKDHS'una; kan damarı invazyonu negatif olan 29 tümörün 10'u (%34,5) YKDHS'una, 19'u (%65,5) DKDHS'una sahipti (**p=0,024**). Kan damarı invazyonunun görüldüğü olgularda katepsin D pozitifliğinin yüksek olması, kan damarı invazyonunun görülmediği olgularda katepsin D pozitifliğinin düşük olması istatistiksel olarak anlamlıydı (**p<0,05**).

Lenfatik invazyonu pozitif olan 27 tümörün 19'unda (%70,4) YKDHS'u, sekizinde (%29,6) DKDHS'u; lenfatik invazyonu negatif olan 23 tümörün beşinde (%21,7) YKDHS'u, 18'inde (%78,3) DKDHS'u gözlemlendi (**p=0,0001**). Burada lenfatik invazyonun görüldüğü olgularda katepsin D pozitifliğinin yüksek olması, lenfatik invazyonun görülmediği olgularda katepsin D pozitifliğinin düşük olması istatistiksel olarak çok anlamlıydı (**p<0,05**).

Perinöral invazyon ile katepsin D immünreaktivitesini karşılaştırdığımızda, perinöral invazyonu pozitif olan 12 tümörün dokuzunda (%75) YKDHS'u, üçünde (%25) DKDHS'u; perinöral invazyon negatif olan 38 tümörün 15'inde (%39,5) YKDHS'u, 23'ünde (%60,5) DKDHS'u dikkati çekti (**p=0.032**). Perinöral invazyonun olduğu olgularda katepsin D pozitifliğinin yüksek olması, perinöral invazyonun olmadığı olgularda katepsin D pozitifliğinin düşük olması istatistiksel olarak anlamlıydı (**p<0,05**).

Deri tutulumu ve aksiller lenf nodu metastazı ile katepsin D immünreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Bcl-2 ile ER, PR ve c-erbB-2 arasındaki ilişki tablo 4'te gösterilmiştir.

	Bcl2(+)	Bcl2(-)	
ER(+)	5	5	
ER(-)	11	29	p>0,05
PR(+)	8	6	
PR(-)	8	28	p=0,017
c-erbB-2(+)	7	19	
c-erbB-2(-)	9	15	p>0,05

**Tablo 4:** Bcl-2 ile diğer immünboyanmaların karşılaştırılması.

ER(+) 10 olgunun beşi (%50) bcl-2(+) iken beşi (%50) bcl-2(-); ER(-) 40 olgunun 11'i (%27,5) bcl-2 (+) iken 29 (%72,5) vakada bcl-2'de negatiflik saptandı (p>0,05). PR(+) 14 olgunun sekizi (%57,1) bcl-2(+) iken, altısı (%42,9) bcl-2(-); PR(-) 36 olgunun sekizinde (%22,2) bcl-2 (+)'liği saptanırken 28 olguda (%77,8) bcl-2 (-) olarak değerlendirildi (p=0,017). PR(+)'nin bcl-2(+)'liği ile paralel olması istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05). c-erbB-2 (+) 26 olgunun yedisi (%53,5) bcl-2 (+), 19'u (%46,5) bcl-2 (-); c-erbB-2 (-) 24 olgunun dokuzu (%72,7) bcl-2 (+), 15'i (%27,3) bcl-2 (-) idi (p>0,05).

Katepsin D ile ER, PR ve c-erbB-2 arasındaki ilişki tablo 5'de gösterilmiştir.

	YKDHS	DKDHS	
ER(+)	5	5	
ER(-)	19	21	p>0,05
PR(+)	8	6	
PR(-)	16	20	p>0,05
c-erbB-2(+)	12	14	
c-erbB-2(-)	12	12	p>0,05

**Tablo 5:** Katepsin D ile diğer immünboyanmaların karşılaştırılması.

ER(+) olan 10 tümörün beşi (%50) YKDHS'una, beşi (%50) DKDHS'una; ER(-) olan 40 tümörün 19'u (%47,5) YKDHS'una, 21'i (%52,5) DKDHS'una sahipti. Aralarında istatistiksel anlamlılık bulunmadı (p>0,05). PR(+) olan 14 tümörün sekizinde (%57,1) YKDHS'u, altısında (%42,9) DKDHS'u; PR(-) olan 36 tümörün 16'sında (%44,4) YKDHS'u, 20'sinde (%55,6) DKDHS'u gözlemlendi. Burada da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç gözlenmedi (p>0,05). c-erbB-2(+) olan 26 tümörün 12'sinde (%46,2) YKDHS'u, 14'ünde (%53,8) DKDHS'u, c-erbB-2(-) olan 24 tümörün 12'sinde (%50) YKDHS'u 12'sinde (%50) DKDHS'u saptandı. İkisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (p>0,05).

Bcl-2 ile katepsin D arasındaki ilişki tablo 6’da gösterilmiştir.

	YKDHS	DKDHS	
Bcl-2 (+)	10	6	
Bcl-2 (-)	14	20	P>0,05

**Tablo 6:** Bcl-2 ile Katepsin D’nin karşılaştırılması.

Bcl-2 (+) 16 olgunun 10’unda (%62,5) YKDHS’u, altısında (%37,5) DKDHS’u, bcl-2(-) 34 olgunun 14’ünde (%41,2) YKDHS’u, 20’sinde (%58’8) DKDHS’u saptandı. Aralarında istatistiksel anlamlılık elde edilemedi ( $p>0.05$ ).

## TARTIŞMA

Meme kanserinin gelişimi ve progresyonu, moleküler değişimlerin farklılaşmasıyla oluşan komplike ve çok basamaklı bir süreçtir. Bu süreç, normal duktal ve lobüler hücrelerden gelişen hiperplazi, atipik hiperplazi, karsinoma in situ ve çevre dokulara invaziv olma hatta metastaz yapma yetisi olan invaziv karsinomu içerir.

Gelişim ve progresyona neden olan genetik lezyonların identifikasyonu, bu kanserin biyolojik heterojenitesini anlamak açısından önemlidir. Prognozun belirlenebilmesi için klinik, patolojik ve biyolojik faktörlerin araştırılıp iyi bir şekilde sentez edilmesi gerekmektedir. Günümüze kadar prognozu belirlemede pek çok klasik parametre (histopatoloji, çap, evre, aksiler lenf nodu metastazi, kan ve lenf damarı invazyonu, steroid hormon reseptörleri) ve ikinci jenerasyon (proliferatif indeks, DNA ploidi, onkogenler, büyüme faktörü reseptörleri, bazı glikoproteinler) prognostik belirleyiciler ortaya konmuştur (10). Ancak bu parametreler prognozu göstermede yeterli olmamıştır. Memenin invaziv duktal karsinomunun prognozunu belirlemede kullanılan ve klasik bir parametre olan histolojik gadelemede, Pradhan ve arkadaşları (11) gibi biz Scarff-Bloom-Richardson’un gradeleme sistemini kullandık. Günümüzde, özellikle erken evre meme kanserinin davranışını önceden belirlemeye yönelik çalışmalar üzerinde durulmaktadır. Bu nedenle meme kanserinin prognozunu belirlemek ve tedavinin yönlendirilmesinde yardımcı olabilecek yeni biyolojik belirleyicilerin kullanılması, araştırmacıların odak noktası haline gelmiştir.

Bugün meme kanserlerinde klasik parametrelerin yanı sıra prognozu belirlemede ve tedaviyi yönlendirmede pek çok biomarker üzerinde durulmakta, ancak çalışmaların ER, PR, c-erbB-2 onkoproteini ve p53 tümör supresör geni üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. ER ve PR özellikle meme kanserli hastaların hormonal tedavisini yönlendirmede vazgeçilemeyen



belirleyiciler olup, artık standart bir uygulama halini almıştır. Endokrin tedaviden yarar görece hastaların seçiminde yardımcıdır. Bu reseptörlerin tümördeki varlıkları iyi prognoz ile korelasyon gösterir ve hastalarda daha uzun hastaliksız sağkalım süreleri gözlenir. Buna karşın ER ve PR negatif olan tümörler daha agresif hastalıkla birlikte ve hormonal tedaviye yanıt iyi değildir.

C-erbB-2 onkogeni ile yüksek histolojik derece ve lenf nodu metastazı (12) arasında bir korelasyon gösterilmesinin yanısıra, c-erbB-2 ile kemoterapiye yanıt arasındaki ilişkiler son zamanlarda üzerinde durulan konulardan bir diğeridir. Ayrıca c-erbB-2 proteininin overekspresyonu ile sağ kalım arasında sıkı ilişki olduğunu bildiren çok sayıda yayın bulunmaktadır. Literatürdeki çalışmalarda c-erbB-2 overekspresyonu %10 ile %50 arasında değişmektedir (13, 14). Çalışmamızda bu oran %25 olarak belirlendi.

Meme kanserinde prognozu belirleme ve tedaviyi yönlendirmede yeni, güvenilir belirleyicilere gerek vardır. Meme kanserinde kromozomal ve DNA anomalilerinin sık görüldüğü bilinmektedir. Bununla birlikte, apoptoz ile ilişkili gen ailesi tarafından kontrol edilen apoptoz, karsinogenetik süreçte önemli bir mekanizma olarak görülmektedir (5). Bcl-2 geni bu büyük gen ailesinin prototipidir. Apoptozis programlanmış hücre ölümüdür ve fizyolojik bir olaydır (15). Bugün, apoptozu inhibe eden bcl-2 geninin hem prognozu hem de hormonal tedaviyi yönlendirebilecek iki özellikli bir belirleyici olabileceği öne sürülmektedir. Bu retrospektif çalışmada meme kanserinin prognozunun ve özellikle hormonal tedaviye yanıtın belirlenmesinde etkili olduğu öne sürülen bcl-2 ve katepsin D'nin kendi çalışma grubumuzda, hem kendi aralarında hem de diğer prognostik faktörlerle ilişkisi ve prognostik etkinliği araştırıldı.

Bcl-2, normal meme dokusunda hemen daima görülmesine rağmen invaziv meme kanserlerinin %60-80'inde de eksprese olurlar (5). Tümörlerde bcl-2 varlığı iyi prognoz ile ilişkilidir. İleri evre tümörlerde azalmış bcl-2 salınımı sözkonusudur (14). Neoadjuvan kemoterapi alan hastalarda bcl-2 oranının da azaldığı bildirilmiştir (16).

Zhang ve arkadaşları (17) yaptıkları çalışmada, bcl-2 ekspresyonunu 148 primer meme karsinomlu hastada araştırmışlar ve tümöre komşu normal meme dokusunda hemen hemen tüm olgularda bcl-2 pozitifliği bulmuşlardır. Çalışmamızda 50 invaziv duktal karsinom vakasının bcl-2 immünohistokimyasal boyanması değerlendirilerek tümöre komşu normal meme epitelinin ve periduktal lenfositlerin hemen tüm olgularda kuvvetli pozitiflik gösterdiği saptandı.

Bcl-2 ekspresyonu normal meme dokusunu apoptozdan koruduğu için oldukça önemlidir ve meme epitelinin yaşam süresini uzatır. Yapılan çalışmalarda bcl-2 pozitifliğinin düşük NS, histolojik derece ve iyi diferansiye tümörlerle çok güçlü korelasyon gösterdiği saptanmıştır (6, 18-20). Klasik prognostik parametrelerden biri olan histolojik diferansiyasyon ile bcl-2 ekspresyonu arasındaki kuvvetli korelasyon literatürdeki bu konu ile ilgili çalışmaların çoğunda gösterilirken, diğer klasik parametreler için (çap, yaş, menapozal durum, lenf nodu metastazı, DNA ploidi, S faz fraksiyonu, mitotik indeks) sonuçlar değişkendir.

Zhang ve arkadaşları (21) bcl-2 ekspresyonu ile histolojik derece, çap, yaş, menapozal durum, lenf nodu metastazı arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca Takei ve arkadaşları (20) bcl-2 pozitifliğinin histolojik diferansiyasyonla kuvvetle korele olduğunu göstermelerine rağmen yaş, menapozal durum, tümör boyutu ve lenf nodu metastazı ile korelasyon saptamadılar. Eissa ve arkadaşları (22) ise bcl-2 ekspresyonu ile histolojik diferansiyasyon, lenf nodu metastazı, tümör çapı, tümör tipi, yaş ve menapoz arasında bir ilişki saptamadılar. Aynı şekilde Helleman ve arkadaşlarının (23) yaptığı çalışmada da klasik parametrelerle bcl-2 arasında bir ilişki bulunamadı. Bizim çalışmamızda ise 50 invaziv duktal karsinom vakamızda yaş, çap, histolojik derece ve NS, mitoz, kan damarı invazyonu, lenfatik ve perinöral invazyon, deri tutulumu ve aksiller lenf nodu metastazı ile bcl-2 immünreaktivitesi karşılaştırıldı. Ancak tüm bu parametreler içerisinde sadece bcl-2 ile NS arasında anlamlı bir ilişki bulundu ( $p < 0,05$ ). Diğer parametrelerle bcl-2 arasında istatistiksel bir anlamlılık yoktu. Sonuçlarımız literatür ile uyumluydu.

Nakopoulou ve arkadaşları (6) da inceledikleri vakalarda, bizim çalışmamızda olduğu gibi, bcl-2 immünpozitifliği ile düşük NS arasında korelasyon buldukları halde diğer parametrelerle istatistiksel anlamlılık elde edemediler.

Literatürde, meme kanserlerinde bcl-2 ekspresyonu ile steroid hormon reseptör pozitifliği arasında, bu konu ile ilgili yapılan çalışmaların tamamında güçlü bir korelasyon olduğu gösterildi. Östrojen, bcl-2 ekspresyonu gösteren ER (+) meme kanser hücrelerinde regülasyon artırıcı etki yapar (24). Gerçekten bcl-2 proteini meme karsinomlarında bazı hormonlarla, özellikle östrojen ile regüle edilmektedir. ER (-), PR (-) tümörlerde bcl-2 kaybı apoptoz akselerasyonu ile birliktelik gösterir.

Nakopoulou ve arkadaşları (5) ER ile bcl-2 ekspresyonu arasındaki güçlü ilişkiyi göstermelerinin yanı sıra, özellikle yaşlı hastalarda bcl-2 pozitifliğinin PR pozitifliği ile birlikteliğini gösterdiler. Çalışmamızda ER ile bcl-2 immünreaktivitesini pozitiflik yönünden

karşılaştırdığımızda istatistiksel anlamlılık görülmedi ( $p>0.05$ ). Ayrıca çalışmamızda bcl-2'nin PR ile yakın korelasyon içinde olduğu belirlenmiştir. PR ile bcl-2 immünreaktivitesini pozitiflik ve negatiflik yönünden karşılaştırdığımızda bcl-2 pozitifliğinin PR pozitifliği ile, bcl-2 negatifliğinin PR negatifliği ile paralel olması istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ).

Lee ve arkadaşları da (25) premenopozal hastalarda bcl-2 ekspresyonunun ER ve PR (+)'liği ve c-erbB-2 (-)'liği ile korele olduğunu belirttiler. Krajewski ve arkadaşları (26) bcl-2 ile c-erbB-2 protein ekspresyonu arasında herhangi bir ilişki saptayamadılar. Bizim olgularımızda da bcl-2 ile c-erbB-2 ekspresyonunu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

Maudelonde ve arkadaşları (27); katepsin D konsantrasyonunun, ER dışındaki klasik prognostik parametrelerle ilişkisi olmadığını öne sürmüştür. Thorpe ve arkadaşları (28) ise postmenapozal olgularda yüksek sitozolik katepsin D düzeyi ile kısa hastaliksız süre arasında korelasyon saptamış ve katepsin D'nin meme kanserinde diğer faktörlerden bağımsız bir prognostik belirleyici olduğunu öne sürmüştür. Winstanley ve arkadaşları (7) İHK'sal olarak değerlendirdiği katepsin D immünreaktivitesinin kötü prognozu belirlediğini saptarken, Henry ve arkadaşları (29) katepsin D pozitivitesinin, özellikle ER (+), aksiller lenf nodu metastazı (ALNM) (+) olgularda daha belirgin olmak üzere, uzun hastaliksız süre ve yüksek sağ kalım oranı ile paralellik gösterdiğini ortaya koymuştur.

İmmünohistokimyasal çalışmalarda katepsin D reaktivitesinin değerlendirilmesinde farklı skorlama yöntemleri kullanılmıştır. Bu çalışmalarda genellikle sadece pozitif boyanan hücre oranı esas alınmıştır. Katepsin D ile ilgili çalışmamızda Kandalaf ve arkadaşlarının (30) uyguladığı pozitif boyanan hücre oranının yanısıra, boyanma şiddetinin de değerlendirilmesine dayanan kombine histoskor indeksi kullanıldı.

Katepsin D immünreaktivitesi tümör hücrelerinde homojen ya da enzimin lizozomal lokalizasyonuna uygun olarak, kaba granüler paternde izlendi. Bunun yanısıra, stromal makrofajlarda da, tümör hücrelerinde izlediğimiz şiddette katepsin D immünreaktivitesi saptandı. Benzer bulgular, diğer İHK'sal çalışmalarda da bildirilmektedir (31, 32).

Katepsin D'nin Hurlimann ve arkadaşlarının (31) çalışmasında iyi diferansiyasyon, Kandalaf ve arkadaşlarının (30) çalışmasında ise kötü diferansiyasyon tümörlerde daha yüksek pozitivite gösterdiği izlenmektedir. Bizim çalışmamızda katepsin D pozitivitesi ile hasta yaşı, tümör çapı ve histolojik diferansiyasyon arasında bir ilişki gözlenmemesine rağmen katepsin D

pozitivitesi ile NS arasında Kandalaft ve arkadaşlarının (30) çalışmasına uygun şekilde anlamlı bir ilişki saptandı.

Katepsin D ile ALNM arasındaki ilişki, bu enzimin meme kanserinde prognostik belirleyici olarak ele alınmasının temel nedenlerinden biridir. Proteolitik etkisi nedeniyle, bu enzimi fazla miktarda sentezleyen tümör hücrelerinin daha yüksek oranda ALNM yapması gerektiği düşünülmüş ve bu ilişki İRK ve İHK'sal çalışmaların bir kısmında ortaya konmuştur. Hurlimann ve arkadaşları (31) katepsin D ekspresyonu ile ALNM arasında bir ilişki saptamamışlardır. Okamura ve arkadaşları (33) katepsin D pozitivitesinin arttığı durumlarda lenf nodu metastazı insidansının anlamlı bir şekilde arttığını bildirmektedir. Bizim çalışmamızda katepsin D pozitivitesinin artışı ile lenf nodu metastazı, damar invazyonu ve perinöral invazyon arasında anlamlı bir ilişki saptandı ( $p<0,05$ ).

Katepsin D'nin genellikle ER (+) tümörlerde daha yüksek oranda sentezlendiği, ancak ER (-) tümörlerin de katepsin D ekspresyonu gösterebildiği kabul edilmektedir. Domagala ve arkadaşları (34), ER(-) tümörlerdeki katepsin D sentezinin, ER dışındaki diğer büyüme faktörlerinin stimülasyonu ile gerçekleştiğini öne sürmektedir. İHK'sal çalışmaların bir kısmında ER ile katepsin D arasında pozitif bir ilişki saptanmasına karşın bazı çalışmalarda da bu ilişki gösterilememiştir. Bizim çalışmamızda katepsin D immünreaktivitesi ile ER'leri ve diğer steroid reseptörleri arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

Meme kanserinde hem hastaliksız hem de genel sağkalım c-erbB-2 overekspresyonu gösteren hastalarda daha düşüktür. c-erbB-2'nin meme kanserli hastalarda kemoterapi ve endokrin tedavi için prediktif bir faktör olabileceğini düşündüren veriler mevcuttur. Literatürde c-erbB-2 ve katepsin D'nin meme kanserlerindeki rolü ile ilgili veriler çelişkilidir. Yayınların çoğunda birbirleri ile ilişkisiz oldukları bildirilmişse de bazılarında c-erbB-2 pozitif vakaların çoğunluğunun katepsin D pozitif olduğu ve bu grubun katepsin D negatif olanlara göre farklı davrandığı vurgulanmıştır. Çalışmamızda c-erbB-2 ile katepsin D arasında ve bcl-2 ile katepsin D arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Çalışmamızda bcl-2 ve katepsin D'nin kombine kullanımının tek kullanımlarına göre prognozun belirlenmesinde daha etkin oldukları gözlemlendi.

## SONUÇ

Bcl-2 ekspresyonu ile düşük NS ve PR pozitifliği arasında doğru orantılı bir birliktelik gösterilirken ( $p<0,05$ ), diğer prognostik faktörlerle ve katepsin D ile arasında anlamlı bir



ilişki mevcut değildir. Katepsin D pozitifliği yüksek nükleer skor, kan damarı invazyonu, lenfatik invazyon ve perinöral invazyon ile birliktelik gösterirken, ER, PR, c-erbB-2 ile ve diğer prognostik parametrelerle anlamlı bir ilişki mevcut değildir. Bu sonuçlarla ilişkili olarak bcl-2'nin düşük dereceli, katepsin D'nin ise yüksek dereceli ve invazyon yeteneği kazanmış invaziv duktal karsinom olgularının belirlenmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Gewefel H, Sahlia B. Breast cancer in adolescent and young adult women. *Clin Breast Cancer*. 2014; 14(6): 390-5.
2. Rezaianzadeh A, Sepandi M, Akrami M, Tabatabaee H, Rajaeefard A, Tahmasebi S, et al. Pathological profile of patients with breast diseases in Shiraz. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014; 15(19): 8191-5.
3. Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast Cancer: Epidemiology and Etiology. *Cell Biochem Biophys*. 2015; 72(2): 333-8.
4. Verma R, Bowen RL, Slater SE, Mihaimed F, Jones JL. Pathological and epidemiological factors associated with advanced stage at diagnosis of breast cancer. *Br Med Bull*. 2012; 103(1): 129-45.
5. Gasparini G, Barbarechi M, Doglioni C. Exp of bcl-2 protein predicts efficacy of adjuvant treatments in operable node-positive breast cancer. *Clin Cancer Res*. 1995; 1(2): 189-98.
6. Nakopoulou L, Michalopoulou A, Giannopoulou I, Tzonou A, Keramopoulos A, Lazaris AC, et al. bcl-2 protein expression is associated with a prognostically favorable phenotype in breast cancer irrespective of p53 immunostaining. *Histopathology* 1999; 34(4): 310-19.
7. Brouillet JP, Theillet C, Maudelonde T, Defrenne A, Simony-Lafontaine J, Sertour J, et al. Cathepsin D assay in primary breast cancer and lymph nodes: relationship with c-myc, c-erb-B-2 and int-2 oncogene amplification and node invasiveness. *Eur J Cancer* 1990; 26(4): 437-41.
8. Winstanley JH, Leinster SJ, Cooke TG, Westley BR, Platt-Higgins AM, Rudland PS. Prognostic significance of cathepsin D in patients with breast cancer. *Br J Cancer* 1993; 67(4): 767-72.
9. Nadji M, Fresno M, Nassiri M, Conner G, Herrero A, Morales AR. Cathepsin D in host stromal cells, but not in tumor cells, is associated with aggressive behaviour in node-negative breast cancer. *Hum. Pathol*. 1996; 27(9): 890-95.
10. Contesso G, Jotti GS, Bonadonna G.: Tumor grade as a prognostic factor in primary breast cancer. *Eur J Clin Oncol*. 1989; 25(3): 403-9.
11. Pradhan SP, Dash A, Choudhury S, Mishra DP. Robinson's cytological grading on aspirates of breast carcinoma and correlation with Bloom-Richardson's histological grading. *J Evid Based Med Healthcare*.2017; 4(2): 86-91.
12. De Potter CR, Schelfhout AM. The neu-protein and breast cancer. *Wirchows Arch* 1995; 426(2): 107-15.
13. Razumovic JJ, Petrovecki M, Uzarevic B, Gamulin S. Mutual predictive value of c-erbB-2 overexpression and various prognostic factors in ductal invasive breast carcinoma. *Tumori* 2000; 86(1): 30-6.
14. Howard EM, Lau SK, Lyles RH, Birdsong GG, Tadros TS, Umbreit JN, et al. Correlation and expression of p53, Her-2, vascular endothelial growth factor (VEGF), and e-cadherin in a high-risk breast cancer population. *Int J Clin Oncol*. 2004; 9(3): 154-60.
15. Kariya S, Ogawa Y, Nishioka A, Moriki T, Ohnishi T, Ito S, et al. Relationship between hormonal receptors, HER-2, p53 protein, Bcl-2, and MIB-1 status and the antitumor effects of neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy in invasive breast cancer patients. *Radiat Med* 2005; 23(3): 189-94.
16. Chintamani, Singhal V, Singh JP, Lyall A, Saxena S, Bansal A. Is drug-induced toxicity a good predictor of response to neo-adjuvant chemotherapy in patients with breast cancer? –A prospective clinical study. *BMC Cancer* 2004; 4: 48-57.

17. Zhang GJ, Kimijima I, Abe R, Kanno M, Katagata N, Hara K, et al. Correlation between the expression of apoptosis related bcl-2 and p53 oncoproteins and the carcinogenesis and progression of breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 1997;3(12): 2329-35.
18. Zhang GJ, Kimijima I, Tsuchiya A, Abe R. The role of bcl-2 expression in breast carcinomas. *Oncol Rep.* 1998; 5(5): 1211-16.
19. Quinn CM, Ostrowski JL, Harkins L, Rice AJ, Loney DP. Loss of bcl-2 expression in ductal carcinoma in situ of the breast relates to poor histological differentiation and to expression of p53 and c-erbB-2 proteins. *Histopathology* 1998; 33(6): 531-6.
20. Takei H, Oyama T, Iino Y, Horiguchi J, Hikino T, Maemura M, et al. Clinical significance of immunohistochemical bcl-2 expression in invasive breast carcinoma. *Oncol Rep.* 1999; 6(3): 575-81.
21. Zhang GJ, Tsuda H, Adachi I, Fukutomi T, Yamamoto H, Hirohashi S, et al. Prognostic indicators for breast cancer patients with one to three regional lymph node metastasis with special reference to alterations in expression levels of bcl-2, p53 and c-erbB-2 protein. *Jpn J Clin Oncol.* 1997; 27(6): 371-7.
22. Eissa S, Labib R, Khalifa A, Swelam N, Khalil F, El-Shenawy AM. Regulator of apoptosis in human breast cancer. *Clin Biochem.* 1999; 32(5): 321-6.
23. Hellems P, van Dam PA, Weyler J, van Oosterom AT, Buytaert P, Van Marck E. Prognostic value of bcl-2 expression in invasive breast carcinoma. *Br J Cancer* 1995; 72(2): 354-60.
24. Texeira C, Reed JC, Pratt MAC. Estrogen promotes chemotherapeutic drug resistance by a mechanism involving bcl-2 proto-oncogene expression in human breast cancer cells. *Cancer Res.* 1995; 55(17): 3902-7.
25. Lee WY, Jin YT, Tzeng CC. Reciprocal expression of bcl-2 and p53 in breast ductal carcinoma. *Anticancer Res* 1996; 16(5A): 3007-12.
26. Krajewski S, Thor AD, Edgerton SM, Moore DH 2nd, Krajewska M, Reed JC. Analysis of bax and bcl-2 expression in p53 immunopositive breast cancers. *Clin Cancer Res.* 1997; 3(2): 199-208.
27. Maudelonde T, Khalaf S, Garcia M, Freiss G, Duporte J, Benatia M, et al. ,Immunoenzymatic assay of Mr 52.000 cathepsin D in 182 breast cancer cytosols: low correlation with other prognostic parameters. *Cancer Res.* 1988; 48(2): 462-6.
28. Thorpe SM, Rochefort H, Garcia M, Freiss G, Christensen IJ, Khalaf S, et al. Association between high concentrations of Mr 52.000 cathepsin D and poor prognosis in primary human breast cancer. *Cancer Res.* 1989; 49(21): 6008-14.
29. Henry JA, McCarthy AL, Angus B, Westley BR, May FE, Nicholson S, et al. Prognostic significance of the estrogen-regulated protein cathepsin D in breast cancer. An immunohistochemical study. *Cancer* 1990; 65(2): 265-71.
30. Kandalaf PL, Chang KL, Ahn CW, Traweek ST, Mehta P, Battifora H. Prognostic significance of immunohistochemical analysis of cathepsin D in low stage breast cancer. *Cancer* 1993; 71(9): 2756-63.
31. Hurlimann J, Gebhard S, Gomez F. Oestrogen receptor, progesterone receptor, pS2, ERD5, HSP 27 and cathepsin-D in invasive ductal breast carcinomas. *Histopathology* 1993; 23(3): 239-48.
32. Armas OA, Gerald WL, Lesser ML, Arroyo CD, Norton L, Rosen PP. Immunohistochemical detection of cathepsin D in T<sub>2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> breast carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1994; 18(2): 158-66.
33. Okamura K, Kobayashi I, Matsuo K, Kiyoshima T, Yamamoto K, Miyoshi A, et al. Immunohistochemical localization of cathepsin D, proliferating cell nuclear antigen and epidermal growth factor receptor in human breast carcinoma analysed by computer image analyser: correlation with histological grade and metastatic behaviour. *Histopathology* 1997; 31(6): 540-8.
34. Domagala W, Striker G, Szadowska A, Dukowicz A, Weber K, Osborn M. Cathepsin D in invasive ductal NOS breast carcinoma as defined by immunohistochemistry. No correlation with survival at 5 years. *Am J Pathol.* 1992; 141(5): 1003-12.