

To cite this article: Tad M, Kulaçoğlu S. Memenin duktal karsinoma in situ lezyonlarında P53, HER2/neu, Bcl-2 ve PCNA ekspresyonu ve bunların invaziv karsinoma progresyonda rolleri. Ortadoğu Tıp Derg 2019; 11(4): 490-496. <https://doi.org/10.21601/ortadogutipdergisi.536772>

■ Orijinal Makale

Memenin duktal karsinoma in situ lezyonlarında P53, HER2/neu, Bcl-2 ve PCNA ekspresyonu ve bunların invaziv karsinoma progresyonda rolleri

P53, HER2/neu, Bcl-2 and PCNA overexpression in ductal carcinoma in situ lesions of the breast and their role in progression to invasive carcinoma

Murat Tad ^{1*} , Sezer Kulaçoğlu ² 

¹ Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

² Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

* Sorumlu Yazar: Murat Tad E-posta: murattad@yahoo.com ORCID: 0000-0003-2772-5856

Gönderim: 7 Mart 2019 Kabul: 14 Mayıs 2019

ÖZ

Amaç: Proliferatif aktivitenin, onkogenlerde ve tümör süpresör genlerdeki değişikliklerin anlaşılması, duktal karsinoma in situ'nun invaziv meme kanserine gelişme ihtimalinin yüksek olduğu olguları belirlemede önemli olabilir. Bu çalışmada p53, HER2/neu, bcl-2 ve PCNA overekspresyonunun duktal karsinoma in situ'nun progresyonu ile ilişkisi değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem: Biz 20 duktal karsinoma in situ (grup 1) ve 20 invaziv duktal karsinoma birlikteliğinde duktal karsinoma in situ (grup 2) olgusunu değerlendirdik. Olgulara immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak p53, HER2/neu, bcl-2 ve PCNA çalışıldı.

Bulgular: Grup 2 olgularında p53, HER2/neu ve PCNA overekspresyonu daha yüksekti. Ancak farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Grup 1 olgularının %36,8'inde, grup 2 olgularının %70'inde bcl-2 overekspresyonu izlendi. İki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). Çalışmamızda önemli bulgulardan biri de, p53, HER2/neu, bcl-2 ve PCNA overekspresyonunun aynı anda grup 2 olgularının 3'ünde izlenirken grup 1 olgularının hiçbirinde gözlenmemesiydi.

Sonuç: Bulgular bize, bcl-2 overekspresyonunun duktal karsinoma in situ'nun invaziv duktal karsinomaya gelişim ihtimalinin yüksek olduğu olguları belirlemede daha değerli olabileceğini, invaziv duktal karsinoma gelişiminde farklı progresyon yollarının var olduğunu, preinvaziv evrede bu değişikliklerin birden fazlasının aynı olguda tespit edilmesinin invaziv duktal karsinomaya progresyon riskini belirlemede tek başlarına olduğundan daha değerli olabileceğini gösterdi. Bu sonuçlar farklı biyolojik davranışa sahip DKIS alt tiplerinin tanımlanmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Duktal karsinoma in situ, p53, HER2/neu, bcl-2, PCNA

ABSTRACT

Objective: Understanding proliferative activity and the changes in oncogenes and tumour suppressor genes may be important to predict the ductal carcinoma in situ cases that have high probability of progression to invasive breast carcinoma. In this study the correlation between p53, HER2/neu, bcl-2 and PCNA overexpression and progression of ductal carcinoma in situ were evaluated.

Methods: We evaluated 20 ductal carcinoma in situ (group 1) and 20 ductal carcinoma in situ associated with invasive ductal carcinoma cases (group 2). We studied p53, HER2/neu, bcl-2 ve PCNA to cases immunohistochemically.

Results: P53, HER2/neu and PCNA overexpression were higher in group 2 cases. But differences were not significant statistically ($p>0,05$). Bcl-2 overexpression was seen 36.8% in group 1, 70% in group 2 cases. The difference between two groups was significant statistically ($p<0,05$). In our study, also one of the important finding was that p53, HER2/neu, bcl-2 and PCNA overexpression were revealed 3 cases in group 2 at the same time but was not seen in any of group 1 cases.

Conclusion: These findings showed that bcl-2 overexpression may be more important in progression of ductal carcinoma in situ to invasive ductal carcinoma, existing different pathways in development of invasive ductal carcinoma and revealing more than one of these changes in the same case may be more important in defining progression risk to invasive ductal carcinoma. These results contribute to define DCIS subtypes that have different biological behaviour.

Keywords: Ductal carcinoma in situ, p53, HER2/neu, bcl-2, PCNA

GİRİŞ

Heterojen ve progresif bir hastalık olan meme karsinomu kadınlarda görülen en sık malignite olup önemli mortalite sebeplerinden biridir [1-6]. Duktal karsinoma in situ (DKİS) bir seri anormal hücrel değişikliğin artarak izlendiği, hiperplaziden atipik hiperplaziye, noninvaziv karsinomaya, invaziv karsinomaya ve son olarak metastatik karsinomaya giden bir spektrumda, normal epitelyal hücrelerden geliştiği varsayılmaktadır [7]. İnvaziv meme kanserinin (İMK) noninvaziv meme lezyonlarından nasıl geliştiği açık değildir. Histoloji ve diferansiyasyon derecesine bağlı olarak İMK gelişiminde farklı birçok progresyon yolu olduğuna dair veriler her geçen gün artmaktadır [8,9]. DKİS lezyonlarının biyolojik potansiyellerinin heterojenitesi ve meme koruyucu tedavinin artarak kullanımı nedeniyle lokal rekürrensi, invaziv kansere progresyonu ve tedaviye rezistansı gösteren prognostik markırların tanımlanmasına ihtiyaç vardır [10,11].

Çalışmalar, p53 gen ekspresyonunun meme karsinogenezinin erken dönemlerindeki olayların bir göstergesi olduğunu düşündürmekte ve İMK'ye ilerlemede artmış riski gösteren faydalı bir markır olduğu tezini güçlendirmektedir [12-13]. Bir çalışmada P53 pozitif nükleus oranı %50'den fazla olan DKİS olgularının tamamında DKİS komşuluğunda İMK izlenmiştir [14]. P53 overekspresyonuna benzer şekilde, HER2/neu overekspresyonunun İMK'ye komşu DKİS'de pür lezyonlara göre daha sık izlendiğini gösteren çalışmalar mevcuttur [15-17]. Çalışmalar

HER2/neu'nun tümör hücrelerinin hareketinin kontrolünde, ekstrasellüler matris boyunca migrasyonunda ve bazal membranı yıkan enzimlerin sekresyonunda yer aldığını göstermiştir [18-19].

Bir hipoteze göre düzensiz moleküler olayların farklı birlikteliklerinin varlığı hızlı tümör büyümesi ve invazyon gelişimine yatkınlık ile ilişki göstermektedir. Apoptozisi düzenleyen genlerin etkileri ve bunların diğer onkogenlerle ilişkileri konusunda yapılacak ileri araştırmalar, farklı biyolojik davranışa sahip DKİS alt tiplerinin tanımlanması ile sonuçlanabilir ve DKİS olgularının kişiye özel tedavi seçeneklerinin belirlenmesine yardımcı olabilir [11].

Apoptozisi düzenleyen birçok genetik faktör gösterilmiştir. Bu faktörler arasındaki ilişki oldukça karışıktır ve tam olarak tanımlanamamıştır [20,21]. Apoptozisi düzenleyen faktörleri anlamak, preinvaziv meme lezyonlarının İMK'ye gelişim ihtimalinin yüksek olduğu olguları belirlemede değerli olabilir [22].

Yüksek proliferatif aktivite yüksek dereceli DKİS lezyonları için karakteristiktir. Genellikle yüksek sitolojik derece, negatif östrojen reseptör durumu, anöploidi, mikroinvazyon odağı ve HER2/neu gibi onkogenlerin overekspresyonu gibi diğer kötü prognostik faktörlerle birlikte izlenir [23]. Proliferasyon indeksi p53 overekspresyonu ile birlikte, bunların tek başına olduğundan daha büyük prognostik değere sahiptir [24].

Hastalığın seyri her olgu için farklıdır fakat bir ölçüde öngörülebilir [25]. Biz p53 ve HER2/neu overekspresyonunun DKİS'nin progresyonu ile ilişkilerini açığa kavuşturmak istedik. Noninvaziv meme lezyonlarının progresyonunun artmış proliferasyon ve azalmış apoptozis ile birlikteliğini gösteren çalışmalar da mevcut olduğundan bu çalışmaya PCNA ve antiapoptotik protein olan bcl-2'yi de dahil ettik [26,27].

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma retrospektif bir çalışmadır. Çalışma Helsinki Bildirgesi İlkeleri'ne sadık kalınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya 2001-2007 yılları arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü'ne gelen meme biyopsi materyallerinden DKİS tanısı almış 20 olgu (grup 1) ile invaziv duktal karsinoma (İDK) ve birlikteliğinde DKİS tanısı almış 20 olgu (grup 2) dahil edildi. Daha evvel DKİS ve İDK tanısı alıp cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi uygulanmış olgular, parafin bloklarında uygun inceleme yapmak için yeterli doku bulunmayan olgular ve DKİS birlikteliğinde lobüler karsinoma in situ, kronik inflamasyon, granülomatöz mastitis veya yağ nekrozu bulunan olgular çalışmadan çıkarıldı. Olgulara ait tüm lamlar tek tek incelenerek tümörü en iyi temsil ettiği düşünülen bloklar belirlendi.

DKİS olguları Holland ve ark.'nın ortaya koyduğu kriterler kullanılarak derece 1 (düşük dereceli/iyi diferansiye), derece 2 (orta dereceli/orta derecede diferansiye) ve derece 3 (yüksek dereceli/az diferansiye) olarak üç sınıfa ayrıldı. İDK olguları ise tübül formasyonu, nükleer pleomorfizm ve mitoz sayısını dikkate alan Bloom-Richardson sisteminin Nottingham modifikasyonu kullanılarak derece 1, derece 2 ve derece 3 olarak sınıflandırıldı.

İmmünohistokimyasal çalışmalar için, %10'luk formalinde fikse edilmiş parafine gömülmüş bloklardan 2 mikron kalınlığında kesitler adezivli lamlara alınarak etüvde bekletildikten sonra 3'er dakika, ksilol ve %96, %80, %75 ve %70'lik alkollerden geçirilerek deparafinize ve dehidrate edildi. Fosfat buffer salinde 6 dakika, %3'lük H₂O₂ solüsyonunda 10 dakika bekletildi. Distile suda 3 kez yıkandıktan sonra sitrat buffer solüsyonu içinde mikrodalga fırına konarak 2 kez 7'şer dakika kaynatıldı. Oda ısısında soğumaya bırakılan preparatlar, PBS'de biraz bekletildi. Aynı bloktan alınan seri kesitlere monoklonal mouse anti-human p53 (klon DO-7 DAKO), bcl-2 (klon 100/D5 DAKO), HER2/neu (klon CB11 DAKO) ve PCNA (klon PC10 DAKO) primer antikoları damlatıldı. Oda ısısında 45 dakika bekletilerek 2 kez 3 dakika PBS ile muamele edildi. Kullanılan boya setinin prosedürüne uygun olacak şekilde link, label ve kromojen

damlatıldı ve etüvde yeterli sürelerde bekletildi. Her basamak arasında 2 kez 3'er dakika PBS'de bekletilen lamlara kontrast boyama için Mayer Hematoksilin damlatıldı. Uygun süre bekletildikten sonra preparatlar musluk suyunda yıkanarak mounting medium ile kapatıldı. Kuruduktan sonra ışık mikroskopunda incelendi. Pozitif kontrol olarak p53 ve HER2/neu için bunların yaygın ve kuvvetli ekspresyon gösterdikleri meme karsinomu olguları, bcl-2 ve PCNA için lenfoid hiperplazi gösteren tonsil dokusu kullanıldı. HER2/neu için sitoplazmik membran boyanması, p53 ve PCNA için nükleer ve bcl-2 için sitoplazmik, boyanma dikkate alındı.

İmmünreaksiyona semikantatif olarak p53, bcl-2 ve PCNA için tümör hücrelerinin boyanma yüzdelere bakılarak 5'li skala uygulandı. Buna göre;

0 = Boyanma yok veya pozitif boyanan tümör hücresi oranı %1'den az,

1 = Pozitif boyanan tümör hücresi oranı %1-10,

2 = Pozitif boyanan tümör hücresi oranı %11-25,

3 = Pozitif boyanan tümör hücresi oranı %26-50,

4 = Pozitif boyanan tümör hücresi oranı %51-100 olması.

P53 ve bcl-2 için %10'un üzerindeki boyanma (skor 2, 3 ve 4), PCNA için %25'in üzeri (skor 3 ve 4) overekspresyon olarak kabul edildi.

HER2/neu için 4'lü skala uygulandı. Buna göre;

0 = Hücrelerin sitoplazmik membranlarında boyanma yok veya %10'undan azında boyanma,

1 = Tümör hücrelerinin %10'undan fazlasında sitoplazmik membranın bir kısmında boyanma,

2 = Tümör hücrelerinin %10'undan fazlasında sitoplazmik membranın tamamında hafif boyanma,

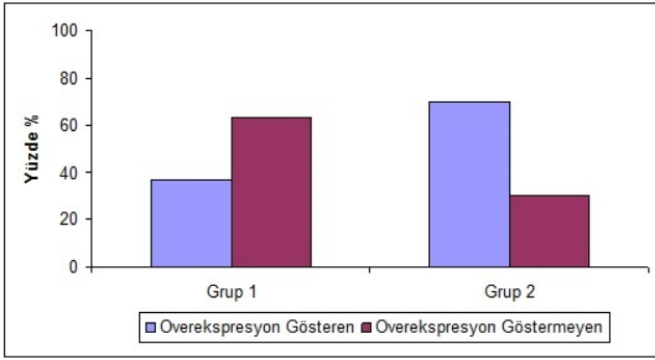
3 = Tümör hücrelerinin %10'undan fazlasında sitoplazmik membranın tamamında kuvvetli boyanma.

HER2/neu için skor 2 ve 3 overekspresyon kabul edildi.

P53, HER2/neu, bcl-2 ve PCNA overekspresyonu izlenen olgular tespit edildi. Bu ekspresyonlar açısından 2 grup arasında fark olup olmadığı araştırıldı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS 11.5 paket programında gerçekleştirildi. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler ortalama \pm std. sapma biçiminde, kategorik değişkenler



Resim 1. Gruplar arasında bcl-2 overekspressyon dağılımının değerlendirilmesi

yüzde (%) şeklinde gösterildi. Ortalamalar açısından farkın anlamlılığı Mann Whitney U testiyle değerlendirildi. Kategorik karşılaştırmalar için Khi-Kare veya Fisher'in Kesin testi kullanıldı. $P < 0,05$ olduğunda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Grup 1'deki olguların yaşları 25 ile 74 arasında, grup 2'deki olguların yaşları ise 27 ile 76 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş grup 1'de 49,71, grup 2'de 50,45 olarak saptandı. Gruplar arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

Grup 1'de düşük dereceli 7 olgu (%35), orta dereceli 8 olgu (%40) ve yüksek dereceli 5 olgu (%25) mevcutken, grup 2'de düşük dereceli 4 olgu (%20), orta dereceli 9 olgu (%45) ve yüksek dereceli 7 olgu (%35) mevcuttu. Gruplar arasında derece açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

İmmünohistokimyasal çalışmalar sırasında p53 için kesit alınırken grup 1'de 1 olguda blokta DKİS alanı kalmadığı için değerlendirme yapılamadı. Grup 1'de p53 ekspresyon sonuçları; 17 olgu skor 0 (%89,5), 1 olgu skor 1 (%5,3), 1 olgu skor 3 (%5,3), grup 2'de ise 16 olgu skor 0 (%84,5), 4 olgu skor 2 (%10,3) şeklindeydi. Grup 1'de 1 (%5,3) olguda p53 overekspressyonu izlenirken, grup 2'de 4 olguda (%20) overekspressyon gözlemlendi. İDK komponenti bulunan grup 2 olgularında p53 overekspressyonu daha yüksekti ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

HER2/neu overekspressyonu; grup 1'de 17 olguda skor 0 (%85), 1 olguda skor 1 (%5), 2 olguda skor 3 (%10), grup 2'de 16 olguda skor 0 (%80), 2 olguda skor 2 (%10), 2 olguda skor 3 (%10) şeklindeydi. Grup 1'de HER2/neu overekspressyonu 2 olguda izlenirken (%10), grup 2'de 4 olguda (%20) gözlemlendi. İDK komponenti bulunan grup 2 olgularında HER2/neu overekspressyonu daha yüksekti ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Tablo 1. Gruplar arasında overekspressyonların değerlendirilmesi

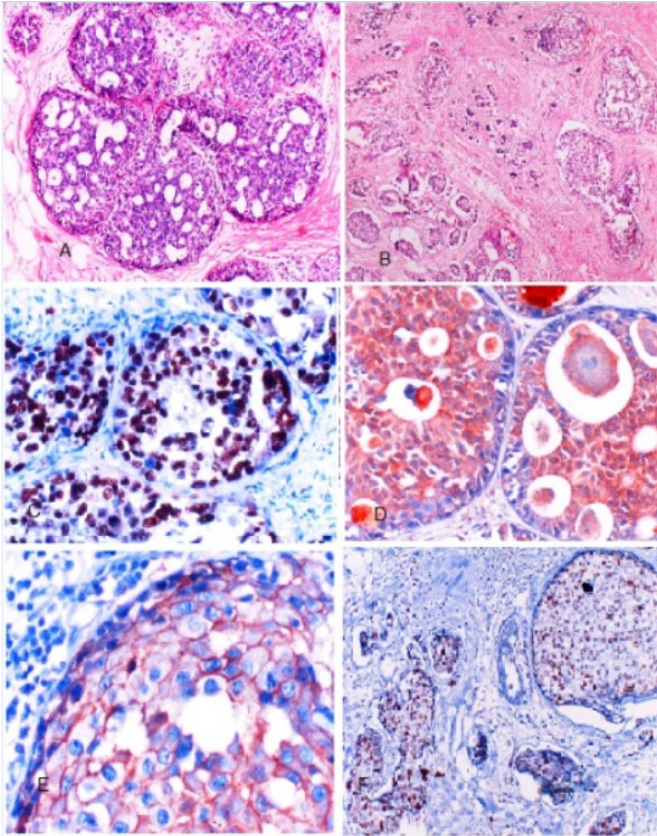
Antikor	Overekspressyon	Grup 1 n (%)	Grup 2 n (%)	P değeri
P53	-	18 (%94,7)	16 (%80,0)	0,342
	+	1 (%5,3)	4 (%20,0)	
HER2/neu	-	18 (%90,0)	16 (%80,0)	0,661
	+	2 (%10,0)	4 (%20,0)	
Bcl-2	-	12 (%63,2)	6 (%30,0)	0,038
	+	7 (%36,8)	14 (%70,0)	
PCNA	-	5 (%25,0)	3 (%15,0)	0,695
	+	15 (%75)	17 (%85,0)	

İmmünohistokimyasal çalışmalar sırasında bcl-2 için kesit alınırken grup 1'de 1 olguda blokta DKİS alanı kalmadığı için değerlendirme yapılamadı. Grup 1'de olguların 12'si skor 0 (%63,2), 2'si skor 2 (%10,5), 5'i skor 4 (%26,3) idi. Grup 2'de olguların 6'sı skor 0 (%30), 3'ü skor 2 (%15), 2'si skor 3, 9'u skor 4 (%45) şeklindeydi. Her iki grupta da skor 1 boyanan olgu izlenmedi. Grup 1'de 7 (%36,8) olguda grup 2'de 14 (%70) olguda bcl-2 overekspressyonu elde edildi (**Resim 1**). İki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$).

PCNA ile grup 1'de 15 olguda (%75) overekspressyon izlenirken grup 2'de 17 olguda (%85) gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Grup 1 ve grup 2'ye ait İmmünohistokimyasal çalışma sonuçları **Tablo 1**'de verilmiştir.

P53, HER2/neu, bcl-2 ve PCNA overekspressyonunu aynı anda grup 2'de 3 olguda izlenirken grup 1 olgularının hiçbirinde gözlemlenmedi. Yine p53, bcl-2 ve PCNA overekspressyonu aynı anda grup 2'de 1 olguda izlenirken grup 1 olgularının hiçbirinde gözlemlenmedi.

Yüksek dereceli olguların %41,7'sinde (12 olgudan 5'inde) p53 overekspressyonu izlenirken düşük dereceli olguların hiçbirinde p53 overekspressyonu gözlemlenmedi (**Resim 2**). Düşük dereceli olguların hiçbirinde HER2/neu overekspressyonu izlenmezken yüksek dereceli olguların %50'sinde (12 olgudan 6'sında) gözlemlendi (**Resim 2**). Düşük dereceli olgularda bcl-2 overekspressyonu %55,6 (27 olgunun 15'inde) iken, yüksek dereceli olgularda bu oran %50 (12 olgunun 6'sında) idi (**Resim 2**). Yüksek dereceli olguların tamamında (12 olgu) PCNA overekspressyonu izlenirken, düşük dereceli olgularda bu oran %71,4 (28 olgunun 20'sinde) idi (**Resim 2**). Sonuç olarak P53 ve HER2/neu overekspressyonu, istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek dereceli DKİS olgularında daha yüksekti ($p < 0,05$). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte bcl-2 overekspressyonu düşük dereceli DKİS olgularında, PCNA overekspressyonu yüksek dereceli DKİS olgularında daha fazla izlendi.



Resim 2. DKIS kribriform tip (H&E, x200) (A), invaziv duktal karsinoma ve DKIS birlikteliği (H&E, x40) (B), p53 ile yaygın kuvvetli nükleer boyanma (x200) (C), Bcl-2 ile yaygın kuvvetli sitoplazmik boyanma (x200) (D), HER2/neu ile yaygın kuvvetli sitoplazmik membran boyanması (x400) (E) ve PCNA ile yaygın nükleer boyanma (x200) (F)

TARTIŞMA

Mammografi memenin noninvaziv malign lezyonlarının ve asemptomatik kadınlarda küçük invaziv tümörlerin yakalanmasını sağlamaktadır. Bu en erken dönemlerinde meme kanserinin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamıştır [4,10].

Noninvaziv meme lezyonlarının İMK'ye ilerlemesinde birbirinden farklı çok sayıda progresyon yolu olduğu düşünülmektedir [8,9]. Proliferatif aktivite, invazyon kapasitesi, angiogenezis ve apoptozis potansiyeli meme kanserinin en önemli biyolojik özelliklerinden bazılarıdır [28]. Meme tümörlerinde izlenen genetik değişikliklerin, bunların karsinogenezdeki etkilerinin ve karsinogeneze dahil olma zamanlarının daha iyi anlaşılması meme kanserinin alt tiplerinin belirlenmesine katkı sağlayacaktır [12].

DKIS meme kanserinin tanınabilen en erken evresidir ve intraduktal hastalığın invaziv kansere dönüştüğü görüşü yaygın olarak kabul görmektedir. Predominant intraduktal

komponenti olan invaziv duktal karsinomanın meme kanser progresyonunun erken evresini gösterdiği varsayılır [22].

P53 tümör süpresör gen mutasyonu meme tümörleri de dahil olmak üzere birçok tümör tipinde saptanmıştır [12,13]. Memenin glandüler epitelinde p53 birikimi in situ karsinoma gelişiminde kritik nokta olabilir. Meme kanserinde mutasyona uğramış p53 protein birikimi ve bu proteinin overekspresyonu yüksek proliferasyon hızı, artmış progresyon riski ve kötü prognoz ile birliktelik gösterir [12,13,29,30]. Biz bu çalışmada grup 1'de 1 olguda (%5,3) p53 overekspresyonu izlerken, grup 2'de 4 olguda (%20) overekspresyon gözledik. İDK komponenti bulunan grup 2 olgularında p53 overekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha yüksekti ve bu sonuç p53 overekspresyonunun DKIS'nin invaziv hastalığa progresyonunda önemli olabileceği tezini destekler nitelikte idi.

HER2/neu overekspresyonu genel olarak kötü prognozla birliktelik gösterir [30,31]. DKIS'deki overekspresyonun invaziv kanser gelişimindeki önemi açık değildir¹¹. HER2/neu ve p53 overekspresyonunun İMK'ye komşu in situ karsinomada pür lezyonlara göre daha sık izlendiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır [16,17]. Grup 1'de HER2/neu overekspresyonu 2 olguda izlenirken (%10), grup 2'de 4 olguda (%20) izlendi. İDK komponenti bulunan grup 2 olgularında HER2/neu overekspresyonu daha yüksekti ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tümör oluşumunda apoptozisin rolüne ilgi artmaktadır [20,21]. Apoptozisi anlamak, preinvaziv meme lezyonlarının İMK'ye ilerleme ihtimalinin yüksek olduğu olguları belirlemede önemli olabilir [22]. Bu çalışmada bcl-2 overekspresyonu değerlendirildiğinde grup 1'de 7 olguda (%36,8), İDK komponenti bulunan grup 2'de 14 olguda (%70) bcl-2 overekspresyonu izlendi ve iki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). Bu sonuç bize bcl-2 overekspresyonunun preinvaziv meme lezyonlarından İMK'ye gelişim ihtimalinin yüksek olduğu olguları belirlemede daha değerli olabileceğini düşündürdü.

PCNA DNA sentezi için özel, nükleer bir proteindir. Primer olarak nükleusta, hücre siklusunun S fazında ortaya çıkar [1,3,25]. Yüksek PCNA skoru kötü prognozun bir göstergesidir. PCNA overekspresyonu grup 1'de 15 olguda (%75) izlenirken grup 2'de 17 olguda (%85) gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte invaziv komponenti bulunan grup 2 olgularında oran daha yüksekti.

İnvaziv meme kanseri gelişiminde farklı progresyon yollarının var olduğu yönündeki veriler her geçen gün

artmaktadır. Aynı diferansiyasyon derecesine sahip invaziv lezyonu olan DKİS olgularında proliferasyon invaziv komponentte artar. Proliferasyon ve apoptozis ilişkili proteinlerin ekspresyonundaki en büyük değişiklik hiperplaziden DKİS'ye dönüşüm döneminde olur. Bazı çalışmalardan elde edilen sonuçlar DKİS'lerin aynı diferansiyasyon derecesine sahip İMK'ye dönüşümlerinde bu proteinlerin minor role sahip olabileceği yönündedir [14]. Bizim sonuçlarımıza bu açıdan baktığımızda p53, HER2/neu ve PCNA ile yapılan çalışmalardan elde ettiğimiz sonuçlar bu düşüncüyü destekler nitelikte idi. Ancak bcl-2 ile yapılan çalışmalarda grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunması invazyon gelişiminin öngörülmesi açısından bu markırın daha belirleyici olabileceği sonucuna varmamıza yol açtı.

Çalışmamızın dikkat çekici bulgularından biri de; p53, HER2/neu, bcl-2 ve PCNA overekspresyonu aynı anda invaziv komponenti bulunan grup 2'de 3 olguda izlenirken grup 1 olgularının hiçbirinde gözlenmemesiydi. Yine p53, bcl-2 ve PCNA overekspresyonu aynı anda grup 2'de 1 olguda izlenirken grup 1 olguların hiçbirinde gözlenmedi. Bu bulgular bize, preinvaziv evrede bu değişikliklerin birden fazlasının aynı olguda tespit edilmesinin meme lezyonlarının risk tahmininde ve invaziv kansere progresyon riskini belirlemede tek başlarına olduğundan daha değerli olabileceğini düşündürmekle birlikte olgu sayımız bu sonuca varmamız açısından yeterli değildi.

Sonuç olarak, bizim p53, HER2/neu ve PCNA ile yapılan çalışmalarda elde ettiğimiz bulgular DKİS'den İMK'ye dönüşümde bu proteinlerin minor role sahip olabileceği yönündeki düşüncüyü destekler nitelikte idi [14]. Ancak bu ekspresyon paternlerinin DKİS derecesi ile korele olması ve gruplar arasında tespit edilen farklar, bunların meme karsinogenezinde farklı oranda da olsa rolleri olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle preinvaziv evrede bu değişikliklerin tespit edilmesinin meme patogenezinin anlaşılmasında ve bu lezyonların invaziv karsinoma progresyon riskini tahmin etmede önemli olabileceğini düşünmekteyiz. Bcl-2 ile yapılan çalışmalarda grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunması invazyon gelişiminin öngörülmesi açısından bu markırın daha belirleyici olabileceği sonucuna varmamıza yol açtı. Çalışmamızın sonuçları daha fazla sayıda olgu dahil edilerek yapılacak çalışmalarla desteklenmelidir. Ayrıca bu konu ile ilgili olarak gerçekleştirilecek daha ileri çalışmalar DKİS'nin farklı özelliklere sahip alt tiplerinin ortaya konularak kişiye özel tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacaktır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda bunların ve daha birçok genin ekspresyonunun değerlendirilmesiyle

prognostik açıdan farklı alt grupların bugün mümkün olandan daha keskin ayrımının mümkün olabileceği de mutlak bir gerçektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI / FİNANSAL DESTEK BEYANI

Yazarların herhangi bir çıkar dayalı ilişkisi yoktur. Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur.

KAYNAKLAR

1. Mercier I, Gonzales DM, Quann K, ve ark. CAPER, a novel regulator of human breast cancer progression. *Cell Cycle* 2014 Apr 15; 13(8): 1256-1264.
2. Perez AA, Balabram D, Salles MA, Gobbi H. Ductal carcinoma in situ of the breast: correlation between histopathological features and age of the patients. *Diagn Pathol*. 2014; 9: 227-232.
3. Terry G, Ho L, Londesborough P, Duggan C, Hanby A, Cuzick J. The expression of FHIT, PCNA and EGFR in benign and malignant breast lesions. *Br J Cancer* 2007 Jan 15; 96(1): 110-117.
4. Tot T. DCIS, cytokeratins and the theory of the sick lobe. *Virchows Arch* 2005; 447: 1-8.
5. Gerber B, Müller H, Reimer T, Krause A, Friese K. Nutrition and lifestyle factors on the risk of developing breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 79(2): 265-276.
6. Gerber B, Mylonas I. Reduction of the risk of breast cancer. *Zentralbl Gynecol* 2003; 125(1): 6-16.
7. Pape-Zambito D, Jiang Z, Wu H, ve ark. Identifying a Highly-Aggressive DCIS Subgroups by Studying Intra-Individual DCIS Heterogeneity among Invasive Breast Cancer Patients. *PLoS One*. 2014; 9(6): e100488.
8. Shang M, Zhang X, Liu X, ve ark. P16 and P53 Play Distinct Roles in Different Subtypes of Breast Cancer. *PLoS One*. 2013; 8(10): e76408.
9. Menard S, Fortis S, Castiglioni F, Agresti R, Balsari A. HER-2 as a prognostic factor in breast cancer. *Oncol* 2001; 61: 67-72.
10. Barlett JMS, Nofech-Moses S, Rakovitch E. Ductal carcinoma in situ of the breast: can biomarkers improve current management. *Clin Chem* 2014; 60(1): 60-67.
11. Siziopikou KP, Khan S. Correlation of HER-2 gene amplification with expression of the apoptosis-suppressing genes bcl-2 and bcl-x-L in ductal carcinoma in situ of the breast. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005; 13: 14-18.

12. Keohavong P, Gao WM, Mady HH, Kanbour-Shakir A, Melhem MF. Analysis of p53 mutations in cells taken from paraffin-embedded tissue sections of ductal carcinoma in situ and atypical ductal hyperplasia of the breast. *Cancer Lett* 2004; 212(1): 121-130.
13. Mylonas I, Makovitzky J, Jeschke U, Briese V, Friese K, Gerber B. Expression of Her2/neu, Steroid Receptors (ER and PR), Ki-67, and p53 in Invasive Mammary Ductal Carcinoma Associated with Ductal Carcinoma In Situ (DCIS) Versus Invasive Breast Cancer Alone. *Anticancer Res* 2005; 25: 1719-1724.
14. Mommers ECM, Leonhart AM, Falix F, Michalides R, Meijer CJLM, Baak JP. Similarity in expression of cell cycle proteins between in situ and invasive ductal breast lesions of same differentiation grade. *J Pathol* 2001; 194: 327-333.
15. Mommers ECM, Van Diest PJ, Leonhart AM, Meijer CJLM, Baak JPA. Expression of proliferation and apoptosis-related proteins in usual ductal hyperplasia of the breast. *Hum Pathol* 1998; 29: 1539-1545.
16. Allred DC, Clark GM, Molina R, ve ark. Overexpression of HER-2/neu and its relationship with other prognostic factors change during the progression of in situ to invasive breast cancer. *Hum Pathol* 1992; 23(9): 974-979.
17. Umekita Y, Takasaki T, Yoshida H. Expression of p53 protein in benign epithelial hyperplasia, atypical ductal hyperplasia, noninvasive and invasive mammary carcinoma. An immunohistochemical study. *Virchows Arch* 1994; 424(5): 491-494.
18. Hung MC, Lau YK. Basic science of HER-2/neu: a review. *Semin Oncol* 1999; 26: 51-59.
19. Roetger A, Merschjann A, Dittmar T, Jackisch C, Barnekow A, Brandt B. Selection of potentially metastatic subpopulations expressing c-erbB-2 from breast cancer tissue by use of an extravasation model. *Am J Pathol* 1998; 153: 1797-1806.
20. Hockenbery DM, Zutter M, Hickey W, Nahm M, Korsmeyer SJ. Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 6961-6965.
21. Stewart BW. Mechanisms of apoptosis: integration of genetic, biochemical, and cellular indicators. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86(17): 1286-1296.
22. Siziopikou KP, Prioleau JE, Harris JR, Schnitt SJ. Bcl-2 expression in the spectrum of preinvasive breast lesions. *Cancer* 1996; 77: 499-506.
23. Siziopikou KP, Schnitt SJ. MIB-1 proliferation index in ductal carcinoma in situ of the breast: relationship to the expression of the apoptosis-regulating proteins bcl-2 and p53. *Breast J* 2000; 6(6): 400-406.
24. Niewiadomska H, Jeziorski A, Olborski B. The expression of the proliferating antigen Ki67, PCNA and products of gene p53 in primary invasive ductal breast carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 1998; 17(4): 503-510.
25. Haerslev T, Jacobsen GK, Zedeler K. Correlation of growth fraction by Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistochemistry with histopathological parameters and prognosis in primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 1996; 37: 101-113.
26. Mommers EC, van Diest PJ, Leonhart AM, Meijer CJ, Baak JP. Balance of cell proliferation and apoptosis in breast carcinogenesis. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 58(2): 163-169.
27. Larsen MS, Bjerre K, Giobbie-Hurder A, ve ark. Prognostic value of Bcl-2 in two independent populations of estrogen receptor positive breast cancer patients treated with adjuvant endocrine therapy. *Acta Oncol.* 2012 Jul; 51(6): 781-789.
28. Kushlinskii NE, Orinovskii MB, Gurevich LE, ve ark. Expression of biomolecular markers (Ki-67, PCNA, Bcl-2, BAX, BclX, VEGF) in breast tumors. *B Exp Biol Med* 2004; 137(2): 182-185.
29. Tunon G, Ricote M, Ruiz A, Fraile B, Paniagua R, Royuela M. Cell cycle control related proteins (p53, p21, and Rb) and transforming growth factor B (TGFB) in benign and carcinomatous (in situ and infiltrating) human breast: implications in malignant transformations. *Cancer Invest* 2006; 24: 119-125.
30. Tad M, Kulaçoğlu S. Memenin Duktal Karsinoma İn Situ Lezyonları: Histopatolojik Özellikler ile p53, HER2/neu, bcl-2 ve PCNA Ekspresyonu Arasındaki İlişki. *Dicle Med J* 2018; 45(3): 265-273.
31. Chaisson K, Rivere A, Corsetti R, Weiss T, Fuhrman GM. A potential additional variables to consider in the surgical treatment of ductal carcinoma in situ. *Ochsner J* 2017 Winter; 17(4): 341-344.

