



Asuman Kilitçi

Ahi Evran University, dr.asuk@gmail.com, Kırşehir-Turkey

Gülzade Özyalvaçlı

Abant İzzet Baysal University, gulzade78@yahoo.com, Bolu-Turkey

Fahri Yılmaz

Sakarya University, fahriyilmaz@sakarya.edu.tr, Sakarya-Turkey

Çetin Boran, H. Müzeyyen Astarıcı

Abant İzzet Baysal University, Bolu-Turkey

cetinboran@yahoo.com; muzeyyenastarci@yahoo.com.tr

DOI	http://dx.doi.org/10.12739/NWSA.2019.14.1.1B0061		
ORCID ID	0000-0002-5489-2222	0000-0002-5670-3077	0000-0001-7965-6229
	0000-0003-4096-4261	0000-0002-6553-4500	
CORRESPONDING AUTHOR	Asuman Kilitçi		

İNVAZİV MEME KARSİNOMU TANILI OLGULARDA İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE MOLEKÜLER SUBTİPLENDİRME VE SUBTİPLERİN PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ

ÖZ

Bu çalışmada, kliniğimizde invaziv meme karsinom tanısı almış 79 olgunun retrospektif olarak immünohistokimyasal boyanma profillerinin analizini yapmak yolu ile moleküler alt tiplerinin belirlenmesi (lüminal A, lüminal B, human epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) eksprese eden, bazal-like ve null tip) ve bu subtiplerin prognostik faktörlerle ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Tüm olgulara ait seçilmiş tümör bloklarında immünohistokimyasal olarak, ER, PR, HER2 ve CK5/6 ekspresyonları değerlendirildi. En sık görülen histolojik tip invaziv duktal karsinomdu. Lüminal A, en sık moleküler subtipti. Lüminal A'ların çoğunun grade'i II iken, bazal-like tümörlerin tamamı grade III olarak bulundu. Grade I olguların çoğu lüminal A tipindeydi. Olguların yarısına yakınında tanı anında tümör çapı 2-5cm arasındaydı. Literatürle uyumlu olarak, 2cm'den küçük tümör oranı lüminal A tipte fazlaydı. 2 adet medüller karsinom olgusu literatürle uyumlu olarak bazal-like tip olarak bulundu. Bazal-like grupta tümör derecesi diğer tiplere göre daha yüksekti. İstatiksel olarak moleküler subtipler ve prognostik faktörlerle anlamlı ilişki saptanmadı.

Anahtar kelimeler: Meme Karsinomu, Moleküler Subtip, İmmünohistokimya, Prognoz

MOLECULAR SUBTYPING IN CASES DIAGNOSED AS INVASIVE BREAST CARCINOMA BY IMMUNOHISTOCHEMICAL METHOD AND THE RELATIONSHIP BETWEEN SUBTYPES AND PROGNOSTIC FACTORS

ABSTRACT

In this study, we analyzed retrospectively by immunohistochemical staining profiles of molecular subtyping of 79 invasive breast carcinomas in our clinic. It is aimed to evaluate the relation between prognostic factors and these subtypes (luminal A, luminal B, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) overexpressing, basal-like and null type). Immunohistochemically, ER, PR, HER2 and CK5/6 expressions were evaluated in selected tumor blocks of all cases. The most common histological type was invasive ductal carcinoma. Luminal A was the most frequent subtype. While most luminal A tumors were grade II, most basal-like tumors were grade III. The majority of grade I tumors were luminal A. Nearly half of the patients had tumors between 2-5cm in diameter at diagnosis. Similar to the literature, tumors rate smaller than 2cm was higher in luminal A type. 2 medullary carcinoma cases were consistent with the literature found in the basal-like type. In basal-like group, the tumor grade was higher than in other groups. Significant relationship was not found statistically between molecular subtypes and prognostic factors.

Keywords: Breast Carcinoma, Molecular Subtype, Immunohistochemistry, Prognosis

How to Cite:

Kilitçi, A., Özyalvaçlı, G., Yılmaz, F., Boran, Ç. ve Astarıcı, H.M., (2019). İnvaziv Meme Karsinomu Tanılı Olgularda İmmünohistokimyasal Yöntemle Moleküler Subtiplendirme Ve Subtiplerin Prognostik Faktörlerle İlişkisi, **Medical Sciences (NWSAMS)**, 14(1):1-10, DOI: 10.12739/NWSA.2019.14.1.1B0061.

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

İnvaziv meme kanseri komşu dokulara invazyon ve uzak metastaz yapma eğilimi ile karakterize bir grup malign epitelyal tümördür. Bu tümörlerin büyük bir kısmı adenokarsinomdur ve meme parankim epiteliinden, özellikle de terminal duktal lobüller ünite hücrelerinden geliştiği bilinmektedir. Hastanın yaşı, histolojik derece, tümör boyutu, östrojen reseptör (ER), PR, HER2 durumu gibi klinikopatolojik prognostik faktörler hastaların adjuvan hormon tedavisi, radyoterapi ve kemoterapiye ihtiyaçları olup olmadıklarını belirlemek için kullanılmaktadır. Fakat bu geleneksel prognostik faktörler, bireysel farklılıklar ve meme tümörlerinde gözlenen heterojenite nedeniyle her hastada prognozu belirlemede, tedaviyi yönlendirmede, lokal rekürrens ve mortaliteyi önlemede yeterli başarıyı gösterememektedir [1]. Son yıllarda DNA mikroarray ve immünohistokimya (İHK) yöntemleriyle yapılan çalışmalarda biyolojik ve klinik yönden meme kanserinin heterojen bir hastalık olduğu gösterilmiştir. Henüz kabul edilmiş kesin sınırlar olmamakla birlikte çalışmalarda en sık kullanılan sınıflama 5 alttipi içerir. Bunlar "lüminal A, lüminal B, human epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) eksprese eden, bazal-like ve null tip" tir. Bu moleküler sınıflama ile meme kanserlerinde gözlenen heterojenitenin moleküler temeli ortaya koyulmakta, hasta takibinde ve tedavi seçiminde önemli rol oynayan prognostik bilgiler elde edilmektedir [2].

2. ÇALIŞMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICANCE)

Bu çalışmada, 79 invaziv meme karsinomu olgusunu immünohistokimyasal yöntemle "lüminal A (ER ve/veya PR pozitif), lüminal B (ER ve/veya PR+HER2 pozitif), HER2 eksprese eden tip (HER2 pozitif), bazal-like (ER, PR, HER2 negatif;CK5/6 pozitif) ve null tip" olarak 5 moleküler alttipe ayırarak moleküler subtiplendirme yapılması ve subtiplerin klinikopatolojik prognostik faktörlerle ilişkisinin incelenmesi amaçlandı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM (MATERIALS AND METHODS)

Bu çalışmada, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2004 ile 2013 yılları arasında, eksizyonel biyopsi, kadranektomi ve mastektomi materyallerinde invaziv meme karsinomu tanısı almış 79 adet olgu incelendi. Olgulara ait H&E boyalı lamalar, patoloji raporları ile birlikte tekrar gözden geçirildi. Olgular yaş, cinsiyet, tümörün hangi memede olduğu, nasıl bir cerrahi uygulandığı, en büyük tümör çapı, tümör odağı sayısı, histolojik grade, histolojik tip, lenfovasküler ve perinöral invazyon, lenf nodu metastaz varlığı ve sayısı açısından geriye dönük olarak incelendi, tümörlerde immünohistokimyasal olarak ER, PR, HER2 ve CK5/6 çalışıldı. Bu çalışma için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesinde yerel etik kurul onayı alınmıştır. Çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2014.08.19.710 proje numarası ile desteklenmiştir. İmmünohistokimyasal inceleme %10'luk formalin solüsyonunda fikse edilmiş dokuların parafin bloklarından hazırlanan kesitlerinde çalışıldı. Her olgudan internal kontrol olması amacıyla çevre meme doku ve tümör içeren en uygun 1 blok seçildi. İmmünohistokimya için standart compact polymer teknoloji kit ile boyama yapıldı. Antijen açığa çıkarma işlemi olarak Citrat ve EDTA kullanıldı. İmmün belirleyiciler için açığa çıkarma işlemi, solüsyonlarda 100C'de tam otomatik cihazda yapıldı. Boyanmanın görülebilmesi için DAB (diaminobenzidin) kullanıldı. Tümör içeren olguların tamamında immünohistokimyasal olarak ER (klon 6F11, Leica), PR (klon 16, Leica), HER2 (klon CB11, Leica), CK5/6 (klon EP24/EP67, 1:100 dilution, Emergo Europe) antikorları kullanıldı.

ER ve PR için %1'in üzerinde tümöral hücrede nükleer boyanma pozitif kabul edildi. HER2 ile %10'dan fazla tümör hücresinde orta veya kuvvetli membranöz boyanma pozitif (2+ ve 3+), 0 ve 1+ boyanma gösteren tümörler HER2 negatif olarak değerlendirildi. Tümör hücrelerinin zayıf veya kuvvetli stoplazmik ve/veya membranöz CK5/6 boyanması, pozitif kabul edildi [3 ve 4]. Olgular öncelikle hormon reseptör (HR)(+) ve HR(-) olarak iki gruba ayrıldı. ER ve/veya PR pozitif olan olgular HR(+) kabul edildi ve lüminal grup olarak sınıflandı. Bunların içerisinde sadece HR eksprese edenler "lüminal A"; hem HR hem HER2 eksprese eden olgular ise "lüminal B" olarak gruplandı. HR(-) olan ancak HER2 eksprese eden olgular "HER2 eksprese eden tip" olarak ayrıldı. HR ve HER2 negatif olgularda, CK5/6 ile pozitiflik gösterenler "bazal-like tip" olarak sınıflandı. Tüm antikörlerle negatif olan olgular ise null tipe alındı. İstatiksel analiz için SPSS programı kullanıldı. İncelenen kategorik verilerin kıyası için Ki kare testi uygulandı. Anlamlı P değeri<0.05 kabul edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA (RESULTS AND DISCUSSION)

Çalışmada 79 adet invaziv meme karsinomu olgusu incelendi. Olguların tamamı kadındı. Kadınların yaşları 25 ile 83 arasında olup ortalama 55.07 idi. İncelenen tüm olgular içerisinde 35 yaş ve altındaki olgu sayısı 7, 36-50 yaş aralığındaki olgu sayısı 23 (%29.1), 51-65 yaş aralığındaki olgu sayısı 35, 65 yaş üzerindeki olgu sayısı 14 olarak bulundu. Nihai operasyon materyali 47 hastada mastektomi, 13 hastada lumpektomi/kadranektomi, 17 hastada eksizyonel biyopsi ve 2 hastada hazır bloktu. Tümör, 50 olguda sol meme, 29'unda sağ meme yerleşimliydi. 65 olguda tümör tek odaklı olup 7 olguda multifokalite ya da multisentrisite mevcuttu. Olgular, tümör boyutlarına göre incelendiğinde tümör çapı maksimum 12 cm, minimum 0.7 cm di. Tümör boyutu 2cm ve altı, 2-5cm arasında, 5cm üzeri ve değerlendirilemeyen olmak üzere 4 gruba ayrılarak incelendiğinde 31 olgu ilk grupta, 38 olgu 2. grupta, 3 olgu 3.grupta ve 7 olgu 4.grupta saptandı. Multipl tümörü olan olgularda tümör çapı olarak en büyük odağın çapı esas alındı. Tümörler histolojik tiplerine göre değerlendirildiğinde;62'si İDK, 13'ü İLK, 2'si Medüller karsinom, 1'i İDK+İLK, 1'i müsinöz+lobüler karsinomdu. 63 olguda (İDK, İDK+İLK) histolojik gradelendirme için Modifiye Bloom-Richardson gradelendirme sistemi kullanıldı. 10 tümör grade I, 36 tümör grade II ve 17 tümör grade III'e karşılık geldi. Olgular lenfovasküler tümör invazyonu durumuna göre incelendiğinde 79 olgunun 20'sinde lenfovasküler invazyon mevcut olup, geri kalan 59 olguda görülmedi. 23 olguda lenf nodu metastazı görülmezken 29 olguda lenf nodu metastazı görüldü. Geri kalan 27 olguda ise lenf nodu metastazı durumu bilinmiyordu. Metastatik lenf nodu içeren 29 olguda maksimum 45, minimum 1 adet metastatik lenf nodu görülmüştür. Lenf nodu metastazı görülen bu 29 olgu, pozitif lenf nodlarının sayısına göre 3 grupta incelendiğinde, 4'den az sayıda metastatik lenf nodu içeren 8 olgu, 4-9 arasında metastatik lenf nodu içeren 8 olgu ve 9'un üzerinde metastatik lenf nodu içeren 13 olgu mevcuttu. 16 olguda perinöral invazyon mevcutken, 63 olguda yoktu. Olguların 24'ünde nekroz görülürken, geri kalan 55'inde görülmedi. 79 olgunun 64'ü ER, 55'i PR ile pozitif. ER ve/veya PR pozitif olan 64 olgu HR(+) olup "lüminal grup" olarak sınıflandı. Bunların içerisinde HER2 eksprese etmeyen 53 olgu "lüminal A", hem HR hem de HER2 eksprese eden 11 olgu ise "lüminal B" olarak gruplandı. HR(-) olan ancak HER2 eksprese eden 6 adet olgu ise "HER2 eksprese eden tip" olarak ayrıldı. HR ve HER2 pozitifliği göstermeyen (triple negatif) olgular içinde, CK5/6 ile pozitiflik gösteren 8 tanesi "bazal-like tip" olarak sınıflandırıldı. Bahsi geçen

antikorların hiçbirini pozitif sayılacak yeterlilikte eksprese etmeyen 1 olgu ise "null tip" adı altında beşinci bir alttıpe alındı (Tablo 1).

Tablo 1. Olguların immünohistokimyasal boyama sonuçları
(Table 1. Immunohistochemical staining results of cases)

		Lüminal A	Lüminal B	HER2 Eksprese Eden Tip	Bazal-Like Tip	Null-tip	Toplam (n)
ER	Pozitif	53	11	0	0	0	64
	Negatif	0	0	6	8	1	15
PR	Pozitif	46	9	0	0	0	55
	Negatif	7	2	6	8	1	24
Cerb B2	Skor 0	33	0	0	4	0	37
	Skor 1	20	0	0	4	1	25
	Skor 2 (+)	0	4	0	0	0	4
	Skor 3 (+)	0	7	6	0	0	13
CK5/6	Pozitif	3	1	1	8	0	13
	Negatif	50	10	5	0	1	66

Bazal-like tipteki 8 olgunun 8'inde CK5/6 pozitifliği vardı. CK5/6'nın lüminal gruplardaki ekspresyonları değerlendirildi. CK5/6 çalışmadaki 53 lüminal A olgusunun 3'ünde, 11 lüminal B olgusunun 1'inde ve 6 HER2 eksprese eden olgunun 1'inde pozitif saptandı (Tablo 1). Lüminal A grubundaki 53 olgunun yaşları 34-80 arasında değişmekte olup ortalama 55.3'tü. Lüminal B tipindeki olguların yaş ortalaması 51.5 olup 25-71 arasında değişmekteydi. HER2 eksprese eden tipteki olgular 31-83 yaş arasında olup yaş ortalaması 54.3'tü. Bazal-like grupta ise olguların yaşları 45-74 arasında değişmekte olup ortalama 60.3'tü. Null tipteki olgu 43 yaşındaydı (Tablo 2). Moleküler subtipler ile hasta yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Tablo 2. İnvaziv meme karsinomu olan 79 kadında hormonal ve moleküler alt tiplere göre klinikopatolojik özelliklerin dağılımı
(Table 2. Distribution of clinicopathological features in 79 women with invasive breast carcinoma according to hormonal and molecular subtypes)

Özellikler	Luminal A	Luminal B	Her-2 Tip	Bazal-like Tip	Null Tip	Toplam: n (%)
Toplam	53 (67.1)	11 (13.9)	6 (7.6)	8 (10.1)	1 (1.3)	79 (100.0)
Yaş (yıl olarak)						
≤50	20 (37.7)	6 (54.6)	2 (33.4)	1 (12.5)	1 (100.0)	30 (38.0)
>50	33 (62.3)	5 (45.4)	4 (66.6)	7 (87.5)	0 (0.0)	49 (62.0)
Tümör çapı						
≤2 cm	24 (45.3)	2 (18.2)	1 (16.7)	3 (37.5)	1 (100.0)	31 (39.2)
>2 - ≤5 cm	22 (41.5)	9 (81.8)	3 (50.0)	4 (50.0)	0 (0.0)	38 (48.1)
>5 cm	2 (3.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (12.5)	0 (0.0)	3 (3.8)
Not Determined	5 (9.4)	0 (0.0)	2 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (8.9)
Lenf Nodu Metastazı						
Negatif	12 (22.6)	5 (45.4)	1 (16.7)	4 (50.0)	1 (100.0)	23 (29.1)
Pozitif						
1-3	5 (9.4)	2 (18.2)	0 (0.0)	1 (12.5)	0 (0.0)	8 (10.1)
≥4	17 (32.1)	1 (9.1)	1 (16.7)	2 (25.0)	0 (0.0)	21 (26.6)
Undetermined	19 (35.8)	3 (27.3)	4 (66.6)	1 (12.5)	0 (0.0)	27 (34.2)
Lenfovasküler İnvazyon						
Var	15 (28.3)	3 (27.3)	1 (16.7)	2 (25.0)	0 (0.0)	21 (26.6)
Yok	38 (71.7)	8 (72.7)	5 (83.3)	6 (83.3)	1 (100.0)	58 (73.4)
Veriler sayı (n) ve yüzdelik (%) olarak sunulmuştur						

Lüminal A'ların 5'inde, lüminal B'lerin 2'sinde multifokalite/multisentrisite mevcuttu (Tablo 3). Tümör çapı lüminal A grubundaki olguların 24'ünde 2cm veya daha küçük, 22'sinde 2-5cm arasında, 2'sinde ise 5cm'den büyüktü. Lüminal B grubunda tümör, 2 olguda 2cm veya daha küçük, 9 olguda 2-5cm çap arasında iken 5cm'den büyük çaplı tümör görülmedi. HER2 eksprese eden grupta tümör çapı, 1 olguda 2cm veya daha küçük, 3 olguda 2-5cm arasında iken 5cm'den büyük çaplı tümör görülmedi. Bazal-like tipteki olguların 3'ünde tümör çapı 2cm veya daha küçük, 4'ünde 2-5cm arasında iken 1'inde 5cm'den büyüktü. Null gruptaki tek olgunun tümör çapı 2cm'den küçüktü (Tablo 2). Subtipler ve tümör çapı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Histolojik tiplerin moleküler subtiplere göre dağılımına bakıldığında lüminal A grubundaki olguların 39'u invaziv duktal karsinom (İDK), 12'si invaziv lobüler karsinom (İLK), 1'i İDK+İLK, 1'i müsinöz+lobüler karsinomdu. Lüminal B'deki olguların ise 10'u İDK, 1'i İLK idi. HER2 eksprese eden gruptaki olguların 6'sı İDK idi. Bazal-like gruptaki olguların 6'sı İDK, 2'si medüller karsinomdu. Null tipteki tek olgu ise İDK idi (Tablo 3). Lüminal A'daki tümörlerin çoğu grade II iken, bazal-like gruptakilerin tamamı grade III'tü. Histolojik grade'i I olan 10 olgunun 7'si lüminal A grubunda yer almaktayken histolojik grade'i II olan 36 olgunun 28'inin lüminal A grubunda olduğu görüldü (Tablo 3). Subtiplerin histolojik grade ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Lüminal A'ların 15'inde, lüminal B'lerin 3'ünde, HER2 eksprese eden tiptekilerin 1'inde, bazal-like tipteki olguların 2'sinde lenfovasküler invazyon mevcuttu (Tablo 2). Lüminal A olgularının 14'ünde, lüminal B'lerin 1'inde, bazal-like tipteki olguların 1'inde perinöral invazyon mevcutken HER2 eksprese eden tipteki 6 olgunun tamamında ve null tipteki olguda yoktu (Tablo 3). Lüminal A olgularının 11'inde, lüminal B'lerin 4'ünde, HER2 eksprese eden tip'lerin 3'ünde ve bazal-like tipteki olguların 6'sında nekroz mevcutken null tipteki olguda yoktu (Tablo 3).

Tablo 3. İnvaziv meme karsinomu olan 79 kadında hormonal ve moleküler alt tiplere göre klinikopatolojik özelliklerin dağılımı
(Table 3. Distribution of clinicopathological features in 79 women with invasive breast carcinoma according to hormonal and molecular subtypes)

Özellikler	Luminal A	Luminal B	Her-2 Tip	Bazal-like Tip	Null Tip	Toplam: n (%)
Toplam	53 (67.1)	11 (13.9)	6 (7.6)	8 (10.1)	1 (1.3)	79 (100.0)
Histolojik Tip						
Duktal	39 (73.6)	10 (90.9)	6 (100.0)	6 (75.0)	1 (100.0)	62 (78.6)
Lobüler	12 (22.6)	1 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	13 (16.5)
Medüller	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (25.0)	0 (0.0)	2 (2.5)
Diğerleri	2 (3.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.4)
Tümör Derecesi						
Grade I	7 (17.5)	3 (30.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	10 (15.9)
Grade II	28 (70.0)	5 (50.0)	2 (33.3)	0 (0.0)	1 (100.0)	36 (57.2)
Grade III	5 (12.5)	2 (20.0)	4 (66.7)	6 (100.0)	0 (0.0)	17 (26.9)
Multifokalite/multisentrisite						
Var	5 (9.5)	2 (18.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (8.9)
Yok	44 (83.0)	8 (72.7)	4 (66.7)	8 (100.0)	1 (100.0)	65 (82.2)
Bilinmiyor	4 (7.5)	1 (9.1)	2 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (8.9)
Perinöral Invazyon						
Var	14 (26.4)	1 (9.1)	0 (0.0)	1 (12.5)	0 (0.0)	16 (20.3)
Yok	39 (73.6)	10 (90.9)	6 (100.0)	7 (87.5)	1 (100.0)	63 (79.7)
Nekroz						
Var	11 (20.8)	4 (36.4)	3 (50.0)	6 (75.0)	0 (0.0)	24 (30.4)
Yok	42 (79.2)	7 (63.6)	3 (50.0)	2 (25.0)	1 (100.0)	55 (69.6)
Veriler sayı (n) ve yüzdelik (%) olarak sunulmuştur						

Aksiller lenf nodu tutulumu 52 olguda değerlendirildi. Lüminal A olgularının 22'sinde lenf nodu tutulumu varken, 12 olguda tüm lenf nodları negatifti. Lüminal B'lerin 3'ünde metastatik lenf nodu mevcutken 5'inde görülmedi. HER2 eksprese eden tipteki olguların 1'inde lenf nodu tutulumu varken, 1'inde tüm lenf nodları negatifti. Bazal-like olguların 3'ünde lenf nodu pozitifken, 4'ünde lenf nodu tutulumu yoktu. Null tipteki tek olguda lenf nodu metastazı görülmedi (Tablo 2). Moleküler subtipler ve metastatik lenf nodu varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. 79 olgunun 44'ünde invaziv karsinoma in situ karsinom eşlik ediyordu. Meme karsinomlarını tanımlamada gen ekspresyon profilleri (GEP)nin tespiti en iyi yöntem olsa da; taze veya dondurulmuş dokunun gerekliliği, rutin uygulama için elverişsiz olması gibi nedenlerden dolayı bazı araştırmacılar bu yöntem yerine kullanılabilen immünohistokimyasal paneller önermektedir [5]. Alt tipleri tespit edebilmek amacıyla daha kolay ve ucuz olan immünohistokimyasal çalışmalar yapılmış, eş zamanlı DNA mikroarray yöntemiyle yapılan sınıflandırma karşılaştırılarak sınıflamada kullanılabilen en uygun antikolar belirlenmeye çalışılmıştır [6 ve 8]. Hem DNA mikroarray hem de immünohistokimyasal çalışmalarda sınıflamanın temelini ER ve HER2 pozitifliği oluşturmaktadır. ER pozitifliği gösteren olgular normal meme parankimindeki lüminal (glandüler) hücrelere benzer ekspresyonlar gösterdiği için 'lüminal tip' olarak adlandırılmıştır. Lüminal tip immunohistokimyasal ve moleküler bazlı çalışmalarda farklı gen ekspresyonları gösteren ve farklı prognostik özelliğe sahip 2 gruba ayrılmıştır. ER pozitif HER2 negatif ise "lüminal A", her ikisi de pozitif ise "lüminal B" olarak adlandırılmışlardır [9, 11, 13 ve 16].

Son zamanlarda, Cheang ve ark. 357 tümör olgusu içeren çalışmalarında, lüminal A ve lüminal B ayrımında Ki-67'yi kullanarak gen ekspresyon profilinin immünohistokimyasal yöntem korelasyonunu araştırmıştır [17]. %14 ya da daha yüksek Ki-67 indeksine sahip ve ER+, HER2- tümörleri Lüminal B olarak, %14 den düşük olanları da Lüminal A olarak sınıflandırmışlardır. Daha sonra bu %14 cut-off değeri, ER+ ve sağkalım bilgileri olan 2000 tümörde de kullanılmıştır. Bu çalışma geniş serili bir çalışma olmasına rağmen bu iki lüminal tümörün sınıflandırması için pratikte Ki-67'ye başvurmanın olumsuz tarafları mevcuttur. Şöyle ki; Ki-67 primer antikolarının farklı klonları ile farklı sonuçlar alınmakta, yine yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik oranları yüksek olabilmektedir. Normal meme parankimindeki bazal (myoepitelyal) hücreler nedeniyle bazal-like grubuna bu ad verilmiştir. Kötü prognoz göstermesi nedeniyle önemli olan bu grubu en doğru tanımlayacak antikoru bulmak için yapılan çalışmalarda bazı yazarlar ER, PR, HER2 negatifliği durumunda olguyu bazal-like gruba dahil etmektedir [12, 13 ve 14]. DNA mikroarray ile eş zamanlı yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda bazal-like tipin ER ve HER2 ile %100 negatif olduğu tespit edilmiştir [7]. Birçok araştırmacı olgunun bazal-like sayılabilmesi için en az bir bazal belirteçle pozitiflik göstermesi gerektiğini savunmaktadır [7, 16, 18, 19 ve 20]. Livasy ve ark. CK5/6 ve EGFR nin sınıflamada kullanılabilen en yararlı bazal belirteçler olduğunu saptamışlardır [7]. Biz de çalışmamızda bazal-like tipi saptamada sensitivite ve spesifitesi yüksek bir belirteç olan CK5/6'yı kullandık. Son olarak bazı araştırmacılar, ER, PR, HER2 negatif olup, uygulanan bazal antikolar ile de boyanmayan olguları "null tip" olarak adlandırmıştır [16, 18, 19, 20 ve 21]. Nielsen ve ark. null tipin ayrı bir grup olmadığını, myoepitelyal belirteçleri fokal ya da zayıf eksprese eden bazal-like tümörler ve yeterli ER ekspresyonu göstermeyen lüminal tipteki tümörlerden oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Teknik aksaklıklar nedeniyle boyanamayan tümörleri de bu grupta değerlendirmişlerdir [6].

İmmunohistokimyasal değerlendirme sonucunda olgularımızın büyük çoğunluğunun literatürle uyumlu olarak lüminal A tipinde olduğunu tespit ettik. Bunu sıklık sırasıyla lüminal B, bazal-like tip, HER2 eksprese eden tip ve null tip izlemekteydi. Bazı araştırmacılar lüminal tipin yaşlılarda, bazal-like tipin ise daha çok gençlerde izlendiğini öne sürmektedirler [11, 19 ve 22]. Dawood ve ark. 1279 kadın olguda bazal-like tipin gençlerde daha fazla görüldüğünü bulmuşlardır [23]. Caldarella ve ark. ise bazal like tipin yaşlılarda daha fazla görüldüğünü bildirmişlerdir [24]. Olgularımız içinde yaş ortalaması en yüksek grup genel olarak literatürle uyumlu olmamakla birlikte bazal-like tipti. Onu sırasıyla, lüminal A, HER2 eksprese eden tip ve lüminal B izliyordu. Lüminal A olgularının %62.3'ü, HER2 eksprese eden tiptekilerin %66.7'si, bazal-like tiptekilerin %87.5'i 50 yaşın üzerinde iken lüminal B tipindeki olguların çoğu 50 yaşın altındaydı. Null tipteki tek olgumuzun da yaşı 50'den küçüktü.

Meme kanserlerinde birden fazla odağın olması bağımsız bir prognostik parametre olmamasına rağmen multifokalite/multisentrisite gösteren olgularda lenf düşümü metastazı riskinin arttığı bildirilmektedir [25]. Ayrıca multipl tutulumun hastaya uygulanacak olan meme koruyucu cerrahi veya mastektomi kararında önemli olduğu vurgulanmaktadır [12]. Altıbinyetmişiki (6072) olguyu içeren bir çalışmada multifokalite/multisentrisite varlığının subtiplerle ilişkili olduğu ve HER2 eksprese eden grupta diğerlerine göre daha fazla görüldüğü gösterilmiştir [12]. Bizim çalışmamızda multifokalite/multisentrisite yönünden 79 olgunun 72'si değerlendirilebildi. Multifokalite/multisentrisite saptanan 7 olgunun 5'i lüminal A, 2'si ise lüminal B grubundaydı. Diğer gruplarda multifokalite/multisentrisite izlenmedi. Bu sonuç, literatür ile uyumlu olmayıp istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmalarda tümör çapı arttıkça lenf bezi metastazı ihtimalinin arttığı ve sağkalım oranlarının azaldığı gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda, hızlı proliferasyon kapasitesi olan bazal like tipteki ve HER2 tipteki tümörlerin çaplarının daha büyük olduğu bildirilmektedir [18, 26 ve 28]. Bizim çalışmamızda, subtipleri tümör çaplarına göre karşılaştırdığımızda, tümör çapı değerlendirilebilen 72 olgunun 3'ünde tümör çapı 5cm ve üzerindedi. Lüminal B, HER2 eksprese eden tip ve null tipteki olguların tamamında tümör çapı 5cm'nin altındaydı. 2cm altındaki tümörlerden 24'ü lüminal A, 3'ü bazal-like, 2'si lüminal B tipteydi. Tek null tip olgusu da 2cm'nin altındaydı. Tümör çapı küçük olan olguların çoğu lüminal A grubunda olup bu bulgu literatür ile uyumluuydu.

Tümörün histolojik tipinin moleküler subtiplerle ilişkisi de araştırılmıştır. Caldarella ve ark. çalışmalarında duktal, lobüler, müsinöz, tubüler ve kribriform histolojik tipteki tümörlerin çoğunu luminal A grubunda belirlerken medüller karsinom olgularının tamamını bazal like tipte saptamıştır. Bertucci ve ark. da 22 medüller karsinom olgusunun %95'inin gen ekspresyon profilinin bazal-like tipte olduğunu tespit etmiştir [29]. Çalışmamızdaki 2 adet medüller karsinom olgusu literatürle uyumlu olarak bazal-like tip olarak bulundu. Literatürde bazal-like karsinomların %75-100 oranında histolojik gradelerinin 3 olduğu gösterilmiştir [7, 15, 18, 19, 26 ve 30]. Diğer çalışmalara uygun olarak bazal-like grupta tümör grade'inin diğer tiplere göre daha yüksek olduğunu gözlemledik. Lüminal A tipindeki tümörlerin çoğunun grade'i II iken, bazal-like gruptakilerin tamamının grade'i III'tü. Grade I olgumuz sadece 10 tane olup bunların 7 tanesi lüminal A tipindeydi. Lenfovasküler invazyon, meme karsinomlarında prognozla ilişkili parametre olarak kabul edilmiştir. Wiechmann ve ark. ile Munjal ve ark. en sık lenfovasküler invazyonun HER2 eksprese eden grupta gözlemlendiğini bildirmişlerdir [12 ve 31]. Bizim çalışmamızda en

çok lenfovasküler invazyon gösteren tip lüminal A olup bunu sırasıyla lüminal B, bazal like tip ve HER2 eksprese eden tip takip etmekteydi. Olgu sayımız az olmakla birlikte bu sonuç literatürle uyumlu bulunamadı.

Perinöral invazyonun subtiplerle ilişkisini araştıran bir literatür bulunamadı. Olgularımızda en sık perinöral invazyon lüminal A grubunda izlenirken HER2 ve null tipte izlenmedi. Lenf nodu metastazı en önemli prognostik faktörlerden biridir ve birçok araştırmacı lenf nodu metastazı ile moleküler alttipler arasında anlamlı ilişki olduğunu göstermiştir. En sık lenf nodu metastazının görüldüğü grup HER2 eksprese eden tip olarak bildirilmektedir [12, 13, 18 ve 19]. Kim ve ark. lenf nodu metastazının HER2 eksprese eden tipte bazal-like gruba oranla daha sık görüldüğünü, ancak evrelerini değerlendirdiklerinde aralarında fark olmadığını tespit etmişlerdir [18]. Yine Dawood ve ark. lenf nodu metastazının HER2 eksprese eden tipte en sık olduğunu ardından bazal-like tipteki tümörler geldiğini, bazal-like tümörlerin de lüminal tipe göre daha fazla lenf nodu metastazı gösterdiğini saptamıştır [23]. Literatürden farklı olarak çalışmamızda lenf nodu pozitifliği gösteren olguların çoğu 22 lüminal A grubundaydı. Olgu sayımızın az olması ve lenf nodu durumu bilinmeyen tümörlerin varlığı nedeniyle lenf nodu invazyonu ile subtipler arasında sağlıklı karşılaştırma yapılamadı. ER pozitif tümörlerin tedavisinde tamoksifen kullanılmaktadır. Dolayısıyla lüminal tipin tedavisi de hormonoterapidir. Brenton ve ark. lüminal B'nin proliferasyon hızının lüminal A'ya göre daha fazla olması nedeniyle tedavilerine hormonoterapiye ilave olarak kemoterapinin de eklenebileceğini bildirmektedirler [32]. HER2 tipte, Herceptin tedavisi ve antrasiklin kemoterapi uygulanmaktadır. Bazal-like tipte ise hormon tedavisi ve herceptin'e yanıt yoktur, kemoterapi yanıtı ise değişkendir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER (CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS)

Çalışmamızda bazal-like subtipi dışında diğer subtiplerde de bazal belirteçle pozitiflik gösteren olguların bulunması gelecekte yeni subtiplerin oluşturulabileceği fikrini uyandırdı. İncelenen morfolojik özellikler eşliğinde, hormon reseptörleri ve HER2 negatifliğinde, bazal-like tümör olasılığını akla getirmesi ve spesifik bazal belirteçler ile boyama yapılması gerektiği sonucuna ulaşıldı. Bazal-like meme karsinomları rutin patikte gözden kaçan ya da farkında olunmayan fakat gelecekte yeni tedavi modelleri için aday tümör sınıfındadır. Meme tümörlerinin moleküler klasifikasyonu, hastalığın gidişatını belirlemede ve tümörlerin moleküler paternine göre kemoterapi, hormonoterapi, ve cerrahi tedavi kararı vermede gittikçe önem kazanmaktadır. Moleküler subtiplendirmenin ortaya konması ile ilgili çalışmaların devam etmesi tümör progresyonunda farklı yolların ve yeni hedeflerin tanımlanmasını sağlayabilir. Bu çalışmada, kliniğimizde invaziv meme karsinom tanısı almış olguların dökümünü yaparak, meme kanserinin yöresel profilini bildirmeyi amaçladık. Bu çalışma Bolu yöresinde daha geniş serilerde ve moleküler yöntemler eşliğinde yapılacak çalışmalar için bilgilendirici ve yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Fadare, O. and Tavassoli, F.A., (2007). The Phenotypic Spectrum of Basal-Like Breast Cancer a Critical Appraisal. *Adv Anat Pathol*, 14:358-73.
2. Tang, P., Skinner, K.A., and Hicks, D.G., (2009). Molecular Classification of Breast Carcinomas by Immunohistochemical Analysis: Are We Ready?. *Diagn Mol Pathol*, 18:125-32.

3. Zhang, Y., Schnabel, C.A., Schroeder, B.E., Jerevall, P.L., Jankowitz, R.C., Fornander, T., et al., (2013). Breast Cancer Index Identifies Early-Stage Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer Patients at Risk for Early and Late-Distant Recurrence. *Clin Cancer Res*, 19:4196-4205.
4. Tamimi, R.M., Colditz, G.A., Hazra, A., Baer, H.J., Hankinson, S.E., Rosner, B., et al., (2012). Traditional Breast Cancer Risk Factors in Relation to Molecular Subtypes of Breast Cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 131 159-167.
5. Rakha, E. and Reis-Filho, J.S., (2009). Basal-Like Breast Carcinoma: From Expression Profiling to Routine Practice. *Arch Pathol Lab Med*, 133:860-8.
6. Nielsen, T.O., Hsu, F.D., Jensen, K., Cheang, M., Karaca, G., Hu, Z., et al., (2004). Immunohistochemical and Clinical Characterization of the Basal-Like Subtype of Invasive Breast Carcinoma. *Clin Cancer Res*, 10:5367-74.
7. Livas, C.A., Karaca, G., Nanda, R., Tretiakova, M.S., Olopade, O.I., Moore, D.T., et al., (2006). Phenotypic Evaluation of the Basal-Like Subtype of Invasive Breast Carcinoma. *Mod Pathol*, 19:264-71.
8. Callagy, G., Cattaneo, E., Daigo, Y., Happerfield, L., Bobrow, L.G., Pharoah, P.D., et al., (2003). Molecular Classification of Breast Carcinomas Using Tissue Microarrays. *Diagn Mol Pathol*, 12:27-34.
9. Sorlie, T., Perou, C.M., Tibshirani, R., Aas, T., Geisler, S., Johnsen, H., et al., (2001). Gene Expression Patterns of Breast Carcinomas Distinguish Tumor Subclasses with Clinical Implications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98:10869-74.
10. Sorlie, T., Tibshirani, R., Parker, J., Hastie, T., Marron, J.S., Nobel, A., et al., (2003). Repeated Observation of Breast Tumor Subtypes in Independent Gene Expression Data Sets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100:8418-23.
11. Ihemelandu, C.U., Leffall, L.D.J., Dewitty, R.L., Naab, T.J., Mezghebe, H.M., Makambi, K.H., et al., (2007). Molecular Breast Cancer Subtypes in Premenopausal and Postmenopausal African-American Women: Age-Specific Prevalence and Survival. *J Surg Res*, 143:109-18.
12. Wiechmann, L., Sampson, M., Stempel, M., Jacks, L.M., Patil, S.M., King, T., et al., (2009). Presenting Features of Breast Cancer Differ by Molecular Subtype. *Ann Surg Oncol*, 16:2705-10.
13. Zhao, J., Liu, H., Wang, M., Gu, L., Guo, X., Gu, F., et al., (2009). Characteristics and Prognosis for Molecular Breast Cancer Subtypes in Chinese Women. *J Surg Oncol*, 100:89-94.
14. Matos, I., Dufloth, R., Alvarenga, M., Zeferino, L.C., and Schmitt, F., (2005). P63, Cytokeratin5, and Pcadherin: Three Molecular Markers to Distinguish Basal Phenotype in Breast Carcinomas. *Virchows Arch*, 447:688-94.
15. Carey, L.A., Perou, C.M., Livasy, C.A., Dressler, L.G., Cowan, D., Conway, K., et al., (2006). Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Jama*, 295:2492-502.
16. Ge, Y., Sneige, N., Eltorkey, M.A., Wang, Z., Lin, E., Gong, Y., et al., (2009). Immunohistochemical Characterization of Subtypes of Male Breast Carcinoma. *Breast Cancer Res*, 11:R28.
17. Cheang, M.C., Chia, S.K., Voduc, D., Gao, D., Leung, S., Snider, J., et al., (2009). Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients with Luminal B Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst.*, 101: 736-50.

18. Kim, M.J., Ro, J.Y., Ahn, S.H., Kim, H.H., Kim, S.B., and Gong, G., (2006). Clinicopathologic Significance of the Basal-Like Subtype of Breast Cancer: A Comparison with Hormone Receptor and Her2/Neu-Overexpressing Phenotypes. *Hum Pathol*, 37: 1217-26.
19. Cheang, M.C., Voduc, D., Bajdik, C., Leung, S., McKinney, S., Chia, S.K., et al., (2008). Basal-Like Breast Cancer Defined by Five Biomarkers Has Superior Prognostic Value than Triple-Negative Phenotype. *Clin Cancer Res*, 14: 1368-76.
20. Liu, H., Fan, Q., Zhang, Z., Li, X., Yu, H., and Meng F., (2008). Basal-HER2 Phenotype Shows Poorer Survival than Basal-Like Phenotype in Hormone Receptor-Negative Invasive Breast Cancers. *Hum Pathol*, 39: 167-74.
21. Abd El-Rehim, D.M., Pinder, S.E., Paish, C.E., Bell, J., Blamey, R.W., and Robertson, JF, et al., (2004). Expression of Luminal and Basal Cytokeratins in Human Breast Carcinoma. *J Pathol*, 203: 661-71.
22. Zhao, J., Liu, H., Wang, M., Gu, L., Guo, X., Gu, F., et al., (2009). Characteristics and Prognosis for Molecular Breast Cancer Subtypes in Chinese Women. *J Surg Oncol*, 100: 89-94.
23. Dawood, S., Hu, R., Homes, M.D., Collins, L.C., Schnitt, S.J., Connolly, J., et al., (2011). Defining Breast Cancer Prognosis Based on Molecular Subtypes: Results from a Large Cohort Study. *Breast Cancer Res Treat*, 126: 185-192.
24. Caldarella, A., Buzzoni, C., Crotti, E., Bianchi, S., Vezzosi, V., Apicella, P., et al., (2013). Invasive Breast Cancer: A Significant Correlation between Histological Types and Molecular Subgroups. *J Cancer Res Clin Oncol*, 139: 617-623.
25. Andea, A.A., Bouwman, D., Wallis, T., and Visscher, D.W., (2004). Correlation of Tumor Volume and Surface Area with Lymph Node Status in Patients with Multifocal/Multicentric Breast Carcinoma. *Cancer*, 100: 20-7.
26. Rakha, E.A., Putti, T.C., Abd El-Rehim, D.M., Paish, C., Green, A.R., Powe D.G., et al., (2006). Morphological and Immunophenotypic Analysis of Breast Carcinomas with Basal and Myoepithelial Differentiation. *J Pathol*, 208: 495-506.
27. Foulkes, W.D., Brunet, J.S., Stefansson, I.M., Straume, O., Chappuis, P.O., Begin, L.R., et al., (2004). The Prognostic Implication of the Basal-Like (Cyclin E High/P27 Low/P53+/Glomeruloid-Microvascular-Proliferation+) Phenotype of BRCA1- Related Breast Cancer. *Cancer Res*, 64: 830-5.
28. Rodriguez-Pinilla, S.M., Sarrío, D., Honrado, E., Moreno-Bueno, G., Hardisson, D., Calero, F., et al., (2007). Vimentin and Laminin Expression is Associated with Basal-Like Phenotype in both Sporadic and BRCA1-Associated Breast Carcinomas. *J Clin Pathol*, 60: 1006-12.
29. Bertucci, F., Finetti, P., Cervera, N., Charafe-Jauffret, E., Mamessier, E., Adelaide, J., et al., (2006). Gene Expression Profiling Shows Medullary Breast Cancer is a Subgroup of Basal Breast Cancers. *Cancer Res*, 66: 4636-44.
30. Calza, S., Hall, P., Auer, G., Bjohle, J., Klaar, S., Kronenwett, U, et al., (2006). Intrinsic Molecular Signature of Breast Cancer in a Population-Based Cohort of 412 Patients. *Breast Cancer Res*, 8: R34.
31. Munja, K., Ambaye, A., Evans, M.F., Mitchell, J., Nandedkar, S., and Cooper, K., (2009). Immunohistochemical Analysis of ER, PR, HER2 and CK5/6 in Infiltrative Breast Carcinomas in Indian Patients. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 10: 773-778
32. Brenton, J.D., Carey, L.A., Ahmed, A., A., and Caldas, C., (2005). Molecular Classification and Molecular Forecasting of Breast



Cancer: Ready for Clinical Application? J Clin Oncol, 23: 7350-60.